

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

FABIANA DE MOURA

**Cachaça tradicional com inovação tecnológica:
comparando a produção com marcas comerciais**

Belo Horizonte

2018

UFMG / ICEx / DQ 1297^a

D.711^a

FABIANA DE MOURA

**Cachaça tradicional com inovação tecnológica:
comparando a produção com marcas comerciais**

Dissertação apresentada ao Departamento de
Química do Instituto de Ciências Exatas, da
Universidade Federal de Minas Gerais, como
requisito parcial para a obtenção do grau de
Mestre em Química- Química Analítica

Belo Horizonte

2018

Ficha Catalográfica

M929c Moura, Fabiana de
2018 Cachaça tradicional com inovação tecnológica
D [manuscrito]: comparando a produção com marcas
comerciais / Fabiana de Moura. 2018.
[viii], 67 f. : il.

Orientador: Evandro Piccin.

Coorientador: Helmuth Guido Siebald Luna.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Minas Gerais - Departamento de Química.

Inclui bibliografia.

1. Química analítica - Teses 2. Aguardente -
Análise - Teses 3. Cachaça - Teses 4. Redes neurais
(Computação) - Teses 5. Espectrometria de massa -
Teses I. Piccin, Evandro, Orientador II. Siebald Luna,
Helmuth Guido, Coorientador III. Título.

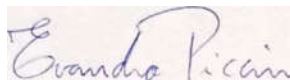
CDU 043

Elaborada pela Biblioteca do Departamento de Química - UFMG

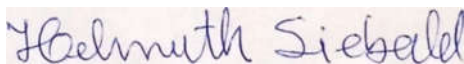
"Cachaça Tradicional com Inovação Tecnológica: Comparando a Produção com Marcas Comerciais"

Fabiana de Moura

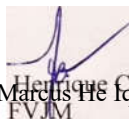
Dissertação aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:



Prof. Evandro Piccin - Orientador
UFMG



Prof. Helmuth Guido Siebald Luna - Coorientador
UFMG



Henrique F
FVJM

Prof. Henrique Figue Canuto



Prof. Ildefonso Binatti
CEFET-MG

Belo Horizonte, 31 de julho de 2018.

“Tudo tem o seu tempo determinado, e há tempo para todo
o propósito debaixo do céu.”

(Eclesiastes 3:1)

Agradecimentos

Agradeço...

A Deus por mais esta conquista.

A minha família pelo apoio e compreensão, em especial, à minha mãe Fátima pelo amor incondicional e pela dedicação. Ao meu marido Pedro e aos meus segundos pais Bernadete e Luiz.

Aos professores Helmuth G. L. Siebald e Evandro Piccin pela orientação desse trabalho com dedicação e disponibilidade em ensinar.

Aos meus mestres, exemplos de educadores, os quais contribuíram para minha formação pessoal e profissional Ildelfonso Binatti e Rodinei Augusti

Aos professores Clésia Nascentes, Jacqueline A. Takahashi e Marcus H. Canuto pela contribuição.

Aos técnicos do departamento de equipamentos especiais da UFMG, Breno e Reinaldo, pelo empenho e suporte a este trabalho.

Aos técnicos do setor de serviços gerais do departamento de química da UFMG.

A Vale Verde cacharia, a Ana Marta Satyro da cachaça Mineiriana e a Lelida Cardoso da cachaçaria Melicana pela colaboração.

Aos amigos dos Laboratórios do Departamento de Química, em especial, Carlos A Rios, Luiza Augusti, Márcio Luiz, Marina Jurich, Debora, Josimar, Camila, Jéssica...

Resumo

Visando monitorar o processo de produção de cachaça do modo tradicional utilizamos um protótipo previamente construído, constituído de dornas de fermentação e alambique de cobre, controlado por um sistema embarcado o qual foi programado com um software baseado em redes neurais para produção da bebida no nosso laboratório. Como forma de avaliar a aplicabilidade e adequação do sistema apresentado foram realizadas dezenas de bateladas de produção de cachaça. Após as adequações necessárias, três bateladas foram selecionadas para análise química cujos resultados serão discutidos nesse trabalho.

O destilado recolhido de cada batelada foi coletado de forma fracionada. Essas frações juntamente a amostras de doze marcas de cachaças comerciais foram submetidas a análises por Cromatografia Gasosa com detector de Espectrometria de Massas e por Espectrometria de Massas com ionização por *paper spray*.

Os resultados das análises químicas das frações da bebida de fabricação própria, bem como das amostras das marcas comerciais foram submetidos a tratamento por quimiometria. E revelaram que as amostras comerciais guardam similaridade as frações da porção final do destilado de fabricação própria, ou seja, da fração denominada cauda.

Algumas frações da parte central de cada um dos três destilados de fabricação própria submetidos a análises nesse estudo, e que com certeza estariam na composição dessa cachaça, foram avaliados com base na legislação vigente e se mostraram adequadas para consumo.

O protótipo desenvolvido pelo grupo foi utilizado com sucesso na produção de cachaça. Além de proporcionar meio de produção da bebida ele é útil na investigação das dinâmicas dos processos de fermentação e de destilação no âmbito da pesquisa e do ensino.

Palavras chave: cachaça tradicional, GC-MS, *paper spray*, redes neurais

Lista de Figuras

Figura 1. Fluxograma etapas do processo de produção	8
Figura 2. Elementos de um espectrômetro de massas	13
Figura 3. Esquema do modo de varredura de íons.....	17
Figura 4. Esquema de um sistema de ionização por <i>Paper Spray</i>	19
Figura 5. A - Biorreator; B - cilindro para banho d'água com controle automático de temperatura; C – tampa com lacre d'água; D – escape de gás; E – refrigerador e F – central de automatização do sistema de controle de temperatura.....	24
Figura 6. Sistema de destilação	25
Figura 7. Distribuição dos sensores de temperatura e vazão na planta.....	26
Figura 8. Diagrama do sistema.....	27
Figura 9. Alambique conectado ao computador com o sistema embarcado	27
Figura 10. Sistema <i>Master Legacy</i>	29
Figura 11. Montagem para execução de <i>paper spray</i>	36
Figura 12. Espectro de massas de uma fração da cachaça de fabricação própria	40
Figura 13. Número de componentes principais escolhidas para dados do PS-MS	41
Figura 14. Importância dos íons na composição de PC1	42
Figura 15. Importância dos íons na composição de PC2	42
Figura 16. Gráfico de PC1 x PC2 para definição de amostras: coração, não coração e comerciais	43
Figura 17. Gráfico de PC1 x PC2 para definição de amostras: coração e não coração, para cada destilação, e comerciais.....	44
Figura 18. Gráfico de escores de PC1.....	44
Figura 19. Gráfico de escores de PC2.....	45
Figura 20 Cromatograma com exemplo de íons de quantificação e confirmação	46
Figura 21. Número de componentes principais escolhidas para dados do GC-MS	47
Figura 22. Importância dos compostos na composição de PC1	47
Figura 23. Importância dos compostos na composição de PC2	48
Figura 24. Gráfico de PC1 x PC2 para definição de amostras: coração, não coração e comerciais	49
Figura 25. Gráfico de escores de PC1.....	50
Figura 26. Gráfico de PC1 x PC2 para definição de amostras: coração e não coração, para cada destilação, e comerciais.....	50
Figura 27. Gráfico de escores de PC1.....	52
Figura 28. Histograma de análise por agrupamento por métodos hierárquicos	52

Lista de tabelas

Tabela 1. Toxicidade e efeitos de algumas espécies encontradas em cachaças.....	9
Tabela 2. Padrões de identidade e qualidade da cachaça.....	10
Tabela 3. Identificação das amostras submetidas as análises químicas.....	32
Tabela 4. Pontos da curva de quantificação	34
Tabela 5. Íons monitorados (m/z) e tempo de retenção (min).....	35
Tabela 6. Teores de metais com desvio padrão relativo e limites da legislação	39
Tabela 7. Reagentes utilizados na análise do perfil de voláteis das frações do destilado de cachaça	64

Lista de Abreviaturas

°Brix - Brix (escala numérica usada na medida da quantidade de compostos solúveis numa solução de sacarose)

°GL - Gay-Lussac (concentração volume/volume)

APCI - Ionização Química à pressão ambiente (*Atmospheric Pressure Chemical Ionization*)

APPI - Fotoionização à pressão ambiente (*Atmospheric Pressure Photoionization*)

Camex - Câmara de Comercio Exterior

DMSO - Dimetil Sulfóxido

EI - Impacto de elétrons (*Eletronic Impact*)

ESI - Ionização por eletrospray (*Electrospray Ionization*)

Fapemig- Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais

GC-MS - Cromatografia Gasosa com detector por espectrometria de massas (*Gas Chromatography-Mass Spectrometry*)

HCA - Análise hierárquica de clusters (*Hierarchical Clustering Analysis*)

ICP-MS - Espectrômetro de massas com plasma indutivamente acoplado (*Mass Spectrometry Inductively Coupled Plasma*)

MAPA - Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento

PCA - Análise de componentes principais (*Principal Component Analysis*)

PS-MS - Espectrometria de massas com ionização por *paper spray* (*Paper Spray Mass Spectrometry*)

TE - Temperatura de Ebulição

UV-Vis - Ultra Violeta-Visível

Sumário

1. Introdução.....	1
1.1 Objetivo	5
1.1.1 Objetivo geral.....	5
1.1.2 Objetivos específicos.....	5
2. Referencial teórico	6
2.1 A cachaça.....	6
2.1.1 Processo produtivo por batelada.....	6
2.1.2 Composição química da cachaça	8
2.1.3 Fracionamento do destilado	11
2.2 Técnicas analíticas utilizadas.....	13
2.2.1 Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de massas	15
2.2.2 Espectrometria de massas com ionização por <i>paper spray</i>	18
2.3 Quimiometria	21
3. Criação e aprimoramento do alambique.....	23
3.1 Construção do Alambique e seu processo de automação	23
3.2 Modelagem matemática e sistema embarcado.....	28
4. Metodologia.....	30
4.1 Produção de cachaça – fabricação própria.....	30
4.2 Metodologia GC-MS.....	32
4.3 Metodologia <i>Paper Spray</i>	36
4.4 Métodos Quimiométricos	38
4.5 Metodologia ICP-MS	38
5 Resultados e Discussão	39
5.1 Produção de Cachaça.....	39
5.2 Teor de metais	39
5.3 Análises por <i>paper spray</i>	40
5.4 Análises por GC-MS	45
5.5 Comparação entre as técnicas analíticas.....	53
5.6 Qualidade da cachaça obtida no nosso laboratório	54
6. Considerações finais	57
7. Referências Bibliográficas.....	58
ANEXOS.....	63

1. Introdução

A cachaça é a principal bebida destilada produzida no Brasil, sua produção e consumo estão fortemente relacionados a vários aspectos culturais no país. O início da elaboração da bebida em terras brasileiras está vinculado à produção de açúcar a partir do século XVI. No entanto, ela não permaneceu limitada aos engenhos de açúcar, atravessou os séculos e ganhou importância em manifestações artísticas, folclóricas e na culinária. Com produtores espalhados por quase todo o Brasil ela pode hoje ser tratada como representante da cultura, identidade e hospitalidade do brasileiro, que divulga a riqueza cultural e diversidade do Brasil [2,44,48].

A sua importância econômica no mercado nacional pode ser percebida diante da capacidade instalada de produção de aproximadamente 1,2 bilhão de litros anuais [2]. As informações sobre o volume real de produção e do montante produzido de forma clandestina são incertos. Contudo estima-se que apenas 1% do volume efetivamente produzido é destinado à exportação, e apesar de que essa quantidade seja inexpressiva frente ao montante total, ela gerou US\$ 15,8 milhões apenas em 2017 [1].

No Estado de Minas Gerais, a produção de aguardente se caracteriza em sua maioria por produções artesanais integradas com outras atividades, como a bovinocultura de leite ou de corte e produção de adubo orgânico. Aumentar o valor agregado da bebida e seu mercado pode proporcionar maior estabilidade da mão de obra, pois o período de produção coincide com a entressafra de outras culturas, evitando o êxodo da população rural para os já saturados grandes centros urbanos [14].

Essa importância econômica e cultural da cachaça tem sido decisiva nos esforços para a sua valorização, que são fruto principalmente da organização dos produtores da bebida, que conseguiram a possibilidade de voltar a ser tributados pelo sistema simples nacional em 2018, e com isso reduzir a pesada carga de impostos sobre os micro e pequenos produtores. Além disso, a Câmara de Comercio Exterior (Camex) aprovou em 2016 o regulamento da indicação geográfica da bebida, o que restringe o uso da denominação “cachaça”, “Brasil” e “cachaça do Brasil” as bebidas produzidas no país. Essa medida é bastante importante, pois tende a valorizar a sua produção e facilitar as exportações [3,49].

Apesar da importância cultural e econômica, e da crescente valorização no mercado nacional e internacional, a bebida obtida de modo tradicional ainda sofre com a falta de padronização do processo, o que compromete a melhoria da qualidade do produto, através da

aquisição de boas práticas na elaboração da bebida, dos pontos de vista asséptico, toxicológico e organoléptico [50].

Os produtores que empregam os modos tradicional e artesanal de elaboração da bebida enfrentam dificuldades na padronização do processo produtivo, esse inconveniente afeta tanto a produção ao longo dos anos seja pela falta de aprimoramento das técnicas, seja pela aplicação ou não de boas práticas na fabricação, dentro de uma mesma safra de cana devido a modificações ou à falta de padronização do processo básico de produção. E essa inconstância do processo se reflete na qualidade e identidade do produto final de maneira negativa tornando-o menos atrativo para o consumidor. [53-55].

Outro ponto crítico no processo é a delimitação da cachaça dentro do destilado total, sendo fato que o líquido recolhido da destilação não é homogêneo, e que as frações inicial e final, respectivamente cabeça e cauda, carregam compostos tóxicos e indesejáveis. Devendo apenas a fração mediana, isto é, o coração ser aproveitado para consumo. Não há consenso para a definição correta do tamanho dessas frações e do ponto de separação entre elas. Mas é primordial que a cachaça obtida respeite a definição da legislação que a descreve como a denominação típica e exclusiva da aguardente de cana produzida no Brasil, com graduação alcoólica de trinta e oito a quarenta e oito por cento 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 açúcar em até seis gramas por litro [6,10].

Segundo Maia [10], as frações do destilado deveriam ser delimitadas como:

Cabeça – é a primeira fração recolhida na saída do alambique, seu volume corresponde de 0,7%-1% do destilado, possui grau alcoólico acima de 65°GL.

Coração- é a segunda fração, com volume correspondendo de 80% a 90% do destilado; recolhida até que o teor alcoólico atinja de 1,0 a 1,5°GL acima do valor pretendido para o engarrafamento, para cada ano de armazenamento.

Cauda – é a terceira fração, corresponde de 8% a 10% da fração total do destilado, possui teor alcoólico três vezes menor do que a fração cabeça.

Conhecendo-se as dificuldades apresentadas anteriormente, bem como outros pontos críticos e desafios dos produtores artesanais, e visando solucionar os problemas da produção da bebida, no decorrer do ano 2002 o Prof. Helmuth Guido Siebald Luna, iniciou uma linha de pesquisa com o apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais- Fapemig através de vários projetos devidamente aprovados por esse órgão. Também contou com o valioso respaldo da Secretaria de Ciência e Tecnologia do Estado de Minas Gerais, a qual

formou a Rede Mineira para o Desenvolvimento da Tecnologia da Cachaça e da Secretaria de Agricultura e Agropecuária do Estado de Minas Gerais, através do programa Pró-Cachaça [51,52].

O aprofundamento das pesquisas resultou no desenho e construção de um protótipo voltado à produção, de modo tradicional de cachaça, no qual pode-se produzir a bebida em condições controladas, para o qual inicialmente foi construído um alambique de cobre modificado, constando de três dornas de fermentação em aço inox com controle da temperatura da fermentação e da destilação. As funções dessa planta piloto são reduzir espécies indesejáveis, aumentar a reprodutibilidade na execução do processo e melhorar a qualidade da bebida sem alterar a maneira tradicional da obtenção. O sistema descrito foi posteriormente automatizado e atualmente além do alambique e das dornas de fermentação é composto por um equipamento de refrigeração conectado a quatro tanques para armazenamento de água que promovem o arrefecimento dos processos e possui sensores de temperatura e vazão distribuídos nos elementos que compõem o sistema de destilação e fermentação. O controle do sistema é realizado através de circuitos eletrônicos desenhados e construídos especialmente para atender a planta. Além desses circuitos foi desenvolvido um software, programado como rede neural, isto é, com inteligência artificial utilizado no gerenciamento do processo [14,32,33].

Como forma de avaliar a aplicabilidade e adequação do sistema de produção de cachaça desenvolvido pelo grupo de trabalho, foi testado mediante a realização de dezenas de bateladas. Após as adequações necessárias três bateladas foram selecionadas para análise química cujos resultados serão discutidos nesse trabalho. O destilado recolhido de cada batelada foi coletado de forma fracionada o que pode contribuir também para conhecimento da região de corte entre as frações cabeça, coração e cauda.

As frações coletadas serão submetidas a análises por de Cromatografia Gasosa com detector de Espectrometria de Massas, já consagrada na análise alimentos e de Espectrometria de Massas com ionização por *paper spray*, PS-MS. Esta última é uma técnica mais recente que tem se mostrado promissora, rápida e de baixo custo na análise de matrizes complexas [4,5].

A crescente sensibilização dos consumidores, principalmente nos mercados desenvolvidos, para a autenticidade e segurança alimentar tem movimentado a busca por técnicas de análise novas que primem pela confiabilidade e rapidez dos resultados [5]. O Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) do Brasil, trabalhando em consonância ao mercado internacional, estabeleceu em 2005 por meio da Instrução Normativa

13 os limites para os contaminantes dos destilados obtidos a partir da cana de açúcar, tendo indicado um prazo de cinco anos a partir da publicação da portaria para a devida adequação [6].

A Espectrometria de Massas com ionização por *paper spray*, tem sido aplicada com sucesso na análise de matrizes complexas como alimentos e de material biológico [4,5,22,26]. O desenvolvimento de novas técnicas de análise para a cachaça obtida de modo tradicional e industrial tende a favorecer a produção da bebida e sua participação no mercado internacional.

Os resultados das análises químicas das frações da bebida, de fabricação própria, bem como de doze marcas de cachaças comerciais adquiridas no mercado local serão submetidos a tratamento por quimiometria para avaliação da formação de agrupamentos por métodos exploratórios. Esse tipo de tratamento é capaz de verificar pequenas alterações no perfil das amostras, que não podem ser visualizadas a priori, para fazer inferências e agrupar as amostras semelhantes [29].

1.1 Objetivo

1.1.1 Objetivo geral

Avaliar a bebida produzida por uma planta piloto automatizada, que trabalha com supervisão de um sistema embarcado utilizando software de redes neurais, para a fabricação de cachaça tradicional.

1.1.2 Objetivos específicos

Comparar as técnicas analíticas de *Paper Spray* e Cromatografia Gasosa no acompanhamento da produção e análise de compostos indesejáveis na bebida produzida pelo protótipo.

Avaliar a bebida de fabricação própria frente a doze marcas comerciais por tratamento de dados utilizando ferramentas de quimiometria, PCA e HCA, para formação de agrupamentos.

Avaliar os padrões de identidade e qualidade da cachaça produzida durante este trabalho

2. Referencial teórico

2.1 A cachaça

Cachaça é a denominação típica e exclusiva da aguardente de cana produzida no Brasil, com graduação alcoólica de trinta e oito a quarenta e oito por cento 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 açúcar em até seis gramas por litro, regulamentada pelo art. 53 da Lei nº 8918, sancionada pelo Decreto nº 6.871 de 04 de julho de 2009 [6].

2.1.1 Processo produtivo por batelada

A produção da cachaça é composta por uma série de etapas, a saber: colheita da cana de açúcar, transporte e moagem da cana, filtragem do caldo, diluição, fermentação, destilação, armazenagem, envase e rotulagem. As etapas apresentadas compõem o fluxograma do processo produtivo mostrado na *Figura 1*.

O conhecimento de cada etapa e suas limitações contribui na determinação de ações para a melhoria do processo. As etapas são apresentadas em paralelo com suas principais limitações, a seguir.

✓ **Escolha da variedade de cana de açúcar:** cultivar adequado as condições do solo e climáticas e definição da maturação certa para o corte [10,55].

✓ **Colheita da Cana:** deve ser feita no menor tempo possível antes do seu processamento, para evitar o desenvolvimento de microrganismos indesejados, sendo usualmente considerado como período máximo de beneficiamento 24 horas antes do processamento. É também importante a limpeza do caule para impedir a inserção de contaminantes no processo [10,55].

✓ **Transporte:** tempo limitado e limpeza do veículo [10,43].

✓ **Moagem:** limpeza dos equipamentos na tentativa de garantir a sanidade da fermentação e eficiência na retirada de caldo dos colmos [10,42].

✓ **Filtragem do caldo:** escolha da técnica decantação, filtragem e/ou centrifugação ou melhor associação entre elas para que a maior quantidade de bagacilho proveniente da moagem seja eliminada [10].

✓**Diluição para acerto do Brix (teor de açúcar):** utilização de água de boa qualidade físico-química e microbiológica. Definição da concentração de açúcar compatível com a levedura utilizada. Diluição deve ser realizada antes da mistura do caldo ao fermento [10,42, 55].

✓**Fermentação:** deve ser feita em dorna de material adequado, preferencialmente aço inox. A quantidade de fermento deve ser suficiente quando comparada a quantidade de caldo que se pretende fermentar e o tempo de crescimento prévio do fermento deve ser observado. A temperatura durante a fermentação deve ser mantida dentro de uma faixa que propicie a atividade metabólica das leveduras [10,42].

✓**Destilação:** temperaturas do processo devem ser acompanhadas, o material do alambique pode causar contaminação por metais. Definição de destinação para o vinhoto [10,38,43].

✓**Envase:** Limpeza e higienização do maquinário. Importante optar pelo emprego de filtros [43].

✓**Rotulagem:** apresentação adequada das informações [43].

✓**Armazenamento:** em toneis de aço inox, em condições sanitárias adequadas [10,43].

✓**Envelhecimento:** capacidade de armazenamento só iniciar armazenamento em tonel de madeira quando o volume for totalmente completado [10].

Durante o processo de produção da bebida em estudo podem ser reconhecidas duas etapas como as mais elaboradas: a fermentação e a destilação. Esses estágios são também determinantes na identidade do produto final, e foram explorados nas intervenções propostas nesse trabalho.

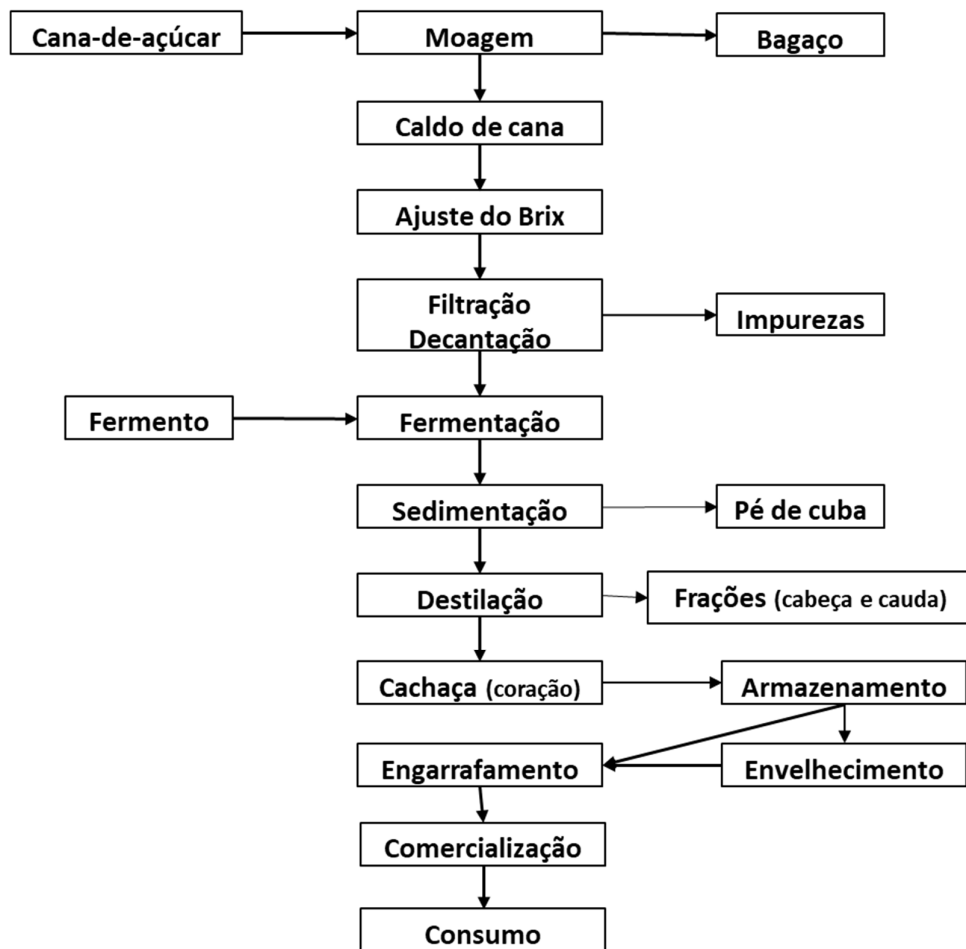


Figura 1. Fluxograma etapas do processo de produção

2.1.2 Composição química da cachaça

Uma composição química não pode ser fixada para a bebida considerando que a sua constituição varia de acordo com a região, podendo variar entre safras e com o processo empregado na elaboração da bebida em especial as características do estágio de destilação [44].

Assim como qualquer outra bebida destilada, esta pode ser dividida, para fins de estudo, em duas porções: a parte inorgânica e a parte orgânica. Siebald e colaboradores em 2009 relataram a presença de algumas substâncias características de cada uma dessas porções; fração inorgânica, aquela constituída principalmente por íons metálicos, tais como: alumínio, arsênio, cádmio, cálcio, chumbo, cobalto, cobre, cromo, estanho, ferro, lítio, magnésio, manganês, mercúrio, níquel, potássio, sódio, zinco; e por fração orgânica, aquela que contém: álcoois, como etanol (o álcool de beber); metanol, álcoois superiores, como álcool isoamílico; isobutanol; aldeídos, como formaldeído, acetaldeído; furfural; ácidos carboxílicos, como ácido

acético (responsável pelo sabor e o cheiro do vinagre); ésteres, como acetato de etila (cheiro de frutas), caprilato de etila (cheiro de abacaxi); carbamato de etila; cetonas, como acetona; compostos sulfurados (aqueles que contêm enxofre), como dimetilsulfeto. Essas são apenas algumas das muitas espécies químicas encontradas na cachaça [9,13].

Alguns compostos contaminantes de ocorrência habitual podem prejudicar tanto a qualidade da bebida quanto a saúde dos consumidores, dependendo da frequência e da quantidade que é ingerida. Neste contexto, o monitoramento de tais compostos torna-se uma questão de segurança alimentar e um parâmetro para atestar a qualidade do produto. Estão enumeradas na Tabela 1 abaixo, algumas substâncias orgânicas presentes na cachaça e seus efeitos e toxicidade, segundo o The Merck Index [45].

Tabela 1. Toxicidade e efeitos de algumas espécies encontradas em cachaças

Espécie	DL ₅₀ (g.kg ⁻¹)	TE (°C)	Algumas Propriedades
Formaldeído	0,26	- 19,5	Carcinogênica, Irritante
Acetaldeído	1,930	21	Narcótica, odorífera, fornece sabor
n-butiraldeído	5,89	74,8	Narcótica, irritante
Benzaldeído	1,000	179	Narcótica, dermatite, odorífera (cheiro de amêndoas), fornece sabor.
Valeraldeído	4,6	102	Irritante moderado, fornece sabor
Furfural	0,127	161,8	Dor de cabeça, irritante, odor desagradável
Acetona	6,6	56,5	Dor de cabeça, fadiga, etc.
Acetato de etila	10,1	77	Cheiro de frutas
Caprilato de etila	0,02596	207	Cheiro de abacaxi
Carbamato de etila	-	185	Carcinogênico. Sabor salino
Dimetilsulfoxido	-	36,2	Odor desagradável
Metanol	1,2	64,7	Dor de cabeça, cegueira
Propanol	1,87	97,2	Ação depressiva, irritante para os olhos, mucosas
Isobutanol	2,46	108	Irritante, fraca como espécie odorífera.
Alcool isoamílico	5,75	128,5	Cheiro desagradável, sabor repulsivo. Dor de cabeça, náuseas.
Ácido acético	3,53	118	Cheiro forte, desagradável. Causa corrosão dos tecidos orgânicos
Ácido caprílico	10,080	239,7	Cheiro ligeiramente desagradável, sabor rançoso
Ácido cáprico	0,129	270	Cheiro rançoso
Ácido láurico	0,131	225	Cheiro leve

DL₅₀ = Dose letal para o 50 % da matéria viva. Via oral em ratos.

Fonte: Adaptado De Moura ⁴¹

Além de sua definição por lei, respeitando suas peculiaridades, a Cachaça tem regulamentado o conteúdo de compostos secundários e contaminantes orgânicos e inorgânicos que podem estar presentes na bebida, esse conjunto é também conhecido como Padrões de Identidade e Qualidade (PIQs) da bebida. Esses parâmetros foram definidos pela Instrução Normativa 13, de 30 de junho de 2005, do MAPA e são mostrados na Tabela 2. As diretrizes estabelecidas nessa norma são utilizadas como referencial para as análises desse trabalho.

Tabela 2. Padrões de identidade e qualidade da cachaça

Composto	Limite máximo
Acidez volátil, expressa em ácido acético	150*
Ésteres totais, expressos em acetato de etila	200*
Aldeídos totais, expressos em acetaldeído	30*
Somas dos alcoóis superiores: isoamílico, isobutílico e 1-propanol	360*
Soma de furfural e hidroximetilfurfural	5*
Metanol	20*
Carbamato de etila	150**
Acroleína	5*
Álcool séc-butílico (2-butanol)	10*
Álcool n-butílico (1-butanol)	3*
Cobre	5000**
Chumbo	200**
Arsênio	100**

* mg.100 mL⁻¹ de álcool anidro

**µg.L⁻¹ de destilado

Fonte: MAPA⁰⁶

2.1.3 Fracionamento do destilado

O vinho, obtido da fermentação do caldo da cana, contendo em torno de 8,5°GL de etanol quando destilado origina um novo líquido com teor alcoólico aproximadamente cinco vezes a seis vezes mais alto: a cachaça. Na produção o fracionamento do produto da destilação é uma prática comum que objetiva garantir as características do produto encaminhado ao consumo. Durante o processo de destilação, o destilado é classificado e separado em três frações que são chamadas de cabeça, coração e cauda [10,14].

A composição química de cada fração do destilado é distinta e determinada pela relação de predominância entre os fatores: ponto de ebulição, solubilidade da substância em álcool ou água, e variação do teor de álcool no vapor durante a destilação. Durante o aquecimento os compostos migram da fase líquida para a fase de vapor regidos basicamente pela sua solubilidade, são considerados quatro comportamentos possíveis: o componente que destila quando o vapor é rico em álcool; o componente que destila quando o vapor estiver pobre em álcool; o componente que é solúvel em álcool e água e destilará durante toda a destilação; e por último o componente não solúvel em água, mas o qual o vapor d'água carregará para a fase de vapor (hidrodestilação) [11].

O problema associado à prática do fracionamento está relacionado a variação pelos produtores no estabelecimento de como marcar o ponto de corte entre as frações, de forma a assegurar a qualidade da bebida e o rendimento, no coração que é a fração passível de ser comercializada [10,14].

Segundo Maia [10], o procedimento típico consiste em recolher o destilado em três frações:

Cabeça – é a primeira fração recolhida na saída do alambique, seu volume corresponde de 0,7%-1% do destilado. Essa fração contém produtos como metanol, acetaldeído, acetato de etila e possui grau alcoólico acima de 65°GL, devendo, portanto, ser desprezada para fins de consumo como bebida.

Coração- é a segunda fração, com volume correspondendo de 80% a 90% do destilado; é a cachaça propriamente dita, que é recolhida até que o teor alcoólico atinja de 1,0 a 1,5°GL acima do valor pretendido para o engarrafamento, para cada ano de armazenamento.

Cauda – é a terceira fração; e é também chamada de “água fraca” corresponde de 8% a 10% da fração total do destilado, possui teor alcoólico três vezes menor que a fração cabeça e assim como ela deve ser desprezada.

Contudo para Léauté [11], que estudou a produção de conhaque e uísque, as frações podem ser reconhecidas a partir da presença dos compostos secundários voláteis. Esse autor relata quatro grupos de componentes que se alternam na predominância do produto da destilação e caracterizam as frações já citadas. Os grupos são classificados como:

Primeiro Grupo: componentes que destilam primeiro, têm baixa temperatura de ebulição (TE) e são muito solúveis em álcool e em água. Suas concentrações são elevadas nas primeiras frações de destilado, na cabeça e no início do coração. Exemplo: acetaldeído (TE = 21°C), metanol (TE = 65°C) e acetato de etila (TE = 77°C).

Segundo Grupo: componentes com temperatura de ebulição relativamente alto e completa ou parcialmente solúvel em álcool. Enriquecem o início do destilado, e muitos deles terminam até a metade do coração. Exemplo: ácidos graxos, octanoato de etila (TE = 208°C), acetato de isoamila (TE = 137,5°C)

Terceiro Grupo: componentes que têm temperatura de ebulição intermediário são muito solúveis em álcool e completamente ou parcialmente solúveis em água. Exemplo: álcoois superiores, como o propanol (TE= 97.1°C), isobutanol (TE= 108°C) e isoamílico (TE= 132°C).

Quarto Grupo: componentes que têm temperatura de ebulição superior ao da água sendo muito ou apenas ligeiramente solúveis em água. Exemplo: ácido acético (TE = 118°C) e furfuraldeído (TE = 162°C).

Os princípios apresentados por Maia e Leauté podem ser tomados como entendimentos complementares do mesmo fenômeno. Eles servem como definição dos pontos de corte, e por consequência a delimitação das frações, e devem ser aliados ao conhecimento das particularidades de cada produção por seu mestre alambiqueiro.

O corte é um fator bastante importante que define a qualidade do produto final, se por um lado ele diminui o volume da fração comercial, por outro proporciona a adequação ao padrão de qualidade da bebida, e assim ocasiona aumento e refino do mercado consumidor [14].

2.2 Técnicas analíticas utilizadas

Espectrometria de Massas

A Espectrometria de massas é uma poderosa técnica analítica que pode ser empregada na identificação e quantificação de compostos. Ela que tem como princípio básico a separação de íons de acordo com sua razão massa/carga (m/z) e a determinação da abundância relativa desses íons na amostra. E conta sempre com os seguintes elementos mostrados na

Figura 2: entrada da amostra, fonte de ionização, analisador de massa, detector e sistema de dados. Cada elemento apresentado atua em uma etapa da análise sendo a fonte de ionização a geradora de íons, o analisador de massas responsável pela separação dos íons, o detector pela detecção dos íons emergentes e o sistema de dados pela aquisição e processamento das informações assim obtidas [12].



Figura 2. Elementos de um espectrômetro de massas

A fonte de ionização, como geradora de íons, tem um papel determinante no processo de análise uma vez que a ela é responsável por formar íons que devem necessariamente estar em fase gasosa partindo de uma amostra de interesse. Serão descritas aqui apenas duas formas de ionização, às quais estão relacionadas ao objeto deste trabalho, sendo a primeira a que atua por impacto de elétrons, sob vácuo, e a segunda a com atuação por ionização química à pressão atmosférica. A ionização por impacto de elétrons (EI) é fruto da colisão de elétrons provenientes de um feixe, com energia fixada em 70 eV, com uma molécula neutra na fase gasosa que ejeta ou captura elétrons a partir do impacto. Como acontece necessariamente em fase gasosa seu uso está limitado a compostos suficientemente voláteis e termicamente estáveis. Na ionização química à pressão atmosférica a solução é introduzida, por nebulização, como gotículas na fonte onde os íons são produzidos e focados no espectrômetro de massa através de alguns estágios de bombeamento a vácuo. As amostras então não precisam ser transferidas à fase gasosa para serem ionizadas e há viabilização da análise de compostos termicamente lábeis. As fontes de ionização química por pressão atmosférica (APCI), por *eletro spray* (ESI) e fotoionização à pressão atmosférica (APPI) correspondem a este tipo [12].

Além das variações relacionadas à fonte de íons, o desenvolvimento de modificações dos demais elementos básicos de operação apresentados, ampliou as possibilidades de aplicação da técnica. As modificações em analisadores e detectores estão mais relacionadas ao aprimoramento dos instrumentos, e com isso, ao ganho em sensibilidade, alcance de massa, precisão e melhorias na resolução [12].

O analisador promove a separação e determinação das massas pela ação de campos elétricos e/ou magnéticos, ele pode estar disposto em diferentes configurações. Há muitos tipos de analisadores disponíveis, eles serão apresentados a seguir com seus respectivos princípios de atuação: Setor elétrico (energia cinética), Setor magnético (momento), Quadrupolo (estabilidade de trajetória), Ion Trap (frequência de ressonância), Tempo de voo (velocidade) e Orbitrap (frequência de ressonância). Cada analisador vai ser mais adequado a compor um tipo de espectrômetro a depender da sua compatibilidade com os demais itens do sistema, apresentados na

Figura 2, as principais características para medir o desempenho de um analisador de massa são o limite da faixa de massa, a velocidade de análise, a transmissão, a precisão da massa e a resolução[12].

O detector percebe e amplifica o sinal da corrente de íons que chega do analisador, em seguida repassa as informações para o sistema de dados. É importante ressaltar que ele deve possuir características adequadas de modo a garantir que a resposta em sinal elétrico seja proporcional a abundância de íons formado pelo composto. Ele está limitado a atuação do analisador porque esse pode depender de resposta muito rápida e alta sensibilidade na detecção para o sucesso da análise. Os três principais tipos de detector são: fotomultiplicador, multiplicador de elétrons e placa de microcanal [12].

O sistema de dados é utilizado para registro e processamento das informações. A partir dele o analista pode definir comparações e chegar a respostas qualitativas e quantitativas sobre uma análise. Ele entrega dados passíveis de tratamento estatísticos que ressignificam e ampliam a aplicação da técnica [12].

2.2.1 Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de massas

A cromatografia gasosa, do inglês *gas chromatography* GC, é adequada a separação de gases ou substâncias voláteis. Como acontece em fase gasosa seu uso está limitado a compostos suficientemente voláteis e termicamente estáveis. A separação se baseia na diferente distribuição, ou partição, das substâncias da amostra entre a fase estacionária (sólida ou líquida) e a fase móvel (gasosa). Essa separação é resultado de uma grande sequência desses estágios de partição, que são definidos como pratos teóricos assim como no processo de destilação [15,17].

Após introduzida a amostra no sistema ela é submetida a aquecimento, proporcionado pelo sistema de injeção, sendo vaporizada quando necessário. O aquecimento, a temperaturas convenientes, concomitante ao movimento do gás de arraste faz com que os compostos alcancem o início da coluna, que contém a fase estacionária e se movimentem através dela [15].

A interação dos compostos com a fase estacionária de forma diferenciada atua como força motriz da separação ela ocasiona a retenção das substâncias por meio da afinidade com essa fase. Portanto, a escolha dos parâmetros da coluna, o que inclui a fase estacionária, é determinante no sucesso de aplicação da técnica. Na busca por melhoria da eficiência das colunas com material empacotado foram desenvolvidas as colunas capilares que possuem um filme finíssimo de 0,1 a 5 microns de fase estacionária depositada na parede de um tubo capilar. Os tubos capilares podem ser de aço inox, vidro, níquel ou sílica fundida, e seu diâmetro interno varia de 0,1 a 0,4 mm. O comprimento desse tipo de coluna é fixado entre 10 e 100 m o que permite a presença de um número muito grande de estágios de separação. Isso último permite que a eficiência da separação em colunas capilares seja várias ordens superior à das colunas empacotadas [15,17].

O material de recheio da coluna define as possibilidades de associação entre o composto e as fases, sendo também determinante do sucesso da aplicação da técnica. As fases estacionárias precisam ter alta estabilidade térmica, baixa pressão de vapor e polaridade conveniente para serem utilizadas em cromatografia gasosa. Elas geralmente são classificadas por polaridade, o que facilita a avaliação da interação do analito com a fase estacionária, tendo em vista que em cromatografia gasosa a fase móvel é um gás inerte [15,17].

Como a fase móvel é inerte e atua apenas no arraste dos analitos, a separação entre os compostos é proporcionada pela fase estacionária através da interação diferenciada dessa com cada composto presente na mistura. Neste estudo, foi utilizada uma coluna constituída de fase estacionária polar, líquida que foi imobilizada na parede interna de um capilar. As forças de

interação molecular nesse tipo de separação estão baseadas nas forças de Van der Waals e em interações coulômbicas [15].

Durante o percurso através da coluna as substâncias vão sendo separadas e chegam à saída desta em tempos diferentes, com isso podem ser identificadas por um detector. Entre as técnicas mais comuns de detecção estão as eletro-analíticas, como a condutimetria, ou espectroscópicas, como espectrofotometria no Ultravioleta-visível (UV-Vis) e espectrometria de massas (*MS*), sendo a última a utilizada neste caso [15].

A cromatografia pode ser descrita como a melhor técnica de separação de misturas, entretanto a identificação dos compostos resultantes do processo só pode ser realizada através de sua comparação com substâncias conhecidas submetidas às mesmas condições, sem isso a exploração da composição de matrizes reais, complexas, seria inviável. Como alternativa, visando contemplar a identificação e quantificação em cromatografia esta passou a ser associada a outras técnicas capazes de estimar propriedades do produto de separação [15].

Misturas complexas são rotineiramente separadas utilizando cromatografia associada à análise pela espectrometria de massas a fim de minimizar os efeitos de supressão na ionização do analito e pré-concentrar os analitos. A versatilidade ocasionada pela variação das fontes de ionização proporciona o acoplamento direto da espectrometria de massas como detector da maioria das técnicas cromatográficas. Elas oferecem a eficiência na separação e boa seletividade como características ideais a serem associadas à obtenção de informação estrutural, massa molar e novo incremento de seletividade, os quais são os atributos da espectrometria de massas [12,16].

Algumas características de funcionamento do cromatógrafo a gás, como a baixa quantidade de amostra, o fluxo de amostra vaporizada que sai da coluna e a utilização de bombas de alto vácuo para a câmara de ionização a tornam compatíveis com a necessidade de alto vácuo do espectrômetro de massas [15].

O analisador de massas quadrupolo é muito empregado na hifenização do sistema GC-MS, é provavelmente o mais empregado, e apesar de ter baixa resolução (unitária) ele apresenta baixo custo, é simples, robusto, pequeno, promove varreduras rápidas, e têm mostrado grande vantagem em seu acoplamento sequencial com duplos ou triplos analisadores desse tipo. Ele consiste em quatro hastes cilíndricas que são alinhadas de maneira perfeitamente paralelas e são carregadas com sinal oposto, a carga das barras oscila no tempo. Ele pode atuar em modo de varredura completa (*full scan*) fazendo uma varredura para uma ampla faixa de massas, ou monitoramento seletivo de íons (SIM) na qual busca por íons com massas previamente

definidas. A atuação no modo SIM propicia que o equipamento faça um maior número de buscas para uma mesma massa, em um tempo determinado, quando comparado ao modo *full scan* e isso ocasiona ganho na sensibilidade da análise [12]. A *Figura 3* mostra a atuação dos dois modos de varredura de íons.

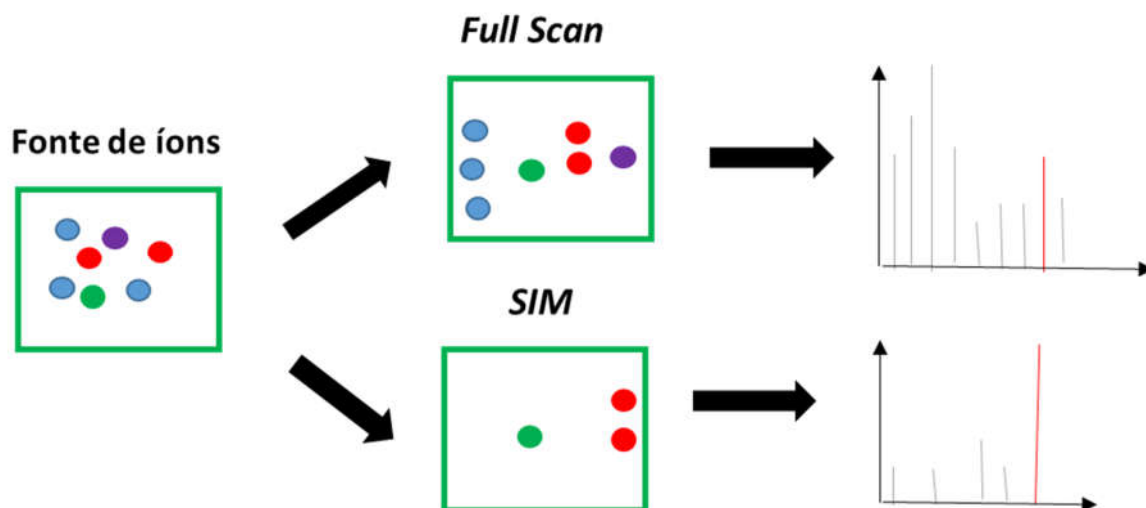


Figura 3. Esquema do modo de varredura de íons

Os equipamentos utilizados na identificação, os detectores, comparam as propriedades de pequenas frações do produto de separação com substâncias com comportamento cromatográfico de referência, analisadas sob as mesmas condições, ou com bibliotecas [15]. A possibilidade de comparação dos dados de massa relativo aos fragmentos de um composto com os dados da biblioteca do software, que inclui a informação sobre o grau de similaridade entre seu analito e o dado disponível, agrega confiabilidade ao analista e flexibilidade para trabalhos de pesquisa [12].

Para a quantificação dos compostos através dos dados do cromatograma, é necessária a comparação com material de referência, deve-se ainda integrar os sinais de detecção com a finalidade de transformar a intensidade do sinal em uma medida passível de ser relacionada à concentração da substância. A relação descrita pode ser estabelecida por meio de vários métodos como: normalização, fator de resposta, calibração externa, adição de padrão e padronização interna [15].

Segundo Collins [15], o método de padronização interna é o melhor deles por ser menos sensível a erros de injeção e variações instrumentais, entretanto é também o mais trabalhoso. Neste método uma quantidade conhecida do padrão interno é adicionada a soluções padrão de

concentração conhecida de uma substância que se deseja quantificar e após a análise é construído um gráfico relacionando a razão entre a integração dos sinais para a amostra com os dados do padrão interno. A amostra também é analisada com a adição da mesma concentração de padrão interno e a partir da razão da área obtida para a amostra pelos dados da curva analítica é obtida a concentração da substância na amostra. A substância usada como padrão interno idealmente deve ser similar a substância que se deseja quantificar, não deve fazer parte da amostra, apresentar tempo de retenção e concentração próximos dos obtidos para o analito, entretanto ao final do processo deve ficar separada das demais substâncias da amostra [15].

Neste trabalho foi utilizado o 4-metilpentan-2-ol como padrão interno, ele foi eleito pelo desenvolvedor do método de análise [14]. Esse álcool satisfaz as características apresentadas anteriormente, não é comum em amostras de cachaça e tem utilização bastante difundida em trabalhos que utilizam a quantificação de compostos voláteis em bebidas alcoólicas [14,18,19, 20].

2.2.2 Espectrometria de massas com ionização por *paper spray*

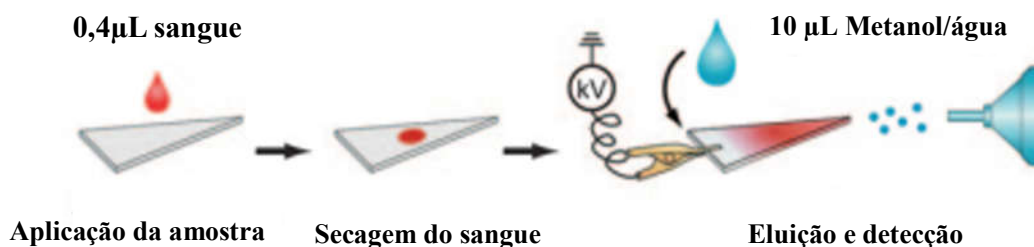
Essa técnica foi descrita pela primeira vez pelo grupo do professor Cooks no ano de 2010. De acordo com a publicação em que foi relatada ela possui características tanto do ESI quanto dos métodos de ionização a pressão ambiente e é útil para análises rápidas, qualitativas e quantitativas de misturas complexas [4].

Ela tem sido vista como muito promissora por possuir características desejáveis para aplicações clínicas, incluindo triagem neonatal, monitoramento terapêutico de drogas e, excelente potencial ao desenvolvimento da medicina personalizada. No trabalho de apresentação do PS-MS já foi indicada uma grande variedade de moléculas que podem ser analisadas por meio desse método, e, algumas das examinadas incluem epinefrina, serina, atrazina, metadona, roxitromicina, cocaína, violeta de metila, atenolol, fosfatidilcolina, angiotensina I e citocromo C [4]. Também pode desempenhar um papel importante no monitoramento do processo de reações químicas [22].

Como já descrito anteriormente a espectrometria de massas possui uma sequência de elementos básicos. O *paper spray* é uma nova alternativa de fonte de ionização que atua a pressão ambiente. Ele pode ser montado aproveitando os elementos subsequentes de um ESI-MS com simples adaptação da fonte [22,23].

Podemos descrever seu funcionamento partindo de um pedaço de papel triangular usado como base para aplicação da amostra. Esse papel é preso por uma garra do tipo jacaré, de metal que está conectada a uma fonte de alimentação de alta tensão, e perfeitamente posicionado a frente de um orifício de entrada do espectrômetro de massas. O substrato de papel é umedecido por um solvente e assim que a alta voltagem é aplicada, começa o transporte do analito, sendo seu movimento garantido pela porosidade do papel, por meio de capilaridade, o que dispensa assistência pneumática. Micro gotas são emitidas a partir da ponta do triângulo de papel, e ao serem conduzidas para análise originam espectros de MS típicos de ionização por eletropulverização [4,21,23].

Segundo Klampfl e Himmelsbach [21] são três as etapas básicas: a extração de analito do ponto de aplicação da amostra pelo solvente de pulverização, seguida da dissolução dos compostos e transporte para a ponta do papel pelo solvente que permeia o substrato e por fim, ao ser aplicada a tensão, um processo semelhante ao ESI gera gotas carregadas e promove a ionização [21]. A *Figura 4*, mostra o esquema de um sistema de ionização por *paper spray* até a entrada do MS [4].



Fonte: adaptado Liu *et al*⁴

Figura 4. Esquema de um sistema de ionização por *Paper Spray*

A performance da técnica em sua aplicação está fundamentalmente relacionada à eficiência de transferência dos compostos de interesse da superfície do substrato de papel para o espectrômetro de massas, bem como pela eficiência de pulverização do solvente aplicado. Em outras palavras, o solvente selecionado deve dissolver os compostos alvo na extensão máxima, seguido por arrastá-los até a ponta do papel triangular. Assim na ponta do papel ocorrerá um evento de eletropulverização estável [22]. Outros fatores também importantes que influenciam na performance do PS-MS são: tipo de papel e formato de sua ponta, tipo de solvente ou mistura de eluição, quantidade de amostra carregada, a distância entre a ponta do papel e o capilar de

entrada de MS e na análise quantitativa o modo de incorporação do padrão interno marcado isotopicamente. Os pontos mais relevantes serão tratados a seguir [4,21,22].

O papel é principalmente composto por celulose e semi-celulose, polímeros de glicose, com grande número de grupos hidroxila na sua superfície. É muito importante observar a uniformidade de sua composição e de sua superfície. Ao usar papel como substrato para separação, diferentes compostos podem ser resolvidos de acordo com sua polaridade, ele apresenta ainda para algumas amostras não voláteis, como sangue, a possibilidade de esta ser analisada diretamente no meio de armazenamento. Para amostras de sangue foi notada ainda uma função secundária do papel que atua como filtro, retendo as células sanguíneas; ele também pode ser usado para separação cromatográfica prévia para diversas amostras [22,15,4].

Há registro de testes de performance para vários substratos, sendo baseados em celulose ou não, papéis de filtro com diferentes tamanhos de poros (classes), papel de filtro de microfibras de vidro, papel de cromatografia com modificação em relação às suas propriedades físicas e químicas mais favoráveis, papel revestido de sílica, papel silanizado, papel de impressão e papel de nanotubo de carbono (CNT) [24,22].

O formato do papel também foi investigado, ele é sempre cortado com uma ponta por onde ocorre a pulverização, então a forma mais comum é a triangular. Assim a variação avaliada é quanto ao ângulo do vértice que está direcionado a entrada do espectrômetro de massas, ponta com ângulos entre 30° e 45° são as mais tipicamente utilizadas. Na investigação da relação entre a intensidade do analito alvo, ângulo de ponta e voltagem aplicada, os resultados mostraram que a voltagem de pulverização ótima e a intensidade do analito aumentaram gradualmente com o aumento da ponta do papel. Corroborando a isso a informação de que as pontas mais agudas geram uma pluma de pulverização mais forte a uma voltagem relativamente baixa, então estariam mais adequadas à aplicação em baixa intensidade do analito [21,22].

A escolha do solvente de pulverização deve atentar aos objetivos de extrair o analito e a ionizá-lo de maneira eficiente durante a pulverização. A polaridade e volatilidade deste tem forte efeito no desempenho da técnica, sendo as misturas a base de metanol as mais comuns. Com a finalidade de aumentar a sensibilidade da análise, alguns solventes apolares fracos podem ser adicionados aos solventes para melhorar a eficiência da dessolvatação durante a aplicação de alta voltagem ao spray [21,22].

A quantificação de analito por *paper spray* já foi realizada para diversos compostos como corantes alimentares, nicotina e drogas de abuso [21,26,27]. A determinação dos teores desses analitos foi baseada na utilização de padrão interno, análogos estruturais, marcado

isotopicamente ou não [25,26]. O PS-MS vem experimentando uma rápida evolução que pode ser relacionada ao curto tempo necessário à sua execução, baixo custo e versatilidade. Além da possibilidade de quantificação do analito merecem destaque a viabilidade de ser usada para a análise de superfícies, limpando a superfície de interesse com um triângulo de papel, e o tratamento dos resultados qualitativos obtidos pode ser feito por ferramentas estatísticas como a quimiometria [4,23,28].

2.3 Quimiometria

A quimiometria é uma ferramenta que se apoia em conhecimentos da matemática e da estatística para converter conjuntos de dados químicos em informação útil, bem como no planejamento e otimização de condições experimentais. Ela vem sendo amplamente difundida, pois atribui significado à enorme quantidade de dados oferecida pela instrumentação moderna [29,30].

A resposta das análises raramente retorna as informações químicas procuradas de forma direta. Para chegar a resultados significativos a utilização de ferramentas como a quimiometria se mostra indispensável. Nesse tipo de processamento da informação ela deve ser preparada, organizada em tabelas nas quais se ordenam através de linhas e colunas os dados coletados, ou seja, construindo matrizes. As variáveis que compõem a tabela podem ser qualitativas ou quantitativas, remetendo a informações numéricas diretas ou assumindo valores discretos para representar informações qualitativas [29]. Os dados em questão podem ser univariados ou multivariados, no primeiro caso a análise dos resultados é realizada pela observação do comportamento de uma variável de cada vez, enquanto no segundo a análise ocorre para mais de uma variável simultaneamente, sendo possível identificar a correlação entre elas [30].

Essa diferenciação nas informações é necessária na busca por um algoritmo matemático que produza resposta as propriedades de interesse a partir dos resultados registrados pelo instrumento, processo conhecido como calibração [31].

Há normalmente a necessidade de realizar um pré-tratamento dos dados para reduzir variações indesejáveis que podem afetar os resultados finais, tais como o ruído, por exemplo [29]. Pode-se também refinar o tratamento dos dados a partir do conceito de métodos supervisionados, para os quais as amostras analisadas são previamente relacionadas a uma classe e, essa informação é usada na classificação das amostras. A opção de métodos não

supervisionados é também uma alternativa e nela o agrupamento das amostras é exclusivamente baseada nas informações experimentais de entrada [29].

Serão apresentados neste trabalho dois métodos matemáticos utilizados no tratamento dos dados experimentais obtidos. São eles a análise de componentes principais, do inglês *Principal Component Analysis* (PCA), e análise de agrupamento por métodos hierárquicos, do inglês *Hierarchical Cluster Analysis* (HCA).

A PCA é definida por Ferreira (et al, 2015) como um método não supervisionado para projetar os dados multivariados em um espaço de dimensão menor, reduzindo assim, a dimensionalidade do espaço original do conjunto dos dados, sem que as relações entre as amostras sejam afetadas. Ela destaca que esse método ressalta as diferenças e afinidades entre variáveis, e permite constatar amostras com comportamento atípico [29].

A redução da dimensão do espaço original de dados é fundamentada na premissa de que havendo correlações significativas entre as variáveis do conjunto de dados, é então possível encontrar um número menor de novas variáveis ainda capazes de ser representativas da informação original. Por combinações lineares é realizado o agrupamento das informações semelhantes e o novo grupo de dados, com propriedades singulares, recebe o nome de componentes principais, do inglês *Principal Component*, PC. Nesse processo de redução da dimensão de dados, ao se chegar no número ideal de componentes principais que descreve adequadamente o sistema temos o “posto químico”, “pseudoposto” ou “dimensão intrínseca” [29].

A HCA é definida por Ferreira (et al, 2015) como um método “não supervisionado” de reconhecimento de padrões, adequado para descobrir “padrões naturais” de comportamento entre as amostras com base em seu perfil multivariado [29].

As descrições de atuação de PCA e HCA apresentadas indicam a aplicabilidade destas a trabalhos como o presente, que pretendem testar o desempenho de uma nova metodologia de produção ou de um novo equipamento na composição de um produto. Elas podem indicar quais as informações químicas mais relevantes na descrição de uma bebida, bem como, agrupar um conjunto de bebidas por meio da avaliação do padrão de comportamento. Essas ferramentas serão testadas na descrição e avaliação da cachaça de fabricação própria, que tem por diferencial o fato de sua produção ter sido conduzida em alambique de cobre com supervisão de um sistema embarcado utilizando software de redes neurais. As informações químicas de montagem dos modelos foram supridas por dados de análise de cromatografia gasosa acoplada a detector de espectrometria de massas e por espectrometria de massas com ionização por *paper spray*.

3. Criação e aprimoramento do alambique

3.1 Construção do Alambique e seu processo de automação

Após o aprofundamento das pesquisas pelo grupo, com avaliação das frações orgânica e inorgânica da bebida, os dados experimentais assim gerados foram tratados e serviram de base para o desenho e a construção de um protótipo, voltado a produção artesanal de cachaça. O sistema modelo foi inicialmente constituído de um alambique de cobre, três dornas de fermentação em aço inox (biorreatores encamisados) e contava com controle de temperatura para a fermentação. Ele foi construído para permitir eliminar e controlar espécies indesejáveis com facilidade sem alterar a maneira tradicional de obtenção da bebida [14].

Os biorreatores foram manufaturados em formato cilíndrico e fundo cônico com um volume total de 50 L, sendo 5 a 15 L o volume do pé de cuba e 40 L de volume útil (pé de cuba + vinho). As dornas possuem tampa hermeticamente fechada com lacre d'água para favorecer o metabolismo anaeróbico das leveduras no processo de fermentação alcoólico e contam com uma tubulação para saída de gases através de um *trap* contendo água, o que evita a entrada de oxigênio (Figura 5). Os biorreatores apresentam também uma tubulação partindo do centro da dorna, para que possam ser retiradas amostras do mosto e do vinho sem a necessidade de abri-los, contêm ainda uma tubulação partindo do fundo da dorna, para que o vinho possa ser transferido para o alambique, ao final do processo de fermentação.



Fonte: De Moura ⁴¹

Figura 5. A - Biorreator; B - cilindro para banho d'água com controle automático de temperatura; C – tampa com lacre d'água; D – escape de gás; E – refrigerador e F – central de automatização do sistema de controle de temperatura

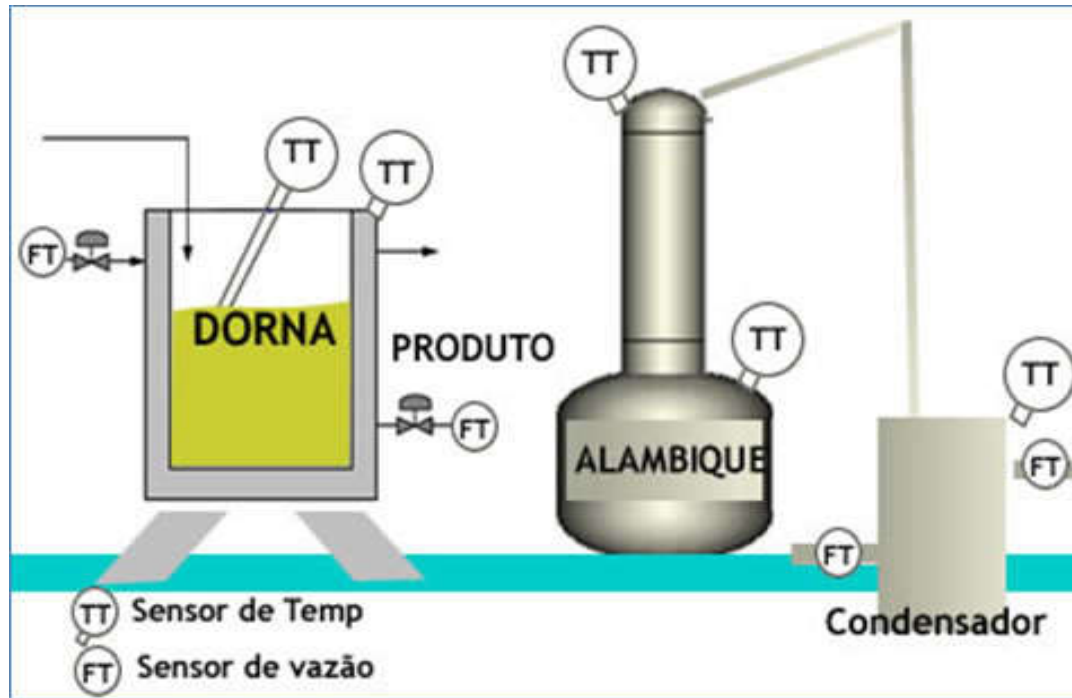
O conjunto de destilação mostrado na *Figura 6* é constituído de panela e coluna fabricadas em cobre batido e não simplesmente prensado no formato do alambique. Isto permite que haja um aumento da superfície de contato do metal com o vinho otimizando as reações durante o processo de destilação [14]. A coluna foi projetada com o formato de gota para facilitar o fluxo do vapor e promover uma melhor separação de voláteis. O reator possui também uma saída para descarregar o vinhoto. O aquecimento da panela é promovido de forma indireta, utilizando um banho aquecido.



Fonte: De Moura e Canuto ^{41,14}

Figura 6. Sistema de destilação

O sistema descrito anteriormente foi automatizado e atualmente além do alambique e das dornas de fermentação é composto por um equipamento de refrigeração conectado a quatro tanques para armazenamento de água que promovem o arrefecimento dos processos. Sensores de temperatura e vazão estão distribuídos nos elementos que compõem o sistema de destilação e fermentação. A *Figura 7* mostra a distribuição dos sensores de temperatura e vazão na planta.

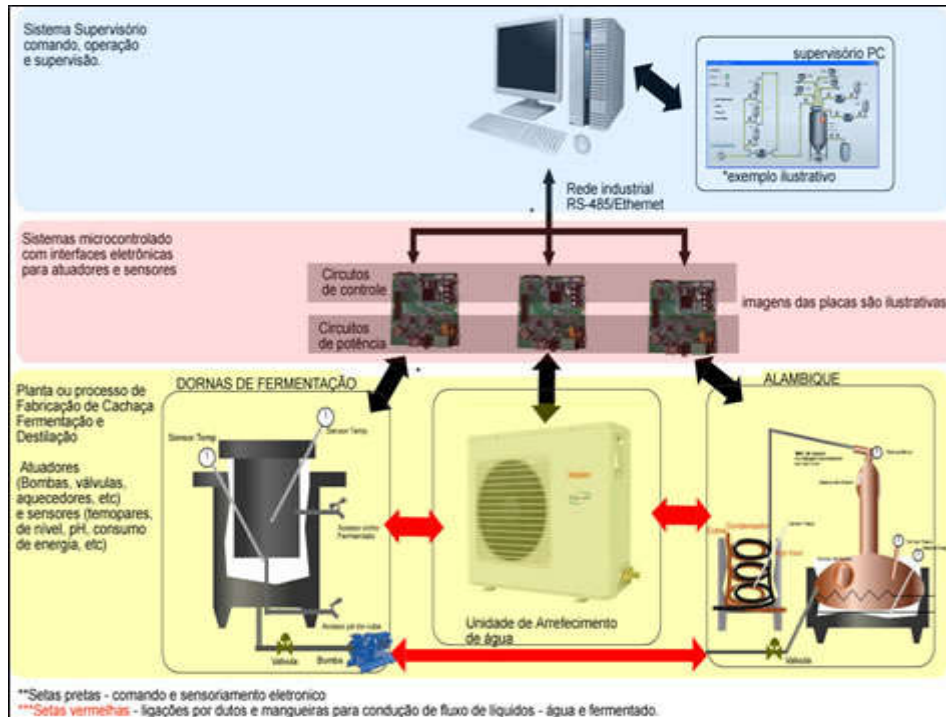


Fonte: Assunção *et al*³³

Figura 7. Distribuição dos sensores de temperatura e vazão na planta.

O protótipo desenvolvido pelo grupo de pesquisa além de resolver os problemas relacionados à produção de cachaça de modo tradicional, com a investigação das dinâmicas dos processos de fermentação e de destilação, ganhou a possibilidade de ser utilizado para fins de ensino e pesquisa das técnicas de modelagem e identificação de sistemas e controle de processos reais [32,33].

O controle do sistema é realizado através de circuitos eletrônicos desenhados e construídos especialmente para atender a planta. Além desses circuitos foi desenvolvido um *software*, programado como rede neural, isto é, com inteligência artificial, o qual foi utilizado no gerenciamento do processo. O conjunto é apresentado na *Figura 8* através de um diagrama. Os circuitos eletrônicos e o *software*, construídos para operação do protótipo submetidos ao processo de obtenção de patente industrial [32, 33].



Fonte: Assunção *et al*³³

Figura 8. Diagrama do sistema

O protótipo é apresentado na *Figura 9* ele foi selecionado pelo evento INOVA 2016 patrocinado pela Fapemig, como uma das quarenta melhores inovações do Estado de Minas Gerais neste ano.



Figura 9. Alambique conectado ao computador com o sistema embarcado

3.2 Modelagem matemática e sistema embarcado

O processo de produção foi separado em duas etapas, fermentação e destilação, que receberam modelagem matemática a partir dos dados de entrada e saída provenientes da planta. Para a obtenção dos dados do processo foi elaborado um sistema embarcado (de monitoramento e controle) e um software de interface com o operador que armazena e disponibiliza esses dados [32,33].

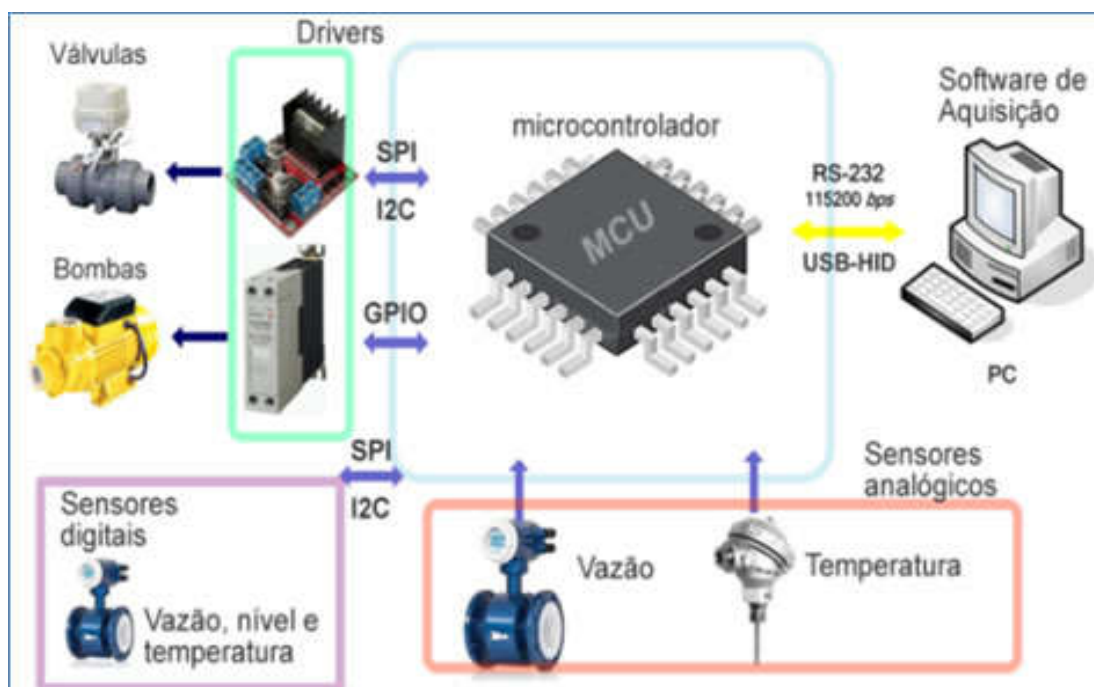
Para a etapa de fermentação a modelagem mais recorrente é o CSTR (Reator Contínuo Perfeitamente Agitado), que é usado para representar a dinâmica do processo no biorreator. O modelo utilizado neste trabalho é composto por um sistema de equações diferenciais não lineares que descrevem a dinâmica dos estados: substrato, biomassa, produto, balanço de massa e energia dentro do tanque e balanço de massa e energia na jaqueta de resfriamento. O objetivo desse desenvolvimento foi projetar um controle capaz de seguir a referência de temperatura determinada por Nagy (2007, apud Assunção 2017) de forma a tender um ensaio real [32,33].

Para a etapa de destilação a modelagem admitiu que a entrada de energia é o degrau de potência de aquecimento do reator e a saída é a temperatura dentro dele. Esse método foi desenvolvido por Ahmed (2016, apud Assunção 2017) e estima os parâmetros utilizando as integrais da resposta ao degrau e o Método dos Mínimos Quadrados Aguirre, (2015, apud Assunção 2017). No método de Ahmed (2016, apud Assunção 2017) o uso das integrais minimiza o efeito dos ruídos presentes nos sinais usados na identificação e, assim, dispensa o emprego de filtros digitais específicos e possibilita usar os dados coletados. O objetivo desse desenvolvimento foi estabelecer a relação matemática entre a potência entregue ao alambique e a temperatura no seu interior. Buscou-se um modelo simples de primeira ordem com atraso puro de tempo. A simplicidade do modelo foi avaliada como parâmetro essencial para que o estudo do processo fosse simplificado para ser empregado na prática didática e pesquisa da dinâmica [32,33].

Um sistema embarcado pode ser definido como um dispositivo computacional de propósito específico, que integrados ao meio externo, desempenha tarefas totalmente dedicadas à aplicação ou ao processo (Toulson e Wilmshurst, 2017 apud Assunção 2017). O uso desse tipo de sistema foi escolhido devido ao grande número de dados que ele é capaz de coletar da operação da planta, afim de alimentar o modelo com informações reais, e da possibilidade de fornecer resposta ao processo durante sua execução [32,33].

O sistema embarcado para identificação, denominado *Master Legacy* é composto por: módulo embarcado, módulo de comunicação e software de aquisição, ele teve o projeto baseado

na junção de módulos que compõem uma plataforma. Ele é mostrado na *Figura 10*, cada parte dele pode ser reprojeta e trocada para que uma nova funcionalidade da parte física correspondente seja implementada. O sistema embarcado pressupõe componentes físicos dedicado simples e de baixo custo, que possam atender à execução de algoritmos em tempo real. Ainda microcontroladores disponíveis no mercado brasileiro de fácil programação e bom suporte do fabricante, o que visa a acessibilidade dos instrumentos e sua fácil manutenção [32,33].



Fonte: Assunção *et al*³³

Figura 10. Sistema *Master Legacy*

4. Metodologia

Foram adquiridas doze marcas de cachaças artesanais comerciais, não envelhecidas e nem coradas, para as análises. Além dessas, foi realizada a produção de uma cachaça artesanal no alambique automatizado conforme descrito a seguir. Todas as bebidas citadas foram submetidas a análises de cromatografia gasosa com detector por espectrometria de massas e espectrometria de massas com ionização por *paper spray*. Os dados obtidos foram tratados por aplicação de métodos quimiométricos.

4.1 Produção de cachaça – fabricação própria

Para avaliar o desempenho do protótipo construído pelo grupo de pesquisa foi realizada a produção de algumas bateladas de cachaça. O processo de fabricação que foi realizado no laboratório 167 do Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG, está descrito a seguir.

4.1.1 Fermentação

A manufatura foi realizada utilizando caldo de cana filtrado e centrifugado, doado pela empresa Vale Verde, ele foi resfriado em volume suficiente para a realização das 3 bateladas. O volume necessário para cada batelada foi exposto a temperatura ambiente no dia da utilização. O caldo que inicialmente apresentava 23°Brix, foi diluído com água destilada até 16°Brix, o valor foi acertado com um sacarímetro densimétrico de Brix e confirmado por um refratômetro de campo. A temperatura final do caldo foi de aproximadamente 20°C.

Para realização das fermentações foi utilizado o fermento comercial LNF CA-11 (*Saccharomyces cerevisiae*, UFLA, lote 20160620-U). Esse fermento já foi utilizado para produção de cachaça e aguardente de cana-de-açúcar por outros autores com sucesso [46,47].

Foram utilizados 500g de fermento por batelada de fermentação, tendo sido essa quantidade definida de modo experimental. A levedura foi ativada em caldo de cana diluído com água desionizada ajustado em 5°Brix. As fermentações foram realizadas sem esterilização prévia do caldo e devem apresentar além do perfil de produção do fermento comercial adicionado a influência de leveduras selvagens presentes no caldo de cana. A adição de fermento sobre o caldo, que já apresenta sua microbiota, reproduz uma prática comum dos produtores de cachaça [10].

À dorna, com temperatura controlada definida pelo *software* do sistema embarcado em 28°C e já contendo o pé de cuba foi adicionado o caldo de cana ajustado para 16°Brix, conforme proposto por Canuto [14], chegando ao volume final de 40 Litros. A temperatura do mosto foi

mantida em 28°C até o fim da fermentação pela atuação do sistema de controle e automação utilizado na planta.

Foi feito um acompanhamento visual do processo de fermentação no qual foi avaliada a liberação de gás no *trap*, pela mangueira de escape da dorna. E amostras do mosto foram coletadas para medir o teor de açúcar, buscando intervir no final da fermentação, marcado pela condição de 0°Brix. O vinho produzido foi transferido para o alambique para ser destilado. As fermentações não foram sequenciais, elas foram repetidas por três vezes, e tiveram a duração média de 24 horas.

4.1.2 Destilação

A destilação foi realizada no alambique desenvolvido pelo grupo de trabalho, ele tem panela e coluna fabricadas em cobre batido o que aumenta a superfície de contato com o vinho. O alambique utiliza um sistema de aquecimento em banho termostaticado, o líquido utilizado para imersão foi uma solução 1:1 glicerina bidestilada/água. Além disso, ele possui condensador de aço inoxidável, desenvolvido para esta pesquisa. A temperatura do banho permaneceu na faixa de 100 a 120°C durante a destilação.

O destilado foi coletado de maneira fracionada e armazenado, em frascos de coloração âmbar com tampas plásticas, cada fração reunia aproximadamente 190 ml por frasco. Não houve distinção entre cabeça, coração e cauda durante a coleta. Foram coletadas 30 frações de cada destilação.

As frações recolhidas durante a destilação tiveram seu teor alcoólico determinado pelo emprego de um alcoômetro, ou seja, de um densímetro. Esse tipo de medida orienta a maioria dos mestre-alambiqueiros na fabricação de cachaça, sendo utilizado para definir o corte entre as frações. Para o presente trabalho o valor do teor alcoólico utilizado na definição da fração coração contemplou as alíquotas que apresentaram teor alcoólico entre 38 e 48 °GL.

Apesar de terem sido coletadas 30 frações por processo de destilação, notou-se que o teor alcoólico das frações finais, a partir da vigésima de cada destilação, estava muito abaixo do teor de 38 °GL. Assim análise de todas essas frações ocasionaria um custo benefício baixo, com elevado gasto de reagentes e elevadíssimo número de horas de funcionamento dos equipamentos. Optou-se então por conceber a análise de 15 frações representativas de cada destilação, estando entre essas todas as frações cabeça e coração, e ainda algumas frações cauda.

A identificação das amostras representativas de cada destilação que foram submetidas as análises químicas são mostradas na Tabela 3.

Tabela 3. Identificação das amostras submetidas as análises químicas

	Destilação 01	Destilação 02	Destilação 03
Frações Cabeça	1 e 2	16 à 18	31 e 32
Frações Coração	3 à 10	19 à 27	33 à 38
Frações Cauda	11 à 15	28 à 30	39 à 45

4.2 Metodologia GC-MS

As análises das frações do destilado, bem como de amostras de cachaças artesanais comerciais, foram realizadas utilizando um cromatógrafo a gás com detector de Espectrometria de Massas (*GC-MS*), modelo GC-2010-Plus-MS-QP2010SE (Shimadzu).

Foi utilizado um método cromatográfico desenvolvido anteriormente por Canuto [14], que precisou ser adaptado. O método foi descrito pelo autor como eficiente na quantificação de um grupo de trinta e seis substâncias por adição de padrão interno, a substância que atende as características requeridas para padronização e ainda apresenta boa solubilidade na matriz de interesse é o 4-metil-2-pentanol [14]. A tabela com os padrões adquiridos para execução das análises e sua respectiva pureza estão disponíveis no anexo deste trabalho na Tabela 7.

Foram preparadas soluções variando a concentração dos padrões, e com adição de padrão interno, para montagem das curvas analíticas com 8 pontos, conforme é mostrado na *Tabela 4* a seguir. O método apresenta um corte de detecção referente ao tempo de saída do etanol, tendo sido definidos previamente pelo autor do método os tempos de retenção de cada padrão do *mix* e os íons característicos de sua fragmentação para montagem da rampa de aquecimento e do modo de análise por Monitoramento Seletivo de Íon (SIM). Os dados da montagem do método estão disponíveis na Tabela 5 [14].

Foram definidas as seguintes condições: para o *GC* modo de injeção *splitless* durante 0,75 minutos, temperatura do injetor 250°C com um fluxo total de gás de 10 mL min⁻¹, usando uma coluna capilar polar HP-INNOWAX de 60 m x 32 mm e 0,50 µm de espessura do filme. A rampa de aquecimento teve temperatura inicial de 40°C com aquecimento a uma razão de 2°C min⁻¹ até 100°C, mantendo-se essa temperatura por 6 minutos e aquecimento até 210°C com uma razão de 40°C min⁻¹. O tempo total de corrida cromatográfica foi 39,70 minutos.

Para o espectrômetro de massas foi usada a temperatura de 230°C para a fonte de íons e de 270°C para a interface. O tempo de espera da fonte de íons foi de 1,5 minuto após a injeção no sistema cromatográfico.

As amostras do destilado foram preparadas a partir de uma alíquota de 980 μL de cada fração, que foi transferida para um *vial* de vidro provido de septo de silicone revestido de politetrafluoretileno e, acrescidas de 20 μL de uma solução de padrão interno de 1000 mg L^{-1} em etanol/água 40:60 v/v (40°GL). As soluções dos pontos da curva foram guardadas em geladeira e utilizadas em até sete dias após o preparo.

Todos os cromatogramas foram tratados com o programa *GCMS-Solution* da Shimadzu® e organizados em tabelas e gráficos utilizando os programas Excel Office 2016 Microsoft® e Matlab. Os gráficos e cromatogramas são mostrados e discutidos na seção de resultados desse trabalho.

Tabela 4. Pontos da curva de quantificação

ANALITOS	PONTOS DA CURVA (em mg 100 mL ⁻¹ de álcool anidro)							
	1°	2°	3°	4°	5°	6°	7°	8°
Quant.								
Butanal	0,25	1,25	2,5	6,25	12,5	25	62,5	125
Acetato de etila	0,25	1,25	3,75	7,5	10	15	20	22
Propionato de metila	0,25	1,25	2,5	6,25	12,5	25	62,5	125
Acetato de Isobutila	0,25	2,5	12,5	50	125	250	500	1000
Butan-2-ol	0,25	2,5	12,5	50	125	250	500	1000
Propan-1-ol	0,25	1,25	2,5	5	10	12,5	15	20
Isobutanol	0,25	1,25	2,5	5	10	15	20	25
Butanoato de Propila	0,25	2,5	12,5	50	125	250	500	1000
Pentanoato de etila	0,25	0,5	0,75	1	1,25	1,5	2	2,5
Butan-1-ol	0,25	2,5	12,5	50	125	250	500	1000
Propanoato de pentila	0,25	1,25	2,5	6,25	12,5	25	62,5	125
4-metilpentan-2-ol	5	5	5	5	5	5	5	0
Hexanoato de etila	0,25	1,25	2,5	5	10	15	20	25
2-metilbutan-1-ol	0,25	0,63	1,25	2,5	5	7,5	10	12,5
3-metilbutan-1-ol	0,25	0,63	1,25	2,5	5	7,5	10	12,5
Pentan-1-ol	0,25	2,5	12,5	25	62,5	125	250	500
Acetato de hexila	0,25	1,25	2,5	6,25	12,5	25	62,5	125
Heptanoato de etila	0,25	2,5	12,5	50	125	250	500	1000
Octanoato de etila	0,13	0,25	0,5	1,25	2,5	6,25	12,5	25
Furfural	0,25	1,25	2,5	6,25	12,5	25	62,5	125
Nonoato de etila	0,25	1,25	2,5	6,25	12,5	25	62,5	125
Benzaldeído	0,25	1,25	2,5	6,25	12,5	25	62,5	125
DMSO	0,25	2,5	12,5	50	125	250	500	1000
Mentol	0,25	1,25	2,5	5	12,5	18,75	25	50
Carbamato de etila*	1	10	50	100	250	500	1000	2000
Benzoato de etila	0,25	1,25	2,5	6,25	12,5	25	62,5	125
Undecanoato de Etila	0,25	1,25	2,5	6,25	12,5	25	62,5	125
Decan-1-ol	0,25	2,5	12,5	25	62,5	125	250	500
Geraniol	0,25	2,5	12,5	50	125	250	500	1000
Butan-1,4-diol	0,25	1,25	2,5	6,25	12,5	25	62,5	125
Tetradecanoato de etila	0,25	2,5	12,5	25	62,5	125	250	500
Pentadecanoato de etila	0,25	0,5	0,75	1	1,25	1,5	2	2,5
Tetradecan-1-ol	0,25	2,5	12,5	25	62,5	125	250	500

*A concentração do carbamato de etila está em µg L⁻¹ de destilado

Fonte: adaptado Canuto ¹⁴

Tabela 5. Íons monitorados (m/z) e tempo de retenção (min)

ANALITOS	Massa Molar / gmol ⁻¹	m/z do íon Monitorado		Tempo de retenção/min
		Quant.	Confir.	
Butanal	72	44	43	5,625
Acetato de etila	88	43	29 e 45	6,109
Propionato de metila	88	88	57	6,325
Acetato de Isobutila	116	56	56	9,771
Butan-2-ol	74	45	31	10,163
Propan-1-ol	60	29	42	10,801
Isobutanol	74	41	71	12,538
Butanoato de Propila	130	71	89	12,938
Pentanoato de etila	130	88	29 e 85	13,321
Butan-1-ol	74	56	31	14,725
Propanoato de pentila	144	29	57	15,071
4-metilpentan-2-ol	102	45	15,38	0,0500
Hexanoato de etila	130	88	29	17,071
2-metilbutan-1-ol	88	57	56	17,123
3-metilbutan-1-ol	88	55	42	17,338
Pentan-1-ol	88	70	42 e 55	18,975
Acetato de hexila	144	56	43	19,242
Heptanoato de etila	158	88	43	22,204
Octanoato de etila	172	101	88 e 57	26,163
Furfural	96	96	95	27,550
Nonoato de etila	186	88	101	28,700
Benzaldeído	106	77	106	28,950
DMSO	78	78	63	30,071
Mentol	156	81	71	30,846
Carbamato de etila*	89	62	44	31,446
Benzoato de etila	150	105	77	31,438
Undecanoato de Etila	214	88	101	32,046
Decan-1-ol	158	55	43	32,305
Geraniol	154	41	69	33,229
Butan-1,4-diol	90	31	42	33,991
Tetradecanoato de etila	256	88	101	35,146
Pentadecanoato de etila	270	88	101	36,209
Tetradecan-1-ol	214	55	43	36,454

Fonte: adaptado Canuto ¹⁴

4.3 Metodologia *Paper Spray*

As análises foram realizadas em um espectrômetro de massas Thermo Fisher LCQ FLEET com analisador de massas de baixa resolução do tipo *ion trap* (San José, Califórnia, EUA). Como solvente foi utilizado Metanol grau HPLC, adquirido da J.T. Baker Chemicals (Center Valley, Pensilvânia, EUA). O substrato para aplicação das amostras foi papel cromatográfico 1 CHR, adquirido de Whatman (Little Chalfont, Buckinghamshire, Reino Unido).

A fonte de ionização *paper spray* foi construída no laboratório a partir de um clipe metálico do tipo jacaré, ligado a um fio de cobre conectado à fonte de potencial do espectrômetro de massas. A montagem foi mantida por um suporte universal contendo uma plataforma móvel, que permite o ajuste do posicionamento do triangulo de papel (nas direções x, y e z) em relação à entrada do equipamento. A Figura 11 mostra o aparato utilizado durante a análise PS-MS. O papel foi cortado no formato de triângulo, com 1 centímetro para a base e 1,5 centímetros para cada lado, com o auxílio de régua e tesoura.

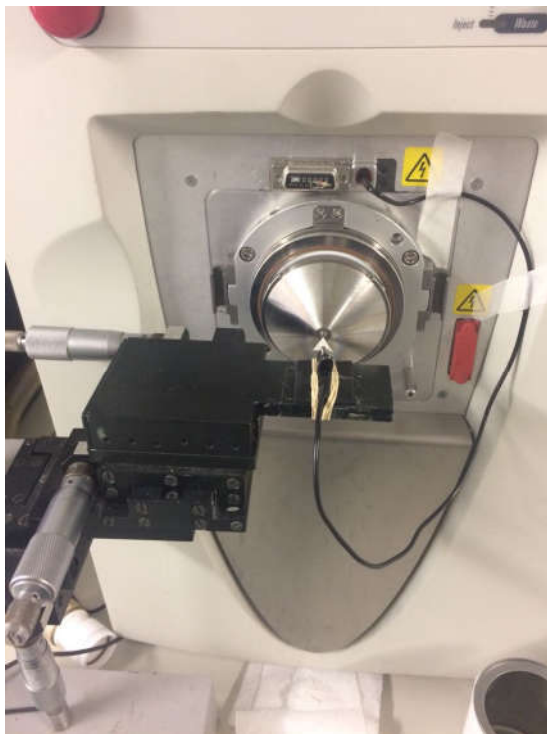


Figura 11. Montagem para execução de *paper spray*

As condições experimentais utilizadas para as análises foram: voltagem do *spray* de +4,3 kV (modo positivo e modo negativo); potencial do capilar de 40 V; potencial das lentes de 100 V; temperatura do capilar de 275 °C; distância entre o papel e a entrada do espectrômetro de massas de 1,0 cm e faixa de massas de 150-2000 *m/z*.

As análises foram executadas em sequência aleatória das amostras, e em triplicata. Alíquotas de 1,5 mL foram transferidas para *ependorfs*, e a partir dessa fonte 20,0 µL de amostra foram pipetados para os triângulos de papel, já posicionados na frente da entrada do MS e com o conector de cobre ligado à fonte de alta tensão. Após o que 20,0 µL de metanol foi vertido sobre o papel e a fonte de tensão foi ligada para aquisição dos dados pelo software, Thermo Fisher Scientific Xcalibur 2.2 SP1 (San Jose, Califórnia, EUA).

As análises por *paper spray* foram realizadas de forma qualitativa e sem identificação para os compostos, nos modos de ionização positivo e negativo, o sinal do modo negativo foi instável tendo com isso os resultados para este modo de análise foram descartados.

4.4 Métodos Quimiométricos

A quimiometria foi executada pela aplicação das ferramentas: análise de componentes principais (PCA) e agrupamento por métodos hierárquicos (HCA). Foi utilizado o software MATLAB, versão 8.5.0.197613 (Mathworks, Natick, Massachusetts, EUA), com o auxílio do pacote (*toolbox*) PLS Toolbox, versão 5.2.2 (Eigenvectors Research, Manson, Washington, EUA).

No ambiente computacional do MATLAB, foi utilizado o comando:

```
A= xls readr ('nomedaplanilha.xls',1);
```

As informações relativas aos cromatograma, análise por GC-MS, deram origem a uma matriz **X** (33 x 57), na qual as amostras estão organizadas nas colunas e as áreas dos compostos avaliados através da curva de quantificação constavam nas linhas.

As informações relativas aos espectros de massas, análise por PS-MS, deram origem a uma matriz **X** (93 x 57), na qual as amostras estão nas linhas e a intensidade relativa de cada íon razão *m/z* foi arranjada nas colunas. Os dados dessa planilha sofreram pré-tratamento para retirada do ruído.

As matrizes foram transpostas, no MATLAB usando a linha de comando: $X=X'$;

Na etapa de pré-processamento os dados relativos aos cromatogramas foram auto escalados, enquanto os dados dos espectros de massa foram centrados na média.

4.5 Metodologia ICP-MS

As análises foram realizadas em um espectrômetro de massas com plasma indutivamente acoplado, Agilent Technologies 7700 (Wilmington, Delaware, EUA). Não foi necessário fazer tratamento da amostra para execução das análises, apenas diluição de 10 vezes em água ultra-pura.

5 Resultados e Discussão

5.1 Produção de Cachaça

Para a produção de cachaça utilizando o protótipo foram realizados onze ensaios, sendo que os destilados obtidos em três desses foram escolhidos para as respectivas análises. O número de tentativas escolhidas está relacionado aos ajustes necessários no equipamento, bem como a troca de fermento e a adaptação da quantidade de fermento para o ajuste do tempo de fermentação. Buscou-se atingir o tempo médio de fermentação de 24 horas que é o adotado pela maioria dos produtores tradicionais.

5.2 Teor de metais

As análises de ICP-MS indicaram que o teor de metais da bebida obtida em nosso protótipo é baixíssimo, os valores referentes a Arsênio, Chumbo e Cobre, são mostrados na Tabela 6.

Tabela 6. Teores de metais com desvio padrão relativo e limites da legislação

Analito	Teor	RSD	Limite legislação
Arsênio	4,26 µg/L	20,8%	100µg/L
Chumbo	26,9 µg/L	3,8%	200µg/L
Cobre	0,26 mg/L	6,5%	5 mg/L

O azinhavre é formado pelo depósito de carbonato básico de cobre, de fórmula química $\text{CuCO}_3\text{Cu}(\text{OH})_2$, ele é fonte de contaminação da bebida por cobre. Foi necessária intensa limpeza do alambique antes do início do processo de destilação uma vez que esse apresentava espessa crosta verde característica de azinhavre. O baixíssimo teor deste metal indica que a limpeza foi eficiente na remoção do azinhavre.

Os teores de todos os metais pesquisados foram baixíssimos, o que confirma a forma assertiva de desenho e construção do alambique, das dornas de fermentação e do sistema embarcado controlado via programação neural (inteligência artificial), assim como a não contaminação por esses agentes na condução do processo.

5.3 Análises por *paper spray*

As análises por *paper spray* foram realizadas de forma qualitativa e sem identificação para os compostos, e no modo positivo de ionização. A forma como foi concebida a fonte de ionização do equipamento no laboratório de execução dos testes, não possibilita realização de análise quantitativa por não conseguir reproduzir com elevado nível de confiança as condições de análise. É também importante relatar que o tempo disponível para execução de todos os objetivos deste trabalho não permitiram ainda a validação de um método para quantificação por PS-MS.

Um espectro de massas resultado da análise via *paper spray* de uma fração da cachaça de fabricação própria é mostrado na *Figura 12*. Por avaliação visual é possível notar abundância significativa de muitos íons com massas acima de 700 m/z o que não era esperado para a matriz de trabalho.

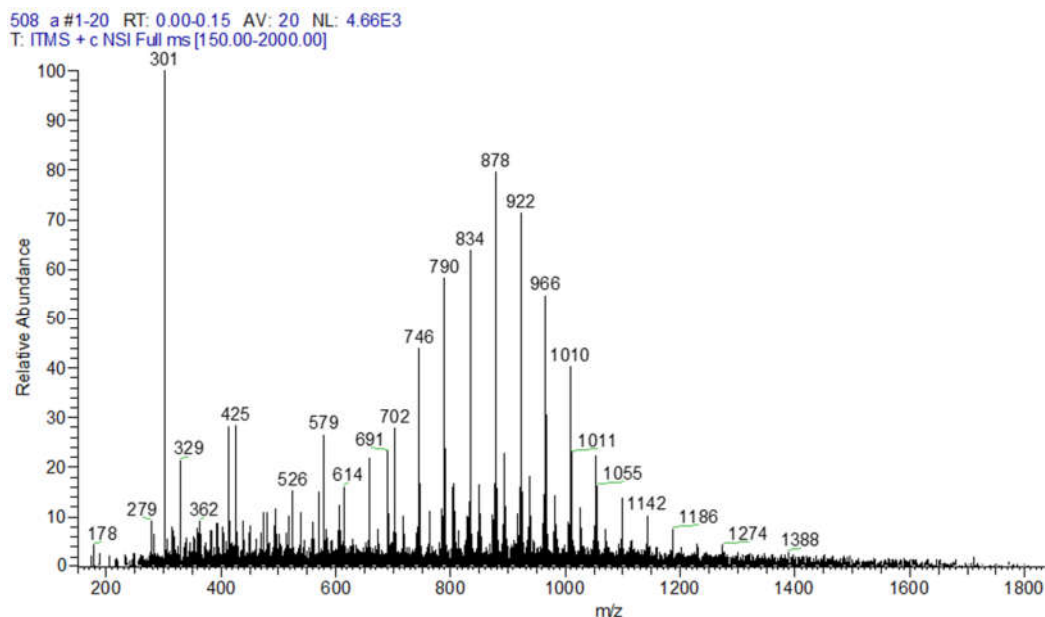


Figura 12. Espectro de massas de uma fração da cachaça de fabricação própria

Os dados obtidos por essa técnica por se tratarem de informações espectrais, portanto contínuas e passíveis de influência de ruído, necessitam de uma etapa de pré-processamento. Foi escolhido o recurso de centrar os dados na média. Com base no gráfico de PCs contra a variância explicada, foram definidas 4 PCs, que explicam 77,82% da variância, uma vez que a

partir desse valor a adição de uma nova componente não é significativa como pode ser observado na Figura 13.

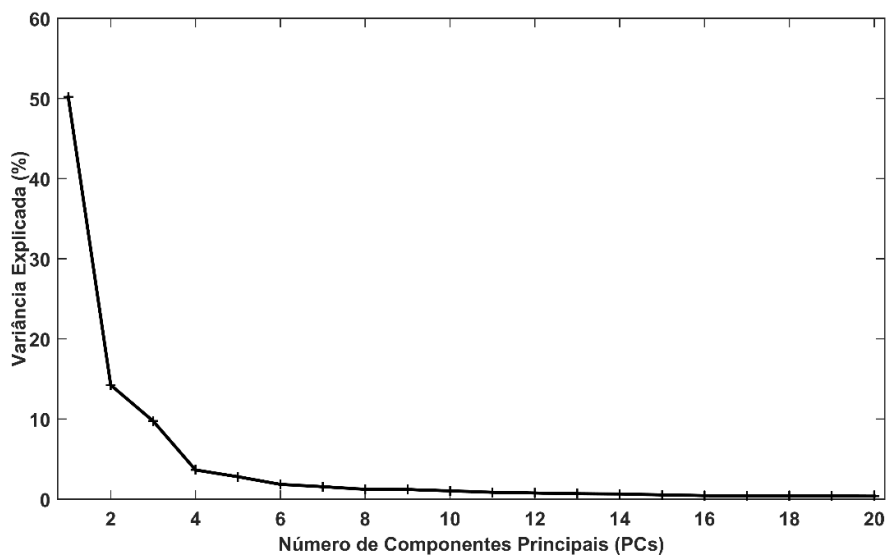


Figura 13. Número de componentes principais escolhidas para dados do PS-MS

As Figuras 14 e 15 mostram a importância dos íons na definição de PC1 e PC2. A informação indicada por X é a massa do íon e por Y é o peso atribuído a cada massa na PC, apenas os íons mais relevantes tiveram sua relação massa carga (m/z) indicada no gráfico.

Através da avaliação visual dos gráficos é possível notar que os íons com maior peso estão na faixa de maior massa. Sabendo que a cachaça é uma bebida constituída de 1% de congêneres em uma matriz hidro alcóolica não era esperado observar tantos íons nessa faixa de massa, nem que esses íons fossem ser tão significativos na explicação da variância das amostras. Apesar da análise multivariada conseguir utilizar as pequenas alterações, muitas vezes imperceptíveis na avaliação por outros meios, para fazer inferências essa forte influência de íons com massas tão elevadas e presentes em grande abundância sugere uma contaminação das amostras.

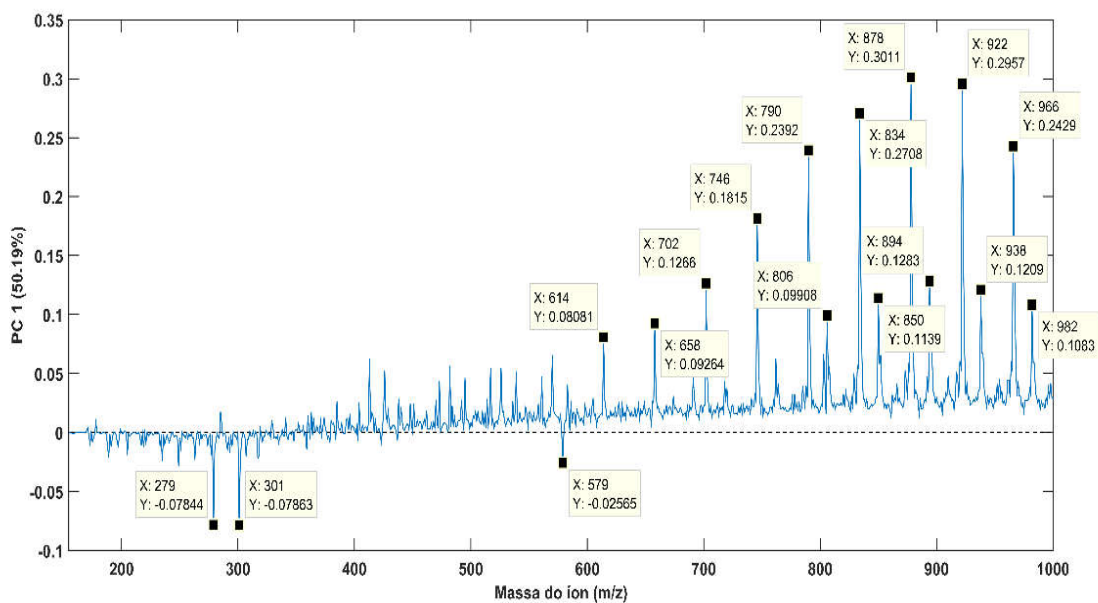


Figura 14. Importância dos íons na composição de PC1

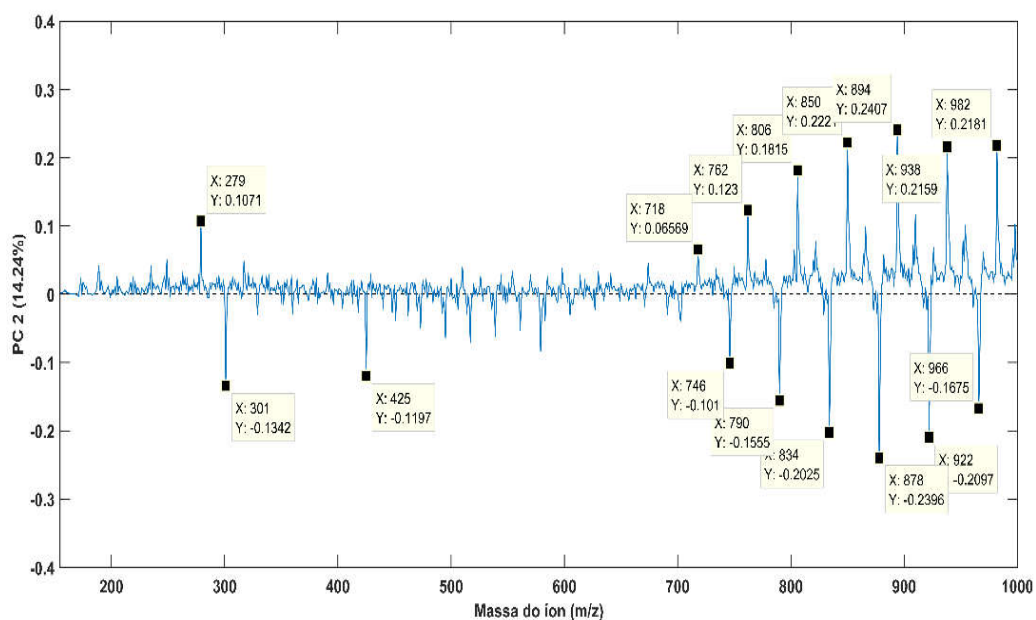


Figura 15. Importância dos íons na composição de PC2

Foram feitas duas designações para as frações de cachaça de fabricação própria, antes da avaliação dos agrupamentos, na primeira foram indicadas amostras de coração e não coração, a última refere-se as alíquotas das frações cabeça e cauda. Para as amostras compradas de outros

produtores foi atribuída a designação “comercial”. Com base nos resultados obtidos não foi possível reconhecer distinção entre as classes.

Os gráficos de PC1 x PC2, os mais significativos dentro da variância explicada, não mostram nenhuma tendência. Avaliando-se a Figura 16 não foi possível definir agrupamento entre amostras comerciais ou entre as amostras que representam as partes do destilado que foi produzido para este trabalho.

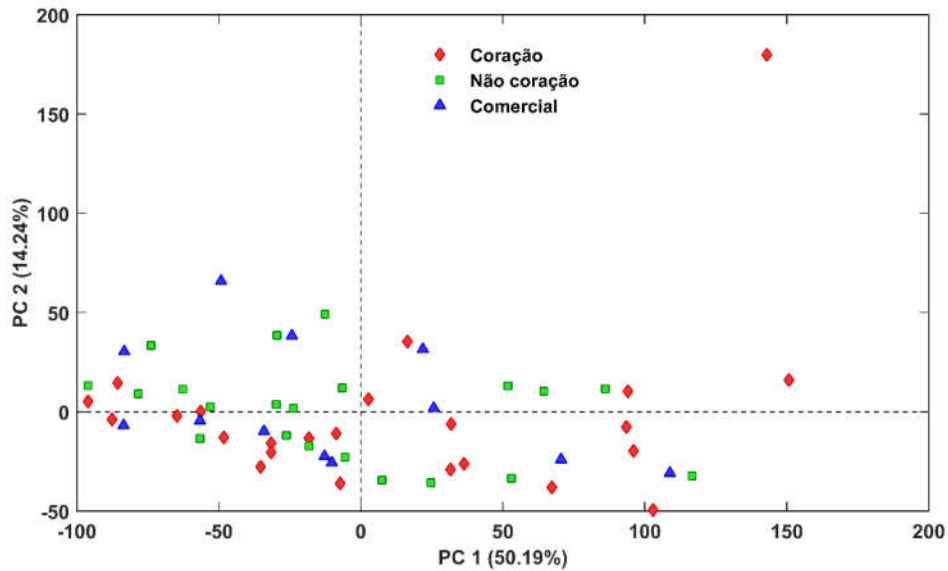


Figura 16. Gráfico de PC1 x PC2 para definição de amostras: coração, não coração e comerciais

Na segunda designação para as amostras de cachaça obtida em nosso laboratório além de estarem definidas entre coração e não coração foram relacionadas a sua destilação de origem. As amostras de outros produtores continuaram a ser definidas como “comerciais”.

O mesmo ocorre para a avaliação em que os dados das destilações são diferenciados, eles estão mostrados na Figura 17.

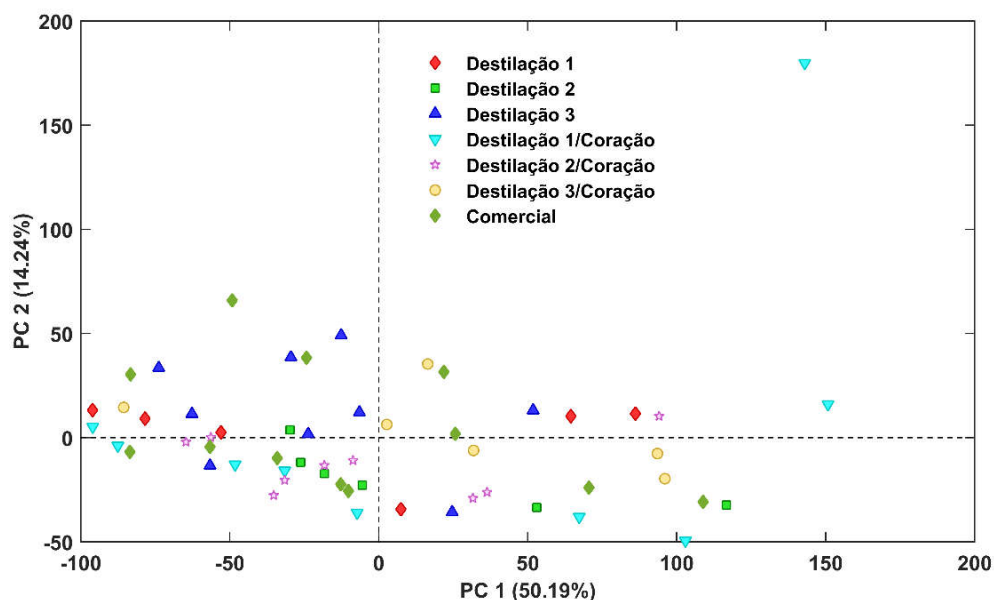


Figura 17. Gráfico de PC1 x PC2 para definição de amostras: coração e não coração, para cada destilação, e comerciais

Ao analisar separadamente PC1 e PC2, mostrados respectivamente nas Figura 18 e Figura 19, pode-se observar um agrupamento das amostras de cachaça comercial. No gráfico de PC1 não há tendência das amostras de fabricação própria. Enquanto, para o gráfico de PC2 pode ser notada a formação de três grupos de amostras de coração, antecedidos e sucedidos por grupos de amostras de não coração.

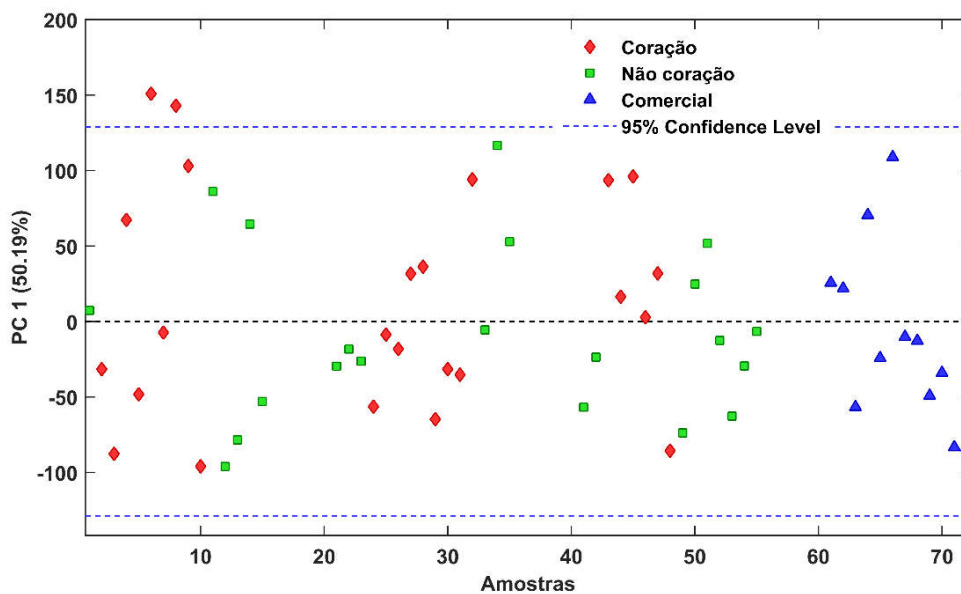


Figura 18. Gráfico de escores de PC1

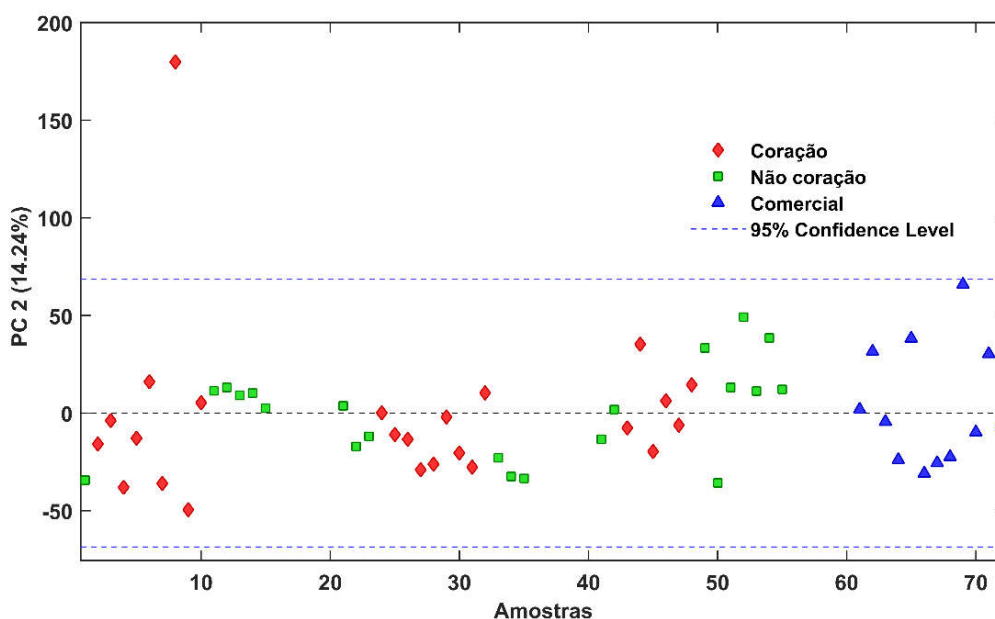


Figura 19. Gráfico de escores de PC2

O gráfico de escores das amostras por destilação não apresentou tendência para PC1, tão pouco para PC2, logo não houve resultados significativos para haver alguma discussão relevante sobre os dados.

Também foi inconclusiva a análise de agrupamento por métodos hierárquicos, HCA, e por isso não foi trazida para discussão.

5.4 Análises por GC-MS

Os cromatogramas resultantes das análises por GC-MS foram tratados para extração das áreas abaixo dos picos para cada um dos 33 analitos. As corridas cromatográficas, nas quais foram submetidas as amostras, ocorreram no modo de monitoramento seletivo de íons (SIM), que além de seletivo é também mais sensível por fazer maior número de varreduras por minuto na busca dos íons estabelecidos previamente.

A confirmação da identidade de cada analito foi realizada com base no reconhecimento dos espectros de massa e do tempo de retenção definido pelo método. Essa forma de coleta dos dados permitiu utilizar o íon mais intenso do espectro de impacto eletrônico de um analito na sua quantificação, como definido pelo método. Deixo como exemplo o trecho do cromatograma referente aos isômeros 2-metil-1butanol e 3-metil-1butanol, mostrado na *Figura 20*, esses isômeros co-eluem e são quantificados então através das curvas referentes aos íons mais

intensos da sua fragmentação sendo o íon de 57m/z utilizado para o 2-metil-1butanol e o íon de 55 m/z utilizado para 3-metil-1butanol, para eliminar qualquer dúvida o íon de confirmação do 3-metil-1butanol foi também utilizado, ele possui m/z 42 e está também evidenciado na *Figura 20* . O íon de confirmação do 2-metil-1butanol de m/z 56 não é mostrado para facilitar a visualização dos demais íons no cromatograma

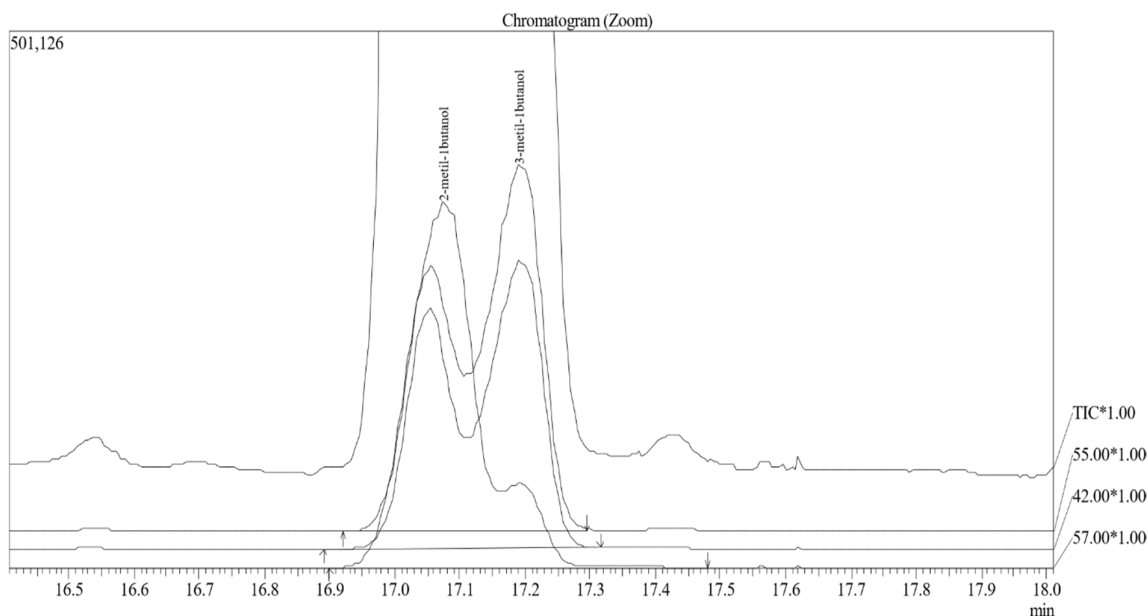


Figura 20 Cromatograma com exemplo de íons de quantificação e confirmação

As informações do conjunto de analitos foram destinadas ao tratamento por quimiometria conforme descrito na metodologia.

Considerando a avaliação de um mesmo composto para diferentes amostras os dados obtidos por essa técnica apresentam bastante discrepância necessitam, portanto, serem submetidos a uma etapa de pré-processamento. Foi escolhido o recurso de autoescalar os dados, ou seja, a média dos valores de área para cada composto analisado foi dividida pelo desvio padrão entre esses valores.

Com base no gráfico de PCs contra variância explicada, foram definidas 6PCs, que explicam 62,08% da variância, uma vez que a partir desse valor a adição de uma nova componente não é significativa como pode ser observado na Figura 21.

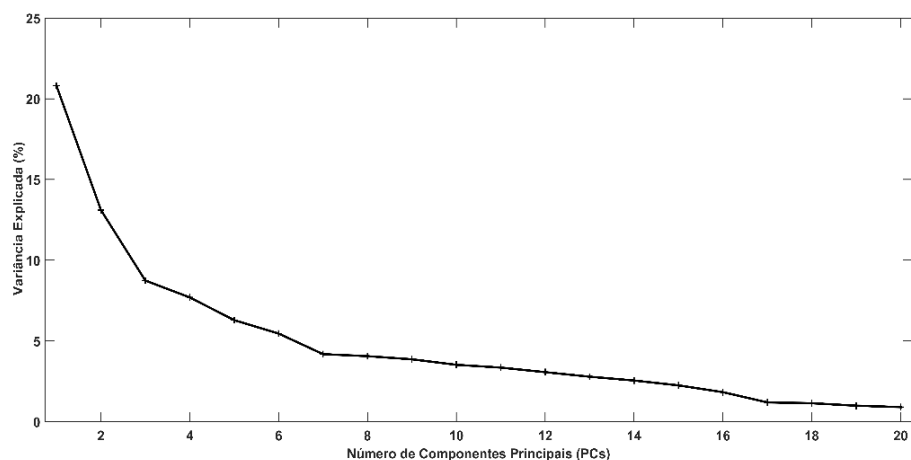


Figura 21. Número de componentes principais escolhidas para dados do GC-MS

A importância dos compostos definidos pelo método na determinação de PC1 e PC2 pode ser observada nas figuras 22 e 23. Os 33 compostos estão representados e organizados na ordem crescente do tempo de eluição. A legenda com os nomes dos compostos e o respectivo número de identificação é uma só para as figuras 22 e 23.

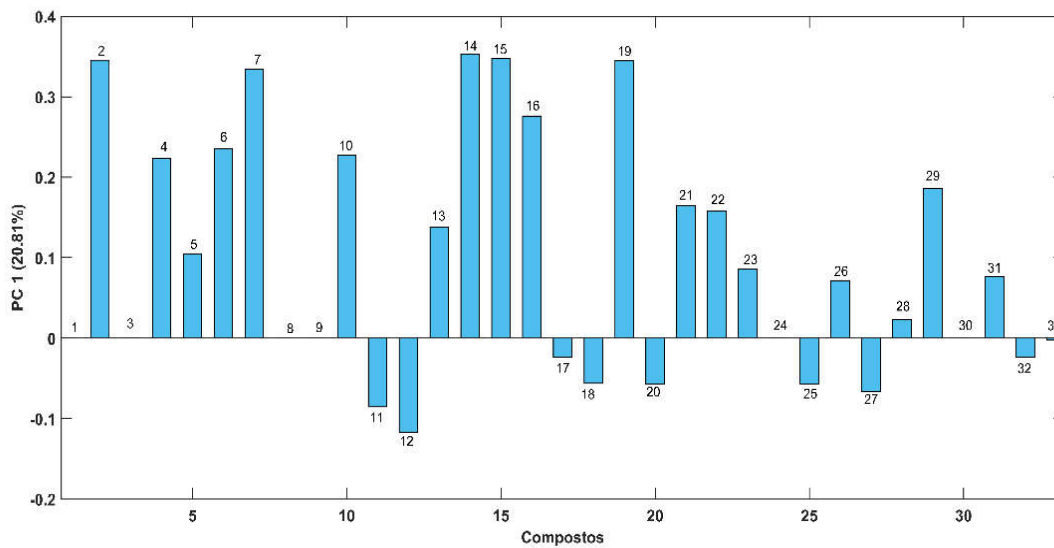


Figura 22. Importância dos compostos na composição de PC1

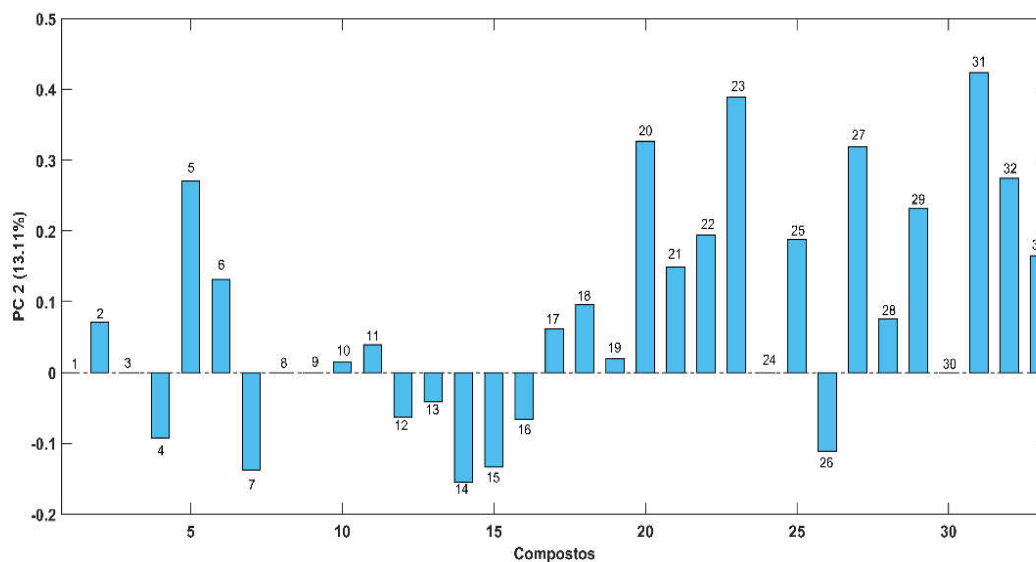


Figura 23. Importância dos compostos na composição de PC2

- | | | |
|---------------------------|-------------------------|-----------------------------|
| 1. Butanal | 12. 4-metil-2-pentanol | 23. DMSO |
| 2. Acetato de etila | 13. Hexanoato de etila | 24. Mentol |
| 3. Propionato de metila | 14. 2-metil-1-butanol | 25. Carbamato de etila |
| 4. Acetato de isobutila | 15. 3-metil-1-butanol | 26. Benzoato de etila |
| 5. Butan-2-ol | 16. Pentan-1-ol | 27. Undecanoato de etila |
| 6. Propan-1-ol | 17. Acetato de Hexila | 28. Decanol |
| 7. Isobutanol | 18. Heptanoato de etila | 29. Geraniol |
| 8. Butanoato de propila | 19. Octanoato de etila | 30. Butan-1,4-diol |
| 9. Pentanoato de etila | 20. Furfural | 31. Tetradecanoato de etila |
| 10. Butan-1-ol | 21. Nonoato de etila | 32. Pentadecanoato de etila |
| 11. Propanoato de pentila | 22. Benzaldeído | 33. Tetradecanol |

Através de análise visual do gráfico é possível perceber que há muita similaridade no número de compostos não significativos e no número de compostos que explicam a parte negativa de PC1 e de PC2. Contudo os analitos relacionados a parte negativa de cada PC não são os mesmos.

Foram utilizadas para as amostras as mesmas classificações apresentadas nos resultados das análises feitas por *paper spray*. Para as frações de cachaça de fabricação própria, classes de coração e não coração, e para as amostras compradas de outros produtores classe “comercial”. A classificação por esse critério é mostrada a seguir.

O gráfico de PC1 x PC2, o qual é mais significativo dentro da variância explicada, é mostrado na Figura 24 e apresenta tendência de formação de agrupamentos, tanto em PC1 quanto em PC2 sendo mais significativa em PC2.

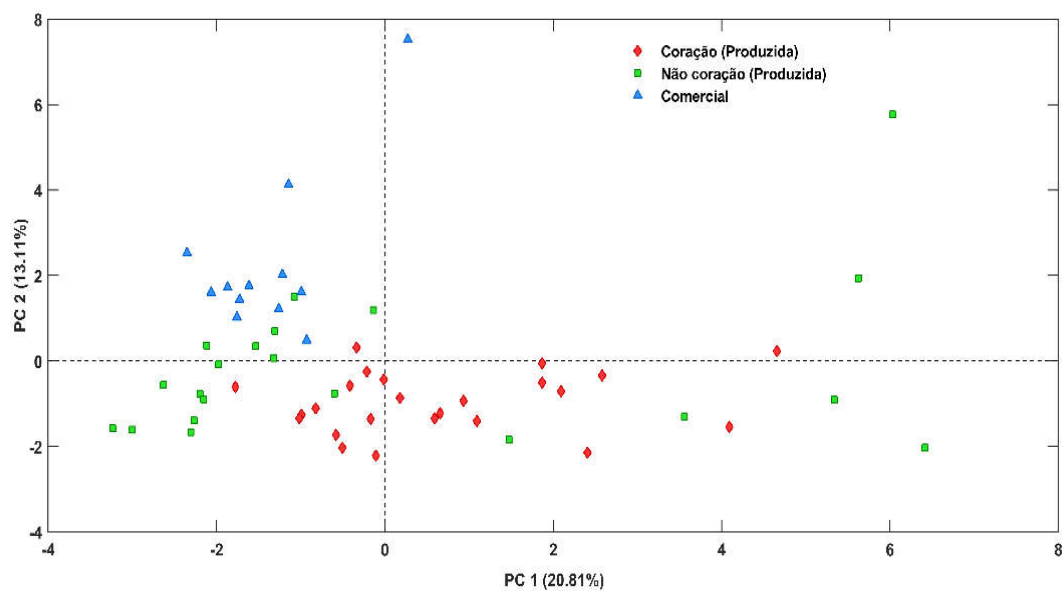


Figura 24. Gráfico de PC1 x PC2 para definição de amostras: coração, não coração e comerciais

As amostras comerciais tenderam a ficar agrupadas na parte positiva de PC2 e negativa de PC1. E as amostras de coração, da cachaça de fabricação própria, indicadas em vermelho, em sua maioria ficaram na região negativa de PC2.

O gráfico de escores de PC1, mostrado na Figura 25, indica que há tendência de formação de agrupamentos para as amostras comerciais e para as amostras de não coração, apesar da presença de *outliers*.

Entre as amostras de produção própria houve a formação de três grupos de amostras de coração. A existência de três agrupamentos para as amostras sugere a identificação das três destilações, porém essa distinção não é conclusiva através do gráfico em análise.

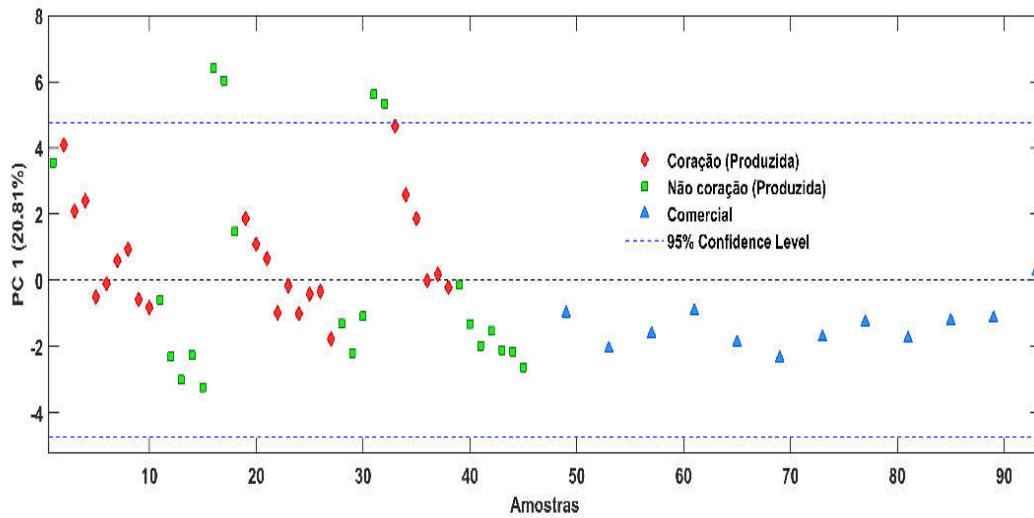


Figura 25. Gráfico de escores de PC1

Assim como para os resultados das análises de paper spray na segunda classificação as amostras de cachaça fabricação própria além de estarem definidas entre coração e não coração foram relacionadas a sua destilação de origem. As amostras de outros produtores continuaram a ser definidas como “comerciais”.

A aplicação da segunda designação para as amostras na avaliação de PC1x PC2, mostrada na Figura 26, não revelou mudança significativa quando comparada a primeira. As amostras comerciais continuaram segregadas, na região de PC1 negativa e PC2 positiva. Entretanto as amostras de fabricação própria não sofreram segregação.

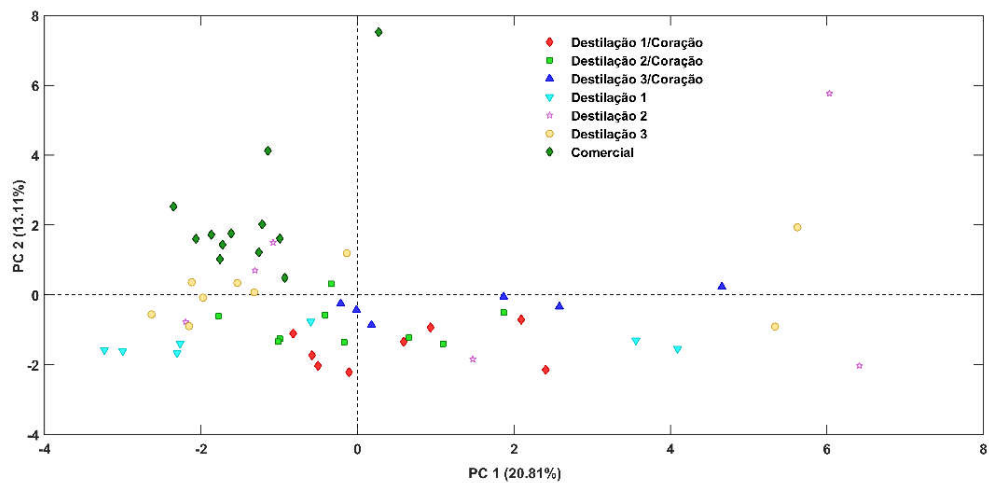


Figura 26. Gráfico de PC1 x PC2 para definição de amostras: coração e não coração, para cada destilação, e comerciais

O gráfico de escores de PC1 para a classificação que considera as destilações, apresentado na Figura 27, indicou a separação das amostras comerciais e das destilações. Elas estão posicionadas ao longo da região negativa de PC1, de maneira paralela ao eixo das abcissas.

Pode ser notada a distinção das partes dentro de cada um dos destilados, as frações identificadas pelos números 1, 2, 16, 17, 31 e 32 são de alíquotas da cabeça dos destilados. Elas se orientam próximo a ponta das setas desenhadas no gráfico. As alíquotas relativas a fração cauda de um destilado estão orientadas no sentido oposto das alíquotas de cabeça elas estão identificadas pelas sequências numéricas 11 à 15, 28 à 30 e 39 à 45.

As amostras comerciais que representam as cachaças adquiridas no mercado se aproximam da porção final do coração e da cauda dos destilados de fabricação própria. Elas estão concentradas na parte negativa de PC1. Essa distribuição semelhante a encontrada para as alíquotas da parte final do coração e da cauda, indica que essas frações guardam similaridade na composição.

As alíquotas que compõem a cauda apresentam menor teor alcoólico, por serem mais ricas em água são também mais ricas em compostos como o ácido acético ou ácido propanoico. A contaminação do mosto por bactérias acéticas é um problema comum na produção de cachaça. As fermentações para produção de destilado nos testes desse trabalho ocorreram com controle da temperatura, visando manter o mosto em condições favoráveis à levedura do fermento, que produz etanol, e desfavorável às bactérias acéticas, que produzem ácido acético. O controle de temperatura nesta etapa é algo incomum para os produtores de cachaça artesanal e esse fato pode ser a explicação para a semelhança observada entre as cachaças comerciais e a porção final do destilado de fabricação própria. Porém uma avaliação do conteúdo de ácido acético é importante para confirmação da relação apresentada.

Outra hipótese, a cerca desse agrupamento, é que como as cachaças comerciais são formadas pelo conjunto de todas as frações do coração que são armazenadas juntas ela pode passar por um processo de maturação, no qual pode haver a formação de novos compostos com maior massa molar. E estes novos compostos gerados durante a maturação podem influenciar na determinação dos agrupamentos ocorridos.

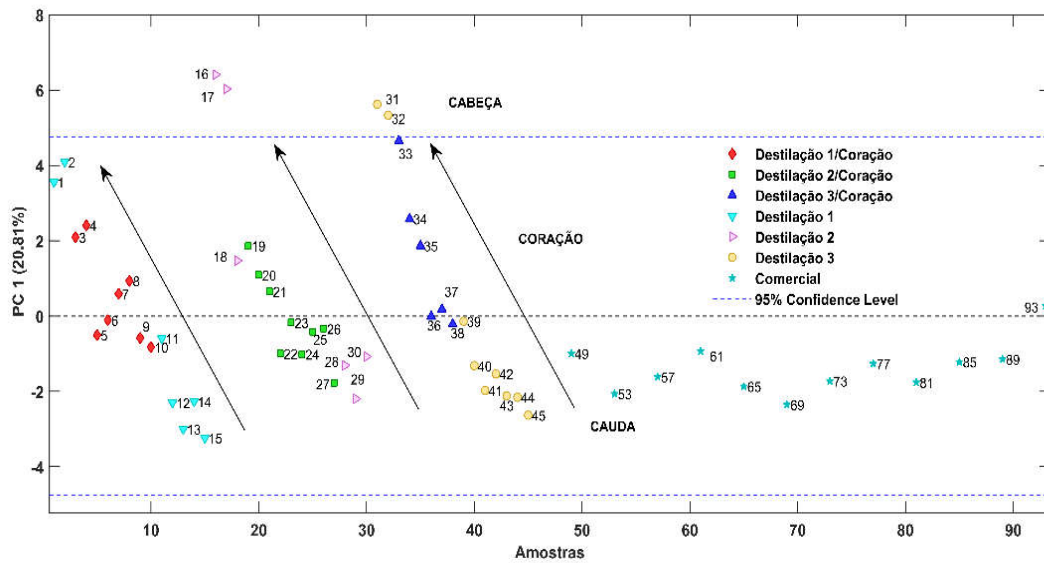


Figura 27. Gráfico de escores de PC1

O histograma da análise de agrupamento por métodos hierárquicos, HCA, é apresentado na Figura 28. Pela sua avaliação temos que as amostras comerciais em sua maioria ficaram agrupadas formando uma classe. E que há uma tendência de agrupamento para a maioria das frações de coração, mas essa não é forte suficiente para definir uma classe. A avaliação do histograma também não indicou a possibilidade de separação dos três destilados como foi conseguido por PCA.

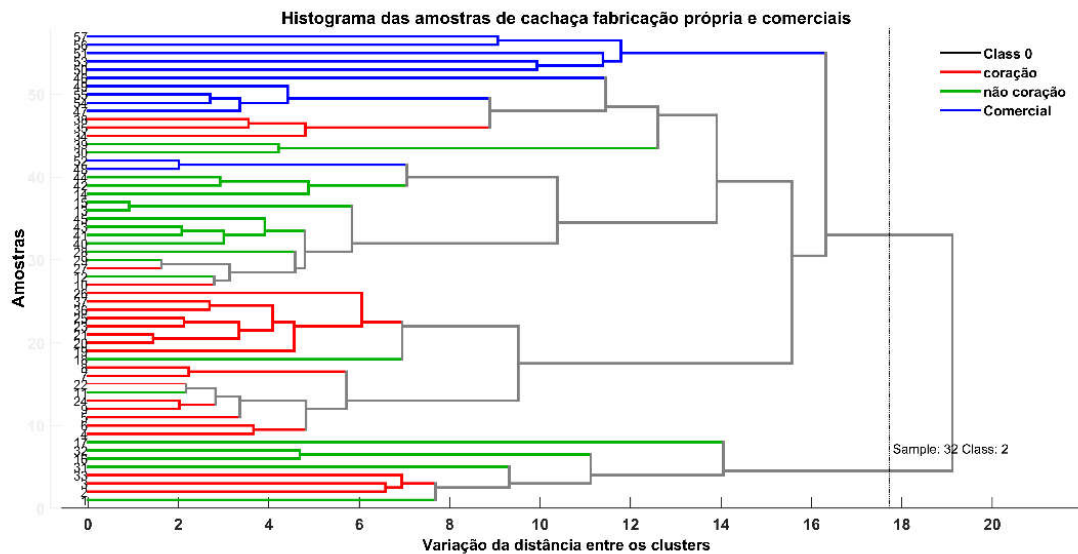


Figura 28. Histograma de análise por agrupamento por métodos hierárquicos

5.5 Comparação entre as técnicas analíticas

Os resultados da aplicação de quimiometria mostraram a técnica de GC-MS superior ao PS-MS na discriminação dos grupos de amostras. O agrupamento foi ainda mais evidente quando se considerou o destilado de origem das amostras.

O resultado anterior pode ser entendido se considerarmos que na execução das análises via *paper spray*, durante a aplicação das amostras no papel, os analitos ficam expostos às condições ambientais. Como as substâncias de interesse, os congêneres da bebida, são compostos bastante voláteis nessas condições podemos supor que houve uma diminuição considerável da concentração dessas substâncias devido à evaporação sofrida pela amostra antes da introdução no equipamento, um problema que é intrínseco à técnica em questão. Dessa forma, marcadores que tiveram grande contribuição no agrupamento das amostras por GC-MS provavelmente tiveram seu teor seriamente reduzido antes da introdução da amostra no espectrômetro de massas no PS-MS. Por esses motivos o desempenho do *paper spray* pode ser considerado abaixo do potencial demonstrado pela técnica para outras matrizes, conforme apresentado anteriormente neste trabalho.

A cromatografia tem como pontos negativos o tempo de execução elevado para a realização das análises e para o tratamento dos cromatogramas. Para a execução das análises, após o preparo, foram feitos uma série de testes durante o dia e à noite, os quais necessariamente demandaram uma semana. O maior problema desse extenso período de tempo gasto reside nas variações a que as condições do equipamento e da sala de análise podem passar de modo aleatório. Por exemplo, nesse intervalo de tempo o fluxo de pessoas na sala varia, a temperatura da sala muda e a estabilidade da rede elétrica também.

Contribuiu para o melhor estudo e interpretação do resultado da cromatografia a utilização de um método que prioriza a avaliação da presença de substâncias do grupo de congêneres. Igualmente, outro fator importante visando a interpretação aprimorada fundamentou-se na forma de extração dos dados, alicerçada na busca por compostos específicos relacionados no método. Esse tratamento dos cromatogramas refinou os dados quando desconsiderou os demais compostos antes da aplicação da quimiometria.

A cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas pode ser vista como mais adequada na pesquisa dos compostos relacionados como congêneres, quando comparada com a técnica PS-MS, pois são em sua maioria voláteis nas condições ambientais prevalentes. O método utilizado pode ser aprimorado ajustando-se experimentalmente os parâmetros exigidos

pela técnica, assim como também há potencial para o desenvolvimento de novos métodos para a devida quantificação de compostos congêneres e ou de indesejáveis.

5.6 Qualidade da cachaça obtida no nosso laboratório

Foram avaliadas três alíquotas da fração coração de cada um dos destilados quanto a sua qualidade físico-química. No anexo da Instrução Normativa 13 de 29 de junho de 2005, cujas seções pertinentes estão disponíveis no anexo B deste trabalho, estão os teores máximos permitidos para uma série de 5 grupos de congêneres, bem como para os compostos contaminantes. O método cromatográfico não contempla todas as substâncias reguladas, e é direcionado apenas para a busca de compostos específicos, a avaliação dos teores das substâncias presentes na bebida será limitada ao método. E os teores expressos sempre em miligramas/100mL de álcool anidro, conforme indicado na legislação, abreviados como mg/100mL a.a.

Entre os compostos desejáveis foram observados: acetato de etila, propanoato de pentila, octanoato de etila, nonoato de etila, undecanoato de etila, benzoato de etila, geraniol e tetradecanoato de etila. As substâncias apontadas como desejáveis fazem parte do grupo de flavorizantes e contribuem ativamente para sabor e odor agradável da bebida.

Com presença mais significativa o teor de geraniol com odor de rosas, contribui muito para a formação do buquet dessa cachaça. O teor desse álcool superior foi bem constante no coração de cada destilação estudada, ficou em torno de $0,490 \pm 0,001$ mg/100mL a.a.

Em quantidade intermediária, figuraram acetato de etila e octanoato de etila compostos que agregam odor frutado e de abacaxi respectivamente, eles promovem boa combinação com o geraniol e enaltecem o sabor frutado da bebida [37]. Finalizando a composição de flavorizantes propanoato de pentila, nonoato de etila, undecanoato de etila e benzoato de etila apareceram em baixas quantidades. A soma de ésteres alcançou o teor máximo de $1,1 \pm 0,2$ mg expressos em massa de acetato de etila /100 mL a.a., como recomenda a norma. Essa quantidade está muito abaixo do valor máximo fixado, de até 200mg/100 mL a.a., sendo indicativa de que o sabor da bebida pode ser aprimorado com investimento no incremento do teor dessa classe de compostos.

O pentanol é um álcool superior que foi encontrado em quantidade pouco significativa nas alíquotas de coração avaliadas, sua presença está relacionada a atribuição de aroma frutado, balsâmico a alimentos [37]. A concentração mais expressiva ficou em $0,102 \pm 0,002$ mg/100mL a.a., que é bastante pequena frente os demais flavorizantes presentes.

Um grupo de álcoois tiveram presença marcante no coração da bebida: 1-propanol, isobutanol, 2-metil-1butanol e 3-metil-1butanol. Esses compostos são desejáveis, ressalvando-se que seu teor não ultrapasse o estabelecido pela normativa, juntos eles alcançaram o valor máximo de $0,20 \pm 0,04$ mg/100mL a.a. bem abaixo do limite de 360mg/100mL a.a.

Entre os compostos indesejáveis foram observados: furfural, benzaldeído e DMSO. Furfural e benzaldeído os quais estão associados ao odor de amêndoas ou açúcar queimado e responsáveis pelo popularmente conhecido “bafo da onça”, mas são considerados indesejáveis por serem maléficos a saúde [14]. Como já apresentado na Tabela 1 o benzaldeído é narcótico e causa dermatite, enquanto o furfural é irritante e provoca dores de cabeça. As quantidades desses compostos foram bastante baixas o teor de benzaldeído ficou em $0,0199 \pm 0,0001$ mg/100mL a.a., com ocorrência na alíquota referente a apenas uma destilação, e o furfural com $0,0085 \pm 0,0001$ mg /100mL a.a. que resultaram ser teores constantes entre as amostras estudadas. O DMSO apesar de ter baixa toxicidade apresenta odor desagradável e, portanto, pode ser considerado como indesejado. Ele ocorreu com teor constante para as alíquotas estando em $0,01783 \pm 0,00001$ mg/100mL a.a., presente em todas as amostras analisadas.

Compostos de cadeia longa como tetradecanoato de etila e tetradecanol são produtos de reação de ácidos graxos e estão associados a sabor desagradável (râncido). O tetradecanol foi encontrado em alíquotas de duas das destilações em teor baixíssimo de $0,1979 \pm 0,0002$ mg /100mL a.a. o que não modifica significativamente o sabor.

Também presentes na bebida 1-butanol e 2-butanol são considerados contaminantes, eles podem estar presentes desde que em quantidade não superior a 3mg e 10mg/100mL a.a. respectivamente. Eles foram encontrados em quantidades bem baixas estando o 1-butanol com no máximo $0,09 \pm 0,01$ mg e o 2-butanol com $0,0651 \pm 0,0003$ mg/100mL a.a.

É importante ressaltar que não houve registro da presença de carbamato de etila nas frações do coração escolhidas para estudo. Ele é carcinogênico e tem seus limites controlados pela legislação sendo 150µg/L o teor máximo tolerado.

A bebida fabricada para a presente pesquisa tem qualidade boa em todos os aspectos pesquisados. Entretanto, para avaliar o completo atendimento a legislação por esta faz-se necessário realizar mais análises e avaliar a presença de compostos como ácido acético, metanol, acroleína e outros que vão além do escopo do método utilizado.

Apesar da qualidade ser adequada à obtenção da bebida utilizando o protótipo, esta pode ser melhorada com mais ajustes, tais como a execução de um grande número de bateladas

visando a que o programa de controle, o qual foi desenvolvido como rede neural popularmente conhecida como inteligência artificial, otimize os parâmetros do sistema de forma automática com o algoritmo desenvolvido para tanto, isto é, o programa de controle “aprende”. Outro ponto importante que deve ser ressaltado é o não resfriamento do caldo de cana antes do início da fermentação, pois durante o período em que a temperatura fica baixa a fermentação pela microbiota selvagem presente no caldo continua a ocorrer mesmo que em baixa extensão.

Ainda outro ponto importante está na escolha do fermento, o desempenho de diferentes linhagens de levedura foi testado por vários autores, [14,34,35,36] que demonstraram as vantagens dessa escolha com melhorias significativas no produto final, o bom desempenho na produção de variados ésteres poderia enriquecer o sabor (*flavor*) da cachaça.

Dessa forma, o resultado reforça a necessidade de investir em novos testes aplicando outros fermentos selecionados, o que poderia render uma bebida de qualidade ainda superior com o refino do trabalho do sistema embarcado.

6. Considerações finais

O protótipo desenvolvido pelo grupo foi utilizado com sucesso na produção de cachaça. Além de proporcionar meio de produção da bebida é útil na investigação das dinâmicas dos processos de fermentação e de destilação no âmbito da pesquisa e do ensino.

Os resultados da aplicação de quimiometria mostraram que a técnica de GC-MS foi superior ao PS-MS na discriminação dos grupos de amostras, principalmente quando considerado o destilado de origem das amostras. Portanto a técnica PS-MS não é apropriada para monitorar o processo de obtenção da bebida, da forma como foi aplicada, já que por razões intrínsecas da técnica, os teores de compostos voláteis importantes são negligenciados. Pode ser avaliada a possibilidade de otimização das condições de aplicação do *paper spray* para adequação a aplicação de interesse.

A cachaça de fabricação própria tem baixíssimo teor de compostos tóxicos e indesejáveis, e limitando a avaliação aos analitos estudados ela não oferece risco a saúde do consumidor por causa desses produtos, mas existe ainda a toxicidade do etanol, se consumido em quantidade exagerada. Os compostos desejáveis, como ésteres e álcoois superiores, ocorreram em teor bastante baixo, portanto, modificações que possam contribuir no aumento desses compostos devem ser adotadas. Também a possibilidade de avaliação das frações de coração de um destilado após passarem por um processo de maturação permanecendo reunidas conforme as cachaças comerciais estudadas.

Este estudo reforça a necessidade de investir em novos testes de fermentação e destilação, aplicando condições mais próximas do processo de produção de cachaça do modo tradicional, o que poderia render uma bebida de qualidade superior.

7. Referências Bibliográficas

- 1- Indicadores Agrostat. Disponível em: <http://indicadores.agricultura.gov.br/index.htm> acesso 08/05/2018
- 2- IBRAC- Instituto Brasileiro da Cachaça Disponível em: http://www.ibrac.net/images/PDF/informacoes_imprensa_ibrac_cachaca_maior_2017.pdf acesso 08/05/2018
- 3- Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Regulamento da indicação geográfica da cachaça. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/comunicacao/noticias/2016/10/cachaca-com-indicacao-geografica-ganha-regulamento> acesso 12/01/17
- 4- Wang, H.; Liu, J.; Cooks, R. G.; Ouyang, Z. *Paper spray* for Direct Analysis of Complex Mixtures Using Mass Spectrometry. *Angewandte Chemie International Edition*. 49. 877-880. 2010.
- 5- Reid, L. M.; O'Donnell, C. P.; Downey, G. Recent technological advances for the determination of food authenticity. *Trends in Food & Technology*. 17. 344-353.2006.
- 6- Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa No. 13 de 29 de junho de 2005, que aprova o Regulamento Técnico para fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para Aguardente de Cana e para Cachaça,
- 7- Siebald, H.G.L.; Souza P.P.; Augusti, D.V.; Oliveira, L.C.A.; Catharino, R.R.; Eberlin, M.N. e Augusti, R; Brazilian cachaça: “Single shot” typification of fresh alembic and industrial samples via electrospray ionization mass spectrometry fingerprinting. *Food Chemistry* 115(6): 1064-1068, 2009.
- 8- 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. –
- 9- Siebald, H. G. L.; Canuto, M. H.; Da Silva, J. B. B. Alguns aspectos toxicológicos da cachaça. *Informe Agropecuário*, v. 30, n. 248, p. 55-59, 2009.
- 10- Maia, A. B. R. A.; Campelo, E. A. P. *Tecnologia da cachaça de alambique*. Belo Horizonte: Sebrae-MG, 2006.
- 11- Léauté, R. *Distillation in Alambic*. *American Journal of Enology and Viticulture*, v. 41, n. 1, p. 90-103, 1990.
- 12- Hoffman, E.; Stroobant, V. *Mass Spectrometry – Principles and applications*, 3rd Edition. Chichester: John Wiley & Sons Inc, 2007
- 13- Moreira, R. F. A.; Netto, C. C. De Maria, C. A. B. A fração volátil das aguardentes de cana produzidas no Brasil. *Quim. Nova*, Vol. 35, No. 9, 1819-1826, 2012

- 14- Canuto, M. H. 2013. Influência de alguns parâmetros na produção de cachaça: linhagem de levedura, temperatura de fermentação e corte do destilado Tese (Doutorado em Química Analítica). Departamento Química, UFMG, Belo Horizonte 2013.
- 15- Collins, H. C.; Braga, G.L.; Bonato, P.S. Fundamentos de cromatografia. Editora Unicamp. 1ª reimpressão São Paulo p203-269. 2007
- 16- Chiaradia, M. C.; Collins, C. H.; Jardim, I. C. S. F.; O estado da arte da cromatografia associada a espectrometria de massas acoplada a espectrometria de massas na análise de compostos tóxicos em alimentos. *Quim. Nova, Vol. 31, No. 3, 623-636, 2008*
- 17- Ciola, R. Fundamentos da cromatografia a gás. 2ª edição São Paulo p1-52, 1985.
- 18- Nascimento, E. S. P.; Cardoso, D. R.; Franco, D. W.; Comparação de técnicas de determinação de ésteres em cachaça. *Quim. Nova, Vol. 32, No. 9, 2323-2327, 2009*
- 19- Luís, A. C. P. M. N.; Mota, D.; Anjos, O.; Caldeira, I. Single-laboratory validation of determination of acetaldehyde, ethyl acetate, methanol and fusel alcohols in wine spirits, brandies and grape marc spirits using GC-FID *Ciência Téc. Vitiv. 26 (2) 69-76. 2011*
- 20- Souza, L. M.; Ferreira, K. S.; Passoni, L.C.; Bevitori, A.B.; Melo, K.V.; Viana, A.R. Teores de compostos orgânicos em cachaças produzidas na região norte fluminense - Rio de Janeiro. *Quim. Nova, Vol. 32, No. 9, 2304-2309, 2009*
- 21- Klampfl, C.W.; Himmelsbach, M.; Direct ionization methods in mass spectrometry: An overview. *Analytica Chimica Acta 30 (2015) 1-16*
- 22- Zhang Zhi-Ping*, Liu Xiao-Ning, Zheng Ya-Jun Ambient Ionization-Paper Spray Ionization and Its Application *Chin Journal Analytica Chemistry 2014, 42 (1) 145-152.*
- 23- Carvalho, T.C. Paper spray ionization: análise direta de licores do processo de etanol 2G por espectrometria de massas. 2015. Dissertação Mestrado em Química. Instituto de Química, UFG, 2015.
- 24- Liu, H. W.; N.E. Manicke, J.-M. Lin, R.G. Cooks, Z. Ouyang, Development, characterization, and application of paper spray ionization, *Anal. Chem. 82 (2010) 2463- 2471*
- 25- Liu, J.; Cooks, R. G.; Ouyang, Z. Enabling Quantitative Analysis in Ambient Ionization Mass Spectrometry: Internal Standard Coated Capillary Samplers. *Analytical Chemistry, 85: 5632-5636, 2013*
- 26- Tianyang Guo,^{ab} Zezhen Zhang,^a Karen E. Yannell, A Yiyang Dong^{band} R. Graham Cooks Paper spray ionization mass spectrometry for rapid quantification of illegal beverage dyes *Anal. Methods, 2017, 6273-6279*
- 27- James E. Keating, John T. Minges,^b Scott H. Randell^b and Gary L. Glish Paper spray mass spectrometry for high throughput quantification of nicotine and cotinine *Anal. Methods, 2018, 10, 46-50*

- 28- Pereira, H. V. Espectrometria de massas com ionização por paper spray combinada a métodos quimiométricos para identificação de falsificações em cervejas. 2016. Dissertação (Mestrado em Química, área de concentração: Química Analítica). Instituto de Ciências Exatas, UFMG, 2016.
- 29- Ferreira, M.M.C. Quimiometria – Conceitos, Métodos e Aplicações. Campinas: Editora UNICAMP. 2015
- 30- Ribeiro, F.A.L.; Barboza, F.D.; Breitzkreitz, M.C.; Martins, J.A. Quimiometria: inovação no desenvolvimento e validação de métodos analíticos para controle de qualidade na indústria química. 2018 Artigo disponível: www.crq4.org.br/informativomat_235 acesso:10/06/2018
- 31- Ferreira, M.M.C.; Antunes, A.M.; Melo, M.S.; Volpe P.L.O. Quimiometria I: Calibração multivariada um tutorial. Química Nova 22, 1999 p. 724-731.
- 32- Assunção, M.L.M; De Moura, F; Siebald, H.G.L; Mendes, E.M.A.M, Desenvolvimento de sistema de supervisão e controle de uma planta de produção de cachaça tradicional: inovação e multidisciplinariedade na abordagem de identificação e controle de processos. In: Congresso Brasileiro de Educação em Engenharia, XLV. Joinville 26 a 29 de setembro de 2017
- 33- Assunção, M.L.M; De Moura, F; Siebald, H.G.L; Mendes, E.M.A.M, Desenvolvimento de sistema de supervisão e controle de uma planta de produção de cachaça tradicional: inovação e multidisciplinariedade na abordagem de identificação e controle de processos. Princípios IFPB 39, 2018 p101-112.
- 34- Soares, T. L.; Silva, C.F.; Schwan, R. F. Acompanhamento do processo de fermentação para produção de cachaça através de métodos microbiológicos e físico-químicos com diferentes isolados de *Saccharomyces cerevisiae*. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 31(1): 184-187, jan.-mar. 2011
- 35- Figueiredo, B. I. C. Cruzamentos entre leveduras da fermentação da cachaça para a obtenção de novas estirpes: potencial para produção de cervejas. Dissertação de mestrado Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, UFOP,2016.
- 36- Silva, P. H. A.; Santos, J.O.; Araújo, L.D.; Faria, F.C.; Pereira, A.F.; Oliveira, V. A., Vicente, M. A.; Brandão, R. L. Avaliação cromatográfica de compostos voláteis de cachaças produzidas com leveduras de diferentes procedências. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 29(1): 100-106, jan.-mar. 2009
- 37- Acree, T. E. *Flavornet and human odor space*. Geneva NY, Disponível em: <<http://www.flavornet.org/flavornet.html>>. Acesso em: 25 de junho de 2018
- 38- Nascimento, R. F.; Cardoso, D. R.; Lima Neto, B. S.; Franco, D.W. Influência do material do alambique na composição química das aguardentes de cana-de-açúcar. Química Nova, 21(6) (1998) p 735-739b
- 39- Araque, I.; Reguant, C.; Rozès, N.; Bordons, A. Influence of wine-like conditions on arginine utilization by lactic acid bacteria. INT. MICROBIOL. Vol. 14, 2011 p225-233.

- 40- Møller, J. K. S.; Catharino, R.R.; Eberlin, M.N. Electrospray ionization mass spectrometry fingerprinting of whisky: immediate proof of origin and authenticity *Analyst*, 2005, *130*, 890–897
- 41- De Moura, F. Avaliação da correlação do pH, teor alcoólico, e perfil de compostos voláteis da Aguardente de Cana de Açúcar (Cachaça). 2012. Monografia (Monografia Química Tecnológica). Instituto de Ciências Exatas, UFMG, 2012.
- 42- Furijo Junior, A. Produção de cachaça. Universidade Federal de Santa Catarina. Departamento de Engenharia Química e de Alimentos. Florianópolis, 2009. Disponível em: <http://mundodacana.blogspot.com/2010/08/producao-de-cachaca.html> acesso 13/08/18
- 43- Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial – INMETRO e Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas empresas Sebrae. Certificação da Cachaça de Alambique Disponível em: [https://bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS_CHRONUS/bds/bds.nsf/08EF03D0C42761248325763F0062D66F/\\$File/NT0004292E.pdf](https://bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS_CHRONUS/bds/bds.nsf/08EF03D0C42761248325763F0062D66F/$File/NT0004292E.pdf) acesso 13/08/18
- 44- Pinheiro, P. C.; Leal, M. C.; Araújo, D. A. Origem, produção e composição química da cachaça. QNEsc N° 18. 2013
- 45- The index Merck: an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals. 14^a ed. Whitehouse Station, NJ: Merck, 2006.
- 46- Alcarde, A. R.; Monteiro, B. M.S.; Belluco, A.E.S. Composição química de aguardentes de cana-de-açúcar fermentadas por diferentes cepas de levedura *Saccharomyces cerevisiae*. *Quim. Nova*, Vol. 35, No. 8, 1612-1618, 2012
- 47- Ribeiro, M.L.D.; Ferreira, O.E.; Teixeira, V.; Mutton, M.A.; Mutton, M.J.R Tratamento físico-químico do caldo de cana produz cachaça de qualidade. *Revista Ciência Agronômica*, v. 48, n. 3, p. 458-463, jul-set, 2017
- 48- Braga, M.V.F.; Kiyotani, I.B. A cachaça como patrimônio: turismo, cultura e sabor. *Revista de Turismo Contemporâneo – RTC, Natal*, v. 3, n. 2, p. 254-275, jul/dez. 2015
- 49- Cachaçaria Brasileira. Menos tributos para micro e pequenos produtores de cachaça. disponível em: <https://www.cachacariabrasileira.com.br/noticias/item/135-cachaca-impostos-noticias> acesso em 15/08/18
- 50- Coutinho, E.P.; Ramos, Z.N.S.; Alves, A.S.; Oliveira, R.E.S. Boas Práticas de Fabricação de Cachaça de Alambique: Visão Técnica *Versus* Empresarial UNOPAR *Cient Ciências Biológicas Saúde* 2012;14(3):165-70
- 51- DIÁRIO OFICIAL DO ESTADO DE MINAS GERAIS. Publicação do resultado do edital nº 01/2009 – Demanda Universal FAPEMIG. Executivo. Diário Oficial do Estado de Minas Gerais (DOEMG)- Aprovação do projeto APQ-01215-09, Belo Horizonte, p. 117 de 2 de nov de 2009.

52- DIÁRIO OFICIAL DO ESTADO DE MINAS GERAIS. Publicação do resultado do edital nº 01/2013 – Demanda Universal FAPEMIG. Executivo. Diário Oficial do Estado de Minas Gerais (DOEMG)- Aprovação do projeto APQ-02248-13, Belo Horizonte, p. 114 de 27 de fev de 2014

53- Miranda, M.B.; Martins, N.G.S.; Belluco, A.E.S.; Horii, J.; Alcarde, A. R. Qualidade química de cachaças e de aguardentes brasileiras. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, 27(4): 897-901, out.-dez. 2007

54- Sebrae -Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. Cachaça artesanal, série estudos mercadológicos. 2013 disponível em [http://www.bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS_CHRONUS/bds/bds.nsf/444c2683e8debad2d7f38f49e848f449/\\$File/4248.pdf](http://www.bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS_CHRONUS/bds/bds.nsf/444c2683e8debad2d7f38f49e848f449/$File/4248.pdf) acesso em: 17/08/18

55- Soratto, A. N.; Varvakis, G.; Horii, J. A certificação agregando valor à cachaça do Brasil Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 27(4): 681-687, out.-dez. 2007.

ANEXOS

Anexo A

Tabela 7. Reagentes utilizados na análise do perfil de voláteis das frações do destilado de cachaça

Reagente	Grau de Pureza	Marca
1 Padrão de 2-metilbutan-1-ol	99%	Sigma Aldrich
2 Padrão de 3-metilbutan-1-ol	99%	Sigma Aldrich
3 Padrão de acetaldeído	98,5%	Sigma Aldrich
4 Padrão de acetato de etila	99,9%	Sigma Aldrich
5 Padrão de acetato de hexila	99,7%	Sigma Aldrich
6 Padrão de acetato de isobutila	99,8%	Sigma Aldrich
7 Padrão de álcool alílico ou propílico	99%	Sigma Aldrich
8 Padrão de benzaldeído	99,5%	Sigma Aldrich
9 Padrão de benzoato de etila	99%	Sigma Aldrich
10 Padrão de butan-1,4-diol	99%	Sigma Aldrich
11 Padrão de butan-1-ol	99,9%	Sigma Aldrich
12 Padrão de (+/-)butan-2-ol	99,8%	Sigma Aldrich
13 Padrão de butanoato de propila	99%	Sigma Aldrich
14 Padrão de butiraldeído	99%	Sigma Aldrich
15 Padrão de carbamato de etila	99%	Sigma Aldrich
16 Padrão de decan-1-ol	99,5%	Sigma Aldrich
17 Padrão de dimetilssulfóxido (DMSO)	99,9%	Sigma Aldrich
18 Padrão de geraniol	99%	Sigma Aldrich
19 Padrão de heptanoato de etila	99%	Sigma Aldrich
20 Padrão de hexanoato de etila	99%	Sigma Aldrich
21 Padrão de isobutanol	99,8%	Sigma Aldrich
22 Padrão de mentol	99%	Sigma Aldrich
23 Padrão de nonoato de etila	98%	Sigma Aldrich

24 Padrão de octanoato de etila	99%	Sigma Aldrich
25 Padrão de pentadecanoato de etila	96%	Sigma Aldrich
26 Padrão de pentan-1-ol	99,8%	Sigma Aldrich
27 Padrão de pentanoato de etila	99,7%	Sigma Aldrich
28 Padrão de propan-1-ol	99,9%	Sigma Aldrich
29 Padrão de propanoato de pentila	98%	Sigma Aldrich
30 Padrão de propionato de metila	99,8%	Sigma Aldrich
31 Padrão de tetradecan-1-ol	99%	Sigma Aldrich
32 Padrão de tetradecanoato de etila	99%	Sigma Aldrich
33 Padrão de undecanoato de etila	97%	Sigma Aldrich
34 Padrão de valeraldeído	97%	Sigma Aldrich
Etanol grau HPLC	99,9%	Merck
Água ultrapura Milli-Q		

ANEXO B

Parte do anexo da Instrução Normativa No. 13 de 29 de junho de 2005, que aprova o Regulamento Técnico para fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para Aguardente de Cana e para Cachaça.

3. COMPOSIÇÃO QUÍMICA E REQUISITOS DE QUALIDADE

3.1. O Coeficiente de Congêneres.

3.1.1. O Coeficiente de Congêneres (componentes voláteis "não álcool", ou substâncias voláteis "não álcool", ou componentes secundários "não álcool", ou impurezas voláteis "não álcool") é a soma de: -acidez volátil (expressa em ácido acético);- aldeídos (expressos em acetaldeído);- ésteres totais (expressos em acetato de etila); - álcoois superiores (expressos pela soma do álcool n-propílico, álcool isobutílico e álcoois isoamílicos); - furfural + hidroximetilfurfural.

3.1.2. O Coeficiente de Congêneres para os produtos previstos no subitem 2.2 do presente Regulamento Técnico não poderá ser inferior a 200mg (duzentos miligramas) por 100mL e não poderá ser superior a 650mg (seiscentos e cinquenta miligramas) por 100mL de álcool anidro.

3.1.3. Os componentes do Coeficiente de Congêneres para os produtos previstos no subitem 2.2 do presente Regulamento Técnico devem observar os seguintes limites:

	Máximo	Mínimo
Acidez volátil, expressa em ácido acético em mg/100mL de álcool anidro	150	-
Ésteres totais, expressos em acetato de etila, em mg/100mL de álcool anidro	200	-
Aldeídos totais, expressos em acetaldeído, em mg/100mL de álcool anidro	30	-
Soma de Furfural e Hidroximetilfurfural, em mg/100mL de álcool anidro	5	-
Soma dos álcoois isobutílico (2-metil propanol), isoamílicos (2-metil-1-butanol+ 3-metil-1butanol) e n-propílico (1-propanol), em mg/ 100mL de álcool anidro	360	-

3.1.4. Deverão ser detectadas as presenças de compostos fenólicos totais nas Aguardentes de Cana e nas Cachaças envelhecidas.

3.2. Ingredientes Básicos

3.2.1. Para a Aguardente de Cana-de-Açúcar: Mosto fermentado obtido do caldo de cana-de-açúcar;

Destilado Alcoólico Simples de Cana-de-Açúcar.

3.2.2. Para a cachaça: Mosto fermentado obtido do caldo de cana-de-açúcar.

3.2.3. Para o Destilado Alcoólico Simples de Cana-de-Açúcar:

Mosto fermentado obtido do caldo de cana-de-açúcar.

3.2.4. Açúcar na Aguardente de Cana Adoçada e na Cachaça Adoçada.

3.3. Ingredientes Opcionais:

3.3.1. Água

Deve obedecer às normas e padrões aprovados em legislação específica para água potável, e utilizada exclusivamente para padronização da graduação alcoólica do produto final.

3.3.2. Açúcar/Sacarose, que pode ser substituída total ou parcialmente por açúcar invertido, glicose ou seus derivados reduzidos ou oxidados, até o máximo de 6g/L (seis gramas por litro) para a Aguardente de Cana e para a Cachaça e inferior a 30g/L (trinta gramas por litro) na Aguardente de Cana Adoçada e na Cachaça Adoçada, expressos em Sacarose.

5. CONTAMINANTES

5.1. Contaminantes Orgânicos:

5.1.1. Álcool metílico em quantidade não superior a 20,0 mg/100 mL (vinte mg por 100mL) de álcool anidro.

5.1.2. Carbamato de etila em quantidade não superior a 150µg/L (cento e cinquenta microgramas por litro).

5.1.3. Acroleína (2-propenal) em quantidade não superior a 5mg/100mL (cinco miligramas por 100 mL) de álcool anidro.

5.1.4. Álcool sec-butílico (2-butanol) em quantidade não superior a 10mg/100mL (dez miligramas por 100 mL) de álcool anidro.

5.1.5. Álcool n-butílico (1-butanol) em quantidade não superior a 3mg/100ml (três miligramas por 100 mL) de álcool anidro.

5.2. Contaminantes Inorgânicos:

5.2.1. Cobre (Cu) em quantidade não superior a 5mg/L (cinco miligramas por litro)

5.2.2. Chumbo (Pb) em quantidade não superior a 200µg/L (duzentos microgramas por litro).

5.2.3. Arsênio (As) em quantidade não superior a 100µg/L (cem microgramas por litro).