

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO – UFPE
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA FUNDAMENTAL – DQF
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

WELLYTON SILVA VASCONCELOS

**DETERMINAÇÃO DE METAIS PESADOS EM MÉIS DE ABELHA DE
ALGUMAS MESORREGIÕES DO ESTADO DE PERNAMBUCO POR
VOLTAMETRIA DE REDISSOLUÇÃO ANÓDICA**

RECIFE
2014

WELLYTON SILVA VASCONCELOS

**DETERMINAÇÃO DE METAIS PESADOS EM MÉIS DE ABELHA DE
ALGUMAS MESORREGIÕES DO ESTADO DE PERNAMBUCO POR
VOLTAMETRIA DE REDISSOLUÇÃO ANÓDICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal de Pernambuco como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Química.

Orientadora: Professora Dra. Madalena Carneiro da Cunha Areias
Co-orientadora: Professora Dra. Ana Paula Silveira Paim

RECIFE
2014

Catálogo na fonte
Bibliotecária Joana D'Arc Leão Salvador, CRB 4-572

Vasconcelos, Wellyton Silva.

Determinação de metais pesados em méis de abelha de algumas mesorregiões do Estado de Pernambuco por voltametria de redissolução anódica. / Wellyton Silva Vasconcelos. – Recife: O Autor, 2014.

80 f.: fig., tab.

Orientadora: Madalena Carneiro da Cunha Areias.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco. CCEN. Química, 2014.
Inclui referências.

1. Química analítica. 2. Mel. 3. Metais pesados.
4. Voltametria. I. Areias, Madalena Carneiro da Cunha.
(orientadora). II. Título.

543 (22. ed.)

FQ 2014-24

Dissertação submetida ao Corpo Docente do Programa de Pós-Graduação em Química do Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Grau de Mestre em Química.

Aprovada:

Prof^a. Madalena Carneiro da Cunha Areias
(Orientadora)
Departamento de Química Fundamental
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Claudete Fernandes Pereira
Departamento de Química Fundamental
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Severino Carlos Bezerra de Oliveira
Departamento de Química
Universidade Federal Rural de Pernambuco

***DETERMINAÇÃO DE METAIS PESADOS EM MÉIS DE ABELHA
DE ALGUMAS MESORREGIÕES DO ESTADO DE
PERNAMBUCO
POR VOLTAMETRIA DE REDISSOLUÇÃO ANÓDICA***

Por

Wellyton Silva Vasconcelos

**Departamento de Química Fundamental
Centro de Ciências Exatas e da Natureza
Universidade Federal de Pernambuco
Recife-PE-Brasil
30 de Maio de 2014**

AGRADECIMENTOS

A Deus por nos proporcionar o maravilhoso dom da vida.

Aos meus pais pelo apoio e incentivo que sempre me deram.

À Profa. Dra. Madalena Areias pela orientação neste trabalho e por estar sempre disponível a compartilhar de seu conhecimento e me ajudar na minha formação.

À Profa. Dra. Ana Paula Paim pela co-orientação neste trabalho e por ter disponibilizado o Laboratório de Instrumentação e Automação para Análise Química para que fosse possível a realização de determinados experimentos.

Aos amigos do DQF Francisco Sávio, Tailândia Maracajá, João Nahare e Ronaldo Dionísio pelo companheirismo ao longo de quase três anos, além de Waleska Siqueira que me auxiliou no preparo das amostras.

À Associação Pernambucana de Apicultores e Meliponicultores (APIME) representada na pessoa de Alexandre Moura por ter me fornecido os contatos para que fosse possível a coleta das amostras de mel e também pelas amostras de mel concedidas.

À Associação dos Apicultores de Ibimirim (ASSAPI) representada na pessoa de Eliaquim pelas amostras de mel concedidas.

À Cooperativa Apicultores Pernambuco Ltda. (CAPEL) representada na pessoa de Verônica pelas amostras de mel fornecidas.

Aos demais apicultores que me forneceram amostras de diferentes cidades para que fosse possível a realização deste trabalho: Luís Aleixo (mel de Trindade e Araripina); Erick (mel de Trindade) e Profa. Maria de Lourdes da UFRPE (mel de Ibimirim).

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financeiro.

Enfim, agradeço a todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente para que fosse possível a conclusão deste trabalho.

RESUMO

O mel de abelha tem uma imagem de ser natural e saudável, entretanto, muitos dos méis consumidos hoje são produzidos em ambientes poluídos por diferentes tipos de contaminação alterando, com isso, suas características mais nobres. Nesse estudo a contaminação por metais pesados tais como Zn, Cd, Pb e Cu é avaliada para 20 amostras de mel de abelha produzidas no estado de Pernambuco utilizando a técnica de voltametria de redissolução anódica de pulso diferencial (DPASV, do inglês *Differential Pulse Anodic Stripping Voltammetry*) em eletrodo de gota pendente de mercúrio (HMDE, do inglês *Hanging Mercury Drop Electrode*). A formação de compostos intermetálicos entre Zn e Cu na superfície do eletrodo durante a etapa de pré-concentração impede a determinação simultânea dos quatro metais na matriz orgânica mineralizada. Para a determinação de Zn utiliza-se uma solução-padrão de Ga(III) e o Cu é determinado em um potencial de deposição menor que o requerido para a redução do Zn, permitindo a determinação dos quatro metais por dois experimentos de DPASV realizados consecutivamente na mesma amostra. As faixas de concentrações de metais pesados encontrados nas amostras analisadas foram de 1,283 – 4,312 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ para Zn, 0,168 – 0,645 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ para Pb e 0,170 – 1,426 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ para Cu. A presença de Cd nas amostras não foi detectada. O método apresentou altos níveis de repetitividade e ausência de viés em concentrações acima de 0,200 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. De acordo com esses resultados, observa-se que o mel produzido em Pernambuco é de boa qualidade, embora uma das vinte amostras analisadas tenha apresentado teor de Pb acima do limite estabelecido por legislação vigente. Acredita-se que essa amostra pode ter sido contaminada durante o processo de transporte do mel já que este foi envasado em local distinto do apiário de origem. Para as demais amostras, as concentrações de metais pesados estão dentro dos parâmetros aceitáveis.

Palavras-chave: Mel; Metais Pesados; Contaminação; Voltametria de Redissolução Anódica de Pulso Diferencial (DPASV); Eletrodo de Gota Pendente de Mercúrio (HMDE).

ABSTRACT

Honey bee has an image of being natural and healthy, however many of honey consumed today are produced in environments polluted by different contamination changing therefore its noblest characteristics. In this study the contamination by heavy metals such as Zn, Cd, Pb and Cu is evaluated for 20 samples of honey produced in the state of Pernambuco using the technique of differential pulse anodic stripping voltammetry (DPASV) in hanging mercury drop electrode (HMDE). The formation of intermetallic compounds of Cu and Zn on the surface of the electrode during the preconcentration step prevents the simultaneous determination of the four metals in the organic mineralized matrix. For the Zn determination is used a standard solution of Ga(III) and Cu is determined by a potential lower than that required for the reduction of Zn, allowing the determination of the four metals by two DPASV experiments, consecutively performed on the same sample. The content of heavy metals found in the samples analyzed were in the range from 1.283 to 4.312 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ for Zn, 0.168 to 0.645 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ for Pb and 0.170 to 1.426 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ for Cu. The presence of Cd in the samples was not detected. The method showed high levels of repeatability and absence of bias in concentrations above 0.200 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. According to these results, it is observed that the honey produced in Pernambuco is good in quality, although one of twenty samples have shown Pb content above the limit set by current legislation. It is believed that this may have been contaminated during the transportation of honey since it was packaged in a distinct place of origin of the apiary. For the other samples, the concentrations of heavy metals are within acceptable parameters.

Keywords: Honey; Heavy Metals; Contamination; Differential Pulse Anodic Stripping Voltammetry (DPASV); Hanging Mercury Drop Electrode (HMDE).

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	08
2 REVISÃO DA LITERATURA	10
2.1 Histórico da Apicultura no Mundo	10
2.2 Histórico da Apicultura no Brasil	17
2.3 Produção de mel no mundo	18
2.4 Produção de mel no Brasil	19
2.5 Produção de mel no Nordeste	22
2.6 Produção de mel em Pernambuco	23
2.7 Prejuízos causados pela seca à apicultura do Nordeste em 2012	25
2.8 Contaminação do mel de abelha por metais pesados	25
2.8.1 Cádmió (Cd)	27
2.8.2 Chumbo (Pb)	27
2.8.3 Cobre (Cu)	28
2.8.4 Zinco (Zn)	28
2.9 Voltametria	29
2.9.1 Teoria Geral da Voltametria	29
2.9.2 Instrumentação	30
2.9.2.1 Potenciostato/galvanostato	31
2.9.2.2 A cela e os eletrodos	31
2.9.3 Técnicas voltamétricas	32
2.9.3.1 Polarografia	32
2.9.3.2 Voltametria Cíclica	34
2.9.3.3 Métodos de Pulso	36
2.9.3.4 Pré-concentração e as técnicas de redissolução	38
2.9.3.4.1 Voltametria de Redissolução Anódica (ASV)	39
2.9.3.4.2 Voltametria de Redissolução Catódica (CSV)	43
2.9.3.4.3 Voltametria de Redissolução Adsorativa (AdSV)	43
2.10 Objetivos	43
3 PARTE EXPERIMENTAL	44
3.1 Reagentes	44
3.2 Amostras de mel	44

3.3 Materiais e método	47
3.3.1 Materiais	47
3.3.1.1 Limpeza de vidrarias	47
3.3.1.2 Pesagem das amostras	47
3.3.1.3 Pré-tratamento das amostras	47
3.3.1.4 Experimentos eletroquímicos	48
3.3.2 Método	49
3.3.2.1 Limpeza das vidrarias e reatores de politetrafluoretileno (PTFE)	49
3.3.2.2 Mineralização das amostras	50
3.3.2.3 Condicionamento das amostras	51
3.3.2.4 Voltametria de Redissolução Anódica de Pulso Diferencial (DPASV)	51
3.3.2.4.1 Liberação do intermetálico Zn-Cu com adição de gálio	51
3.3.2.4.2 Etapa de deposição ou pré-eletrólise	51
3.3.2.4.3 Etapa de redissolução anódica	52
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
4.1 Escolha dos parâmetros experimentais	53
4.2 Mineralização das amostras	53
4.2.1 Digestão a frio	53
4.2.2 Digestão a quente	54
4.3 Digestão não-efetiva x digestão efetiva	55
4.4 Condicionamento das amostras	56
4.5 Obtenção dos voltamogramas	60
4.6 Eliminação da interferência do intermetálico Zn-Cu com adição de gálio	60
4.7 Recuperação	64
4.7.1 Recuperação do zinco	65
4.7.2 Recuperação do chumbo	66
4.7.3 Recuperação do cobre	68
4.7.4 Limites de Detecção e Quantificação do zinco, chumbo e cobre	70
4.8 Análise das amostras de mel mineralizadas	71
5 CONCLUSÕES	76
REFERÊNCIAS	77

1 INTRODUÇÃO

O mel de abelha é um produto açucarado natural produzido pelas abelhas melíferas operárias (*Apis mellifera* L.) a partir do recolhimento do néctar das flores ou de exsudações das partes vivas das plantas, para posterior transformação, combinação com compostos específicos e estocagem em favos. A sua composição e suas propriedades dependem, principalmente, da origem botânica do néctar ou das secreções (BERTELLI, et al. 2010).

O mel de abelha é o doce mais antigo conhecido pelo homem, com gravuras de sua coleta nas colmeias encontradas em pinturas rupestres datadas de 15 mil anos atrás (LAWAL, et al. 2009).

Os principais constituintes químicos do mel de abelha são açúcares e água (quantidade maior que 95%), além desses, outros constituintes minoritários tais como compostos aromáticos, terpenóides, norisoprenóides, flavonóides, 5-hidroximetil-2-furaldeído (HMF), compostos fenólicos, compostos alifáticos, ácidos orgânicos e aminoácidos também estão presentes, sendo esses os principais responsáveis pelas propriedades nutritivas e organolépticas do mel (ISLAM, et al. 2013).

As propriedades benéficas do mel de abelha para a saúde humana impulsionaram o crescimento da sua produção e do seu consumo pela população nas últimas décadas (LEMOS, et al. 2010). Entretanto, essa imagem de que o mel e os demais produtos apícolas são substâncias naturais e saudáveis, foi manchada a partir do surgimento de notícias sobre “méis contaminados” distribuídos à classe média. Como hoje em dia muitos dos méis consumidos são produzidos em ambientes poluídos por diferentes fontes de contaminação, as características nobres desse produto são alteradas, impulsionando o interesse por estudos para identificar e excluir esses contaminantes (BOGDANOV, 2006).

As fontes de contaminação são diversas e podem ser rudemente divididas em dois grupos: contaminação ambiental (pesticidas, metais pesados, bactérias, organismos geneticamente modificados e radioatividade) e contaminação apícola (acaricidas, antibióticos e repelentes utilizados para conter as pragas) (BOGDANOV, 2006).

Além do estudo da presença desses contaminantes, muita atenção tem sido dada a avaliação da autenticidade do mel de abelha.

Como o mel é um produto natural com preço relativamente alto, tem sido alvo de constantes adulterações. Os tipos de adulterantes detectados são diversos, podendo

ser açúcares da cana ou da beterraba e/ou açúcares obtidos a partir da hidrólise do amido (BERTELLI, et al. 2010).

Técnicas bastante úteis para verificar a autenticidade de méis de abelha tais como: microscopia, métodos físico-químicos e organolépticos, determinação de umidade, conteúdo de HMF, atividade invertase e diastase, composição de açúcar, condutividade elétrica, conteúdo de prolina e mais recentemente a espectroscopia no infravermelho, ressonância magnética nuclear de alta resolução e cromatografia de troca iônica de alta eficiência com detecção amperométrica, são usadas no controle de qualidade dos mesmos (RUOFF, et al. 2004).

Métodos eletroquímicos como a voltametria de redissolução anódica de pulso diferencial (DPASV, do inglês *Differential Pulse Anodic Stripping Voltammetry*) (SANNA, et al. 2000) e a potenciometria de redissolução (PSA, do inglês *Potentiometric Stripping Analysis*) (MUÑOZ, et al. 2006), são extremamente úteis tanto na detecção de contaminantes, tais como os metais pesados, quanto na avaliação de adulteração de méis de abelha devido principalmente a alta sensibilidade e seletividade desses métodos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Histórico da Apicultura no Mundo

Embora as abelhas existam há mais de 20 milhões de anos, o início da atividade apícola no mundo data de 2.400 a.C, no Egito (OLIVEIRA, et al. 2006). Os egípcios introduziram a prática apícola a partir da criação de abelhas em potes de barro. Como os enxames encontravam-se em locais de difícil acesso e a coleta do mel era algo bastante perigoso, essa prática possibilitou que os enxames fossem transportados para áreas mais seguras e próximas à residência do produtor.

Do Egito, a atividade apícola difundiu-se entre os gregos e romanos que a aprimoraram. Os primeiros estudos formais sobre a apicultura foram feitos por Aristóteles. Antes disso, a prática apícola era bastante rudimentar. Embora os egípcios sejam considerados pioneiros na criação de abelhas, a palavra colmeia tem origem do grego, *colmo*, que era um tipo de recipiente feito de palha trançada e em formato de sino, onde os gregos colocavam seus enxames (PEREIRA, et al. 2003).

Algumas técnicas para coleta do mel foram desenvolvidas durante a Idade Média. Dentre elas, uma das mais utilizadas foi a de colocar fumaça na entrada das colmeias. Essa técnica forçava as abelhas a se concentrarem no fundo da colmeia e com isso os favos de mel que se encontravam na frente eram retirados, deixando apenas uma pequena reserva para as abelhas (PEREIRA, et al. 2003).

Apenas no século XVII, com o auxílio do microscópio que permitiu o estudo de aspectos biológicos ligados às abelhas, é que foi possível a construção de equipamentos específicos para a criação racional e exploração econômica da atividade apícola (OLIVEIRA, et al. 2006).

No século XIX outra técnica para a cultura racional de abelhas foi desenvolvida. Essa técnica, proposta pelo Reverendo Lorenzo Lorraine Langstroth, baseava-se na utilização de quadros móveis, que poderiam ser removidos das colmeias pelo topo e movidos lateralmente dentro da caixa de criação. A técnica foi muito importante para o avanço tecnológico da apicultura (PEREIRA, et al. 2003).

Atualmente a atividade apícola se desenvolve através de métodos altamente técnicos e científicos (OLIVEIRA, et al. 2006).

O processo atual de criação de abelhas para a produção de mel deve seguir algumas recomendações antes de sua comercialização. As etapas desse processo consistem basicamente em: preparação das colmeias, povoamento, instalação, inspeção e revisão, colheita, desoperculação, centrifugação, decantação, estocagem, envase e comercialização (SEBRAE, 1999; PEREIRA, et al. 2003).

Preparação das colmeias

As colmeias devem ser construídas respeitando o “espaço abelha”, isto é, estar adequado ao tamanho do corpo e das pernas das abelhas. Esse espaço fica entre 6 e 9 mm.

O modelo de colmeia recomendado é o *Langstroth* (Figura 1), que é composto pelos seguintes elementos: fundo, ninho com dez quadros, sobreninhos com dez quadros, tampa e cobertura, para ajudar na conservação da colmeia.



Figura 1: Modelo de uma colmeia *Langstroth*.

A madeira para construção das colmeias deve ser leve, de boa durabilidade, seca e nunca ter sido tratada com aditivos contra cupim, brocas ou fungos. As colmeias devem ser totalmente desmontáveis e pintadas à base de óleo para aumento de sua vida útil. As cores recomendadas para pintura são o azul, o verde e o amarelo, uma vez que são as cores que as abelhas conseguem enxergar.

Povoamento

As alternativas para se povoar as colmeias são:

- Comprar famílias inteiras de abelhas de apicultores especializados;
- Comprar núcleos de produtores de enxames;
- Armar caixas-iscas próximas aos enxames;
- Recolher famílias de abelhas alojadas em cupinzeiros, ocos de casas, etc.

Instalação das colmeias

As colmeias ao serem instaladas devem ser fixadas sobre cavaletes a uma altura entre 50–60 cm do solo, para evitar o contato direto com o solo protegendo-as da umidade do terreno.

A instalação das colmeias também deve obedecer a certos esquemas básicos de distribuição:

- Os apiários devem ser construídos em função da disponibilidade de recursos florais de espécies vegetais que possam fornecer néctar e/ou pólen;
- Os apiários devem ficar numa distância mínima entre si de 3 km;
- Recomenda-se localizar o apiário a uma distância mínima de 400 m de residências, escolas, currais, dentre outras coisas e no mínimo 3 km de distância de fábricas, aterros sanitários, engenhos etc., para evitar contaminação por substâncias indesejadas;
- Os apiários devem ser instalados em áreas bem sombreadas de forma a evitar os efeitos nocivos das altas temperaturas em relação à qualidade do mel;
- Não é recomendável instalar mais de 40 colmeias em um mesmo lugar;
- As colmeias devem ser armadas preferencialmente em forma de U para facilitar a manutenção das mesmas;
- O alvado (entrada da colmeia) deve ficar preferencialmente de frente para o sol nascente, estimulando as abelhas a iniciarem mais cedo suas atividades.

Inspeção e Revisão

É recomendável que as colmeias sejam inspecionadas num período entre 15 e 30 dias para:

- Fazer a extração do mel;
- Avaliar as reservas de mel;
- Avaliar a postura da rainha;
- Introduzir uma nova rainha;
- Trocar o número de quadros ocupados;
- Alimentar as colmeias;
- Remanejar os quadros.

Colheita

O processo de colheita deve ser feito utilizando equipamentos e utensílios adequados para essa atividade de modo que se possa garantir a qualidade do produto final. No caso dos equipamentos e utensílios que irão ter contato direto com o produto, esses devem ser de aço inoxidável 304, específico para produtos alimentícios.

Para a colheita, deve ser feita a seleção dos favos que se encontram nas colmeias. Apenas os favos de “mel maduro” devem ser retirados, isto é, aqueles que estiverem totalmente operculados (cobertos por finas camadas de cera), pois se colhidos alguns favos que não estejam operculados, esses devem ser posteriormente centrifugados em separado, pois o mel de seu interior (chamado “mel verde”) contém alto teor de umidade e deve ser consumido em no máximo 90 dias. Os favos coletados são então transferidos para um ninho receptor vazio com fundo e tampa e transportados para a “casa do mel”.

A casa do mel é o local destinado à extração do mel, a qual é composta por uma área de recepção do material coletado, uma área de processamento do mel, uma área de envase, um local de armazenagem do produto final e um banheiro em área externa. Essa deve obedecer às normas sanitárias do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 1985).

Desoperculação

A primeira atividade a ser realizada na casa do mel consiste em retirar os opérculos dos favos, no processo denominado desoperculação. Essa operação é realizada em todos os quadros, tanto de um lado quanto de outro, com o auxílio de um garfo e uma mesa desoperculadores.

O garfo desoperculador é um utensílio com vários filetes pontiagudos de aço inoxidável na extremidade e cabo plástico. A mesa desoperculadora (Figura 2), também de aço inoxidável, é constituída de uma base de apoio aos quadros de mel, peneira e cuba para recebimento do resíduo de mel resultante do processo.



Figura 2: mesa desoperculadora.

Os opérculos retirados são então colocados sobre uma peneira fina, durante 24 h para o recolhimento dos restos de mel. A cera dos opérculos deve ser derretida e coada.

Centrifugação

Após a desoperculação, os quadros são encaminhados para uma centrífuga (Figura 3), a qual pode ser manual ou elétrica. Finda a atividade de centrifugação, os favos são retirados da centrífuga e encaminhados para recolocação nas colmeias.



Figura 3. Centrifuga elétrica utilizada no processamento do mel.

Decantação

O mel recolhido pela centrífuga passa por um processo de filtragem, utilizando-se um coador de tela malha 10, antes da entrada no tanque de decantação (Figura 4). O mel deve permanecer nesse tanque por dois dias para a separação das impurezas, quando então é embalado para estocagem em tonéis.



Figura 4: Tanque de decantação de aço inoxidável utilizado no processamento do mel.

Estocagem

A estocagem do mel é geralmente feita em tonéis (Figura 5) ou em baldes plásticos que devem estar limpos e secos e possuir um processo hermético de

fechamento. Preferencialmente, deve-se utilizar material novo protegido por verniz sanitário, próprio para o armazenamento de alimentos, e não material reaproveitado.



Figura 5: Tonel utilizado na estocagem do mel.

Nesses tonéis o mel deve ficar cerca de dois centímetros abaixo da tampa, evitando-se com isso a manutenção de muito ar no recipiente, ou que o mel encoste-se à tampa. Quando os tonéis estiverem em local definitivo, é conveniente abri-los novamente para fazer a limpeza das tampas e depois fechá-los em definitivo, evitando, com isso, que as gotas de mel que estejam na tampa se oxidem e pinguem no restante do mel contido no recipiente.

Cuidados devem ser tomados também em relação à temperatura de estocagem do mel. Altas temperaturas são prejudiciais à qualidade do produto final, uma vez que o efeito nocivo causado ao mel é acumulativo e irreversível.

Envase

O processo de envasamento deve ser feito preferencialmente com a utilização de embalagens novas e próprias para o acondicionamento de produtos alimentícios. Dentre as embalagens disponíveis no mercado, as que melhor acondicionam o produto são as de vidro, sendo também as mais seguras, pois permitem um bom fechamento hermético. As embalagens de plástico muitas vezes apresentam tampas com vedação precária, o que propicia a absorção de umidade do ambiente, criando condições para o desenvolvimento microbiano no mel.

Quando da passagem do mel das unidades de estocagem para as de comercialização deve-se evitar a formação de bolhas de ar e espuma nos vidros, o que pode ocasionar a fermentação do produto. Assim, aconselha-se posicionar o frasco um pouco inclinado durante o envase, fazendo o mel escorrer pela parede do frasco.

Comercialização

Após o envasamento, o produto é destinado à comercialização, que pode ser feita diretamente ao consumidor, via cooperativas ou particulares. Em alguns casos o mel pode ser negociado por atacado e comercializado diretamente das unidades de estocagem.

2.2 Histórico da Apicultura no Brasil

As abelhas da espécie *Apis mellifera*, oriundas de países europeus, foram introduzidas no Brasil em meados do século XIX, trazidas por padres jesuítas (GONÇALVES, 1998). Nesse período, as abelhas eram criadas de maneira rude e o mel era produzido basicamente para atender às necessidades de consumo dos produtores.

Em função do surgimento de doenças e pragas, em meados do século XX, a atividade apícola no Brasil quase foi extinta, com perda de aproximadamente 80% das colmeias do país (PEREIRA, et al. 2003). Foi então que no ano de 1956, foram introduzidas no Brasil abelhas africanas da subespécie *Apis mellifera scutellata*, na tentativa de aumentar a resistência das abelhas do país. Entretanto, pouco tempo depois, devido a um acidente, 26 enxames de abelhas africanas deixaram suas colmeias e começaram a cruzar com outras subespécies de abelhas europeias já existentes no Brasil (OLIVEIRA, et al. 2005). O resultado da liberação das abelhas africanas gerou enorme problema no país, devido à alta agressividade dessas abelhas, que passaram a ser consideradas pragas para a agricultura, levando muitos apicultores a abandonar a atividade no país.

Na tentativa de resolver o problema e permitir o desenvolvimento da prática apícola, a solução foi distribuir para os produtores rainhas italianas virgens, para cruzar

com zangões africanos, a fim de se obter abelhas mais produtivas e menos agressivas, conhecidas como abelhas africanizadas (PEREIRA, et al. 2003).

Outros fatores que também contribuíram para o avanço da apicultura no país foram: a troca de informações entre produtores e pesquisadores em congressos e simpósios; a elaboração de concursos premiando novos inventos; a liberação de créditos para a prática apícola; o investimento em pesquisas; a instituição da Confederação Brasileira de Apicultura em 1967 e a valorização progressiva de outros produtos apícolas (PEREIRA, et al. 2003).

Hoje em dia, essas abelhas chamadas de africanizadas, são as responsáveis pelo desenvolvimento da apicultura no país, de modo que a produção de mel no Brasil aumentou bastante nos últimos anos, com mais de 41 mil toneladas de mel produzidas em 2011 (FAO, 2011).

2.3 Produção de mel no mundo

De acordo com a *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO), a quantidade estimada de mel de abelha produzida no mundo, no ano de 2011, foi de 1,6 milhão de toneladas. A China lidera o *ranking* de maiores produtores de mel no mundo (Tabela 1), com um pouco mais de 446 mil toneladas de mel produzidas nesse mesmo ano. Sua superioridade se torna ainda mais evidente quando comparada aos demais países produtores. A Turquia, por exemplo, 2^a colocada no *ranking* (Tabela 1), produziu um pouco mais de 94 mil toneladas do produto no mesmo período.

Na América Latina, a Argentina é a maior produtora de mel de abelha (Tabela 1) com estimativas de 59 mil toneladas de mel produzidas em 2011. Já o Brasil, ocupa a 11^a posição na produção mundial de mel, com um pouco mais de 41,5 mil toneladas produzidas no mesmo ano (Tabela 1) (FAO, 2011).

Tabela 1. Maiores produtores de mel no mundo no ano de 2011 (FAO).

Posição	País	Produção (t)
1°	China	446.089
2°	Turquia	94.245
3°	Ucrânia	70.300
4°	Estados Unidos	67.000
5°	Rússia	60.010
6°	Índia	60.000 ^(*)
7°	Argentina	59.000 ^(*)
8°	México	57.783
9°	Etiópia	53.675
10°	Irã	47.000 ^(*)
11°	Brasil	41.578

^(*) Valores estimados

2.4 Produção de mel no Brasil

O Brasil produziu 41,5 mil toneladas de mel de abelha em 2011. Comparando-se os censos do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) de 2001 a 2011, verifica-se que a atividade desse setor no país quase dobrou nesse período (Figura 6), passando de 22,2 mil toneladas de mel produzidas em 2001 para 41,5 mil toneladas produzidas em 2011, o suficiente para colocar o Brasil entre os 11 maiores produtores de mel de abelha do mundo (IBGE, 2001–2011).

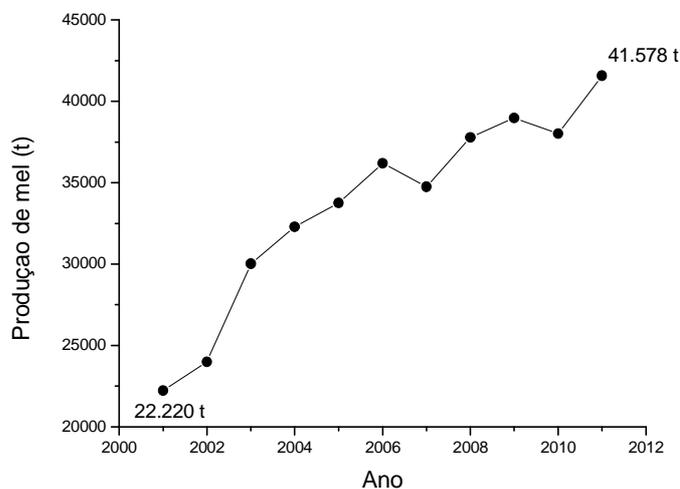


Figura 6: Produção de mel no Brasil de 2001 a 2011 (IBGE).

A demanda proveniente do mercado externo foi um dos fatores que contribuiu para a expansão dessa atividade no país (SEBRAE, 2011), ao encontrar preços mais atrativos no mel brasileiro devido à falta de mel no mercado internacional entre os anos de 2002 e 2004, ocasionada pela saída de grandes exportadores mundiais, tais como China e Argentina, o que provocou um aumento do preço do mel de abelha no mundo (VIDAL, 2010).

Outro fator que também colocou o Brasil em posição de vantagem em relação aos demais países concorrentes foi a preferência do mercado externo por produtos sem agrotóxicos, já que as abelhas do país são mais resistentes a doenças, o que torna desnecessário o uso de defensivos, antibióticos e acaricidas na produção do mel (SEBRAE, 2011).

Segundo dados do IBGE sobre a produção de mel no Brasil por região, em 2011, a Região Nordeste ultrapassou a Região Sul, tornando-se a maior produtora de mel do país (Tabela 2). Ao detalhar os dados nacionais no período de 2001 e 2011, registra-se uma expansão na produção de mel em todas as regiões do Brasil, com destaques para as regiões Norte e Nordeste que tiveram os maiores crescimentos percentuais (Tabela 2).

Tabela 2. Produção de mel no Brasil por região em 2001 e 2011 (IBGE).

Região	Produção de mel em 2001 (t)	Produção de mel em 2011 (t)	Taxa de crescimento (%)
Sul	12.745	16.155	26,8
Sudeste	4.686	6.150	31,2
Norte	317	946	198,4
Nordeste	3.800	16.911	345,0
Centro-Oeste	670	1.416	111,3

Com relação aos estados que mais produzem mel de abelha no Brasil, entre os dez maiores produtores, cinco são do Nordeste e três do Sul, o que reforça a supremacia dessas regiões no cenário nacional. O Estado do Rio Grande do Sul, com 6,9 mil toneladas de mel produzidas em 2011, assume a liderança do *ranking*, seguido pelos estados do Paraná e Piauí (Tabela 3).

Tabela 3. Estados com maior produção de mel no Brasil em 2011 (IBGE).

Posição	Estados	Produção de mel em 2011 (t)
1°	Rio Grande do Sul	6.985
2°	Paraná	5.179
3°	Piauí	5.108
4°	Ceará	4.165
5°	Santa Catarina	3.990
6°	Minas Gerais	3.076
7°	Bahia	2.646
8°	Pernambuco	2.350
9°	São Paulo	2.229
10°	Maranhão	1.107

Em relação aos municípios brasileiros com relevante atividade apícola, a cidade de Araripina, no Sertão pernambucano, lidera o *ranking* nacional, com 780 toneladas de mel produzidas em 2011. Limoeiro do Norte, no Ceará, aparece em segundo lugar com 480 toneladas no mesmo ano. Dos dez maiores municípios produtores sete estão localizados na Região Nordeste e dois na Região Sul. A cidade de Itamarandiba no Estado de Minas Gerais completa o *ranking* (Tabela 4) (IBGE, 2011).

Tabela 4. Os 10 municípios com maior produção de mel no Brasil em 2011 (IBGE).

Posição	Municípios	Produção de mel em 2011 (t)
1°	Araripina – PE	780
2°	Limoeiro do Norte – CE	480
3°	Picos – PI	443
4°	Ribeira do Pombal – MA	430
5°	Santana do Cariri – CE	421
6°	Bom Retiro – SC	405
7°	Itamarandiba – MG	380
8°	Apodi – RN	365
9°	Campo Grande do Piauí – PI	347
10°	Prudentópolis – PR	323

2.5 Produção de mel no Nordeste

A produção de mel no Nordeste foi de 16,9 mil toneladas em 2011 (IBGE, 2011). Entre os anos de 2001 e 2011 ocorreu um aumento significativo da participação da produção apícola nordestina em relação à produção nacional. A participação da Região Nordeste que correspondia a apenas 17,1% da produção brasileira em 2001, passou a representar 40,7% da produção nacional em 2011 (Figura 7), tornando-se a maior produtora de mel no país.

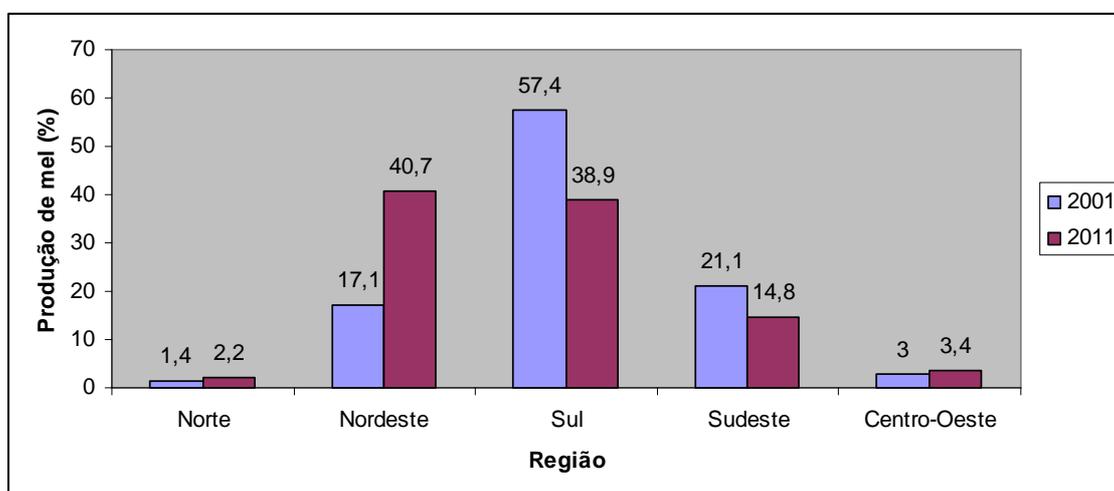


Figura 7: Evolução da participação da Região Nordeste na produção nacional de mel (IBGE).

Esse relevante crescimento na produção de mel no Nordeste pode ser explicado devido ao baixo custo de implantação e manutenção, além do rápido retorno financeiro, da criação de abelhas melíferas, que se tornou uma importante atividade geradora de renda e ocupação de mão-de-obra na Região (VIDAL, 2010).

Na análise por estados (Tabela 5), o Piauí lidera a produção na Região com 5,1 mil toneladas de mel produzidas em 2011. Juntamente com os estados do Ceará e Bahia, são responsáveis por 70,5% da produção na Região (IBGE, 2011).

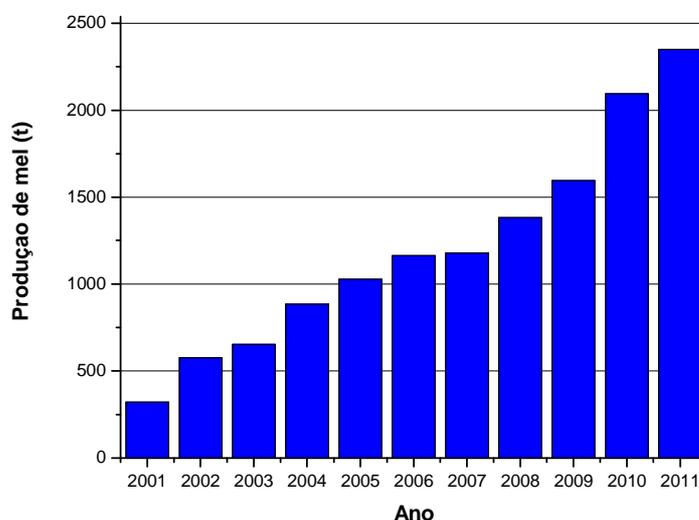
Tabela 5. Produção de mel na Região Nordeste do Brasil em 2011 (IBGE).

Posição	Estados	Produção de mel em 2011 (t)
1°	Piauí	5.108
2°	Ceará	4.165
3°	Bahia	2.646
4°	Pernambuco	2.350
5°	Maranhão	1.107
6°	Rio Grande do Norte	904
7°	Paraíba	303
8°	Alagoas	213
9°	Sergipe	114

2.6 Produção de mel em Pernambuco

Pernambuco foi um dos estados a apresentar maior crescimento na atividade apícola no país, respondendo por aproximadamente 13,9% do mel produzido pela Região Nordeste em 2011. Em 2001, essa participação era bem menor, apenas 8,42% do total. De acordo com o censo de 2011 do IBGE, o Estado encontra-se como 8° maior produtor de mel do País (IBGE, 2011).

O crescimento da atividade apícola no Estado entre os anos de 2001 e 2011 pode ser observado na Figura 8:

**Figura 8:** Evolução da produção de mel no Estado de Pernambuco entre 2001 e 2011 (IBGE).

Ao analisar a produção de mel pelas mesorregiões do Estado (Tabela 6), o Sertão pernambucano se sobressai com 2,2 mil toneladas de mel produzidas em 2011 (IBGE, 2011). Essa quantidade representa 93,7% da produção total de mel no Estado.

Tabela 6. Produção de mel por mesorregião do Estado de Pernambuco em 2011 (IBGE).

Posição	Mesorregião	Produção de mel em 2011 (t)
1°	Sertão	2.201,7
2°	Agreste	83,5
3°	Região Metropolitana	34,6
4°	São Francisco	17,4
5°	Zona da Mata	12,8

Na análise por municípios (Tabela 7), a cidade de Araripina, no Sertão pernambucano, aparece como maior produtora, com enorme vantagem em relação aos demais municípios. O total de mel produzido em Araripina no ano de 2011 foi mais do que o dobro da produção de Bodocó, segundo lugar no *ranking* estadual (IBGE, 2011).

Tabela 7. Os 10 maiores municípios pernambucanos produtores de mel em 2011 (IBGE).

Posição	Municípios	Produção de mel em 2011 (t)
1°	Araripina	780
2°	Bodocó	302
3°	Ibimirim	290
4°	Ouricuri	205
5°	Ipubi	152,2
6°	Trindade	105
7°	Exu	103
8°	Moreilândia	70
9°	Passira	40
10°	Tabira	35

2.7 Prejuízos causados pela seca à apicultura do Nordeste em 2012

A produção de mel de abelha no Brasil, no ano de 2012, foi fortemente afetada devido à falta de floração, principalmente na região do Sertão nordestino em consequência da seca ocorrida nesse período, levando à extinção desta atividade em muitas áreas.

Segundo dados do último censo do IBGE, divulgado em outubro de 2013, a produção de mel de abelha no país teve uma redução de 19,3% entre os anos de 2011 e 2012. Ressalta-se a grande queda de produção nos estados do Nordeste do país, sobretudo no Piauí, Ceará, Pernambuco e Bahia. As Regiões Sudeste, Sul e Centro-Oeste até aumentaram suas produções em 2012, mas em volume insuficiente para compensar as acentuadas quedas do Nordeste e do Norte do país.

A produção de mel no Nordeste teve uma relevante queda de aproximadamente 54,5%, se comparada ao mesmo período do ano de 2011, passando de 16,9 mil toneladas em 2011 para 7,7 mil toneladas de mel produzidas em 2012, contribuindo efetivamente para a queda na produção nacional que vinha em ascensão nos últimos anos.

A cidade de Araripina em Pernambuco foi a que mais sofreu com a seca no Nordeste em 2012, tendo uma redução de aproximadamente 90% na produção de mel, passando de 780 toneladas produzidas em 2011 para apenas 80 toneladas de mel em 2012, o que a levou de maior município produtor de mel no país em 2011 para a não figuração entre os 20 maiores produtores de mel no ano seguinte (IBGE, 2012).

2.8 Contaminação do mel de abelha por metais pesados

O ar e o solo contêm metais pesados, principalmente de indústrias e tráfego de veículos, os quais podem contaminar as colmeias de abelhas e seus produtos.

Como as abelhas são capazes de voar num raio de até 4 km ao redor do apiário na procura por néctar ou exsudatos, tendo acesso a uma área de aproximadamente 50 km², elas entram em contato com plantas, água, ar e solo (Figura 9). Com isso, os contaminantes oriundos dessas fontes ambientais, tais como os metais pesados, podem

depositar-se nos pelos dos corpos das abelhas, alcançando a matéria-prima dos produtos apícolas e sendo transportados para as colmeias (MAGALHÃES, 2010).

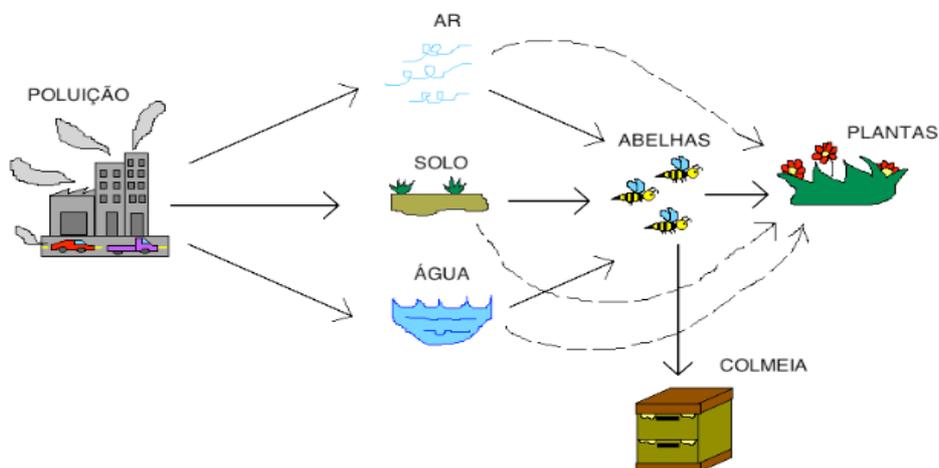


Figura 9: Fontes de contaminação por metais pesados dos produtos apícolas.

Falhas no processo de produção do mel desde a etapa de construção das colmeias até a comercialização, principalmente durante a etapa de armazenagem podem contribuir de maneira efetiva para a contaminação do mel.

A adulteração do mel pela adição de açúcares da cana ou da beterraba e/ou açúcares obtidos a partir da hidrólise do amido pode também ser uma fonte de contaminação por metais pesados.

A presença de metais pesados nos produtos apícolas, em níveis acima dos estabelecidos pela legislação vigente representa ameaça para os seres humanos em função da sua toxicidade e dos seus efeitos cumulativos no organismo (MAGALHÃES, 2010).

Os principais metais pesados responsáveis pela contaminação dos produtos apícolas são: cádmio (Cd), chumbo (Pb), cobre (Cu), zinco (Zn), cromo (Cr), manganês (Mn), níquel (Ni), prata (Ag), ferro (Fe), alumínio (Al), cobalto (Co) e estrôncio (Sr) (FRANCHINI, et al. 2007).

O Cd e o Pb são os metais pesados mais estudados por serem considerados os mais tóxicos, embora metais menos tóxicos como Cu e Zn também recebam destaque.

2.8.1 Cádmio (Cd)

O Cd é um elemento naturalmente presente em pequenas quantidades no ar, na água, no solo e nos alimentos e é encontrado quase sempre associado ao Zn devido à semelhança química. As principais fontes de contaminação ambiental por Cd são as indústrias de fundição, os processos de galvanoplastia, eletrodos de baterias, a fabricação de plásticos coloridos e de pigmentos de tintas. Este metal é bastante lesivo à saúde humana e gera enormes impactos ao meio ambiente, sendo também um agente cancerígeno e teratogênico, além disso, pode causar danos ao sistema reprodutivo (BAIRD, 2002).

De acordo com a legislação internacional, o limite máximo de Cd para o mel de abelha é de $0,5 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2001). A legislação brasileira também estabelece limite de $0,5 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ para o Cd em mel (BRASIL, 2013).

2.8.2 Chumbo (Pb)

O Pb dificilmente é encontrado em seu estado elementar. Seu mineral mais comum é a galena, composta de sulfeto de chumbo(II). Se em excesso no organismo, pode ocasionar danos a diversos órgãos e tecidos tais como cérebro, fígado, rins, pulmões, sistema hematopoiético, entre outros (MOREIRA, et al. 2004).

A presença de chumbo no ar é originada a partir do tráfego de motores e pode contaminar o néctar. E mesmo com o avanço tecnológico nas indústrias de veículos automotores, com a utilização de catalisadores nos motores dos carros, ainda existem inúmeros relatos de contaminações por Pb em áreas bastante poluídas (BOGDANOV, 2006).

De acordo com a legislação internacional o limite máximo de Pb para o mel de abelha é de $1,0 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2001). A legislação brasileira estabelece limite máximo de apenas $0,5 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ para o Pb (BRASIL, 2013).

2.8.3 Cobre (Cu)

O Cu e seus compostos estão presentes em abundância na crosta terrestre. Ele é um elemento essencial à vida, participando no processo de fixação do ferro na hemoglobina do sangue. Entretanto, se em excesso no organismo, tende a se acumular no sangue e esgotar as reservas de zinco do cérebro, podendo gerar disfunções comportamentais, insônia, queda de cabelos, nervosismo, irritabilidade, distúrbios psiquiátricos, fadiga, depressão, entre outros. As principais fontes de poluição ambiental por cobre incluem: atividades de mineração e fundição, queima de carvão, incineradores de resíduos municipais, agentes antiaderentes em pinturas, fertilizantes, fungicidas e liberação de resíduos advindos de rodovias (LEBLEBICI, et al. 2008; KABATA-PENDIA, et al. 2000).

De acordo com a legislação internacional, os valores máximos de Cu em alimentos não devem exceder a $10,0 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2001). A legislação brasileira não estabelece limites para Cu em mel.

2.8.4 Zinco (Zn)

O Zn é o 23º elemento em abundância na crosta terrestre. Seus principais minérios são a esfalerita (sulfetos), smithsonita (carbonato), hemimorfita (silicato) e franklinita (óxido). Excesso de zinco no organismo pode ocasionar uma deficiência de cobre e levar a uma depressão do sistema imune. Efeitos tóxicos podem incluir tonturas, vômitos, letargias e anemia. De acordo com os dados da literatura as principais fontes de contaminação por zinco na atmosfera terrestre são a poluição gerada pela queima de combustíveis fósseis e a produção de ligas metálicas (KABATA-PENDIA, et al. 2000).

A legislação internacional estabelece um limite de $10,0 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de Zn em alimentos (CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2001). Já a legislação brasileira não estabelece limites para esse metal.

2.9 Voltametria

A técnica comumente usada na análise de metais pesados em mel de abelha é a espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ETAAS, do inglês *Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry*). Entretanto, no presente trabalho o estudo de contaminação do mel por metais pesados foi realizado através da utilização de uma técnica voltamétrica.

O ramo da eletroquímica conhecido como voltametria desenvolveu-se a partir da polarografia, descoberta pelo químico checoslovaco Jaroslav Heyrovsky em 1922. A característica comum dos métodos voltamétricos é que eles dependem da medida da corrente (i), em função de um potencial aplicado (E) a um eletrodo de trabalho (KOUNAVES, 1997).

As vantagens de se utilizar as técnicas voltamétricas incluem alta sensibilidade, alta frequência de amostragem, determinação simultânea de vários analitos, capacidade de determinar parâmetros cinéticos e mecanísticos e facilidade com que potenciais em forma de onda podem ser gerados e pequenas correntes medidas (KOUNAVES, 1997).

A voltametria é altamente empregada em estudos de processos de oxidação e redução, processos de adsorção às superfícies, mecanismos de transferência de elétrons em superfícies modificadas de eletrodos, determinação da concentração de íons metálicos em diferentes meios, dentre outras coisas (KOUNAVES, 1997; SKOOG, et al. 2009).

2.9.1 Teoria Geral da Voltametria

Os efeitos do potencial aplicado e do comportamento da corrente redox são descritos por várias leis.

O potencial aplicado controla as concentrações do par redox (C_O^0 e C_R^0) na superfície do eletrodo de trabalho, de acordo com a equação de Nernst:

$$E = E^0 - \frac{RT}{nF} \ln \frac{C_R^0}{C_O^0} \quad \text{Equação 1}$$

na qual R é a constante dos gases perfeitos ($8,3144 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$), T é a temperatura absoluta (K), n é o número de elétrons transferidos, F é a constante de Faraday ($96.485 \text{ C.mol}^{-1}$), e E^0 é o potencial de redução padrão para o par redox.

O potencial aplicado também controla a constante de velocidade da reação (k^0), descrita pela equação de Butler-Volmer:

$$\frac{i}{nFA} = k^0 \{C_O^0 \exp[-\alpha\theta] - C_R^0 \exp[(1 - \alpha)\theta]\} \quad \text{Equação 2}$$

em que $\theta = nF(E - E^0) / RT$, α é o coeficiente de transferência e A é a área do eletrodo. Essa relação nos permite obter os valores de dois parâmetros analiticamente importantes i e k^0 .

Por fim, a lei de Fick estabelece que o fluxo de matéria (Φ) é diretamente proporcional ao gradiente de concentração, através da equação:

$$\Phi = -AD_O(\partial c_O / \partial x) \quad \text{Equação 3}$$

na qual D_O é o coeficiente de difusão da espécie oxidada e x é a distância até a superfície do eletrodo. Uma equação análoga pode ser obtida para a espécie reduzida ao substituir O por R .

2.9.2 Instrumentação

Os componentes básicos de um sistema eletroanalítico para voltametria são um potenciostato/galvanostato, um computador, uma cela eletroquímica composta por três eletrodos (trabalho, referência e auxiliar) e um agitador (Figura 10).

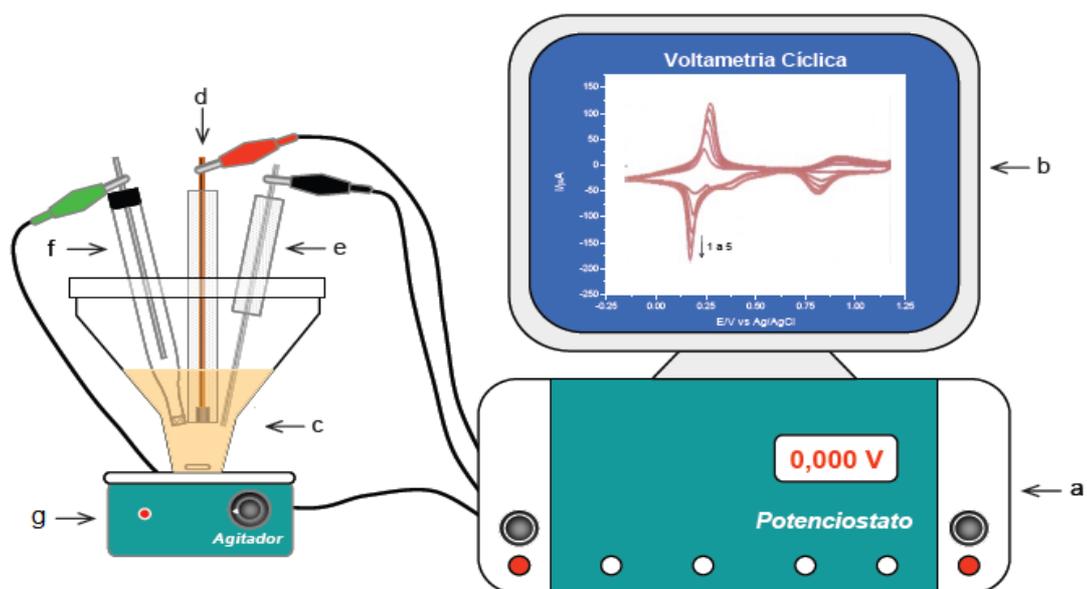


Figura 10: Componentes de um sistema voltamétrico (a) potenciostato/galvanostato, (b) computador, (c) cela eletroquímica, (d) eletrodo de trabalho, (e) eletrodo auxiliar, (f) eletrodo de referência, (g) agitador.

2.9.2.1 Ponteciostato/galvanostato

Sua função é aplicar um potencial conhecido entre o eletrodo de trabalho e o auxiliar e monitorar a corrente obtida.

2.9.2.2 A cela e os eletrodos

Uma típica cela eletroquímica consiste na amostra dissolvida num solvente, um eletrólito iônico e três eletrodos. O material da cela é selecionado para minimizar a reação com a amostra. Em muitos casos o eletrodo de referência deve estar tão próximo quanto possível do eletrodo de trabalho e em alguns casos até necessite ser colocado em um compartimento separado para evitar contaminação.

Eletrodos de trabalho

Os eletrodos de trabalho são de materiais diversos, que vão desde pequenas gotas de mercúrio (Hg) até discos de platina (Pt). O Hg é útil por exibir uma variação negativa de potencial, sua superfície é prontamente regenerada através da produção de uma nova gota e muitos íons metálicos podem ser reversivelmente reduzidos lá. Outros materiais que também podem ser utilizados na fabricação de eletrodos de trabalho são ouro (Au), carbono vítreo, grafite etc.

Eletrodos de referência

Os eletrodos de referência devem fornecer uma meia-reação reversível com comportamento Nernstiniano, ser constante ao longo do tempo e ser fácil de montar e manter. Os eletrodos de referência mais comuns são o de calomelano saturado (SCE, do inglês *Saturated Calomel Electrode*), com um potencial determinado pela reação $\text{Hg}_2\text{Cl}_2(\text{s}) + 2\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{Hg}(\text{l}) + 2\text{Cl}^-$ e o eletrodo de prata/cloreto de prata (Ag/AgCl), com um potencial determinado pela reação $\text{AgCl}(\text{s}) + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{Ag}(\text{s}) + \text{Cl}^-$.

Eletrodos auxiliares

São introduzidos na cela eletroquímica para assegurar o sistema potencioestático. São normalmente constituídos por um fio de Pt fina, embora Au e por vezes carbono vítreo também tenham sido utilizados.

2.9.3 Técnicas voltamétricas

2.9.3.1 Polarografia

A polarografia foi a primeira técnica voltamétrica a ser descoberta e empregada. A diferença da polarografia em relação às demais técnicas voltamétricas consiste no seu

papel de destaque na história da eletroquímica, assim como do seu eletrodo de trabalho único, o eletrodo gotejante de mercúrio (DME, do inglês *Dropping Mercury Electrode*) (KOUNAVES, 1997).

O DME consiste de um capilar de vidro, por meio do qual o mercúrio flui sob gravidade formando uma sucessão de gotas. Cada nova gota de mercúrio fornece uma superfície limpa onde o processo redox acontece, dando origem a um aumento da corrente à medida que a gota cresce e, em seguida, diminuindo quando a gota cai.

A Figura 11 apresenta dois polarogramas – um referente a uma solução 1,0 mol.L⁻¹ de ácido clorídrico (HCl) e 5,0 x 10⁻⁴ mol.L⁻¹ de Cd²⁺ (curva A) e o outro referente a uma solução de HCl 1,0 mol.L⁻¹ (curva B) (SKOOG, et al. 2009).

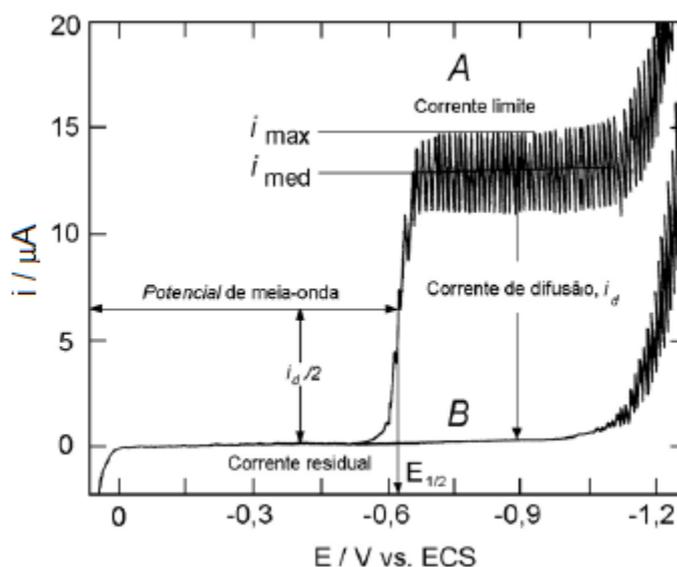


Figura 11: Polarogramas para A, uma solução de HCl 1,0 mol . L⁻¹ e 5,0 x 10⁻⁴ mol.L⁻¹ de Cd²⁺ e B, uma solução de HCl 1,0 mol.L⁻¹.

A onda polarográfica da curva A corresponde à reação



na qual Cd(Hg) representa o Cd elementar amalgamado ao Hg. O Aumento brusco de corrente que ocorre em aproximadamente -1,0 V em ambas as curvas é provocado pela redução dos íons hidrogênio para formar o gás hidrogênio (H₂). A análise da curva B para o eletrólito de suporte revela apenas a presença de uma pequena corrente denominada corrente residual (corrente observada na ausência de uma espécie eletroativa).

As correntes limites são observadas quando a grandeza da corrente é limitada pela velocidade de condução do analito à superfície do eletrodo. Como o mecanismo de transporte de massa na polarografia é a difusão, suas correntes limites são denominadas correntes de difusão (i_d). A corrente de difusão é a diferença entre a máxima (ou média) corrente limite e a corrente residual. A corrente de difusão (i_d) é diretamente proporcional à concentração (c) do analito na solução, de acordo com a equação de Ilkovic:

$$(i_d)_{m\acute{a}x} = 708nD^{1/2}m^{2/3}t^{1/6}c \quad \text{Equação 4}$$

a qual leva em consideração a velocidade de crescimento do eletrodo de mercúrio, que está relacionada ao tempo da gota em segundos, t ; à velocidade do fluxo de mercúrio no capilar m (em $\text{mg}\cdot\text{s}^{-1}$) e ao coeficiente de difusão D do analito, em $\text{cm}^2\cdot\text{s}^{-1}$.

2.9.3.2 Voltametria Cíclica

A voltametria cíclica (CV, do inglês *Cyclic Voltammetry*) é uma técnica eletroanalítica amplamente utilizada em muitas áreas da química no estudo dos processos redox, na detecção de intermediários de reações e no acompanhamento de reações envolvendo produtos formados nos eletrodos (KOUNAVES, 1997).

Essa técnica baseia-se na variação do potencial aplicado a um eletrodo de trabalho em ambas as direções (direta e inversa) enquanto a corrente é medida.

Na CV, o sinal de excitação da corrente é em forma de uma onda triangular (Figura 12), produzindo uma varredura no sentido direto e no sentido inverso.

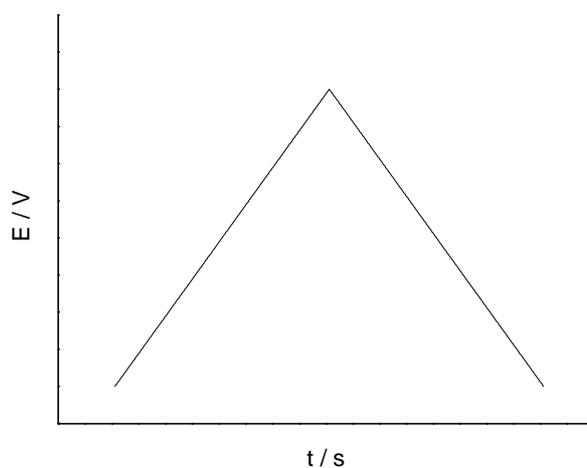


Figura 12: Sinal de excitação em Voltametria Cíclica.

A resposta típica obtida a partir da CV pode ser vista na Figura 13:

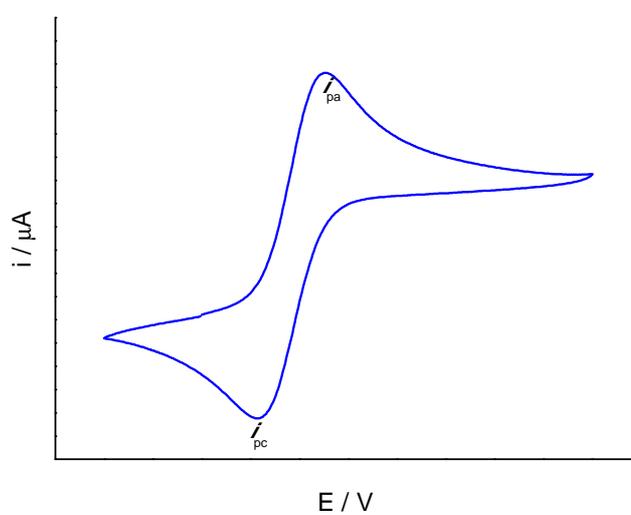


Figura 13: Típico voltamograma cíclico.

Em um voltamograma cíclico, os parâmetros importantes a serem considerados são os potenciais de pico (E_{pc} , E_{pa}) e as correntes de pico (i_{pc} , i_{pa}) em picos catódico e anódico, respectivamente. Se o processo de transferência de elétrons é rápido, a reação é dita ser eletroquimicamente reversível e a separação de pico pode ser descrita como:

$$\Delta E_p = |E_{pa} - E_{pc}| = 2,303 RT / nF \quad \text{Equação 5}$$

Assim, para uma reação redox reversível a 25 °C com n elétrons, ΔE_p deve ser $0,0592/n$ V ou cerca de 60 mV para um elétron. Na prática, esse valor é muito difícil de ser atingido devido a fatores tais como a resistência da cela. A irreversibilidade devido a uma lenta velocidade de transferência de elétrons resulta em $\Delta E_p > 0,0592/n$ V, maior que 70 mV, por exemplo, para a reação de um elétron.

O potencial de redução (E^0) para um par reversível é dado por:

$$E^0 = \frac{E_{pc} + E_{pa}}{2} \quad \text{Equação 6}$$

Para uma reação reversível, a concentração relaciona-se com a corrente de pico através da equação de Randles-Sevcik (a 25 °C):

$$i_p = 2,686 \times 10^5 n^{3/2} A c_0 D^{1/2} \nu^{1/2} \quad \text{Equação 7}$$

Na qual i_p é a corrente de pico em amperes; A é a área de eletrodo (em cm^2); D é o coeficiente de difusão (em $\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$); c_0 é a concentração (em $\text{mol} \cdot \text{cm}^{-3}$) e ν é a velocidade de varredura (em $\text{V} \cdot \text{s}^{-1}$).

2.9.3.3 Métodos de Pulso

A fim de aumentar a velocidade e a sensibilidade, muitas formas de modulação de potencial foram estudadas ao longo dos anos (KOUNAVES, 1997).

As técnicas de pulso mais amplamente utilizadas são: a voltametria de pulso normal (NPV, do inglês *Normal Pulse Voltammetry*), a voltametria de pulso diferencial (DPV, do inglês *Differential Pulse Voltammetry*) e a voltametria de onda quadrada (SWV, do inglês *Square-Wave Voltammetry*).

Voltametria de Pulso Normal (NPV)

Essa técnica utiliza pulsos de potenciais de amplitudes crescentes (Figura 14). A corrente é medida perto do final de cada pulso. É realizada normalmente em uma solução sem agitação em qualquer DME ou eletrodos sólidos.

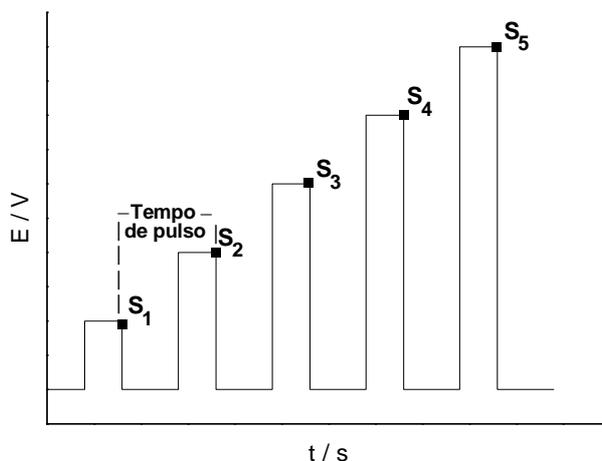


Figura 14: Sinal de excitação em NPV.

Voltametria de Pulso Diferencial (DPV)

Essa técnica difere da NPV porque cada pulso de potencial aplicado é fixo, de pequena amplitude e sobreposto a uma mudança lenta de potencial de base (Figura 15). A corrente é medida em dois pontos para cada pulso, o primeiro ponto, pouco antes da aplicação do pulso e o segundo, no final do pulso. Essas correntes são subtraídas, uma vez que a primeira é a contribuição da corrente capacitiva e a segunda é a contribuição da corrente faradaica e, então, constrói-se o gráfico dessa diferença *versus* o potencial da rampa linear, gerando um voltamograma com a forma de uma curva gaussiana (SOUZA, et al. 2003).

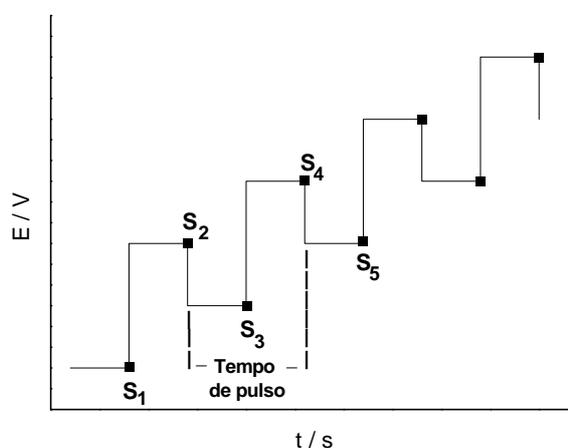


Figura 15: Sinal de excitação em DPV.

Voltametria de Onda Quadrada (SWV)

O sinal de excitação nessa técnica consiste de um pulso de onda quadrada simétrico de amplitude sobreposto a um sinal em forma de escada (Figura 16).

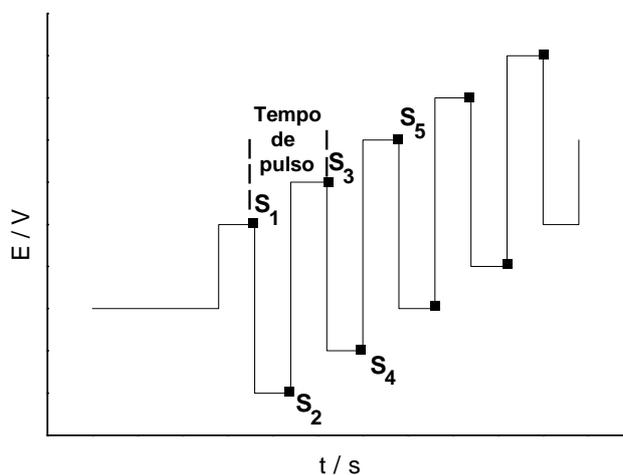


Figura 16: Sinal de excitação em SWV.

A SWV tem várias vantagens. Dentre elas estão a sua excelente sensibilidade e a rejeição das correntes capacitivas. Outra vantagem é a velocidade (KOUNAVES, 1997).

2.9.3.4 Pré-concentração e as técnicas de redissolução

A eletroquímica de redissolução consiste na remoção oxidativa ou redutiva de átomos, íons ou compostos da superfície de um eletrodo. Geralmente, esses átomos, íons ou compostos são preliminarmente imobilizados na superfície de um eletrodo inerte como resultado de uma etapa de pré-concentração, enquanto os produtos da redissolução serão dissolvidos na solução eletrolítica (LOVRIC, 2005).

Métodos eletroanalíticos de redissolução compreendem três etapas: a primeira consiste na acumulação de um analito dissolvido sobre um eletrodo de trabalho após a aplicação de um potencial (essa etapa é chamada de deposição ou pré-concentração), seguida por uma etapa de repouso e, logo após, uma terceira etapa que é a subsequente redissolução da substância acumulada.

Na voltametria de redissolução deve haver duas relações lineares independentes: a primeira entre a atividade da substância acumulada e a concentração do analito na amostra e a segunda entre a máxima corrente de redissolução e a atividade da substância acumulada. Assim, existe uma relação linear cumulativa entre a máxima resposta e a concentração do analito. Entretanto, a capacidade do eletrodo para a acumulação do analito é limitada e a condição de linearidade é satisfeita somente bem abaixo da saturação do eletrodo. Por este motivo, a voltametria de redissolução é usada apenas em análises de traço (LOVRIC, 2005).

As técnicas de redissolução têm menores limites de detecção do que qualquer uma das técnicas eletroanalíticas comumente usadas. As três variações mais usadas são a voltametria de redissolução anódica (ASV, do inglês *Anodic Stripping Voltammetry*), a voltametria de redissolução catódica (CSV, do inglês *Cathodic Stripping Voltammetry*), e a voltametria de redissolução adsortiva (AdSV, do inglês *Adsorptive Stripping Voltammetry*).

2.9.3.4.1 Voltametria de Redissolução Anódica (ASV)

A ASV é a técnica voltamétrica mais amplamente utilizada para a determinação de traços metálicos. Ela consiste na aplicação de um potencial (E_d) suficientemente negativo (-1,0 V) por um determinado tempo (t_d), que permita a acumulação dos íons metálicos, que estão em solução, na superfície de um eletrodo de mercúrio segundo a reação $M^{n+} + Hg + ne^- \rightleftharpoons M(Hg)$ (etapa de deposição ou pré-concentração). Após um período de repouso (t_r), esses metais amalgamados são então re-oxidados para a solução, pela varredura do potencial aplicado na direção positiva (etapa de redissolução). As correntes de pico resultantes (i_p) são proporcionais à concentração de cada metal na solução de amostra, com um potencial de pico (E_p) específico para cada metal (Figura 17).

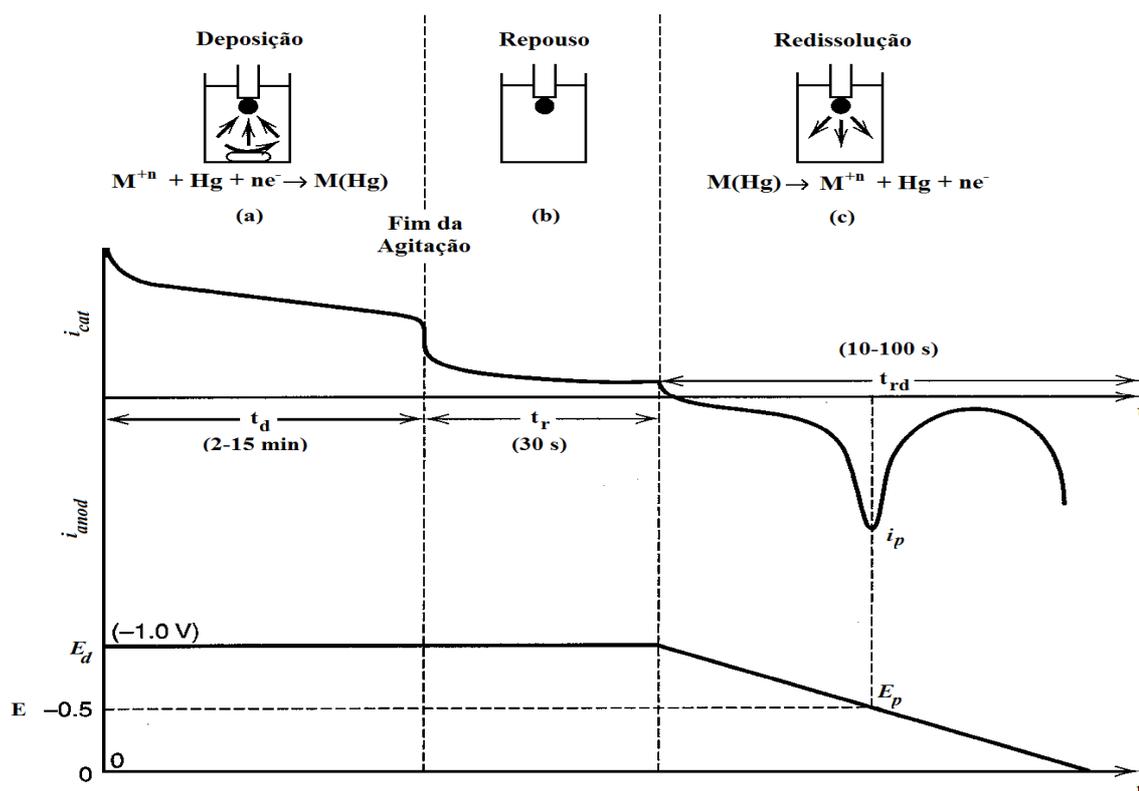


Figura 17: Etapas da ASV. (a) Deposição, (b) Repouso, (c) Redissolução.

Um típico voltamograma de ASV pode ser observado na Figura 18. Cada pico de redissolução está associado a um potencial específico para cada metal. Na figura são mostrados os picos de redissolução referentes ao Zn, Cd, Pb e Cu.

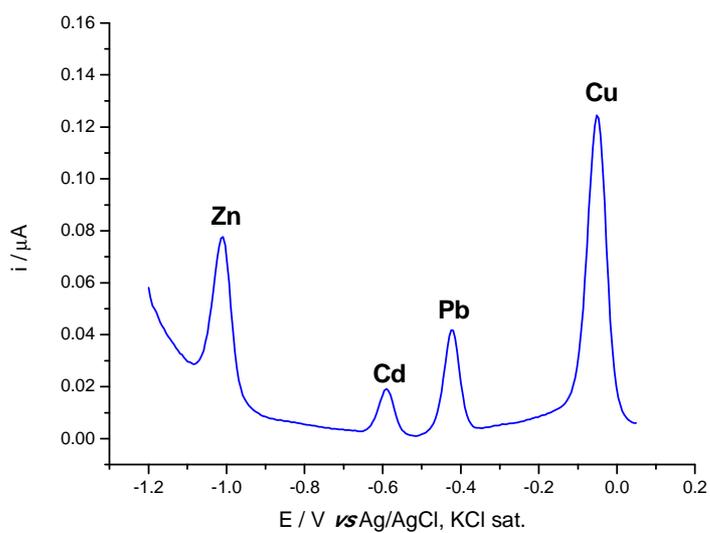


Figura 18: Resposta típica de ASV.

Eletrodo de gota pendente de mercúrio (HMDE)

O eletrodo de gota pendente de mercúrio (HMDE, do inglês *Hanging Mercury Drop Electrode*) (Figura 19) pode ser utilizado como eletrodo de trabalho na análise de metais por ASV. Ele consiste em um tubo capilar ligado a um reservatório que contém mercúrio metálico puro. À medida que o mercúrio impulsionado pela passagem de $14,5 \text{ lb}\cdot\text{pol}^{-2}$ de N_2 5.0 Analítico passa através do capilar, forma-se uma gota perfeitamente definida no orifício de saída. Uma gota madura tem um diâmetro da ordem de 1 mm (BARD, et al. 2001), mas no caso do HMDE são geradas gotas muito menores (denominadas pelo fabricante de tamanhos 1, 2 ou 3).

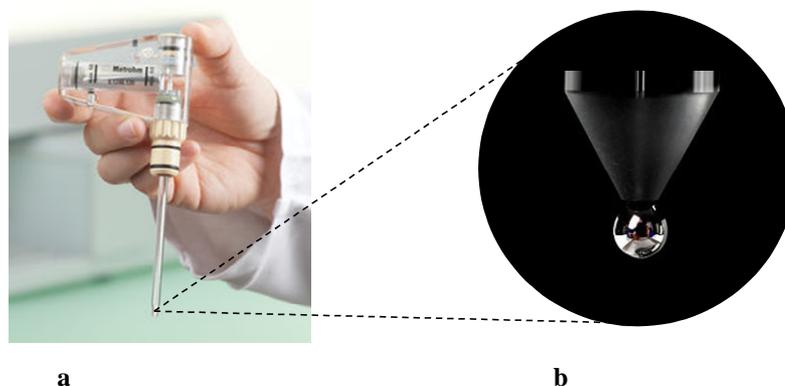


Figura 19: (a) Eletrodo de gota pendente de mercúrio, HMDE, (b) detalhe da gota pendente.

A vantagem do uso do HMDE é que a área do eletrodo é sempre reprodutiva e a superfície é constantemente renovada. Além disso, o eletrodo não sofre modificações provocadas por depósitos em sua superfície, eliminando possíveis efeitos de passivação ou envenenamento. Outra vantagem é o alto sobrepotencial para a descarga de hidrogênio na superfície do mercúrio, permitindo observar reações de eletrodo que ocorrem em potenciais muito negativos (BARD, et al. 2001).

A principal desvantagem deste eletrodo é a incapacidade de operar em potenciais mais positivos que $0,00 \text{ V vs SCE}$. O limite anódico decorre da oxidação do mercúrio, às vezes próxima desse potencial, embora isso dependa muitas vezes do meio (BARD, et al. 2001).

Deposição do Metal em Eletrodos de Mercúrio

Sistemas metálicos nos quais o mercúrio é um de seus componentes são chamados de amálgamas. Metais alcalinos, alcalino-terrosos, lantanídeos, além de outros metais como Au, Zn, Cd, Ga, In, Tl, Sn, Pb, Bi, Cu, Rh e Pt podem formar amálgamas com o mercúrio. A reação redox reversível de um íon metálico formador de amálgama em um eletrodo de mercúrio



satisfaz a equação de Nernst

$$E = E_{\text{M(Hg)}}^{\theta} + \frac{RT}{nF} \ln \frac{\alpha_{\text{M}^{n+}}}{\alpha_{\text{M(Hg)}}} \quad \text{Equação 8}$$

$$E_{\text{M(Hg)}}^{\theta} = E_{\text{M/M}^{n+}}^{\theta} + \frac{RT}{nF} \ln \alpha_{\text{M(Hg)}}^* - E_s \quad \text{Equação 9}$$

$$E_s = -\frac{\Delta G^{\circ}}{nF} + \frac{RT}{nF} \ln (\alpha_{\text{Hg}}^*)^y \quad \text{Equação 10}$$

na qual $\alpha_{\text{M(Hg)}}^*$ e α_{Hg}^* são a atividade do metal e a atividade do mercúrio, respectivamente, no amálgama saturado, ΔG° é a mudança na energia livre de Gibbs de formação da fase sólida MHg_y no amálgama, y é o número de átomos de mercúrio coordenados a um átomo metálico na fase sólida, E_s é a diferença de potencial de uma cela de concentração consistindo do metal puro e de seu amálgama saturado, imersa em uma solução de um sal do metal e $E_{\text{M/M}^{n+}}^{\theta}$ é o potencial padrão da reação do eletrodo $\text{M(Hg)} \rightleftharpoons \text{M}^{n+} + \text{Hg} + n\text{e}^-$.

A acumulação de amálgamas pode ser usada na ASV se ambas, a redução dos íons e a oxidação dos metais, ocorrerem dentro da janela de trabalho do eletrodo de mercúrio (LOVRIC, 2005).

Quando muitos metais são simultaneamente eletrodepositados em mercúrio, compostos intermetálicos entre eles podem ser formados. Na ASV os seguintes compostos de zinco, cobre, e antimônio podem influenciar as medidas: Zn-Cu, Zn-Sb, Ga-Cu, Sn-Cu, Sb-Cd e Sb-In (LOVRIC, 2005).

2.9.3.4.2 Voltametria de Redissolução Catódica (CSV)

A CSV pode ser usada para determinar substâncias que formam sais insolúveis com o íon mercurioso. A aplicação de um potencial relativamente positivo a um eletrodo de mercúrio em uma solução contendo tais substâncias resulta na formação de uma película insolúvel sobre a superfície do eletrodo de mercúrio. Uma varredura de potencial na direção negativa, então, reduz o filme depositado para a solução.

2.9.3.4.3 Voltametria de Redissolução Adsorptiva (AdSV)

A AdSV é muito semelhante às técnicas de redissolução anódica e catódica. A principal diferença é que a etapa de pré-concentração do analito é realizada por adsorção sobre a superfície do eletrodo ou por reações específicas em eletrodos quimicamente modificados, em vez de eletrodeposição.

2.10 Objetivos

- Avaliar a metodologia de preparo das amostras de mel de abelha descrita na literatura.
- Avaliar a metodologia de liberação do zinco que forma intermetálico Zn-Cu, pelo método de adição de gálio.
- Avaliar as concentrações de metais pesados como Zn, Cd, Pb e Cu em amostras de mel de abelha do estado de Pernambuco empregando a técnica de voltametria de redissolução anódica de pulso diferencial (DPASV).

3 PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Reagentes

Todos os reagentes empregados foram de grau analítico não sendo necessária purificação prévia.

Ácido Nítrico (HNO₃) P.A 65%, Fmaia[®];

Peróxido de Hidrogênio (H₂O₂) P.A (130 vol.), Nuclear[®];

Hidróxido de Sódio (NaOH) P.A, 95–100,5%, Nuclear[®];

Soluções-padrão de Zn, Pb e Cu, Merck[®];

Solução-padrão de Ga, Alfa Aescar[®];

A água utilizada no preparo das soluções foi purificada pelo sistema Milli-Q (resistividade 18,2 MΩ).

3.2 Amostras de mel

Foram coletadas 19 amostras de méis mono- e multiflorais, produzidos por abelhas africanizadas (*Apis mellifera scutellata* Lepeletier) e 1 amostra de mel de abelhas nativas da espécie canudo (*Scaptotrigona nigrohirta*), no período de dezembro de 2012 a maio de 2013.

Das 20 amostras coletadas (Tabela 8), 15 amostras foram provenientes da mesorregião do Sertão Pernambucano (1, 2, 4–6, 8–13, 15–17 e 19), 2 amostras do Agreste (3 e 18), 1 amostra da Zona da Mata (20), 1 amostra da Região Metropolitana (14) e 1 amostra do Arquipélago de Fernando de Noronha (7).

Os locais de coleta das amostras são destacados em vermelho na Figura 20.

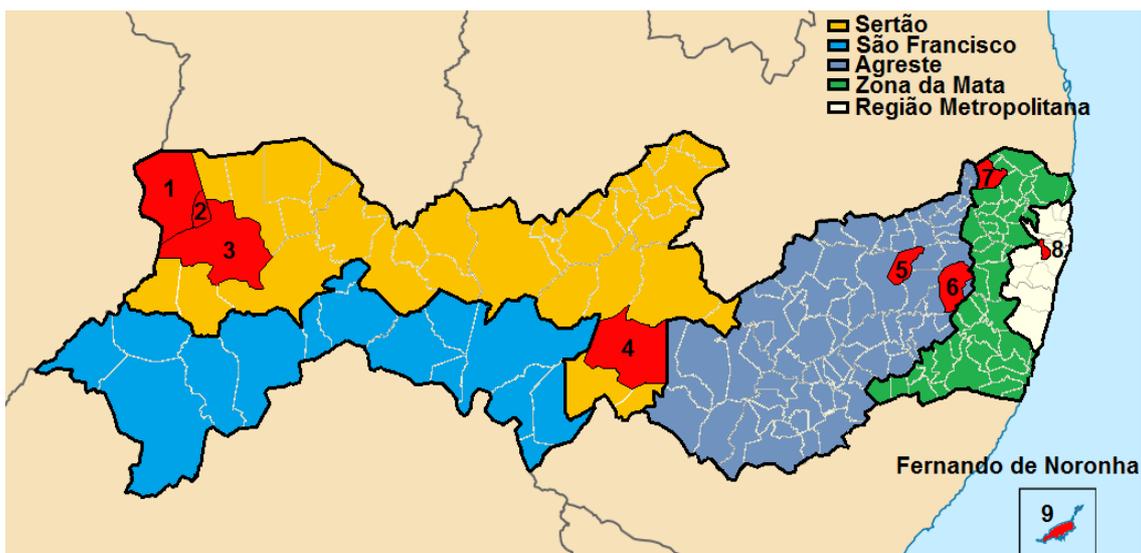


Figura 20: Locais de coleta das amostras marcados em vermelho: 1 – Araripina; 2 – Trindade; 3 – Ouricuri; 4 – Ibimirim; 5 – Riacho das Almas; 6 – Gravatá; 7 – Timbaúba; 8 – Camaragibe; 9 – Fernando de Noronha.

As amostras de mel apresentadas na Tabela 8 foram fornecidas por produtores (1 a 17) ou obtidas no mercado (18 a 20) e armazenadas em potes de vidro assépticos (de acordo com o item 3.3.2.1 a seguir) de 100 mL devidamente identificados (Figura 21), sendo encaminhadas para o Laboratório de Eletroanalítica da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Durante a permanência na UFPE, todas as amostras foram protegidas da luz e mantidas a temperatura ambiente para posterior análise.

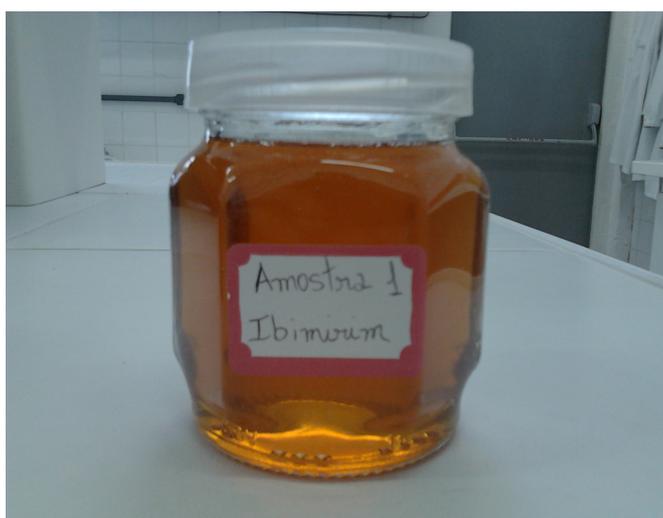


Figura 21: Recipiente devidamente identificado utilizado na armazenagem do mel no laboratório.

Tabela 8: Amostras de mel analisadas.

Amostra	Marca	Procedência
1	–	Ibimirim
2	Tradição	Ouricuri
3	–	Riacho das Almas
4	–	Ouricuri
5	Tradição	Ouricuri
6	Tradição	Ouricuri
7	–	Fernando de Noronha
8	–	Ibimirim
9	–	Ibimirim
10	–	Ibimirim
11	–	Ibimirim
12	–	Ibimirim
13	–	Trindade
14	–	Camaragibe
15	–	Ibimirim
16	–	Trindade
17	–	Araripina
18	–	Gravatá
19	–	Ouricuri
20	Doce Sabor Natural	Timbaúba

As amostras de 1 a 7 e de 13 a 17 foram obtidas em embalagens fornecidas pelos produtores. As amostras de 8 a 11 foram retiradas de tonéis metálicos apropriados para estocagem de mel (com aparente revestimento interno de verniz sanitário). A amostra 12 foi coletada antes da estocagem em tonel, logo após a etapa de centrifugação do mel. As amostras de 18 a 20 foram adquiridas no mercado em embalagens destinadas à venda.

3.3 Materiais e método

3.3.1 Materiais

3.3.1.1 Limpeza de vidrarias

No processo de limpeza de vidrarias utilizou-se um aquecedor de marca IKA[®], modelo C-MAG HS 7 e uma estufa marca SPLabor, modelo SP-100/42-A.

3.3.1.2 Pesagem das amostras

As amostras de mel foram pesadas em balança analítica marca SHIMADZU, modelo AUY220, com auxílio de espátula descartável de polietileno, lavada com ácido nítrico 10% e enxaguada com água Milli-Q.

3.3.1.3 Pré-tratamento das amostras

– As amostras de mel de abelha foram mineralizadas em um forno de micro-ondas, MILESTONE, modelo Start D (Figura 22a), com compartimento interno para 10 reatores (Figura 22b).

**a****b**

Figura 22: (a) Forno de micro-ondas Milestone utilizado na digestão das amostras, (b) compartimento para os reatores que comportam as amostras.

– As medidas de pH das soluções foram realizadas com um pHmetro digital MS Tecpon, modelo mPA-210, acoplado com eletrodo de vidro combinado.

3.3.1.4 Experimentos eletroquímicos

As medidas voltamétricas foram realizadas em uma cela confeccionada com polietileno descartável*, com volume aproximado de 150 mL, num arranjo de três eletrodos utilizando-se um potenciostato/galvanostato AUTOLAB modelo PGSTAT 128N, marca Eco Chemie, acoplado a um módulo de polarografia METROHM, modelo 663 VA (Figura 23). (*) Para evitar contaminação de metais.

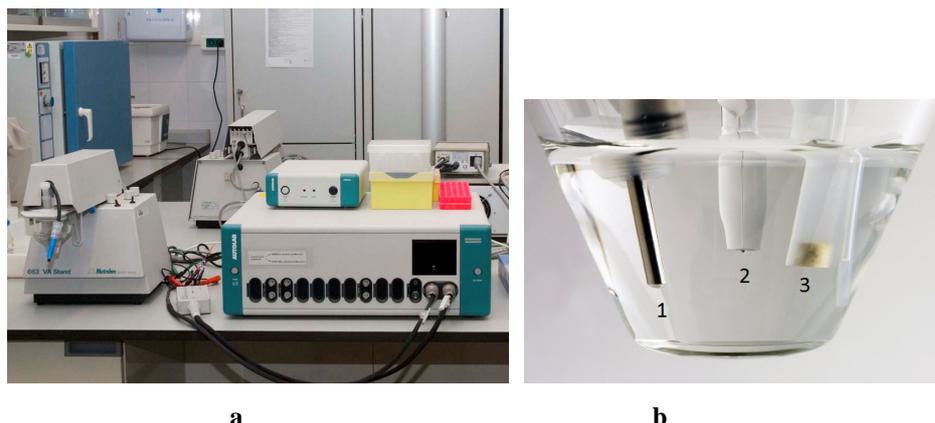


Figura 23: (a) Potenciostato/galvanostato Autolab acoplado ao módulo de polarografia METROHM, modelo 663 VA, (b) Cella de três eletrodos (1) Auxiliar, (2) HMDE, (3) referência Ag/AgCl (KCl saturado).

O aparelho foi controlado por um computador PC através da Interface *Universal Serial Bus* (USB) e o programa NOVA versão 1.8.

Todos os potenciais foram medidos em relação a um eletrodo de referência de Ag/AgCl em KCl saturado (Figura 23.b.3), tendo como eletrodo auxiliar um bastão de carbono vítreo (Figura 23.b.1) e como eletrodo de trabalho (Figura 23.b.2), um eletrodo de gota pendente de mercúrio (HMDE).

3.3.2 Método

3.3.2.1 Limpeza das vidrarias e reatores de politetrafluoretileno (PTFE)

As vidrarias foram imersas em solução de HNO_3 10% (v/v) por um período de 24 h e em seguida aquecidas com um pouco dessa solução, a $80\text{ }^\circ\text{C}$ por 5 min., enxaguadas com água Milli-Q e postas para secar em estufa a $100\text{ }^\circ\text{C}$.

Os reatores de PTFE do forno de micro-ondas foram lavados e enxaguados com água Milli-Q e deixados em repouso em solução de HNO_3 10% (v/v) por 24 h e, em seguida, lavados novamente com água Milli-Q.

3.3.2.2 Mineralização das amostras

Para a mineralização das amostras visando a determinação do teor de Zn, Cd, Pb e Cu pesou-se aproximadamente 0,5000 g de mel de abelha, e submeteu-se aos processos de digestão a frio e a quente.

Digestão a frio

Após a pesagem das amostras, adicionou-se 5 mL de HNO₃ 65% (m/v), e deixou-se em repouso por 48 h para que a amostra fosse digerida e que houvesse a liberação de gases, evitando um enorme aumento de pressão durante a etapa de aquecimento no forno de micro-ondas. Após o repouso, adicionou-se 2 mL de H₂O₂ 30% (v/v) para completa oxidação da amostra.

Digestão a quente

Após a digestão a frio, o conteúdo das amostras foi transferido para os reatores de PTFE do forno de micro-ondas e submetido ao programa de aquecimento (Tabela 9).

Tabela 9: Programa de aquecimento do forno de micro-ondas.

Etapa	Temperatura (°C)	Tempo (min.)	Potência (W)
1	0 – 90	4	500
2	90	2	500
3	90 – 180	6	500
4	180	10	500
Resfriamento		10	0

3.3.2.3 Condicionamento das amostras

Após a digestão no micro-ondas, as amostras foram submetidas à correção de pH para 3,5 com NaOH 6,0 mol.L⁻¹ e transferidas para balões volumétricos de 50 mL e o volume completado com água Milli-Q. Todo o processo foi feito em triplicata.

3.3.2.4 Voltametria de Redissolução Anódica de Pulso Diferencial (DPASV)

As amostras de mel foram analisadas utilizando a técnica de DPASV empregando o método de adição-padrão para compensar um possível efeito da matriz sobre cada metal analisado.

Foi realizada uma análise inicial da amostra sem o padrão para identificar uma possível sobreposição de picos interferentes, a presença do metal a ser analisado e guiar a escolha das concentrações dos padrões para posterior adição.

3.3.2.4.1 – Liberação do intermetálico Zn-Cu com a adição de gálio

A liberação do intermetálico Zn-Cu foi realizada a partir da adição de aproximadamente 70,0 µg.g⁻¹ de solução padrão de gálio à cela eletroquímica antes da varredura.

3.3.2.4.2 Etapa de deposição ou pré-eletrólise

As soluções das amostras puras foram desoxigenadas com um fluxo de N₂ puro durante 10 s. Transcorrido este tempo o potencial inicial foi mantido em -1,2 V, durante 240 s sob agitação (denominada pelo fabricante de intensidade 3), seguido por uma etapa de repouso de 5 s.

3.3.2.4.3 Etapa de redissolução anódica

A etapa de redissolução anódica foi realizada empregando a técnica de voltametria de pulso diferencial com uma duração do pulso de 50 ms, amplitude de pulso de 50 mV e velocidade de varredura de $5 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$.

Após a desoxigenação, o fluxo de N_2 foi desviado para purgar o espaço da cela acima da solução e foi iniciada a varredura de potencial no sentido anódico no intervalo de -1,2 a 0,05 V.

Após a varredura da amostra pura, a agitação e o borbulhamento de N_2 foram retomados. Em seguida, foram adicionados poucos microlitros (com o intuito de não alterar a concentração final da solução) de padrão interno para obter faixas de concentrações de 3,12 a $12,4 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ para Zn, de 0,777 a $3,09 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ para Pb e de 0,312 a $1,25 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ para Cu.

Findo um período suficiente para permitir a homogeneização da solução (1 min.), as etapas de deposição e de redissolução foram repetidas após cada adição do padrão.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Escolha dos parâmetros experimentais

Parâmetros experimentais tais como tempo de deposição, tamanho da gota de mercúrio e velocidade de varredura foram escolhidos com base em discussões existentes na literatura (NASCIMENTO, 2013; SANNA, et al. 2000).

O tempo de deposição deve ficar normalmente entre 30 e 240 s, se o sistema estiver sob agitação. Tempos de deposição muito longos devem ser evitados uma vez que podem produzir sinais fora da região de proporcionalidade entre a corrente e a concentração. Tempos de deposição muito curtos não apresentam boa sensibilidade na visualização dos picos de redissolução e, por essa razão, também não são adequados.

O tamanho da gota varia entre 1 e 3 (de acordo com as especificações do fabricante). Quanto maior a superfície da gota, maior a capacidade do eletrodo em acumular o analito, entretanto, gotas maiores estão mais susceptíveis a quedas durante a etapa de pré-concentração e podem prejudicar a análise. Gotas menores, embora tenham uma menor capacidade de acumulação do analito, são melhores de se trabalhar além de que, pensando pelo lado ambiental, elas poluem menos.

Uma menor velocidade de varredura aumenta o tempo necessário para realização da análise, entretanto, apresenta maior sensibilidade na visualização dos picos de redissolução. Quanto maior for essa velocidade, menor a capacidade de visualização dos processos redox que ocorrem na superfície do eletrodo.

A partir das observações acima, o tempo de deposição, o tamanho da gota e a velocidade de varredura escolhidos foram 240 s, 1 e 5 mV.s⁻¹, respectivamente.

4.2 Mineralização das amostras

4.2.1 Digestão a frio

No processo de digestão a frio descrito na literatura previa-se, após a adição de HNO_3 , uma etapa de repouso de 24 h (SANNA, et al. 2000), entretanto foi necessária uma readaptação para as amostras em estudo, pois somente as amostras de mel de abelhas africanizadas eram totalmente mineralizadas nesse tempo, apresentando um aspecto límpido (Figura 24a), já a amostra de mel de abelhas nativas necessitou de um tempo maior, pois o tempo de repouso estabelecido na literatura não foi suficiente para mineralizar totalmente essa amostra, a qual apresentou uma coloração amarela bem intensa (Figura 24b) e em alguns casos uma coloração verde. Com isso, foi estabelecido um tempo de repouso de 48 h. Nesse tempo todas as amostras foram totalmente mineralizadas apresentando um aspecto límpido.

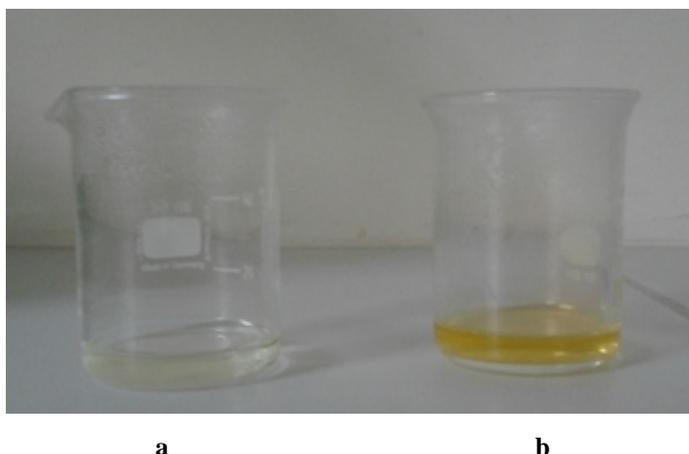


Figura 24: Aspecto visual das amostras de mel de abelha africanizada (a) e abelha nativa (b) após repouso de 24h em HNO_3 .

4.2.2 Digestão a quente

O processo de digestão a quente descrito na literatura (SANNA, et al. 2000) também precisou de algumas modificações, uma vez que o forno de micro-ondas aqui utilizado trabalha com um volume de segurança mínimo para a amostra líquida (10 mL) e o mesmo não utiliza rampas de potência para o aquecimento, mas sim rampas de temperatura. Portanto, o volume de HNO_3 adicionado à amostra foi alterado de 4 para 5 mL, o volume de H_2O_2 foi mantido em 2 mL e cerca de 8 mL de água Milli-Q foram adicionados a solução, totalizando 15 mL de solução para que fosse possível trabalhar um pouco acima do volume de segurança do equipamento, evitando transtornos. Já a

etapa de aquecimento foi estabelecida seguindo um modelo de rampa de temperatura descrito na literatura para a digestão de própolis (KORN, et al. 2013).

4.3 Digestão não-efetiva x digestão efetiva

Para a determinação do teor de metais, condições severas de preparo das amostras de mel foram requeridas. Quando as condições adotadas inicialmente não foram suficientes para a completa mineralização da amostra, uma solução clara, mas de coloração amarela (Figura 25a) era obtida ao final do processo, provavelmente devido à matriz orgânica residual do mel que pode formar inúmeros complexos estáveis com os íons dos metais (SANNA, et al. 2000). Por outro lado, uma completa mineralização da amostra levava à obtenção de uma solução límpida e incolor (Figura 25b).

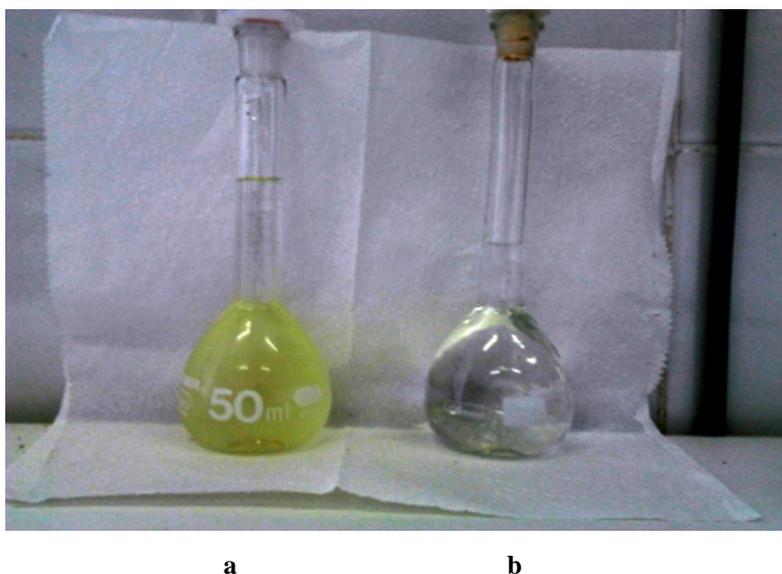


Figura 25: Soluções resultantes da digestão não-efetiva (a) e efetiva (b) das amostras de mel.

As visíveis suspeitas de mineralização total e parcial, após o preparo das amostras, foram confirmadas após análise por DPASV (Figura 26). Enquanto a solução incolor apresentava picos de redissolução bem definidos (linha vermelha), quantidades significativas de íons Zn^{2+} , Pb^{2+} e Cu^{2+} na solução amarela não eram detectadas (linha azul), dando lugar a possíveis interferentes formados na superfície do eletrodo de mercúrio.

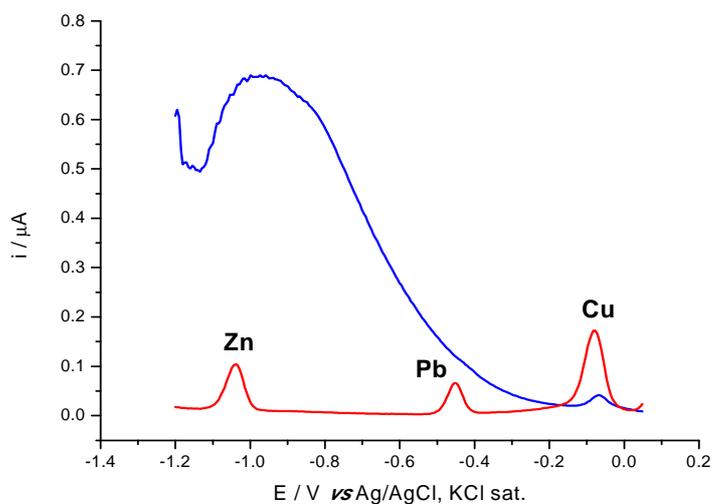


Figura 26: Voltamogramas obtidos em pH 3,5 para a mineralização total (linha vermelha) e parcial (linha azul) de uma mesma amostra de mel.

4.4 Condicionamento das amostras

Antes da análise por DPASV das amostras mineralizadas, logo após o processo de digestão, adicionou-se NaOH à solução resultante até que o pH 3,5 fosse obtido.

Valores de pH entre 0–1 impedem a determinação de todos os metais por DPASV (Figura 27), uma vez que o potencial de redução estabelecido (-1,2 V) é muito próximo da evolução de hidrogênio (-1,4 V) (linha azul) e conseqüentemente gera interferências na determinação de Zn, que tem potencial de redissolução bem próximo daquele valor (-1,0 V) (linha vermelha).

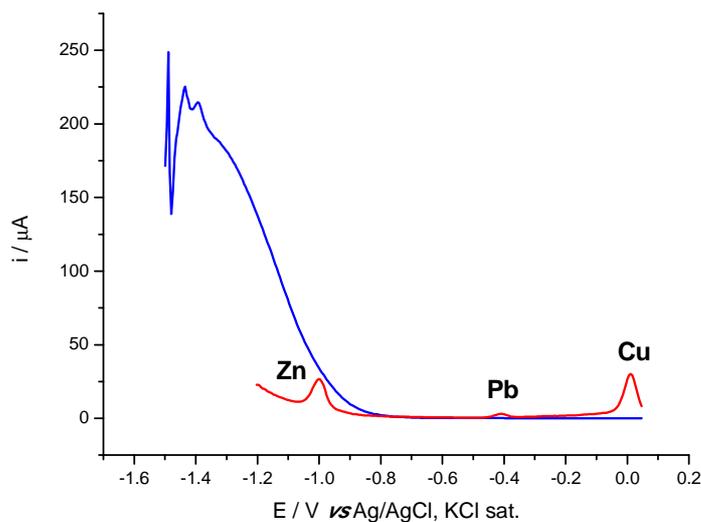


Figura 27: Interferência na determinação de Zn que possui potencial de redissolução igual a -1,0 V (linha vermelha), gerada pela evolução do hidrogênio em -1,4 V (linha azul) em análise de mel por DPASV em valores de pH na faixa de 0–1. Para efeito de visualização, a corrente da curva vermelha obtida em pH 3,5 foi aumentada 300 vezes.

A determinação de Pb e Cu não é afetada nessa faixa de valores de pH (Figura 28), uma vez que ao se trabalhar em uma janela de potencial menor, os picos de redissolução referentes ao Pb e ao Cu podem ser visualizados sem interferentes.

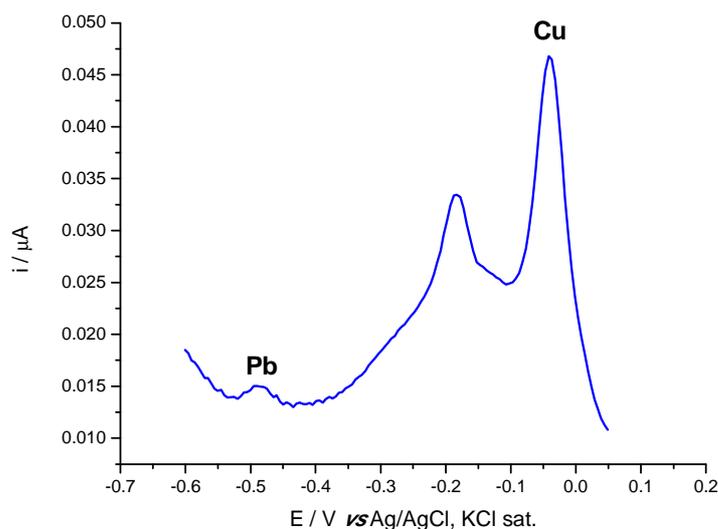


Figura 28: Determinação de Pb e Cu em mel por DPASV em valores de pH na faixa de 0–1.

Na Figura 29 verifica-se que em valores de pH um pouco acima de 6 (linha vermelha) os picos de redissolução para Zn, Pb e Cu começam a alargar e diminuir em

tamanho quando comparados aos picos de redissolução desses metais obtidos em valores de pH entre 3–4 (linha azul). Isso ocorre devido à formação de hidróxidos dos metais em solução, os quais são pouco solúveis. Valores de pH entre 3–4 permitem de maneira eficaz a determinação de todos os metais uma vez que os picos de redissolução encontram-se bem definidos e não é detectada a presença de interferentes.

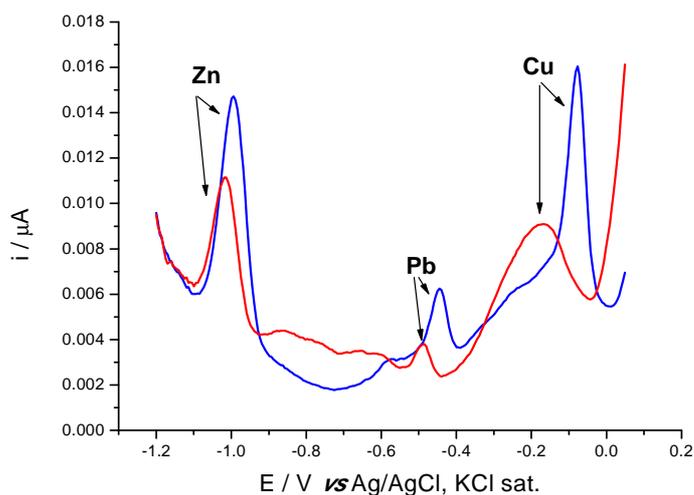


Figura 29. Determinação de metais em mel por DPASV em diferentes faixas de pH. Valores de pH entre 3–4 (linha azul); pH entre 7–8 (linha vermelha).

A formação de hidróxidos de Zn, Pb e Cu em solução, os quais são pouco solúveis, interfere na determinação desses metais, uma vez que os picos de redissolução estão relacionados apenas às espécies de Zn^{2+} , Pb^{2+} e Cu^{2+} existentes em equilíbrio com seus respectivos hidróxidos.

Como os valores das constantes dos produtos de solubilidade (K_{ps}) a 25 °C para o $Zn(OH)_2$, PbO e $Cu(OH)_2$ são respectivamente, $3,0 \times 10^{-16}$, $8,0 \times 10^{-16}$ e $4,8 \times 10^{-20}$ as maiores quedas nos picos de redissolução são observadas para o Cu, pois seu hidróxido é o menos solúvel, seguido pelo Zn e pelo Pb (Figura 29).

Em valores de pH acima de 12 os picos de redissolução para Zn, Pb e Cu diminuem de tal forma que torna-se difícil a visualização dos mesmos (Figura 30). Como a hidroxila (OH^-) está em excesso, observa-se o aparecimento de um único pico de redissolução em aproximadamente 0,01 V que pode ser atribuído ao processo de redução do oxigênio (O_2) formado a partir da oxidação do OH^- no eletrodo auxiliar, de acordo com a equação:

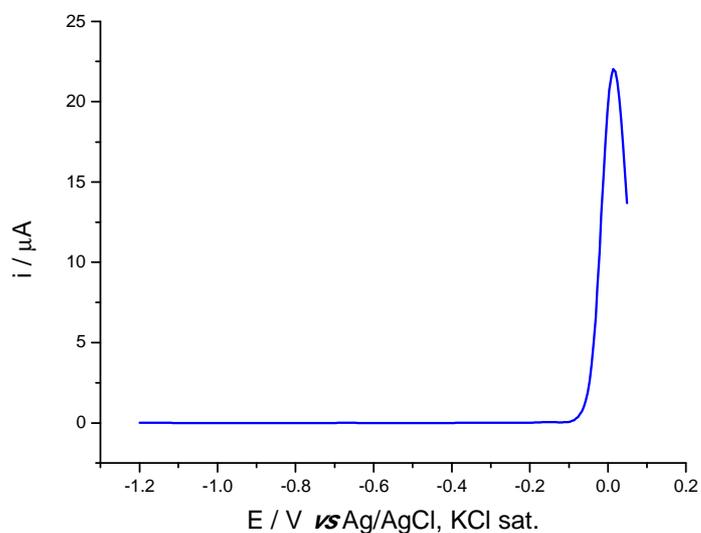
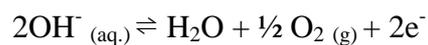


Figura 30: Análise de metais em mel por DPASV em valores de pH acima de 12.

Ao encurtar-se a janela de potencial da faixa de pH supracitada para que seja possível a visualização dos picos dos metais encobertos pela redissolução do O_2 (Figura 31), observa-se que eles diminuem de tal forma que praticamente desaparecem (linha verde) quando comparados às análises feitas em pH nas faixas de 3–4 (linha azul) e 7–8 (linha vermelha).

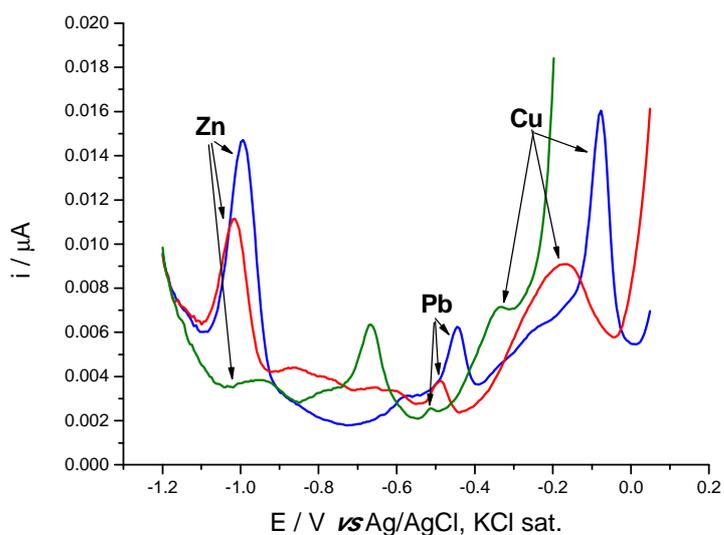


Figura 31: Análise de metais em mel por DPASV em diferentes faixas de pH. Valores de pH > 12 (linha verde); pH entre 3–4 (linha azul); pH entre 7–8 (linha vermelha).

Com base nas observações acima, o valor de pH estabelecido para determinação de metais nas amostras de mel por DPASV foi de 3,5.

4.5 Obtenção dos voltamogramas

Estabelecidas as condições ideais de mineralização e correção de pH, deu-se início o processo de análise das amostras, realizando-se inicialmente uma varredura numa solução contendo unicamente os reagentes, para isentar qualquer contaminação proveniente de impurezas introduzidas no processo analítico. Para isso o eletrodo foi polarizado em -1,2 V por 240 s, sob agitação, e as respostas de DPASV observadas. Os voltamogramas para as 20 amostras analisadas foram semelhantes ao mostrado na Figura 32.

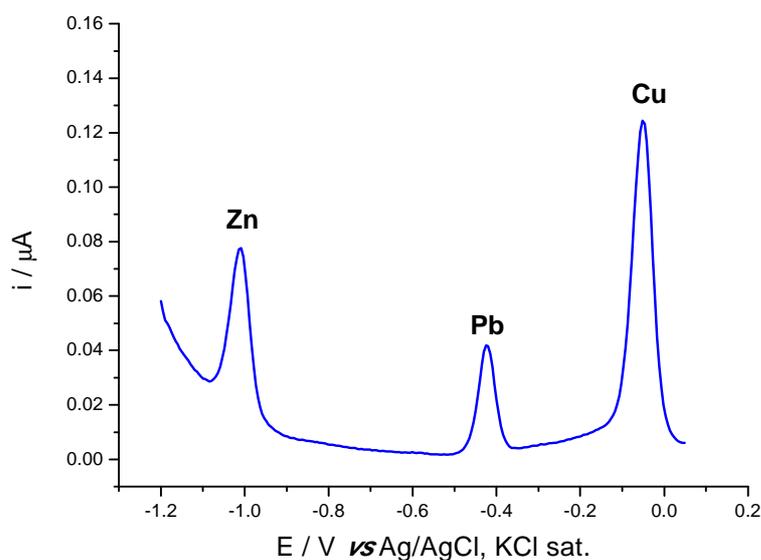


Figura 32: Resposta relativa à análise de uma amostra de mel totalmente mineralizada após digestão efetiva e correção de pH.

4.6 Eliminação da interferência do intermetálico Zn-Cu com adição de gálio

Entre as possíveis interferências na técnica de DPASV com eletrodo de mercúrio, a formação de compostos intermetálicos é a mais significativa (SHUMAN, et

al. 1979; LOVRIC, 2005), devido a variação da estequiometria do mesmo durante a etapa de eletrodeposição do metal (SANNA, et al. 2000).

A formação do intermetálico Zn-Cu é um sério problema nessa técnica produzindo, erroneamente, baixas concentrações de Zn e altas concentrações de Cu e em ambos os casos, curvas analíticas não lineares, fato esse que impede a determinação simultânea de todos os íons metálicos por DPASV. Entretanto, esse efeito não surte qualquer perturbação na determinação de Pb, uma vez que esse metal é bem detectável e reprodutível pela técnica utilizada.

Como o método de adição-padrão não consegue compensar o efeito de formação do intermetálico, a determinação de Zn só foi possível com a adição de uma concentração conhecida de uma solução-padrão de Ga ($70 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de Ga^{3+}) (COPELAND, et al. 1974) para gerar um intermetálico de Ga-Cu que possui uma constante de estabilidade maior que a constante de estabilidade do Zn-Cu (NEIMAN, et al. 1980). O Ga conseqüentemente irá preferir ligar-se ao Cu possibilitando assim a reoxidação do Zn sem interferências (COPELAND, et al. 1974).

Para a determinação de Cu, o processo de eletrodeposição foi realizado em um potencial (-0,5 V) mais anódico que o requerido para a redução do Zn, evitando com isso a possível interferência do intermetálico Ga-Cu.

Os efeitos da adição de Ga nas determinações de Zn e Cu podem ser observados na Figura 33. A linha azul corresponde à análise sem a presença de Ga e a linha vermelha corresponde à análise após adição de $14,0 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de solução padrão de Ga.

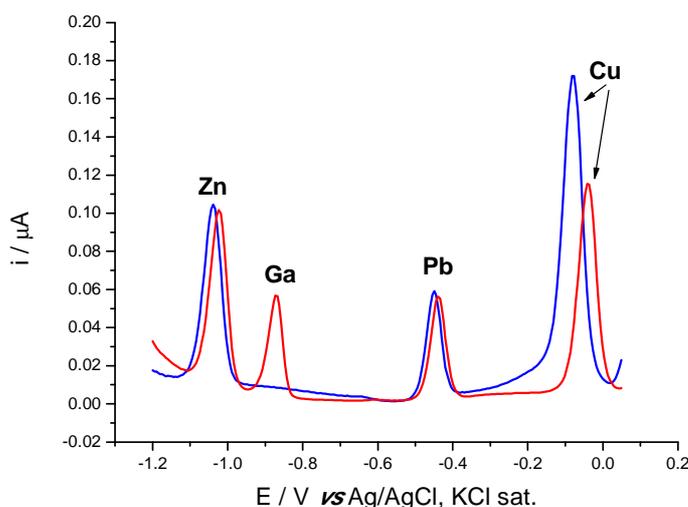


Figura 33: Efeitos da Adição de Ga na determinação de Zn e Cu em mel de abelha por DPASV. Sem a presença de Ga (linha azul); Após adição de $14,0 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de solução-padrão de Ga (linha vermelha).

Como a constante de formação do intermetálico Ga-Cu é maior que a constante de formação de Zn-Cu torna-se mais difícil oxidar o Ga-Cu que o Zn-Cu, portanto observa-se um deslocamento no potencial de redissolução do Zn-Cu (-0,077 V), em relação ao potencial do Ga-Cu (-0,042 V) no sentido anódico após a adição de Ga.

A adição de pequenas quantidades de Ga não causa um grande efeito à altura da corrente de pico para redissolução do Zn, fato esse que pode estar relacionado a não completa eliminação da formação do intermetálico de Zn-Cu na superfície do eletrodo. Entretanto, quando o Ga é adicionado em excesso, esse efeito é bem mais acentuado. A Figura 34 mostra os efeitos causados à redissolução do Zn após adição de concentrações crescentes de Ga. A linha azul corresponde a varredura feita sem a presença de Ga, a linha vermelha representa a varredura feita após adição de $7,0 \mu\text{g.g}^{-1}$ de Ga, a linha verde corresponde a análise feita após adição de $35,0 \mu\text{g.g}^{-1}$ de Ga e a linha laranja corresponde a varredura feita após adição de $70,0 \mu\text{g.g}^{-1}$ de Ga.

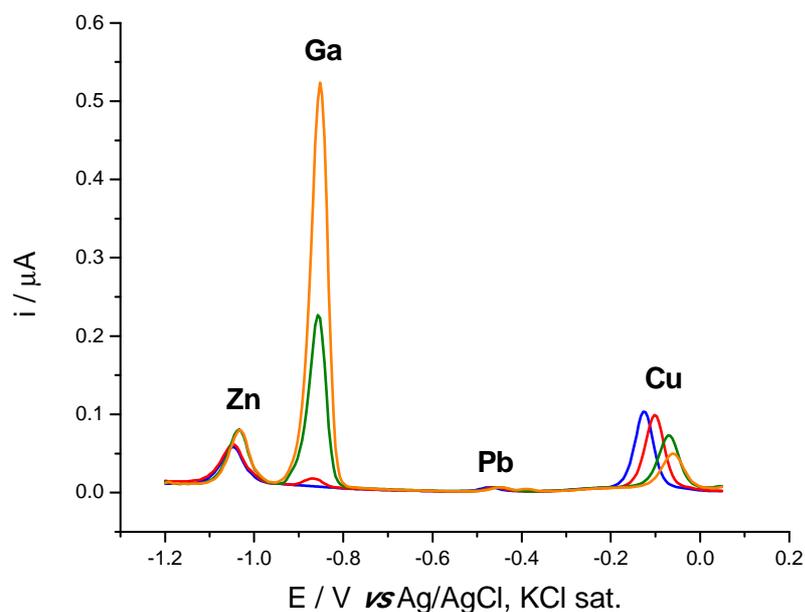


Figura 34: Efeito da adição de concentrações crescentes de Ga na determinação de Cu e Zn em mel de abelha por DPASV. Sem a presença de Ga (linha azul); Após adição de $7,0 \mu\text{g.g}^{-1}$ de solução-padrão de Ga (linha vermelha); Após adição de $35,0 \mu\text{g.g}^{-1}$ de solução-padrão de Ga (linha verde); Após adição de $70,0 \mu\text{g.g}^{-1}$ de solução-padrão de Ga (linha laranja).

Observa-se que a corrente de pico para redissolução do Zn vai aumentando com o aumento da concentração de Ga até chegar a um ponto em que fica constante. Nesse ponto a concentração de Ga a ser adicionada à amostra foi estabelecida. Isso pode ser

explicado pelo fato de que todo o Zn que antes era analisado em forma de intermetálico com o Cu, agora já pode ser quantitativamente re-oxidado durante a varredura de potencial sem a presença de interferentes. Entretanto, a corrente de pico para o Cu ainda continua caindo, mesmo que tenha cessado o aumento de Zn. Esse fato está associado agora não mais à interferência da formação do intermetálico Zn-Cu, mas sim à interferência da formação do intermetálico Ga-Cu na determinação de Cu. Fato esse que reforça a impossibilidade de se analisar simultaneamente todos os metais por DPASV. Esse problema pode ser solucionado quando a análise é feita iniciando a etapa de deposição em potenciais mais anódicos como o estabelecido para determinação de Cu (-0,5 V).

Ao diminuir a janela de trabalho, o Cu pode ser analisado quantitativamente sem interferentes. A Figura 35 mostra as diferenças observadas na determinação de Cu, quando a análise é feita em diferentes janelas de potencial. Ao se iniciar a etapa de deposição em um potencial de -0,5 V (linha vermelha) a corrente de pico do Cu aumenta em relação à anterior quando se estabelecia o potencial de deposição em -1,2 V (linha azul). Isso ocorre devido à eliminação da interferência do intermetálico Ga-Cu.

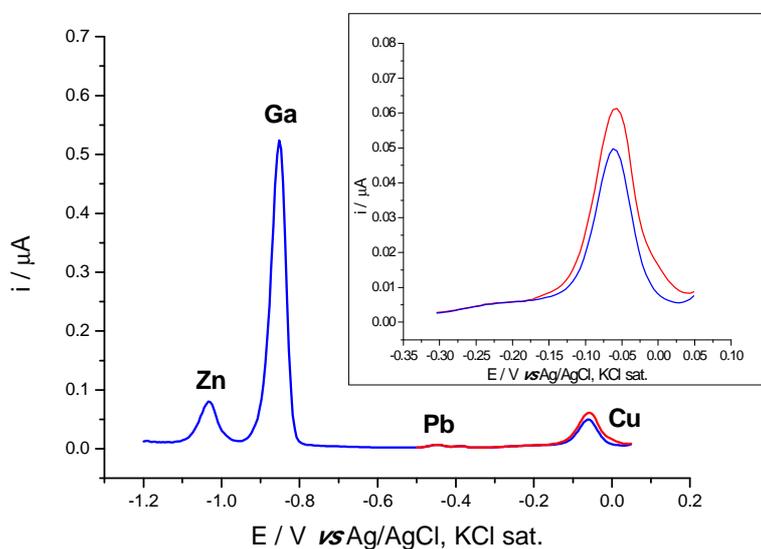


Figura 35: Análise de Cu em mel de abelha por DPASV em diferentes potenciais de deposição. -1,2 V (linha azul); -0,5 V (linha vermelha). O detalhe mostra os picos de redissolução do Cu.

Esse efeito é ainda mais acentuado quando se observa as diferenças de correntes de pico após a análise por adição-padrão. A Figura 36 mostra as enormes diferenças de correntes de pico para o Cu após adição de $20,0 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de padrão desse analito quando

sua análise é feita utilizando um potencial de deposição de -1,2 V (linha azul) e um potencial de -0,5 V (linha vermelha). Isso resultaria numa enorme perda de sensibilidade na construção da curva analítica e consequentes erros no cálculo da concentração do metal em estudo.

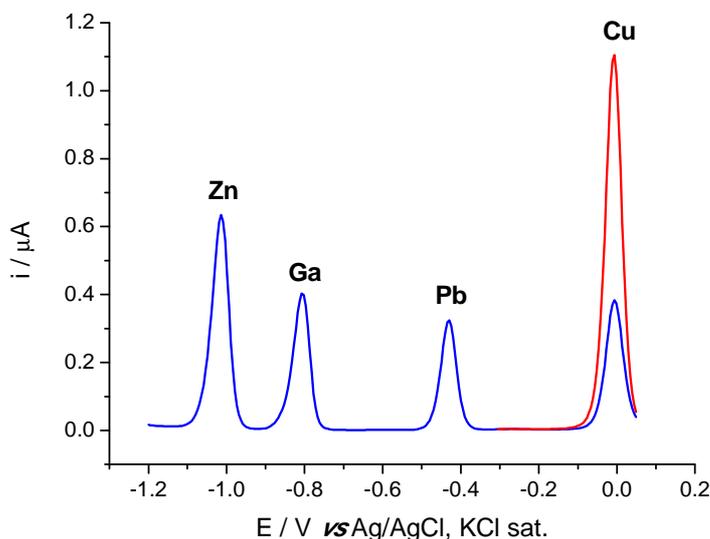


Figura 36: Análise de Cu em mel de abelha por DPASV após adição de $20,0 \mu\text{g.g}^{-1}$ de uma solução-padrão desse analito, em diferentes potenciais de deposição: -1,2 V (linha azul) ; -0,5 V (linha vermelha).

4.7 Recuperação

A avaliação da recuperação de uma espécie adicionada à amostra é o método mais utilizado para validação de processos analíticos quando não se tem um material de referência.

A recuperação de um determinado analito é medida através da exatidão da metodologia empregada, pois esse parâmetro reflete o grau de concordância entre os resultados encontrados em um determinado ensaio e um valor de referência considerado como verdadeiro.

A exatidão é expressa como erro sistemático percentual que ocorre pela perda da substância devido à baixa recuperação da extração, medidas imprecisas ou substâncias interferentes na amostra (SKOOG, et al. 2009).

O estudo da recuperação consiste na adição de concentrações conhecidas dos padrões (fortificação) à amostra *in natura* antes da digestão da amostra, a qual foi

submetida ao mesmo processo descrito no item 3.3.2.2, seguida pela determinação da concentração do analito adicionado através do método de adição-padrão descrito no item 4.8 a seguir (THOMPSON, et al. 1999; BRITO, et al. 2003).

A recuperação percentual do analito é calculada relacionando-se a concentração do analito adicionada, $X_{\text{adicionado}}$, considerada como o valor verdadeiro, com a concentração do analito recuperada, $X_{\text{recuperado}}$, de acordo com a equação 11:

$$\% \text{ Recuperação} = \frac{X_{\text{recuperado}}}{X_{\text{adicionado}}} \times 100 \quad \text{Equação 11}$$

Assim, para avaliar a faixa de concentração que produzem melhores recuperações, foram adicionadas três concentrações diferentes dos analitos.

4.7.1 Recuperação do zinco

As concentrações de recuperação para o Zn em amostras de mel foram de 0,983, 1,915 e 2,912 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ Zn. Pelo estudo da regressão linear (Figura 37) verifica-se que as recuperações apresentam distribuição linear com relação aos níveis de fortificação com coeficiente de correlação de 0,97180 (Figura 37).

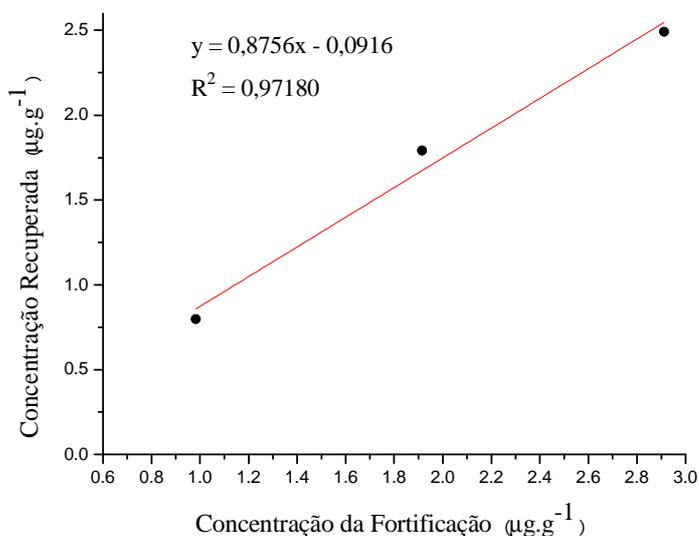


Figura 37: - Linearidade da relação entre a concentração recuperada e a concentração de fortificação com Zn, na amostra de mel de abelha nº 14, com níveis variando entre 0,983, 1,915 e 2,912 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ Zn.

Os dados contidos na Tabela 10 mostram que na concentração intermediária (entrada 2; $1,915 \pm 0,062 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ Zn) a média de recuperação para Zn (93,5%) foi maior do que as médias de recuperação (81,2 e 85,7%) obtidas para as outras concentrações (entrada 1; $0,983 \pm 0,001 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ Zn) e (entrada 3; $2,912 \pm 0,031 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ Zn), respectivamente. A faixa de concentração utilizada para recuperação de Zn apresentou porcentagens de recuperação em conformidade com o intervalo aceito (80–110%) para esse nível de concentração ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) do metal (BRITO, et al. 2013).

Usou-se o teste de hipótese para confirmar a exatidão das recuperações individuais de Zn, sendo estabelecida como hipótese nula (H_0): Recuperação = 100% e como hipótese alternativa (H_1): Recuperação \neq 100% (teste bilateral). Os valores calculados de t (t_{cal}) para as entradas 1, 2 e 3 foram -3,92, -3,75 e -4,27, respectivamente. Como o valor crítico de t ($t_{\text{crít}}$) para 2 graus de liberdade e nível de confiança de 95% é igual a 4,30, pode-se concluir que não existe uma diferença significativa em um nível de confiança 95%.

Tabela 10: Recuperação de Zn adicionado à amostra nº 14.

Entrada	Zn adicionado ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Zn recuperado ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Recuperação (%)	Erro Relativo (%)
1	$0,983 \pm 0,001$	$0,798 \pm 0,082$	$81,2 \pm 8,3$	18,8
2	$1,915 \pm 0,062$	$1,791 \pm 0,001$	$93,5 \pm 3,0$	6,5
3	$2,912 \pm 0,031$	$2,495 \pm 0,196$	$85,7 \pm 5,8$	14,3

4.7.2 Recuperação do chumbo

Para o Pb, as concentrações de recuperação em amostras de mel foram de 0,391, 0,761 e $1,160 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ Pb. Pelo estudo da regressão linear (Figura 38) verifica-se que as recuperações apresentam distribuição linear com relação aos níveis de fortificação com coeficiente de correlação de 0,99960 (Figura 38):

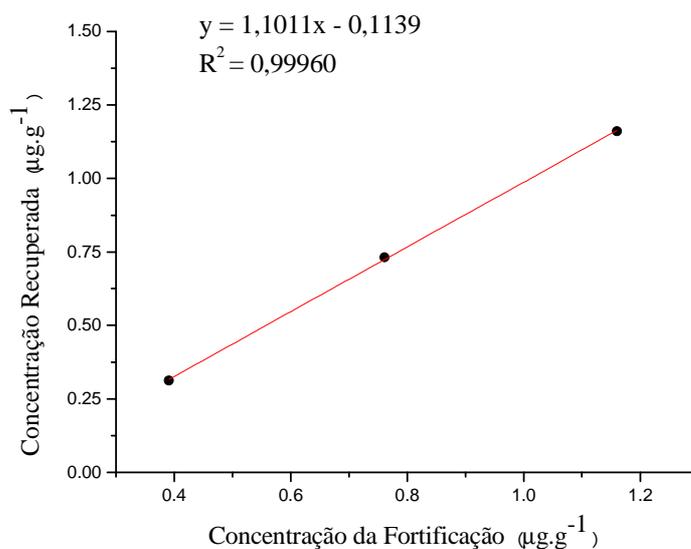


Figura 38: - Linearidade da relação entre a concentração recuperada e a concentração de fortificação com Pb, na amostra de mel de abelha n° 14, com níveis variando entre 0,391, 0,761 e 1,160 µg.g⁻¹ Pb.

Ao analisar os dados contidos na Tabela 11 observa-se que na concentração mais baixa (entrada 1; $0,391 \pm 0,001 \mu\text{g.g}^{-1}$ Pb) a média de percentagem de recuperação para Pb foi menor (80,1%) em relação aos valores encontrados para as maiores concentrações (entrada 2; $0,761 \pm 0,025 \mu\text{g.g}^{-1}$ Pb) e (entrada 3; $1,160 \pm 0,017 \mu\text{g.g}^{-1}$ Pb) que tiveram médias de recuperação de (96,1 e 100%), respectivamente. Como o chumbo é um elemento facilmente detectável por essa técnica, os erros relativos (0 e 3,9%) encontrados nas maiores concentrações (entradas 3 e 2), respectivamente, foram praticamente inexistentes e mesmo na concentração mais baixa (entrada 1), a média de recuperação para Pb (80,1%) ainda encontra-se em conformidade com o intervalo aceito para o nível de concentração deste metal, por esse motivo os resultados de recuperação obtidos para Pb nas três concentrações foram considerados bons.

A presença de erros sistemáticos na recuperação de Pb foi verificada através da realização do teste t. Os valores de t_{cal} para as entradas 1, 2 e 3 foram -3,96, -0,58 e 0, respectivamente. Como o valor de t_{crit} para 2 graus de liberdade e nível de confiança de 95% é igual a 4,30, pode-se concluir que não existe um viés no método em um nível de confiança de 95%.

Os erros observados justificam o valor do coeficiente de determinação (R^2) da curva que relaciona a concentração recuperada com a concentração fortificada (Figura 38) ter sido 0,99960 que é muito próximo de 1.

Tabela 11: Recuperação de Pb adicionado à amostra nº 14.

Entrada	Pb adicionado ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Pb recuperado ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Recuperação (%)	Erro Relativo (%)
1	$0,391 \pm 0,001$	$0,313 \pm 0,034$	$80,1 \pm 8,7$	19,9
2	$0,761 \pm 0,025$	$0,731 \pm 0,065$	$96,1 \pm 11,7$	3,9
3	$1,160 \pm 0,017$	$1,160 \pm 0,017$	$100,0 \pm 5,5$	0

4.7.3 Recuperação do cobre

As concentrações de recuperação para o Cu em amostras de mel foram de 0,095, 0,492 e 0,974 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ Cu. Pelo estudo da regressão linear (Figura 39) verifica-se que as recuperações apresentam distribuição linear com relação aos níveis de fortificação com coeficiente de correlação (R^2) de 0,94610 (Figura 39).

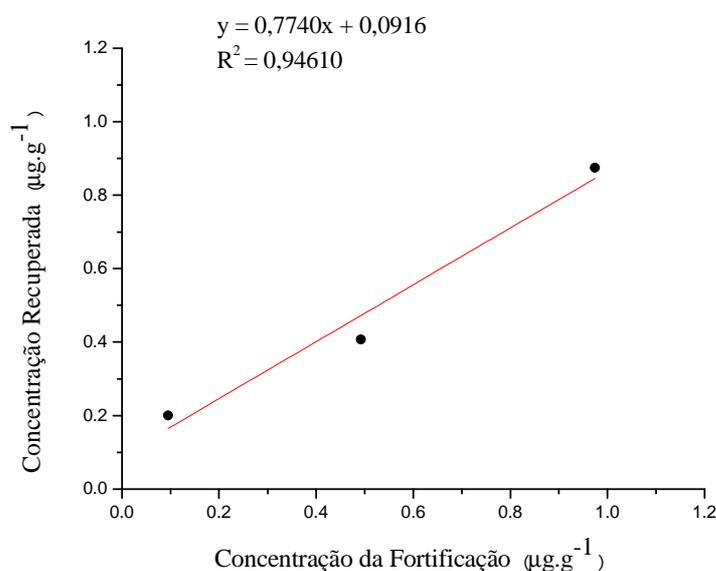


Figura 39: - Linearidade da relação entre a concentração recuperada e a concentração de fortificação com Cu, na amostra de mel de abelha nº 14, com níveis variando entre 0,095, 0,492 e 0,974 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ Cu.

Observa-se na Tabela 12 que em concentrações muito baixas (entrada 1, $0,095 \pm 0,003$ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ Cu,) a quantidade de Cu recuperada ($0,201 \pm 0,080$) foi muito superior à quantidade de cobre adicionada ($0,095 \pm 0,003$) resultando em uma média de porcentagem de recuperação de 211,6%. Em concentrações maiores (entradas 2; $0,492 \pm$

0,001 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ Cu) e (entrada 3; $0,974 \pm 0,015 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ Cu), as médias de porcentagem de recuperação foram menores (82,7 e 89,8%), respectivamente.

Os resultados obtidos para recuperação de Cu nas entradas 2 e 3 foram considerados bons, tendo em vista que se encontram dentro do intervalo de recuperação aceito para o nível de concentração deste metal.

O resultado obtido para recuperação de Cu na entrada 1 não foi considerado satisfatório, uma vez que está fora do limite de recuperação aceito para esse nível de concentração do metal.

Os valores de t_{cal} para as entradas 2 e 3 foram iguais a -3,67 e -1,68, respectivamente. Como o valor de $t_{\text{crít}}$ para 2 graus de liberdade e nível de confiança de 95% é igual a 4,30, pode-se concluir que não existe uma diferença significativa em um nível de confiança 95% e o método pode ser considerado exato. Para a entrada 1, o valor de t_{cal} foi igual a 4,83, valor maior que o $t_{\text{crít}}$ para 2 graus de liberdade em um nível de confiança de 95%, indicando que existe uma diferença significativa entre as recuperações obtidas nessa concentração e o valor esperado (100%).

Os erros relativos encontrados mostram que em concentrações menores o erro é muito alto. No caso da entrada 1, o erro de 111,6 % pode ser atribuído à contaminação desse metal na parede externa do capilar.

Este erro observado justifica o fato do R^2 da curva que relaciona a concentração recuperada com a concentração fortificada (Figura 39) ter sido 0,94610 quando deveria ser bem próximo de 1.

Tabela 12: Recuperação de Cu adicionado à amostra nº 14.

Entrada	Cu adicionado ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Cu recuperado ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Recuperação (%)	Erro Relativo (%)
1	$0,095 \pm 0,003$	$0,201 \pm 0,080$	$211,6 \pm 40,0$	-111,6
2	$0,492 \pm 0,001$	$0,407 \pm 0,040$	$82,7 \pm 8,1$	17,3
3	$0,974 \pm 0,015$	$0,875 \pm 0,114$	$89,8 \pm 10,5$	10,2

4.7.4 Limites de Detecção e Quantificação de zinco, chumbo e cobre.

O limite de detecção (LD) constitui a menor concentração do analito que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada, sob as condições experimentais estabelecidas. Este pode ser estimado através dos experimentos de recuperação (BRITO, et al. 2013) de acordo com a seguinte equação:

$$LD = \frac{2 \times t_{n,95\%} \times s_{com}}{S} \quad \text{Equação 12}$$

na qual: S é o coeficiente angular da curva de recuperação; $t_{n,95\%}$ é o valor tabelado em função de n (número de análises); s_{com} é o desvio-padrão combinado calculado através da equação:

$$s_{com} = \sqrt{\frac{(m-1)s_A^2 + (n-1)s_B^2}{m+n-2}} \quad \text{Equação 13}$$

na qual: m é o número de determinações do menor nível de fortificação; n é o número de determinações do branco; s_A é o desvio-padrão da amostra do menor nível de fortificação; s_B é o desvio-padrão do branco.

O limite de quantificação (LQ) constitui a menor concentração do analito que pode ser quantificada na amostra, com exatidão e precisão aceitáveis, sob as condições estabelecidas (BRITO, et al. 2003).

O limite de quantificação pode ser expresso pela equação abaixo:

$$LQ = \frac{10 \times s}{S} \quad \text{Equação 14}$$

na qual: s é o desvio-padrão da resposta; S é o coeficiente angular da curva analítica.

Os limites de detecção foram iguais a $0,043 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, $0,023 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ e $0,032 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ para Zn, Pb e Cu, respectivamente. Os limites de quantificação foram iguais a $0,132 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, $0,077 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ e $0,108 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ para Zn, Pb e Cu, respectivamente.

4.8 Análise das amostras de mel mineralizadas

As amostras de mel mineralizadas foram analisadas utilizando a técnica de DPASV empregando o método de adição-padrão para compensar um possível efeito de matriz sobre os metais analisados.

O método de adição-padrão consiste na adição de concentrações crescentes conhecidas dos padrões, contendo os analitos, à matriz da amostra mineralizada. As respostas antes e depois da adição são medidas e posteriormente usadas para obter a concentração do analito na amostra.

Considere que concentrações crescentes conhecidas (c_p) de uma solução padrão do analito sejam adicionadas a uma solução de concentração (c_a) desconhecida. A resposta em termos de corrente (i) será descrita por:

$$i = kc_p + kc_a \quad \text{Equação 15}$$

em que k é uma constante igual a $\frac{V_T \cdot MM_p}{m_a}$; V_T é o volume total da solução em L;

MM_p é a massa molar do padrão em $\mu\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$ e m_a é a massa da amostra em g. Um gráfico de i em função de c_p deve produzir uma reta de forma:

$$i = mc_p + b \quad \text{Equação 16}$$

na qual a inclinação (m) e o intercepto (b) são dados por:

$$m = k \quad \text{Equação 17}$$

$$b = kc_a \quad \text{Equação 18}$$

A análise de mínimos quadrados dos dados pode então ser empregada para determinar m e b ; c_a pode então ser calculada a partir da extrapolação da curva até o zero de corrente resultando na razão dessas duas quantidades. Assim,

$$\frac{m}{b} = \frac{k}{kc_a} \quad \text{Equação 19}$$

que se rearranja para:

$$c_a = \frac{b}{m} \quad \text{Equação 20}$$

O método da adição-padrão é uma ferramenta analítica poderosa quando utilizada adequadamente. Uma boa medida do branco é essencial para que espécies

estranhas não contribuem para a resposta analítica, assim como a curva analítica para o analito precisa ser linear na matriz da amostra.

Nas 20 amostras analisadas empregando o método da adição-padrão, foram detectadas a presença de Zn, Pb e Cu. Em nenhuma delas foi observada a presença de Cd.

As análises por adição-padrão de Zn são mostradas na Figura 40 e as referentes à adição-padrão de Pb e Cu são mostradas na Figura 41, para voltametrias realizadas na amostra de número 14.

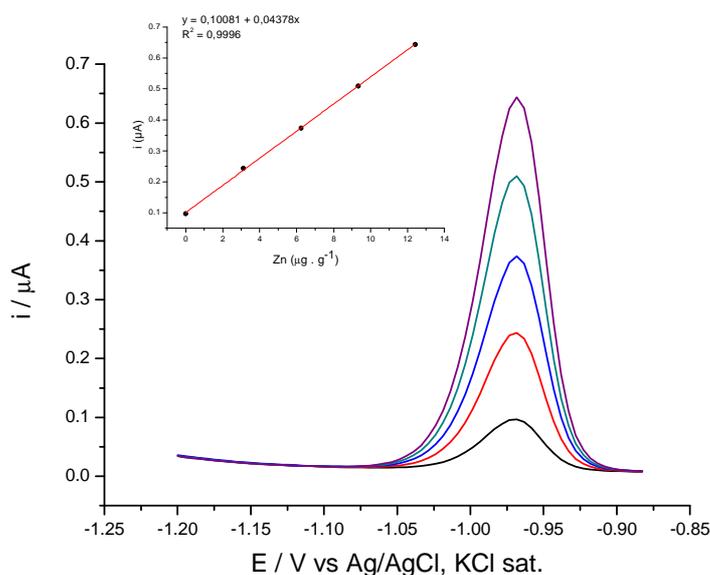


Figura 40: Análise por adição-padrão de Zn à amostra 14.

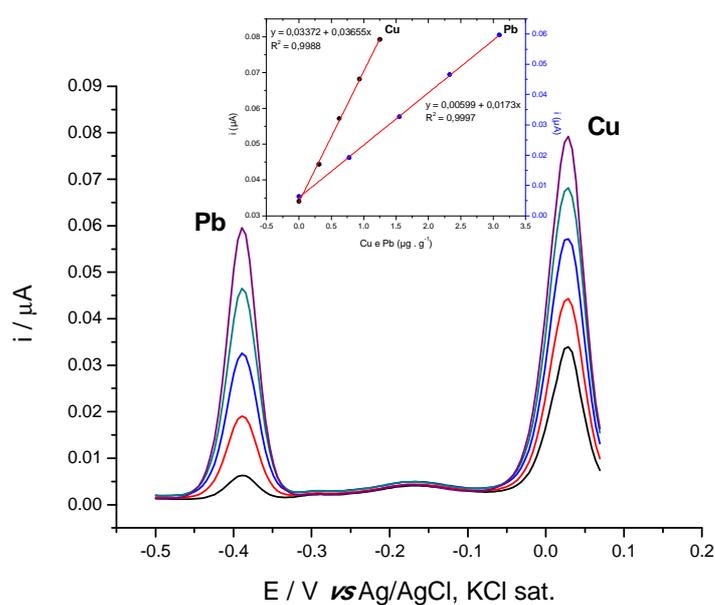


Figura 41: Análise por adição-padrão de Pb e Cu à amostra 14.

Todas as curvas analíticas apresentaram bons coeficientes de determinação, com valores que variaram entre 0,99706 e 0,99996 para Zn; 0,99742 e 0,99997 para Pb e 0,99777 e 0,99993 para Cu (Tabela 13).

Tabela 13: Coeficientes de determinação (R^2) das curvas analíticas pelo método da adição-padrão obtidos para a determinação de Zn, Pb e Cu em 20 amostras de mel de abelha do estado de Pernambuco.

Amostra	Zn	Pb	Cu
1	0,99949	0,99971	0,99944
2	0,99925	0,99971	0,99979
3	0,99913	0,99979	0,99883
4	0,99960	0,99984	0,99928
5	0,99706	0,99951	0,99806
6	0,99903	0,99930	0,99978
7	0,99883	0,99857	0,99925
8	0,99717	0,99880	0,99807
9	0,99973	0,99994	0,99947
10	0,99893	0,99948	0,99777
11	0,99996	0,99970	0,99936
12	0,99971	0,99742	0,99890
13	0,99884	0,99963	0,99965
14	0,99960	0,99970	0,99880
15	0,99984	0,99983	0,99956
16	0,99988	0,99990	0,99962
17	0,99962	0,99997	0,99827
18	0,99936	0,99983	0,99909
19	0,99931	0,99931	0,99950
20	0,99856	0,99964	0,99993

Os teores de Zn, Pb e Cu ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) obtidos a partir da análise por DPASV de 20 amostras de mel de abelha do estado de Pernambuco estão contidos na Tabela 14.

Tabela 14: Resultados experimentais obtidos para a determinação de Zn, Pb e Cu em 20 amostras de mel de abelha do estado de Pernambuco.

Amostra	Zn ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Pb ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Cu ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
1	2,106 \pm 0,138	0,348 \pm 0,024	1,426 \pm 0,247
2	2,593 \pm 0,771	0,271 \pm 0,109	0,282 \pm 0,093
3	1,868 \pm 0,544	0,405 \pm 0,156	0,311 \pm 0,053
4	2,502 \pm 0,101	0,645 \pm 0,057	0,170 \pm 0,035
5	4,312 \pm 0,310	0,405 \pm 0,118	0,239 \pm 0,034
6	2,773 \pm 0,265	0,403 \pm 0,061	0,234 \pm 0,045
7	1,929 \pm 0,395	0,458 \pm 0,021	0,347 \pm 0,071
8	1,434 \pm 0,345	0,213 \pm 0,061	0,205 \pm 0,042
9	2,240 \pm 0,696	0,301 \pm 0,075	0,262 \pm 0,106
10	2,285 \pm 0,333	0,215 \pm 0,026	0,319 \pm 0,019
11	1,691 \pm 0,292	0,168 \pm 0,016	0,301 \pm 0,057
12	1,283 \pm 0,113	0,390 \pm 0,108	0,267 \pm 0,062
13	3,001 \pm 0,350	0,198 \pm 0,091	0,442 \pm 0,003
14	2,362 \pm 0,376	0,347 \pm 0,091	0,954 \pm 0,075
15	2,367 \pm 0,909	0,308 \pm 0,122	0,305 \pm 0,019
16	2,199 \pm 0,660	0,216 \pm 0,082	0,477 \pm 0,041
17	2,340 \pm 0,503	0,204 \pm 0,055	0,362 \pm 0,104
18	2,088 \pm 0,163	0,278 \pm 0,079	0,419 \pm 0,058
19	2,997 \pm 0,793	0,325 \pm 0,109	0,407 \pm 0,160
20	3,411 \pm 0,394	0,379 \pm 0,046	0,353 \pm 0,132

Os resultados obtidos estão de acordo com os relatados na literatura para matrizes semelhantes (SANNA, et al. 2000; VANHANEN, et al. 2011; FORMICKI, et al. 2013; RU, et al. 2013)

As concentrações de Zn nas amostras apresentaram valores médios entre 1,283 e 4,312 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. A legislação brasileira não estabelece limite para Zn em mel de abelha. Já a legislação internacional estabelece limite de Zn de até 10,0 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ para alimentos em

geral. Os valores encontrados para as 20 amostras estão em conformidade com a legislação vigente, mesmo se acrescidos dos erros relativos associados à recuperação.

As concentrações de Pb nas amostras apresentaram valores médios entre 0,168 e 0,645 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. A legislação brasileira estabelece limite de Pb de até 0,5 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ para mel de abelha. Dentre todas as amostras analisadas, apenas a amostra de número 4 apresentou valor acima do limite estabelecido por legislação e amostra de número 7 apresentou valor limite quando acrescida do erro relativo de 20% associado à recuperação ($0,458 \pm 0,075$). As demais amostras apresentaram valores abaixo do limite estabelecido em legislação. O fato que pode justificar o maior teor de Pb encontrado na amostra 4 é o de que essa amostra, segundo informações do fornecedor, foi envasada na cidade de Itabaiana, no estado da Paraíba, distante 602 km do apiário de coleta do mel, localizado na cidade de Ouricuri, no estado de Pernambuco. O transporte inadequado do mel pode ter sido um dos fatores responsáveis pela contaminação.

As concentrações de Cu nas amostras apresentaram valores médios entre 0,170 e 1,426 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. A legislação brasileira não estabelece limite para Cu em mel de abelha. Já a legislação internacional estabelece limite de Cu de até 10,0 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ para alimentos em geral. Os valores encontrados para as 20 amostras estão em conformidade com a legislação vigente, mesmo se acrescidos dos erros relativos associados à recuperação.

5 CONCLUSÕES

Amostras de mel de abelhas nativas necessitam de um tempo de repouso superior ao requerido para digerir, a frio, uma amostra de mel de abelhas africanizadas durante o processo de preparo.

A eficácia da análise de metais pesados em mel de abelha por voltametria de redissolução anódica de pulso diferencial (DPASV) depende principalmente da digestão efetiva das amostras de mel, de modo que estas sejam completamente mineralizadas.

A correção de pH para 3,5 faz-se necessária para evitar a presença de interferentes nas medidas voltamétricas.

A formação de compostos intermetálicos de Zn-Cu na superfície do eletrodo durante a etapa de deposição impede a determinação desses metais de maneira efetiva. A determinação de Zn pode ser feita adicionando-se uma adequada concentração de solução-padrão de Ga(III) à solução da amostra uma vez que o Ga forma um intermetálico mais estável com o Cu, possibilitando a re-oxidação quantitativa do Zn. A análise de Cu pode ser feita utilizando-se um potencial de deposição (-0,5 V) mais anódico que o requerido para a redissolução do Zn.

Amostras de mel de abelha de diferentes origens foram analisadas pela técnica de voltametria de redissolução anódica de pulso diferencial (DPASV) em eletrodo de gota pendente de mercúrio (HMDE). Esta técnica mostrou-se eficiente na determinação do conteúdo total de metais pesados tais como Zn, Pb e Cu em amostras de mel mineralizadas.

Foi observado que das 20 amostras analisadas, apenas 01 (5%) (amostra de número 4) apresentou teor de Pb acima do limite estabelecido pela legislação vigente e 19 amostras (95%) apresentaram teores significativos de Pb, embora nenhuma delas tenha excedido o limite. O maior teor de Pb encontrado na amostra de número 4 pode estar relacionado ao transporte inadequado do mel, uma vez que este foi envasado em outro município, distante 602 km do local da colheita.

Todas as amostras apresentaram teores de Zn e Cu abaixo do limite estabelecido por legislação, indicando que não devem representar riscos à saúde dos consumidores desses produtos e evidenciando a boa qualidade do mel produzido no estado de Pernambuco.

REFERÊNCIAS

- BAIRD, C. **Environmental chemistry**. 2. ed. New York: Bookman, 2002.
- BARD, A. J., FAULKNER, L. R. **Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications**. 2. ed. Danvers: Wiley, 2001.
- BERTELLI, D., LOLLI, M., PAPOTTI, G., BORTOLOTTI, G. S., PLESSI, J. Detection of honey adulteration by sugar syrups using one-dimensional and two-dimensional high-resolution nuclear magnetic resonance. **J. Agric. and Food Chem.**, v. 58, p. 8495, 2010.
- BOGDANOV, S. Contaminants of bee products. **Apidologie**, v. 37, p. 1, 2006.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 17, de 29 de maio de 2013. Aprova os programas de controle de resíduos e contaminantes em carnes, leite, mel, ovos e pescado. Brasília: MAPA, 2013. 14 p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 06, de 25 de julho de 1985. Aprova as normas higiênico-sanitárias e tecnológicas para mel, cera de abelhas e derivados. Brasília: MAPA, 1985. 19 p.
- BRITO, N. M., JUNIOR, O. P. A., POLESE, L., RIBEIRO, M. L. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. **Pesticidas: Rev. de Ecotoxic. e Meio Ambiente**, v. 13, p. 134, 2003.
- CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION (2001). Revised Codex Standard for Honey, Codex STAN 12-1981, Rev. 1, 1987, Rev. 2, 2001.
- COPELAND, T. R., OSTERYOUNG, R. A., SKOGERBOE, R. K. Elimination of copper-zinc intermetallic interferences in anodic stripping voltammetry. **Anal. Chem.**, v. 46, p. 2093, 1974.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). Value of agricultural production, 2011.
- FORMICKI, G., GREN, A., STAWARZ, R., ZYSK, B., GAL, A. Metal content in honey, propolis, wax, and bee pollen and implications for metal pollution monitoring. **Pol. J. Environ. Stud.**, v. 22, n. 1, p. 102-103, 2013.

FRANCHINI, R. A. A., MATOS, R. C., Determinação da origem geográfica de méis comerciais brasileiros usando eletroforese capilar de zona. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 30., 2007, Águas de Lindóia. **Anais eletrônicos...** Disponível em <<http://sec.s bq.org.br/cdrom/30ra/resumos/T0210-2.pdf>>. Acesso em: 15 maio 2014.

GONÇALVES, L. S. Principais impactos biológicos causados pela africanização das abelhas *Apis mellifera* e perspectivas da apicultura brasileira. In: Encontro Sobre Abelhas, 3., 1998, Ribeirão Preto. **Anais...** Ribeirão Preto, 1998, p. 31-36.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Produção da Pecuária Municipal (2001-2012). Rio de Janeiro, 2001-2012.

ISLAM, N., KHALIL, I., ISLAM, A., GAN, S. H. Toxic compounds in honey. **J. Appl. Toxicol.**, 2013.

KABATA-PENDIA, A., PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plants**. 3. ed. London: CRC Press, 2000. 331 p.

KORN, M. G. A., GUIDA, M. A. B., BARBOSA, J. T. P., TORRES, E. A., FERNANDES, A. P., SANTOS, J. C. C., DANTAS, K. G. F., NÓBREGA, J. A., Evaluation of sample preparation procedures for trace element determination in brazilian própolis by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry and their discrimination according to geographic region. **Food Anal. Methods**, v. 6, n. 3, p. 873, 2013.

KOUNAVES, S. P. Voltammetric Techniques. In: SETTLE, F. A. (Ed.). Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry. Arlington: Prentice Hall, 1997, p. 709-725.

LAWAL, R. A., LAWAL, A. K., ADEKALU, J. B. Physico-chemical studies on adulteration of honey in Nigeria. **Pakistan J. Biol. Sci.**, v. 12, n. 15, p. 1080, 2009.

LEBLEBICI, Z., AKSOY, A. Determination of heavy metals in honey samples from Central Anatolia using plasma optical emission spectrofotometry (ICP-OES). **Polish J. of Environ. Stud.**, v. 17, n. 4, p. 551, 2008.

LEMOS, G. S., SANTOS, J. S., SANTOS, M. L. P. Validação de método para a determinação de 5-hidroximetilfurfural em mel por cromatografia líquida e sua influência na qualidade do produto. **Quím. Nova**, v. 33, n. 8, p. 1682, 2010.

LOVRIC, M. Stripping Voltammetry. In: SCHOLZ, F. (Ed.). Electroanalytical Methods: Guide to Experiments and Applications. Berlin: Springer, 2005. p 191-210.

MAGALHÃES, M. S. Mel e pólen de abelhas *Apis mellifera* como bioindicadores de poluição ambiental por metais pesados. 2010. 68 f. Dissertação – Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2010.

MOREIRA, F. M., MOREIRA, J. C., Os efeitos do chumbo sobre o organismo humano e seu significado para a saúde. **Rev. Panam. de Salud Publica**, v. 15, n. 2, p. 119-129, 2004.

MUÑOZ, E., PALMERO, S. Determination of heavy metals in honey by potentiometric stripping analysis and using a continuous flow methodology. **Food Chem.**, v. 94, p. 478, 2006.

NASCIMENTO, D. S. Determinação simultânea de Cu, Pb, Cd, Ni, Co e Zn em atanol combustível por voltametria de redissolução adsorptiva e calibração multivariada. 2013. 85 f. Dissertação – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2013.

NEIMAN, E. Y. A., PETROVA, L. G., IGNATOV, V. I., DOLGOPOLOVA, I. P. The third element effect in anodic stripping Voltammetry. **Anal. Chim. Acta**, v. 113, p. 284, 1980.

OLIVEIRA, F. A. M. A., SEABRA, M. A. M. Apicultura em Imbassá: viabilidade econômica. Mata de São João, Instituto Imbassá 2006. Disponível em: <<http://www.institutoimbassai.org.br/arquivos/Projetos/ApiculturaRelatorio.pdf>>. Acesso em: 16 abr. 2011.

OLIVEIRA, M. L., CUNHA, J. A. Abelhas africanizadas *Apis mellifera scutellata* Lepeletier, 1836 (Hymenoptera: Apidae: Apinae) exploram recursos na floresta amazônica?. **Acta Amazônica**, v. 35, n. 3, p. 390, 2005.

PEREIRA, F. M., LOPES, M. T. R., CAMARGO, R. C. R., VILELA, S. L. O. Produção de mel. Teresina, Embrapa Meio-Norte 2003. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mel/SPMel/index.htm>>. Acesso em: 15 maio 2014.

RU, Q. M., FENG, Q., HE, J. Z. Risk assessment of heavy metals in honey consumed in Zhejiang province, southeastern China. **Food and Chem. Toxicol.**, v. 53, p. 259, 2013.

RUOFF, K. BOGDANOV, S. Authenticity of honey and other bee products. **Apiacta**, v. 38, p. 317, 2004.

SANNA, G., PILO, M. I., PIU, P. C., TAPPARO, A., SEEBER, R. Determination of heavy metals in honey by anodic stripping voltammetry at microelectrodes. **Anal. Chim. Acta**, v. 415, p. 165–173, 2000.

SEBRAE. Boletim do agronegócio: apicultura. Recife, 2011. Disponível em: <<http://189.39.124.147:8030/downloads/boletim-apicultura.pdf>>. Acesso em: 15 maio 2014.

SEBRAE. Série perfil de projetos: Apicultura – produção de mel. Vitória, 1999. Disponível em: <[http://201.2.114.147/bds/BDS.nsf/F9F5FC10FD375A7503256E3600636BB6/\\$File/NT0003C7FA.PDF](http://201.2.114.147/bds/BDS.nsf/F9F5FC10FD375A7503256E3600636BB6/$File/NT0003C7FA.PDF)>. Acesso em: 15 maio 2014.

SHUMAN, M. S., WOODWARD JR., G. P. Intermetallic compound formation between copper and zinc in mercury and its effects on anodic stripping voltammetry. **Anal. Chem.**, v. 48, p. 1979, 1979.

SKOOG, D. A., WEST, D. M., HOLLER, F. J., CROUCH, S. R. **Fundamentos de Química Analítica**. 8. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2009. 999 p.

SOUZA, D., MACHADO, S. A. S., AVACA, L. A. Voltametria de onda quadrada: primeira parte: aspectos teóricos. **Quim. Nova**, v. 26, n. 1, p. 82, 2003.

THOMPSON, M.; ELLISON, S. L. R.; FAJGELJ, A.; WILLETTS, P.; WOOD, R. A Review of Interference Effects and their Correction in Chemical Analysis with Special Reference to Uncertainty. **Pure and Appl. Chem.**, v. 71, p. 337, 1999.

VANHANEN, L. P., EMMERTZ, A., SAVAGE, G. P. Mineral analysis of mono-floral New Zealand honey. **Food Chem**, v. 128, p. 238, 2011.

VIDAL, M. F. Produção e venda dos produtos da apicultura do Nordeste. Informe Rural ETENE, 2010. Disponível em: <http://www.bnb.gov.br/content/aplicacao/etene/etene/docs/ire_ano4_n10.pdf>. Acesso em: 15 maio 2014.