



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA
GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS



**Determinação analítica de contaminantes e congêneres em
bebidas: uma revisão de métodos**

Patos de Minas-MG

2021



Determinação analítica de contaminantes e congêneres em bebidas: uma revisão de métodos

Lorranne Marins Gonçalves

Trabalho de conclusão de curso de
graduação em Engenharia de Alimentos,
da Universidade Federal de Uberlândia,
como requisito parcial para obtenção do
título de Engenheiro de Alimentos.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Djenaine De
Souza

Patos de Minas-MG

2021



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Faculdade de Engenharia Química

Av. João Naves de Ávila, 2121, Bloco 1K - Bairro Santa Mônica, Uberlândia-MG, CEP 38400-902

Telefone: (34) 3239-4285 - secdireq@feq.ufu.br - www.feq.ufu.br



HOMOLOGAÇÃO Nº 49

LORRANNE MARINS GONCALVES

Determinação analítica de contaminantes em bebidas: uma revisão de métodos

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado nesta data para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Uberlândia (UFU) - *campus* Patos de Minas (MG) pela banca examinadora constituída por:

Prof.^a Dr.^a Djenaine de Souza
Orientador(a) - IQUFU/UFU

Bel.^a Danielle Gonçalves Filho
UFU

Prof. Dr. Sidney Xavier dos Santos
UFV

Patos de Minas, 3 de novembro de 2021.



Documento assinado eletronicamente por **Danielle Gonçalves Filho, Usuário Externo**, em 03/11/2021, às 16:14, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Djenaine de Souza, Professor(a) do Magistério Superior**, em 03/11/2021, às 16:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Sidney Xavier dos Santos, Usuário Externo**, em 03/11/2021, às 16:38, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **3132771** e o código CRC **249C8A26**.

Agradecimentos

Eu achei que a parte mais difícil de escrever esse trabalho seria exatamente desenvolver a revisão a que me propus. Hoje, no entanto, percebo que a minha maior dificuldade está exatamente em escrever esse pequeno pedaço do documento, onde eu agradeço a todos que fizeram parte do processo longo e complicado que me trouxe até aqui, “aos finalmentes”. E talvez seja essa ansiedade de estar terminando que torna tudo mais difícil, os agradecimentos ganham tom de despedida, mas enfim, estou divagando, como tenho feito desde que entrei nessa loucura de faculdade.

Mas vamos lá, antes de mais nada, eu não teria como agradecer a ninguém mais que meus pais, Maria Luisa Marins Gonçalves e Osmildo José Gonçalves, que mesmo na sua simplicidade, e com seu jeito, sempre me apoiaram, sempre estiveram do meu lado, me provendo tudo que precisava de todas as formas para que eu pudesse chegar até aqui. Sei que não foi fácil para eles, da mesma forma ou talvez até mais do que não foi para mim, tivemos que enfrentar muitas coisas nesse período, mas eu sempre pude contar com vocês. A minha maior alegria nisso tudo é saber que estou dando orgulho para vocês, porque eu sempre tive orgulho de ser filha de vocês! Pai obrigada pelos inúmeros conselhos e mãe obrigada pelas novenas, inclusive, agradeço a Deus e a Nossa Senhora do Carmo, mesmo com uma fé meio torta, ter uma perspectiva em algo maior me ajudou em vários momentos. Agradeço a minha avó Marcolina Franklin de Marins por me ensinar o significado de fé, força e amor. Também quero agradecer o companheirismo e a cumplicidade dos meus irmãos, Arthur e Yasmin, que mesmo, muitas das vezes, não fazendo ideia do que eu estava falando ou do que eu estudava, sempre me apoiaram e me incentivaram. Amo vocês incondicionalmente. Agradeço aos meus gatos pelo apoio emocional.

Agradeço imensamente ao meu querido amigo Victor Fonseca que me acompanhou e, em muitos dias foi meu maior pilar, meu porto seguro, para lidar com essa versão descontrolada e imprevisível de um clipe de MGMT que vivemos nos últimos anos. Bendito seja o My Chemical Romance e as piadinhas internas que nos reuniram, não teria conseguido sem você. A Vitória que tanto me desafiou, mas que foi uma constante na minha vida nesses anos todos, e a gente bem sabe que constante é uma das melhores coisas que se pode ser, não importa se é para uma pessoa, ou em uma função qualquer, teria sido impossível chegar até aqui sem você. Agradeço a Letícia Caixeta, que pacientemente sempre me apoiou, sempre me motivou, foi a primeira pessoa com quem conversei na UFU e sou muito grata por ter feito essa boa escolha. Agradeço a Laura, que desde os meus primeiros dias foi minha companheira e nas boas e nas nem tão boas aventuras.

Quero agradecer a todos os amigos que colecionei passando pelos vários projetos em que me engajei na UFU. Sempre fui muito inquieta, e encontrei nesses lugares uma forma de estar perto de pessoas que partilhavam dessa vontade de crescer, de mudar, de fazer alguma coisa a mais. Agradeço a todos os meus colegas do PET, em especial à Ludmilla, e ao tutor que caminhou comigo por mais tempo e me apoiou em momentos cruciais, o professor Danylo. Agradeço a toda a experiência e vivência que tive no (na época) Projeto Pomar, e nesse sentido, sou muito grata ao professor Rodrigo por todo o aprendizado colecionado na convivência que tivemos. E

talvez, o grupo que mais amei fazer parte, o lugar que se tornou meu lugar preferido em toda a faculdade, onde fiz amigos que vou levar pra sempre comigo, agradeço imensamente a todos do LEABE, as amizades que cultivei por lá, com muito café, lágrimas, orações para os experimentos funcionarem e músicas duvidosas, ficarão comigo pra sempre. Em especial, agradeço ao Caio, que desde o primeiro dia me apoiou e orientou, e até hoje, sei que qualquer coisa posso correr e pedir socorro, e o mais importante, agradeço com todo meu coração de forma muito especial a minha orientadora Djenaine. Djenaine que teve a coragem de pegar uma menina perdida na vida lá no segundo período e colocar para trabalhar, que me deu o incentivo que eu precisava em tantos momentos, que me motivou, me apoiou nos momentos mais difíceis, me mostrou o potencial que existia em mim e agora, encerra esse ciclo comigo. Que inclusive, é só o primeiro que vamos encerrar juntas, eu espero. Admiro sua força, me espelho na profissional e pessoa incrível que é e serei eternamente grata a você.

Agradeço, também, pelo apoio e compreensão de todos os amigos que tiveram que ouvir mês após mês “vamos marcar alguma coisa sim, só deixa esse mês acabar porque estou enrolada de coisa da faculdade para fazer”. Agradeço a todas as pessoas especiais que encontrei pelo caminho, em qualquer momento desse percurso, e talvez, inclusive, principalmente, àquelas que esbarrei nesses dois últimos, complicados e difíceis anos.

Por fim, agradeço aos membros da banca, Prof. Dr. Sidney Santos e Danielle Gonçalves Filho, que dispuseram do seu tempo para colaborar e partilhar seus conhecimentos comigo. Desde já sou muito grata pelo aprendizado!

Não foi fácil chegar até aqui, tive muitos problemas pessoais, teve greve, teve até uma pandemia mundial, quem é que poderia imaginar que eu viveria uma pandemia antes de me formar. Mas eu agradeço por tudo. Porque sei que o que carrego comigo fez de mim uma pessoa melhor.

Resumo

Os fluidos comestíveis, são chamados de bebidas, possuem lugar de destaque na rotina cotidiana humana. Isso porque, indiferente à idade, estilo de vida, e quaisquer outros fatores, bebidas são consumidas por todos, todos os dias. Sejam aquelas destinadas a hidratação, ou aos momentos recreativos e de socialização, as bebidas estão presentes em diversos momentos durante toda a vida do ser humano. Deste modo a contaminação e/ou adulteração de bebidas pode causar sérios danos à saúde de vários indivíduos. Portanto, toda e qualquer produção de bebidas deve ser submetida a constantes testes para verificação de sua qualidade, antes de ser destinada ao consumidor final. Essa além de ser uma questão sanitária, é uma questão econômica, já que de acordo com dados da Food and Agriculture Organization of the United Nations - FAO, o volume de exportação de bebidas teve um incremento de 43,3% mundialmente em 2018, quando comparado ao ano anterior, e neste mesmo ano o mercado mundial de bebidas movimentou cerca de U\$222.820.879,00. No Brasil, de acordo com dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE, a indústria de bebidas tem grande importância na economia emergente. O Brasil, chegou a exportar bebidas para mais de 100 mercados externos, e em 2018 a produção total de bebidas brasileiras teve valor estimado em R\$105.701038,00. Este breve levantamento de informações evidencia a importância e o potencial da indústria de bebidas para a economia mundial e brasileira. Para se manter economicamente viável o mercado de bebidas deve se manter ativo e atento às demandas do mercado por inovações em produtos e processos de produção, além de permanecer zelando pela qualidade e segurança das bebidas produzidas. Um bom controle de qualidade, capaz de produzir bebidas de alto valor agregado e padronizadas é um requisito básico e necessário para elevar as exportações, estimular e manter a segurança do consumidor, seja ele interno ou externo. Assim, devido a importância do controle de qualidade para a indústria de bebidas, o objetivo deste trabalho de conclusão de curso é através do levantamento bibliográfico em bases de dados científicas, elaborar um artigo de revisão bibliográfica acerca das inovações nas tecnologias já amplamente utilizadas, bem como daquelas que emergem como tendências, para a identificação de contaminantes e congêneres em bebidas, com foco no caso da cachaça.

Abstract

Edible fluids, which we call beverages, have a prominent place in human daily routine. That's because, regardless of age, lifestyle, and any other factors, we all consume beverages every day. Whether those intended for hydration, or those that we drink in recreational and socializing moments, drinks are present at various times throughout a human being's life. Thus, contamination and/or adulteration of beverages is the easiest way to harm an individual's health. Therefore, any and all beverage production must undergo constant tests to verify the quality, before being destined for the final consumer. This, in addition to being a sanitary issue, is an economic issue, since according to data from the Food and Agriculture Organization of the United Nations - FAO, the volume of beverage exports had an increase of 43.3% worldwide in 2018, when compared to the previous year, and in this same year the world beverage market moved around U\$222,820,879.00. In Brazil, according to data from the Brazilian Institute of Geography and Statistics - IBGE, the beverage industry is of great importance in the emerging economy. Brazil exported beverages to more than 100 foreign markets, and in 2018 the total production of Brazilian beverages had an estimated value of R\$105,701,038.00. This brief survey of information highlights the importance and potential of the beverage industry for the world and Brazilian economy. To remain economically viable, the beverage market must remain active and attentive to market demands for innovations in products and production processes, in addition to ensuring the quality and safety of the beverages produced. Good quality control, capable of producing standardized and high added value beverages is a basic and necessary requirement to increase exports, encourage and maintain consumer safety, whether internal or external. Thus, due to the importance of quality control for the beverage industry, the objective of this course completion work is through a bibliographic survey in scientific databases, to prepare a literature review article about innovations in technologies already widely used, as well as those that emerge as trends, for the identification of contaminants and congeners in beverages, with a focus on the case of cachaça.

Lista de Figuras

Figura 1 - Fluxograma apresentando as principais etapas envolvidas na produção da cachaça.	13
Figura 2 - Número total de produtores e marcas de Cachaça registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).	14
Figura 3 - Principais países importadores da cachaça produzida não Brasil, considerando-se os anos de 2018 e em 2019.....	15
Figura 4 - Metodologia esquemática adotada para o desenvolvimento do trabalho.	18
Figura 5 - Técnicas analíticas utilizadas para análise de contaminantes e congêneres em cachaça, considerando os trabalhos publicados nos últimos dez anos	22
Figura 6 - Quantidade de trabalhos científicos publicados na última década considerando-se a determinação analítica de contaminante e congênere em cachaça	23
Figura 7 - Sistema genérico utilizado para a realização de experimentos de análise de compostos eletroativos utilizando métodos voltamétricos	51

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Níveis máximos de contaminantes e congêneres permitidos em cachaça, de acordo com legislação vigente pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.....	19
Tabela 2 - Níveis máximos permitidos de contaminantes e congêneres em cachaça. de acordo com o Sistema Brasileiro de Avaliação da Conformidade	20
Tabela 3 - Métodos oficiais para análise dos contaminantes e congêneres em cachaças, recomendados pela AOAC.....	21
Tabela 4 – Aplicações da GC para a determinação de contaminantes e congêneres em cachaça, indicando os valores de LD e LQ obtidos.....	27
Tabela 5 – Aplicações da HPLC para a determinação de contaminantes e congêneres em cachaça, indicando os valores de LD e LQ obtidos.....	36
Tabela 6 – Aplicações das técnicas espectroscópicas para a determinação de contaminantes e congêneres em cachaça, indicando os valores de LD e LQ obtidos	42
Tabela 7 – Aplicações das técnicas colorimétricas para a determinação de contaminantes e congêneres em cachaça, indicando os valores de LD e LQ obtidos	
Parâmetros analíticos de análises de contaminantes e congêneres em Cachaça e aguardente de cana-de-açúcar usando técnicas colorimétricas.....	46
Tabela 8 – Perspectivas de aplicação das técnicas voltamétricas para a análise de alguns contaminantes e congêneres em cachaça.....	54

Lista de Siglas

AOAC – Association Of Official Analytical Collaboration

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations

LD – Limite de detecção

LQ – Limite de quantificação

DIB – Digital Image Based

GC – Gas chromatography

HPLC – High performance liquid chromatography

GC-MS – Gas chromatography mass spectrometry

GC-FID - Gas chromatography flame ionization detector

PAH - Polycyclic aromatic hydrocarbons

QuEChERS - Quick, easy, cheap, effective, rugged and safe method

HPLC-FL - High performance liquid chromatography with fluorescence detection

HPLC- UV/Vis - High performance liquid chromatography with ultravioleta/visible absorption detection

HPLC-DAD - High performance liquid chromatography with diode array detection

UV - Ultravioleta

Vis - Visível

IR - Infravermelho

RMN - Ressonância magnética nuclear

FAAS - Flame Atomic Absorption Spectrometry

CCD - Charge Coupled Device

LSV - Linear Stripping Voltammetry

CV - Cyclic Voltammetry

SWV - Square Wave Voltammetry

DPV - Differential Pulse Voltammetry

ICP-OES - Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry

Sumário

1	INTRODUÇÃO.....	11
1.1	Objetivos	17
2	METODOLOGIA.....	17
3	ANÁLISE DAS INFORMAÇÕES.....	18
3.1.	Métodos Instrumentais de Análise: Contaminantes e Congêneres	21
3.2	Emprego de técnicas cromatográficas	24
3.2.1	<i>Cromatografia Gasosa</i>	25
3.2.1.1	<i>Preparo de amostras para cromatografia gasosa</i>	25
3.2.2	<i>Cromatografia Líquida de Alta Eficiência - HPLC</i>	36
3.3	Emprego de técnicas espectroscópicas	41
3.4	Emprego de técnicas colorimétricas.....	45
3.5	Emprego de técnicas voltamétricas.....	50
4	CONCLUSÃO	56
	REFERÊNCIAS.....	58

1 INTRODUÇÃO

As bebidas são produtos alimentícios em estado líquido, industrializados ou não, destinados à ingestão humana, sem finalidade medicamentosa ou terapêutica. Representam uma classe de alimentos que possuem grande importância e alto consumo graças a sua diversidade de produtos, praticidade de transporte e de consumo, variedade de sabores, refrescância, estímulo físico e mental e principalmente estimula a agregação social. O mercado de bebidas, assim como o de alimentos em geral, está em constante transformação, desenvolvendo novos produtos e processos, o que impulsiona e amplia a variedade de produtos para atender o mercado interno e externo, fortalecidos pela consolidada indústria de sucos de laranja e de frutas tropicais e pela proeminente ascensão da indústria da cachaça (FERNANDES; GARCIA, 2015).

Alguns países têm bebidas com “denominação de origem, com características próprias. O México possui a Tequila, a França possui o Champagne, a Escócia possui o Whisky e o Brasil possui como sua bebida exclusiva a Cachaça. De acordo com alguns historiadores, a Cachaça é a primeira bebida destilada das Américas, e sua origem pode ser contada através de duas narrativas, mas ambas convergem para uma mesma época da história brasileira, o início da colonização efetiva do Brasil. Apesar de não haver registros dessa longínqua época, pode-se afirmar que a primeira destilação de Cachaça ocorreu intencionalmente em algum engenho de açúcar situado no litoral brasileiro por volta de 1516 e 1532, surgindo portanto antes mesmo do aparecimento do Pisco, Tequila, Bourbon e do Rum (IBRAC - INSTITUTO BRASILEIRO DA CACHAÇA, 2017).

De acordo com a legislação brasileira:

A cachaça é a denominação típica e exclusiva da aguardente de cana produzida no Brasil, com graduação alcoólica de 38% a 48% em volume, a vinte graus Celsius, obtida pela destilação do mosto fermentado do caldo de cana-de-açúcar com características sensoriais peculiares, podendo ser adicionada de açúcares até seis gramas por litro (BRASIL, 2009).

Vale ressaltar que a bebida cachaça é uma aguardente de cana, no entanto, como a própria legislação diferencia, nem toda aguardente de cana será cachaça. O que diferencia as duas bebidas é, principalmente, o teor alcoólico, sendo o da aguardente de cana de 38% a 54% em volume, a 20 °C, e também a matéria-prima da destilação, uma vez que para a fabricação de Cachaça o mosto poderá ser composto por caldo de cana-de-açúcar fresco, já a aguardente de cana pode ser concebida também a partir da destilação alcoólica simples da cana-de-açúcar (BRASIL, 2009).

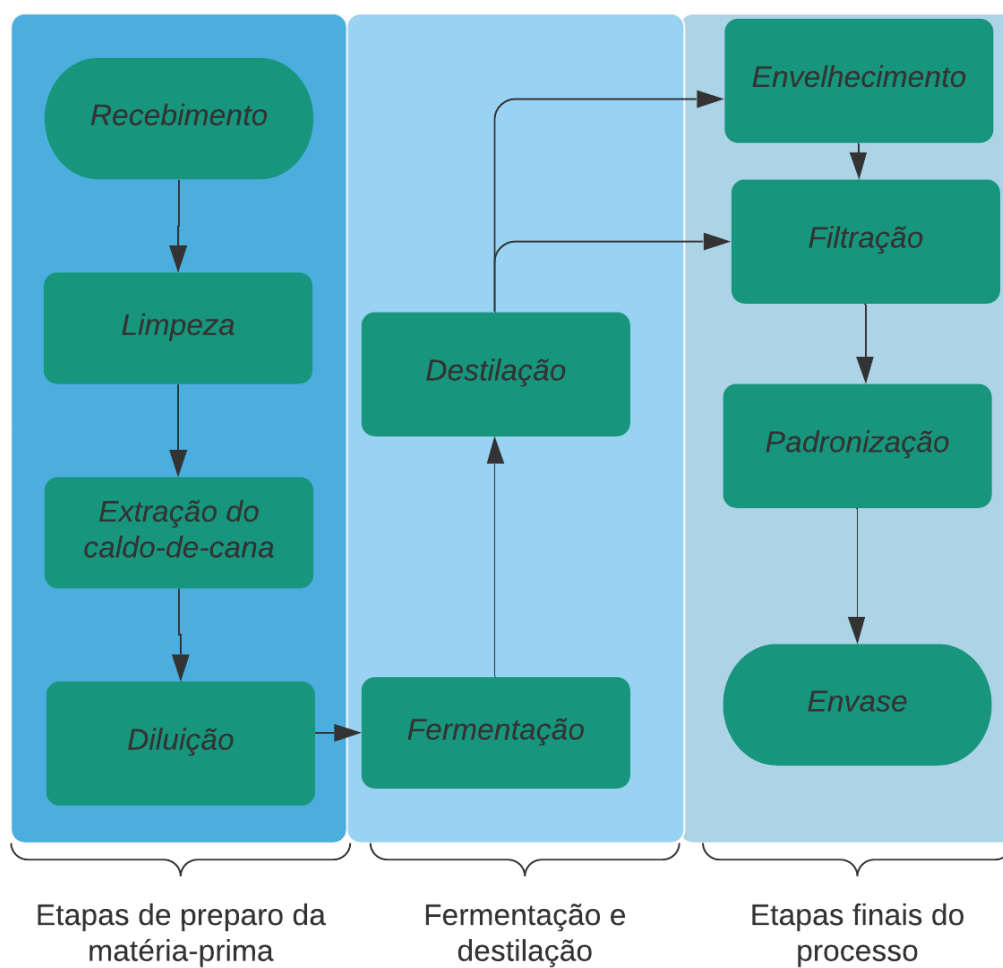
A metodologia de produção da cachaça é o que a diferencia de outros destilados alcoólicos que também têm a cana-de-açúcar, como matéria-prima principal. O rum, por exemplo, é a bebida destilada a base de cana-de-açúcar, que apesar de ter sua origem no Caribe e ser produzido principalmente por países da América Central e do Sul, pode ser produzida em qualquer lugar do mundo, e é destilado a partir do caldo de cana cozido, o melaço (MAPA DA CACHAÇA, 2019). O cozimento do caldo de cana pode resultar em uma composição química própria, alterando os teores de ésteres, aldeídos e álcoois superiores, o que diferencia os destilados e confere à bebida propriedades sensoriais próprias (DE SOUZA et al., 2007). A produção de Cachaça segue algumas etapas básicas, as quais são apresentadas na Figura 1.

Além do rum, o Rhum Agricole também é uma bebida destilada a partir da cana-de-açúcar, que é produzido apenas nas ilhas francesas de Guadalupe, Martinica e Haiti e também é preparado a partir do caldo de cana fresco, resultando em uma graduação alcoólica com até 70% em volume, a 20°C (MAPA DA CACHAÇA, 2019). Além disso, como é garantido pelo Decreto nº 4.062 de 2001, baseado no Acordo sobre Aspectos dos Direitos de Propriedade Intelectual Relacionados ao Comércio, no âmbito da Organização Mundial do Comércio – TRIPS/OMC, a nomenclatura “cachaça” e “cachaça do Brasil” constitui uma indicação geográfica, só podendo então ser adotadas por bebidas fabricadas em solo brasileiro (BRASIL, 2001).

A cachaça, de acordo com seu Padrão de Identidade e Qualidade – PIQ, também pode ser denominada como cachaça Adoçada, cachaça Envelhecida, cachaça Premium e cachaça Extra Premium (BRASIL, 2005a). Além disto, a cachaça possui também como peculiaridade a possibilidade de haver uma variedade de

diversas madeiras nas quais o repouso e envelhecimento da cachaça pode ser realizado, tais como a Amburana, Jequitibá, Amendoim, Bálsamo, Ipê, Freijó, Eucalipto, Castanheira, dentre várias outras (IBRAC; APEX, 2004), garantido à bebida sabor e aromas característicos.

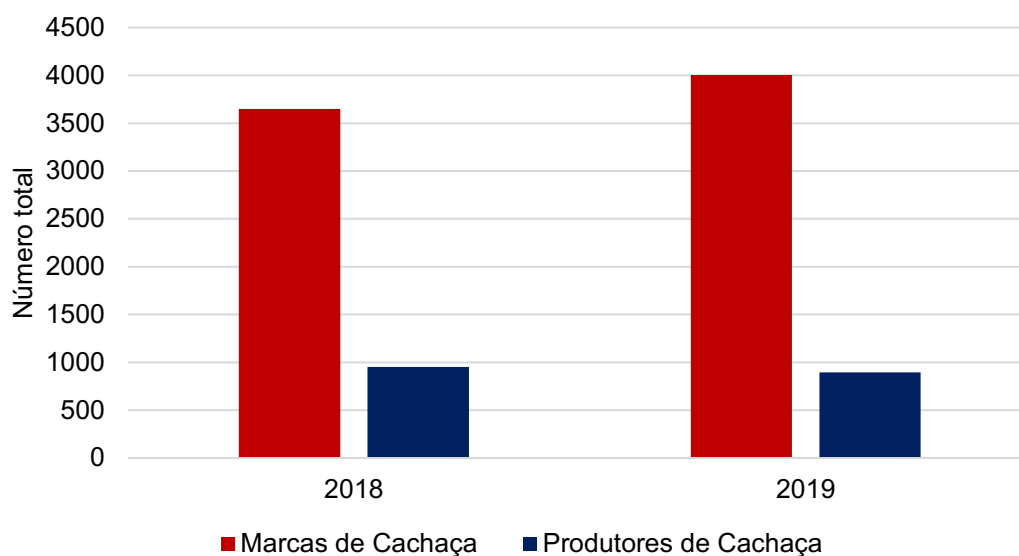
Figura 1 - Fluxograma apresentando as principais etapas envolvidas na produção da cachaça.



Fonte: Adaptado de E Silva; Verruma-Bernardi; De Oliveira, 2020.

A cachaça é produzida em diversos estabelecimentos espalhados de norte a sul, cobrindo quase todo o território brasileiro. Em 2019 o Brasil registrou um total de 894 produtores de cachaça, e um total de 4003 rótulos, como pode-se observar na Figura 2 (BRASIL, 2020).

Figura 2 - Número total de produtores e marcas de Cachaça registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).



Fonte: Adaptado de Brasil, 2020

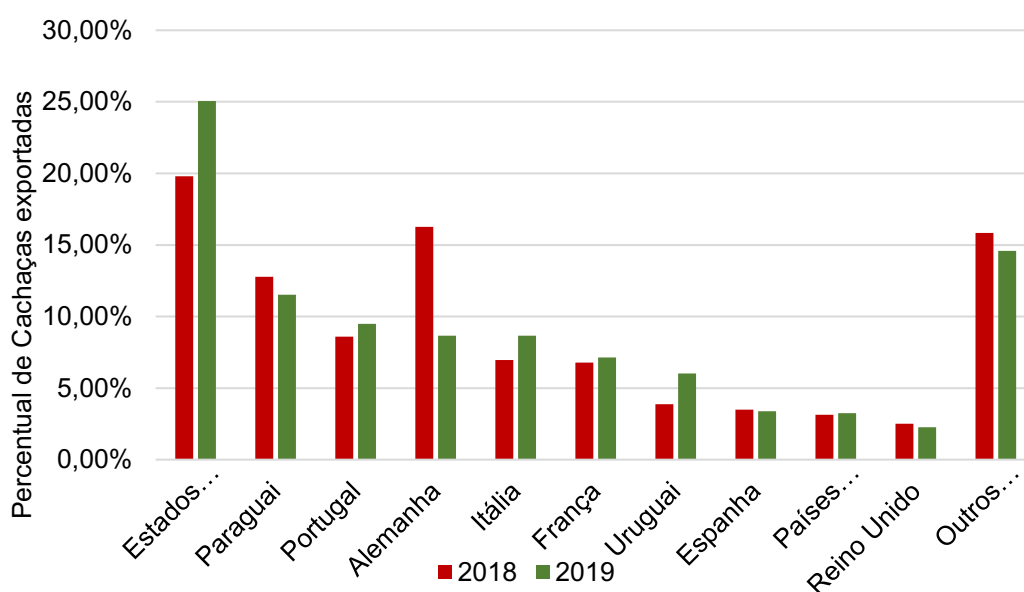
A redução no número de produtores de cachaça no Brasil se deve, principalmente, pela redução na quantidade de estabelecimentos produtores de aguardente que também produziam cachaça, uma vez que para produtores de aguardente o decréscimo no número de estabelecimentos registrados foi de 41,57% quando comparado ao ano anterior, enquanto a redução no número de produtores apenas de cachaça foi de 5,99% no mesmo período. O maior número de estabelecimentos produtores de cachaça se encontra nos estados de Minas Gerais, São Paulo, Espírito Santo, Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul, Paraíba, Santa Catarina, Paraná, Goiás e Bahia. As dez primeiras posições no ranking de produtores de cachaça são ocupadas por estados do sul e sudeste, além de Goiás, Bahia e Paraíba (BRASIL, 2020).

No que diz respeito ao volume de produção, nos últimos anos a produção de cachaça vem vivendo momentos de grande expansão. A cachaça é hoje a segunda bebida mais consumida no mercado interno, perdendo apenas para a cerveja. No exterior a bebida vem conquistando cada vez mais espaço graças aos processos de certificação que determinam a origem e qualidade da cachaça. Em 2012 o mesmo reconhecimento foi recebido por parte da Colômbia. Em 2013 os Estados Unidos, que até então recebiam a bebida com o rótulo de *Brazilian Rum*, reconheceram que a bebida é um produto genuinamente brasileiro.

Recentemente os governos do México e Brasil assinaram um Acordo para o Reconhecimento Mútuo da Cachaça e Tequila como Indicações Geográficas e Produtos Distintivos do Brasil e México. O Instituto Brasileiro da Cachaça – IBRAC juntamente com a Agência de Promoção de Exportações e Investimentos – Apex-Brasil desenvolvem projetos com o objetivo de consolidar o reconhecimento da cachaça no mercado internacional, dentre estes projetos pode-se citar o *Branding Cachaça Taste The New, Taste Brazil*, que resultou em uma marca institucional para promoção da cachaça no mercado internacional (IBRAC - INSTITUTO BRASILEIRO DA CACHAÇA, 2017).

No que diz respeito às exportações, estima-se que menos de 1,0% da produção, considerando-se o volume produzido, é exportada. Em 2019 a cachaça foi exportada para 83 países, com mais de 50 empresas participando dessas exportações, resultando na comercialização de cerca de 7,26 milhões de litros e gerando uma receita de US\$ 14,45 milhões, o que representou um decréscimo de 7,41% em comparação aos US\$ 15.612.053,00 faturado em 2018. Os principais países importadores foram Estados Unidos, Paraguai, Portugal e Alemanha, como apresentado na Figura 3 (IBRAC - INSTITUTO BRASILEIRO DA CACHAÇA, 2017, 2019).

Figura 3 - Principais países importadores da cachaça produzida não Brasil, considerando-se os anos de 2018 e em 2019



Fonte: Adaptado de IBRAC, 2019

Considerando-se o mercado nacional, de acordo com dados do IBRAC de 2019, os estados que mais consomem cachaça são: São Paulo, Pernambuco, Rio de Janeiro, Ceará, Bahia e Minas Gerais, nesta ordem. De acordo com dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE em 2016 havia 11.204 estabelecimentos produtores de cachaça no Brasil, entretanto, apenas 1.500 estabelecimentos estavam devidamente registrados no Ministério da Agricultura e Abastecimento – MAPA e na Receita Federal, logo 85% dos estabelecimentos, na maioria micro e pequenas destilarias, são informais. Embora 90% da produção, em litros de 2016, ter sido originária de estabelecimentos devidamente registrados, o número de estabelecimentos informais ainda é grande e desperta preocupação (IBRAC - INSTITUTO BRASILEIRO DA CACHAÇA, 2019).

O registro de estabelecimentos produtores de cachaça, para comercializar legalmente e exportar seus produtos está sujeito ao cumprimento do *Regulamento Técnico para Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para Aguardente de Cana e para Cachaça*, documento este que estabelece, dentre outras instruções, quais são as substâncias consideradas contaminantes e congêneres e limites máximos que podem ser encontrados em cachaças e aguardentes de cana (BRASIL, 2005b, 2005a).

Além disso, para que um estabelecimento produtor de cachaça consiga obter um diferencial na cachaça produzida tanto para o mercado interno quanto para exportação, é necessário a obtenção de certificação concedida através do Sistema Brasileiro de Avaliação da Conformidade – SBAC, coordenado pelo Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia – INMETRO. Para a obtenção desses certificados o produtor deve atender aos regulamentos estabelecidos pelos *Requisitos de Avaliação da Conformidade para Cachaça*, dentre os requisitos estão níveis de tolerância de contaminantes e congêneres, ou seja, compostos voláteis não alcóolicos ou ainda, compostos secundários, que devem ser controlados periodicamente (MACCARI, 2013).

Segundo os dados mais recentes relacionados da Food and Agriculture Organization of the United Nations - FAO, o volume de exportação de bebidas teve um incremento de 43,3% mundialmente em 2018, quando comparado ao ano anterior, e neste mesmo ano o mercado mundial de bebidas movimentou cerca de

U\$222.820.879,00. No Brasil, de acordo com dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE, a indústria de bebidas tem grande importância na economia emergente. O Brasil, chegou a exportar bebidas para mais de 100 mercados externos, e em 2018 a produção total de bebidas brasileiras teve valor estimado em R\$105.701038,00 (FAO, 2018).

Visando cada vez mais otimizar e melhorar a qualidade e padronização de cachaças produzidas, diversas pesquisas científicas têm sido desenvolvidas com o objetivo de desenvolver metodologias eficientes para a identificação e quantificação dos contaminantes e congêneres em cachaça.

1.1 Objetivos

Diante de tudo que foi apresentado acima, o objetivo geral deste trabalho foi realizar uma revisão bibliográfica mostrando as principais técnicas analíticas empregadas para a identificação e quantificação de contaminantes e congêneres em cachaças. Os objetivos específicos incluíram:

- Definir e apresentar os contaminantes e congêneres de cachaça, de acordo com legislação específica;
- Apresentar as técnicas analíticas oficiais recomendadas pela legislação, considerando-se cada um dos contaminantes;
- Apresentar dados da literatura especializada contendo pesquisas científicas envolvendo técnicas e metodologias analíticas empregadas na identificação e quantificação de contaminantes e congêneres em cachaças, considerando-se todas as pesquisas desenvolvidas nos últimos dez anos, de 2010 a 2021.

2 METODOLOGIA

O trabalho consistiu de um levantamento bibliográfico envolvendo artigos científicos, dissertações, teses e livros publicados nos últimos dez anos, abordando metodologias analíticas para a detecção de contaminantes e congêneres em cachaça (*sugarcane spirits*) e posterior apresentação e discussão dos dados obtidos. O levantamento bibliográfico foi feito seguindo o esquema apresentado na Figura 4 abaixo.

Figura 4 - Metodologia esquemática adotada para o desenvolvimento do trabalho.



Fonte: O autor, 2021

3 ANÁLISE DAS INFORMAÇÕES

Buscando garantir alta qualidade e alimentos saudáveis, todos os elementos de uma cadeia alimentar devem ser constantemente monitorados visando reduzir a ocorrência de fatores que podem prejudicar a qualidade sanitária e sensorial dos alimentos. A análise de alimentos é a ferramenta que fornece informações a respeito dos aspectos físicos, químicos e propriedades biológicas de todos os ingredientes, e aditivos alimentares, inclusive, em diferentes pontos de transformação e processamento desses componentes na constituição do alimento (PICO, 2020).

Assim, a análise de alimentos, como parte integrante do controle de qualidade, é parte essencial na produção de qualquer alimento ou bebida, portanto, a cachaça também possui parâmetros que devem ser controlados em seu processo produtivo, visando a obtenção de um produto ideal para o consumo. A cachaça de qualidade deve atingir parâmetros químicos e físicos específicos para não comprometer a saúde dos consumidores da bebida, e além disso, o controle de qualidade do produto também deve levar em consideração que a composição química influencia os aspectos sensoriais.

A cachaça é a quarta bebida destilada mais consumida no mundo, ficando atrás apenas da Vodka da Rússia, Soju da Coreia do Sul e o Baijiu da China. Uma média de 1,7 bilhão de litros de aguardente de cana e cachaça são produzidos anualmente, porém como já mencionado, deste total produzido, por ano, apenas 1% dessa produção em volume é exportada, em grande parte pela falta de qualidade e padronização da bebida (BORTOLETTO; ALCARDE, 2015).

Buscando a padronização e melhoria na qualidade da cachaça produzida nos diversos estabelecimentos do território nacional, a legislação brasileira dispõe de instrumentos que são capazes de regulamentar e garantir a segurança dos consumidores de cachaça. E de acordo com a legislação vigente relacionada são considerados contaminantes: álcool metílico, carbamato de etila, acroleína ou 2-propenal, álcool sec-butílico ou 2-butanol, álcool n-butílico ou 1-butanol, cobre, chumbo e arsênio. Já os congêneres são: ácido acético, ésteres totais, aldeídos totais, álcool butílico, furfural e hidroximetilfurfural (BRASIL, 2005d).

O *Regulamento Técnico para Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para Aguardente de Cana e para Cachaça*, apresentado nas Instruções Normativas do MAPA nº 13/2005 e nº 28/2014, define níveis máximos permitidos em cachaça os como listado na Tabela 1.

Tabela 1 - Níveis máximos de contaminantes e congêneres permitidos em cachaça, de acordo com legislação vigente pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Composto	Concentração máxima
Álcool metílico ^a	0,25 mL/100 mL de álcool anidro
Acroleína ^a	5 mg/ 100 mL de álcool anidro
Ácido acético ^b	150 mg/ 100 mL de álcool anidro
Carbamato de etila ^a	0,15 mg/L
Álcoois superiores ^b	0,3 g/100 mL de álcool anidro
Acetaldeído ^b	10 mg/100 mL de álcool anidro
Álcool n-butílico (1-butanol) ^a	3 mg/100 mL de álcool anidro
Álcool sec-butílico (2-butanol) ^a	10 mg/100 mL de álcool anidro
Ésteres totais ^b	200 mg/100 mL de álcool anidro
Aldeídos totais ^b	30 mg/100 mL de álcool anidro
Furfural e Hidroximetilfurfural ^b	5 mg/100 mL de álcool anidro
Soma de álcoois superiores ^b	360 mg/100 mL de álcool anidro
Cobre (Cu) ^a	500 µg/L
Chumbo (Pb) ^a	200 µg/L
Arsênio (As) ^a	100 µg/L

^a: Contaminante; ^b: Congêneres. **Fonte:** Brasil, 2005,2014

Outro instrumento regulatório que auxilia alambiques produtores de cachaça e aguardente de cana na padronização e garantia da segurança de seus produtos são os *Requisitos de Avaliação da Conformidade para Cachaça*, que definem níveis permitidos de contaminantes e congêneres para os quais as Cachaças devem ser testadas periodicamente, os quais estão apresentados na Tabela 2. Esse instrumento adotado pelo Sistema Brasileiro de Avaliação de Conformidade o INMETRO, deve ser observado e atendido cuidadosamente por estabelecimentos que buscam a certificação de suas bebidas. A certificação é o meio pelo qual uma terceira parte, neste caso, o INMETRO atesta através de uma garantia escrita que um determinado produto está em conformidade com requisitos específicos (SORATTO; VARVAKIS; HORII, 2007).

Tabela 2 - Níveis máximos permitidos de contaminantes e congêneres em cachaça. de acordo com o Sistema Brasileiro de Avaliação da Conformidade

Composto	Concentração máxima
Álcool metílico	20,0 mg/100 mL de álcool anidro
Furfural	0,005 g/100 mL de álcool anidro
Ésteres totais	0,200 g/100 mL de álcool anidro
Aldeídos	0,030 g/100mL de álcool anidro
Álcoois superiores	0,300 g/100 mL de álcool anidro
Cobre (Cu)	5 mg/L
Carbamato de etila	0,150 mg/L
Soma de componentes secundários	0,650 g/100 mL de álcool anidro

Fonte: Adaptado de Soratto; Varvakis; Horii, 2007

Os requisitos para certificação da cachaça pelo INMETRO são específicos para cada uma das etapas do processo de produção. O reconhecimento conquistado pela Marca Nacional de Certificação, selo conferido aos produtos devidamente certificados, agregam valor à marca, aumentam sua competitividade e a qualidade percebida pelo cliente. Por isso, diversos produtores, mesmo diante de critérios mais rigorosos, quando comparados aos critérios do MAPA para comercialização, aderem as normas definidas no Sistema Brasileiro de Avaliação da Conformidade e buscam a certificação (SORATTO; VARVAKIS; HORII, 2007; MACCARI, 2013). De modo geral, é clara a importância dos métodos analíticos e a necessidade de metodologias cada vez mais

precisas, exatas, sensíveis, seletivas e principalmente eficazes e acessíveis o controle de qualidade da cachaça.

3.1. Métodos Instrumentais de Análise: Contaminantes e Congêneres

A escolha do melhor método analítico para a determinação de ingredientes básicos, aditivos e contaminantes pode ser feita observando-se características básicas da técnica como, a exatidão, precisão, sensibilidade, seletividade, robustez, escala de operação, tempo de análise, disponibilidade de equipamentos e custo. Portanto, escolher a técnica adequada e avaliar a metodologia analítica mais adequada para análise de componentes e contaminantes alimentares requer um bom conhecimento das várias técnicas disponíveis para análise de cada espécie de interesse (PICO, 2020).

A detecção e quantificação dos contaminantes e congêneres de cachaça definidos pela legislação pode ser feito através de diversos métodos analíticos, no entanto, a literatura específica sugere métodos e técnicas que possuem, comprovadamente, resultados adequados para o controle e análise. Os métodos oficiais, de acordo com a Associação Oficial de Análise Química (AOAC), para análise de contaminantes e congêneres, são definidos como relacionado na Tabela 3.

Tabela 3 - Métodos oficiais para análise dos contaminantes e congêneres em cachaças, recomendados pela AOAC

Composto	Concentração máxima
Álcool metílico	Método do ácido cromotrópico, métodos espectrofotométricos e métodos cromatográficos
Carbamato de etila	NR*
Álcool n-butílico (1-butanol)	Métodos cromatográficos
Ésteres totais	Métodos espectrofotométricos
Aldeídos totais	Métodos espectrofotométricos
Furfural e Hidroximetilfurfural	Métodos cromatográficos
Soma de álcoois superiores	Métodos cromatográficos

Continua...

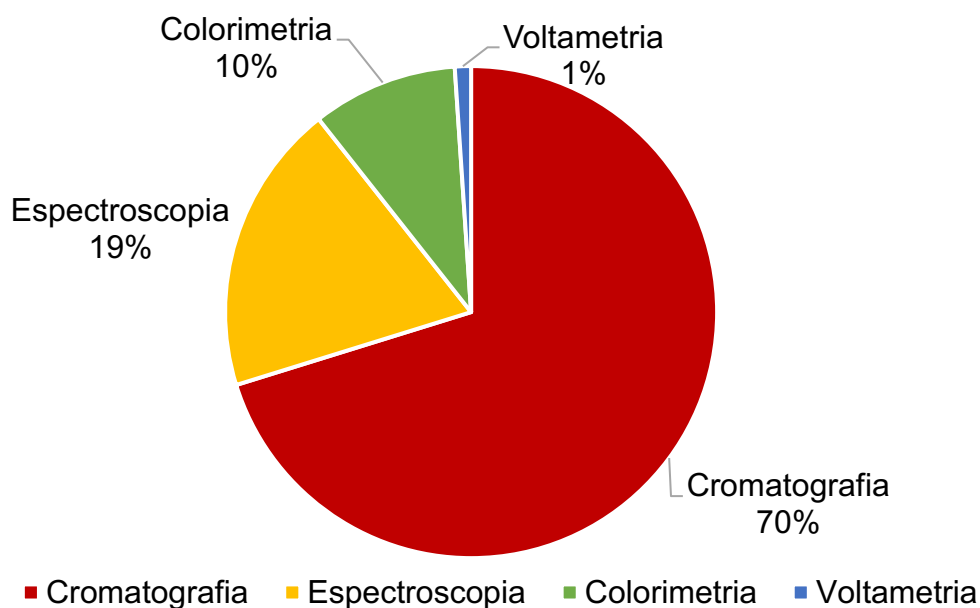
...Continuação

Composto	Concentração máxima
Cobre (Cu)	Métodos colorimétricos e espectrofotométricos
Chumbo (Pb)	Métodos espectrofotométricos
Arsênio (As)	Métodos espectrofotométricos

*NR: Não regulamenta. **Fonte:** AOAC, 1980

Nos últimos dez anos, aproximadamente 50 artigos foram publicados nos últimos dez anos abordando as diversas técnicas analíticas que foram empregadas para o desenvolvimento de métodos analíticos para a determinação de contaminantes e congêneres em cachaça. A grande maioria adota o emprego das técnicas cromatográficas e espectrofotométricas, como pode ser observado na Figura 5.

Figura 5 - Técnicas analíticas utilizadas para análise de contaminantes e congêneres em cachaça, considerando os trabalhos publicados nos últimos dez anos

**Fonte:** O autor, 2021.

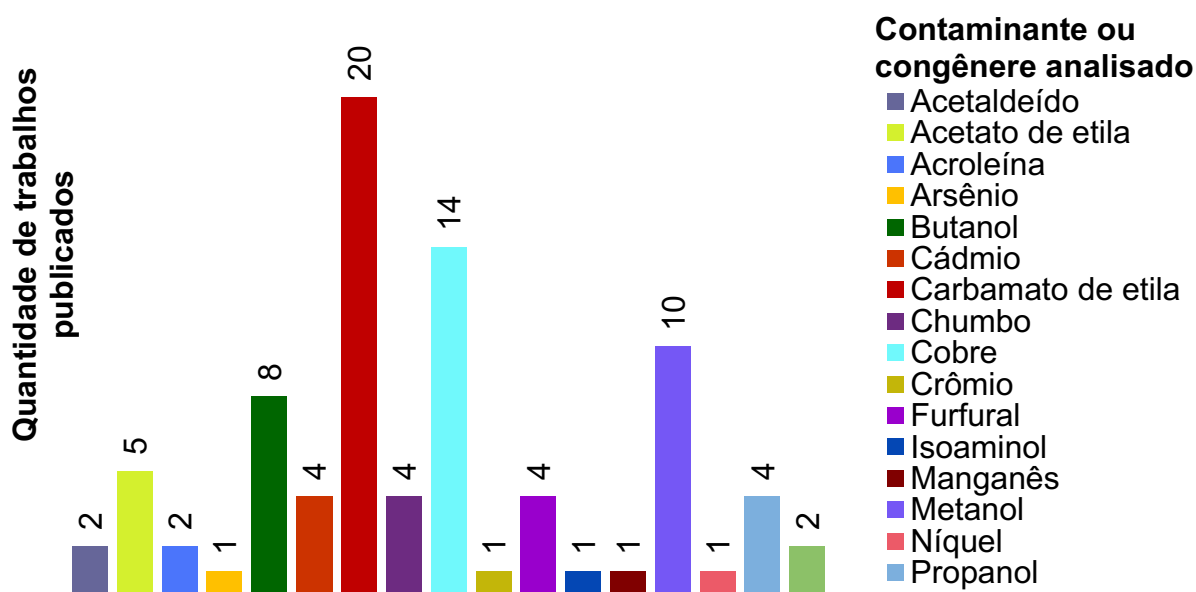
As técnicas colorimétricas são amplamente aplicadas para a análise de contaminantes metálicos, principalmente no que se refere ao cobre (ZACARONI et al., 2011). Além disso, o número crescente de trabalhos aplicando técnicas colorimétricas para a análise de cachaça pode ser explicado pelo avanço das técnicas de baseadas em imagem digital, do inglês *Digital image-based*, que permitem associar rapidez,

praticidade e tecnologia acessível para a análise de contaminantes em cachaça (FRANCO et al., 2017; PESSOA et al., 2017).

As técnicas voltamétricas, apesar de serem simples, rápidas e econômicas ainda foram pouco exploradas para a determinação de contaminantes e congêneres em cachaças (FERREIRA et al., 2020).

Os dados obtidos neste trabalho mostram que últimos dez anos, entre os contaminantes e congêneres presentes em cachaça, a grande maioria das pesquisas se preocupou em investigar a presença de carbamato de etila, também conhecido como uretano, que é um composto orgânico do grupo de ésteres de ácido carbâmico. Ele se tornou objeto de muito interesse para a comunidade científica devido a sua elevada toxicidade e ser considerado uma substância com potencial carcinogênico para humanos. Recentemente numerosas pesquisas têm se concentrado em caracterizar, detectar e quantificar esse composto em alimentos como as cerejas, pão, iogurte e na cachaça, como é elucidado na Figura 6 (E SILVA; VERRUMA-BERNARDI; DE OLIVEIRA, 2020).

Figura 6 - Quantidade de trabalhos científicos publicados na última década considerando-se a determinação analítica de contaminante e congênere em cachaça



Fonte: O autor, 2021.

Os congêneres em cachaça, que são álcoois superiores, aldeídos, outros álcoois e compostos que são formados no processo produtivo da bebida, são cada vez mais objetos de interesse para a comunidade científica, uma vez que esses compostos, quando em concentrações maiores que as recomendadas, influenciam negativamente a qualidade final da cachaça (DE SILVA et al., 2020). Os metais de por sua vez, são compostos amplamente analisados em alimentos, principalmente por terem recomendações de consumo muito bem estabelecidas e com baixos valores, pois podem causar casos graves de intoxicação quando consumidos em concentração maior que a recomendada pelos órgãos responsáveis (BRASIL, 2005c).

Além dos contaminantes mais analisados, é interessante observar também a tendência de se investigar contaminantes emergentes em cachaças, como é o caso, da acroleína, um exemplo de composto presente em cachaças, que ainda não é regulamentado pela legislação vigente, mas que possui interesse toxicológico (ZACARONI et al., 2011; MASSON et al., 2012).

3.2 Emprego de técnicas cromatográficas

Apesar de serem técnicas que requerem etapas prévias na preparação de amostra, mão-de-obra especializada, e que muitas vezes são economicamente dispendiosos, as técnicas cromatográficas são ainda as técnicas mais importantes e mais utilizados para a análise, autenticação e verificação de adulteração em alimentos (PICO, 2020).

Cromatografia é o termo geral, utilizado para designar uma grande quantidade de técnicas de separação baseadas na distribuição de uma amostra ou soluto de interesse entre uma fase móvel e uma fase fixa ou estacionária. Estas técnicas causaram grande impacto e representam um grande progresso para a ciência de modo geral, e diferentemente de outras técnicas analíticas de separação, diversos materiais, equipamentos e técnicas integram o conjunto de técnicas analíticas cromatográficas, o que garante que diversas matrizes possam ser analisadas utilizando metodologias variadas empregando-se esta técnica. De modo geral, as técnicas cromatográficas podem ser divididos em dois grandes grupos, a cromatografia gasosa e a cromatografia líquida, as quais quando otimizadas,

permitem análises quantitativas e qualitativas com excelente precisão, exatidão, sensibilidade e seletividade (NIELSEN, 2010).

Na indústria de alimentos, duas técnicas cromatográficas são mais comumente utilizadas, a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC, do inglês *high-performance liquid chromatography*) e a Cromatografia Gasosa (GC do inglês *gas chromatography*) (PICO, 2020). A seguir veremos as particularidades, semelhanças e aplicações na análise de contaminantes e congêneres em cachaça, de cada uma das técnicas

3.2.1 Cromatografia Gasosa

A cromatografia gasosa é uma técnica analítica muito empregado em diversas áreas da ciência para analisar compostos voláteis e termicamente estáveis. Na cromatografia gasosa a fase móvel é um gás e a fase estacionária é um líquido imobilizado sobre um suporte sólido ou um sólido inserido em um invólucro tubular. Especificamente a cromatografia gás-líquido consiste na vaporização de uma amostra, quando necessário, após a sua injeção na parte mais alta, conhecida como cabeça da coluna, sob temperatura controlada. A amostra é transportada através da coluna pelo fluxo constante da uma fase móvel, gasosa e inerte, através da coluna e os compostos voláteis são então separados, de acordo com as propriedades físico-químicas que podem ser, por exemplo, o ponto de ebulição, o tamanho molecular ou a polaridade (NIELSEN, 2010).

3.2.1.1 Preparo de amostras para cromatografia gasosa

A cromatografia, de modo geral, é uma técnica analítica que requer etapas prévias de preparo e purificação de amostras antes da injeção no equipamento e realização das análises. Considerando-se a análise de alimentos empregando-se a GC, não se pode injetar um produto alimentar diretamente em no cromatógrafo, sem que antes sejam feitas etapas de preparo de amostra. As altas temperaturas podem gerar degradação dos constituintes não-voláteis e criar sinais falsos no cromatograma referente aos produtos de degradação dos voláteis formados. Além disso, geralmente o constituinte de interesse deve ser isolado da matriz alimentar, para que a concentração do analito se encontre em limites detectáveis para o GC, ou ainda para eliminar outros compostos que podem ser interferentes na análise de interesse.

A etapa de preparação das amostras muitas vezes envolve trituração, homogeneização, redução do tamanho das partículas, extração e purificação. E vale apontar que existem fontes substanciais na literatura que afirmam que alimentos podem sofrer mudanças significativas durante o processo de preparação de amostras. Reações químicas, microbiológicas e enzimáticas podem ocorrer durante a preparação de amostras, principalmente em compostos facilmente degradáveis como são os voláteis. Existem diversas metodologias que podem ser utilizadas para o preparo de amostras alimentares para a análise em GC, mas de modo geral, todas elas devem ter como objetivo principal isolar e concentrar o analito de interesse e evitar que ocorram degradações na amostra. Portanto, de modo geral, devido à complexidade das etapas de preparação de amostra a utilização da GC requer analistas altamente qualificados (NIELSEN, 2010; PICO, 2020).

As principais vantagens da utilização da GC estão na capacidade de promover separações de compostos voláteis com alta sensibilidade e versatilidade para o acompanhamento da composição e a autenticação de alimentos. No entanto, a análise de alimentos através da GC pode ser também um método moroso, principalmente para a análise de compostos não voláteis. Para os quais é necessário acrescentar a etapa de derivatização no preparo de amostras. Esse processo de preparo de amostras pode ser uma possível fonte de erro na análise química (PICO, 2020).

A derivatização química de compostos, é uma metodologia para preparo de amostras que se baseia na promoção de reações químicas com o objetivo de gerar novos produtos que possuam melhores propriedades para a análise que se pretende fazer. Em geral, a derivatização é usada como forma de preparo de amostras para a cromatografia, logo, geralmente possui como objetivo o aumento da volatilidade e da estabilidade térmica. A derivatização tende a ser evitada por ser um processo que requer o uso de reagentes para promover as reações de interesse, o que torna a análise mais onerosa, bem como é um método moroso para o preparo de amostras (DOS ANJOS et al., 2011; ZACARONI et al., 2011, 2015).

Considerando-se o emprego de GC, os dois detectores mais comuns empregados são a espectrometria de massa (GC-MS do inglês *gas chromatography mass spectrometry*) e o detector de ionização de chama (GC-FID do inglês *gas*

chromatography flame ionization detector). No GC-MS os compostos voláteis separados pela coluna são ionizados e separados de acordo com sua razão massa/carga, proporcionando elevada seletividade química. No GC-FID os compostos separados são ionizados numa chama gerando íons que são coletados e produzem um sinal elétrico proporcional à concentração das espécies de interesse (NIELSEN, 2010).

Mesmo diante das dificuldades apresentadas para a utilização da GC, graças à sua comprovada efetividade é o método oficial de análise de diversos desses contaminantes e congêneres em cachaça, logo é muito comumente usada como método de validação de novas técnicas desenvolvidas. Vidal *et al.* usaram a GC-MS para comparar e demonstrar a efetividade do método que desenvolveram para a detectar compostos plásticos (PAHs) em cachaça (VIDAL; IBÁÑEZ; ESCANDAR, 2016). Na última década, a GC foi aplicada no desenvolvimento de novas técnicas de análise e controle de contaminantes e congêneres de cachaça, e algumas destas aplicações estão apresentadas na Tabela 4, onde também são apresentados os parâmetros analíticos obtidos. São apresentados os valores obtidos para o limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) obtidos para a determinação de contaminantes e congêneres em cachaça.

Tabela 4 – Aplicações da GC para a determinação de contaminantes e congêneres em cachaça, indicando os valores de LD e LQ obtidos

Técnica	Analito	LQ	LD	Referência
GC-EM	Carbamato de etila	*NR	*NR	Bortoletto; Alcarde (2015)
GC-FID	Acetaldeído, acetato de etila, metanol, álcoois superiores, n-butanol, 2-butanol, ácido acético	*NR	*NR	Bortoletto; Alcarde (2015)
GC-MS	Carbamato de etila	0,550 ^b	0,180 ^b	Bortoletto; Silvello; Alcarde (2015)
GC-FID	Acetaldeído	0,220 ^b	0,070 ^b	Bortoletto; Silvello; Alcarde (2015)

Continua...

Técnica	Analito	LQ	LD	Referência
GC-FID	Acetato de etila	0,117 ^b	0,057 ^b	Bortoletto; Silvello; Alcarde (2015)
GC-FID	Álcool n-propílico	0,114 ^b	0,038 ^b	Bortoletto; Silvello; Alcarde (2015)
GC-FID	Álcool isobutílico	0,042 ^b	0,014 ^b	Bortoletto; Silvello; Alcarde (2015)
GC-FID	Álcool isoamílico	0,048 ^b	0,016 ^b	Bortoletto; Silvello; Alcarde (2015)
GC-FID	Ácido acético	1,590 ^b	0,530 ^b	Bortoletto; Silvello; Alcarde (2015)
GC-FID	Álcool metílico	0,276 ^b	0,092 ^b	Bortoletto; Silvello; Alcarde (2015)
GC-FID	Álcool sec-butílico	0,180 ^b	0,049 ^b	Bortoletto; Silvello; Alcarde (2015)
GC-FID	Álcool n-butílico	0,216 ^b	0,072 ^b	Bortoletto; Silvello; Alcarde (2015)
GC-MS	Carbamato de etila	*NR	*NR	Chreem <i>et al.</i> (2015)
GC-MS	Carbamato de etila	*NR	*NR	De Oliveira Filho; Bortoletto; Alcarde (2016)
GC-FID	Álcoois superiores, acetaldeído, ácido acético, acetato de etila, furfural, metanol	*NR	*NR	De Oliveira Filho; Bortoletto; Alcarde (2016)
GC-MS	Carbamato de etila	5,55 ^a	1,80 ^a	De Silva <i>et al.</i> (2020)
GC-FID	Acetaldeído	0,220 ^b	0,070 ^b	De Silva <i>et al.</i> (2020)
GC-FID	Acetato de etila	0,171 ^b	0,057 ^b	De Silva <i>et al.</i> (2020)
GC-FID	Álcool n-propílico	0,114 ^b	0,038 ^b	De Silva <i>et al.</i> (2020)
GC-FID	Álcool isobutílico	0,042 ^b	0,014 ^b	De Silva <i>et al.</i> (2020)
GC-FID	Álcool isoamílico	0,048 ^b	0,016 ^b	De Silva <i>et al.</i> (2020)
GC-FID	Ácido acético	0,150 ^b	0,530 ^b	De Silva <i>et al.</i> (2020)
GC-FID	Álcool metílico	0,276 ^b	0,092 ^b	De Silva <i>et al.</i> (2020)

...Continuação

Técnica	Analito	LQ	LD	Referência
GC-FID	Álcool sec-butílico	0,180 ^b	0,049 ^b	De Silva <i>et al.</i> (2020)
GC-FID	Álcool n-butílico	0,216 ^b	0,072 ^b	De Silva <i>et al.</i> (2020)
GC-MS	Carbamato de etila	*NR	*NR	E Silva <i>et al.</i> (2020)
GC-FID	Acetato de etila, ácido acético, acetaldeído, álcoois superiores, contaminantes orgânicos	*NR	*NR	Filho <i>et al.</i> (2016)
GC-MS	Carbamato de etila	*NR	*NR	Guerreiro <i>et al.</i> (2018)
GC-MS	Carbamato de etila	5,0 ^a	1,5 ^a	Machado <i>et al.</i> (2012)
GC-FID	Acetato de etila, Álcool 1-propílico, álcool isobutílico, álcool amílico, álcool isoamílico	*NR	*NR	Parente <i>et al.</i> (2015)
GC-MS	Carbamato de etila	*NR	*NR	Portugal <i>et al.</i> (2016)
GC-FID	Acetaldeído	0,220 ^b	0,070 ^b	Portugal <i>et al.</i> (2016)
GC-FID	Acetato de etila	0,171 ^b	0,057 ^b	Portugal <i>et al.</i> (2016)
GC-FID	Metanol	0,276 ^b	0,092 ^b	Portugal <i>et al.</i> (2016)
GC-FID	1-propanol	0,114 ^b	0,038 ^b	Portugal <i>et al.</i> (2016)
GC-FID	Isobutanol	0,042 ^b	0,014 ^b	Portugal <i>et al.</i> (2016)
GC-FID	1-butanol	0,216 ^b	0,072 ^b	Portugal <i>et al.</i> (2016)
GC-FID	Álcool isoamílico	0,048 ^b	0,016 ^b	Portugal <i>et al.</i> (2016)
GC-FID	Ácido acético	1,590 ^b	0,530 ^b	Portugal <i>et al.</i> (2016)
GC-FID	5-Hidroximetilfurfural	0,046 ^b	0,017 ^b	Portugal <i>et al.</i> (2016)
GC-FID	Furfural	1,590 ^b	0,530 ^b	Portugal <i>et al.</i> (2016)
GC-MS	Compostos voláteis	*NR	*NR	Santiago <i>et al.</i> (2016)
GC-FID	Álcoois superiores	*NR	*NR	Santiago <i>et al.</i> (2016)
GC-MS	Carbamato de etila	10 ^c	3 ^c	Vicentim <i>et al.</i> (2019)
GC-MS	Carbamato de etila	52,5 ^a	15,7 ^a	Zacaroni <i>et al.</i> (2011)

^a: µg/L; ^b: mg/100 mL de álcool anidro; ^c:ng/g; *NR: Não registrado.

Fonte: O autor, 2021.

A GC-MS é uma ferramenta muito eficiente para análise de carbamato de etila. Zacaroni *et al.*, empregaram a filtração como método de preparação das amostras e

investigaram a concentração do contaminante em doze amostras diferentes de cachaças do sul de Minas Gerais, atestando que todas as amostras verificadas continham carbamato de etila em níveis inferiores aos estabelecidos pela legislação nacional. A simplicidade da forma de preparação da amostra não prejudicou os resultados da análise e não reduziu a seletividade e sensibilidade da técnica (ZACARONI et al., 2011). Já Chreem *et al.*, usando metodologia muito similar, conseguiram fazer o estudo de cento e vinte diferentes amostras de cachaças de várias regiões do Rio de Janeiro, e mostraram que 47% das amostras apresentaram concentração maior do que as indicadas como toleráveis pela legislação, resultado importante e que indica que os consumidores de cachaça do estado estavam expostos ao contaminante (CHREEM et al., 2015).

As técnicas analíticas são rotineiramente utilizadas como ferramentas de avaliação de novas metodologias de processo produtivo de alimentos na indústria. Para a cachaça, são vários os fatores que podem influenciar na qualidade sensorial e físico-química do produto final, e a GC por vezes é usada como técnica de avaliação da influência desses fatores. Em seu trabalho, por exemplo, E Silva *et al.* monitoraram a qualidade de cachaça, avaliando a presença de carbamato de etila e analisando a influência de diferentes sistemas de cultivo de cana-de-açúcar na concentração do contaminante. Realizando análises com a técnica de GC-EM o autor verificou que todas as culturas de cultivo estudadas produziram bebidas com níveis de carbamato de etila que atendiam as especificações da legislação, e conseguiu concluir que a técnica de cultivo da cana-de-açúcar tem pouca ou nenhuma influência sobre a concentração de carbamato de etila no produto final, não sendo essa, então, uma etapa determinante para o controle do contaminante (E SILVA et al., 2020).

Bortoletto; Silvello e Alcarde, em um trabalho publicado em 2015, traçaram o perfil qualitativo e quantitativo, quanto a congêneres e contaminantes em cachaças produzidas em condições específicas e controladas de destilação e fermentação, tendo como objetivo principal verificar a influência dessas etapas de produção na contaminação ou redução da qualidade do produto final. Para isso, utilizaram duas técnicas de GC. Com a GC-MS analisaram a concentração de carbamato de etila, e com a GC-FID analisaram a composição da cachaça quanto a presença de acetaldeído, acetato de etila, metanol, álcoois superiores (álcoois n-propílico, isobutílico e isoamílico), álcool 1-propílico e 2-butílico e ácido acético. De acordo com

os resultados, observaram que ambas as técnicas se mostraram eficientes para a análise desejada e conseguiram apontar que dentre as metodologias de produção de cachaça avaliadas, a suplementação de ureia no caldo da cana-de-açúcar foi a que aumentou a concentração de carbamato de etila no produto. A suplementação de ureia é comumente utilizada como forma de aumentar o rendimento da etapa de fermentação. Além disso, com as análises realizadas, foi possível verificar que o uso de culturas de bactérias diferentes da tradicional *Saccharomyces sp.*, na fermentação do caldo de cana, provocou aumento na formação de acetaldeído, acetato de etila, ácido acético, cobre e carbamato de etila. A dupla destilação, no entanto, provoca redução no teor de contaminantes, como o carbamato de etila. Portanto, com esse estudo analítico, foi possível concluir então que a melhor metodologia de preparo de cachaça em alambique consiste no tratamento térmico do caldo de cana-de-açúcar, visando eliminar bactérias oportunistas, na não suplementação com ureia e na dupla destilação (BORTOLETTO; SILVELLO; ALCARDE, 2015).

Já em 2020, em trabalho similar utilizando as mesmas técnicas analíticas e investigando os mesmos compostos de interesse, De Silva *et al.* verificaram a influência das diferentes metodologias de destilação no teor de contaminantes e congêneres em aguardente de cana de açúcar, como pode ser visto na Tabela 4. Foram comparadas aguardentes monodestiladas, bidestiladas e reddestiladas sucessivamente quanto à presença e concentração de contaminantes e congêneres. E mais uma vez, observou-se que com a reddestilação o teor de congêneres voláteis das aguardentes foram reduzidos e de modo geral, o processo de bidestilação e reddestilação produziu bebidas de qualidade superior (DE SILVA *et al.*, 2020).

A metodologia de quantificação também pode ser modificada para obter resultados mais assertivos, como verificou Vicentim *et al.*, que em 2019 propôs um método de GC-MS e a diluição isotópica como método de quantificação. Após desenvolvimento da metodologia e validação da mesma, foram feitos testes com amostras de diversas bebidas destiladas, dentre elas, treze amostras de cachaça. Os resultados indicaram que a GC-MS se mostrou eficiente, e todas as amostras apresentaram níveis de contaminantes acima dos limites de detecção da metodologia desenvolvida, além disso, os resultados apresentaram pouca interferência de outros componentes químicos.

Machado *et al.* (2012) desenvolveram uma metodologia utilizando como técnica de preparação de amostra a microextração em fase sólida (SPME, do inglês solid-phase microextraction), para a análise de carbamato de etila em cachaças artesanais utilizando a técnica analítica de GC-EM. Resultado das análises mostraram que as bebidas analisadas possuíam carbamato de etila em concentração bem abaixo do recomendado pela legislação (DE MACHADO *et al.*, 2012).

Em um estudo sobre a qualidade de cachaças e bebidas destiladas de cana-de-açúcar, Bortoletto e Alcarde (2015) avaliaram, utilizando diversas técnicas analíticas, o perfil químico de 268 amostras coletadas nas principais regiões produtoras das bebidas no Brasil, com a determinação da concentração de etanol, contaminantes e congêneres.

Para a determinação de acetaldeído, acetato de etila, metanol, álcoois superiores, n-butanol, 2-butanol e ácido acético empregaram a GC-FID, já para a detecção e quantificação de carbamato de etila foi utilizada a GC-MS. As técnicas empregadas foram eficientes para o que se pretendia e comparando os níveis de cada um dos compostos estudados observou-se que 50,7% não atendiam aos padrões de qualidades definidos pela legislação, e os contaminantes como álcoois superiores e carbamato de etila, foram os que apresentaram maiores irregularidades. Esses resultados indicaram que os produtores ainda possuem dificuldades na adoção de práticas de produção adequadas, que produzam bebidas de qualidade e padronizadas (BORTOLETTO; ALCARDE, 2015).

Filho *et al.* realizaram um estudo comparativo entre teores de contaminantes e congêneres em cachaças produzidas nas regiões de Alpercatas e Sertão Maranhense, com os limites estabelecidos pela legislação. Para este estudo, a análise de componentes secundários, ou congêneres, foi feita usando a GC-FID. Após as análises dos teores de ácido acético, ésteres, acetato de etila, acetaldeído, e álcoois superiores, conclui-se que nenhuma das treze amostras avaliadas possuía grau alcóolico, chumbo, ácido acético, álcoois superiores e metanol em concentração fora dos limites exigidos pela legislação, sendo que o metanol não foi detectado em nenhuma das amostras analisadas. No entanto, de acordo com os parâmetros da legislação brasileira, toda as amostras apresentaram irregularidades quanto ao teor de acetaldeído, 15% das amostras quanto ao teor de acetato de etila, 23% quanto a

concentração de álcool n-butílico, e 38% quanto ao teor de álcool sec-butílico. Os dados avaliados neste estudos mostraram a grande importância de um treinamento para adequação do processo produtivo com os produtores da região, visando a obtenção de produtos padronizados e de maior qualidade (FILHO et al., 2016).

A etapa fermentativa do processo produtivo de cachaça é uma etapa importante e que exerce muita influência na formação de compostos indesejados e contaminantes que podem prejudicar e até mesmo, tornar impróprio para consumo, o produto final. E a GC é uma técnica que pode ser utilizado para apontar possíveis melhorias e pontos de controle nessa etapa de produção da bebida.

Parente *et al.* fez uso de técnicas cromatográficas para o estudo e investigação da influência das culturas fermentativas na qualidade sensorial da cachaça. Para isso, utilizaram a levedura *Dekkera bruxellensis*, com o objetivo de avaliar sua viabilidade como levedura a ser utilizada no processo fermentativo da cachaça. Após as análises de congêneres usando a GC-FID e HPLC para avaliar a conversão de frutose e sacarose em etanol e metanol, foi possível concluir que a levedura tem potencial para atuar na produção de cachaça, sendo necessário apenas o desenvolvimento de mais estudos acerca da fonte de nitrogênio para a otimização da obtenção de compostos sensoriais importantes para a bebida (PARENTE et al., 2015).

Portugal *et al.* em um estudo sobre como é a dinâmica microbiológica da fermentação espontânea do mosto para produção de cachaça, usou a GC para avaliar o perfil sensorial e químico do produto final obtido. Após estabelecer-se uma dinâmica de fermentação espontânea em escala laboratorial, onde todas as leveduras e bactérias foram mapeadas, foram feitas as análises, usando a GC-FID para determinação dos congêneres voláteis, e a GC-MS para determinação de carbamato de etila. Foram detectados baixos níveis de acetaldeído, acetato de etila e ácido acético e nenhum traço detectável de metanol e carbamato de etila, o que mostra que a dinâmica avaliada pelo estudo produz um produto satisfatório, no entanto, de difícil padronização graças a complexidade da diversidade da microbiota (PORTUGAL et al., 2016).

O envelhecimento de cachaça é uma técnica muito utilizada por produtores para aumentar o valor agregado de seus produtos, e assim como todo o processo produtivo da cachaça, envolve diversas mudanças químicas e exige controle rigoroso

para que o produto final tenha características sensoriais e sanitárias adequadas. Em 2016, Santiago *et al.* monitoraram periodicamente, utilizando GC, a qualidade física e química de cachaças submetidas ao processo de envelhecimento, em tonéis de carvalho (*Quercus* sp.), amburana (*Amburana cearensis*), jatobá (*Hymenaea caribouril*), bálsamo (*Myroxylon peruiferum*) e peroba (*Paratecoma peroba*), considerando-se os teores de álcoois superiores e outros compostos voláteis. Foram realizadas, também, análises durante o processo de destilação, nas diferentes frações destiladas de cachaça (cabeça, coração e cauda). Utilizando a GC-FID para determinar os níveis de álcoois superiores e a GC-MS para determinar os níveis de compostos voláteis, foi possível concluir que durante o processo de destilação, as frações de cabeça e cauda do destilado apresentaram concentrações inadequadas de álcool, aldeídos e 1-butanol. O destilado da fração de coração, apresentou níveis adequados aos permitidos pela legislação de todas as espécies químicas analisadas (SANTIAGO *et al.*, 2016).

O armazenamento do caldo de cana-de-açúcar também é uma etapa que induz a transformações químicas dos compostos da matéria-prima e a influência dessa etapa foi investigada por De Oliveira Filho, Bortoletto e Alcarde, em 2016, usando a GC. Foram estudadas as características tecnológicas e microbiológicas do caldo de cana armazenado por períodos diferentes. Para a investigação do conteúdo de acetaldeído, acetato de etila, furfural, álcoois superiores, ácido acético e metanol, foram realizadas análises por GC-FID, e para o monitoramento de carbamato de etila a GC-MS foi a técnica escolhida. Após as análises foi possível concluir que o armazenamento dos caldos de cana por períodos superiores à 48 horas influenciou de forma negativa a qualidade do produto final, comprometeu o desempenho do processo fermentativo e gerou uma cachaça com teores de álcoois superiores e furfural acima do permitido pela legislação (DE OLIVEIRA FILHO; BORTOLETTO; ALCARDE, 2016).

Como já mencionado, a técnica cromatográfica de modo geral requer que sejam feitas etapas prévias de tratamento e preparação de amostra para a análise, e na última década, diversos pesquisadores desenvolveram técnicas alternativas de preparação de amostras que reduzem a quantidade de erros associados a essas etapas e tornando a análise mais rápida, eficiente e assertiva.

Guerreiro *et al.* propuseram uma nova metodologia para a análise de carbamato de etila em cachaças utilizando a GC-MS como método de análise, e a técnica QuEChERS (do inglês *quick, easy, cheap, effective, rugged e safe*) de extração para a preparação da amostra. O QuEChERS se baseia no fenômeno de transferência de massa, salting-out para separar etanol da água contendo açúcar que pode existir na amostra. Este é o grande diferencial desta técnica de preparação de amostras, uma vez que é comum que sacarose seja adicionada na produção da cachaça para padronização do produto final, e essa água com sacarose residual pode interferir negativamente na análise cromatográfica. Com a metodologia desenvolvida foram feitas análises em dezoito marcas diferentes de cachaça e observou-se que a metodologia proposta foi capaz de eliminar significativamente componentes interferentes na análise, melhorando então a exatidão da técnica analítica, com a obtenção de níveis de recuperação próximos de 100% nas análises realizadas. Além disso, a técnica desenvolvida não provocou impactos de custo para a análise química (GUERREIRO *et al.*, 2018).

Além do desenvolvimento de novos métodos para a análise de contaminantes e congêneres em cachaça, existem diversos contaminantes, considerados emergentes, que podem ser avaliados com métodos cromatográficos. Os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAH, do inglês *polycyclic aromatic hydrocarbons*) são contaminantes ambientais persistentes, capazes de serem bioacumulados em tecidos liposos e representam um grande risco à saúde humana, por seu potencial carcinogênico e com capacidade mutagênica. Por isso, são compostos cada vez mais estudados e diversos métodos de detecção e quantificação para análise de PAHs vêm sendo desenvolvidos. Cacho *et al.* detectou e quantificou doze hidrocarbonetos PAHs, listados como poluentes prioritários, em diferentes bebidas destiladas, dentre elas o rum, utilizando um método ecologicamente correto assistido por ultrassom como etapa de preparação da amostra seguido por análise com GC-MS. A microextração com emulsificação permitiu boa pré-concentração dos PAHs nas amostras, com ausência de efeitos de matriz nas condições otimizadas, permitindo LD de até 0,9 µg/L, e a recuperação em níveis fortificados de 84 a 118% (CACHO *et al.*, 2016).

3.2.2 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência - HPLC

A HPLC é outra técnica analítica de separação, muito bem estabelecida e comumente utilizada para a resolução de diversos problemas analíticos em matrizes complexas como costumam ser as amostras alimentícias, isso porque, esta é uma técnica capaz de separar de forma muito eficiente misturas de difícil separação, com compostos de baixo e alto peso molecular, bem como componentes com diferentes polaridades e propriedades ácido base, alcançando resultados sensíveis que podem chegar até ng/mg em diversas matrizes alimentícias.

Além disto, a maior parte dos componentes de um alimento são compostos orgânicos que são compostos termicamente instáveis e polares, portanto, não podem ser analisados por técnicas como a GC, além disso, por vezes é necessário que o método de análise possibilite o estudo de espécies de forma simultânea e assim, graças a alta capacidade de separação a HPLC é uma excelente técnica para análise de alimentos (PICO, 2020).

Para a análise de contaminantes e congêneres em cachaça, existem diversos exemplos de aplicações da HPLC como método analítico, os quais podem envolver o uso de diferentes tipos de detectores, os quais convertem o fluxo de fase móvel em um sinal elétrico proporcional à concentração da espécie de interesse.

Tabela 5 – Aplicações da HPLC para a determinação de contaminantes e congêneres em cachaça, indicando os valores de LD e LQ obtidos

Técnica	Analito	LQ	LD	Referência
HPLC-UV/Vis	Furfural, 5-hidroximetilfurfural	*NR	*NR	Bortoletto; Alcarde (2016)
HPLC-FL	Carbamato de etila	6,23 ^a	1,86 ^a	D'Ávila <i>et al.</i> (2016)
HPLC-FL	Carbamato de etila	13,09 ^a	3,93 ^a	Dos Anjos <i>et al.</i> (2011)
HPLC-FL	Carbamato de etila	6,7 ^b	2,0 ^b	Duarte <i>et al.</i> (2017)

Continua...

...Continuação

Técnica	Analito	LQ	LD	Referência
HPLC-DAD	Acroleína	0,6886 ^c	0,2055 ^c	Masson <i>et al.</i> (2012)
HPLC-FL	Carbamato de etila	8,26 ^a	2,48 ^a	Mendonça <i>et al.</i> (2016)
HPLC-FL	Carbamato de etila	10,83 ^a	3,24 ^a	Santiago <i>et al.</i> (2014)
HPLC FL	Carbamato de etila	6,23 ^a	1,86 ^a	Santiago <i>et al.</i> (2017)
HPLC-DAD	Acroleína	0,09194 ^b	0,02758 ^b	Zacaroni <i>et al.</i> (2011)
HPLC-FL	Carbamato de etila	11,53 ^a	3,81 ^a	Zacaroni <i>et al.</i> (2015)

^a: µg/L; ^b: mg/100 mL de álcool anidro; ^c:mg/L; *NR: Não registrado.

Fonte: O autor, 2021.

Nos últimos dez anos, para a análise química de cachaça, a HPLC foi utilizada para a determinação e controle de acroleína e carbamato de etila, principalmente, como pôde ser observado na Tabela 5, e são reportados o uso dos detectores de fluorescência (HPLC-FL do inglês *High performance liquid chromatography with fluorescence detection*), ultravioleta/visível (HPLC-UV/Vis do inglês *High performance liquid chromatography with ultravioleta/visible absorption detection*) e arranjo de diodo (HPLC-DAD do inglês *High performance liquid chromatography with diode array detection*), os quais podem resultar em diferentes seletividades e sensibilidade analítica.

A concentração de acroleína em Cachaça foi investigada por Zacaroni *et al.* utilizando HPLC-DAD, onde preliminar à análise, houve a preparação das amostras, realizada através da técnica derivatização de amostra, em meio ácido, usando 2,4-dinitrofenil-hidrazina como agente derivatizante. A técnica apresentou bons limites de detecção e quantificação, e após os testes observou-se que nas amostras testadas, nenhuma apresentou concentração inadequada do analito, entretanto, a derivatização, tornou a análise morosa e aumentou seu custo (ZACARONI *et al.*, 2011).

Já em 2012, Masson *et al.* analisaram 71 amostras de cachaças de diferentes fábricas do norte e sul de Minas Gerais buscando investigar os teores de acroleína utilizando como técnica analítica a HPLC-DAD. Foram necessárias etapas de purificação e preparação das amostras que resultaram em recuperação de 106,4% com coeficiente de variação de 5,4%. Analiticamente, comparando com outros trabalhos, utilizando técnicas diferentes, os resultados foram satisfatórios. No que se refere ao teor de acroleína, os resultados mostraram que não houve diferença significativa, entre as amostras de cachaça produzidas nas diferentes indústrias, sejam elas do norte ou do sul de Minas Gerais, e das 71 amostras analisadas, apenas 9,85% apresentaram níveis acima do permitido por legislação para acroleína. De modo geral o método adotado se mostrou rápido e com exatidão adequada para a análise pretendida pelos autores (MASSON *et al.*, 2012).

Dos Anjos *et al.* Empregaram a HPLC-FL para a identificação e quantificação de carbamato de etila durante o armazenamento de cachaça, em condições controladas em diferentes toneis de carvalho (*Querus sp*) e em recipientes de vidro. Para a preparação das amostras também foi utilizada a etapa de derivatização do padrão, onde foi promovida a reação de derivação do carbamato de etila utilizando como agente derivatizante 9-xantidrol, sob condições ácidas, resultando em carbamato de etil xantil. O método se mostrou eficiente para a determinação de carbamato de etila (CE), mostrando que o armazenamento, em diferentes recipientes, influenciou na formação de carbamato de etila, proporcionando aumento significativo desse contaminante durante os doze meses em que a concentração do analito foi acompanhada (DOS ANJOS *et al.*, 2011).

Em seu trabalho Zacaroni *et al.* utilizaram a HPLC-FL para investigar a influência dos diferentes tipos de madeira usados em tonéis para envelhecimento e também da exposição a luz na formação de carbamato de etila em cachaça durante o processo de armazenamento. Foram analisadas 10 amostras envelhecidas em tonéis de jequitibá, carvalho, amburana, jatobá e canela, as quais posteriormente foram armazenadas em garrafas de vidro e mantidas durante seis meses em armazenamento controlado e expostos a luz natural. Para cada uma das amostras, além da garrafa de vidro convencional, uma segunda garrafa de vidro com tratamento que evitava a exposição do conteúdo da garrafa à luminosidade foi preparada, para fins de comparação. Foi realizada a etapa de preparação da amostra empregando-se

derivatização do padrão, também usando 9-xantidrol, em condições ácidas, resultando em carbamato de etil xantil. O método usado permitiu avaliar que nenhuma das amostras analisadas possuía níveis de carbamato de etila acima dos estabelecidos como seguros pela legislação. Além disso, foi possível traçar uma relação entre o tempo de armazenamento e a exposição à luminosidade na formação do contaminante. Mesmo o método apresentando parâmetros satisfatórios e condizentes com outros LQ e LD encontrados na literatura, duas das amostras avaliadas apresentaram valores de concentração de carbamato de etila abaixo do LQ do método desenvolvido (ZACARONI et al., 2015).

Santiago *et al.* propôs duas metodologias para análise de carbamato de etila usando HPLC-FL. Em seu primeiro trabalho, foi investigada a interferência do envelhecimento da cachaça em tonéis de carvalho e amburana. Com a metodologia estabelecida, foram obtidos níveis de recuperação na faixa de 87-108%, valores similares aos comumente encontrados empregando-se metodologias similares. Em sua segunda proposta eles quantificaram carbamato de etila em amostras de cachaças envelhecidas em tonéis de carvalho, amburana, jatobá, balsa e peroba e também em garrafas de vidro, também usando HPLC-FL, obtendo níveis de recuperação de 91 a 102%, valores adequados para esse tipo de análise. Buscando investigar de forma mais detalhada quais fatores influenciaram na formação do carbamato de etila, foram feitas análises com amostras coletadas no coração, cabeça e cauda do destilador, bem como análises no caldo-de-cana de diferentes variedades de cana. O estudo concluiu que não há influência no tipo de cana usado para a produção do caldo, e durante a fermentação não foram observados níveis de carbamato de etila acima do limite de detecção. Em ambos os estudos, o armazenamento mais uma vez se mostrou uma etapa importante para o aumento da concentração de carbamato de etila. No entanto, ao contrário do demonstrado por Zacaroni *et al.*, os níveis de carbamato de etila não sofreram influência da exposição a luz e nem do material usado para a produção do recipiente de armazenamento da bebida (SANTIAGO et al., 2014, 2017; ZACARONI et al., 2015).

Em 2016, Mendonça *et al.* determinaram o teor de carbamato de etila em cachaças produzidas por diferentes processos fermentativos, verificando se fatores como a fermentação espontânea, o uso de diferentes cepas de leveduras controladas, ou mesmo a adição de substratos, como o farelo de arroz e o amido de milho,

apresentavam alguma relação com a formação de carbamato de etila na fermentação da cachaça. Empregando HPLC-FL foi possível observar que o processo de moagem e a variedade de cana não influenciaram na formação do carbamato de etila, e que as concentrações permaneceram abaixo dos limites de detecção da técnica em todos os mostos e vinhas obtidos, exceto na bebida produzida por fermentação espontânea com farelo de arroz. O armazenamento da bebida influenciou, embora não de forma significativa, a concentração de carbamato de etila nas amostras analisadas. De modo geral, em todas as cachaças analisadas, o teor de carbamato de etila presente estava abaixo do limite máximo permitido pela legislação (MENDONÇA et al., 2016).

D'Ávila *et al.* estudaram a influência das diferentes condições dos sistemas agroindustriais de produção de cachaça, incluindo a variedades de cana-de-açúcar, na quantificação de carbamato de etila, usando a HPLC-FL. Foram analisadas 13 diferentes cachaças, e as amostras foram preparadas através da derivatização de amostra, usando 9-xantidrol como agente derivatizante. Todas as amostras apresentaram concentração de carbamato de etila acima do LQ, no entanto, nenhuma teve níveis do contaminante acima do estabelecido pela legislação (D'AVILA et al., 2016).

Duarte *et al.*, em 2017 realizaram um estudo buscando definir o perfil físico-químico e cromatográfico das cachaças orgânicas brasileiras. Usando a HPLC-FL investigaram a contaminação de cachaças orgânicas por carbamato de etila também empregando técnicas de preparação de amostra através de etapas de derivatização química, como nos casos anteriores, também usando o 9-xantidrol como agente derivatizante para a obtenção do carbamato de etil xantil. Os resultados indicaram que a etapa de envelhecimento, bem como a reação entre etanol e uréia, catalisada pela degradação de precursores nitrogenados, foram fatores relacionados ao surgimento e alta concentração de carbamato de etila (DUARTE et al., 2017).

Bortoletto e Alcarde avaliaram o perfil químico de 268 amostras de cachaça empregando HPLC-UV/VIS para detecção de furfural e 5-hidroxitilfurfural. A aplicação desta técnica permitiu obter bons resultados e mostrou que das amostras analisadas, 2,1% apresentaram concentração dos dois compostos acima do permitido pela legislação. O furfural e o 5-hidroxitilfurfural, não são considerados contaminantes em cachaça, apenas congêneres, no entanto são compostos gerados

pela degradação térmica dos açúcares do caldo de cana-de-açúcar, podendo então ser indicativos de menor rendimento do processo fermentativo e consequentemente, da produção de uma bebida de menor qualidade (BORTOLETTO; ALCARDE, 2015).

De modo geral, a HPLC é uma técnica que permite obter resultados analíticos com alta sensibilidade e seletividade para análises de contaminantes e congêneres em cachaça, no entanto, etapas de preparação de amostras dispendiosas e morosas são ainda muito utilizadas, e além disso, o custo de aquisição, a manutenção e operação destes equipamentos podem ser as principais desvantagens da utilização da técnica. Para análises cromatográficas, a grande tendência na análise instrumental de alimentos, é a Cromatografia Líquida de Ultra Alta Performance pois é uma técnica que combina a eficiência e efetividade da já conhecida HPLC com a obtenção de resultados no menor tempo possível e um aprimoramento na separação e no rendimento de análise, com menor consumo de solventes orgânicos, resultando em metodologias analíticas limpas, com minimização na geração de resíduos. Essa pode ser, então, usada como uma forma mais eficiente de realizar o monitoramento rápido da produção de alimentos, de modo geral, inclusive no controle de qualidade da produção de cachaça (PICO, 2020).

3.3 Emprego de técnicas espectroscópicas

A espectroscopia é a área da química analítica que ao produzir, medir e interpretar espectros resultantes da interação da radiação eletromagnética com a matéria, resolve uma ampla gama de problemas analíticos de identificação e quantificação de espécies químicas. Existe uma grande variedade de técnicas espectroscópicas ou espectrofotométricas, e eles se diferem de acordo com as espécies que serão analisadas (podendo ser uma espectroscopia atômica ou molecular, por exemplo), de acordo com a interação radiação-matéria que será monitorada (absorção, emissão ou ainda difração), ou ainda, de acordo com a região do espectro eletromagnético que será usado na análise (visível, ultravioleta, infravermelho, dentre outros). As técnicas espectroscópicas robustas, conseguem fornecer um grande número de informações, e são muito amplamente utilizados em análises qualitativas e quantitativas em amostras de alimentos e dentre as técnicas existentes, aquelas baseadas na absorção ou emissão de radiação nas faixas de radiação eletromagnética ultravioleta (UV), visível (Vis), infravermelho (IR) e rádio

(ressonância magnética nuclear, NMR) são os mais comumente empregadas em laboratórios de análises de alimentos. Cada uma destas técnicas possui suas peculiaridades quanto à medida que realiza, mas os princípios físicos por trás das medidas espectroscópicas, de modo geral, são similares. A espectroscopia trata da interação da radiação eletromagnética com a matéria e a análise espectroscópica tem várias técnicas para quantificar e identificar os componentes químicos em laboratórios de análise, inclusive, de alimentos. Nestas técnicas, considera-se que a energia proveniente de uma fonte estável e potente interage com as espécies químicas de interesse, de maneira que os fótons da radiação podem ser absorvidos ou emitidos pela matéria, e a energia associada ao fóton é igual à diferença de energia utilizada para as transições permitidas para espécie química de interesse (NIELSEN, 2010).

Para a análise de contaminantes e congêneres em cachaça, a espectroscopia foi a segunda classe de técnicas mais utilizada nos últimos dez anos. Tem sido reportado o uso da espectroscopia de absorção atômica com chama (FAAS - do inglês *Flame Atomic Absorption Spectrometry*) como método de atomização das amostras, para a análise de resíduos de metais nas amostras de cachaça. Para a detecção de contaminantes orgânicos, a espectroscopia de absorção molecular na faixa de radiação ultravioleta e visível (UV/Vis) têm sido reportadas. Na Tabela 6 estão listadas alguns dos trabalhos avaliados nesta pesquisa, onde também são indicados os valores de LD e LQ obtidos com o emprego da espectroscopia.

Tabela 6 – Aplicações das técnicas espectroscópicas para a determinação de contaminantes e congêneres em cachaça, indicando os valores de LD e LQ obtidos

Técnica	Analito	LQ	LD	Referência
FAAS	Cobre	*NR	*NR	E Silva <i>et al.</i> (2020)
FAAS	Cobre e Chumbo	*NR	*NR	Filho <i>et al.</i> (2016)
FAAS	Cobre e Chumbo	*NR	0,51 ^a	Fontes <i>et al.</i> (2020)
UV/Vis	Hidroximetilfurfural	1,27 ^b	*NR	Milani <i>et al.</i> (2017)

Continuação...

...Continuação

Técnica	Analito	LQ	LD	Referência
UV/Vis	Furfural	0,74 ^b	*NR	Milani <i>et al.</i> (2017)
UV/Vis	Cobre	0,200 ^b	0,0659 ^b	Onça <i>et al.</i> (2020)
FAAS	Cobre, chumbo, ferro, zinco, cádmio e crômio	*NR	*NR	Tábua <i>et al.</i> (2020)
UV/Vis	Glicerol	*NR	*NR	Tábua <i>et al.</i> (2020)

^a: µg/L; ^b:mg/L; *NR: Não registrado. **Fonte:** O autor, 2021.

Onça *et al.* utilizaram o composto 5-bromo-2-salicil-beta-alanina como quimiossensor colorimétrico para o desenvolvimento de um método com maior simples, seletivo e com adequada sensibilidade para a determinação espectroscópica de cobre em Cachaças artesanais. O método desenvolvido apresentou ausência de ação de interferentes e a exatidão excelente com recuperação média de 100,55%. Foi possível, com o método desenvolvido e validado, verificar que os teores de cobre encontrados nas cachaças artesanais, de diferentes origens geográficas, foram menores do que os estipulados como máximos permitidos pela legislação, no entanto, os teores ainda são altos, com uma média de 2,93 mg/L, o que indica a necessidade de um maior controle nos padrões de produção para que os produtos fiquem aptos para a exportação (ONÇA *et al.*, 2020).

Filho *et al.* desenvolveram um estudo comparativo entre teores de contaminantes e congêneres em cachaças, analisando contaminantes orgânicos e inorgânicos, onde a análise dos contaminantes e congêneres orgânicos foi feita utilizando-se GC e a análise de contaminantes inorgânicos foi realizada empregando-se FAAS. As análises de cachaças produzidas nas regiões de Alpercatas e Sertão Maranhense indicaram a presença de chumbo e cobre, em valores permitidos pela legislação. No entanto a quantidade de cobre presente nestas amostras, mesmo não causando toxicidade, contribui para ressaltar o sabor ácido na bebida, resultando em menor qualidade do produto (FILHO *et al.*, 2016).

Fontes *et al.* empregaram a FAAS para analisar simultaneamente a presença de cádmio e manganês em 11 amostras de cachaça de 6 diferentes estados do Brasil. Para tornar a análise mais prática foi utilizada a técnica de microextração dispersiva assistida por ar/líquido-líquido para a preparação das amostras. Os testes de adição e recuperação para as amostras indicaram uma exatidão com recuperação de 87 a 120%. Portanto, quando otimizado, o método se mostrou sensível, eficiente, simples, rápido e com baixo consumo de reagentes, além de se apresentar inovador e não ter sido previamente relatado pela literatura (FONTES *et al.*, 2020).

E Silva *et al.* analisaram a influência de diferentes sistemas de cultivo de cana-de-açúcar na concentração final de cobre. Para isso, utilizaram a FAAS, possibilitando determinar que a forma de cultivo não influencia o teor de cobre presente na bebida final, e nenhuma das amostras apresentou concentração de cobre acima dos teores permitidos pela legislação (E SILVA *et al.*, 2020).

As técnicas espectroscópicas podem ser utilizadas como alternativas para a análise de contaminantes e congêneres que são comumente determinados através de metodologias mais caras e complexas, como demonstrou Milani *et al.* Que empregaram UV/vis em plataforma de papel controlado por software para determinar a concentração de hidroximetilfurfural e furfural, dois contaminantes que conferem à cachaça um sabor desagradável e ainda apresenta potencial mutagênico. Estas duas espécies são, de modo geral, determinadas usando técnicas cromatográficas, entretanto o método descrito se mostrou eficaz na determinação dos compostos de interesse, e não houve influência de interferentes presentes nas amostras. O método apresentou recuperação nas faixas de 89,5 a 108% para furfural e 96,3 a 106% para hidroximetilfurfural. A utilização de barreiras hidrofóbicas na plataforma de papel aumentou significativamente a sensibilidade do método, sem a necessidade de etapas complexas de preparação da amostra. Em comparação com a técnica cromatográfica a metodologia proposta se mostrou mais precisa, com boa exatidão, segura, barata e ecologicamente correta, resultando em menor geração de resíduos (MILANI *et al.*, 2017).

O uso de mais de uma técnica espectroscópica para traçar o perfil de qualidade de bebidas destiladas, como aguardentes de cana-de-açúcar e cachaça pode ser uma boa perspectiva futura para a aplicação das técnicas espectroscópicas. Neste

contexto, Tábuia *et al.* utilizaram duas técnicas espectroscópicas para a análise de contaminantes e congêneres em aguardentes produzidas em diferentes regiões do Moçambique. Foram avaliadas 13 amostras de cachaça quanto ao teor de glicerol e elementos traço, a extração e preparação de amostra foi feita usando a técnica de microextração de fase sólida. A quantificação do glicerol foi realizada empregando-se UV-vis e para a determinação de cobre, chumbo, ferro, zinco, cádmio e cromo foi realizada com o emprego da FAAS. Foram detectadas concentrações fora dos padrões legais estabelecidos para cobre e chumbo, indicando a necessidade de mais atenção na produção das bebidas (TÁBUA *et al.*, 2020).

3.4 Emprego de técnicas colorimétricas

A colorimetria é uma técnica baseada no comportamento das interações entre matéria e energia radiante resultando em coloração com intensidade proporcional a quantidade de composto de interesse. Podendo ser confundida com a espectroscopia, principalmente a UV/Vis, ambas as técnicas se baseiam na medida da absorbância da amostra para determinar as concentrações do analito. No entanto, de modo geral os colorímetros são portáteis e usam fontes de luz de LED (dispositivo emissor de luz) e filtro de cores, logo, operam em comprimentos de onda fixos e permitem análises que podem ser realizadas nas faixas comprimentos de onda visível, 380 a 780 nm. Uma das maiores vantagens da colorimetria é a possibilidade de a análise ser feita em campo, uma vez que a instrumentação necessária para realização da análise é relativamente simples, portátil e cada vez mais, práticas (SKOOG *et al.*, 2014).

Na última década os estudos buscando utilizar o emprego de técnicas colorimétricas para tornar mais prática, acessível e aplicável a análise de contaminantes em cachaça se tornou bem comum. Na Tabela 7 são apresentados alguns trabalhos envolvendo técnicas colorimétricas como “Spot test” e Digital Image Based (DIB) para a análise de alguns contaminantes e congêneres em cachaça, onde também são indicados os valores obtidos de LD e LQ.

A determinação de cobre em cachaça é objeto de muitas pesquisas relacionadas ao controle de qualidade da bebida. O cobre é um mineral essencial para consumo humano, no entanto, quando ingerido em quantidades acima do recomendado, pode causar toxicidade, assim como outros metais pesados. De modo

geral, o cobre é absorvido pela cachaça no seu processo produtivo, quando a destilação, principalmente, é feita em alambiques de cobre. Esse processo agrega valor à bebida, mas pode ser fonte desta contaminação, por isso, diversos trabalhos se dedicam a investigar e controlar a concentração do cobre em cachaça.

Algumas técnicas são mais comumente associadas à determinação de cobre em bebidas destiladas alcólicas, como por exemplo, colorimetria, UV/Vis, a espectroscopia de emissão com plasma acoplado indutivamente, técnicas voltamétricas, dentre outras. De acordo com a literatura, a metodologia recomendada para análise de cobre em bebidas destiladas alcólicas é a FAAS, usando o método de adição de padrão. Porém, algumas destas técnicas indicadas e mais comumente descritas são morosas de serem feitas, dispendiosas financeiramente, ou de difícil operação, exigindo mão de obra especializada para realização da análise. Além disso, a maioria requer etapas complexas de preparação de amostra que podem acrescentar erros à análise. Portanto, métodos inovadores, simples, práticos, robustos, de baixo custo e com alta sensibilidade e seletividade são sempre alternativas válidas. Nesse sentido, os métodos analíticos baseados em *spot tests* e no uso de imagens digitais têm ganhado cada vez mais espaço para a análise de vários analitos, inclusive, contaminantes em bebidas.

Tabela 7 – Aplicações das técnicas colorimétricas para a determinação de contaminantes e congêneres em cachaça, indicando os valores de LD e LQ obtidos. Parâmetros analíticos de análises de contaminantes e congêneres em Cachaça e aguardente de cana-de-açúcar usando técnicas colorimétricas

Técnica	Analito	LOQ	LOD	Referência
Spot test e DIB	Cobre	0,26 ^b	0,078 ^b	Pessoa <i>et al.</i> (2017)
Spot test e DIB	Metanol	5,0 ^c	1,5 ^c	Franco <i>et al.</i> (2017)
Spot test e DIB	Furfural	1,15 ^c	0,34 ^c	Franco; Suarez e Santos. (2017)

Continua...

...Continuação

Técnica	Analito	LOQ	LOD	Referência
Spot	Cobre	*NR	*NR	Bortoletto e Alcarde. (2015)
Colorimetria tradicional	Cobre	*NR	(NR	Zacaroni et al. (2011)

^a: µg/L; ^b:mg/L; ^c: mg/100 mL de álcool anidro; *NR: Não registrado.

Zacaroni *et al.* avaliaram a presença de contaminantes orgânicos e inorgânicos em 12 amostras de cachaças produzidas na região sul de Minas Gerais, utilizando-se técnicas colorimétrica, as quais são indicadas pela legislação vigente para a quantificação de cobre presente em cachaça. Com o estudo, foi possível estabelecer que 16,67% das amostras avaliadas tinham teores de cobre superiores aos indicados pela legislação. A análise físico-química de cobre é uma análise padrão, de simples execução, no entanto, acaba resultando em menor exatidão do que outras técnicas instrumentais, onde o erro associado ao operador é minimizado (BRASIL, 2005d; ZACARONI et al., 2011; SKOOG et al., 2014). Bortoletto e Alcarde realizaram a determinação do perfil químico da cachaça e de aguardentes de cana-de-açúcar brasileiras, comparando os níveis de contaminantes e congêneres encontrados em 268 amostras, com os teores indicados pela legislação nacional. Para a determinação da concentração de cobre utilizaram um *spot test* portátil baseado na colorimetria tradicional, e graças à praticidade e rapidez da técnica, foi possível determinar que 16,67% das amostras possuíam cobre em níveis superiores aos recomendados pelo Padrão de Identidade e Qualidade da Cachaça, o que indicou falhas no processamento da bebida (BORTOLETTO; ALCARDE, 2015).

Na última década, no entanto, têm-se observado o crescimento no uso de *spot tests* que utilizam os princípios de funcionamento da colorimetria associados ao uso de tecnologias acessíveis como câmeras, webcams, scanners e telefones celulares com câmeras embutidas. A combinação desses *spots tests* com a imagem digital permite a criação de técnicas onde as análises podem ser feitas *in situ*, mesmo em locais remotos. E por sua vez, a realização de análises *in situ* representam uma grande vantagem para o controle de qualidade efetivo, uma vez que a coleta de amostras significativas e seu transporte para a análise pode ser um processo extenuante, ineficaz e oneroso. O manuseio de amostras também pode acarretar em

erros analíticos por contaminação ou mesmo por alterações e degradações químicas, microbiológicas e físico-químicas. Por isso o desenvolvimento e implantação de *spot tests* é um avanço muito significativo no controle de qualidade de bebidas, incluindo cachaça (PESSOA et al., 2017).

Pessoa *et al.* desenvolveram e validaram uma metodologia de análise para determinar a concentração de cobre em amostras comerciais de aguardente de cana-de-açúcar empregando análise de imagens digitais envolvendo a reação dos íons cobre e cuprizona, que resultou em um quelato azul. As imagens foram capturadas por uma câmera equipada com um sensor do tipo Charge Coupled Device – CCD. O dispositivo CCD é um sensor semicondutor usado para a captação de imagens através de um circuito integrado. Esses sensores têm recebido bastante destaque em diversas áreas da tecnologia do imageamento digital. Através da técnica desenvolvida foi possível realizar a determinação *in situ* de cobre em cachaça. A técnica foi validada, através da FAAS, técnica de referência para a análise de cobre em bebidas, e as técnicas tiveram resultados significativamente similares. Portanto, com a técnica desenvolvida, foi possível realizar a análise de cobre em cachaça, usando um smartphone, *in situ*, o que é um resultado muito importante para o controle de qualidade de cachaça, principalmente para pequenos produtores que não possuem condições de arcar com a realização de testes dispendiosos e complexos como aqueles envolvendo as técnicas espectroscópicas tradicionais (PESSOA et al., 2017).

Combinando o DIB com o método colorimétrico ou cromotrópico, Franco *et al.* desenvolveram uma técnica analítica simples, precisa e de baixo custo para a determinação de metanol em cachaça. O metanol é um contaminante capaz de causar acidose severa e afetar o sistema respiratório, levando ao coma, e nos últimos tempos, diversas técnicas mais acessíveis que as espectroscópicas, comumente usada para a análise desse contaminante, tem sido desenvolvidas (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 1980; FRANCO et al., 2017). Na metodologia desenvolvida, a instrumentação para análise do metanol foi construída a partir de um sistema simples de iluminação para otimizar a obtenção de imagens a partir de um smartphone e um sistema RGB (red – green – blue). Para a determinação de metanol, foi realizada uma reação de oxidação da molécula do metanol para metanal e consequentemente, na presença de ácido cromotrópico, a formação de um cromóforo violeta. Com o sistema otimizado, no canal verde do RGB foi possível obter uma boa

linearidade para as curvas analíticas. A análise não sofreu efeito de interferentes e o percentual de recuperação foi de 83 a 110%. Por fim, o método foi validado, comparando a técnica desenvolvida com o FAAS e os resultados apresentaram similaridades significantes, com nível de confiança de 95% (n=3). Esse método, portanto, se mostrou efetivo, econômico e com baixo impacto ambiental, principalmente por possibilitar baixo consumo de reagentes. Além disso, o sistema desenvolvido é barato e de fácil manuseio, o que tornou a técnica acessível e altamente aplicável (FRANCO et al., 2017).

O furfural, congênere indesejado formado durante o processamento mal executado ou durante o envelhecimento da cachaça também foi avaliado associando-se a tecnologia dos *spots tests* colorimétricos e do DIB. De acordo com a literatura de referência para a análise e controle de furfural e o hidroximetilfurfural utiliza-se a GC-FID, no entanto, como descrito anteriormente, a análise por essa técnica é dispendiosa e pode ser muito complexa. Dentre os métodos mais novos para análise desses dois compostos encontram-se outras técnicas também complexas, como a HPLC-DAD e usando a extração com fase sólida como método de preparação amostra, no entanto, ainda assim, mesmo com bons resultados, a técnica ainda não é acessível. Por isso, Franco; Suarez e Santos propuseram uma metodologia, simples e de baixo custo para determinação *in situ* de furfural em amostras de cachaça, usando um *spot test* colorimétrico e a DIB. Para a execução da análise o furfural foi submetido a uma reação com a anilina em meio ácido e a imagem digital foi capturada com um smartphone. Após a decomposição das imagens, empregando-se o sistema de cores RGB e um software livre, foi possível conseguir uma boa amplitude de faixa linear para a detecção de furfural e uma recuperação de 85,7 a 106%. O método desenvolvido foi aplicado em amostras não envelhecidas de cachaça com resultados satisfatórios, mostrando que o DIB combinado a um *spot test* colorimétrico é uma alternativa viável e importante para determinar contaminantes e congêneres em bebidas. Esta técnica se mostrou rápida, precisa, reprodutiva e com baixa geração de resíduos químicos (FRANCO; SUAREZ; SANTOS, 2017).

Assim, observou-se que a colorimetria associada às atuais tecnologias digitais possui um grande potencial para ser utilizada no desenvolvimento de técnicas inovadoras, acessíveis e que podem ajudar a tornar o controle de qualidade no

processo produtivo de cachaça, algo mais aplicável, mesmo para pequenos produtores.

3.5 Emprego de técnicas voltamétricas

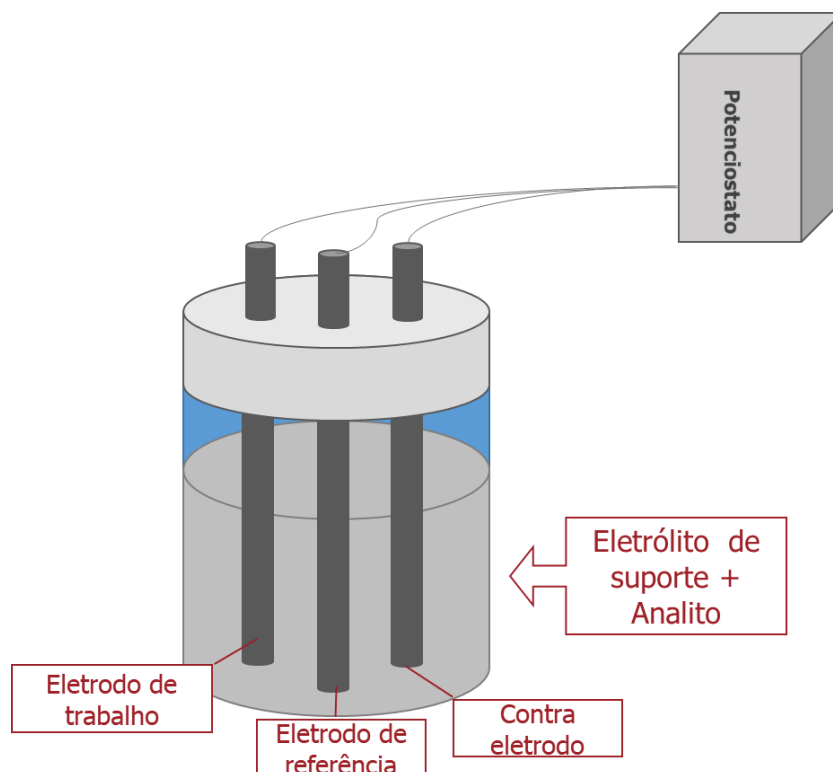
Como discutido anteriormente, medir e controlar a qualidade, segurança, nutrição e estabilidade de produtos alimentícios é uma preocupação muito presente em todo o ramo alimentício, e a química analítica fornece uma série de ferramentas que podem ser usadas para sanar essas demandas. Até o momento foram apresentadas diversas técnicas de análises fundamentadas em técnicas cromatográficas, espectroscópicas e colorimétricas, todos com suas vantagens, desvantagens, limitações e perspectivas.

De modo geral, a indústria produtora de cachaça no Brasil faz uso de técnicas, muitas das vezes, artesanais para a produção da bebida. Além disso, uma parcela significativa dos estabelecimentos produtores do destilado é composto por destilarias de pequeno porte, que não podem arcar com custos elevados para o controle de qualidade, mas necessitam dos mesmos para produzir bebidas de maior qualidade e que sejam mais competitivos no mercado interno e externo (INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, 2009; BRASIL, 2020).

Tradicionalmente as técnicas eletroanalíticas são um conjunto de técnicas instrumentais com alta precisão e sensibilidade, das quais incluem as técnicas voltamétricas. Nestas técnicas, um analito é oxidado ou reduzido sobre uma interface sólida, ou um eletrodo apropriado para quantificar a corrente resultante desta reação. Este eletrodo em questão é chamado de eletrodo de trabalho, e em uma célula eletrolítica, através da aplicação de uma voltagem controlada, ele irá conduzir a corrente elétrica gerada pela reação de interesse, seja ela de oxidação ou redução. Este sinal elétrico gerado pela quantidade de eletricidade ou corrente elétrica envolvidos na eletrólise está relacionado à quantidade de analito (CHRISTIAN; DASGUPTA; SCHUG, 1967). A Figura 8 ilustra como seria a composição de um sistema eletroquímico genérico, que pode ser utilizado para a realização de análises voltamétricas de compostos eletroativos, tais como contaminantes e congêneres em cachaça. O sistema é composto pelos condutores elétricos (eletrodo de trabalho, de referência e auxiliar) e condutor iônico (eletrólito de suporte), os quais constituem uma

célula eletroquímica, na qual é adicionado a espécie química de interesse. O sistema é conectado a um potenciostato que monitora a aplicação de potencial elétrico e mede a corrente resultante da transferência de elétrons.

Figura 7 - Sistema genérico utilizado para a realização de experimentos de análise de compostos eletroativos utilizando métodos voltamétricos



Fonte: O autor, 2021.

Dentre as técnicas analíticas que são utilizadas para a análise de alimentos, as técnicas voltamétricas para identificação e quantificação dos diversos componentes alimentícios são alternativas rápidas, precisas, práticas, de fácil execução, robustas e sensíveis para a realização das análises. As técnicas convencionais, principalmente as cromatográficas e espectroscópicas, tem como desvantagens o alto custo associado, longo tempo de análise, requisitos complexos de pré-tratamento da amostra e em alguns casos, baixa sensibilidade e seletividade. Por isso, em comparação com outras técnicas, as técnicas voltamétricas são caracterizadas pela simplicidade, alta sensibilidade, boa estabilidade, instrumentação de baixo custo e ainda, pouca ou nenhuma necessidade de etapas complexas de preparação de amostras.

A instrumentação para a realização de análises usando técnicas voltamétricas é bem simples, e geralmente é composta por uma célula com três eletrodos, onde um deles é o eletrodo de trabalho onde ocorre a reação de interesse, o contra eletrodo ou eletrodo auxiliar onde ocorre a reação oposta e o eletrodo de referência que tem um potencial constante e conhecido e por isto é empregado para medir o potencial onde a espécie de interesse reage. Todos os eletrodos são imersos em uma solução eletrolítica que contém as espécies eletroativas de interesse e eletrólito de suporte. Vale ressaltar que um eletrodo de referência, com potencial conhecido, é utilizado para compor o sistema e manter controlado o potencial no eletrodo de trabalho, através de um potenciostato. Também é importante que a solução eletrolítica na célula, seja borbulhada com um gás inerte, para remover oxigênio, evitando então a interferência da reação de redução do gás na corrente relevante para a análise de interesse.

Além disso, existem diversas técnicas voltamétricas que podem ser utilizadas para a realização das análises, como por exemplo a Voltametria de Varredura Linear (LSV do inglês *Linear Stripping Voltammetry*), a Voltametria Cíclica (CV do inglês *Cyclic Voltammetry*), a Voltametria de Pulso Diferencial (DPV do inglês *Differential Pulse Voltammetry*), e a Voltametria de Onda Quadrada (SWV do inglês *Square Wave Voltammetry*), dentre outras. Cada uma dessas técnicas possui suas peculiaridades, aplicações indicadas e princípios de funcionamento. Mas de modo geral, as técnicas voltamétricas envolvem a aplicação de uma diferença de potencial elétrico que tem energia suficiente para promover a reação de redução e/ou oxidação resultando em correntes que são produzidas a partir de eventos de transferência de elétrons entre a superfície do material do eletrodo de trabalho e as espécies eletroativas presentes na solução. De modo geral, este fenômeno de transferência de elétrons envolve reações de oxidação ou redução das espécies eletroativas, resultando em correntes que são medidas pelo potenciostato, e tem valores proporcionais às concentrações do analito (ESCARPA; GONZÁLEZ; LÓPEZ, 2015).

Um aumento significativo do uso de técnicas voltamétricas como metodologias para análise e determinação de compostos em alimentos no geral vêm sendo observado nas últimas décadas. Em grande parte, por sua simplicidade operacional, baixo custo e minimização da necessidade de etapas de preparo de amostras. As técnicas voltamétricas podem ser usadas para quantificar e identificar aditivos

alimentares, contaminantes, compostos nutracêuticos, dentre outros, em amostras complexas como alimentos, ou mesmos, suas matérias-primas (MARTINS; SENTANIN; DE SOUZA, 2019).

Apesar de se tratar de técnicas vantajosas para análise de alimentos, na última década poucos estudos envolvendo as técnicas voltamétricas para a determinação de contaminantes e congêneres de cachaça foram encontrados para o desenvolvimento deste trabalho, dentre eles o trabalho de Ferreira *et. al.* realizaram a determinação simultânea dos metais cobre, cádmio, chumbo e zinco, em cachaça, empregando a técnica de voltametria de onda quadrada com etapas de redissolução anódica em dois diferentes eletrodos de trabalho: o de nanotubo de carbono e o eletrodo de grafite. A metodologia proposta foi validada por Espectroscopia de Emissão Atômica por Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-OES do inglês *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*) que serviu como técnica de referência para comparação dos resultados obtidos. Melhores resultados analíticos foram observados usando o eletrodo de nanotubo de carbono. A metodologia desenvolvida para a análise simultânea de cobre, zinco, chumbo e cádmio, utilizando dois tipos de eletrodos de trabalho, e combinando a voltametria de onda quadrada com os métodos quimiométrico apresentou resultados muito satisfatórios. A metodologia se apresentou como simples, rápida e econômica, e por isso, foi possível realizar a análise de 90 amostras de cachaças de diferentes cidades do estado do Espírito Santo. Devido a simplicidade da metodologia desenvolvida, vale ressaltar, que a técnica pode ser usada como uma ferramenta de rotina para o controle de qualidade desses produtos na indústria, sejam elas de qualquer porte (FERREIRA et al., 2020).

É interessante salientar que apesar de o único estudo usando voltametria, até então publicado, na última década, de análise de contaminantes e congêneres em cachaça ser usado para analisar compostos metálicos nessa bebida, as técnicas voltamétricas são eficientes para a determinação de compostos inorgânicos em matrizes complexas, também (MARTINS; SENTANIN; DE SOUZA, 2019).

A seguir, na Tabela 8, são apresentados os contaminantes e congêneres listados pela legislação brasileira que apresentam potencial para serem analisados empregando-se técnicas voltamétricas, indicando a reação de oxidação/redução

passível de ocorrer e o material do eletrodo de trabalho que possibilite que a reação seja favorável.

Tabela 8 – Perspectivas de aplicação das técnicas voltamétricas para a análise de alguns contaminantes e congêneres em cachaça

Composto	Reação de interesse/ Eletrodo de trabalho	Referência
Álcool metílico	Oxidação/ Eletrodos de carbono ou biossensores	(BILGI; AYRANCI, 2018)
Carbamato de etila	Redução/ Biossensor	(ZHANG et al., 2017; JIANG et al., 2020)
Acetaldeído	Oxidação/ Eletrodo de prata	(KLEINIKOVA et al., 2021)
Furfural	Redução/ Eletrodo de filme de nano-TiO ₂ dopado com íons de lantânio e eletrodo de mercúrio	(WANG et al., 2015; WANG; HUANG; WANG, 2016)

Fonte: O autor, 2021

Como é possível notar pelos dados da Tabela 8, estudos de outras áreas, como por exemplo, a farmacêutica e a bioquímica, ou mesmo, artigos investigando contaminantes e congêneres em cachaça, em outras bebidas, comprovam o potencial da voltametria como técnica para análise desses compostos.

O carbamato de etila, contaminante de cachaça, que mais despertou interesse da comunidade científica nos últimos tempos, já foi analisado em outros contextos utilizando metodologias voltamétricas. Zhang *et al.*, em 2017 utilizaram um biossensor amperométrico para a determinação de carbamato de etila empregando-se eletrodo modificado com uretanase e glutamato desidrogenase, resultando em bons resultados para a detecção de carbamato de etila em amostras de vinho chinês, com limite de detecção de 5,30 nmol/L e faixa de detecção linear em 0,5 a 40 nmol/L (ZHANG et al., 2017).

Em 2020, Jiang *et al.* foram capazes de detectar, simultaneamente carbamato de etila e seus precursores, incluindo ureia e citrulina, utilizando um eletrodo

modificado através da aplicação da técnica de espectroscopia de impedância eletroquímica. Os limites de detecção alcançados com o emprego desta técnica que monitora fenômenos na interface do eletrodo foram de 0,8 ng/L, mostrando que o sensor desenvolvido apresentou sensibilidade e seletividade elevadas (JIANG et al., 2020). Wang *et al.* construíram e caracterizaram um eletrodo de nanopartículas de óxido de titânio dopado com íons trivalentes de lantânio, preparado pela metodologia do sol-gel. Com esse eletrodo, os autores conseguiram promover a reação de redução do furfural e consequente detecção do produto (WANG et al., 2015).

Wang, Huang e Wang desenvolveram uma metodologia fácil e prática para determinar a concentração de furfural contido em óleo isolante utilizando um eletrodo de mercúrio. O método se mostrou muito sensível, com limite de detecção de 0,03 µg/g. Além disso, graças a instrumentação adotada, toda a análise pôde ser realizada em 8 minutos, o que indicou que o método era muito adequado para a determinação de furfural em uma situação real. A metodologia apresentou resultados favoráveis e em concordância com os comumente obtidos em análises feitas empregando-se HPLC (WANG; HUANG; WANG, 2016).

Bilgi e Ayranci utilizaram biossensores amperométricos, baseados em álcool desidrogenase e álcool oxidase, para realizar a análise de etanol, metanol e suas misturas. A oxidação do metanol, promovida na análise com biossensor baseado em álcool oxidase, resultou bons resultados para a detecção do composto. Os limites de detecção e quantificação para o metanol foram de 100,8 µmol/L e 335,9 µmol/L, respectivamente. Para testar a eficiência da técnica, os biossensores foram testados em uma bebida alcóolica comercial, e os resultados obtidos foram muito satisfatórios (BILGI; AYRANCI, 2018).

O acetaldeído também pode ser detectado e quantificado através da análise voltamétrica. Em seu trabalho Kleinikova *et al.* estudaram a oxidação eletroquímica seletiva do acetaldeído usando soluções aquosas de etanol e eletrodos de prata. Foram analisados diversos tipos de eletrodos baseados em prata, dentre eles, o eletrodo de carbono vítreo modificado com a tinta composta de prata-polipirrol, que foi o que apresentou maior sensibilidade, quando comparado aos eletrodos de prata liso e prata rugosa, mas de modo geral, todos os eletrodos avaliados apresentaram

resultados satisfatórios para a detecção do acetaldeído em meio alcalino e na presença de etanol (KLEINIKOVA et al., 2021)

Por fim, é notável que o emprego das técnicas voltamétricas, por serem técnicas de baixo custo, rápidas, de simples execução e muito práticas, apresentam um grande potencial para serem usadas no desenvolvimento de metodologias de análise de contaminantes e congêneres em cachaça, e não somente para o caso de compostos metálicos, como já é aplicado, como também para a detecção e quantificação de contaminantes e congêneres orgânicos presentes em amostras de cachaça.

4 CONCLUSÃO

A cachaça é a bebida destilada mais consumida em todo o território brasileiro. Além disso, por ser uma bebida de produção exclusiva em território brasileiro, e com alto valor agregado, possui um grande potencial como produto de exportação. No entanto, grande parte das destilarias produtoras de cachaça enfrentam problemas com as análises químicas e com o controle de qualidade da sua produção, o que impede que sejam produzidas bebidas padronizadas e de alta qualidade.

Existe uma grande variedade de metodologias que podem ser aplicadas no controle de qualidade e padronização da cachaça, algumas técnicas alternativas têm demonstrado potencial por sua praticidade e por serem técnicas acessíveis que possibilitam análises remotas, rápidas, de fácil execução e com baixo custo, como é o caso das técnicas baseadas em DIB, das técnicas colorimétricas, e das técnicas voltamétricas. De modo geral, é evidente o potencial da indústria de cachaça como nicho para o desenvolvimento de estudos de análises de alimentos.

Como vimos, é possível utilizar diversas técnicas para o controle de qualidade de cachaça. A detecção e quantificação de contaminantes e congêneres pode ser realizada através do uso de técnicas utilizando métodos cromatográficos, gasosos e líquidos, espectroscópicos, colorimétricos e voltamétricos. As técnicas mais tradicionais, baseadas na cromatografia são majoritariamente estudadas para o controle de qualidade dessa bebida, no entanto, como observamos, grande parte dos produtores de cachaça são pequenas indústrias, que carecem de métodos acessíveis

e de simples operação, características apresentadas pelas técnicas voltamétricas, que apesar de terem experimentado um grande crescimento no seu uso como para a análise de alimentos, ainda não vem sendo exploradas como metodologia analítica para o controle de contaminantes e congêneres em cachaças. Portanto, podemos concluir que novas técnicas mais simples, incluindo voltamétricas, voltadas para a análise de cachaça deverão experimentar um aumento progressivo nos próximos anos.

REFERÊNCIAS

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **AOAC: Official Methods of Analysis**. 13. ed. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists, 1980.

BILGI, M.; AYRANCI, E. Development of amperometric biosensors using screen-printed carbon electrodes modified with conducting polymer and nanomaterials for the analysis of ethanol, methanol and their mixtures. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 823, p. 588–592, 15 ago. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2018.07.009>

BORTOLETTO, A. M.; ALCARDE, A. R. Assessment of chemical quality of Brazilian sugar cane spirits and cachaças. **Food Control**, v. 54, p. 1–6, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.01.030>

BORTOLETTO, A. M.; SILVELLO, G. C.; ALCARDE, A. R. Chemical and microbiological quality of sugar cane juice influences the concentration of ethyl carbamate and volatile congeners in cachaça. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 121, n. 2, p. 251–256, 2015. <https://doi.org/10.1002/jib.213>

BRASIL. Decreto nº 4.062, de 21 de dezembro de 2001. Define as expressões “cachaça”, “Brasil” e “cachaça do Brasil” como indicações geográficas e dá outras providências. 2001, p. 1.

BRASIL. Instrução Normativa nº 20, de 25 de outubro de 2005. Normas relativas aos requisitos e procedimentos para registro de estabelecimentos produtores de aguardente de cana e de cachaça, organizados em sociedade cooperativa e os respectivos produtos elaborados. **ANVISA- Agência Nacional de Vigilância Sanitária de 25 de Outubro de 2005**, 2005 b, p. 13717.

BRASIL. Resolução RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitamina e minerais. **ANVISA- Agência Nacional de Vigilância Sanitária de 23 de Setembro de 2005**, v. 2005, n. 132, p. 3, 2005c.

BRASIL. Instrução normativa nº 13, de 29 de junho de 2005. Aprova o Regulamento Técnico para Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para Aguardente de Cana e para Cachaça. **Diário oficial da união**, p. Seção 1, n. 124., 2005d.

BRASIL. Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009. Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. **ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária de 4 de junho de 2009**. 2009, p. 16.

BRASIL. A Cachaça no Brasil: Dados de registro de cachaças e aguardentes. In: Mapa. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasília. **Anais**. Brasília: MAPA/AECS, 2020. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/publicacoes/anuario-cachaca.pdf>>.

CACHO, J. I. et al. Evaluation of the contamination of spirits by polycyclic aromatic hydrocarbons using ultrasound-assisted emulsification microextraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 190, p. 324–330,

2016. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.05.106>>

CHREEM, D. R. et al. A study of the ethyl carbamate level in cachaça samples. **International Food Research Journal**, v. 22, n. 1, p. 351–355, 2015.

CHRISTIAN, G. D.; DASGUPTA, P. K.; SCHUG, K. A. **Analytical Chemistry**. 7th. ed. Danvers: Wiley, 1967.

D'AVILA, G. B. et al. Quantification of ethyl carbamate in cachaça produced in different agro-industrial production systems. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 122, n. 2, p. 299–303, 2016. <https://doi.org/10.1002/jib.322>

DE MACHADO, A. M. R. et al. Experimental Design Methodology to Optimize the Solid Phase Microextraction Procedure Prior to GC/MS Determination of Ethyl Carbamate in Samples of Homemade Cachaça. **Analytical Letters**, v. 45, n. 10, p. 1143–1155, 2012. <https://doi.org/10.1080/00032719.2012.673101>

DE OLIVEIRA FILHO, J. H.; BORTOLETTO, A. M.; ALCARDE, A. R. Qualidade pós-colheita de colmos de cana armazenados e seus reflexos na produção de cachaça. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 19, 2016. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.6915>

DE SILVA, A. P. et al. Chemical composition of sugar cane spirit produced from different distillation methods. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 23, p. 1–10, 2020.

DE SOUZA, P. P. et al. Differentiation of rum and Brazilian artisan cachaça via electrospray ionization mass spectrometry fingerprinting. In: Journal of Mass Spectrometry, 10, **Anais...** John Wiley & Sons, Ltd, out. 2007. <https://doi.org/10.1002/jms.1197>

DOS ANJOS, J. P. et al. Identificação do carbamato de etila durante o armazenamento da cachaça em tonel de carvalho (*Quercus* sp) e recipiente de vidro. **Química Nova**, v. 34, n. 5, p. 874–878, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000500025>

DUARTE, F. C. et al. Brazilian organic sugarcane spirits: Physicochemical and chromatographic profile. **Revista Ciencia Agronomica**, v. 48, n. 2, p. 288–295, 2017. <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20170033>

E SILVA, J. H. D. N. et al. Monitoring the content of ethyl carbamate and copper in organic and conventional cachaça. **Scientia Agricola**, v. 77, n. 5, 2020. <https://doi.org/10.1590/1678-992x-2019-0027>

E SILVA, J. H. D. N.; VERRUMA-BERNARDI, M. R.; DE OLIVEIRA, A. L. Cachaça production in Brazil and its main contaminant (Ethyl Carbamate). **Scientia Agricola**, v. 77, n. 2, 2020. <https://doi.org/10.1590/1678-992x-2018-0135>

ESCARPA, A.; GONZÁLEZ, M. C.; LÓPEZ, M. Á. **Agricultural and Food Electroanalysis**. Chennai: Wiley, 2015. <https://doi.org/10.1002/9781118684030>

FAO. **FAOSTAT**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/TP>>. Acesso em: 21 ago. 2020.

FERNANDES, M. da S.; GARCIA, R. de K. de A. **Princípios e Inovações em Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Rio de Janeiro: Editora AMC Guedes, 2015.

- FERREIRA, R. J. et al. Simultaneous metal determination in artisanal cachaça by using voltammetry and multivariate calibration. **Food Chemistry**, v. 314, n. February 2019, p. 126126, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.126126>
- FILHO, N. E. M. et al. Characterization of the artisanal brandies of sugarcane produced in the regions of alpercatas and sertão maranhense. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 5, p. 1421–1432, 2016. <https://doi.org/10.21577/1984-6835.20160100>
- FONTES, A. S. et al. Development of Method Based on Dispersive Liquid-Liquid Microextraction Air-Assisted for Multi-Element Determination of Cadmium and Manganese in Sugarcane Spirit (Brazilian cachaça) by FAAS. **Food Analytical Methods**, v. 13, n. 1, p. 222–229, 2020. <https://doi.org/10.1007/s12161-019-01600-w>
- FRANCO, M. de O. K. et al. Smartphone Application for Methanol Determination in Sugar Cane Spirits Employing Digital Image-Based Method. **Food Analytical Methods**, v. 10, n. 6, p. 2102–2109, 2017. <https://doi.org/10.1007/s12161-016-0777-y>
- FRANCO, M. de O. K.; SUAREZ, W. T.; SANTOS, V. B. dos. Digital Image Method Smartphone-Based for Furfural Determination in Sugarcane Spirits. **Food Analytical Methods**, v. 10, n. 2, p. 508–515, 2017. <https://doi.org/10.1007/s12161-016-0605-4>
- GUERREIRO, T. M. et al. New Approach of QuEChERS and GC-MS Triple-Quadrupole for the Determination of Ethyl Carbamate Content in Brazilian cachaças. **Frontiers in Nutrition**, v. 5, n. April, p. 1–9, 2018. <https://doi.org/10.3389/fnut.2018.00021>
- IBRAC - INSTITUTO BRASILEIRO DA CACHAÇA. **Informações à Imprensa - IBRAC**. Disponível em: <<http://www.ibrac.net>>.
- IBRAC - INSTITUTO BRASILEIRO DA CACHAÇA. **O mercado da Cachaça**. Disponível em: <<http://www.ibrac.net/index.php/servicos/estatisticas/mercado-externo>>.
- IBRAC; APEX. **Cachaça - Taste the new, taste Brasil**. Disponível em: <<http://www.tastebrasil.com/>>.
- INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, N. E. Q. I.-I. Portaria n.º 276 de 24 de setembro de 2009. . 2009.
- JIANG, X. et al. Simultaneously detecting ethyl carbamate and its precursors in rice wine based on a pH-responsive electrochemical impedance sensor. **Analytica Chimica Acta**, v. 1126, p. 124–132, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.05.068>
- KLEINIKOVA, S. A. et al. Selective electrooxidation of acetaldehyde in aqueous ethanol alkaline solutions on silver-containing electrodes. **Electrochimica Acta**, v. 377, p. 138076, 1 maio 2021. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2021.138076>
- MACCARI, L. D. B. **Certificação de Cachaça: Como diferenciar seu produto por meio da certificação**. Brasília: Sebrae, 2013.
- MAPA DA CACHAÇA. **As Diferenças entre Rum e Cachaça**. Disponível em: <<https://www.mapadacachaca.com.br/artigos/as-diferencas-entre-rum-e-cachaca/>>.
- MARTINS, F. C. O. L.; SENTANIN, M. A.; DE SOUZA, D. Analytical methods in food

additives determination: Compounds with functional applications. **Food Chemistry**, v. 272, p. 732–750, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.060>

MASSON, J. et al. Determinação de acroleína, etanol, acidez volátil e cobre em diferentes amostras de aguardentes de cana. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, v. 32, n. 3, p. 568–572, 2012.

MENDONÇA, J. G. P. et al. Determination of ethyl carbamate in cachaças produced by selected yeast and spontaneous fermentation. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 122, n. 1, p. 63–68, 2016. <https://doi.org/10.1002/jib.308>

MILANI, M. I. et al. Paper platform for reflectometric determination of furfural and hydroxymethylfurfural in sugarcane liquor. **Microchemical Journal**, v. 133, p. 286–292, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2017.03.046>

NIELSEN, S. S. **Food Analysis (Food Science Text Series)**. 4th. ed. West Lafayette, IN: Springer US, 2010. <https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1478-1>

ONÇA, L. O. et al. A new highly selective colorimetric Schiff base chemosensor for determining the copper content in artisanal cachaças. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 243, p. 118783, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2020.118783>

PARENTE, D. C. et al. Production of sensory compounds by means of the yeast *Dekkera bruxellensis* in different nitrogen sources with the prospect of producing cachaça. **Yeast**, n. December 2014, p. 191–198, 2015. <https://doi.org/10.1002/yea.3051>

PESSOA, K. D. et al. A digital image method of spot tests for determination of copper in sugar cane spirits. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 185, p. 310–316, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2017.05.072>

PICO, Y. **Chemical Analysis of Food**. 2nd. ed. San Diego, CA: Academic Press, 2020.

PORTUGAL, C. B. et al. The role of spontaneous fermentation for the production of cachaça: a study of case. **European Food Research and Technology**, v. 242, n. 9, p. 1587–1597, 2016. <https://doi.org/10.1007/s00217-016-2659-3>

SANTIAGO, W. D. et al. Ethyl carbamate in the production and aging of cachaça in oak (*Quercus* sp.) and amburana (*Amburana cearensis*) barrels. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 120, n. 4, p. 507–511, 2014. <https://doi.org/10.1002/jib.158>

SANTIAGO, W. D. et al. Physicochemical profile and determination of volatile compounds in cachaça stored in new oak (*Quercus* sp.), amburana (*Amburana cearensis*), jatoba (*Hymenaea caribouril*), balsam (*Myroxylon peruiferum*) and peroba (*Paratecoma peroba*) casks by SPME-GC–MS. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 122, n. 4, p. 624–634, 2016. <https://doi.org/10.1002/jib.372>

SANTIAGO, W. D. et al. Determination of ethyl carbamate in cachaça stored in newly made oak, amburana, jatobá, balsa and peroba vats and in glass containers. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 123, n. 4, p. 572–578, 2017. <https://doi.org/10.1002/jib.463>

SKOOG, D. A. et al. **Fundamental of Analytical Chemistry**. 9th. ed. Belmont:

Cengage Learning, 2014.

SORATTO, A. N.; VARVAKIS, G.; HORII, J. A certificação agregando valor à cachaça do Brasil. **Food Science and Technology**, v. 27, n. 4, p. 681–687, out. 2007. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612007000400002>

TÁBUA, M. C. M. et al. Identification of volatile compounds, quantification of glycerol and trace elements in distilled spirits produced in Mozambique. **Journal of Food Science and Technology**, v. 57, n. 2, p. 505–512, 2020. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-04079-9>

VIDAL, R. B. P.; IBAÑEZ, G. A.; ESCANDAR, G. M. A green method for the quantification of plastics-derived endocrine disruptors in beverages by chemometrics-assisted liquid chromatography with simultaneous diode array and fluorescent detection. **Talanta**, v. 159, p. 336–343, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.06.049>

WANG, F. et al. Fabrication of La-doped TiO₂ Film Electrode and investigation of its electrocatalytic activity for furfural reduction. **Electrochimica Acta**, v. 153, p. 170–174, 20 jan. 2015. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2014.11.203>

WANG, R.; HUANG, X.; WANG, L. Facile electrochemical method and corresponding automated instrument for the detection of furfural in insulation oil. **Talanta**, v. 148, p. 412–418, 1 fev. 2016. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.10.080>

ZACARONI, L. M. et al. Caracterização e quantificação de contaminantes em aguardentes de cana. **Química Nova**, v. 34, n. 2, p. 320–324, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000200026>

ZACARONI, L. M. et al. Effect of light on the concentration of ethyl carbamate in cachaça stored in glass bottles. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 121, n. 2, p. 238–243, 2015. <https://doi.org/10.1002/elan.201600421>

ZHANG, Z. et al. High-sensitive Electrochemical Determination of Ethyl Carbamate Using Urethanase and Glutamate Dehydrogenase Modified Electrode. **Electroanalysis**, v. 29, n. 2, p. 481–488, 2017. <https://doi.org/10.1002/elan.201600421>