

Carlos Alexandre Galinaro

**Distinção entre cachaça produzida com cana-de-açúcar
queimada e não queimada**

Dissertação apresentada ao instituto de
Química de São Carlos, da Universidade
de São Paulo para obtenção do título de
Mestre em Ciências (Química Analítica).

Orientador: Prof. Dr Douglas Wagner Franco

São Carlos

2006

Dedico este trabalho aos meus pais Carlos e Creuza, meus irmãos Luis e Rodrigo, minha avó Anazinha e a minha namorada Fabiana, pelo amor, carinho, amizade, e por serem de extrema importância na minha vida.

"Há homens que lutam um dia, e são bons;
Há os que lutam muitos dias e são muito bons;
Há os que lutam anos, e são melhores;
Porém, há os que lutam toda a vida,
Estes são os imprescindíveis."

Bertold Brecht

Agradecimentos

Para a conclusão deste trabalho, a valiosa ajuda de várias pessoas, das mais diversas formas foi fundamental, e eu não poderia deixar de registrar os meus sinceros agradecimentos.

A Deus ...

Aos meus pais Carlos e Creuza, pelo amor, carinho, incentivo, e que sempre me ajudaram a vencer os desafios.

A minha vó Anazinha, cujo carinho e preces foram de extrema importância.

Aos meus irmãos Luis e Rodrigo, que sempre acreditaram, confiaram e me incentivaram a estudar.

A minha namorada Fabiana, pelo amor, carinho, amizade, e por estar sempre ao meu lado, acreditando e me apoiando.

Ao “seo” Emilson, dona Regina, Daniela e Débora, cujo carinho e confiança foram indispensáveis.

Aos meus tios(as), Ayrton, Aurélio, Cláudio (*in memorian*), Claudete, Dirce, Fiuca, Gorete, Ilda, Marcos, Mané, Mercedes, Roberto (*in memorian*) e Sonia, pelo carinho e incentivo.

Aos meus primos(as), Ana Giulia, Ana Paula, Claudia, Fábio, Giovanna, João, Luis Carlos, Leonardo, Marcos Eduardo, Natália, Nenzão, Patrícia, Regiane, Rita, Vanessa, Vinício e Vinicinho, pelo interesse e apoio durante meus estudos.

Ao prof. Douglas, pela confiança e oportunidade.

Aos amigos(as) do LDQA, Alexandre, Daniel, Eduardo, Ellen, Ivonete, Luciana, Manassés, Olívia, Roni, Silmara, Vanessa, Wendel e Taisa, pela amizade e colaboração na execução deste trabalho.

Agradecimentos

As amigas secretarias Rosana e Veroneide, pela amizade e auxílio na realização deste trabalho.

Aos amigos(as), Carioca, Haruo, Luis Gualberto, Kátia e Kelvin que sempre se interessaram pelo meu trabalho.

Aos meus eternos amigos de república, Alexandre, Alemão, Dudu, Costela, Fabinho e Guilherme, pelos momentos de alegria e descontração.

Aos amigos(as) de graduação, Letícia, Luis Gustavo, Tiago, Túlio, Wellington e Ygor, pela amizade, apoio e estímulo.

Aos amigos Divino, “seo” Dário, Norma, Sandro e Vanderlei, que sempre estiveram presentes durante os meus estudos.

Aos funcionários do IQSC, que contribuíram com para a realização deste trabalho.

A CNPq, pela bolsa concedida.

A todos aqueles que de uma forma ou de outra, contribuíram para a execução deste trabalho.

RESUMO

Cachaça é a terceira das bebidas alcoólicas fermento-destilado mais consumida no mundo, com uma produção de aproximadamente 2,5 bilhões de litros por ano. Tradicionalmente, a cachaça é produzida a partir da destilação do mosto fermentado da cana-de-açúcar. Porém, ela pode sofrer a contaminação por HPAs (Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos) quando a cana-de-açúcar utilizada na sua produção é queimada antes da sua colheita. Objetivando a distinção entre as amostras de cachaça produzidas a partir da cana-de-açúcar colhida após a queima ou não dos canaviais, foram analisados 15 HPAs em 26 amostras de cachaça produzidas com cana-de-açúcar queimada e 105 amostras de cachaça produzidas com cana-de-açúcar não queimada. As amostras de cachaça foram previamente concentradas por extração em fase sólida (*SPE*) e analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência (*HPLC*), acoplada a um detector de fluorescência. Este método apresentou uma boa separação cromatográfica para a análise dos seguintes HPAs estudados: naftaleno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, benzo(a)antraceno, criseno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno, dibenzo(a,h)antraceno, benzo(g,h,i)perileno e indeno(1,2,3-c,d)pireno. O método cromatográfico apresentou bons limites de detecção ($5,68E-04$ a $45,4 \mu\text{g L}^{-1}$), boa porcentagem de extração e recuperação ($81,5 \pm 9 \%$ a $113 \pm 5 \%$) e uma boa reprodutibilidade ($> 90,0 \%$). As amostras produzidas a partir de cana-de-açúcar queimada apresentaram teores médios totais dos HPAs de $21,1 \mu\text{g L}^{-1}$, enquanto que as amostras produzidas com cana-de-açúcar não queimada apresentaram teores médios totais dos HPAs de $1,91 \mu\text{g L}^{-1}$.

Os dados analíticos foram tratados por meio de análise multivariada (*PCA, FA, PLS, DA, LDA, QDA e CDA*), possibilitando uma boa distinção entre as amostras produzidas com cana queimada e não queimada. Os resultados dos modelos estatísticos revelaram uma elevada probabilidade (85,0 %) na diferenciação entre estes dois grupos de cachaça.

Palavras-chave: Cachaça, HPAs, Análise Multivariada.

ABSTRACT

Cachaça is the third most consumed fermented alcoholic beverage in the world, with a production of nearly 2.5 billion liters a year. Traditionally, cachaça is made from the distillation of the fermented sugar cane juice. However, it may be contaminated by PAHs (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons) when the sugar cane used for its production is burned before harvesting. Aiming at distinguishing spirits made from burned and non-burned sugar cane, 15 PAHs in 26 cachaças samples obtained from non-burned and 105 cachaça samples obtained from burned sugar cane have been analyzed. The cachaça samples were previously concentrated by solid phase extraction (SPE) and analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC), coupled with a fluorescence detector. This method presented good chromatographic separation for the analysis of the following PAHs: naphthalene, acenaphthene, fluorene, phenanthrene, anthracene, fluoranthene, pyrene, benz(a)anthracene, chrysene, benz(b)fluoranthene, benz(k)fluoranthene, benz(a)pyrene, dibenz(a,h)anthracene, benz(g,h,i)perylene, and indeno(1,2,3-c,d)pyrene. The chromatographic method showed good detection limits ($5.68\text{E-}04$ to $45.4 \mu\text{g L}^{-1}$), good index for the clean up percentage and recovery (from $81.5 \pm 9\%$ to $113 \pm 5\%$) and a good reproducibility ($> 90.0\%$). The samples obtained from burned sugar cane presented $21.1 \mu\text{g L}^{-1}$ total PAHs average contents while the ones obtained from non-burned sugar cane showed PAHs average contents of $1.91 \mu\text{g L}^{-1}$. Such analytical data were treated by means of the multivariate statistical methods (PCA, FA, PLS, LDA, QDA and CDA), thus allowing good distinction among the samples obtained from burned and non-burned sugar cane. Results of the

statistical models presented high probability (85.0%) for the distinction between these two groups of spirits.

Keywords: Cachaça, PAHs, Multivariate Analyses.

SUMÁRIO

Lista de Figuras	i
Lista de Tabelas	iii
Lista de Esquemas	vi
Lista de Anexos	vii
Lista de Apêndices	viii
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Origem das Aguardentes	1
1.2 História da Cachaça	2
1.3 Aguardente de Cana-de-açúcar	3
1.4 Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs)	5
1.4.1 Formação dos HPAs	5
1.4.2 Propriedades Físico-Químicas	12
1.4.3 Toxicidade (mutagenicidade e carcinogenicidade)	13
1.4.4 Metabolismo	17
1.4.5 HPAs em Alimentos e Bebidas	18
1.4.6 Origem dos HPAs na Cana-de-açúcar e Derivados	21
1.4.7 Monitoramento e Legislação	25
1.5 Técnicas Cromatográficas	29
1.5.1 Métodos de Extração	29
1.5.2 Métodos Cromatográficos de Análise	31
1.6 Análise Multivariada (Quimiometria)	32
	35

2. OBJETIVO	35
3. MATERIAIS E MÉTODOS	36
3.1 Amostras	36
3.2 Reagentes	37
3.3 Preparo dos Padrões	37
3.4 Instrumentação	38
3.5 Condições Cromatográficas	38
3.6 Seleção dos Comprimentos de Onda de Excitação e de Emissão de Fluorescência	40
3.7 Programação do Detector de Fluorescência	42
3.8 Extração em Fase Sólida (<i>SPE</i>)	44
3.8.1 Extração das Amostras de Cachaça	44
3.8.2 Solubilidade dos HPAs nas Amostras de Cachaça	45
3.8.3 Recuperação	45
3.9 Avaliação do Método Proposto	46
3.9.1 Linearidade	46
3.9.2 Limite de Detecção e Quantificação	46
3.9.3 Exatidão E Precisão Do Método	47
3.10 Análise Quimiométrica	47
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
4.1 Análise Cromatográfica dos Padrões de HPAs	49
4.2 Análise Cromatográfica das Amostras de Cachaça	51
4.3 Análise Cromatográfica das Cachaças Envelhecidas	53

4.4	Análise Cromatográfica dos Rums	55
4.5	Análise Cromatográfica dos Uíques	56
4.6	Recuperação	58
4.6.1	Porcentagem de Recuperação	58
4.6.2	Influência do “Efeito Matriz” da Recuperação das Amostras de Cachaça	62
4.7	Avaliação do Método Proposto	65
4.7.1	Linearidade	65
4.7.2	Limite de Detecção e de Quantificação	66
4.7.3	Exatidão e Precisão	68
4.8	Análise Quantitativa dos HPAs	70
4.8.1	HPAs nas Amostras de Cachaça	70
4.8.2	HPAs nas Amostras de Cachaça Envelhecida, Rum e Uísque	72
4.8.3	Cachaça Produzida com Cana-de-açúcar Queimada X Cachaça Produzida com Cana-de-açúcar Não Queimada	77
4.8.4	Comparação entre os Teores Médios dos HPAs nos Destilados	80
4.8.5	Comparação dos Teores Médios dos HPAs com a Legislação	82
4.9	Análise Multivariada	86
4.9.1	Distinção entre Cachaça Produzida com Cana-de-açúcar Queimada e Cachaça Produzida com Cana-de-açúcar Não Queimada	87
4.9.2	Análise e Componentes Principais (PCA)	87
4.9.3	Análise de Fatores (FA)	91
4.9.4	Regressão dos Mínimos Quadrados Parciais (PLS)	95
4.9.5	Análise Hierárquica de Agrupamentos (HCA)	98

4.9.6 Análise Discriminante Canônica (<i>CDA</i>)	98
4.9.7 Análise Discriminante Linear (<i>LDA</i>)	101
4.9.8 Análise Discriminante Quadrática (<i>QDA</i>)	105
4.10 Distinção entre Cachaça Envelhecida, Rum, Uísque Escocês e Uísque Americano	109
4.10.1 Análise de Componentes Principais (<i>PCA</i>)	110
4.10.2 Análise de Fatores (<i>FA</i>)	113
4.10.3 Regressão dos Mínimos Quadrados Parciais (<i>PLS</i>)	116
4.10.4 Análise Hierárquica de Agrupamentos (<i>HCA</i>)	118
5. CONCLUSÃO	119
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	121
ANEXO	131
APÊNDICE	134

Lista de Figuras

Figura 1. Estrutura química e anelação de alguns HPAs.	5
Figura 2. Anelação do tipo contorno.	6
Figura 3. Estrutura química dos 16 HPAs monitorados pela <i>USEPA</i> [39,66].	27
Figura 4. Gradiente de eluição utilizado nas análises dos HPAs.	39
Figura 5. Espectro de absorção do naftaleno.	40
Figura 6. Espectro de emissão de fluorescência do acenafteno.	41
Figura 7. Cromatograma típico dos padrões de HPAs.	50
Figura 8. Cromatograma típico de uma amostra de cachaça produzida com cana-de-açúcar queimada.	51
Figura 9. Cromatograma típico de uma amostra de cachaça produzida com cana-de-açúcar não queimada.	52
Figura 10. Cromatograma típico de uma amostra de cachaça envelhecida.	54
Figura 11. Cromatograma típico de uma amostra rum.	55
Figura 12. Cromatograma típico de uma amostra de uísque escocês.	56
Figura 13. Cromatograma típico de uma amostra de uísque americano.	57
Figura 14. Porcentagem de recuperação dos HPAs com diclorometano e hexano.	59
Figura 15. Visualização da existência de interferentes nos testes de recuperação.	64
Figura 16. Gráfico de escores obtido para o conjunto de amostras de cachaça (grupo vermelho = 105 amostras e grupo preto = 26 amostras).	88
Figura 17. Gráfico de pesos entre PC 1 x PC 2 para o conjunto de 131 amostras de cachaça.	90

Figura 18. Gráfico de escores entre os fatores 1 e 2 da <i>FA</i> obtido para o conjunto de amostras de cachaça (grupo vermelho = 105 amostras e grupo preto = 26 amostras).	92
Figura 19. Gráfico de pesos das componentes 1 e 2 da <i>FA</i> .	93
Figura 20. Gráfico de escores entre as componentes 1 e 2 da <i>PLS</i> .	96
Figura 21. Gráfico de pesos das componentes 1 e 2 da <i>PLS</i> .	97
Figura 22. Gráfico de escores da <i>CDA</i> , considerando Root 1 x Root 2 (A e B = amostras 73 e 76 do modelo; C = amostra 114 do grupo teste).	100
Figura 23. Gráfico de escores obtido para o conjunto as amostras destiladas: cachaça envelhecida (vermelho), rum (preto), uísque escocês (verde) e uísque americano (azul).	111
Figura 24. Gráfico de pesos entre PC 1 x PC 2 para cachaça envelhecida, rum , uísque escocês e uísque americano.	112
Figura 25. Gráfico de escores entre os fatores 1 e 2 da <i>FA</i> , obtido para as amostras de cachaça envelhecida (vermelho), rum (preto), uísque escocês (verde) e uísque americano (azul).	114
Figura 26. Gráfico de pesos das componentes 1 e 2 da <i>FA</i> .	115
Figura 27. Gráfico de escores entre as componentes 1 e 2 da <i>PLS</i> : rum (preto), cachaça envelhecida (vermelho), uísque escocês (verde) e uísque americano (azul).	117
Figura 26. Gráfico de pesos das componentes 1 e 2 da <i>PLS</i> .	118

Lista de Tabelas

Tabela 1. Efeitos carcinogênicos, genotóxicos e mutagênicos de alguns HPAs ^[37] .	14
Tabela 2. Fatores de toxicidade equivalente (TEFS) para HPAs individuais ^[40] .	16
Tabela 3. Teores de HPAs em amostras de grappa ^[56] .	20
Tabela 4. Soma dos teores máximos e mínimos de eq BaP em uísques ^[54] .	21
Tabela 5. Dados da concentração (ng L ⁻¹) dos constituintes da cana-de-açúcar submetidos a queima em fogo controlado ^[26] .	23
Tabela 6. Concentração média dos HPAs em µg Kg ⁻¹ nos caldos de cana-de-açúcar colhida verde e colhida queimada ^[38] .	24
Tabela 7. Programação do gradiente de eluição utilizado na análise dos HPAs.	39
Tabela 8. Tempo (minutos), comprimentos de onda de excitação e emissão para cada HPA utilizado na programação do detector de fluorescência.	43
Tabela 9. Porcentagem de recuperação média dos HPAs com diferentes proporções de acetonitrila adicionadas as soluções alcoólicas fortificadas.	61
Tabela 10. Porcentagem média de recuperação nas soluções alcoólicas e nas amostras de cachaça previamente quantificada.	63
Tabela 11. Equações de regressão linear (y = área cromatográfica e x = concentração) e coeficientes de correlação (r ²).	65
Tabela 12. Limite de quantificação e de detecção dos padrões de HPAs.	67
Tabela 13. Exatidão e precisão do método cromatográfico utilizado na análise dos HPAs.	69
Tabela 14. Média, mediana, menor valor, maior valor soma dos HPAs nas 131 amostras de cachaça (µg L ⁻¹).	71
Tabela 15. Média, mediana, menor valor, maior valor e soma dos HPAs nas amostras de cachaça envelhecida (µg L ⁻¹).	73

Tabela 16. Média, mediana, menor valor, maior valor e soma dos HPAs nas amostras de rum ($\mu\text{g L}^{-1}$).	74
Tabela 17. Média, mediana, menor valor, maior valor e soma dos HPAs nas amostras de uísque escocês ($\mu\text{g L}^{-1}$).	75
Tabela 18. Média, mediana, menor valor, maior valor e soma dos HPAs nas amostras de uísque americano ($\mu\text{g L}^{-1}$).	77
Tabela 19. Média, mediana, menor valor, maior valor e soma dos HPAs nas amostras produzidas com cana-de-açúcar queimada e com cana-de-açúcar não queimada ($\mu\text{g L}^{-1}$).	78
Tabela 20. Teores médios dos HPAs nas amostras de cachaça produzida com cana queimada, não queimada, cachaça envelhecida, rum, uísque escocês e uísque americano ($\mu\text{g L}^{-1}$).	81
Tabela 21. Teores médios e soma dos teores médios dos HPAs em $\mu\text{g kg}^{-1}$ nas amostras de cachaça produzidas com cana-de-açúcar queimada e não queimada.	83
Tabela 22. Valores de pesos obtidos na separação PC 1 x PC 2 para cada HPA.	91
Tabela 23. Valores de pesos obtidos na separação 1º Fator x 2º Fator da FA.	94
Tabela 24. Valores de variância acumulada obtidos na PLS.	95
Tabela 25. Classificação obtida na CDA para os dois grupos de cachaça.	99
Tabela 26. Classificação obtida na CDA para as amostras teste.	101
Tabela 27. Classificação das amostras no modelo da LDA.	102
Tabela 28. Classificação das amostras após a validação cruzada do modelo da LDA.	103
Tabela 29. Classificação das amostras teste da LDA.	104
Tabela 30. Classificação das amostras no modelo da QDA.	106
Tabela 31. Classificação das amostras após a validação cruzada do modelo da QDA.	107
Tabela 32. Classificação das amostras teste da QDA.	108

Tabela 33. Valores de pesos obtidos na separação PC 1 x PC 2 para cada HPA.	113
Tabela 34. Valores de pesos obtidos na separação 1º Fator x 2º Fator da FA.	115
Tabela 35. Valores de variância acumulada obtidos na <i>PLS</i> .	116

Lista de Esquemas

Esquema 1. Principais aromáticos alquilados e não alquilados produzidos a partir da pirólise do estigmasterol ^[31] .	9
Esquema 2. Seqüência de etapas para a pirossíntese do piceno a partir do estigmasterol ^[34] .	10
Esquema 3. Seqüência de etapas para a retirada de hidrogênio e adição de acetileno do anel aromático ^[35] .	11
Esquema 4. Reação de oxidação radicalar ^[36] .	11
Esquema 5. Condensação de hidrocarbonetos formando HPAs mais compactos ^[25] .	12

Lista de Anexos

ANEXO I. Propriedades físicas e químicas dos HPAs.	132
ANEXO II. Modelo do questionário respondido pelos produtores de cachaça.	133

Lista de Apêndices

APÊNDICE I. Tipo de colheita aplicada à cana-de-açúcar.	135
APÊNDICE II. Concentração dos HPAs nas 131 amostras de cachaça.	142
APÊNDICE III. Concentração dos HPAs nas amostras de cachaça envelhecida, rum, uísque escocês e uísque americano.	161
APÊNDICE IV. Espectros de absorção dos HPAs.	165
APÊNDICE V. Espectros de emissão de fluorescência dos HPAs.	169

1. INTRODUÇÃO

1.1 Origem das Aguardentes

As primeiras notícias^[1] que se têm sobre a fermentação vieram do Egito Antigo, onde os egípcios inalavam diretamente do bico da chaleira os vapores de líquidos fermentados, com o objetivo de curar algumas moléstias. No entanto, os gregos chegaram primeiro^[1-3] ao processo de obtenção da “*ácqua ardens*”, conhecida como água que pegava fogo ou aguardente. A receita foi parar então com os alquimistas, que viram na bebida propriedades medicinais e místicas, passando a ser chamada de “água da vida ou elixir da longevidade”^[1].

Com a expansão do Império Romano, o elixir da longevidade alcança a Europa e posteriormente o Oriente Médio. No Oriente, os árabes descobrem os primeiros equipamentos para a destilação^[2,3], semelhante aos alambiques que são utilizados atualmente. Esta tecnologia espalhou-se pelo mundo todo, no entanto cada país utilizava uma matéria-prima diferente na destilação. Na Itália a uva era utilizada para fazer a *grappa*; na Alemanha a cereja dava origem ao *Kirsh*; a cevada gerava o uísque na Escócia; na Rússia utilizava-se o centeio para a produção da vodca; no Japão e na China obtinha-se o saquê a partir do arroz; e Portugal utilizava o bagaço da uva para produzir a bagaceira^[2,3].

1.2 História da Cachaça

A história da cachaça no Brasil tem início no final do século XV e início do século XVI, com a vinda dos portugueses e com o advento das primeiras plantações de cana-de-açúcar. Nesse período, os nobres europeus passaram a conhecer o açúcar e a desejá-lo em sua mesa. Por ser um produto de alto valor comercial, banqueiros e mercadores eram impulsionados a buscá-lo onde ele estivesse e a produzi-lo onde pudessem. Nesse cenário de alta valorização do açúcar no continente europeu, tem início à história da cana-de-açúcar^[1] no Brasil.

Tudo começou entre 1532 e 1548, na Capitania de São Vicente, quando Martin Afonso de Sousa introduziu a cana-de-açúcar no Brasil, e onde por acaso foi descoberto o "vinho" da cana-de-açúcar, conhecido como "garapa azeda da cana"^[2]. Essa garapa vinha dos engenhos de rapadura e ficava ao relento, em cochos de madeira, servindo apenas de alimento para os animais, onde fermentava com facilidade. Com o decorrer dos anos, os portugueses provaram e notaram que a garapa apresentava propriedades sensoriais superiores as do cauim^[2] dos índios, bebida que era produzida com o emprego de cuspe para facilitar a fermentação do milho (ou mandioca). O caldo azedo^[2] recebeu o nome *cagaça*, passando então a ser fornecido aos escravos para que pudessem suportar melhor a pesada carga de trabalho nos canaviais. Como os portugueses já estavam com saudades da bagaceira e como conheciam as técnicas de destilação, eles tiveram a idéia de destilar a *cagaça*, nascendo assim a cachaça^[2].

Quando a *cagaça* era submetida à destilação, dava origem a um líquido transparente e brilhante, ardente quando ingerido, que ficou conhecido como

aguardente. Considerando-se que durante a destilação este líquido sempre pingava, ele passou a ser chamado de pinga^[2,3].

A palavra “cachaça” apresenta uma controvérsia^[3] quanto a sua origem, pois foi atribuída primeiramente a pinga que era utilizada para amaciar a carne de porco (cachaço, ou cachaça no feminino). Também, acredita-se que seja derivada da primeira fervura da cana-de-açúcar, que se eleva (alteia) e toma a forma de um pescoço ou cachaço no tacho, além da própria palavra espanhola “cachaza”. O fato é que a palavra cachaça praticamente não foi usada em nenhum outro país, existindo somente no Brasil para nomear a bebida destilada obtida do caldo da cana-de-açúcar.

1.3 Aguardente de Cana-de-açúcar

A aguardente de cana-de-açúcar é a bebida com graduação alcoólica de 38% v/v a 54% v/v a 20°C^[4], obtida do destilado alcoólico simples de cana-de-açúcar ou pela destilação do mosto fermentado do caldo de cana-de-açúcar, podendo ser adicionada de açúcares até 6 gL⁻¹ (seis gramas por litro). Cachaça^[4] é a denominação típica e exclusiva da aguardente de cana produzida no Brasil, com graduação alcoólica de 38% a 48% v/v a 20°C, e com características sensoriais peculiares.

A produção de aguardente ocorre em todas as regiões brasileiras, mas a maior parte esta localizada nos estados de São Paulo, Pernambuco, Ceará, Rio de Janeiro, Goiás e Minas Gerais. Juntos, eles totalizam uma produção superior a 1,50 bilhões de litros, e respondem por cerca de 75,0% da produção^[2] nacional. Para a fabricação de cachaça são produzidos^[2] no Brasil mais de 10 milhões de toneladas de cana-de-açúcar por ano.

A cachaça é a terceira das bebidas alcoólicas destiladas mais produzidas no mundo, superada apenas pela vodca e pelo *soju* (destilado alcoólico de origem Koreana, a base de arroz e batata doce), porém o seu consumo está basicamente restrito ao território brasileiro. A produção nacional^[5] de cachaça é estimada em torno de 2,5 bilhões de litros de por ano, mas apenas 1% da produção chega ao mercado internacional. Os principais países^[6] importadores da cachaça brasileira são a Alemanha, com 17,0% do total, Portugal (11,3%), Estados Unidos (9,11%), Itália (7,24%), Paraguai (7,02%), Argentina (6,86%), Espanha (5,92%), e Reino Unido (3,18%). O Brasil exportou em 1995 2,8 milhões^[5] de litros, passando para 10,2 milhões de litros em 2004, enquanto que apenas no primeiro bimestre de 2005 as exportações totalizaram 1,7 milhões de litros. O crescimento^[6] médio no volume de exportações de cachaça branca, cachaça envelhecida e/ou misturada (“*blend*”) foi de 10% ao ano, e a projeção é chegar a 40 milhões de litros de cachaça até o ano de 2010.

Como no Brasil existem mais de 5 mil marcas de cachaça, e cerca de 30 mil produtores^[6], o setor produtor de cachaça é muito importante na economia brasileira, pois gera uma receita de aproximadamente US\$ 500 milhões, empregando mais de 450 mil pessoas direta e indiretamente. Ao longo dos anos, vários estudos foram realizados com o intuito de se conhecer o perfil químico da cachaça brasileira. Assim, já foram desenvolvidas metodologias para a análise de: ácidos carboxílicos (ácido acético, ácido isobutírico, ácido benzóico)^[7], álcoois (metanol, etanol, propanol, 2-butanol)^[8], carbamato de etila^[9], cetonas (acetona, 2-pentanona, 4-metil-2-pentanona)^[10], dimetilsulfeto^[11], ésteres (acetato de etila)^[12], fenóis (2-metoxifenol, 2-fenol, 3-guaicol)^[13], hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs)^[14], metais (chumbo, cobre,

ferro, manganês, magnésio, potássio, zinco)^[15], dentre outros, objetivando-se sempre correlacionar, identificar e quantificar as origens, os defeitos e as qualidades da cachaça brasileira.

1.4 Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs)

1.4.1 Formação dos HPAs

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) são uma classe de compostos orgânicos, constituídos por átomos de carbono e hidrogênio, que contém dois ou mais anéis aromáticos fundidos, podendo ou não ter grupos substituintes ligados^[16,17]. A anelação destes hidrocarbonetos pode ocorrer de forma linear ou angular (Figura 1).

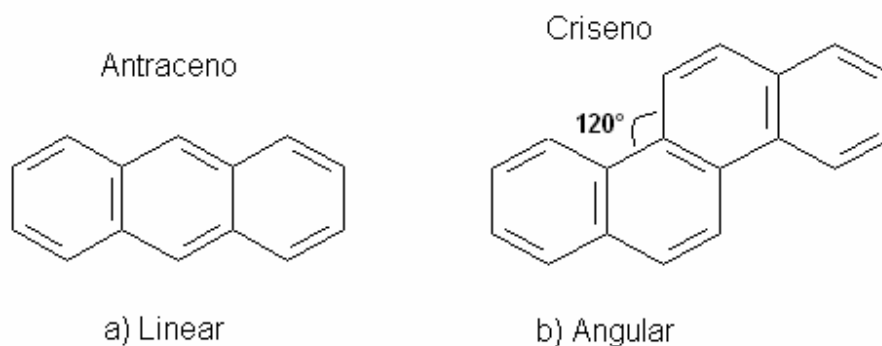


Figura 1. Estrutura química e anelação de alguns HPAs.

De acordo com a Figura 1, observa-se que na forma linear os anéis estão arranjados em linha reta, como por exemplo, o antraceno. Já no modo angular, os anéis

estão dispostos linearmente, mas apresentam ramificações formando um ângulo de 120° , como é o caso do criseno ^[18].

Um outro tipo de anelação que pode ocorrer com os HPAs é a conformação em posição de contorno. Neste tipo de conformação, a estrutura do hidrocarboneto possui um anel benzênico central que esta sempre circundada (contornado) por outros anéis aromáticos, como é o caso do coroneno (Figura 2) ^[18].

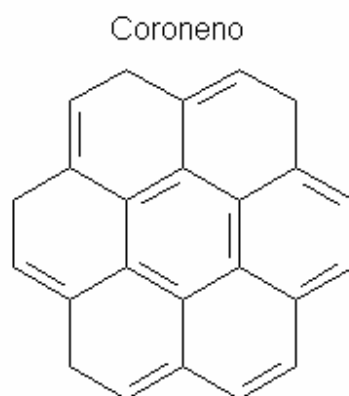


Figura 2. Anelação do tipo contorno.

Os HPAs são compostos formados durante a combustão incompleta de material orgânico em elevadas temperaturas ^[19,20,21]. São originados principalmente por atividades naturais ^[22], como queimadas em florestas, atividades vulcânicas, decomposição de material biológico (resultado de centenas de anos de degradação), biossíntese de microorganismos, algas e plantas ^[23], e/ou por fontes antropogênicas ^[24], como veículos automotores (diesel ou gasolina) ^[25], sistemas de aquecimento domésticos, atividades industriais (destilarias de petróleo, gaseificação do coque, produção de alumínio e carvão mineral) ^[18], vazamentos de óleo, processos de defumação e secagem direta com madeira, torrefação, queima de plásticos ^[26], fumaça

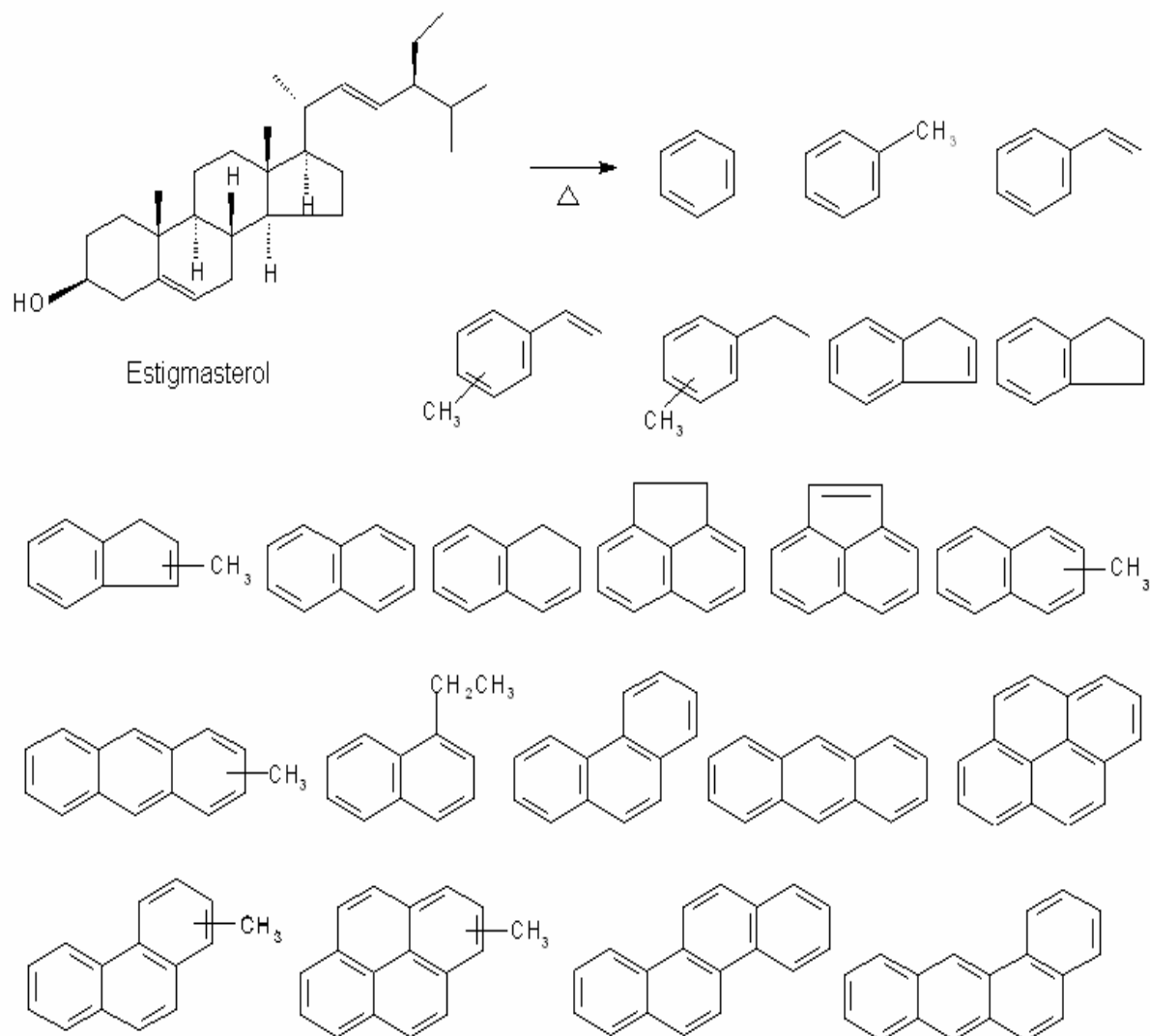
de cigarro^[27], queima de material biossintético (biomassa)^[28], ou seja, são gerados por fontes onde predominam processos de combustão.

O mecanismo de formação dos HPAs não está totalmente esclarecido, mas acredita-se que estejam envolvidos dois processos distintos de reação: a pirólise e a pirossíntese^[29]. Em temperaturas elevadas (300 a 800°C) e em baixa concentração de oxigênio, compostos orgânicos de elevada massa molecular são fragmentados parcialmente em moléculas menores, com dois ou três anéis aromáticos, e alguns radicais livres (pirólise)^[29,30]. Os HPAs e os radicais livres gerados durante a pirólise podem se recombinar para produzir moléculas maiores e mais estáveis, com quatro, cinco ou seis anéis aromáticos (pirossíntese). A formação dos HPAs também pode ocorrer em baixas temperaturas (100 a 150°C), no entanto requer um tempo maior de aquecimento, resultando em hidrocarbonetos alquilados^[22,29,30].

Durante os processos de pirólise e/ou pirossíntese, tanto a quantidade quanto a composição dos HPAs produzidos^[31,32] variam em função do material a ser pirolisado, da temperatura de combustão, do tempo de permanência das moléculas no estado gasoso e da concentração de oxigênio. A formação^[33] desses compostos é favorecida principalmente em temperaturas entre 400 e 800°C. Quando a temperatura varia de 400 a 650 °C observa-se a formação de hidrocarbonetos com dois a cinco anéis aromáticos, como naftaleno, acenaftileno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno e pireno. Já em temperatura igual ou superior a 500°C observa-se a formação de criseno, benzo(a)antraceno e benzo(a)pireno. Outros HPAs, como indeno(1,2,3-c,d)pireno, dibenzo(a,h)antraceno e benzo(g,h,i)perileno também são produzidos, mas em temperaturas superiores a 600°C^[31,32,33].

A combustão da biomassa e de seus componentes individuais é a maior fonte de material particulado, e está associada a formação dos HPAs^[28,31,32]. A biomassa envolve todo tipo de material biossintético, como vegetais (flora), alguns tipos de detritos (resíduos, produtos da decomposição natural ou vegetal que se acumulam no chão, carvão da turfa), fauna, e todos os produtos gerados pela indústria utilizando derivados cru da biomassa (papel, borracha)^[29].

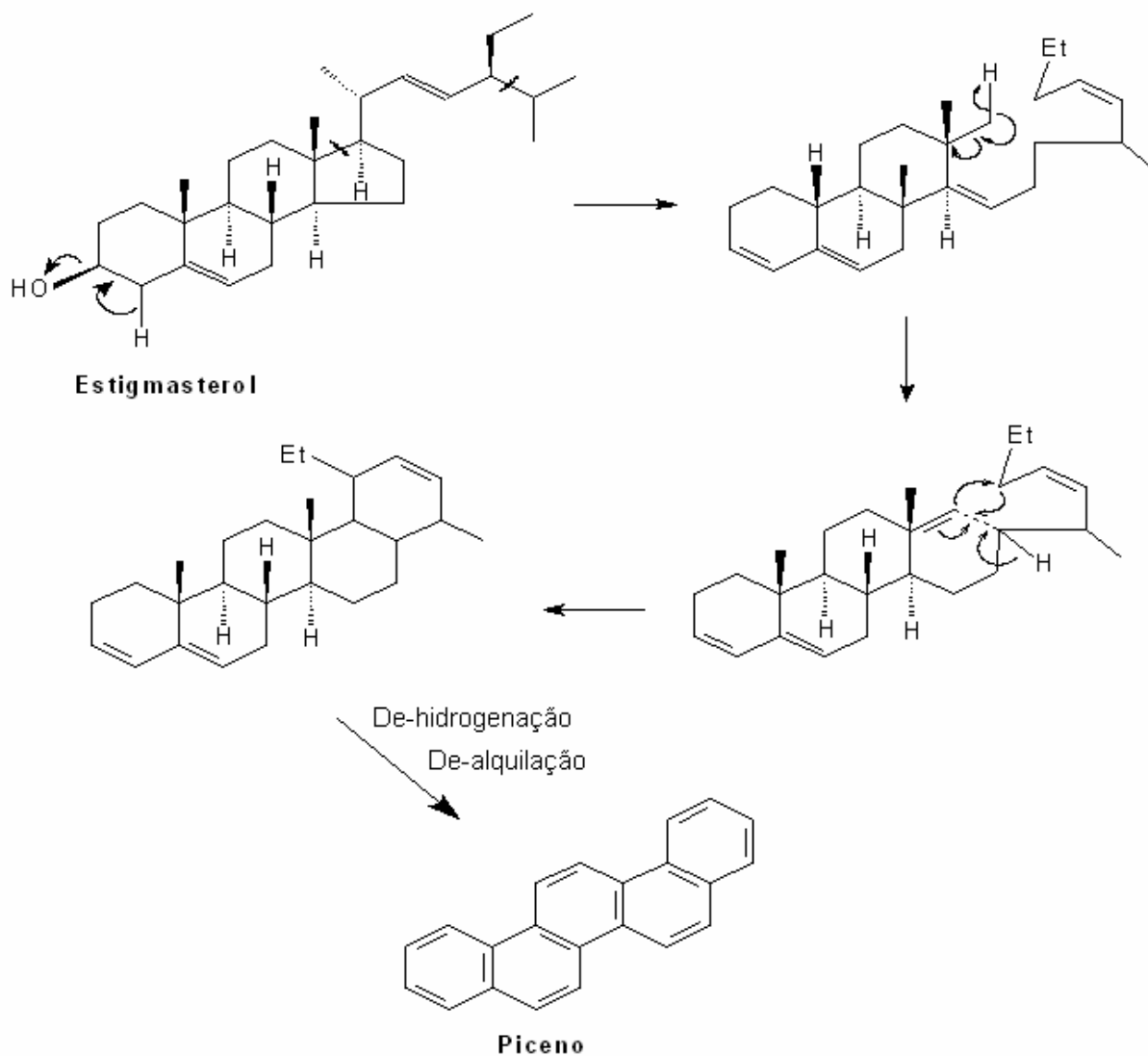
Nos extratos não polares de biomassa e em óleos de algumas espécies de árvores, a membrana lipídica da planta apresenta alguns tipos de esteróides e esteróides de ésteres. Esta membrana contém cerca de 1.1% da massa total da planta, e é constituída principalmente pelo estigmasterol, β -sitosterol (84.0%), acetato de estigmasterol e campesterol^[29]. O mecanismo para a formação dos HPAs pode seguir diferentes rotas. Propostas para a formação dos HPAs tem sido encontrada geralmente através de resultados experimentais de combustão da biomassa. O Esquema 1 mostra alguns dos principais hidrocarbonetos alquilados e não alquilados, como naftaleno, antraceno, etil-naftaleno, metil-antraceno gerados a partir da pirólise do estigmasterol^[31], na temperatura entre 650 a 700°C.



Esquema 1. Principais aromáticos alquilados e não alquilados produzidos a partir da pirólise do estigmasterol^[31].

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos mais complexos não precisam necessariamente ser quebrados em pequenos fragmentos antes da pirossíntese. Compostos com muitos anéis aromáticos, já presentes na molécula, podem resistir à quebra parcial da molécula seguida pela hidrogenação dos radicais primários. O

Esquema 2 mostra a seqüência de etapas sugeridas para a pirossíntese do piceno a partir do estigmasterol^[34].

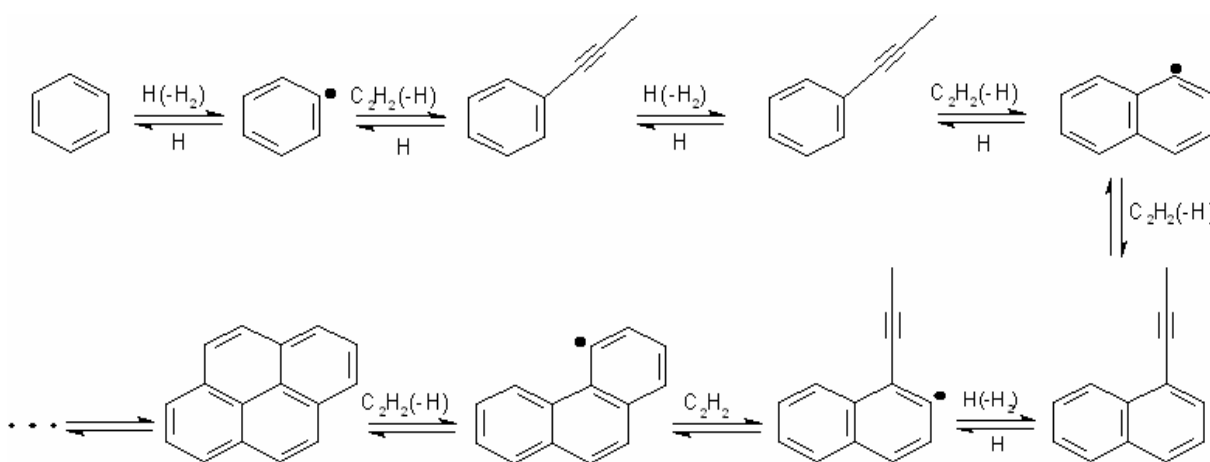


Esquema 2. Seqüência de etapas para a pirossíntese do piceno a partir do estigmasterol^[34].

Reações secundárias durante a pirólise da biomassa, em temperaturas elevadas, também podem levar a formação dos HPAs. Como por exemplo, nas reações de

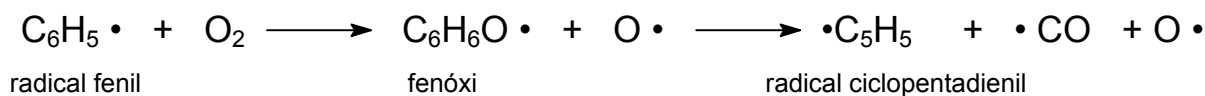
retirada de hidrogênio e adição de acetileno^[35], reações de oxidação^[36] e reações de condensação^[25].

Nas reações de retirada de hidrogênio e adição de acetileno, um radical aromático é gerado quando um átomo de hidrogênio é retirado do anel. Já a adição de acetileno promove o aumento^[35] da estrutura molecular (Esquema 3).



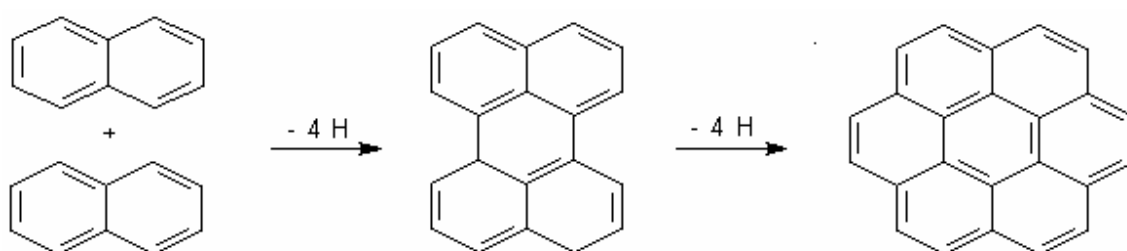
Esquema 3. Seqüência de etapas para a retirada de hidrogênio e adição de acetileno do anel aromático^[35].

Nas reações de oxidação, um radical aromático reage com oxigênio gerando um novo radical. Este novo radical oxigenado decompõe-se e forma gás carbônico e um radical com um número menor de átomos de carbono. O Esquema 4 apresenta um exemplo deste tipo de reação, através da formação do radical ciclopentadienil a partir da oxidação do radical fenil^[36].



Esquema 4. Reação de oxidação radicalar^[36].

Já os hidrocarbonetos de elevada massa molecular (com até 24 anéis aromáticos) são gerados através de reações de condensação. Pequenas moléculas de HPAs perdem átomos de hidrogênio, reagem com outros anéis aromáticos que estão a sua volta, e por sua vez formam reentrâncias (“bacias”) que são favoráveis a agregação de novos anéis aromáticos (Esquema 5)^[25].



Esquema 5. Condensação de hidrocarbonetos formando HPAs mais compactos^[25].

1.4.2 Propriedades Físico-Químicas

O comportamento ambiental e biológico dos HPAs pode ser entendido através de algumas importantes propriedades físico-químicas (ANEXO I). Estas substâncias são sólidas a temperatura ambiente, pouco solúvel em água (em geral sua solubilidade diminui com o aumento do número de anéis), possuindo elevados pontos de ebulição e fusão. São solúveis em solventes orgânicos e demonstram grande afinidade lipofílica (expressa pelo coeficiente de partição octanol/água, K_{ow} , superior a 1000) que aumenta com o aumento do número de anéis aromáticos^[37].

Por outro lado, a volatilidade destes compostos diminui com o aumento da massa molecular, e conseqüentemente, os HPAs de massas moleculares mais baixas,

como por exemplo o naftaleno, acenafteno e fluoreno, são voláteis e apresentam maiores pressão de vapor que os HPAs mais pesados, tais como o dibenzo(a,h)antraceno, benzo(g,h,i)perileno e indeno(1,2,3-c,d)pireno. O mesmo é observado com respeito aos valores da constante de Henry, que diminui com o aumento da massa molecular destas substâncias^[37]. Como consequência destas propriedades, na atmosfera estas substâncias podem ser encontradas tanto na fase gasosa quanto adsorvida em materiais particulado.

No solo, os HPAs encontram-se geralmente adsorvidos no material constituinte e ficam retidos nas camadas superiores. As meias vidas dos compostos de maior massa molecular são relativamente elevadas, indicando que a sua degradação é lenta^[37].

Em virtude de suas propriedades físico-químicas e da grande distribuição ambiental, o risco de contaminação humana por estas substâncias é significativo. De fato, devido ao seu caráter lipofílico, os HPAs e seus derivados podem ser absorvidos pela pele, por ingestão ou inalação, sendo rapidamente distribuídos pelo organismo^[37].

1.4.3 Toxicidade (mutagenicidade e carcinogenicidade)

Os HPAs são substâncias potencialmente carcinogênicas^[16-38] que pertencem a classe dos pró-carcinogênicos, pois necessitam sofrer uma ativação metabólica preliminar para formar o carcinógeno ativo e tornarem-se capazes de reagir com o DNA e outras moléculas^[38].

Os HPAs de baixa massa molecular (dois, três ou quatro anéis aromáticos) apresentam uma significativa toxicidade. No entanto, alguns dos hidrocarbonetos de elevada massa molecular (com cinco ou seis anéis) além de serem tóxicos são também

altamente mutagênicos^[39]. Alguns dados sobre carcinogenicidade, genotoxicidade e mutagenicidade de alguns HPAs^[37] encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1. Efeitos carcinogênicos, genotóxicos e mutagênicos de alguns HPAs^[37].

HPAs	Carcinogenicidade	Genotoxicidade	Mutagenicidade
Fluoreno	I	L	-
Fenatreno	I	L	+
Antraceno	N	N	-
Fluoranteno	N	L	+
Pireno	N	L	+
Benzofluorenos	S	I	?
Benzofluorantenos	S	I	+
Ciclopenta(cd)pireno	L	S	+
Benzo(a)antraceno	S	S	+
Criseno	L	L	+
Trifenileno	I	I	+
Benzo(e)pireno	I	L	+
Benzo(a)pireno	S	S	+
Perileno	I	I	+
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	S	I	+
Dibenzo(a,c)antraceno	L	S	+
Dibenzo(a)antraceno	S	S	+

* Continua na página 15.

HPAs	Carcinogenicidade	Genotoxicidade	Mutagenicidade
Dibenzo(a,j)antraceno	L	I	+
Benzo(g,h,i)perileno	I	I	+
Antraceno	L	I	+
Coroneno	I	I	+
Dibenzo(a,e)fluoranteno	L	N	
Dibenzopirenos	S	I	+
2-Nitronaftaleno	N	L	-
1-Nitropireno	I	S	+

* Continuação da Tabela 1 da página 14. Dados disponíveis para a comprovação do efeito: S = suficiente; I = insuficiente; L = limitados; N = não carcinogênico; Genotoxicidade foi avaliada através de testes de deterioração de DNA; aberração cromossômica, mutagenicidade. Mutagenicidade (teste de Ames, avalia a habilidade de um determinado produto induzir mutações reversas em diferentes linhagens de *Salmonella typhimurium*): + (positivo); - (negativo); ? (inconclusivo).

Pode ser observado pelos dados da Tabela 1 que a capacidade carcinogênica e mutagênica dos diferentes HPAs é significativa para aqueles que possuem mais de 4 anéis aromáticos fundidos e maior para os que têm 5 ou 6 anéis. A substituição de hidrogênio por grupos químicos, também pode afetar drasticamente a atividade dos hidrocarbonetos, dependendo da posição onde a substituição ocorre no grupo substituinte^[37].

Embora estes potenciais tóxicos e mutagênicos terem sido amplamente estudados em animais (ratos, experimentos in vitro), é difícil comparar os efeitos de toxicidade dos hidrocarbonetos em animais com relação ao ser humano. Em função disto, o potencial carcinogênico^[40] de diferentes HPAs pode ser medido em função dos fatores de equivalência tóxica (*Toxic Equivalency Factors*, TEFs). O TEFs dividem os

HPAs em duas classes, os carcinogênicos e os não carcinogênicos e indica separadamente o potencial carcinogênico de cada HPA. O TEF é dado em função do benzo(a)pireno (Tabela 2), por ser um dos mais potentes carcinógenos de grupo e também porque os seus efeitos e mecanismos de ação já foram testados e investigados detalhadamente em diferentes sistemas^[40].

Tabela 2. Fatores de toxicidade equivalente (TEFS) para HPAs individuais^[40].

HPAs	TEFs
Dibenzo(a,h)antraceno	5 #
Benzo(a)pireno	1
Benzo(a)antraceno	0,1
Benzo(b)fluoranteno	0,1
Benzo(k)fluoranteno	0,1
Indeno(1,2,3,c-d)pireno	0,1
Antraceno	0,01
Benzo(g,h,i)perileno	0,01
Criseno	0,01
Acenafteno	0,001
Acenaftileno	0,001
Fluoranteno	0,001
Fluoreno	0,001
2-Metilnaftaleno	0,001

* Continua na página 17.

HPAs	TEFs
Naftaleno	0,001
Fenantreno	0,001
Pireno	0,001

Valor aplicado principalmente para contaminação ambiental. * Continuação da Tabela 2 da página 16.

1.4.4 Metabolismo

Os HPAs são absorvidos através dos pulmões, trato gastro-intestinal e pele. São largamente distribuídos pelo organismo através de qualquer rota e são encontrados em praticamente todos os órgãos internos, principalmente naqueles ricos em lipídeos. O metabolismo dos HPAs é complexo, sendo geralmente convertidos em epóxidos e estes posteriormente em fenóis, dióis e trióis, que podem ser conjugados com ácido sulfúrico, glucorônico ou com glutatona. Embora a maior parte do metabolismo resulte em detoxificação, alguns HPAs são ativados formando espécies DNA-ligantes, principalmente diol epóxidos, que podem iniciar tumores ^[38].

Os HPAs podem produzir tumores tanto no local de contato quanto em local distante deste, e o potencial carcinogênico do composto pode variar de acordo com a rota de exposição. Quatro mecanismos tem sido propostos para explicar a ativação dos HPAs: 1) oxidação enzimática seguida de hidrólise com formação de diolepóxidos (é o mecanismo mais aceito); 2) formação de ésteres benzílicos, eletrofílicos, através de uma série de reações de substituição; 3) produção de radicais catiônicos através da oxidação enzimática com envolvimento de um elétron e 4) de-hidrogenação enzimática

dos metabólitos di-hidrodióis produzindo quinonas capazes de reagir diretamente com o DNA ou capazes de reagir com O_2 gerando espécies oxigenadas reativas, como radicais hidroxilas ou superóxidos que atacam o DNA^[38].

É importante realçar que o aparecimento do câncer é um processo que envolve várias etapas (não apenas a formação de adutos com o material genético), sendo também influenciado por suscetibilidade individual e outros fatores, tais como gênero, etnia, idade, estado de saúde, nutrição e polimorfismo genético. Em geral, a maior concentração de adutos HPAs-DNA é encontrada em fumantes ou pessoas ocupacionalmente expostas^[38].

1.4.5 HPAs em Alimentos e Bebidas

A presença dos HPAs em alimentos deve-se principalmente à sua formação durante certos tipos de processamento como defumação, torrefação, secagem direta com madeira, poluição do ar e da água, além da sua presença em solos marinhos e terrestres^[34]. Existem muitos estudos sobre a ocorrência de HPAs em diversos tipos de alimentos, incluindo óleos vegetais^[16,17,30,41,42], frutas, vegetais^[16,18,30,41,42], cereais^[26], alimentos grelhados^[18,20], defumados^[18] e de origem marinha^[26,43-46], chá^[26,47], café^[26,48], água^[39,49-53], bebidas destiladas^[54-55], entre outros.

As bebidas alcoólicas, destiladas e fermentadas, podem sofrer a contaminação por HPAs durante as etapas de produção, por meio de adição de caramelo (utilizado para a correção da coloração da bebida envelhecida) no produto final ou durante o período de maturação. Nas bebidas preparadas a partir do malte, a cevada germinada é seca por meio dos vapores de turfa queimada. Uísque e outros destilados alcoólicos

podem sofrer contaminação quando passados através de filtros de carvão vegetal ou quando estocados por um longo período de tempo em barris de madeira (carbonizados por contato direto com fogo ou por meio de circulação de ar quente)^[54,55]. Já nos vinhos a contaminação pode ocorrer durante o armazenamento em barris carbonizados^[55].

Um estudo^[56] avaliou a contribuição de diferentes tipos de HPAs na alimentação da população do Reino Unido. Foram analisados 11 HPAs em diferentes tipos de alimentos: cereais, carne, frutas, vegetais, óleos, gorduras e cerveja. Destes, 7 foram detectados nas amostras de cerveja [fluoranteno, pireno, benzo(a)antraceno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno, benzo(g,h,i)perileno, onde os teores médios variaram de 0,003 $\mu\text{g Kg}^{-1}$, para o benzo(k)fluoranteno, a 0,08 $\mu\text{g Kg}^{-1}$, para o fluoranteno, evidenciando que estes teores não conferem riscos a saúde.

Na Alemanha, um estudo^[57] semelhante foi realizado quanto a presença de 17 HPAs. De 12 amostras de bebidas alcoólicas analisadas, apenas 4 HPAs foram detectados: benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, dibenzo(a,i,j)antraceno e 6-metilcriseno, sendo que os teores médios encontrados foram, respectivamente, de 0,002 $\mu\text{g Kg}^{-1}$; 0,006 $\mu\text{g Kg}^{-1}$; 0,004 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ e 0,05 $\mu\text{g Kg}^{-1}$.

Um outro estudo^[23] monitorou seis HPAs, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno, dibenzo(a,h)antraceno, benzo(g,h,i)perileno e indo(1,2,3-c,d)pireno, em nove amostras de cerveja e em duas amostras de vinho. Os resultados mostraram que a soma desses hidrocarbonetos variaram de 0,03 $\mu\text{g L}^{-1}$ a 0,57 $\mu\text{g L}^{-1}$ para as amostras de cerveja, enquanto que nas amostras de vinho a soma dos 6 hidrocarbonetos foi de 0,05 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Num estudo recente^[55], 7 HPAs foram monitorados em diferentes tipos de bebidas alcoólicas (vinho, rum, grappa, *brandy* e uísque) submetidos a diferentes períodos de envelhecimento. Verificou-se que a soma das concentrações dos hidrocarbonetos analisados variou de zero a 0,172 $\mu\text{g L}^{-1}$, e que os maiores teores de HPAs foram encontrados nas bebidas que provavelmente foram envelhecidas em barris que foram carbonizados de maneira tradicional (queimado por braseiro).

Amostras de grappa^[58] defumadas por diferentes períodos de tempo antes da destilação, foram analisadas quanto a presença de 16 HPAs, demonstraram que a soma desses hidrocarbonetos aumentava com o aumento do tempo de defumação (Tabela 3).

Tabela 3. Teores de HPAs em amostras de grappa^[58].

Tempo de defumação (minutos)	Σ dos HPAs ($\mu\text{g L}^{-1}$)
0	3,8
120	32,7
240	98,2
460	186,6

Um trabalho realizado^[54] com 18 uísques das mais variadas marcas, avaliou a presença de 15 HPAs em equivalentes de benzo(a)pireno (eq BaP), mostrou que os uísques de malte escocês apresentam teores em eq BaP superiores aos demais destilados (*blend* escocês, *bourbon* americano e uísque irlandês), e que estes teores dependem da maneira como estes destilados foram produzidos (Tabela 4).

Tabela 4. Soma dos teores máximos e mínimos de eq BaP em uísques^[54].

Tipo de uísque	\sum eq BaP (ng L ⁻¹) mínima	\sum eq BaP (ng L ⁻¹) máxima
Malte escocês	15,7	47,5
Blend escocês	6,0	13,1
Bourbon americano	3,4	11,9
Irlandês	4,6	10,0

1.4.6 Origem dos HPAs na Cana-de-açúcar e Derivados

A produção de cana-de-açúcar foi impulsionada no Brasil a partir de 1970, pelo PROÁLCOOL, programa desenvolvido pelo governo brasileiro para estimular a produção de etanol usado como combustível. O Brasil possui 25,0% da plantação mundial de cana-de-açúcar, compreendendo uma área cultivada de 4,5 milhões de hectares, que produz cerca de 11 bilhões de litros de etanol além de 14,2 milhões de toneladas de açúcar^[28,59]. A indústria canavieira envolve cerca de 324 usinas de cana de açúcar e mais de 1,1 milhão de trabalhadores rurais^[60,61]. Em particular, a região sudeste, principalmente o Estado de São Paulo, é responsável por cerca de 80,0% da produção nacional e envolve aproximadamente 400.000 trabalhadores^[28,59-61].

Na época da colheita da cana-de-açúcar, que ocorre todos os anos de maio a novembro (principalmente na região sul) a cana é queimada antes do corte. Este corte objetiva de facilitar a colheita manual, proteger o trabalhador rural do corte das folhas afiadas, insetos, animais peçonhentos e servindo também para aumentar o teor de açúcar na cana (através da desidratação). A prática da queima dos canaviais antes da

colheita introduz partículas de fuligem na atmosfera, assim como inúmeros compostos potencialmente tóxicos, entre eles os HPAs^[28,59-61]. Para evitar a queimada dos canaviais o governo do Estado de São Paulo regulamentou^[62] a colheita da cana estabelecendo prazo de até 30 anos a partir de 2002 para o fim das queimadas no Estado. Nas áreas mecanizáveis, a queima deve ser eliminada gradativamente a cada cinco anos em 20%, 30%, 50%, 80% e 100% em relação à área cortada, onde espera-se que o fim das queimadas se de em 2021. Para as áreas não mecanizáveis a eliminação terá um prazo maior, sendo a cada cinco anos também, porém com percentuais de áreas queimadas em relação as cortadas mais brandas, resultando no fim das queimadas em 2031^[62].

Em um estudo recente^[28], bagaço e folhas de duas diferentes variedades de cana-de-açúcar foram queimados sob fogo controlado. Posteriormente as amostras de fumaça foram coletadas em filtros e analisadas quanto a presença de 15 HPAs. Na fumaça do bagaço foram encontrados 7 hidrocarbonetos, com níveis variando de 6,49 a 37,1 ng m⁻³. Nas amostras referentes às folhas foram encontrados 9 de 10 HPAs nas duas variedades, com níveis variando de 2,26 a 368 ng m⁻³ (Tabela 5)^[28].

Tabela 5. Dados da concentração (ng m^{-3}) dos constituintes da cana-de-açúcar submetidos a queima em fogo controlado^[28].

HPAs	Bagaço	Folha 1	Folha 2
Acenaftileno	N.D.	69,1	26,7
Acenafteno	N.D.	N.D.	N.D.
Fluoreno	14,5	N.D.	N.D.
Fenantreno	19,3	38,3	241
Antraceno	24,4	59,9	368
Fluoranteno	37,1	156	340
Pireno	22,7	114	181
Benzo(a)antraceno	N.D.	95,0	90,1
Criseno	N.D.	61,7	87,1
Benzo(b)fluoranteno	6,4	21,2	21,9
Benzo(k)fluoranteno	N.D.	84,9	19,4
Benzo(a)pireno	17,1	N.D.	N.D.
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	N.D.	N.D.	2,26
Dibenzo(a,h)antraceno	N.D.	N.D.	N.D.
Benzo(g,h,i)perileno	N.D.	N.D.	N.D.

N.D. = não detectado

Análises em material particulado^[60] coletados na cidade de Araraquara (SP), durante o período de colheita da cana-de-açúcar, mostraram a presença de 17 HPAs. A soma dos HPAs analisados variou de 13,4 a 94,0 ng m^{-3} , com média de 49,3 ng m^{-3} .

Em um trabalho semelhante realizado em Campo dos Goytacazes (RJ), foram

coletadas amostras de aerossol no período de um ano em três pontos diferentes da cidade. Foi verificado a presença de 16 HPAs, sendo que os maiores valores foram encontrados durante o inverno, onde a soma das concentrações foi de 179,6; 336,17; e 354,0 ng m^{-3} , dependendo do local onde as amostras foram coletadas^[64].

Em um estudo recente^[38], caldo de cana-de-açúcar colhida verde e colhida queimada foram analisados quanto a presença de 5 HPAs: benzo(a)antraceno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno e dibenzo(a,h)antraceno. Os caldos de cana verde apresentaram soma de 0,32 $\mu\text{g Kg}^{-1}$, enquanto que os caldos de cana queimada apresentaram uma somatória de 1,32 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ (Tabela 6), evidenciando que a queima dos canaviais é uma fonte de contaminação do caldo, e conseqüentemente dos seus derivados.

Tabela 6. Concentração média dos HPAs em $\mu\text{g Kg}^{-1}$ nos caldos de cana-de-açúcar colhida verde e colhida queimada^[38].

HPAs	Caldo de cana verde	Caldo de cana queimada
Benzo(a)antraceno	0,08	0,32
Benzo(b)fluoranteno	0,06	0,27
Benzo(k)fluoranteno	0,05	0,17
Benzo(a)pireno	0,11	0,38
Dibenzo(a,h)antraceno	0,03	0,17
Σ dos HPAs	0,32	1,32

Um outro estudo^[63] realizado em amostras de açúcar comercial, mostrou que o teor de HPAs depende do tipo de açúcar produzido. As concentrações de 5 HPAs totais encontrados foram de 0,11 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ no açúcar refinado; 0,83 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ em açúcar granulado; 0,28 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ em açúcar mascavo; 0,31 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ em açúcar orgânico e 0,06 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ em açúcar demerara.

Trabalho realizado com vários tipos de alimentos^[65] (lácteos, cereais, panificados, leguminosas, tubérculos, carnes e açúcar) mostrou que as amostras de açúcar apresentaram teor total dos HPAs de 15,4 $\mu\text{g Kg}^{-1}$, resultado este superior aos investigados para todos os outros tipos alimentos, cujos níveis médios variam de 0,09 a 9,29 $\mu\text{g Kg}^{-1}$.

Um estudo recente^[14] monitorou 16 HPAs em 28 amostras de cachaça, observando a presença destes hidrocarbonetos na maioria das amostras, com teores médios que variaram de 0,050 a 9,7 $\mu\text{g L}^{-1}$. Um estudo semelhante monitorou 5 HPAs [benzo(a)antraceno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno e dibenzo(a,h)antraceno] em 25 amostras de cachaça produzidas em diferentes estados brasileiros, onde os teores totais de HPAs estiveram entre 0,10 a 1,94 $\mu\text{g L}^{-1}$ [38]. Todos estes resultados evidenciam que a prática da queima dos canaviais pode levar a contaminação da cana-de-açúcar e dos seus derivados por HPAs.

1.4.7 Monitoramento e Legislação

Como os HPAs são considerados poluentes ambientais em função do seu potencial carcinogênico e/ou mutagênico, alguns órgãos internacionais^[17,39] passaram a monitorá-los. O Comitê Científico de Alimentos da União Européia (Scientific Committee

on Food, SCF) possui uma lista com 33 HPAs, e destes 15 são considerados potencialmente carcinogênicos e/ou mutagênicos à humanidade^[41]. A Agência de Proteção Ambiental Americana^[39,66] (*United States Environmental Protection Agency, USEPA*) monitora 129 poluentes ambientais, e destes 16 são HPAs. Já o Instituto Nacional de Saúde e Segurança Ocupacional (*National Institute for Occupational Safety & Health, NIOSH*) controla 17 hidrocarbonetos, adicionando o benzo(e)pireno a lista da *USEPA*^[59]. As estruturas dos 16 HPAs monitorados pela EPA são mostrados na Figura 3.

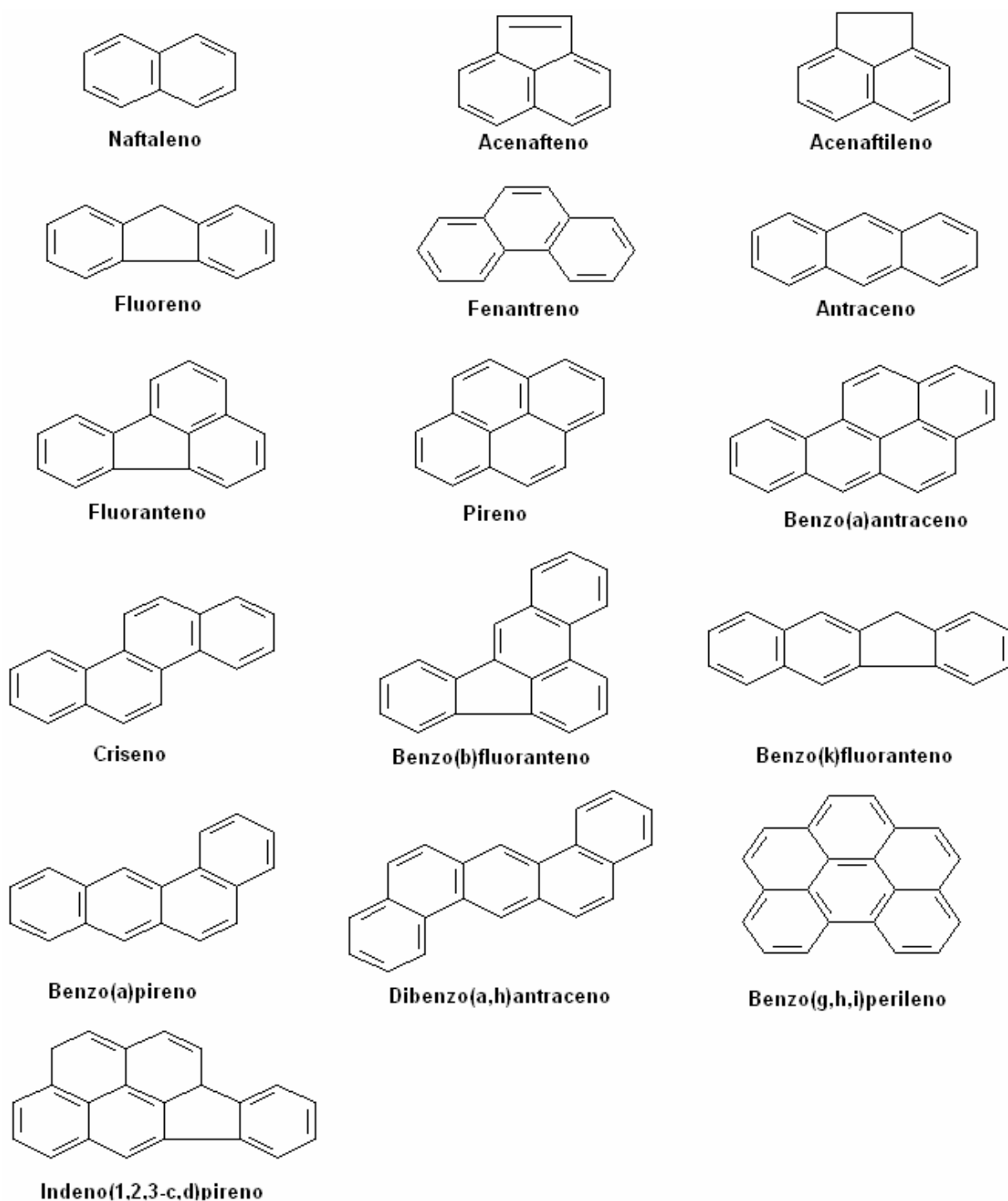


Figura 3. Estrutura química dos 16 HPAs monitorados pela *USEPA*^[39,66].

Até o presente momento não existe limite legal para os teores de HPAs em água e alimentos. Na falta de limites legais, alguns países passaram a adotar limites próprios. Para o monitoramento destes hidrocarbonetos países europeus como Alemanha, Áustria, República Tcheca, Suíça, Eslováquia, Itália e Polônia adotaram um limite tolerável de benzo(a)pireno de $1 \mu\text{g Kg}^{-1}$ em alimentos defumados [18,30,48].

Na Alemanha outro órgão, a Sociedade Alemã da Ciência dos Lipídeos (*German Society for Fat Science*) tem fixado para alimentos defumados o limite de $25 \mu\text{g Kg}^{-1}$ para os HPAs totais e de $5 \mu\text{g Kg}^{-1}$ para os HPAs de elevada massa molecular [30,22].

Na Itália [16], o Ministério da Saúde Italiano (*Italian Ministry of Health*) e na Espanha [42], o Conselho de Regulamentações (*Council Regulation, ordem 25 de julio 2001*) estabeleceram um limite máximo de HPAs em resíduos de óleo de oliva de $2 \mu\text{g Kg}^{-1}$ para 8 HPAs: indeno(1,2,3-c,d)pireno, benzo(g,h,i)perileno, benzo(e)pireno, benzo(b)fluoranteno, benzo(a)antraceno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno e dibenzo(a,h)antraceno. Já para a soma a destes hidrocarbonetos o máximo permitido é de $5 \mu\text{g Kg}^{-1}$ [16,42].

A União Européia (*European Union, EU*) em uma de suas diretrizes (*Directive 98/83/EC*) propõe o monitoramento de 4 HPAs em água potável: benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(g,h,i)perileno e indeno(1,2,3-c,d)pireno; fixando como limite máximo para estes HPAs individualmente a concentração de 100 ng L^{-1} , e de $10,0 \text{ ng L}^{-1}$ para o benzo(a)pireno [52]. Para alimentos defumados, a *EU (EEC Directive 88/388)* limita a presença de benzo(a)pireno em $0,03 \mu\text{g Kg}^{-1}$, mas está planejando alterar este limite para $1 \mu\text{g Kg}^{-1}$. Já para outros alimentos [17,22,27] a *EU* determina que a presença de benzo(a)pireno é indicador de outros HPAs, como benzo(a)antraceno,

benzo(b)fluoranteno, benzo(j)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(g,h,i)perileno, criseno, ciclopenta(c,d)pireno, dibenzo(a,h)antraceno, dibenzo(a,e)pireno, dibenzo(a,h)pireno, dibenzo(a,i)pireno, indeno(1,2,3,c-d)pireno e 5-metilcriseno, estabelecendo o limite de $2 \mu\text{g Kg}^{-1}$.

Nos Estados Unidos^[18,22] a Associação de Alimentos em Conserva (*Snack Food Association, SFA*) adota que os aromas/aromatizantes dos condimentos utilizados na produção de alimentos industrializados não deva possuir teores de benzo(a)pireno e benzo(a)antraceno superiores a $10 \mu\text{g Kg}^{-1}$ e $20 \mu\text{g Kg}^{-1}$, respectivamente.

No Brasil a legislação^[67] vigente determina que as águas destinadas ao consumo humano não tenham teor de benzo(a)pireno superior a $0,01 \mu\text{g L}^{-1}$, não existindo limites para os demais alimentos.

1.5 Técnicas Cromatográficas

1.5.1 Métodos de Extração

Um dos principais problemas na determinação^[21,23,24,48,5159,61] dos HPAs é que estes encontram-se em matrizes muito complexas, com um grande número de interferentes. Outro problema é que a concentração dos HPAs encontrada em amostras “reais” é muito baixa em relação aos outros compostos presentes na matriz, dificultando assim a sua identificação^[24]. Com o intuito de reduzir esses problemas, vários métodos de extração vem sendo descritos na literatura para auxiliar na determinação dos HPAs.

Uma das técnicas mais usadas^[22,39] para a concentração dos HPAs é a extração líquido-líquido (*liquid-liquid extraction, LLE*), no entanto ela requer um tempo grande de

análise e consome uma quantidade considerável de solvente. Os métodos de extração são continuamente revisados e aprimorados, resultando em novas metodologias que reduzem o tempo de extração e preparação das amostras.

Um dos métodos é a micro extração em fase sólida (*solid phase microextraction, SPME*) utilizada na extração de compostos voláteis e semi-voláteis, por meio de uma fibra polimérica recoberta por polidimetilsiloxano (*PDMS*)^[39,54,55]. Uma técnica alternativa é a extração em fluido supercrítico (*supercritical fluid extraction, SFE*), onde o CO₂, em temperatura e pressão acima do ponto crítico, é utilizado como fase móvel por ser um excelente solvente para compostos orgânicos apolares^[17,49]. Outra técnica de extração mais recente é a *SBSE* (*stir bar sorptive extraction*), que utiliza como fase extratora uma barra magnética recoberta por *PDMS*^[50,53]. Outro método analítico^[16,39,48-51,68] que pode ser empregado na extração e na concentração dos HPAs é extração em fase sólida (*solid phase extraction, SPE*).

A *SPE*^[69] consiste de um sistema de separação líquido-sólido, baseada nos mecanismos de separação de cromatografia líquida de baixa pressão, empregando uma pequena coluna aberta de extração (cartucho), a qual contém a fase sólida (fase estacionária), onde é passada a amostra contendo o analito de interesse.

A *SPE* é utilizada quando existem interferentes nas matrizes, sendo necessário a limpeza (“clean up”) ou a concentração (“enriquecimento”) do analito^[69]. A *SPE* apresenta algumas vantagens^[69], tais como: o tempo total para a extração é reduzido; o volume total de solvente orgânico utilizado é muito pequeno; pode ser automatizada, permitindo a extração de dezenas de amostras simultaneamente.

1.5.2 Métodos Cromatográficos de Análise

A maneira mais comum de se determinar e quantificar os HPAs é por meio da análise cromatográfica. Uma delas é a cromatografia gasosa de alta resolução (*high resolution gás chromatography, HRGC*), que faz uso de dois tipos de detectores: o detector de ionização por chama (*flame ionization detector, FID*)^[18,30,66] e o detector por espectrometria de massas (*mass spectrometric, MS*)^[16-18,28,30,45,60,61,64,66], separadamente.

A determinação dos hidrocarbonetos também pode ser feita por meio da cromatografia líquida de alta eficiência (*high performance liquid chromatography*), que também utiliza dois tipos de detectores, o detector de ultra violeta com arranjo de fotodiodo (*UV-diode array*)^[24,71], e o detector de fluorescência (*fluorescence detection*)^[16-18,22,24,30,43,66,68].

Comparado com a cromatografia gasosa, a cromatografia líquida apresenta algumas vantagens quando aplicada ao estudo de contaminantes orgânicos em alimentos e bebidas^[48]: são desnecessárias limpezas totais (*clean up*) das amostras, reduzido-se prováveis fontes de erro experimental e aumentando-se o poder de recuperação; não é necessário a utilização de padrões internos para a correção dos erros de extração e/ou erros experimentais na injeção.

A determinação e quantificação dos HPAs ocorre principalmente por meio cromatografia líquida de alta eficiência. A *EPA* sugere a utilização da *HPLC*^[14,21,23,40,73] acoplada a um detector de fluorescência, por ser este um detector sensível e bastante seletivo para moléculas que fluorescem, como é o caso dos HPAs^[18,30,41,66].

1.6 Análise Multivariada (Quimiometria)

A análise multivariada é uma ferramenta matemática e estatística, que faz uma correlação entre os resultados obtidos por meio de análises químicas com alguns fatores externos, como clima, variedade geográfica, processos de produção^[74-84].

Dentre as diversas técnicas quimiométricas encontradas na literatura, as mais utilizadas são: Análise de Componentes Principais (*Principal Components Analysis, PCA*), Análise de Fatores (*Factor Analysis, FA*), Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (*Partial Least Square, PLS*), Análise Hierárquica de Agrupamentos (*Hierarchical Cluster Analysis, HCA*), Análise Discriminante Canônica (*Canonical Discriminant Analysis, CDA*), Análise Discriminante Linear (*Linear Discriminant Analysis, LDA*), Análise Discriminante Quadrática (*Quadratic Discriminant Analysis, QDA*).

A análise por *PCA*^[10,77-84] utiliza de um tratamento matemático que identifica no hiperespaço das variáveis as direções na qual a maior parte das informações está contida. Por meio da projeção dos resultados analíticos de cada amostra no espaço, formado pelas novas componentes principais, é possível demonstrar diferenças entre as várias amostras ou grupos de amostras (gráfico de escores), determinando-se ao mesmo tempo quais variáveis estão envolvidas principalmente (gráfico de pesos).

A análise de *FA*^[10,77,79] é um procedimento estatístico utilizado para descobrir relações entre variáveis de um conjunto de muitos dados. Ela permite que as diversas intercorrelações entre as variáveis sejam agrupadas em algumas dimensões, chamadas fatores, que permitem a redução de uma grande quantidade de variáveis em um novo conjunto, menor e mais significativo.

A análise por *PLS*^[10,79,83] é um método que permite diferenciar um grupo de amostras de outro, permitindo o tratamento dos grupos separadamente. Esta técnica de modelagem estabelece a relação entre grupos de preditores e variáveis resposta. Ela é particularmente utilizada quando as variáveis são altamente colineares ou quando possuímos mais variáveis do que amostras e a regressão normal falhou ou produziu coeficientes com alto desvio padrão.

A análise de *HCA*^[77,79,84] é uma ferramenta de análise exploratória de dados que busca classificar diferentes objetos em grupos, de modo que o grau de associação entre dois objetos seja máximo quando estes pertencerem ao mesmo grupo, ou mínimo quando eles forem de grupos diferentes. A análise de agrupamentos pode ser utilizada para explorar banco de dados e descobrir estruturas sem fornecer uma explicação. Em outras palavras, a análise de agrupamento simplesmente descobre se existe a formação de grupos no banco de dados, sem explicar a razão da existência deste grupo.

A análise de *CDA*^[10,77,79] tem como objetivo explicar a relação entre dois conjuntos de variáveis, encontrando um pequeno número de combinações lineares para cada um dos conjuntos de variáveis, de modo a maximizar as correlação possíveis entre os grupos. A análise das variáveis canônicas (obtidas pelas combinações lineares) pode ser de grande utilidade no estudo de dependências multivariadas quando se possui grupos definidos de amostras, determinando a função canônica que maximiza a separação entre estes grupos.

Já análise de *LDA*^[77-79] assume que todos os grupos possuem uma mesma matriz de covariância, enquanto que a análise de *QDA* não utiliza este recurso para classificar as amostras em grupos. Tanto a *LDA* quanto a *QDA* são tratamentos

estatísticos que apresentam melhores resultados quando consideramos dois ou três grupos de amostras, sendo que para uma quantidade maior de grupos, estas análises tornam-se ineficientes.

2. OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi utilizar a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) acoplada a um detector de fluorescência para determinar e quantificar 15 dos 16 hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), monitorados pela Agência de Proteção Ambiental Americana (USEPA), em 103 amostras de cachaça coletadas em diferentes cidades do interior do Estado de São Paulo, as quais fazem parte do Projeto Políticas Públicas (Fapesp, 2001/12934-0). Posteriormente foram analisadas 28 amostras de cachaça, que fazem parte de uma segunda etapa de coleta do mesmo projeto, juntamente com 04 amostras de cachaça envelhecida, 04 amostras de rum, 04 amostras de uísque escocês e 04 amostras de uísque americano para fins comparativos.

Com os resultados experimentais obtidos e com auxílio da análise multivariada (Quimiometria) verificou-se a possibilidade de se distinguir as amostras de cachaça em dois grupos distintos: as produzidas com cana-de-açúcar queimada e as produzidas com cana-de-açúcar não queimada. Também, verificou-se a possibilidade na distinção entre as amostras de cachaça envelhecida, rum, uísque de origem escocesa e uísque de origem americana, além de uma maior compreensão da origem dos HPAs nas amostras de cachaça e em outras bebidas destiladas.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Amostras

Foram analisados 15 HPAs em 131 amostras de cachaça, coletadas de diferentes produtores e em diferentes cidades localizadas no interior do Estado de São Paulo. Um questionário (ANEXO II), contendo as informações sobre a origem da cana-de-açúcar, o tipo de colheita (cua ou queimada), entre outras informações, foi respondido pelos produtores no momento da coleta destas amostras de cachaça.

Estas foram numeradas de 1 a 131, com o objetivo de facilitar a identificação e na análise quimiométrica. O código e o tipo de cana-de-açúcar colhida (queimada ou não queimada) utilizada na produção destas amostras, encontram-se listadas no APÊNDICE I. Destas, 28 foram utilizadas para a validação dos modelos estatísticos criados, sendo diferenciadas das demais amostras pela palavra “teste” (APÊNDICE I).

Já no APÊNDICE II estão listados os valores das concentrações dos 15 HPAs analisados nas 131 amostras de cachaça.

Para fins comparativos, foram analisadas 04 amostras de cachaça envelhecida (16, 8, 6 e 2 anos), 04 amostras de rum, 04 amostras de uísque escocês e 04 amostras de uísque americano, todas comerciais. As concentrações destas amostras encontram-se listadas no APÊNDICE III.

3.2 Reagentes

Os padrões utilizados para a análise dos HPAs foram todos de pureza analítica (SIGMA, ALDRICH, MERCK) e estão listados a seguir: naftaleno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, benzo(a)antraceno, criseno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno, dibenzo(a,h)antraceno, benzo(g,h,i)perileno e indeno(1,2,3-c,d)pireno. A escolha dos padrões foi efetuada considerando-se os 16 HPAs monitorados pela Agência de Proteção Americana (USEPA), excluindo-se o acenaftileno que não pode ser analisado pelo detector de fluorescência.

Os solventes utilizados foram acetonitrila, metanol, etanol (J.T. Backer, USA) e diclorometano, hexano (Tedia, USA), e são todos de pureza cromatográfica. A água utilizada foi previamente destilada e, a seguir deionizada por um sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, USA).

3.3 Preparo dos Padrões

As soluções estoque foram preparadas a partir da dissolução de 50,0 mg dos padrões dos HPAs em 50,0 mL de uma solução metanol/acetonitrila (1:1). As soluções padrão foram preparadas por diluições sucessivas das soluções estoque em acetonitrila, nas concentrações de aproximadamente 100 mg L⁻¹, 2 mg L⁻¹ e 250 µg L⁻¹. Todas as soluções foram armazenadas em frascos de vidro âmbar e estocadas sob refrigeração, à temperatura de aproximadamente 4°C.

3.4 Instrumentação

Utilizou-se um espectrofotômetro, modelo Cary 5G UV-Vis-NIR (*Varian*), para a obtenção dos espectros de absorção, que compreenderam uma varredura entre 200 a 800 nm. Os comprimentos de onda, correspondentes aos máximos de absorção de cada analito, foram utilizados posteriormente para a obtenção dos comprimentos de onda de excitação dos HPAs.

Para obtenção dos espectros de emissão de fluorescência dos HPAs utilizou-se um espectrofluorímetro modelo F-4500 (*Hitachi*). Os comprimentos de onda, correspondentes à excitação e a emissão de fluorescência de cada analito, foram utilizados então para a análise qualitativa e quantitativa dos HPAs no cromatógrafo líquido com detector de fluorescência.

A análise cromatográfica foi baseada na metodologia proposta pela *USEPA* para a análise de HPAs em água^[72]. As análises quantitativas foram efetuadas por adição de padrão, por meio de um cromatógrafo líquido (*Shimadzu*), modelo LC-10AD, equipado com injetor (*Shimadzu*) com loop de 5 μ L, acoplado a um detector de fluorescência, modelo RF-551 (*Shimadzu*),

3.5 Condições Cromatográficas

A coluna cromatográfica utilizada na separação dos HPAs foi de fase reversa C18 Supelcosil LC-PAH (*Supelco*), de 25cm x 4,6mm d.i., com partículas de 5 μ m de tamanho, acoplada a uma pré-coluna GVP-ODS (*Shimadzu*), de 5L x 2,0 d.i..

A fase móvel empregada na análise foi composta de água (solvente A) e acetonitrila (solvente B). A eluição da fase móvel foi feita no modo gradiente, com fluxo de $0,4 \text{ mL min}^{-1}$. A Figura 4 e Tabela 7 ilustram a programação do gradiente de eluição utilizado na análise dos HPAs.

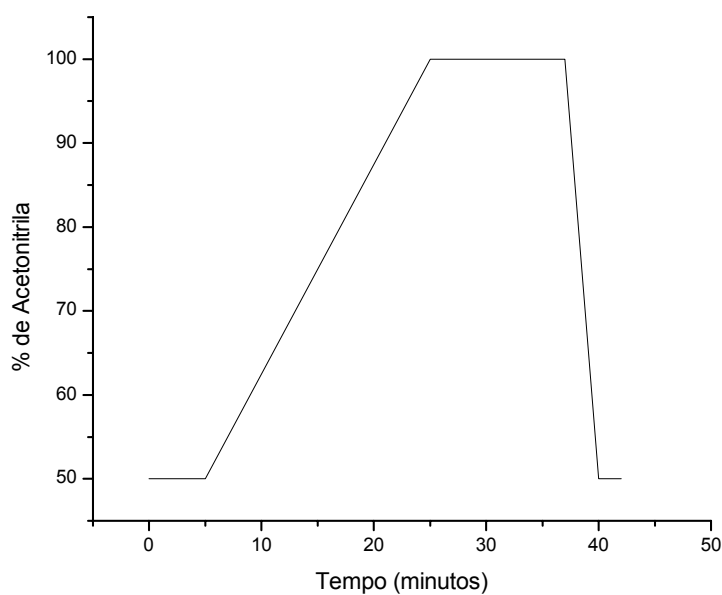


Figura 4. Gradiente de eluição utilizado nas análises dos HPAs.

Tabela 7. Programação do gradiente de eluição utilizado na análise dos HPAs.

Tempo (minutos)	% de solvente B
0,01 – 5,00	50
5,01 – 25,00	100
25,01 – 37,00	100
37,01 – 40,00	50
40,01 – 42,00	50

3.6 Seleção dos Comprimentos de Onda de Excitação e de Emissão de Fluorescência

A programação do detector de fluorescência foi baseada nos resultados experimentais obtidos a partir dos espectros de ultravioleta e de emissão de fluorescência dos HPAs obtidos separadamente.

Inicialmente utilizou-se um espectrofotômetro, com varredura no intervalo entre 200 a 800 nm, para a obtenção dos espectros de absorção dos 15 HPAs. Com esses espectros foram obtidos os comprimentos de onda de excitação dos analitos estudados.

A Figura 5 apresenta como exemplo, o espectro de absorção do naftaleno obtido experimentalmente de uma solução padrão 0,140 mg L⁻¹.

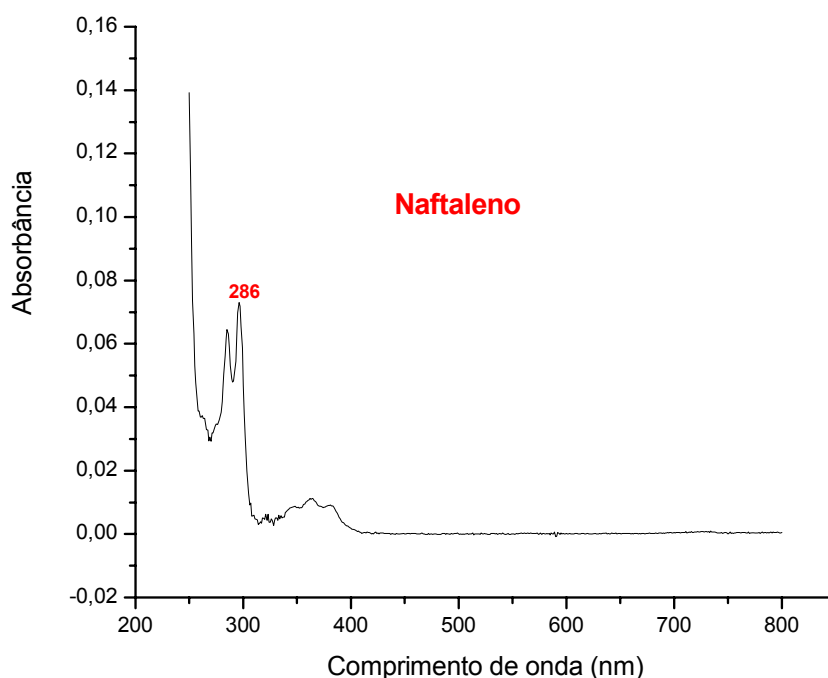


Figura 5. Espectro de absorção do naftaleno.

Observa-se pela figura 5 que o máximo de absorção para o naftaleno foi de 286 nm. Os espectros e os máximos de absorção dos demais hidrocarbonetos foram obtidos da mesma maneira que o naftaleno, e encontram-se no APÊNDICE IV.

Posteriormente, estes comprimentos relacionados aos máximos de absorção, foram utilizados para a determinação dos espectros de emissão de fluorescência dos HPAs. A Figura 6 ilustra um espectro de emissão de fluorescência obtido com uma solução padrão de acenafteno 0,160 mg L⁻¹

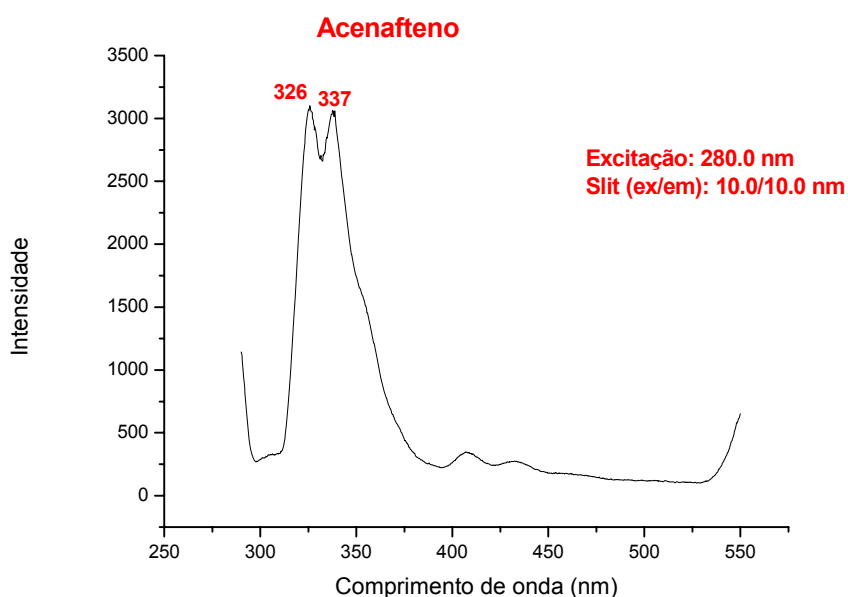


Figura 6. Espectro de emissão de fluorescência do acenafteno.

A Figura 6 foi obtida empregando-se um comprimento de onda de excitação de 280 nm, onde as maiores intensidades de emissão de fluorescência ocorreram em 326 nm e em 337 nm. Os espectros de emissão de fluorescência dos demais analitos foram obtidos da mesma maneira e encontram-se no APÊNDICE V.

3.7 Programação do Detector de Fluorescência

A *EPA* sugere ^[73] a utilização, simultânea, dos detectores de ultravioleta e de fluorescência na análise por *HPLC* dos 16 HPAs por ela monitorados. No entanto vários trabalhos^[48,50,52,5372] da literatura relatam apenas a utilização do detector de fluorescência. Isto foi verificado no presente trabalho por meio da análise cromatográfica dos padrões de HPAs, uma vez que estes apresentaram semelhanças nos comprimentos de onda de excitação e de emissão de fluorescência. Assim, o estabelecimento da programação do detector de fluorescência foi realizada tomando-se como base os resultados experimentais dos espectros de excitação e de emissão dos padrões de HPAs (seção 3.6), que apresentaram excelente intensidade de resposta quando analisados no detector de fluorescência do cromatógrafo líquido.

Como o tempo de retenção dos HPAs estudados foram próximos um dos outros, mudanças simultâneas nos comprimentos de onda de excitação e emissão provocariam a perda de alguns picos cromatográficos durante a análise das amostras de cachaça. Isto foi solucionado utilizando-se cinco pares de comprimento de onda de excitação e de emissão, programados para se alterarem durante a corrida cromatográfica, otimizando-se assim a detecção de cada HPA. A Tabela 8 mostra a programação utilizada no detector de fluorescência, apresentando os intervalos de tempo, bem como os comprimentos de onda de excitação e emissão de fluorescência utilizados na análise cromatográfica de cada grupo de HPAs.

Tabela 8. Tempo (minutos), comprimentos de onda de excitação e emissão para cada HPA utilizado na programação do detector de fluorescência.

Tempo (minutos)	λ de excitação (nm)	λ de emissão (nm)	HPAs
0,01 – 14,60	280	330	Naftaleno, acenafteno, fluoreno.
14,61 – 16,00	280	365	Fenantreno
16,01 – 17,60	356	400	Antraceno
			Fluoranteno, pireno, benzo(a)antraceno, criseno, benzo(b)fluoranteno,
17,61 – 33,45	270	410	Benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno, dibenzo(a,h)antraceno e benzo(g,h,i)perileno
33,46 – 42,00	280	500	Indeno(1,2,3-c,d)pireno

Observa-se na Tabela 8 que a excitação na região de 280 nm ou próxima englobou a maioria dos HPAs, com exceção do antraceno que foi excitado em 356 nm. No entanto os comprimentos de onda de emissão de fluorescência foram bem diferentes, variando de 330 nm a 500 nm. Também pode ser observado que o par 270 nm e 410 nm foi responsável pela análise da maioria dos hidrocarbonetos estudados, otimizando-se assim, a programação do detector. Comparando-se os nossos resultados, observamos que a programação do detector de fluorescência foi coerente com os resultados descritos na literatura^[22,42,48,52,72], onde cada analito

apresentou boa sensibilidade de resposta para cada par de comprimento de onda de excitação e emissão utilizado.

3.8 Extração em Fase Sólida (SPE)

3.8.1 Extração das Amostras de Cachaça

As amostras de cachaça foram analisadas após terem sido submetidas a uma etapa de concentração e posterior limpeza (*clean-up*), para a retirada de possíveis interferentes que pudessem comprometer as análises e a vida útil da coluna. As amostras foram concentradas em cartuchos de SPE (*Waters*, C18) com 1000 mg de fase estacionária, conectados a um sistema de vácuo *Supelco* (*Visiprep*).

Inicialmente os cartuchos foram condicionados com uma alíquota de 6,0 mL de diclorometano; 6,0 mL de acetonitrila e 6,0 mL de água ultra-pura (*Milli-Q*) em uma razão de fluxo de 2,0 mL min⁻¹. Depois de condicionados, passou-se através deles uma solução contendo 30 mL de amostra de cachaça e 9,0 mL de acetonitrila, com um fluxo 1 mL min⁻¹. O cartucho foi então seco á vácuo, com uma pressão de 30 a 40 kpa, por 45 minutos.

Eluiu-se a amostra com 2,0 mL de uma mistura de diclorometano/hexano (1:1 v/v). O extrato coletado, após o término da extração, foi seco sob um suave fluxo de nitrogênio, reconstituído em 300 µL de acetonitrila e levado ao ultra-som por 12 minutos para a sua total dissolução.

3.8.2 Solubilidade dos HPAs nas Amostras de Cachaça

Para evitar problemas de sorção, facilitar o movimento dos HPAs através dos cartuchos de *SPE* e a subsequente eluição com baixos volumes de solvente orgânico [50,52,53], foi necessário desenvolver uma maneira de se aumentar a solubilidade dos HPAs nas amostras de cachaça. Assim, foram realizados estudos variando-se as proporções de acetonitrila (0%, 10%, 20% e 30%) adicionadas ao volume total da amostra de cachaça durante a extração e limpeza (“*clean up*”) por *SPE*, a fim de se obter melhores resultados nas etapas de concentração e limpeza das amostras.

3.8.3 Recuperação

O estudo de recuperação, dos cartuchos de *SPE* empregados neste trabalho, foi realizado de duas maneiras: na primeira foram utilizados cinco soluções modelo de etanol/água (4:6 v/v), as quais foram fortificadas com aproximadamente 200 ng L⁻¹ da solução padrão dos HPAs. Estas soluções sofreram os mesmos procedimentos de concentração e limpeza descritos na seção 3.8.1 realizados nas amostras de cachaça. Posteriormente os extratos foram submetidos à análise cromatográfica, objetivando-se que as concentrações finais dos analitos fossem cerca de 100 vezes a concentração inicial, ou seja, aproximadamente 20 µg L⁻¹.

No segundo teste de recuperação procurou-se observar o efeito “matriz”. Assim foram escolhidas, aleatoriamente, quatro amostras de cachaça, previamente quantificadas, as quais também foram fortificadas com aproximadamente 200 ng L⁻¹ da solução padrão dos HPAs. Estas amostras de cachaça fortificadas foram concentradas

por *SPE* e novamente quantificadas a fim de que a diferença entre a concentração real da amostra e a concentração dos HPAs adicionados (fortificação) na amostra de cachaça fosse de aproximadamente $20 \mu\text{g L}^{-1}$.

3.9 Avaliação do Método Proposto

3.9.1 Linearidade

A linearidade (que expressa a resposta obtida em função da concentração do analito em um intervalo de concentração apropriado)^[85,86] da resposta do detector de fluorescência utilizada neste trabalho, foi determinada pela análise cromatográfica das soluções padrão diluída dos HPAs. Foram preparadas, a partir da solução estoque dos HPAs, cinco soluções de concentração aproximadas de $2,00 \mu\text{L}^{-1}$, $5,00 \mu\text{L}^{-1}$, $10,0 \mu\text{L}^{-1}$, $15,0 \mu\text{L}^{-1}$ e $20,0 \mu\text{L}^{-1}$ em etanol/água (4:6 v/v), que foram analisados em triplicata por *HPLC*-Fluorescência. Obtiveram-se as áreas dos picos dos vários analitos em estudo, que foram relacionados aos valores de concentração através de um gráfico de regressão linear (curva de calibração) e pelo coeficiente de correlação (r^2).

3.9.2 Limite de Detecção e Quantificação

O limite de detecção (L.D.) representa a menor concentração do analito que pode ser detectada em uma amostra. Já o limite de quantificação (L.Q.) expressa a menor concentração do analito que pode ser quantificada em uma amostra real^[86].

Neste trabalho os limites de detecção e de quantificação foram estabelecidos experimentalmente, através da análise cromatográfica de soluções estoque diluídas dos padrões de HPAs, até que a relação sinal-ruído desses compostos nos cromatogramas fosse igual a 3:1 para o L.D., e de 10:1 para o L.Q.

3.9.3 Exatidão e Precisão do Método

A exatidão (que expressa a concordância entre o valor encontrado e o valor aceito como real)^[85,86] do método utilizado neste trabalho foi avaliada por meio da análise da reprodutibilidade na análise cromatográfica de cinco soluções alcoólicas (40% v/v), previamente fortificadas com os padrões de HPAs e concentradas por *SPE*.

A exatidão^[85] foi determinada pela Equação 1 descrita abaixo, onde *V_r* = valor real esperado, e *V_d* = valor médio injetado em cinco injeções.

$$\text{Exatidão} = \left[1 - \left(\frac{V_r - V_d}{V_r} \right) \right] \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

Já a precisão (que mede a capacidade de reprodução ou repetição de um resultado analítico)^[85,86] foi avaliada por meio da utilização dos desvios-padrão relativo das cinco análises da solução alcoólica fortificada.

3.10 Análise Quimiométrica

A análise do banco de dados das análises quantitativas das amostras de cachaça branca, cachaça envelhecida, rum, uísque escocês e americano, utilizadas

neste trabalho, foram realizadas com os programas *MINITAB Release 14 (Statistical Software)* e *JMP 5 (SAS Institute Inc.)*.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análise Cromatográfica dos Padrões de HPAs

O estabelecimento das condições analíticas adequadas para a separação dos padrões de HPAs e a sua quantificação foi realizada com base em resultados de trabalhos anteriores [14,22,23,52,53,73].

O gradiente de eluição, a coluna utilizada, juntamente com a programação do detector de fluorescência do cromatógrafo líquido proporcionaram uma separação adequada nos picos dos padrões analíticos dos hidrocarbonetos. Esta separação foi semelhante à observada em trabalhos descritos na literatura para amostras de cachaça^[14], água, vinho e cerveja^[23].

A Figura 7 ilustra um cromatograma típico dos padrões de HPAs analisados neste trabalho, com concentrações da aproximadamente 25 µg L⁻¹.

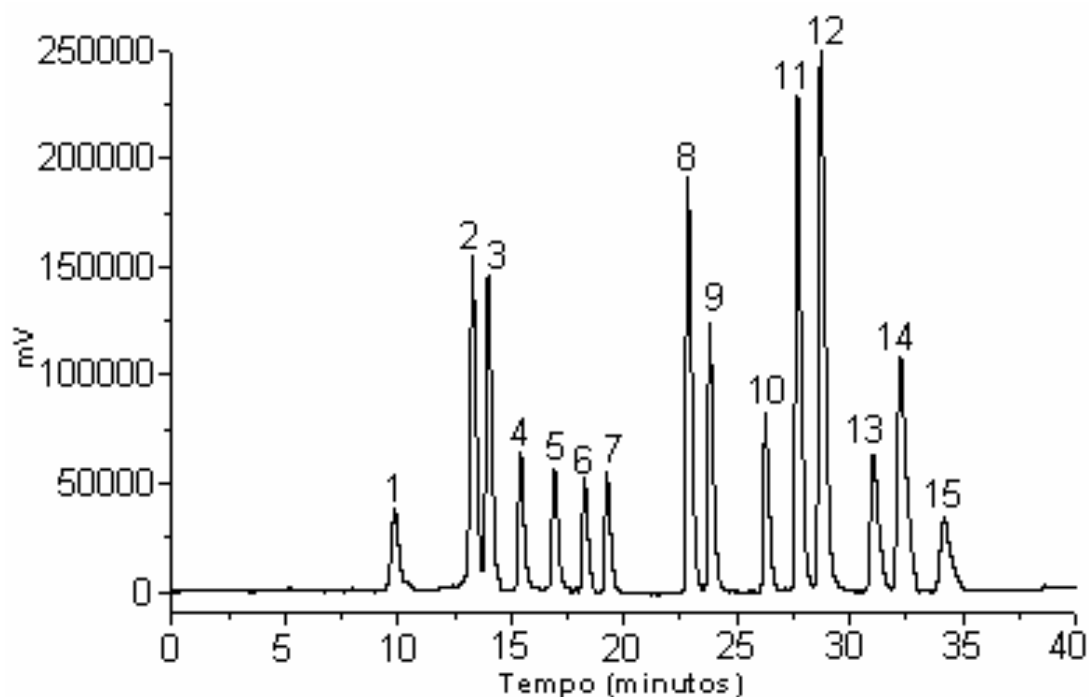


Figura 7. Cromatograma típico dos padrões de HPAs: 1= naftaleno, 2= acenafteno, 3= fluoreno, 4= fenantreno, 5= antraceno, 6= fluoranteno, 7= pireno, 8= benzo(a)antraceno, 9= criseno, 10= benzo(b)fluoranteno, 11= benzo(k)fluoranteno, 12= benzo(a)pireno, 13= dibenzo(a,h)antraceno, 14= benzo(g,h,i)perileno e 15= indeno(1,2,3-c,d)pireno.

Observa-se pelo cromatograma acima, que existiu uma boa separação entre os analitos estudados, e que o tempo total de análise cromatográfica dos 15 HPAs foi de aproximadamente 36 minutos. O método utilizado neste trabalho mostrou-se eficiente, sendo indicado para a análise dos hidrocarbonetos em alimentos e bebidas^[22,41,48,50,52,68,72].

4.2 Análise Cromatográfica das Amostras de Cachaça

As Figuras 8 e 9 ilustram os cromatogramas obtidos das análises de amostras de cachaça produzidas com cana-de-açúcar queimada e com cana-de-açúcar não queimada, respectivamente.

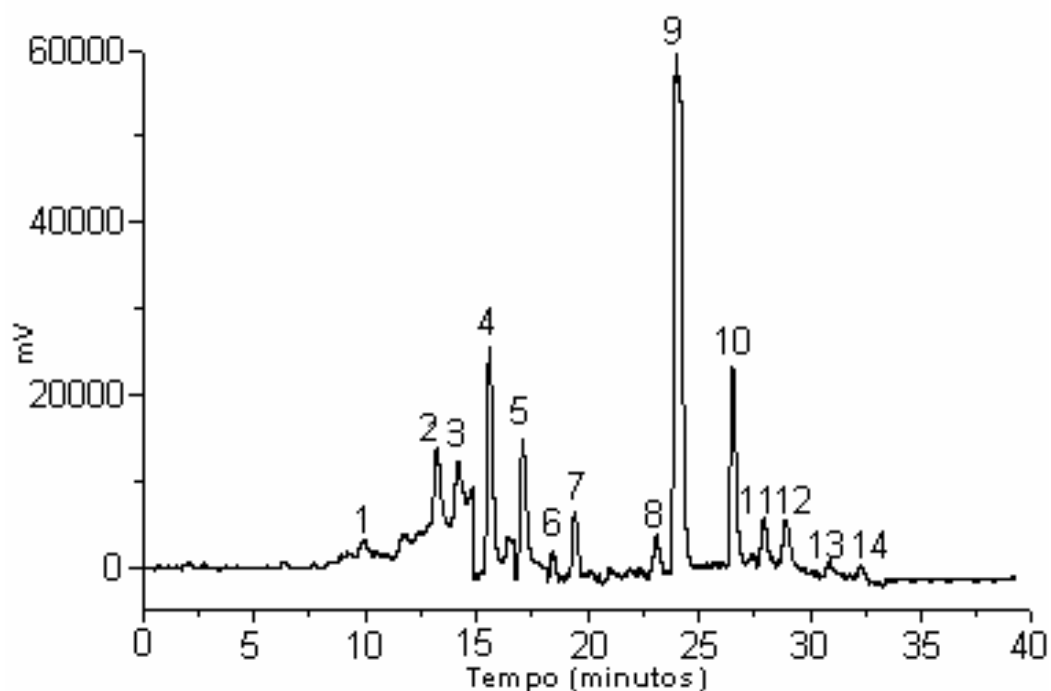


Figura 8. Cromatograma típico de uma amostra de cachaça produzida com cana-de-açúcar queimada: 1= naftaleno, 2= acenafteno, 3= fluoreno, 4= fenantreno, 5= antraceno, 6= fluoranteno, 7= pireno, 8= benzo(a)antraceno, 9= criseno, 10= benzo(b)fluoranteno, 11= benzo(k)fluoranteno, 12= benzo(a)pireno, 13= dibenzo(a,h)antraceno, 14= benzo(g,h,i)perileno.

Observa-se no cromatograma (Figura 8) da amostra de cachaça produzida com cana-de-açúcar queimada a presença de 14 dos 15 hidrocarbonetos estudados, com a exceção do indeno(1,2,3-c,d)pireno. Acredita-se que a queima da cana-de-açúcar,

antes da sua colheita, utilizada na produção da cachaça possa ser uma possível fonte de contaminação destas amostras por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, assim como foi evidenciado^[14,38] em trabalhos anteriores.

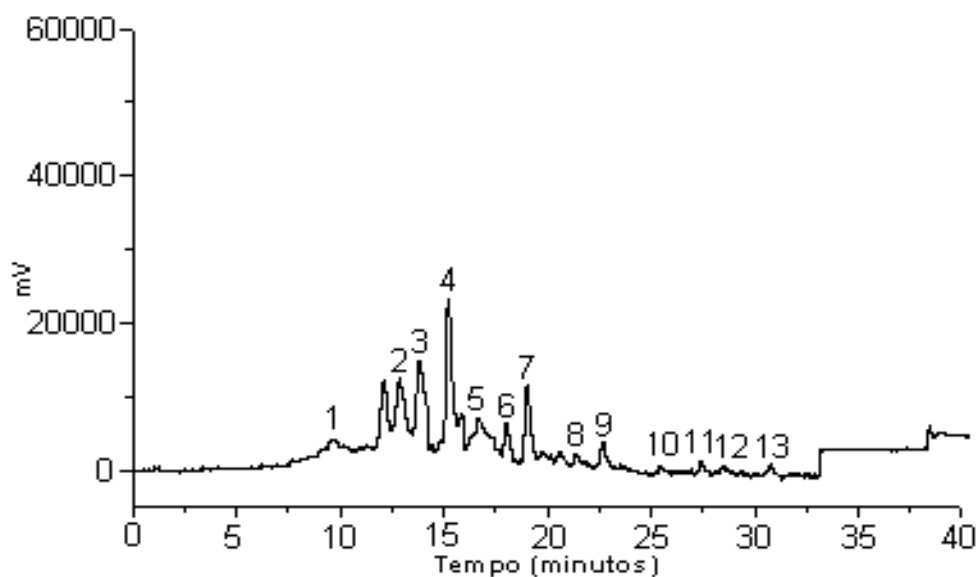


Figura 9. Cromatograma típico de uma amostra de cachaça produzida com cana-de-açúcar não queimada: 1= naftaleno, 2= acenafteno, 3= fluoreno, 4= fenantreno, 5= antraceno, 6= fluoranteno, 7= pireno, 8= benzo(a)antraceno, 9= criseno, 10= benzo(b)fluoranteno, 11= benzo(k)fluoranteno, 12= benzo(a)pireno, 13= dibenzo(a,h)antraceno.

Já na Figura 9 observa-se a presença de 13 dos 15 hidrocarbonetos estudados, com a exceção do benzo(g,h,i)perileno e indeno(1,2,3-c,d)pireno. No entanto esta possível contaminação pode ter sido causada durante as etapas de moagem da cana-de-açúcar, assim como já foi observado em um estudo que avaliou os efeitos da contaminação da cana e de seus derivados por HPAs^[38], onde o teor de

hidrocarbonetos no caldo de cana produzido a partir da cana-de-açúcar queimada foi cerca de 4 vezes maior do que o teor encontrado no caldo de cana verde.

Outra diferença observada entre os dois cromatogramas (Figuras 8 e 9) é que as intensidades dos picos cromatográficos dos HPAs, proporcionais as concentrações dos analitos nas amostras, são maiores para as amostras de cachaça produzidas com cana-de-açúcar queimada (Figura 8) do que para as produzidas com cana-de-açúcar não queimada (Figura 9). Por exemplo, na amostra de cachaça produzida a partir da cana não queimada, a maior intensidade de resposta é de aproximadamente 22.000 mVolts, que é observada através do pico número 4 do cromatograma (Figura 9), correspondente ao fenantreno. No entanto o maior pico observado na amostra de cachaça produzida com cana-de-açúcar queimada (Figura 8) foi o do criseno, com intensidade de resposta superior a 60.000 mVolts, sendo que isto foi confirmado durante a análise quantitativa das amostras de cachaça.

4.3 Análise Cromatográfica das Cachaças Envelhecidas

A Figura 10 ilustra um cromatograma típico obtido através da análise de uma amostra de cachaça envelhecida.

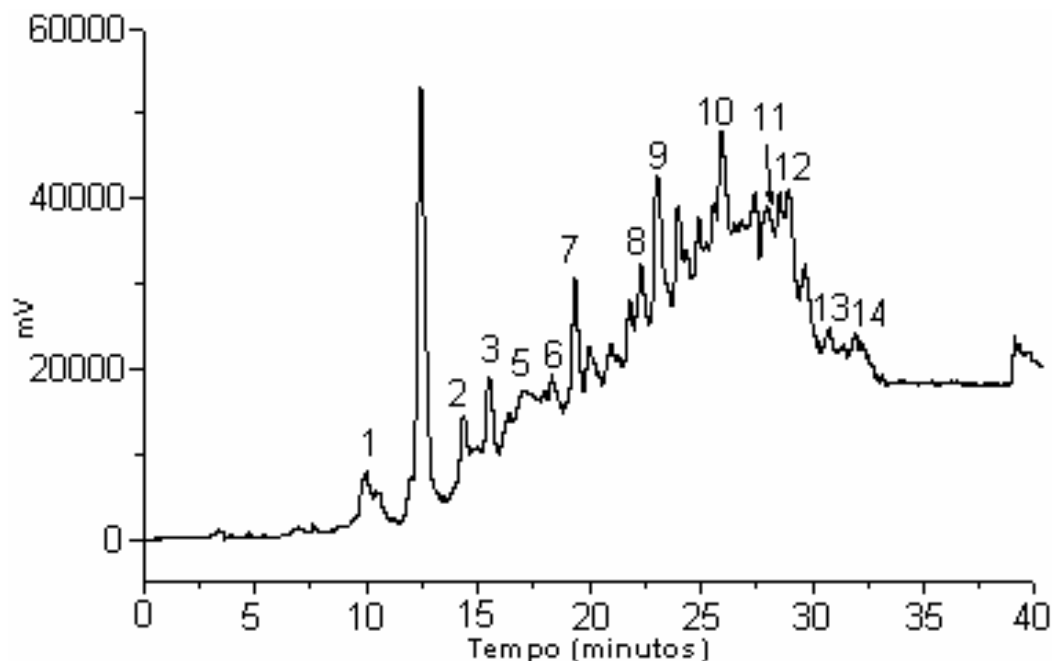


Figura 10. Cromatograma típico de uma amostra de cachaça envelhecida: 1= naftaleno, 2= acenafteno, 3= fluoreno, 5= antraceno, 6= fluoranteno, 7= pireno, 8= benzo(a)antraceno, 9= criseno, 10= benzo(b)fluoranteno, 11= benzo(k)fluoranteno, 12= benzo(a)pireno, 13= dibenzo(a,h)antraceno, 14= benzo(g,h,i)perileno.

Observa-se no cromatograma anterior (Figura 10) que foram identificados 13 HPAs nas amostras de cachaça envelhecida. Trabalhos da literatura^[55,63] relatam a presença de HPAs em bebidas destiladas envelhecidas que foram contaminadas durante o período envelhecimento (quando o destilado permanece em contato com tonéis de madeira carbonizados) e/ou durante a adição de caramelo^[55,63] para a correção da coloração destas mesmas bebidas envelhecidas. Além dos picos não identificados observa-se uma alteração na linha de base do cromatograma, que provavelmente têm a sua origem relacionada com outros analitos presentes nas

amostras de cachaça envelhecida, que não os HPAs, e que respondam ao detector de fluorescência, como é o caso dos compostos fenólicos ^[13].

4.4 Análise Cromatográfica dos Rums

Neste trabalho foram analisados algumas amostras de rum, para a verificação do perfil dos HPAs neste tipo de amostra. A Figura 11 ilustra um cromatograma típico obtido na análise de HPAs neste tipo de bebida.

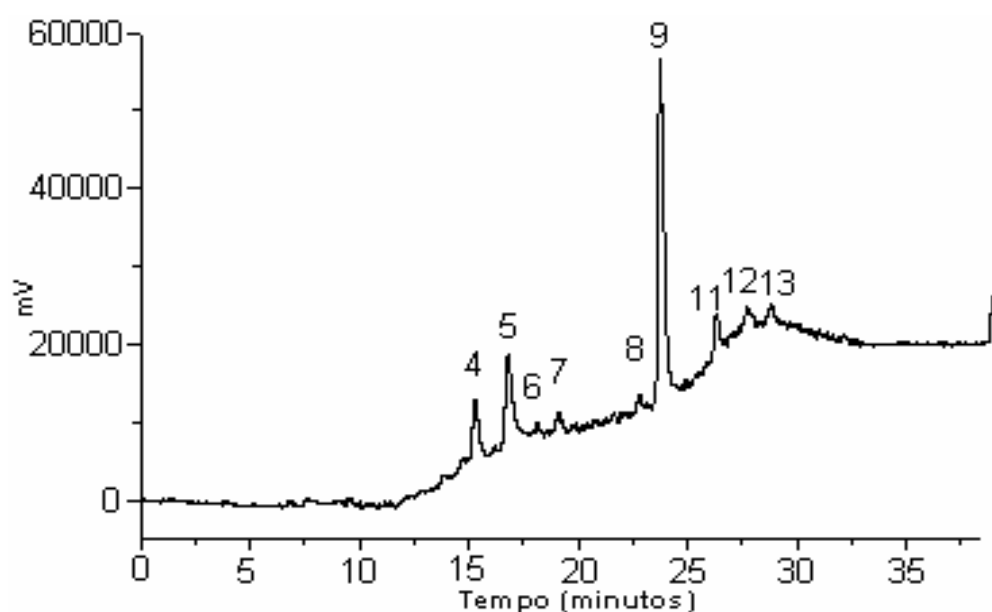


Figura 11. Cromatograma típico de uma amostra de rum: 4= fenantreno, 5= antraceno, 6= fluoranteno, 7= pireno, 8= benzo(a)antraceno, 9= criseno, 11= benzo(k)fluoranteno, 12= benzo(a)pireno, 13= dibenzo(a,h)antraceno.

A Figura 11 reflete bem o perfil cromatográfico qualitativo dos rums analisados neste trabalho, caracterizados pelo baixo teor de HPAs e pelo número reduzido de analitos encontrados nas amostras. Perfil semelhante foi observado em um trabalho

recente^[55], na qual amostras de rum branco e rum envelhecidos foram analisadas quanto a presença de sete hidrocarbonetos, sendo que apenas benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno e benzo(a)pireno foram identificados com teores de $0,9 \mu\text{g L}^{-1}$, $0,7 \mu\text{g L}^{-1}$ e $0,7 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente.

4.5 Análise Cromatográfica dos Uíques

A presença de HPAs também foi verificada em algumas amostras de uísque, para a verificação da contaminação nessas bebidas por hidrocarbonetos. As Figuras 12 e 13 ilustram os cromatogramas típicos obtidos durante a análise dos HPAs em uísques de origem escocesa e uísque de origem americana, respectivamente.

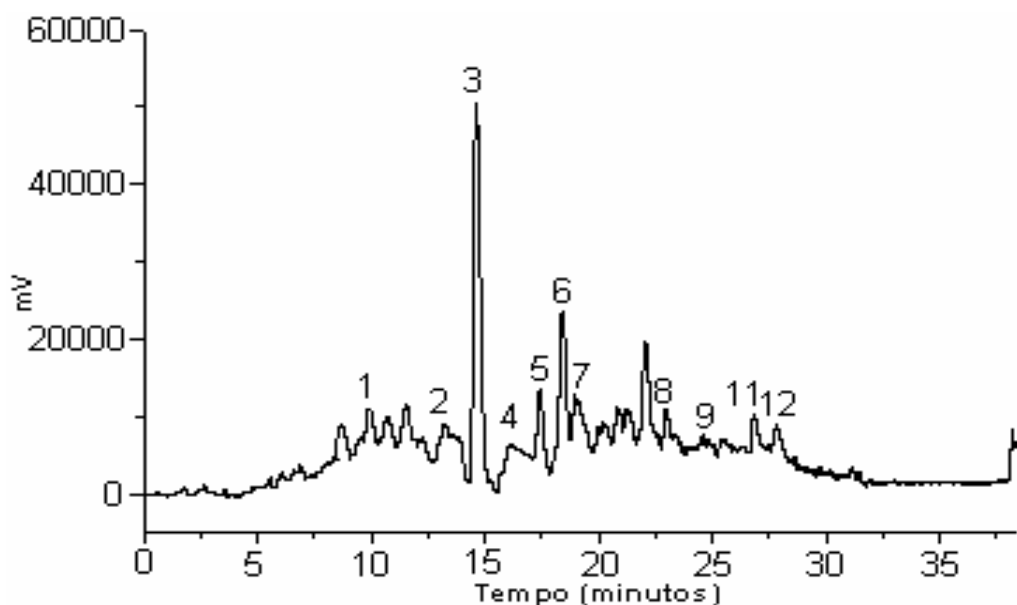


Figura 12. Cromatograma típico de uma amostra de uísque escocês: 1= naftaleno, 2= acenafteno, 3= fluoreno, 4= fenantreno, 5= antraceno, 6= fluoranteno, 7= pireno, 8= benzo(a)antraceno, 9= criseno, 11= benzo(k)fluoranteno, 12= benzo(a)pireno.

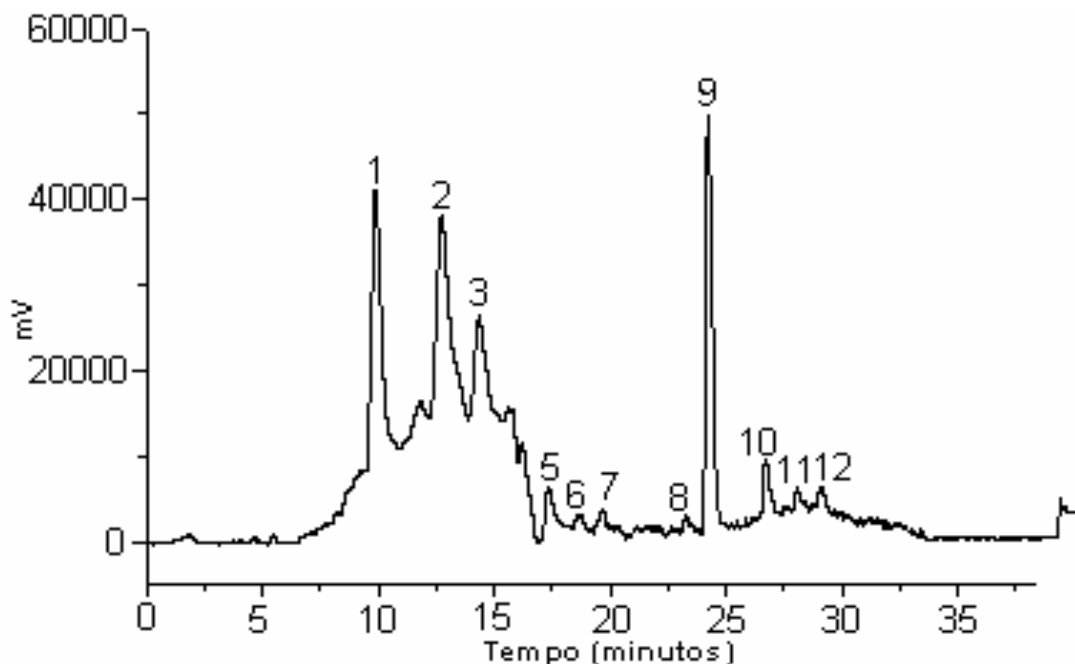


Figura 13. Cromatograma típico de uma amostra de uísque americano: 1= naftaleno, 2= acenafteno, 3= fluoreno, 5= antraceno, 6= fluoranteno, 7= pireno, 8= benzo(a)antraceno, 9= criseno, 10= benzo(b)fluoranteno, 11= benzo(k)fluoranteno, 12= benzo(a)pireno.

De acordo com os cromatogramas apresentados (Figuras 12 e 13), tanto os uísques de origem escocesa quanto os de origem americana apresentaram mais da metade dos HPAs analisados neste trabalho. A presença destes hidrocarbonetos em amostras de uísque já foi verificada^[54-57], sendo que a sua contaminação foi atribuída às etapas envolvidas na produção destes destilados. Acredita-se que a contaminação dos uísques de origem escocesa ocorra durante a secagem dos maltes germinados da cevada pelo processo de defumação ou secundariamente durante a estocagem em barris de madeira carbonizados^[54]. Já para os uísques de origem americana a presença dos HPAs pode ocorrer com a passagem destas bebidas em filtros de carvão vegetal (utilizados para a retirada de compostos indesejáveis, como sulfetos e ésteres)^[54].

4.6 Recuperação

4.6.1 Porcentagem de Recuperação

A metodologia de extração utilizada neste trabalho foi baseada em vários experimentos relacionados à recuperação dos HPAs em águas e bebidas^[23,50,52,53,55].

Uma vez que as moléculas de HPAs são apolares, dois tipos de solventes foram testados para a extração destes analitos: hexano ($\epsilon^\circ = 0,00$) e diclorometano ($\epsilon^\circ = 0,32$). Estes foram escolhidos em função da sua polaridade relativa (valor eluotrópico, ϵ°), onde quanto maior o valor de ϵ° para o solvente, maior será a sua força de eluição (maior polaridade) e, portanto, mais facilmente removerá o analito da fase estacionária^[69]. A Figura 14 apresenta as porcentagens dos testes de recuperação para os padrões de HPAs (descritos pela ordem de eluição) utilizando-se cartuchos C18 (*Waters*) em amostras de solução alcoólica fortificadas.

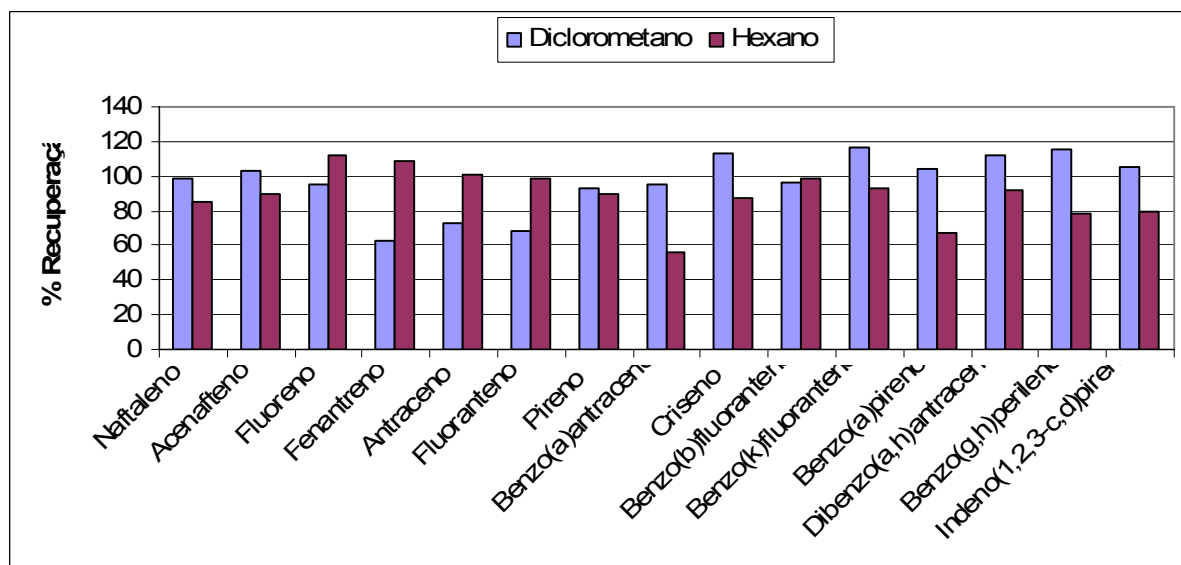


Figura 14. Porcentagem de recuperação dos HPAs com diclorometano e hexano.

Observa-se na Figura 14 que quando utilizou-se diclorometano como solvente extrator a porcentagem de recuperação foi sempre superior a 93,0% para os HPAs que são eluidos primeiramente, durante a corrida cromatográfica, e também para os hidrocarbonetos de maior massa molecular, eluidos no final. Já para os HPAs intermediários, as melhores porcentagens de recuperação foram obtidas quando empregou-se o hexano como solvente extrator. Em função destes resultados resolveu-se empregar uma mistura de diclorometano/hexano (1:1) como solventes de eluição na elaboração do presente trabalho, onde o teor de recuperação desta mistura será apresentado adiante. Estes valores de recuperação foram satisfatórios, quando comparados com os descritos na literatura^[50,52,54] para a extração de bebidas alcoólicas por *SPE*, onde estes teores variaram de 87 a 135%, para fluoranteno e indo(1,2,3-c,d)pireno.

Com o intuito de se evitar problemas de sorção durante a extração dos HPAs, diferentes proporções (0%, 10%, 20% e 30%) de acetonitrila foram adicionadas às amostras de cachaça, testando-se se assim a eficiência da recuperação. A Tabela 9 apresenta os resultados dos testes de recuperação para os padrões de HPAs com diferentes proporções de acetonitrila adicionados.

Os testes foram realizados em quintuplicata, utilizando-se padrões de concentrações conhecidas e efetuando-se a extração destes compostos em soluções alcoólicas fortificadas, assim como descrito na seção 3.8.1. Observa-se na Tabela 9 que a recuperação dos analitos estudados aumentou à medida que se elevou a proporção de acetonitrila (0%, 10%, 20% e 30%) adicionada à solução alcoólica. Quando nenhum volume de acetonitrila foi adicionado às soluções, os teores de recuperação variaram de 77,7% para o indeno(1,2,3-c,d)pireno a 106% para o benzo(a)antraceno. No entanto quando 9,00 mL de acetonitrila (30% do volume total) foram adicionados à solução alcoólica, a porcentagem de recuperação de todos os analitos estudados foi superior a 100%.

Tabela 9. Porcentagem de recuperação média dos HPAs com diferentes proporções de acetonitrila adicionada as solução alcoólicas fortificadas.

HPAs	% de recuperação (0% de acetonitrila)	% de recuperação (10% de acetonitrila)	% de recuperação (20% de acetonitrila)	% de recuperação (30% de acetonitrila)
Naftaleno	84,0	87,3	90,2	103
Acenafteno	82,0	93,5	91,8	115
Fluoreno	76,6	80,5	92,3	116
Fenantreno	93,2	97,6	95,6	116
Antraceno	87,7	86,5	100	105
Fluoranteno	85,5	90,7	85,2	118
Pireno	78,5	89,0	82,2	103
Benzo(a)antraceno	106	95,9	114	107
Criseno	100	116	103	117
Benzo(b)fluoranteno	101	95,6	108	104
Benzo(k)fluoranteno	106	96,9	106	104
Benzo(a)pireno	82,9	84,7	105	101
Dibenzo(a,h)antraceno	93,1	103	104	102
Benzo(g,h,i)perileno	89,7	108	115	111
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	77,7	97,2	112	107

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 9, as melhores porcentagens de extração foram obtidas quando foi utilizado cerca de 9,00 mL de acetonitrila nas amostras de cachaça (que é um solução hidroalcoólica 40,0%), isto por que a solubilidade dos HPAs diminui em soluções aquosas^[50,52], em concordância com trabalhos da literatura^[48,50,52,53], onde são relatados faixas de recuperação superiores a 80,0%.

4.6.2 Influência do “Efeito Matriz” na Recuperação das Amostras de Cachaça

Com o intuito de verificar a ocorrência de eventuais “efeito matriz” que possam ocorrer durante a extração^[69] das amostras de cachaça, prejudicando-se assim a eficiência da recuperação, foram realizados testes de recuperação em quatro amostras de cachaça previamente quantificadas. A Tabela 10 ilustra as porcentagens de recuperação obtidas experimentalmente para as soluções alcoólicas e para as amostras de cachaça fortificadas. Observa-se que a porcentagem média de recuperação para todos os hidrocarbonetos da solução alcoólica foi superior a 100%. No entanto, na amostra de cachaça fortificada apenas acenafteno, fenantreno, pireno, benzo(a)antraceno e indeno(1,2,3-c,d)pireno apresentaram porcentagens de recuperação superiores a 100%. Mesmo assim estes resultados foram satisfatórios, uma vez que trabalhos na literatura descrevem teores de recuperação para os hidrocarbonetos em SPE, por meio dos mais variáveis solventes, numa faixa de 75,4 % para o dibenzo(a,h)antraceno a 135% para o fluoranteno^[22,48,50,52,53,71].

Tabela 10. Porcentagem média de recuperação nas soluções alcoólicas e nas amostras de cachaça previamente quantificada.

HPAs	% média de recuperação nas soluções alcoólicas	% média de recuperação nas amostras de cachaça fortificada
Naftaleno	103	86,8
Acenafteno	115	113
Fluoreno	116	85,5
Fenantreno	116	106
Antraceno	105	94,2
Fluoranteno	118	99,9
Pireno	103	101
Benzo(a)antraceno	107	106
Criseno	117	81,5
Benzo(b)fluoranteno	104	96,6
Benzo(k)fluoranteno	104	95,5
Benzo(a)pireno	101	85,5
Dibenzo(a,h)antraceno	102	85,7
Benzo(g,h,i)perileno	111	93,6
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	107	102

Para se ter uma idéia da influência de interferentes durante a extração por *SPE*, foi construído um gráfico (Figura 15) envolvendo os dados de recuperação realizada com uma solução alcoólica juntamente com os dados de recuperação realizada com uma amostra de cachaça previamente quantificada.

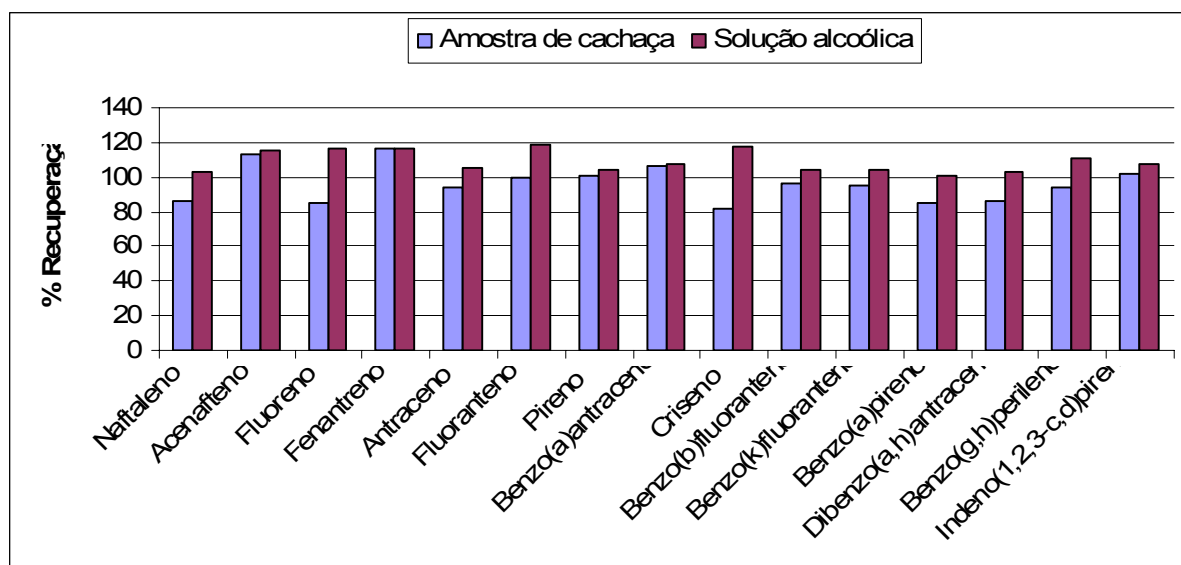


Figura 15. Visualização da existência de interferentes nos testes de recuperação.

Observa-se pela Figura 15 que a recuperação das amostras de cachaça fortificadas apresentou, para todos os analitos estudados, valores de recuperação inferiores (Tabela 10) a recuperação das amostras de solução alcoólica fortificada, onde todas as porcentagens de recuperação foram superiores a 100%. Isto confirma a existência de possíveis interferentes ou perdas durante a recuperação dos HPAs. Entretanto, a metodologia de recuperação utilizada apresentou-se válida, pois os teores de recuperação para as amostras de cachaça ficaram numa faixa entre 80,0 a 100%, estando dentro da estabelecida como a ideal para a extração^[69], bem como os valores encontrados na literatura^[22,48,50,52,53,71] para a extração dos mesmos analitos (os limites consultados estão numa faixa entre 76,0 a 113%).

4.7 Avaliação do Método Proposto

4.7.1 Linearidade

A linearidade dos HPAs foi estudada utilizando-se curvas de calibração ($y = a + bx$) em cinco níveis de concentração (2,00 $\mu\text{g L}^{-1}$; 5,00 $\mu\text{g L}^{-1}$; 10,0 $\mu\text{g L}^{-1}$; 15,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 20 $\mu\text{g L}^{-1}$). Na Tabela 11 são apresentadas as equações de regressão linear e o coeficiente de correlação (r^2) das curvas de calibração para os 15 HPAs.

Tabela 11. Equações de regressão linear ($y = \text{área cromatográfica}$ e $x = \text{concentração}$) e coeficientes de correlação (r^2).

HPAs	Equação de regressão linear	r^2
Naftaleno	$y = - 54431,2 + 38446,9$	0,992
Acenafteno	$y = - 61167,4 + 71607,0$	0,992
Fluoreno	$y = - 50819,1 + 78595,8$	0,996
Fenantreno	$y = - 66456,6 + 46757,3$	0,991
Antraceno	$y = - 29217,0 + 31134,6$	0,999
Fluoranteno	$y = - 46170,0 + 22299,6$	0,994
Pireno	$y = - 6848,4 + 45131,8$	0,994
Benzo(a)antraceno	$y = - 52918,3 + 319677,0$	0,991
Criseno	$y = - 32589,3 + 72881,9$	0,997
Benzo(b)fluoranteno	$y = - 53864,9 + 102225,9$	0,997
Benzo(k)fluoranteno	$y = - 303675,3 + 493486,0$	0,995
Benzo(a)pireno	$y = - 146468,3 + 461817,4$	0,993
Dibenzo(a,h)antraceno	$y = - 167659,6 + 96766,6$	0,998
Benzo(g,h,i)perileno	$y = - 142478,7 + 117211,6$	0,996
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	$y = - 70039,6 + 39902,0$	0,991

De acordo com os dados da Tabela 11 as curvas de calibração para todos os HPAs foram lineares, apresentando coeficientes de correlação (r^2) superiores a 0,99; como é recomendado pela *IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry)*^[85]. Esses coeficientes de correlação demonstraram que a resposta do detector de fluorescência foi linear para os intervalos de concentração estudados, estando de acordo com os resultados^[22,48,50,52,53] encontrados na literatura (que variam de 0,981 a 0,999).

4.7.2 Limite de Detecção e de Quantificação

Os limites de detecção (L.D.) e de quantificação (L.Q.) foram estabelecidos experimentalmente através da análise das misturas de padrão dos HPAs, em soluções alcoólicas com concentrações decrescentes. A Tabela 12 apresenta os limites de detecção e de quantificação dos HPAs obtidos experimentalmente.

Tabela 12. Limite de quantificação e de detecção dos padrões de HPAs.

HPAs	Limite de detecção L.D. ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Limite de quantificação L.Q. ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Naftaleno	3,58E-03	0,0108
Acenafteno	3,93E-03	0,0118
Fluoreno	2,93E-03	8,79E-03
Fenantreno	2,02E-03	6,06E-03
Antraceno	4,20E-03	1,26E-02
Fluoranteno	0,0128	0,0386
Pireno	6,95E-03	0,0209
Benzo(a)antraceno	1,68E-03	5,03E-03
Criseno	2,24E-03	6,71E-03
Benzo(b)fluoranteno	5,68E-04	1,70E-03
Benzo(k)fluoranteno	6,56E-04	1,97E-03
Benzo(a)pireno	5,92E-04	1,77E-03
Dibenzo(a,h)antraceno	1,08E-02	0,0325
Benzo(g,h,i)perileno	3,22E-03	9,64E-03
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	0,0454	0,136

Pode ser observado na tabela 12 que os L.D. e L.Q. mostraram-se favoráveis para a análise dos HPAs nas amostras de cachaça, variando em uma ordem de grandeza de 10^{-1} a 10^{-4} . O menor limite de detecção, ou seja, o mais sensível, foi de $6,56 \text{ E-}04 \mu\text{g L}^{-1}$ para o benzo(k)fluoranteno, e o maior foi de $0,0454 \mu\text{g L}^{-1}$, encontrado para o indeno(1,2,3-c,d)pireno. Estes resultados foram calculados considerando-se uma relação sinal/ruído de 3:1^[85,86]. Os resultados descritos na literatura expressam limites de detecção^[41,48,50,52,53] para a análise dos HPAs por *HPLC*-fluorescência como sendo de $5,0 \text{ E-}04 \mu\text{g L}^{-1}$ a $7,3 \text{ E-}03 \mu\text{g L}^{-1}$.

Para os limites de quantificação, o menor valor encontrado foi de $1,70\text{E-}03 \mu\text{g L}^{-1}$ para o benzo(b)fluoranteno e o maior foi de $0,136 \mu\text{g L}^{-1}$ para o indeno(1,2,3-c,d)pireno, com uma relação sinal/ruído de 10:1^[85,86]. Estes valores quando comparados com outros trabalhos da literatura são satisfatórios, já que os limites consultados variaram de $1,00\text{E-}03 \mu\text{g L}^{-1}$ a $2,20\text{E-}02 \mu\text{g L}^{-1}$.

4.7.3 Exatidão e Precisão

A exatidão e a precisão do método foram avaliadas a partir de ensaios de recuperação de cinco soluções alcoólicas, fortificadas com $0,150 \mu\text{g L}^{-1}$ de padrão de HPAs, injetadas em quintuplicata durante a análise cromatográfica. A exatidão foi calculada pela porcentagem de recuperação utilizando-se a Equação 1 descrita na seção 3.9.3 Já a precisão foi encontrada a partir dos desvios-padrão relativo destes resultados. A Tabela 13 apresenta os valores médios de exatidão e precisão para o método utilizado na análise dos HPAs em amostras de cachaça.

Tabela 13. Exatidão e precisão do método cromatográfico utilizado na análise dos HPAs.

HPAs	Exatidão (%)	Precisão (%)
Naftaleno	96,8	90,8
Acenafteno	93,6	94,7
Fluoreno	95,5	96,7
Fenantreno	96,9	99,4
Antraceno	94,2	98,6
Fluoranteno	97,9	98,0
Pireno	91,1	98,9
Benzo(a)antraceno	96,5	95,0
Criseno	91,5	89,8
Benzo(b)fluoranteno	96,6	90,8
Benzo(k)fluoranteno	95,5	93,8
Benzo(a)pireno	95,5	93,9
Dibenzo(a,h)antraceno	95,7	90,8
Benzo(g,h,i)perileno	93,6	90,8
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	92,4	91,0

Os valores de exatidão para os hidrocarbonetos estudados (Tabela 13) foram superiores a 90,0%, variando de 91,1 a 97,9%, indicando uma boa reprodutibilidade da metodologia utilizada, quando comparada com valores descritos^[48,50,52] na literatura que chegam a considerar valores de exatidão de até 87,0% como sendo satisfatórios.

Já na precisão, os valores encontrados para os hidrocarbonetos variaram de 89,8 a 99,4%, indicando uma boa precisão do método cromatográfico, onde dependendo da complexidade analítica e do tipo de amostra utilizada, valores com até 80,0% de precisão são considerados ideais^[86].

4.8 Análise Quantitativa dos HPAs

O método de adição de padrão (“superposição de matriz”) foi utilizado na quantificação dos HPAs em todas as amostras utilizadas neste trabalho. Este método^[86] é utilizado para compensar o “efeito matriz” ou de possíveis interferentes presente nas amostras, e é de suma importância em determinações quando a matriz pode interferir na pré-concentração, extração, separação ou detecção da substância de interesse, como é o caso dos HPAs.

Os valores de concentração apresentados, calculados para as amostras originais, foram corrigidos pela correspondente concentração prévia das amostras, a qual foi de modo geral, igual a 100 vezes o valor antes da concentração.

4.8.1 HPAs nas Amostras de Cachaça

A Tabela 14 apresenta a média, mediana, menor valor, maior valor e a soma dos teores de HPAs analisados nas 131 amostras de cachaça.

Observamos que dos 15 HPAs analisados apenas o fenantreno e o benzo(a)antraceno apresentaram médias superiores a $1,00 \mu\text{g L}^{-1}$ ($1,97$ e $1,09 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente). Para a mediana, os valores estiveram entre $8,83\text{E-}03$ a $0,545 \mu\text{g L}^{-1}$. A maioria dos HPAs apresentou valores máximos abaixo de $7,00 \mu\text{g L}^{-1}$, com exceção do fenatreno, fluoranteno, pireno e benzo(a)antraceno com $33,7 \mu\text{g L}^{-1}$, $8,95 \mu\text{g L}^{-1}$, $15,3 \mu\text{g L}^{-1}$ e $138 \mu\text{g L}^{-1}$, que foram os responsáveis pelo maior valor acumulado (soma) de todos os 15 HPAs estudados, com somas superiores a $80,0 \mu\text{g L}^{-1}$. Vale ressaltar que

apenas benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno, benzo(g,h,i)perileno e indeno(1,2,3-c,d)pireno apresentaram teores totais abaixo de $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$.

Tabela 14. Média, mediana, menor valor, maior valor soma dos HPAs nas 131 amostras de cachaça ($\mu\text{g L}^{-1}$).

HPAs	Média	Mediana	Menor valor	Maior valor	Soma
Naftaleno	0,242	0,261	0,0108	2,70	32,9
Acenafteno	0,393	0,180	0,0118	5,62	53,5
Fluoreno	0,318	0,106	8,79E-03	4,74	43,2
Fenantreno	1,97	0,545	6,06E-03	33,7	268
Antraceno	0,403	0,137	0,0126	5,39	54,8
Fluoranteno	0,620	0,205	0,0386	8,95	84,3
Pireno	0,643	0,171	0,0209	15,3	87,5
Benzo(a)antraceno	1,09	0,0221	5,03E-03	138	148
Criseno	0,223	0,0811	6,71E-03	6,75	30,3
Benzo(b)fluoranteno	0,0207	0,0410	1,70E-03	0,546	2,82
Benzo(k)fluoranteno	0,0111	8,83E-03	1,97E-03	0,0793	1,52
Benzo(a)pireno	0,0231	0,0103	1,77E-03	0,599	3,14
Dibenzo(a,h)antraceno	0,0360	0,0590	7,67E-03	2,54	4,90
Benzo(g,h,i)perileno	0,0144	0,0604	9,64E-03	0,340	1,96
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	-	-	< 0,0454	0,136	-

Trabalhos da literatura^[14,38] acreditam que a contaminação de amostras de cachaça por HPAs ocorra devido a queima dos canaviais antes da colheita da cana-de-açúcar empregada na produção da cachaça.

4.8.2 HPAs nas Amostras de Cachaça Envelhecida, Rum e Uísque

As Tabelas 15, 16, 17 e 18 apresentam a média, a mediana, o menor valor, o maior valor e a soma dos teores médios dos HPAs determinados nas amostras de cachaça envelhecida, rum, uísque escocês e uísque americano, respectivamente.

Diferentemente dos dados apresentados na Tabela 14, o teor médio ($8,40 \mu\text{g L}^{-1}$) de naftaleno encontrado nas amostras de cachaça envelhecida foi superior ao encontrado para os demais HPAs, sendo que este analito também apresentou o maior valor de soma ($33,6 \mu\text{g L}^{-1}$). O naftaleno também apresentou a maior mediana ($6,90 \mu\text{g L}^{-1}$) e a maior valor acumulado ($19,5 \mu\text{g L}^{-1}$) onde estes valores foram cerca de 10 vezes maior que o verificado para os demais HPAs.

Já a soma dos demais HPAs analisados nas amostras de cachaça envelhecida, ficaram abaixo de $5,00 \mu\text{g L}^{-1}$, variando de $0,0936$ a $3,41 \mu\text{g L}^{-1}$ para o benzo(a)pireno e fenantreno, respectivamente.

Tabela 15. Média, mediana, menor valor, maior valor e soma dos HPAs nas amostras de cachaça envelhecida ($\mu\text{g L}^{-1}$).

HPAs	Média	Mediana	Menor valor	Maior valor	Soma
Naftaleno	8,40	6,90	0,326	19,5	33,6
Acenafteno	-	-	< 3,93E-03	1,55	-
Fluoreno	0,790	0,648	0,276	1,59	3,16
Fenantreno	0,853	0,872	0,729	0,937	3,41
Antraceno	0,047	0,0747	0,0573	0,0921	0,149
Fluoranteno	0,428	0,462	0,169	0,621	1,71
Pireno	0,656	0,688	0,548	0,698	2,62
Benzo(a)antraceno	0,176	0,174	0,163	0,194	0,704
Criseno	0,209	0,218	0,147	0,252	0,836
Benzo(b)fluoranteno	0,465	0,465	0,465	0,465	0,465
Benzo(k)fluoranteno	0,0319	0,0290	0,0233	0,0464	0,128
Benzo(a)pireno	0,0312	0,0277	0,0230	0,0429	0,0936
Dibenzo(a,h)antraceno	0,0910	0,107	0,0525	0,114	0,273
Benzo(g,h,i)perileno	0,235	0,180	0,059	0,522	0,941
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	-	-	< 0,0454	-	< 0,0454

De acordo com a literatura a contaminação das amostras de cachaça envelhecida por HPAs pode ocorrer não só pelo emprego da cana-de-açúcar queimada durante a sua produção, mas também durante as etapas de maturação e também durante a adição de açúcar para a correção da coloração do destilado^[55,63].

A Tabela 16 apresenta os valores de teores referentes à análise dos HPAs nas amostras de rum.

Tabela 16. Média, mediana, menor valor, maior valor e soma dos HPAs nas amostras de rum ($\mu\text{g L}^{-1}$).

HPAs	Média	Mediana	Menor valor	Maior valor	Soma
Naftaleno	-	-	< 3,58E-03	-	-
Acenafteno	-	-	< 3,93E-03	-	-
Fluoreno	-	-	< 2,93E-03	9,32E-03	-
Fenantreno	0,0988	0,0978	0,0266	0,173	0,395
Antraceno	0,153	0,0994	0,0784	0,335	0,612
Fluoranteno	0,0597	0,0558	0,0315	0,0959	0,239
Pireno	0,0461	0,0337	0,0151	0,102	0,184
Benzo(a)antraceno	9,11E-03	9,54E-03	5,75E-03	0,0116	0,0364
Criseno	0,178	0,0143	0,0132	0,506	0,534
Benzo(b)fluoranteno	-	-	< 5,68E-04	0,0576	-
Benzo(k)fluoranteno	0,0143	6,12E-03	3,53E-03	0,0333	0,0430
Benzo(a)pireno	4,92E-03	4,77E-03	4,14E-03	5,85E-03	0,0148
Dibenzo(a,h)antraceno	-	-	< 1,08E-02	-	-
Benzo(g,h,i)perileno	-	-	< 3,22E-03	-	-
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	-	-	< 0,0454	-	-

Observa-se na Tabela 16 que os teores médios das concentrações dos hidrocarbonetos das amostras de rum, não foram detectados ou ficaram abaixo dos encontrados nas amostras de cachaça (Tabela 14). Apenas 8 dos 15 hidrocarbonetos estudados foram quantificados, sendo que os demais HPAs ficaram com teores médios abaixo dos limites de detecção e de quantificação, apresentando teores médios entre 4,92E-03 a 0,178 $\mu\text{g L}^{-1}$. Estes resultados são semelhantes aos reportados em um trabalho recente^[55], que apresentou valores apenas para benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno e benzo(a)pireno de 7 HPAs estudados em amostras de rum, com teores médios de 2,70 ng L^{-1} , 0,700 ng L^{-1} e 0,700 ng L^{-1} respectivamente. Esta

contaminação é atribuída ao melão de açúcar contaminado usado na sua produção e também durante as etapas de maturação do rum em tonéis de madeira^[55,63].

O maior valor de concentração (Tabela 16) calculado para estas amostras de rum foi de 0,506 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o criseno, enquanto que a maior soma de teores médios foi verificado para o antraceno (0,612 $\mu\text{g L}^{-1}$).

Na Tabela 17 pode ser observado os valores referente às amostras de uísque de origem escocesa. Observa-se que o fenantreno apresentou a maior média (0,477 $\mu\text{g L}^{-1}$), maior valor acumulado (0,583 $\mu\text{g L}^{-1}$) e maior soma (1,91 $\mu\text{g L}^{-1}$).

Tabela 17. Média, mediana, menor valor, maior valor e soma dos HPAs nas amostras de uísque escocês ($\mu\text{g L}^{-1}$).

HPAs	Média	Mediana	Menor valor	Maior valor	Soma
Naftaleno	0,267	0,245	0,0237	0,531	0,800
Acenafteno	0,0163	0,0163	0,0145	0,0180	0,0325
Fluoreno	0,0306	0,0306	0,0256	0,0355	0,0611
Fenantreno	0,477	0,547	0,229	0,583	1,91
Antraceno	0,0951	0,0951	0,0845	0,106	0,190
Fluoranteno	0,151	0,119	0,0772	0,288	0,603
Pireno	0,141	0,138	0,0965	0,192	0,564
Benzo(a)antraceno	0,0346	0,0214	0,0133	0,0824	0,138
Criseno	0,0565	0,0565	0,0314	0,0815	0,226
Benzo(b)fluoranteno	-	-	< 5,68E-04	0,0355	-
Benzo(k)fluoranteno	7,71E-03	7,36E-03	3,28E-03	0,0128	0,0308
Benzo(a)pireno	8,11E-03	6,05E-03	4,93E-03	0,0154	0,0324
Dibenzo(a,h)antraceno	-	-	< 1,08E-02	-	-
Benzo(g,h,i)perileno	-	-	< 3,22E-03	-	-
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	-	-	< 0,0454	-	-

Observa-se também na Tabela 17 que benzo(b)fluoranteno, dibenzo(a,h)antraceno, benzo(g,h,i)perileno e indeno(1,2,3-c,d)pireno não foram quantificados nestas amostras de rum, pois estes apresentaram teores médios abaixo do seus respectivos limites de detecção. Já a soma dos HPAs variou de 1,91 a 0,038 $\mu\text{g L}^{-1}$, onde o menor valor quantificado foi de 3,28E-03 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o benzo(k)fluoranteno.

Com relação aos uísques de origem americana, estes apresentaram teores médios dos HPAs (Tabela 18) superiores aos quantificados para os uísques de origem escocesa, variando de 0,0101 a 1,26 $\mu\text{g L}^{-1}$, para benzo(a)pireno e naftaleno respectivamente. Também a soma dos HPAs calculados nas amostras de uísque americano foi superior aos quantificados para as amostras de uísque escocês, que variou de 0,0403 a 5,04 $\mu\text{g L}^{-1}$ para benzo(a)pireno e naftaleno, respectivamente.

O naftaleno também apresentou o maior valor de concentração (2,14 $\mu\text{g L}^{-1}$), enquanto que o menor valor foi observado para o benzo(a)antraceno (9,85E-03 $\mu\text{g L}^{-1}$). No entanto, foi observado a presença do benzo (b)fluoranteno e do benzo(g,h,i)perileno, com teores médios de 0,0815 e 0,0928 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente, que não haviam sido quantificados nas amostras de uísque de origem escocesa.

Estudos semelhantes atribuíram que a presença dos HPAs em uísques americanos ocorra pela contaminação destas bebidas quando são passadas em filtros de carvão vegetal^[54] para a remoção de impurezas.

Tabela 18. Média, mediana, menor valor, maior valor e soma dos HPAs nas amostras de uísque americano ($\mu\text{g L}^{-1}$).

HPAs	Média	Mediana	Menor valor	Maior valor	Soma
Naftaleno	1,26	1,35	0,200	2,14	5,04
Acenafteno	-	-	< 3,93E-03	-	-
Fluoreno	0,641	0,633	0,337	0,961	2,56
Fenantreno	0,190	0,181	0,169	0,228	0,759
Antraceno	0,275	0,233	0,149	0,443	0,824
Fluoranteno	0,183	0,169	0,119	0,275	0,733
Pireno	0,146	0,113	0,0456	0,312	0,584
Benzo(a)antraceno	0,0468	0,0250	9,85E-03	0,128	0,187
Criseno	0,337	0,139	0,0487	1,02	1,35
Benzo(b)fluoranteno	0,0815	0,0815	0,0416	0,121	0,163
Benzo(k)fluoranteno	0,0658	0,0543	8,80E-03	0,146	0,263
Benzo(a)pireno	0,0101	9,56E-03	5,04E-03	0,0162	0,0403
Dibenzo(a,h)antraceno	-	-	< 1,08E-02	0,0412	-
Benzo(g,h,i)perileno	0,0928	0,0928	0,0351	0,151	0,186
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	-	-	< 0,0454	-	-

4.8.3 Cachaça Produzida com Cana-de-açúcar Queimada x Cachaça Produzida com Cana-de-açúcar Não Queimada

A Tabela 19 apresenta a média, mediana, menor valor, maior valor e a soma dos teores dos 15 HPAs analisados em dois grupos de cachaça constituído por 131 amostras.

Tabela 19. Média, mediana, menor valor, maior valor e soma dos HPAs nas amostras produzidas com cana-de-açúcar queimada e com cana-de-açúcar não queimada ($\mu\text{g L}^{-1}$).

HPAs	Cachaça produzida com cana queimada					Cachaça produzida com cana não queimada				
	Média	Mediana	Menor valor	Maior valor	Soma	Média	Mediana	Menor valor	Maior valor	Soma
Naftaleno	0,273	0,388	0,0314	2,68	7,93	0,233	0,245	0,0108	2,70	25,0
Acenafteno	1,05	0,703	0,0693	5,62	30,5	0,215	0,148	0,0118	2,77	23,0
Fluoreno	1,13	0,882	0,0370	4,74	32,8	0,0970	0,0716	8,79E-3	0,648	10,4
Fenantreno	7,01	6,19	0,4433	33,7	203	0,606	0,421	6,06E-3	3,13	64,9
Antraceno	1,41	1,22	0,133	5,39	41,0	0,129	0,108	0,0126	1,35	13,8
Fluoranteno	2,07	1,80	0,394	8,95	60,1	0,226	0,147	0,0386	2,07	24,2
Pireno	2,32	2,12	0,337	15,3	67,3	0,189	0,149	0,0209	1,19	20,2
Benzo(a)antraceno	4,95	0,156	0,0218	138	144	0,0399	0,0180	5,03E-3	1,12	4,27
Criseno	0,734	0,216	0,0507	6,75	21,3	0,0843	0,0711	6,71E-3	1,79	9,02
Benzo(b)fluoranteno	0,0527	0,224	0,0272	0,546	1,53	0,0121	0,0270	1,70E-3	0,341	1,29
Benzo(k)fluoranteno	0,0205	0,0299	7,74E-3	0,0793	0,593	8,62E-3	7,40E-3	1,97E-3	0,0458	0,923
Benzo(a)pireno	0,0456	0,0454	0,0103	0,350	1,32	0,0168	9,02E-3	1,77E-3	0,599	1,80
Dibenzo(a,h)antraceno	0,0252	0,164	0,0738	0,329	0,731	0,0390	0,0435	7,67E-3	2,54	4,17
Benzo(g,h,i)perileno	8,31E-3	0,241	0,241	0,241	0,241	0,0161	0,0531	9,64E-3	0,340	1,72
Indeno(1,2,3-cd)pireno	-	-	< 0,0454	0,136	-	-	-	< 0,0454	-	-
∑ dos teores médios	21,1					1,91				

O primeiro grupo é constituído por 26 amostras de cachaças produzidas com cana-de-açúcar queimada. Já o segundo é constituído por 105 amostras de cachaça produzidas com cana-de-açúcar não queimada.

De acordo com os dados da Tabela 19, os teores médios, a média, o maior valor e a soma dos teores da maioria dos HPAs analisados nas amostras produzidas com cana-de-açúcar queimada, foram superiores aos observados para as amostras produzidas com cana não queimada, com exceção do teor médio do dibenzo(a,h)antraceno ($0,0390 \mu\text{g L}^{-1}$), e a soma do naftaleno ($25,0 \mu\text{g L}^{-1}$), benzo(k)fluoranteno ($0,923 \mu\text{g L}^{-1}$), benzo(a)pireno ($1,80 \mu\text{g L}^{-1}$), dibenzo(a,h)antraceno ($4,17 \mu\text{g L}^{-1}$) e benzo(g,h,i)perileno ($1,72 \mu\text{g L}^{-1}$). Estes valores são semelhantes aos encontrados na literatura^[15], onde os teores médios de algumas amostras de cachaça produzidas com cana-de-açúcar queimada, variaram de 1,07 a $9,70 \mu\text{g L}^{-1}$, sendo superiores aos encontradas para as produzidas com cana-de-açúcar não queimada ($0,0500$ a $6,00 \mu\text{g L}^{-1}$).

Obseva-se também que a soma dos teores médios dos HPAs nas amostras de cachaça produzidas com cana queimada ($21,1 \mu\text{g L}^{-1}$) foi cerca de dez vezes maior que o observado nas amostras de cachaça produzidas com cana não queimada ($1,91 \mu\text{g L}^{-1}$).

De acordo os valores apresentados na Tabela 19, supõe-se que a queima da cana-de-açúcar utilizada na produção da cachaça seja uma das fontes de contaminação da cachaça por HPAs. Além do efeito das queimadas, trabalhos^[16,38] da literatura acreditam que a contaminação também possa ocorrer por meio das graxas que lubrificam as moendas, através da adição de caramelo, durante a maturação

(envelhecimento) e armazenamento dos destilados em tanques de aço inox revestidos com manta asfáltica (utilizada para evitar a oxidação desses tanques pelos destilados).

4.8.4 Comparação entre os Teores Médios dos HPAs nos Destilados

A Tabela 20 ilustra os teores médios de HPAs nas amostras de bebidas analisadas neste trabalho. Observa-se que a cachaça produzida com cana-de-açúcar queimada apresentou, com relação aos demais destilados, teores médios superiores em dez dos quinze HPAs estudados, que variaram de 0,0456 a 7,01 $\mu\text{g L}^{-1}$; onde as exceções foram naftaleno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, dibenzo(a,h)antraceno e benzo(g,h,i)perileno. Destaque deve ser dado ao teor médio de naftaleno (8,40 $\mu\text{g L}^{-1}$) encontrado nas amostras de cachaça envelhecida, superior a todos os teores calculados para as demais bebidas.

Nota-se também que excluindo-se os teores médios das amostras de cachaça produzidas com cana-de-açúcar queimada, que a cachaça envelhecida foi a que apresentou os maiores teores médios dos HPAs com relação as outras bebidas estudadas, excetuando-se o teor médio do antraceno (0,0747 $\mu\text{g L}^{-1}$) que é menor que o teor médio encontrado nas amostras de rum (0,153 $\mu\text{g L}^{-1}$), uísque escocês (0,0951 $\mu\text{g L}^{-1}$) e uísque americano (0,275 $\mu\text{g L}^{-1}$).

Pode ser observado também, que os teores médios encontrados nas amostras de cachaça produzidas com cana-de-açúcar não queimada variaram de 8,62E-3 [benzo(k)fluoranteno] a 0,606 $\mu\text{g L}^{-1}$ (fenantreno), e estes teores foram baixos assim como os encontrados para as amostras de rum e uísque de origem escocesa, cujos teores variram de 4,92E-03 a 0,178 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 7,71E-03 a 0,477 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente.

Tabela 20. Teores médios dos HPAs nas amostras de cachaça produzida com cana queimada, não queimada, cachaça envelhecida, rum, uísque escocês e uísque americano ($\mu\text{g L}^{-1}$).

HPAs	Cachaça de cana queimada	Cachaça de cana não queimada	Cachaça envelhecida	Rum	Uísque escocês	Uísque americano
Naftaleno	0,273	0,233	8,40	-	0,267	1,26
Acenafteno	1,05	0,215	-	-	0,0163	-
Fluoreno	1,13	0,0970	0,790	-	0,0306	0,641
Fenantreno	7,01	0,606	0,853	0,0988	0,477	0,190
Antraceno	1,41	0,129	0,0747	0,153	0,0951	0,275
Fluoranteno	2,07	0,226	0,428	0,0597	0,151	0,183
Pireno	2,32	0,189	0,656	0,0461	0,141	0,146
Benzo(a)antraceno	4,95	0,0399	0,176	9,11E-03	0,0346	0,0468
Criseno	0,734	0,0843	0,209	0,178	0,0565	0,337
Benzo(b)fluoranteno	0,0527	0,0121	0,465	-	-	0,0815
Benzo(k)fluoranteno	0,0205	8,62E-3	0,0319	0,0143	7,71E-03	0,0658
Benzo(a)pireno	0,0456	0,0168	0,0312	4,92E-03	8,11E-03	0,0101
Dibenzo(a,h)antraceno	0,0252	0,0390	0,0910	-	-	-
Benzo(g,h,i)perileno	8,31E-3	0,0161	0,235	-	-	0,0928
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	-	-	-	-	-	-

Outro detalhe a ser observado na Tabela 20 é que o naftaleno, acenafeno, fluoreno, benzo(b)fluoranteno, dibenzo(a,h)antraceno, benzo(g,h,i)perileno e indeno(1,2,3-c,d)pireno não foram quantificados nas mostras de rum, caracterizando-se assim como o destilado que apresentou a menor quantidade de hidrocarbonetos detectados. Observa-se também que o teor médio de naftaleno ($1,26 \mu\text{g L}^{-1}$) calculado para as amostras de uísque de origem americana foi menor que o calculado para as amostras de cachaça envelhecida ($8,40 \mu\text{g L}^{-1}$), mas foi maior que o encontrado nas demais amostras de destilados, que apresentaram teores próximos a $0,250 \mu\text{g L}^{-1}$.

Estes resultados demonstram que o teor médio dos HPAs varia de destilado para destilado, estando provavelmente relacionado com o tipo de material e com as etapas envolvidas na produção destas bebidas^[14,50,52-55].

4.8.5 Comparação dos Teores Médios dos HPAs com a Legislação

Como não existe limite legal para os HPAs, alguns países europeus passaram a adotar limites máximos para os hidrocarbonetos em alimentos. A seção 1.4.7 apresenta os limites (individuais ou a soma) adotados por alguns países para os HPAs.

Objetivando-se a comparação dos resultados calculados para os teores dos HPAs nas amostras de cachaça (produzidas com cana queimada e não queimada) com a legislação internacional, os teores médios dos HPAs apresentados na Tabela 18 tiveram suas unidades transformadas de $\mu\text{g L}^{-1}$ para $\mu\text{g kg}^{-1}$. Esta mudança de unidade foi realizada considerando-se o teor alcoólico das amostras (40% v/v etanol/água) e

utilizando-se a densidade^[87] do etanol (0,78 g L⁻¹) e da água (1,00 g L⁻¹), a temperatura ambiente.

A Tabela 21 apresenta os teores médios e a soma dos teores médios dos HPAs em µg kg⁻¹ calculados para as amostras de cachaça produzidas com cana-de-açúcar queimada e para as amostras produzidas com cana-de-açúcar não queimada.

Tabela 21. Teores médios e soma dos teores médios dos HPAs em µg kg⁻¹ nas amostras de cachaça produzidas com cana-de-açúcar queimada e não queimada.

HPAs	Cachaça produzida com cana queimada	Cachaça produzida com cana não queimada
Naftaleno	0,298	0,254
Acenafteno	1,15	0,235
Fluoreno	1,24	0,106
Fenantreno	7,65	0,662
Antraceno	1,54	0,141
Fluoranteno	2,26	0,247
Pireno	2,53	0,206
Benzo(a)antraceno	5,40	0,0437
Criseno	0,802	0,0917
Benzo(b)fluoranteno	0,0579	0,0131
Benzo(k)fluoranteno	0,0218	0,0098
Benzo(a)pireno	0,0502	0,0186
Dibenzo(a,h)antraceno	0,0273	0,0426
Benzo(g,h,i)perileno	8,74E-03	0,0175
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	-	-
Σ dos HPAs	23,0	2,09

Considerando-se os limites adotados para o benzo(a)pireno^[18,30,48] pela Alemanha, Áustria, República Tcheca, Suíça, Eslováquia, Itália e Polônia que é de 1 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ em alimentos defumados, observa-se que ambas as amostras de cachaça (produzidas com cana queimada e as produzidas com cana não queimada) apresentaram limites toleráveis com a legislação destes países, uma vez que os teores médios encontrados foram de 0,0502 e 0,0186 $\mu\text{g kg}^{-1}$, respectivamente.

Comparando-se também estes valores com os limites estabelecidos pela Sociedade Alemã de Ciência dos Lipídeos^[22,30], a soma dos HPAs em ambas as amostras de cachaça (23,0 e 2,09 $\mu\text{g kg}^{-1}$) ficaram dentro do limite máximo permitido, que é de 25 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de HPAs totais em alimentos defumados.

Considerando-se agora os limites estabelecidos pelo Ministério da Saúde Italiano e o do Conselho de Regulamentações da Espanha^[16,42], o teor médio de benzo(a)antraceno calculado para as amostras de cachaça produzidas com cana queimada (5,40 $\mu\text{g kg}^{-1}$) fica acima do teor máximo estabelecido, que é de 2 $\mu\text{g kg}^{-1}$, enquanto que o teor nas amostras de cachaça produzidas com cana não queimada (0,0437 $\mu\text{g kg}^{-1}$) fica abaixo do valor estabelecido.

Com relação aos limites adotados pela União Européia^[52] para a soma de benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(g,h,i)perileno e indeno(1,2,3-c,d)pireno como sendo de 100 ng L^{-1} em água potável, observa-se que a soma dos teores médios destes quatro HPAs, apresentados na Tabela 19 (seção 4.8.3), estão abaixo deste teor máximo, sendo de 81,5 ng L^{-1} para as amostras de cachaça produzidas com cana queimada e de 36,8 ng L^{-1} para as produzidas com cana não queimada. No entanto, para esta mesma legislação, quando considera-se

individualmente o teor do benzo(a)pireno, ambas as amostras de cachaça apresentam teores médios acima do limite máximo permitido de $10,0 \text{ ng L}^{-1}$ (45,6 e $16,8 \text{ ng L}^{-1}$, respectivamente).

Também, os limites de benzo(a)pireno e benzo(a)antraceno estabelecido pela Associação de alimentos em Conserva dos EUA^[18,22], calculados para as amostras de cachaça produzidas com cana queimada ($0,0502$ e $5,40 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$) e para as amostras de cachaça de cana não queimada ($0,0186$ e $0,0437 \mu\text{g kg}^{-1}$), estariam dentro do limite máximo estabelecido de $10 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$ e $20 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$ para o benzo(a)pireno e benzo(a)antraceno, respectivamente.

Quando se considera os limites estabelecidos pela legislação brasileira^[66] para o benzo(a)pireno em águas destinadas ao consumo humano ($0,01 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$) com os calculados para as amostras de cachaça deste trabalho, observa-se que (Tabela 19) apenas as cachaças produzidas com cana não queimada apresentariam teor de benzo(a)pireno muito próximo da legislação nacional, com $0,0168 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, ao passo que o teor deste hidrocarboneto nas amostras de cachaça produzidas com cana queimada estaria muito acima deste limite ($0,0456 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$).

Assim, os teores médios de HPAs encontrados nas amostras de cachaça utilizadas neste trabalho, podem ou não ser legais dependendo da legislação adotada como referência.

4.9 Análise Multivariada

Após as análises quantitativas dos 15 HPAs nas 147 amostras de destilados (cachaça, cachaça envelhecida, rum, uísque escocês e uísque americano), realizou-se a análise multivariada nestas amostras.

Os tratamentos quimiométricos foram divididos em duas etapas:

- Distinção entre cachaça produzida com cana-de-açúcar queimada da cachaça produzida com cana-de-açúcar não queimada;
 - Análise exploratória do banco de dados (*PCA, HCA, FA e PLS*);
 - Criação e teste dos modelos quimiométricos (*CDA, LDA e QDA*);

- Distinção entre cachaça envelhecida, rum, uísque escocês e uísque americano;
 - Análise exploratória do banco de dados (*PCA, FA, PLS e HCA*);

Os resultados serão apresentados a seguir, considerando-se cada tratamento quimiométrico separadamente.

4.9.1 Distinção entre Cachaça Produzida com Cana-de-açúcar Queimada e Cachaça Produzida com Cana-de-açúcar Não Queimada

Inicialmente foi realizada a separação das amostras em dois grupos: as amostras de cachaça produzidas com cana-de-açúcar queimada e as cachaças produzidas com cana-de-açúcar não queimada.

Com a finalidade de explorar os resultados analíticos (banco de dados) e elaborar os modelos, os conjuntos considerados nesta etapa foram:

- Cachaça produzida com cana-de-açúcar queimada = 26 amostras
- Cachaça produzida com cana-de-açúcar não queimada = 105 amostras

4.9.2 Análise de Componentes Principais (PCA)

A análise de componentes principais foi utilizada com o propósito de realizar-se a análise exploratória nos resultados analíticos obtidos experimentalmente, observando-se a formação ou não de grupos de amostras de cachaça similares. Nesta análise foi utilizada a matriz de correlação, onde os resultados analíticos são normalizados para a realização da análise.

A análise de *PCA* indicou a existência de dois grupos distintos: o das amostras de cachaças produzidas com cana-de-açúcar queimada e o das amostras de cachaça produzidas com cana-de-açúcar não queimada. A Figura 16 ilustra estes dois grupos.

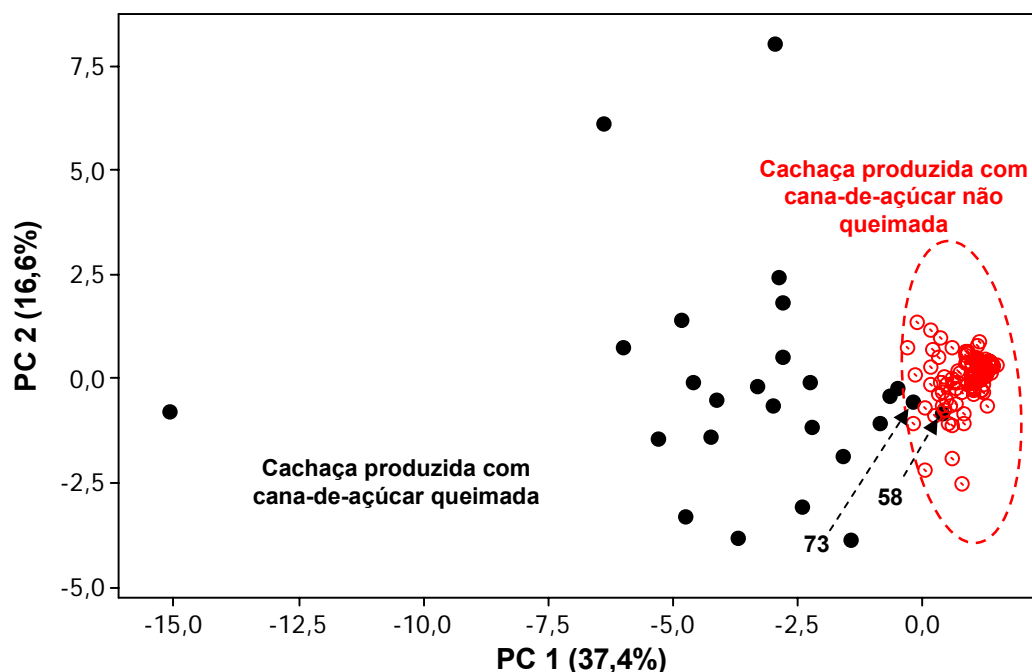


Figura 16. Gráfico de escores obtido para o conjunto de amostras de cachaça (grupo vermelho = 105 amostras e grupo preto = 26 amostras).

A soma dos valores obtidos para as três primeiras componentes principais PC 1 (37,4%), PC 2 (16,6%) e PC 3 (11,4%) apresentaram uma explicação de 65,4% do total da variância do banco de dados original.

Dentre os 15 HPAs analisados, 13 apresentaram as melhores propriedades como discriminante para a análise de *PCA*: naftaleno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, benzo(a)antraceno, criseno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno, dibenzo(a,h)antraceno e benzo(g,h,i)perileno.

Analisando a Figura 16, observa-se que das 26 amostras de cachaça produzidas com cana-de-açúcar queimada, apenas duas (amostra 58 e 73 em destaque) foram

classificadas próximas ao grupo das amostras de cachaça produzidas com cana não queimada. No entanto, nenhuma amostra de cachaça produzida com cana-de-açúcar não queimada foi classificada no grupo das produzidas com cana queimada. Um possível fator para que as amostras 58 e 73 terem sido classificadas no grupo das amostras de cachaça produzidas com cana não queimada é que os valores da concentração de acenafteno, fluoreno, benzo(k)floranteno e benzo(a)pireno destas amostras foram menores que os encontrados para a maioria das demais amostras produzidas com cana-de-açúcar queimada.

A Figura 17 a seguir apresenta o gráfico de pesos para os compostos mais importantes nesta separação. Observa-se que, dentre os compostos que propiciaram o agrupamento das amostras de cachaça produzidas com cana-de-açúcar queimada, os analitos que mais contribuíram para este agrupamento foram acenafteno e fluoreno. No entanto, para as amostras de cachaça produzidas com cana-de-açúcar não queimada, benzo(a)antraceno e criseno foram os analitos que mais contribuíram para este agrupamento.

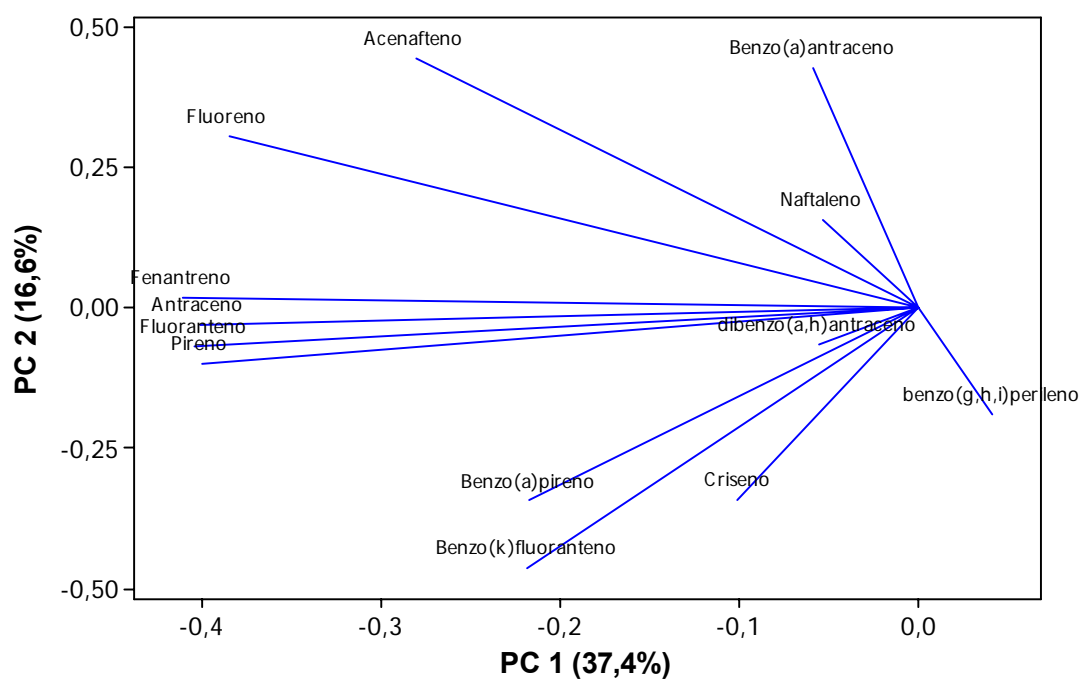


Figura 17. Gráfico de pesos entre PC 1 x PC 2 para o conjunto de 131 amostras de cachaça.

A Tabela 22 apresenta os valores dos pesos, na primeira e segunda componente (PC 1 e PC 2), obtidos para cada composto utilizado individualmente, e também a somatória dos valores em cada componente, evidenciando os dois compostos mais importantes de cada grupo nesta separação.

Tabela 22. Valores de pesos obtidos na separação PC 1 x PC 2 para cada HPA.

Compostos	PC 1	PC 2	PC 1 + PC 2
Naftaleno	- 0,0542	0,156	0,210
Acenafteno	- 0,281	0,444	0,725
Fluoreno	- 0,386	0,307	0,693
Fenantreno	- 0,412	0,0201	0,432
Antraceno	- 0,402	- 0,0314	0,433
Fluoranteno	- 0,405	- 0,0682	0,473
Pireno	- 0,401	- 0,0981	0,499
Benzo(a)antraceno	- 0,0591	0,427	0,486
Criseno	- 0,101	- 0,341	0,442
Benzo(k)fluoranteno	- 0,218	- 0,461	0,679
Benzo(a)pireno	- 0,218	- 0,343	0,561
Dibenzo(a,h)antraceno	- 0,0561	- 0,0643	0,120
Benzo(g,h,i)perileno	0,0413	- 0,189	0,230

4.9.3 Análise de Fatores (FA)

A análise de fatores conduziu a um resultado muito semelhante ao apresentado na análise de *PCA*. Isto ocorreu devido à semelhança entre os algoritmos destas duas análises quimiométricas.

Nesta análise foi utilizada a matriz de correlação, ou seja, os resultados analíticos foram normalizados para a realização da análise multivariada.

A Figura 18 apresenta o gráfico de escores obtido na análise de *FA*, utilizando-se 13 hidrocarbonetos como discriminantes químicos.

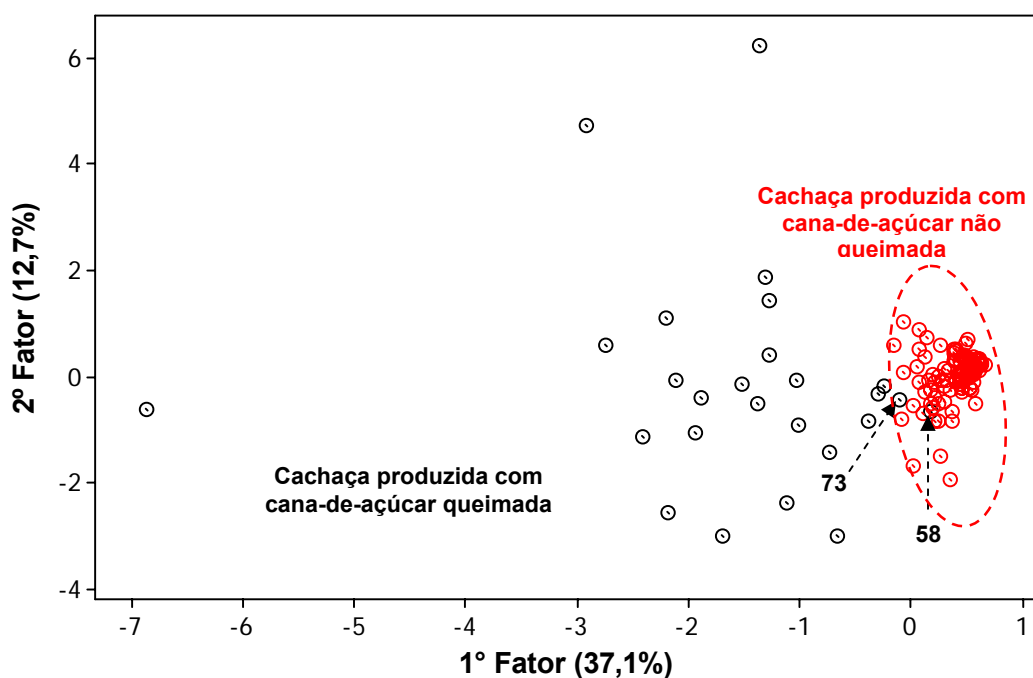


Figura 18. Gráfico de escores entre os fatores 1 e 2 da *FA* obtido para o conjunto de amostras de cachaça (grupo vermelho = 105 amostras e grupo preto = 26 amostras).

Observa-se na Figura 18 a presença de dois grupos distintos de amostras de cachaça, um representando as amostras de cachaça produzidas com cana-de-açúcar queimada (grupo preto), e outro representando as amostras de cachaça produzidas com cana-de-açúcar não queimada (grupo vermelho). Nota-se que as amostras de cachaça produzidas com cana-de-açúcar não queimada encontram-se mais agrupadas que as amostras produzidas com cana queimada, as quais encontram-se distribuídas em um espaço maior.

Observa-se também, assim como ocorreu no gráfico de escores da *PCA* (Figura 16) que existem duas amostras de cachaça produzidas com cana-de-açúcar queimada no grupo das amostras de cachaça produzidas com cana não queimada (amostras 58 e

73). No entanto, nenhuma amostra de cachaça produzida com cana-de-açúcar não queimada foi classificada no grupo das amostras produzidas com cana queimada.

Uma possível justificativa para o fato das amostras 58 e 73 terem sido classificadas no grupo das amostras de cachaça produzidas com cana-de-açúcar não queimada, é que os valores de concentração do fluoreno, acenafteno e benzo(k)fluoranteno calculados para as amostras de cachaça produzidas com cana queimada sejam menores que os calculados para as amostras produzidas com cana queimada.

A Figura 19 apresenta o gráfico de pesos obtido nesta análise.

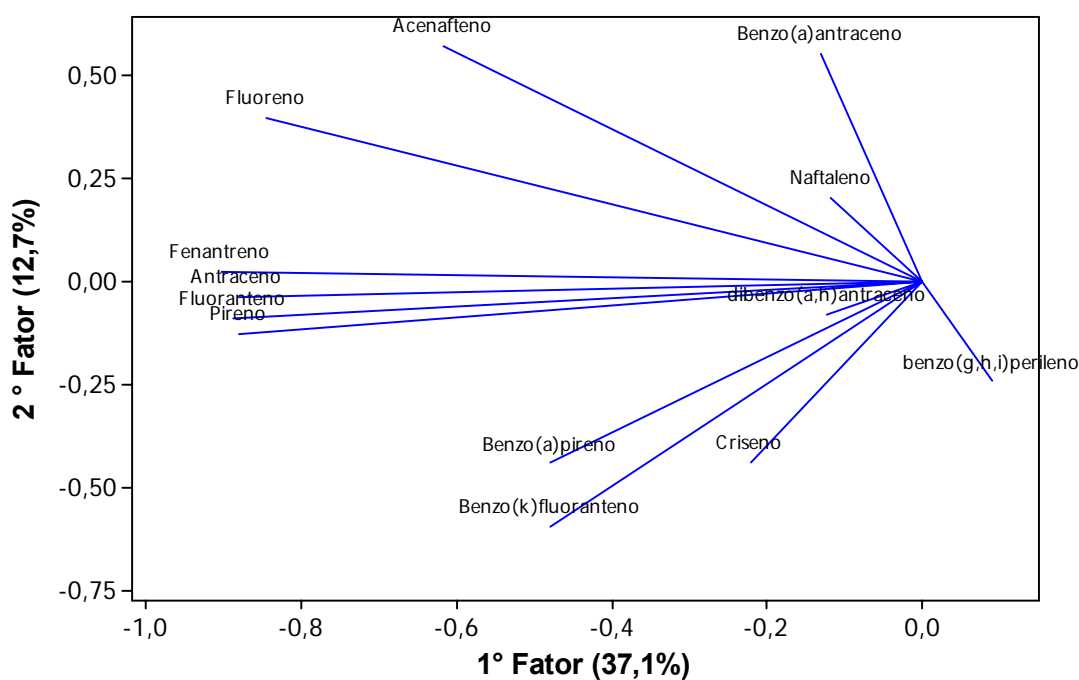


Figura 19. Gráfico de pesos das componentes 1 e 2 da FA.

Os compostos mais importantes para o agrupamento das cachaças produzidas com cana queimada foram acenafteno e fluoreno, enquanto que para o agrupamento das amostras produzidas com cana não queimada, os dois compostos mais importantes foram o benzo(a)antraceno e o criseno. O valor do peso de cada composto em cada componente (1° Fator e 2° Fator) está expresso na Tabela 23.

Tabela 23. Valores de pesos obtidos na separação 1° Fator x 2° Fator da FA.

Compostos	1° Fator	2° Fator	1° Fator + 2° Fator
Naftaleno	- 0,118	0,201	0,319
Acenafteno	- 0,618	0,571	1,19
Fluoreno	- 0,847	0,395	1,24
Fenantreno	- 0,904	0,0204	0,924
Antraceno	- 0,883	- 0,0403	0,923
Fluoranteno	- 0,889	- 0,0880	0,978
Pireno	- 0,881	- 0,127	1,01
Benzo(a)antraceno	- 0,130	0,549	0,679
Criseno	- 0,221	- 0,439	0,660
Benzo(k)fluoranteno	- 0,480	- 0,593	1,07
Benzo(a)pireno	- 0,479	- 0,441	0,92
Dibenzo(a,h)antraceno	- 0,123	- 0,0821	0,205
Benzo(g,h,i)perileno	0,0910	- 0,243	0,334

As porcentagens de explicação da variância do banco de dados original, para os três primeiros fatores foi de 37,1% ; 12,7% e 11,2 % para o primeiro, segundo e terceiro fator, respectivamente, sendo que a porcentagem acumulada dos três primeiros fatores foi de 61,0%, inferior ao valor de 65,4 % encontrado na análise por PCA.

4.9.4 Regressão dos Mínimos Quadrados Parciais (PLS)

A análise por regressão dos mínimos quadrados parciais apresentou resultados satisfatórios para a distinção entre amostras de cachaça produzidas com cana-de-açúcar queimada e as amostras produzidas com cana não queimada.

O valor de variância acumulada obtida para cada componente está apresentado na Tabela 24.

Tabela 24. Valores de variância acumulada obtidos na *PLS*.

Componentes	Variância acumulada (%)
1	43,5
2	53,0
3	63,3
4	68,0

Observamos na Tabela 24 que as três primeiras componentes apresentam uma porcentagem de acerto do gráfico de escores de 63,3 %. Este valor foi menor que o obtido na análises de *PCA* (65,4%) e maior que o obtido na análise de *FA* (61,0%), onde ambas apresentaram uma porcentagem de acerto acima de 60,0% nas três primeiras componentes. Estes resultados indicam que a *PLS*, *PCA* e a *FA* conduzem a bons resultados exploratórios no agrupamento dos dois grupos de cachaças.

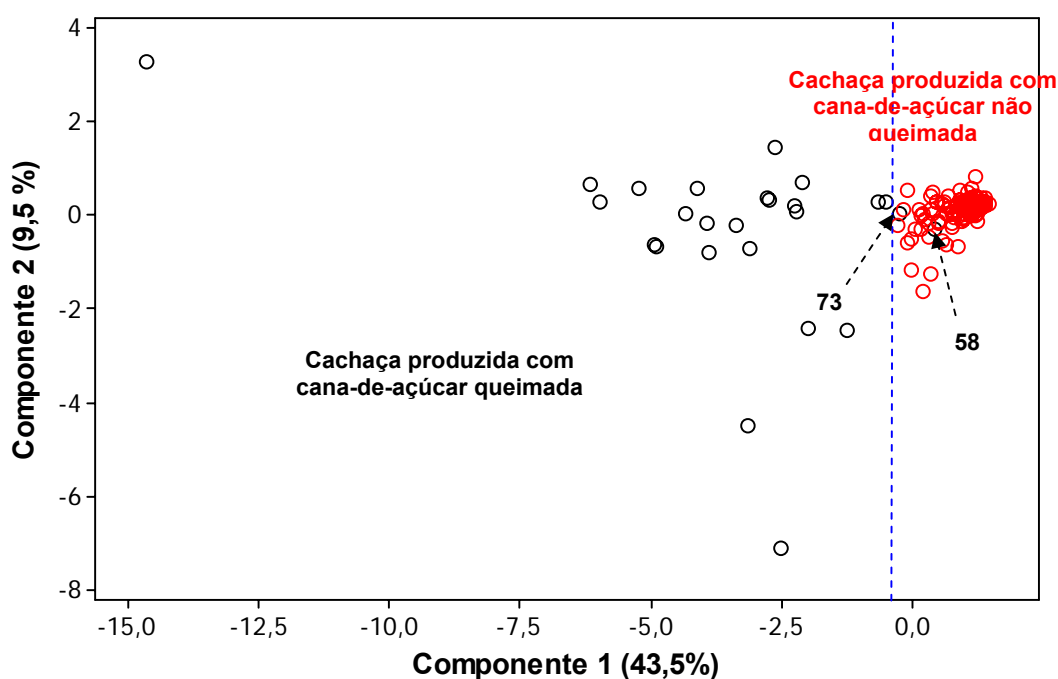


Figura 20. Gráfico de escores entre as componentes 1 e 2 da PLS.

Na Figura 20 pode ser observado a presença de dois grupos bem definidos, separados por uma reta, caracterizando uma diferença entre os dois tipos de cana-de-açúcar (queimada e não queimada) empregada na produção da cachaça.

Observa-se ainda na Figura 20 que as amostras de cachaça produzidas com cana-de-açúcar não queimada (grupo vermelho) encontram-se agrupadas à direita da reta no gráfico de escores, enquanto que as amostras produzidas com cana queimada (grupo preto) encontram-se distribuídas à esquerda da reta.

Assim como observado nos gráficos de escores da PCA (Figura 16) e da FA (Figura 18), as amostras 58 e 73 (produzidas com cana-de-açúcar queimada) também encontram-se próximas a região das amostras produzidas com cana não queimada. A

presença delas pode ser justificada pelos baixos teores de pireno e fenantreno encontrado nestas amostras.

Os compostos mais importantes para cada grupo estão apresentados no gráfico de pesos da Figura 21 abaixo.

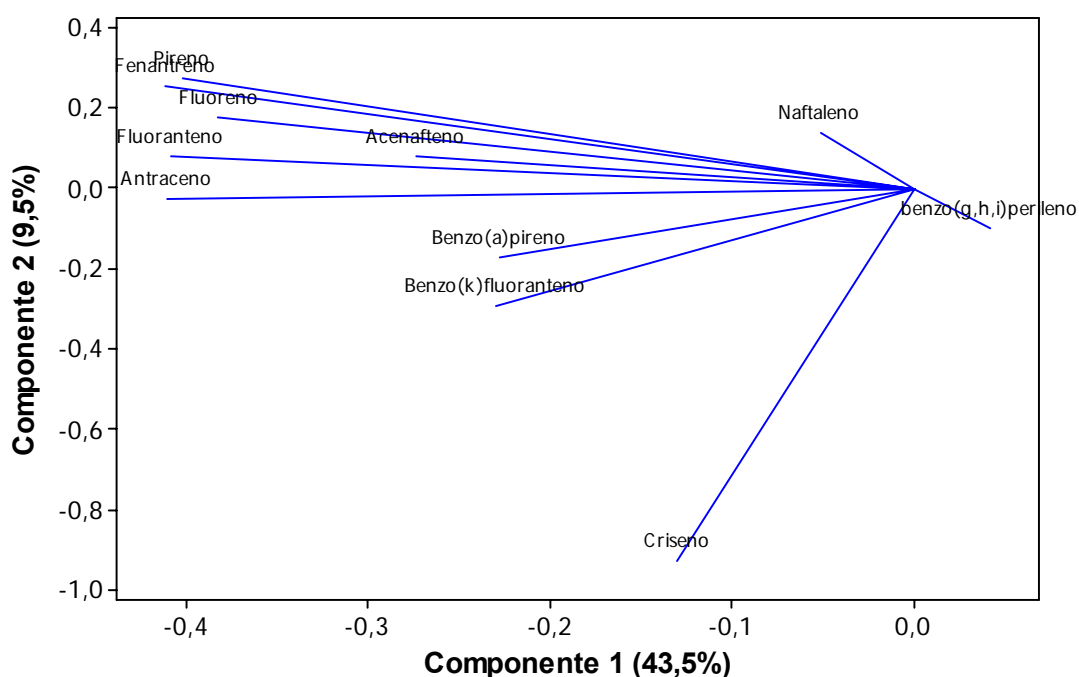


Figura 21. Gráfico de pesos das componentes 1 e 2 da PLS.

De forma semelhante ao observado no tratamento quimiométrico utilizando a análise de PCA, o acenafeno, fluoreno, benzo(k)fluoranteno e benzo(a)pireno foram os HPAs mais importantes para a formação do grupo das amostras de cachaça produzidas com cana-de-açúcar queimada. No entanto, benzo(g,h,i)perileno e naftaleno foram os hidrocarbonetos mais importantes para a formação do grupo das amostras de cachaça produzidas com cana-de-açúcar não queimada.

4.9.5 Análise Hierárquica de Agrupamentos (HCA)

A análise hierárquica de agrupamentos não foi satisfatória para a separação dos dois grupos, portanto não serão apresentados resultados desta análise.

4.9.6 Análise Discriminante Canônica (CDA)

O grupo treinamento (criação do modelo quimiométrico) foi construído utilizando-se 103 das 131 amostras de cachaça, sendo que 19 foram amostras de cachaça produzidas com cana-de-açúcar queimada e 84 amostras de cachaça produzidas com cana não queimada.

A análise discriminante canônica apresentou uma boa separação para os dois grupos de cachaça estudados. Das 131 amostras de cachaça analisadas, apenas 3 amostras foram classificadas de modo errôneo (2 amostras no grupo “verdadeiro” e 1 amostra no grupo “teste”).

A Tabela 25 apresenta as porcentagens obtidas no modelo criado por CDA. A porcentagem acumulada de acerto para o modelo criado está acima de 97,0%.

Tabela 25. Classificação obtida na *CDA* para os dois grupos de cachaça.

Modelo	Grupo verdadeiro	
	Cana queimada	Cana não queimada
Cana queimada	17	1
Cana não queimada	2	83
Total	19	84
Total Correto	17	84
Porcentagem (%)	89,5	98,8
Total de amostras	103	
Total corretas	100	
% Correta	97,1	

Os discriminantes utilizados nesta separação foram: naftaleno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, fluoranteno, criseno e Indeno(1,2,3-c,d)pireno.

Após a criação do modelo por *CDA*, este foi testado utilizando-se 28 amostras de cachaça (APÊNDICE I) não pertencentes ao conjunto de amostras utilizadas na criação do modelo. Estas amostras estão divididas em: 7 amostras de cachaça produzidas com cana-de-açúcar queimada e 21 amostras produzidas com cana não queimada. A Figura 22 e a Tabela 26 ilustram estes resultados.

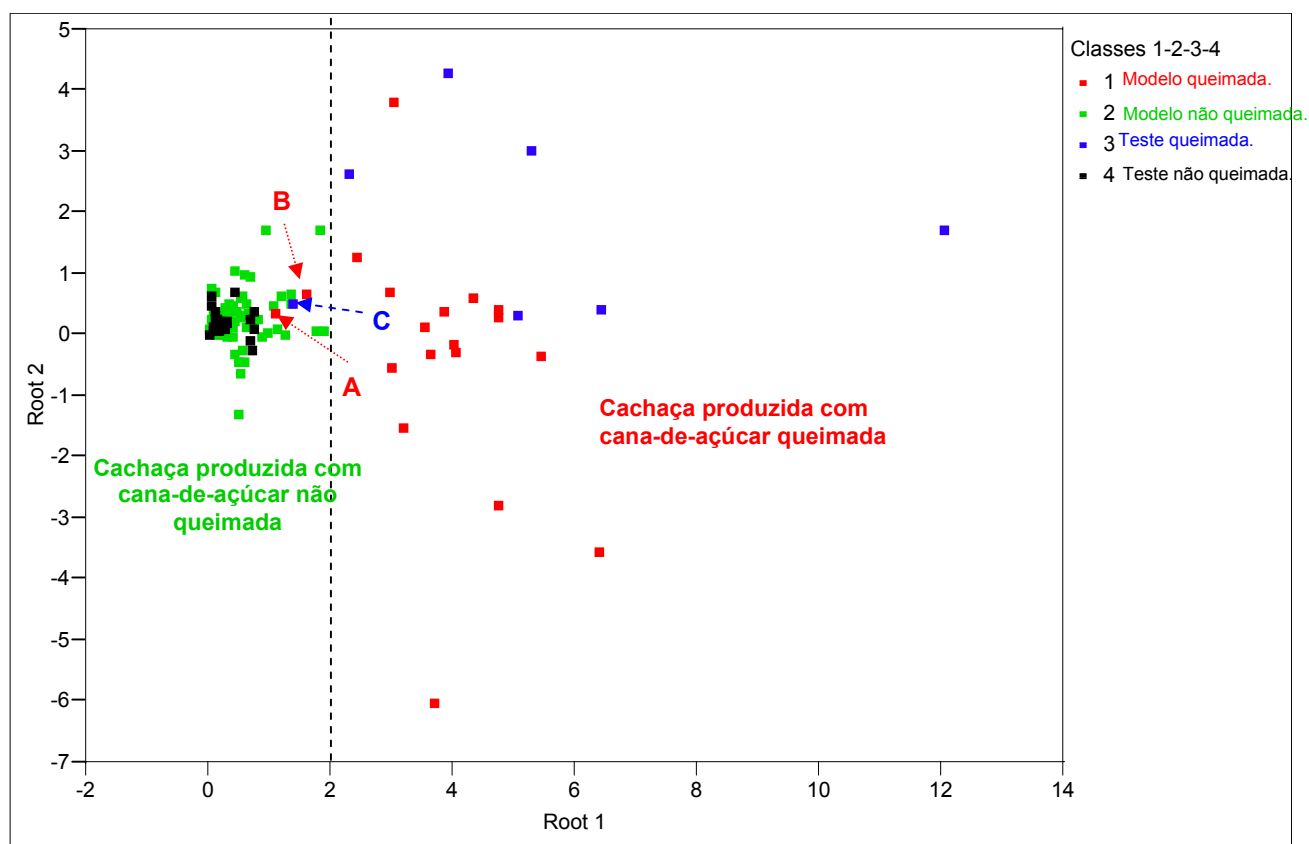


Figura 22. Gráfico de escores da *CDA*, considerando Root 1 x Root 2 (A e B = amostras 73 e 76 do modelo; C = amostra 114 do grupo teste).

Na Figura 22, as amostras demarcadas em verde (cana não queimada) e vermelha (cana queimada) pertencem ao grupo modelo, enquanto que as amostras em azul (cana queimada) e as amostras em preto (cana não queimada) pertencem ao grupo teste. Observa-se que existem três amostras de cachaça que foram classificadas erroneamente, sendo que duas destas pertencem ao grupo modelo (cana queimada, letras A e B) e a outra pertence ao grupo teste (cana queimada, letra C). A amostra 73 é a mesma que foi classificada de forma errônea na criação do modelo (Tabela 25), e também nos gráficos de escores da *PCA* (Figura 16), *FA* (Figura 18) e *PLS* (Figura 20).

A Tabela 26 a seguir apresenta os valores obtidos para a classificação das amostras do grupo teste. Conforme relatado anteriormente, apenas uma amostra foi classificada no grupo errado (amostra C = 114), obtendo-se uma porcentagem de acerto para as amostras testadas superior a 96,0%. Para o grupo das amostras produzidas com cana-de-açúcar queimada, a porcentagem de acerto foi de 85,7%; enquanto para as amostras produzidas com cana de açúcar não queimada todas foram classificadas corretamente, onde a porcentagem de acerto foi de 100%.

Tabela 26. Classificação obtida na CDA para as amostras teste.

Grupo teste	Grupo verdadeiro	
	Cana queimada	Cana não queimada
Cana queimada	6	0
Cana não queimada	1	21
Total	7	21
Total Correto	6	21
Porcentagem (%)	85,7	100
Total de amostras	28	
Total corretas	27	
% Correta	96,4	

4.9.7 ANÁLISE DISCRIMINANTE LINEAR (LDA)

A análise discriminante linear^[77-79] é uma ferramenta extremamente poderosa em estudos de discriminação entre grupos, principalmente quando se possui uma pequena quantidade de grupos (dois ou três).

Os resultados obtidos na separação entre os dois grupos de cachaça estão apresentados na Tabela 27 (criação do modelo), Tabela 28 (validação cruzada do modelo) e Tabela 29 (teste do modelo).

A Tabela 27 apresenta o modelo obtido com as 103 amostras de cachaça. Observa-se que todas as cachaças (84 amostras) produzidas com cana não queimada foram classificadas corretamente, enquanto apenas duas amostras de cachaça produzidas com cana queimada foram classificadas no grupo errado. Assim a porcentagem total de acerto do modelo criado foi de 98,1%.

Tabela 27. Classificação das amostras no modelo da *LDA*.

Modelo	Grupo verdadeiro	
	Cana queimada	Cana não queimada
Cana queimada	17	0
Cana não queimada	2	84
Total	19	84
Total Correto	17	84
Porcentagem (%)	89,5	100
Total de amostras	103	
Total corretas	101	
% Correta	98,1	

Após a criação do modelo foi realizada a validação cruzada do mesmo. Validação cruzada^[80] é o método de particionar o banco de dados utilizado na criação do modelo em subgrupos menores para serem testados no modelo criado. Este teste

tem como objetivo verificar quão bom é a capacidade do método em predizer o grupo a que pertence uma amostra aleatória do modelo.

De acordo com a Tabela 28, as porcentagens de acerto de cada grupo e a porcentagem de acerto total diminuíram com relação aos valores descritos na Tabela 27. Este comportamento já era esperado, uma vez que o modelo com validação cruzada torna-se muito mais “robusto” em função do teste efetuado com cada amostra, do modelo, no momento da validação.

Tabela 28. Classificação das amostras após a validação cruzada do modelo da *LDA*.

Validação Cruzada	Grupo verdadeiro	
	Cana queimada	Cana nao queimada
Cana queimada	15	1
Cana não queimada	4	83
Total	19	84
Total Correto	15	83
Porcentagem (%)	78,9	98,8
Total de amostras	103	
Total corretas	98	
% Correta	95,1	

A porcentagem de acerto do grupo das amostras de cachaça produzidas com cana-de-açúcar queimada foi de 78,9%. Já para as amostras produzidas com cana não queimada a porcentagem total de acerto foi de 98,8%, sendo que a porcentagem total acumulada da validação cruzada foi de 95,1%.

A terceira etapa realizada foi a predição de 28 amostras de cachaça, totalmente desconhecidas do modelo, sendo 7 amostras de cachaça produzidas com cana-de-açúcar queimada e 21 produzidas com cana-de-açúcar não queimada. Os resultados obtidos encontram-se na Tabela 29.

Tabela 29. Classificação das amostras teste da LDA.

Grupo Teste	Grupo verdadeiro	
	Cana queimada	Cana não queimada
Cana queimada	7	0
Cana não queimada	0	21
Total	7	21
Total Correto	7	21
Porcentagem (%)	100	100
Total de amostras	28	
Total corretas	28	
% Correta	100	

Observa-se na tabela 29 que o teste do modelo criado apresentou 100% de acerto, tanto para as 7 amostras de cachaça produzidas com cana-de-açúcar queimada, quanto para as 21 amostras produzidas com cana não queimada.

Os discriminantes utilizados nestas separações foram: naftaleno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, benzo(a)antraceno, benzo(b)fluoranteno e benzo(g,h,i)perileno.

Em função dos valores de porcentagem de acerto (modelo, validação cruzada e teste do modelo) serem todos superiores a 95,0%, pode-se dizer que esta análise é

extremamente poderosa para a distinção entre esses dois grupos de cachaça, ou seja, as produzidas com cana-de-açúcar que foram submetidas a queima antes da sua colheita, das produzidas com cana que não foram queimadas no momento da sua colheita.

4.9.8 Análise Discriminante Quadrática (QDA)

A análise discriminante quadrática também demonstrou ser uma ferramenta importante na distinção entre os dois grupos de cachaça e, também na identificação de amostras totalmente desconhecidas do modelo.

O modelo quimiométrico foi criado utilizando-se as 103 amostras de cachaça e testado com as 28 amostras de cachaça descritas anteriormente na seção 4.9.7. A Tabela 30 (classificação das amostras do modelo), Tabela 31 (validação cruzada do modelo) e a Tabela 32 (classificação do grupo teste) apresentam os resultados obtidos na QDA.

Observa-se na Tabela 30 que as porcentagens obtidas para cada grupo de cachaça (queimada e não queimada) foram de 89,5% e 92,9% respectivamente, sendo que a porcentagem total de acerto do modelo foi de 92,2%.

Tabela 30. Classificação das amostras no modelo da QDA.

Modelo	Grupo verdadeiro	
	Cana queimada	Cana não queimada
Cana queimada	17	6
Cana não queimada	2	78
Total	19	84
Total Correto	17	78
Porcentagem (%)	89,5	92,9
Total de amostras	103	
Total corretas	95	
% Correta	92,2	

Dentre todas as amostras utilizadas para a criação do modelo (Tabela 30), apenas duas amostras de cachaça produzidas com cana-de-açúcar queimada foram classificadas de modo errôneo. No entanto, para as amostras de cachaça produzidas com cana-de-açúcar não queimada, seis foram classificadas como incorretas pelo modelo.

A Tabela 31 (validação cruzada do modelo) indica que duas amostras de cachaça produzidas com cana queimada e dez amostras de cachaça produzidas com cana não queimada foram classificadas erradas, fazendo com que a porcentagem total de acerto seja de 88,3%. A validação cruzada apresentou uma diminuição nas porcentagens de acerto quando comparada com o modelo criado (Tabela 30), sendo que a porcentagem de acerto para as amostras produzidas com cana queimada foi de 89,5% e para as amostras produzidas com cana não queimada foi de 88,1%.

Tabela 31. Classificação das amostras após a validação cruzada do modelo da QDA.

Validação Cruzada	Grupo verdadeiro	
	Cana queimada	Cana não queimada
Cana queimada	17	10
Cana não queimada	2	74
Total	19	84
Total Correto	17	74
Porcentagem (%)	89,5	88,1
Total de amostras	103	
Total corretas	12	
% Correta	88,3	

Após a validação cruzada, este modelo foi testado com as 28 amostras de cachaça que foram consideradas como “desconhecidas”, ou seja, não foi informado para o modelo ^a(grupo teste) o tipo de cana empregado na produção das amostras de cachaça.

A Tabela 32 indica que apenas uma amostra de cachaça produzida com cana não queimada foi classificada incorretamente, enquanto que todas as demais amostras produzidas com cana queimada foram classificadas corretamente. Este comportamento confirma que o modelo possui uma excelente capacidade para a predição de qualquer uma das classes, tanto as amostras de cachaça produzidas com cana de açúcar queimada (100%) quanto para as amostras de cachaças produzidas com cana-de-açúcar não queimada (95,2%).

Tabela 32. Classificação das amostras teste da QDA.

Grupo Teste	Grupo verdadeiro	
	Cana queimada	Cana não queimada
Cana queimada	7	1
Cana não queimada	0	20
Total	7	21
Total Correto	7	20
Porcentagem (%)	100	95,2
Total de amostras	28	
Total corretas	27	
% Correta	96,4	

Os dez discriminantes utilizados nesta separação foram: naftaleno, acenafteno, fenantreno, benzo(a)pireno, antraceno, fluoranteno, pireno, criseno e benzo(b)fluoranteno.

A porcentagem total de acerto do modelo (grupo teste) foi de 96,4%, valor este inferior ao obtido na LDA (100 %). Independente deste fato, o modelo obtido da análise de QDA apresentou uma boa capacidade para predizer se uma cachaça apresenta a tendência de ter sido produzida com cana-de-açúcar queimada ou com cana não queimada.

4.10 Distinção entre Cachaça Envelhecida, Rum, Uísque Escocês e Uísque Americano

Este estudo foi realizado como parte complementar deste trabalho, objetivando-se a verificação do perfil dos HPAs presente em algumas amostras comerciais de cachaça envelhecida, rum, uísque escocês e uísque americano, bem como uma possível distinção entre elas.

Estas amostras foram escolhidas aleatoriamente em função da disponibilidade destas no laboratório. Para tanto, temos disponibilizado apenas algumas informações sobre estas bebidas, tais como:

- Cachaça envelhecida: apenas o tempo de maturação (16, 8, 6 e 4 anos) indicado pelo rótulo da garrafa.
- Rum: pertencentes a dois produtores diferentes, sendo duas amostras brancas e duas envelhecidas.
- Uísque escocês: todos descansados em tonéis de carvalho.
- Uísque americano: todos descansados em tonéis de carvalho.

Foi realizada apenas a análise exploratória dos resultados analíticos obtidos neste trabalho. Para este fim, utilizaram-se as análises de *PCA*, *FA*, *PLS* e *HCA*. Não foram criados modelos de calibração (*CDA*, *LDA* e *QDA*) com este banco de dados, devido ao número reduzido de amostras.

4.10.1 ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA)

Esta análise foi utilizada com o propósito de se realizar uma análise exploratória dos resultados analíticos, na tentativa da visualização da existência ou não de agrupamento entre as amostras de cachaça envelhecida, rum, uísque escocês e uísque americano.

A análise de *PCA* indicou a existência de quatro grupos distintos. Estes grupos são apresentados na Figura 23 (gráfico de escores), e correspondem às amostras de cachaça envelhecida, rum, uísque de origem escocesa e uísque de origem americana.

A soma dos valores obtidos para as três primeiras componentes principais PC 1 (52,7%), PC 2 (16,7%) e PC 3 (14,6%) apresentou uma explicação de 84,0% do total da variância do banco de dados original.

A análise de *PCA* foi realizada utilizando-se a matriz de correlação, pois esta normaliza os resultados analíticos, devido à disparidade dos resultados.

Dentre os 15 HPAs analisados, 6 apresentaram as melhores propriedades como discriminante na análise de *PCA* (Figura 24): fenantreno, antraceno, benzo(a)pireno, dibenzo(a,h)antraceno, fluoranteno e fluoreno.

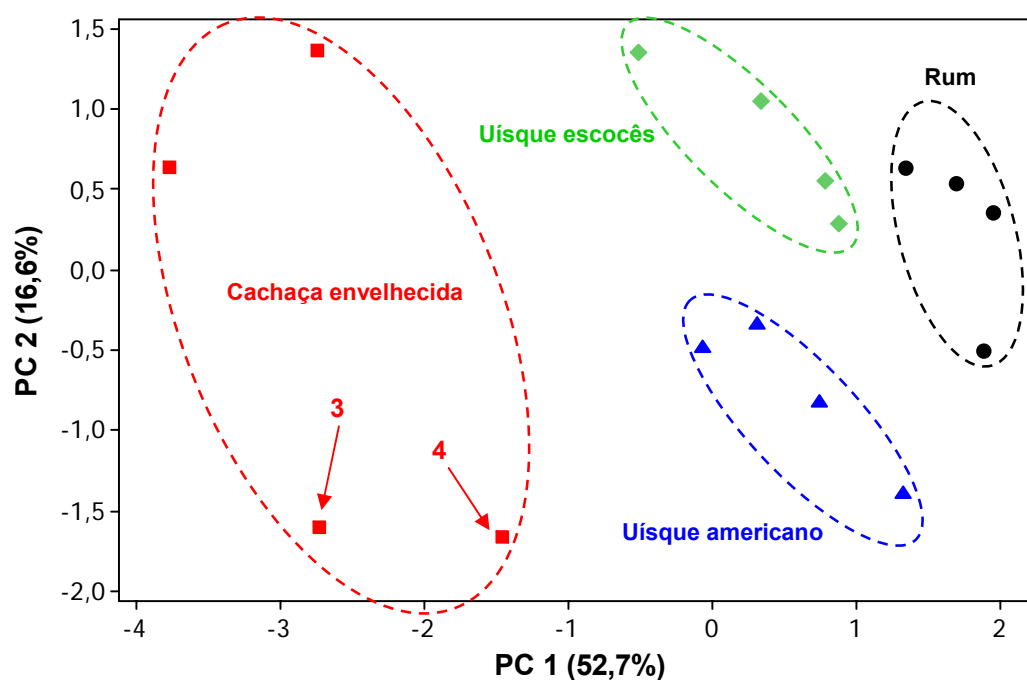


Figura 23. Gráfico de escores obtido para o conjunto as amostras destiladas: cachaça envelhecida (vermelho), rum (preto), uísque escocês (verde) e uísque americano (azul).

Na Figura 23 observa-se que todos os quatro grupos de bebidas destiladas (rum, cachaça envelhecida, uísque escocês e uísque americano) foram classificados separadamente, formando-se quatro grupos distintos. No entanto, dos quatro grupos formados, apenas o constituído pelas amostras de cachaça envelhecida não ficaram próximas uma das outras. Isto provavelmente está relacionado ao fato de que as amostras 3 (16 anos) e 4 (8 anos) apresentarem um tempo de envelhecimento superior as outras duas cachaças (6 e 4 anos respectivamente).

A Figura 24 apresenta o gráfico de pesos para a separação obtida. Observa-se que o fenantreno, fluoranteno e dibenzo(a,h)antraceno foram os analitos que

apresentaram uma maior contribuição na caracterização entre as amostras de rum, cachaça envelhecida, uísque escocês e uísque americano.

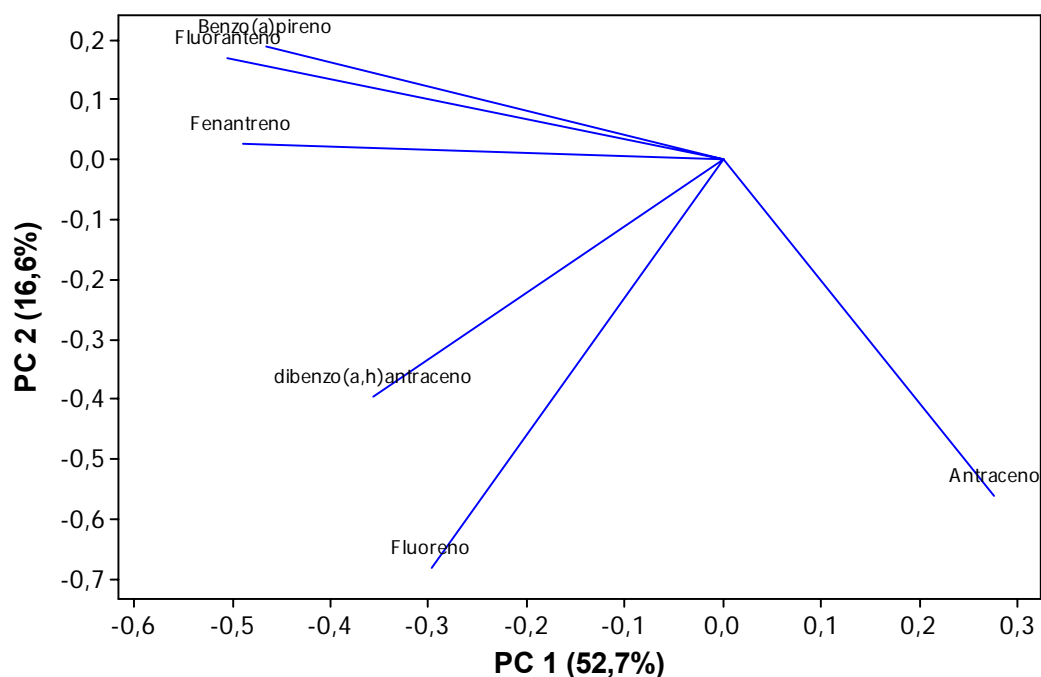


Figura 24. Gráfico de pesos entre PC 1 x PC 2 para cachaça envelhecida, rum, uísque escocês e uísque americano.

A Tabela 33 apresenta os valores dos pesos obtidos para cada composto e a somatória dos valores de PC 1 e PC 2, evidenciando os dois compostos mais importantes obtidos nesta separação (fluoreno e antraceno).

Tabela 33. Valores de pesos obtidos na separação PC 1 x PC 2 para cada HPA.

Compostos	PC 1	PC 2	PC 1 + PC 2
Fenantreno	- 0,489	0,027	0,516
Antraceno	0,277	- 0,560	0,837
Benzo(a)pireno	- 0,465	0,189	0,654
Fluoranteno	- 0,355	- 0,396	0,751
Dibenzo(a,h)antraceno	- 0,504	0,172	0,676
Fluoreno	- 0,297	- 0,681	0,978

4.10.2 Análise de Fatores (FA)

A análise de fatores conduziu a um resultado muito semelhante ao apresentado na análise de *PCA*. Isto ocorreu devido à semelhança entre os algoritmos destas duas análises quimiométricas. Nesta análise foi utilizada a matriz de correlação, ou seja, os resultados analíticos foram normalizados antes da realização da análise.

A Figura 26 apresenta o gráfico de escores obtido na análise de *FA*, utilizando-se 6 hidrocarbonetos como discriminantes químicos (antraceno, fluoreno, fenantreno, benzo(a)antraceno, dibenzo(a,h)antraceno e fluoranteno).

Observa-se na Figura 25 a presença de quatro grupos distintos de amostras de destilados: cachaça envelhecida (vermelho), rum (preto), uísque escocês (verde) e uísque americano (azul).

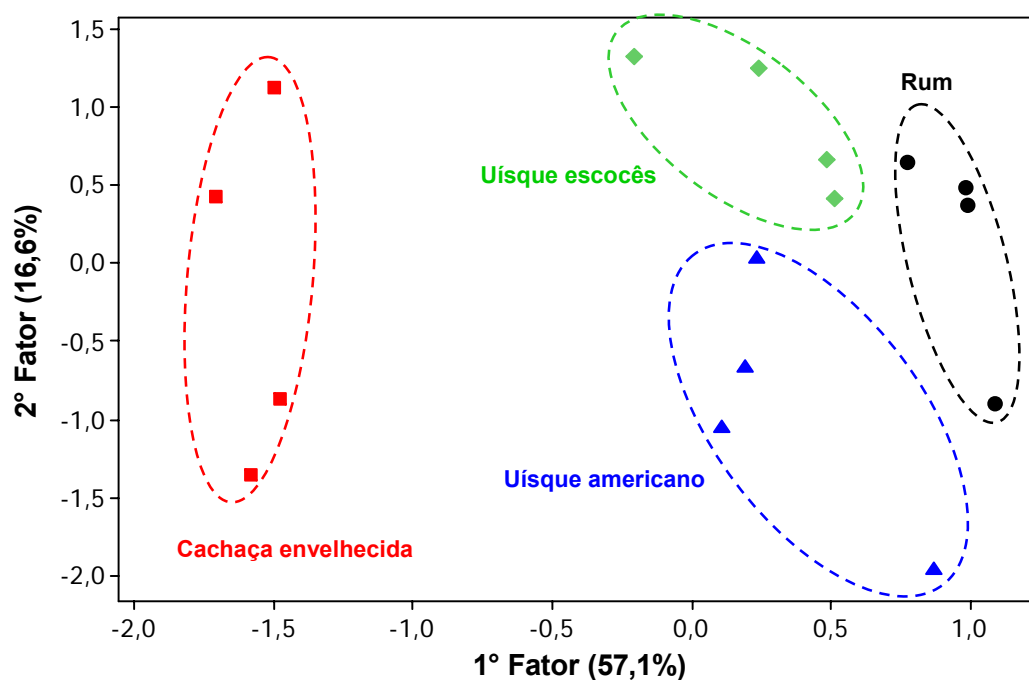


Figura 25. Gráfico de escores entre os fatores 1 e 2 da FA, obtido para as amostras de cachaça envelhecida (vermelho), rum (preto), uísque escocês (verde) e uísque americano (azul).

As porcentagens de explicação da variância do banco de dados original, para os três primeiros fatores foram de 57,1%, 16,6% e 10,8% para o primeiro, segundo e terceiro fator, respectivamente, sendo que a porcentagem acumulada dos três primeiros fatores foi de 84,5%, superior ao valor de 84,0% encontrado na análise por PCA.

A Figura 26 apresenta o gráfico de pesos obtido nesta análise. Os compostos mais importantes para o agrupamento das amostras de cachaça envelhecida, rum, uísque escocês e uísque americano foram: antraceno, fluoreno, fenantreno, benzo(a)antraceno, dibenzo(a,h)antraceno e fluoranteno.

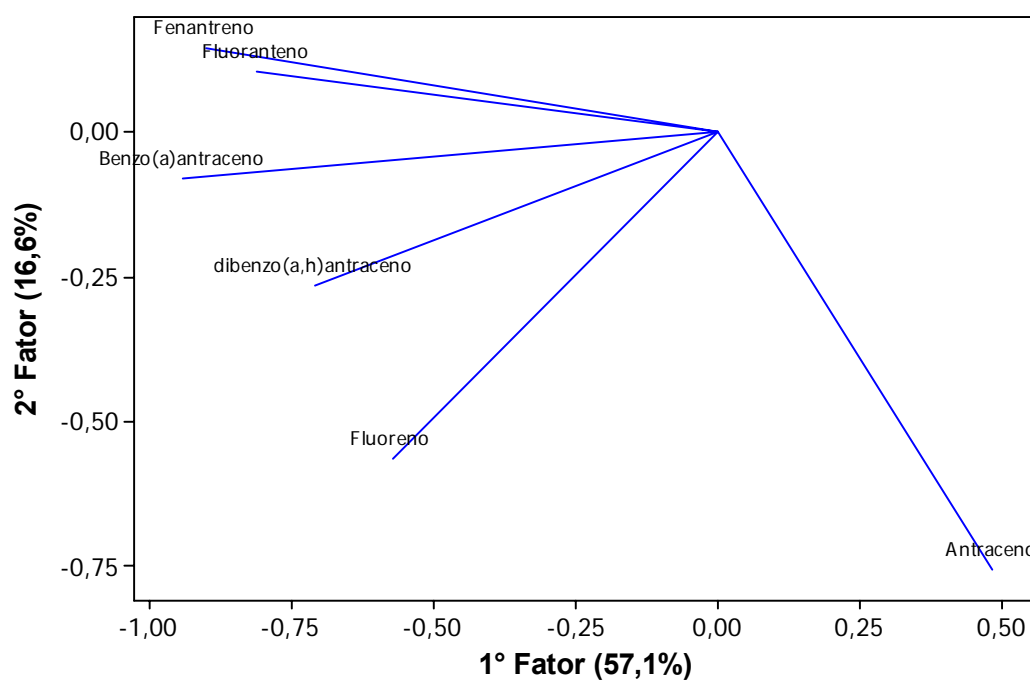


Figura 26. Gráfico de pesos das componentes 1 e 2 da FA.

A Tabela 34 apresenta os valores dos pesos obtidos para cada composto (1º Fator e 2º Fator) e a somatória dos valores do 1º Fator e 2º Fator, evidenciando os dois compostos mais importantes obtidos nesta separação (antraceno e fluoreno).

Tabela 34. Valores de pesos obtidos na separação 1º Fator x 2º Fator da FA.

Compostos	1º Fator	2º Fator	1º Fator + 2º Fator
Benzo(a)antraceno	- 0,942	- 0,0780	1,02
Fluoranteno	- 0,812	0,107	0,919
Fenantreno	- 0,902	0,146	1,05
Dibenzo(a,h)antraceno	- 0,710	- 0,263	0,973
Fluoreno	- 0,574	- 0,563	1,14
Antraceno	0,483	- 0,755	1,24

4.10.3 Regressão dos Mínimos Quadrados Parciais (PLS)

A análise por regressão dos mínimos quadrados parciais apresentou resultados satisfatórios para a distinção entre amostras de cachaça envelhecida, rum, uisque escocês e uisque americano.

O valor de variância obtido para cada componente está apresentado na Tabela 35.

Tabela 35. Valores de variância acumulada obtidos na PLS.

Componentes	Variância acumulada (%)
1	13,3
2	64,9
3	78,1
4	91,6

Observamos na Tabela 34, que as três primeiras componentes apresentam uma explicação da variância dos resultados analíticos superior a 78,0%.

Na Figura 27 a seguir pode ser observado a presença de quatro grupos bem definidos, caracterizando-se uma diferença entre os quatro tipos de destilados.

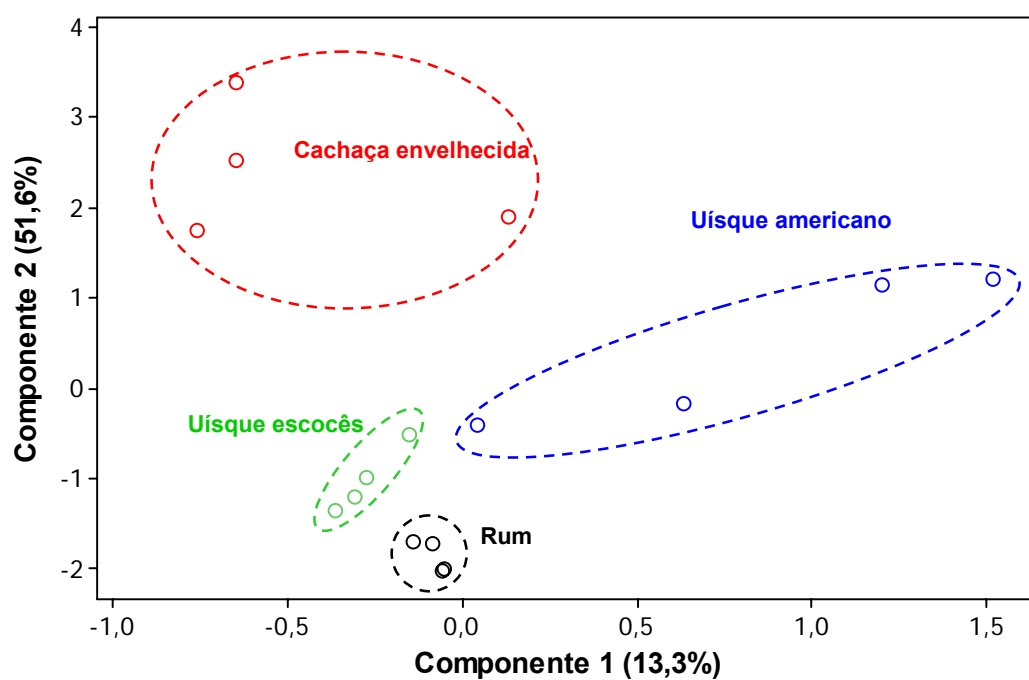


Figura 27. Gráfico de escores entre as componentes 1 e 2 da *PLS*: rum (preto), cachaça envelhecida (vermelho), uísque escocês (verde) e uísque americano (azul).

Um dos fatores que pode justificar este agrupamento está relacionado à maneira com a qual as matérias primas são utilizadas para a produção destes destilados.

Os compostos mais importantes para esta análise foram: fluoranteno, pireno, fluoreno, naftaleno, dibenzo(a,h)antraceno, fenantreno, acenafteno. Estes estão apresentados no gráfico de pesos (Figura 28).

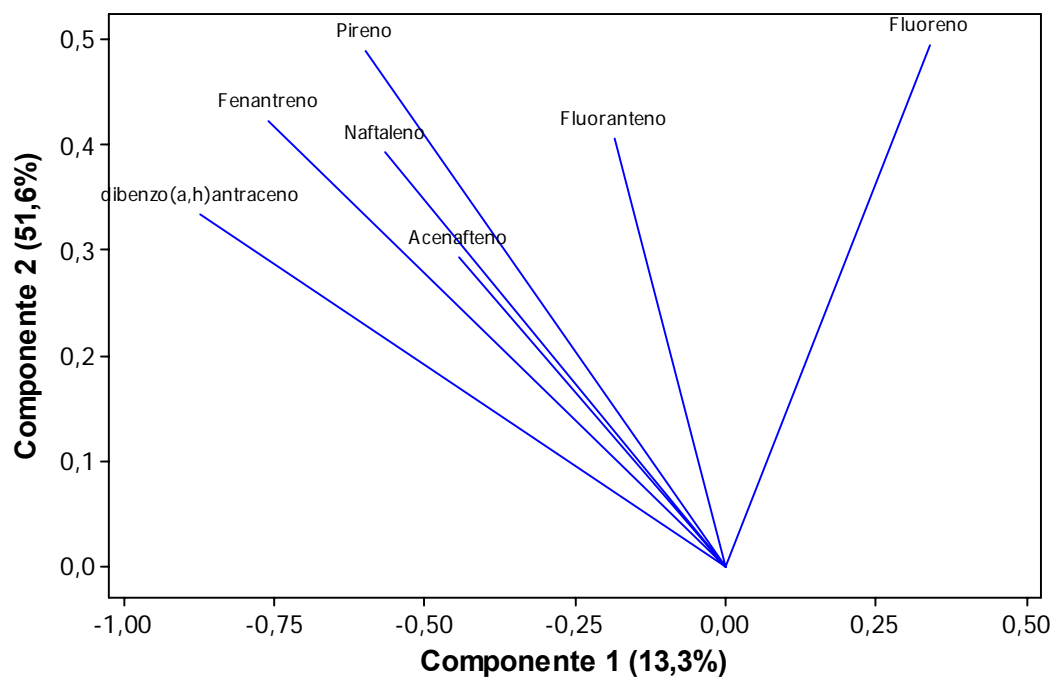


Figura 28. Gráfico de pesos das componentes 1 e 2 da *PLS*.

De acordo com os resultados obtidos das análises de *PCA* (84,0%), *FA* (84,5%) e *PLS* (78,1%) no tratamento dos HPAs nestes quatro grupos de bebidas destiladas, observa-se que é possível uma distinção entre cachaça envelhecida, rum, uísque escocês e uísque americano.

4.10.4 Análise Hierárquica de Agrupamentos (*HCA*)

A análise hierárquica de agrupamentos não foi satisfatória para a separação dos quatro grupos de destilados (cachaça envelhecida, rum, uísque escocês e uísque americano), portanto não serão apresentados resultados desta análise.

5. CONCLUSÃO

A metodologia empregada na análise dos hidrocarbonetos nas amostras de destilados, utilizando a extração, concentração e limpeza (“*clean up*”) das amostras por SPE, seguida da análise por HPLC-fluorescência, apresentou uma boa separação cromatográfica, possibilitando a identificação e quantificação de 15 dos 16 HPAs monitorados pela *USEPA*.

O método cromatográfico apresentou uma boa sensibilidade, com limites de detecção que variaram de $5,68E-04$ a $0,0454 \mu\text{g L}^{-1}$; uma boa exatidão, que variou de 91,1 a 97,9%, e uma boa precisão, que variou de 89,8 a 99,4%.

A análise quantitativa, mostrou que as amostras de cachaça produzidas com cana-de-açúcar queimada apresentam teores totais de HPAs ($21,1 \mu\text{g L}^{-1}$) superiores aos teores de HPAs encontrados nas amostras produzidas com cana-de-açúcar não queimada ($1,91 \mu\text{g L}^{-1}$). Estes resultados demonstraram que a queima dos canaviais, antes da colheita da cana-de-açúcar utilizada na produção da cachaça, pode levar a contaminação deste destilado por HPAs.

A análise multivariada dos resultados analíticos das 131 amostras de cachaça levou a formação de dois grupos bem distintos: amostras que foram produzidas utilizando-se cana-de-açúcar queimada e as que foram produzidas com cana-de-açúcar não queimada. Os modelos estatísticos gerados nas análises de *PCA*, *FA*, *PLS* revelaram uma elevada probabilidade na diferenciação entre estes dois grupos de cachaça, com uma porcentagem de acerto superior a 60,0%.

Já as análises de *CDA*, *LDA* e *QDA* apresentaram modelos quimiométricos com percentagem de acerto superiores a 92,0% para estes dois grupos de cachaça (produzidas com cana queimada e não queimada). A validação cruzada e o teste destes modelos apresentaram percentagens de acerto que variaram de 88,3% a 95,1% e 96,4% a 100%, respectivamente.

Estes resultados demonstraram que a análise dos HPAs juntamente com o tratamento quimiométrico das amostras de cachaça, são apropriados para a distinção entre cachaça produzidas com cana-de-açúcar queimada das amostras de cachaça produzidas com cana não queimada.

Já para as amostras de cachaça envelhecida, rum, uísque escocês e uísque americano, as análises mostraram que os maiores teores médios de HPAs são encontrados nas amostras de cachaça envelhecida, variando de 0,031 a 8,401 $\mu\text{g L}^{-1}$, seguido pelas amostras de uísque americano, uísque escocês e rum, com teores médios de HPAs que variaram de 0,0101 a 1,26 $\mu\text{g L}^{-1}$; 7,71E-03 a 0,477 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 4,92E-03 a 0,178 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente, onde acredita-se que esta contaminação por HPAs ocorra durante as etapas de produção destes destilados.

As análises de *PCA*, *FA* e *PLS* levaram a formação de quatro grupos bem distintos de bebidas, com percentagem de acerto superior a 78,0%. Estes resultados demonstraram que é possível fazer a distinção entre amostras cachaça envelhecida, rum, uísque escocês e uísque americano utilizando-se a análise dos HPAs com a análise multivariada dos resultados analíticos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. TRINDADE, A. G. **Cachaça**: um amor brasileiro. São Paulo: Melhoramentos, 2006. 160 p.
2. VENTURINI FILHO, W. G. **Tecnologia de bebidas**. São Paulo: Edgard Blucher, 2005. 500 p.
3. CUMBICA: história da cachaça. Disponível em: <<http://www.cumbica.com.br>> Acesso em: 13 out. 2005.
4. BRASIL. Instrução normativa n. 13, 29 de junho de 2005. Regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para a aguardente de cana e para a cachaça. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 30 de jun. 2005. Seção 1, n 124, p. 3-5.
5. CARDOSO, D. R.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Influência o material do destilador na composição química das aguardentes de cana, parte II. **Química Nova**, v. 26, n. 2, p. 165-169, 2003
6. LÓPEZ, R. Cachaça brasileira planeja conquistar mercado externo. **Engarrafador Moderno**, n. 134, p. 6-13, 2005.
7. NASCIMENTO, R. F.; CARDOSO, D. R.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Determination of acids in brasilian sugar cane spirits and other alcoholic beverages by HRGC-SPE. **Cromatographia**, v. 48, n. 11/12, p. 751-757, 1998.
8. BOSCOLO, M.; BEZERRA, C. W. B.; CARDOSO, D. R.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Identification and dosage by HRGC of minor alcohols and esters in brasilian sugar-cane spirit. **Journal of Brasilian Chemical Society**, v. 11, n. 1, p. 86-90, 2000.
9. ANDRADE SOBRINHO, L. G.; BOSCOLO, M.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Carbamato de etila em bebidas alcoólicas (cachaça, tiquira, uísque e grapa). **Química Nova**, v. 25, n. 6b, p. 1074-1077, 2002.

10. CARDOSO, D. R.; BETTIN, S. M.; RECHE, R. V.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D. W. HPLC-DAD analysis of ketones as their 2,4-dinitrophenyl hydrazones in Brazilian sugar-cane spirits and rum. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 16, p. 563-573, 2003.
11. CARDOSO, D. R.; ANDRADE SOBRINHO, L. G.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D. W. A rapid and sensitive method for dimethylsulphide analysis in Brazilian sugar cane sugar spirits and other distilled beverages. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 15, n. 2, p. 277-281, 2004.
12. NASCIMENTO, R. F.; CARDOSO, D. R.; DE KEUKELEIRE, D.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Quantitative HPLC analysis of acids in Brazilian cachaças and various spirits using fluorescence detection of their 9-anthracenyl esters. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 12, p. 6070-6073, 2000.
13. BETTIN, S. M.; ISIQUE, W. D.; FRANCO, D. W.; ANDERSEN, M. L.; KNUDSEN, S.; SKIBSTED, L. H. Phenols and metals in sugar-cane spirits. Quantitative analysis and effect on radical formation and radical scavenging. **European Food and Research Technology**, n. 215, p. 169-175, 2002.
14. BETTIN, S. M.; FRANCO, D. W. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em aguardentes. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 2, p. 234-238, 2005.
15. NASCIMENTO, R. F.; BEZERRA, C. W. B.; FURUYA, S. M. B.; SCHULTZ, M. S.; POLASTRO, L. R.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Mineral profile of Brazilian cachaças and other international spirits. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 12, p. 17-25, 1999.
16. DILETTI, G.; SCORTICHINI, G.; SCARPONE, R.; GATTI, G.; TORRETI, L.; MIGLIORATI, G. Isotope dilution determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in olive pomace oil by gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1062, p. 247-254, 2005.
17. ARREBOLA, F. J.; FRENICH, A. G.; RODRÍGUES, M. J. G.; BOLAÑOS, P. P.; VIDAL, L. M. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in olive oil by completely automated headspace technique coupled to gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 41, p. 822-829, 2006.

- 18.SIMKO, P. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked meat products and smoke flavouring food additives. **Journal of Chromatography B**, v. 770, p. 3-18, 2002.
- 19.KISHIKAWA, N.; MORITA, S.; WADA, M.; OHBA, Y.; NAKASHIMA, K.; KURODA, N. Determination of hydroxylated polycyclic aromatic hydrocarbons in airborne particulates by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. **Analytical Sciences**, v. 20, p. 129-132, 2004.
- 20.CHEN, B. H.; WANG, C. Y.; CHIU, C. P. Evolution of analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in meat products by liquid chromatography. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, p. 2244-2251, 1996.
- 21.CAMARGO, M. C. R.; TOLEDO, M. C. F. Polycyclic aromatic hydrocarbons in Brazilian vegetables and fruits. **Food Control**, v. 14, p. 49-53, 2003.
- 22.PAGLIUCA, G.; GAZZOTTI, T.; ZIRONI, E.; SERRAZANETTI, G. P.; MOLLICA, D.; ROSMINI, R. Determination of high molecular mass polycyclic aromatic hydrocarbons in a typical Italian smoked cheese by HPLC-FL. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 5111-5115, 2003.
- 23.MORET, S.; AMICI, S.; BORTOLOMEAZZI, R.; LERCKER, G. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water and water based alcoholic beverages, **Lebensmittel-Untersuchung und Forschung**, v. 201, p. 322-326, 1995.
- 24.PENSADO, L.; CASAIS, C.; MEJUTO, C.; CELA, R. Optimization of the extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from wood samples by the use of microwave energy. **Journal of Chromatography A**, v. 869, p. 505-513, 2000.
- 25.SIEGMANN, K.; SATTLER, K. Formation mechanism for polycyclic aromatic hydrocarbons in methane flames. **Journal of Chemical Physics**, v. 112, n. 2, p 698-709, 2000.
- 26.CAMARGO, M. C. R.; TOLEDO, M. C. F. Chá-mate e café como fontes de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) na dieta da população de Campinas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, n. 1, p. 1-12, 2002.

27. GARCÍA-FALCÓN, M. S.; AMIGO, S. G.; YUSTY, M. A. L.; VALLAIZÁN, M. J. L. A.; LOZANO, J. S. Enrichment of benzo(a)pyrene in smoked food chromatography-fluorescence detection. **Journal of Chromatography A**, v. 753, p. 207-215, 1996.
28. SANTOS, C. Y. M.; AZEVEDO, D. A.; AQUINO NETO, F. R. Selected organic compounds from biomass burning found in the atmospheric particulate matter over sugarcane plantation areas. **Atmospheric Environment**, v. 36, p. 3009-3019, 2002.
29. SIMONEIT, B. R. T.; Biomass burning – a review of organic tracers for smoke from incomplete combustion. **Applied Geochemistry**, v. 17, p. 129-162, 2002.
30. MORET, S.; CONTE, L. S. Polycyclic aromatic hydrocarbons in edible fats and oils: occurrence and analytical methods. **Journal of Chromatography A**, v. 882, p. 245-253, 2000.
31. BRITT, P. F.; BUCHANAN III, A. C.; KIDDER, C.; OWENS, J. R.; AMMANN, J. T.; SKEEN, J. T.; LUO, L. Mechanistic investigation into the formation of polycyclic aromatic hydrocarbons from the pyrolysis of plant steroids. **Fuel**, v. 80, p. 1727-1246, 2001.
32. MCGRATH, T. E.; CHAN, W. G.; HAJALIGOL, R. Low temperature mechanism for the formation of polycyclic aromatic hydrocarbons from the pyrolysis of cellulose. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 66, p. 51-70, 2003.
33. WILLIAMS, P. T.; HORNE, P. A. Analysis of aromatic hydrocarbons in pyrolytic oil derived from biomass. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 31, p. 15-37, 1995.
34. BADGER, G. M.; DONNELLY, J. K.; SPOTSWOOD, T. M. The formation of aromatic hydrocarbons at high temperatures. **Australian Journal of Chemistry**, v. 18, p. 1249-1266, 1965.
35. WANG, H.; FRENKLACH, M. Calculations of rate coefficients for the chemically activated reactions of acetylene with vinylic and aromatic radicals. **Journal of Physical Chemistry**, v. 98, p. 1465-1489, 1994.

- 36.KUNIOSHI, N.; TOUDA, M.; FUKUTANI, S. Computational study on the formation of five-membered rings in PAH through reaction with O₂. **Combustion and Flame**, v. 128, p. 292-300, 2002.
- 37.NETTO, A. D. N.; MOREIRA, J. C.; DIAS, A. E. X. O.; ARBILLA, G. FERREIRA, L. F. V.; OLIVEIRA, A. S.; BAREK, J. Avaliação da contaminação humana por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e seus derivados nitrados (NHPAs): uma revisão metodológica. **Química Nova**, v. 23, n. 6, p. 765-773, 2000.
- 38.TFOUNI, SILVIA AMÉLIA VERDIANI. **Estudo do efeito do processamento na contaminação de cana-de-açúcar e derivados por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos**. 2005. 99 f. Tese (Doutorado em Ciências de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.
- 39.DOONG, R.; CHANG, S.; SUN, Y. Solid-phase microextraction for determining the distribution of sixteen US environmental protection agency polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples. **Journal of Chromatography A**, v. 879, p. 177-188, 2000.
- 40.NISBET, I. C. T.; LAGOY, P. K. Toxic equivalency factors (TEFs) for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 16, p. 290-300, 1992.
- 41.EUROPEAN Union Health and Consumer Protection Directorate General. **Opinion of the scientific committee on food on the risks to human health of polycyclic aromatic hydrocarbons in food**, 2002. Disponível em: <http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/index_en.html>. Acesso em: 26 jun. 2006.
- 42.YUSTY, M. A. L.; DAVIÑA, J. L. C. Supercritical fluid extraction and high-performance liquid chromatography-fluorescence detection method for polycyclic aromatic hydrocarbons investigation in vegetable oil. **Food Control**, v. 16, p. 59-64, 2005.
- 43.MORET, S.; CONTE, L.; DEAN, D. Assessment of polycyclic aromatic hydrocarbon content of smoked fish by a fast HPLC/HPLC method. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p. 1367-1371, 1999.

44. JONSSON, G.; TABAN, I. C.; JØRGENSEN, K. B.; SUNDT, R. C. Quantitative determination of de-conjugated metabolites in fish bile by HPLC-fluorescence and GC-MS. **Chemosphere**, v. 54, p. 1085-1097, 2004.
45. LAWRENCE, J. F.; WEBER, D. F. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in some Canadian commercial fish, shellfish, and meat products by liquid chromatography with confirmation by capillary gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 32, p. 789-794, 1984.
46. YEAKUB, A.; COLE, R. B. SFE plus C₁₈ lipid cleanup method for selective extraction and GC/MS quantitation of polycyclic aromatic hydrocarbons in biological tissues. **Analytical Chemistry**, v. 70, n. 15, p. 3242-3248, 1998.
47. LIN, D.; TU, Y.; ZHU, L. Concentrations and health risk of polycyclic aromatic hydrocarbons in tea. **Food and Chemical Toxicology**, v. 43, p. 41-48, 2005.
48. GARCÍA-FALCÓN, M. S.; CANCHO-GRANDE, B.; SIMAL-GÁNDARA, J. Minimal clean-up and rapid determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in instant coffee. **Food Chemistry**, v. 90, p. 643-647, 2005.
49. BERNAL, J. L.; NOZAL, M. J.; TORIBIO, L.; SERNA, M. L.; BORRULL, F.; MARCÉ, R. M.; POCURULL, E. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in waters by use of supercritical fluid chromatography coupled on-line to solid-phase extraction with disks. **Journal of Chromatography A**, v. 778, p. 321-328, 1997.
50. GARCÍA-FALCÓN, M. S.; PÉREZ-LAMELA, C.; SIMAL-GÁNDARA, J. Strategies for the extraction of free and bound polycyclic aromatic hydrocarbons in run-off waters rich in organic matter. **Analytica Chimica Acta**, v. 508, p. 177-183, 2004.
51. LI, N.; LEE, H. K. Solid-phase extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface water: negative effect of humic acid. **Journal of Chromatography A**, v. 921, p. 255-263, 2001.
52. GARCÍA-FALCÓN, M. S.; PÉREZ-LAMELA, C.; SIMAL-GÁNDARA, J. Comparison of strategies for extraction of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons from drinking waters. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 6897-6993, 2004.

53. GARCÍA-FALCÓN, M. S.; CANCHO-GRANDE, B.; SIMAL-GÁNDARA, J. Stirring bar sorptive extraction in the determination of PAHs in drinking waters. **Water Research**, v. 38, p. 1679-1684, 2004.
54. KLEINJANS, J. C. S.; MOONEM, E. J. C.; DALLINGA, J. W.; ALBERING, H. J.; VAN DEN BOGAARD, A. E. J. M.; VAN SCHOOTEN, F. J. Polycyclic aromatic hydrocarbons in whiskies. **The Lancet**, v. 348, p. 1731, 1996.
55. GARCÍA-FALCÓN, M. S.; SIMAL-GÁNDARA, J. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in alcoholic drinks and the identification of their potential sources. **Food Additives and Contaminants**, v. 22, n. 9, p. 791-797, 2005.
56. DENNIS, M. J.; MASSEY, R. C.; MCWEENY, D. J.; KNOWLES, M. E. Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in UK total diets. **Journal of Food Chemical Toxicology**, v. 21, n. 5, p. 569-574, 1983.
57. DE VOS, R. H.; VAN DOKKUN, W.; SCHOUTEN, A.; JONG-BERKHOUT, P. Polycyclic aromatic hydrocarbons in Dutch total diet samples (1984-1986). **Journal of Food Chemical Toxicology**, v. 28, n. 4 p. 263-268, 1990.
58. DA PORTO, C.; MORET, S.; SOLDERA, S. A study on the composition of distillates obtained from smoked marc. **Analytica Chimica Acta**, v. 563, p. 396-400, 2006.
59. ZAMPERLINI, G. C. M.; SANTIAGO-SILVA, M.; VILEGAS, W. Solid-phase extraction of sugar cane soot extract for analysis by gas chromatography with flame ionization and mass spectrometric detection. **Journal of Chromatography A**, v. 889, p. 281-286, 2000.
60. GODOI, A. F. L.; RAVINDRA, K.; GODOI, R. H. M.; ANDRADE, S. J.; SANTIAGO-SILVA, M.; VAECK, L. V.; GRIEKEN, R. V. Fast chromatographic determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in aerosol samples from sugar cane burning. **Journal of Chromatography A**, v. 1027, p. 49-53, 2004.
61. ZAMPERLINI, G. C. M.; SILVA, M. R. S.; VILEGAS, W. Identification of polycyclic aromatic hydrocarbons in sugar cane soot by gas chromatography-mass spectrometry. **Chromatographia**, v. 46, n. 11/12, p. 655-663, 1997.

62. BRASIL, SÃO PAULO, Lei n. 11.241, de 19 de setembro de 2005. Dispõe sobre a eliminação gradativa da queima da palha da cana-de-açúcar e dá providências correlatas. **Diário Oficial Estadual**, São Paulo, SP, 20 set. 2004. Seção 1, v. 112, n. 180, p. 2.
63. TFOUNI, S.A.V.; CAMARGO, M. C. R.; TOLEDO, M. C. F. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Brazilian sugar. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 197, p.251-252, 2004.
64. AZEVEDO, D. A.; DOS SANTOS, C. Y. M.; AQUINO NETO, F. R. Identification and seasonal variation of atmospheric organic pollutants in Campos dos Goytacazes, Brazil. **Atmospheric Environment**, v. 36, p. 2383-2395, 2002.
65. CAMARGO, M. C. R.; TOLEDO, M. C. F. Avaliação da contaminação de diferentes grupos de alimentos por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 5, p. 19-26, 2002.
66. PELTONEN, K.; KULJUKKA, T. Air sampling and analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons. **Journal of Chromatography A**, v. 710, p. 93-108, 1995.
67. BRASIL, Portaria n. 36, de 19 de janeiro de 1990. Aprova normas e o padrão de portabilidade da água destinada ao consumo humano. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 23 de jan. 1990. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 10 jul. 2006.
68. MORET, S.; PIANI, B.; BORTOLOMEAZZI, R.; CONTEL, L. S.; HPLC determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in olive oils. **Zeitschrift Lebensm Unders Forsh A**, v. 205, p. 116-120, 1997.
69. LANÇAS, F. M. **Extração em fase sólida (SPE): métodos de análise cromatográfica 4**. São Carlos: RiMa, 2004. 96 p.
70. TREVILIN, W. R.; VIDAL, L. H.; LANDGRAF, M. D.; SILVA, I. C. E.; REZENDE, M. O. O. Optimization of parameters for the gas chromatographic determination of polycyclic aromatic hydrocarbons. **Analytica Chimica Acta**, v. 268, p. 67-71, 1992.

- 71.KICINSKI, H. G.; ADAMEK, S.; KETTRUP, A. Trace enrichment and HPLC analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental samples, using solid phase extraction in connection with UV/VIS diode-array and fluorescence detection. **Chromatographya**, v. 28, n. 3/4, p. 203-208, 1989.
- 72.CAPELO, J. L.; GALESIO, M. M.; FELISBERTO, G. M.; VAZ, C.; PESSOA, J. C.; Micro-focused ultrasonic solid-liquid extraction (μ FUSLE) combined with HPLC and fluorescence detection for PAHs determination in sediments: optimization and linking with the analytical minimalism concept. **Talanta**, v. 66, p. 1272-1280, 2005.
- 73.USEPA methods 8310 for polynuclear aromatic hydrocarbons. Disponível em: <<http://www.epa.gov.com>> Acesso em: 3 jun. 2005.
- 74.FERREIRA, V.; FERNÁNDEZ, P.; CACHO, J. F. A study of factors affecting wine volatile composition and its application in discriminant analysis. **Lebensmittel - Wissenschaft and Technologie**, v. 29, p. 251-259, 1996.
- 75.NASCIMENTO, R.F.; CARDOSO, D.R.; FARIA, J.B.; LIMA-NETO, B.S.; FRANCO, D.W. Influência do material do alambique na composição química das aguardentes de cana-de-açúcar. **Química Nova**, v. 21, n. 6, p. 735-739, 1998.
- 76.CARDOSO, D.R.; ANDRADE-SOBRINHO, L.G.; LEITE-NETO, A.F.; RECHE, R.V.; ISIQUE, W.D.; FERREIRA, M.M.C.; LIMA-NETO, B.S.; FRANCO, D.W. Comparison between cachaça and rum using pattern recognition methods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 3429-3433, 2004.
- 77.BRUNS, R.E.; FAIGLE, J.F.G. Quimiometria. **Química Nova**, v. 4, p. 84-99, 1985.
- 78.LATORRE, M. J.; GARCÍA-JARES, C.; MÈDINA, B.; HERRERO, C. Pattern recognition analysis applied to classification of wines from Galicia (Northwestern Spain) with certified of origin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, p. 1451-1455, 1994.
79. ARVANITTOYANNIS, I. S.; KATSOTA, M. N. PSARRA, E. P.; SOUFLEROS, E. H.; KALLITHRAKA, S. Application of quality control methods for assessing wine authenticity: use of multivariate analysis (chemometrics). **Trends in Food Science & Technology**, v. 10, p. 321-336, 1999.

- 80.NASCIMENTO, R.F.; MARQUES, J.C.; LIMA-NETO, B.S.; DE KEUKELEIRE, D.; FRANCO, D.W.; Qualitative and quantitative high-performance liquid chromatographic analysis of aldehydes in Brazilian sugar cane spirits and other distilled alcoholic beverages. **Journal of Chromatography A**, v. 782, p. 13-23, 1997.
- 81.MATOS, G. D.; PEREIRA-FILHO, E. R.; POPPI, R. J.; ARRUDA, M. A. Z. Análise exploratória em química analítica com emprego de quimiometria: PCA e PCA de imagens. **Revista Analytica**, n. 6. p. 38-50, 2003.
- 82.SIVERTSEN, H. K. HOLEN, B.; NICOLAYSEN, F.; RISVIK, E. Classification of French red wines according to their geographical origin by the use of multivariate analyses. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 79, p. 107-115, 1999.
- 83.FERREIRA, M. M. C.; ANTUNES, A. M.; MELGO, M. S.; VOLPE, P. L. O. Quimiometria I: calibração multivariada, um tutorial. *Química Nova*, v. 22, n. 5, 724-731, 1999.
- 84.FERREIRA, E. C.; RODRIGUES, S. H. B. G.; FERREIRA, M. M. C.; NÓBREGA, J. A.; NOGUEIRA, A. R. A. Análise exploratória dos teores de constituintes inorgânicos em sucos e refrigerantes de uva. **Eclética Química**, v. 27, 2002.
- 85.LANÇAS, F. M. **Validação de métodos cromatográficos de análise**. São Carlos: Rima, 2004, 46p.
- 86.RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.
- 87.ALDRICH. **Handbook of fine chemicals and laboratory equipment**: catálogo. São Paulo: Sigma-Aldrich Brasil, 2002. 2878 p.

ANEXO

ANEXO I. Propriedades físicas e químicas dos HPAs.**Tabela 1.** Constantes físico-químicas de alguns HPAs^[37].

HPAs	Massa molecular (mg L ⁻¹)	Ponto de fusão (°C)	Ponto de ebulição (°C)	Pressão de vapor a 25 °C	Coefficiente de partição octanol/água a (log Kow)	Solubilidade em água a 25°C (µg L ⁻¹)	Constante de Henry a 25°C (kPa)
Naftaleno	128,17	81	217,9	10,4	3,40	3,17x 10 ⁴	4,89x10 ⁻²
Acenaftileno	152,20	92-93	-	8,90 x 10 ⁻¹	4,07	-	1,14 x 10 ⁻³
Acenafteno	154,21	95	279	2,90 x 10 ⁻¹	3,92	3,93 x 10 ³	1,48 x 10 ⁻²
Fluoreno	166,22	115-116	295	8,00 x 10 ⁻²	4,18	1,98 x 10 ³	1,01 x 10 ⁻²
Fenantreno	178,23	100,5	340	1,60 x 10 ⁻²	4,60	1,29 x 10 ³	3,98 x 10 ⁻³
Antraceno	178,23	216,4	342	8,00 x 10 ⁻⁴	4,50	73,0	7,3 x 10 ⁻²
Fluoranteno	202,26	108,8	375	1,20 x 10 ⁻³	5,22	260	6,5 x 10 ⁻⁴
Pireno	202,26	150,4	393	6,00 x 10 ⁻⁴	5,18	135	1,1 x 10 ⁻³
Benzo(a)antraceno	228,29	160,7	400	2,80 x 10 ⁻⁵	5,61	14,0	-
Criseno	228,29	253,8	448	8,40 x 10 ⁻⁵	5,91	2,00	-
Benzo(b)fluoranteno	252,32	210,5	472	-	-	-	-
Benz(k)fluoranteno	252,32	215,7	480	1,30 x 10 ⁻⁷	6,84	0,760	4,4 x 10 ⁻⁵
Benzo(a)pireno	252,32	178,1	496	7,30 x 10 ⁻⁷	6,50	3,80	3,40 x 10 ⁻⁵
Dibenzo(a,h)antraceno	278,35	266,6	524	1,3 x 10 ⁻⁸ (20°C)	6,50	0,5 (27°C)	7,00 x 10 ⁻⁶
Benzo(g,h,i)perileno	276,34	278,3	545	1,40 x 10 ⁻⁸	7,10	0,260	2,7 x 10 ⁻⁵ (20°C)
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	276,34	163,6	536	1,3 x 10 ⁻⁸ (20°C)	6,58	62,0	2,9 x 10 ⁻⁵ (20°C)

ANEXO II. Modelo do questionário respondido pelos produtores de cachaça.

QUESTIONÁRIO

Produção anual em litros: _____ Espécie da cana: _____
Origem da cana: Própria () Comprada ()
Usa produto orgânico na lavoura: Sim () Não () Qual: _____
Uso de defensivos na lavoura: Sim () Não () Qual: _____
Cana: Crua () Queimada () Mistura das duas ()
Se misturar as duas, qual a porcentagem da mistura? _____ Tipo de Solo: _____
Cana Lavada: Sim () Não ()
Tipo de Alambique: Cobre () Inox () Alumínio () Outro ()
Caso o alambique não seja de cobre, este possui dispositivo de cobre: Sim () Não ()
Qual: _____
Quando a destilação é feita em coluna, qual o tipo da mesma? _____
Possui dispositivo de cobre: Sim () Não () Qual: _____
Tipo de fermento usado na fermentação: _____ Qual o material da dorna de fermentação? _____
Adiciona uréia ou outra substância durante a fermentação: Sim () Não ()
Qual: _____
Destilação: Simples () Bidestilada ()
Adição de Caramelo: Sim () Não ()
Em caso de resposta afirmativa, informe o teor adicionado:
(a) 0,5 g/L (b) 2 g/L (c) 6 g/L (d) 8 g/L (e) acima de 10 g/L
Adição de Açúcar: Sim () Não ()
Em caso de resposta afirmativa, informe o teor adicionado:
(a) 2 g/L (b) 4 g/L (c) 6 g/L (d) 8 g/L (e) acima de 10 g/L
Aguardente Envelhecida: Sim () Não ()
Tipo de Madeira do Tonel: Carvalho () Amendoim () Castanheira () Jequitibá ()
Bálsamo () Imburana () Outros () Quais: _____
Volume do Tonel em litros: _____ Tempo de Envelhecimento: _____

APÊNDICE

APÊNDICE I. Tipo de colheita aplicada à cana-de-açúcar.**Tabela 1.** Tipo de colheita aplicada à cana nas amostras de cachaça de 1 a 19.

Amostra	Tipo de colheita da cana
1	Não queimada
2	Não queimada
3	Não queimada
4	Não queimada
5	Queimada
6	Queimada
7	Não queimada
8	Queimada
9	Queimada
10	Não queimada
11	Não queimada
12	Não queimada
13	Não queimada
14	Não queimada
15	Queimada
16	Não queimada
17	Não queimada
18	Queimada
19	Queimada

Tabela 2. Tipo de colheita aplicada à cana nas amostras de cachaça de 20 a 39.

Amostra	Tipo de colheita da cana
20	Queimada
21	Não queimada
22	Não queimada
23	Não queimada
24	Não queimada
25	Não queimada
26	Não queimada
27	Não queimada
28	Não queimada
29	Não queimada
30	Não queimada
31	Não queimada
32	Não queimada
33	Não queimada
34	Não queimada
35	Não queimada
36	Não queimada
37	Não queimada
38	Não queimada
39	Não queimada

Tabela 3. Tipo de colheita aplicada à cana nas amostras de cachaça de 40 a 59.

Amostra	Tipo de colheita da cana
40	Não Queimada
41	Não queimada
42	Não queimada
43	Não queimada
44	Não queimada
45	Não queimada
46	Não queimada
47	Não queimada
48	Não queimada
49	Não queimada
50	Não queimada
51	Não queimada
52	Não queimada
53	Não queimada
54	Não queimada
55	Não queimada
56	Queimada
57	Queimada
58	Queimada
59	Não queimada

Tabela 4. Tipo de colheita aplicada à cana nas amostras de cachaça de 60 a 79.

Amostra	Tipo de cana colhida
60	Não queimada
61	Não queimada
62	Não queimada
63	Não queimada
64	Não queimada
65	Queimada
66	Não queimada
67	Não queimada
68	Não queimada
69	Não queimada
70	Não queimada
71	Queimada
72	Queimada
73	80% queimada
74	Queimada
75	Queimada
76	80% queimada
77	Não queimada
78	Não queimada
79	Não queimada

Tabela 5. Tipo de colheita aplicada à cana nas amostras de cachaça de 80 a 99.

Amostra	Tipo de cana colhida
80	Não queimada
81	Não queimada
82	Não queimada
83	Não queimada
84	Não queimada
85	Não queimada
86	Não queimada
87	Queimada
88	Não queimada
89	Não queimada
90	Não queimada
91	Não queimada
92	Não queimada
93	Não queimada
94	Não queimada
95	Não queimada
96	Não queimada
97	Não queimada
98	Não queimada
99	Não queimada

Tabela 6. Tipo de colheita aplicada à cana nas amostras de cachaça de 100 a 119.

Amostra	Tipo de cana colhida
100	Não queimada
101	Não queimada
102	Não queimada
103	Não queimada
104 teste	Não queimada
105 teste	Não queimada
106 teste	Não queimada
107 teste	Queimada
108 teste	Não queimada
109 teste	Queimada
110 teste	Não queimada
111 teste	Não queimada
112 teste	Não queimada
113 teste	Queimada
114 teste	Queimada
115 teste	Não queimada
116 teste	Não queimada
117 teste	Queimada
118 teste	Não queimada
119 teste	Queimada

Tabela 7. Tipo de colheita aplicada à cana nas amostras de cachaça de 120 a 131.

Amostra	Tipo de cana colhida
120 teste	Queimada
121 teste	Não queimada
122 teste	Não queimada
123 teste	Não queimada
124 teste	Não queimada
125 teste	Não queimada
126 teste	Não queimada
127 teste	Não queimada
128 teste	Não queimada
129 teste	Não queimada
130 teste	Não queimada
131 teste	Não queimada

APÊNDICE II. Concentração dos HPAs nas 131 amostras de cachaça.**Tabela 8.** Concentrações dos HPAs nas amostras de cachaça da 01 a 07 ($\mu\text{g L}^{-1}$).

HPAs	Amostra 01	Amostra 02	Amostra 03	Amostra 04	Amostra 05	Amostra 06	Amostra 07
Naftaleno	0,194	2,70	< L.D.	0,103	0,432	< L.D.	< L.D.
Acenafteno	0,145	1,54	0,342	0,635	3,40	1,81	0,519
Fluoreno	0,108	0,406	0,350	0,461	2,00	1,80	0,483
Fenantreno	0,536	0,941	2,93	1,63	5,31	5,24	0,865
Antraceno	0,229	< L.Q.	0,0840	0,309	0,667	2,00	0,382
Fluoranteno	0,148	0,0676	< L.D.	0,368	1,26	1,98	0,182
Pireno	0,223	0,0706	< L.D.	0,604	0,727	2,04	0,551
Benzo(a)antraceno	0,0145	0,0418	< L.D.	0,0503	138	0,105	0,106
Criseno	1,37E-01	< L.Q.	< L.D.	0,0114	< L.D.	< L.Q.	< L.D.
Benzo(b)fluoranteno	0,0371	< L.D.	< L.D.	1,70E-03	< L.D.	< L.D.	< L.D.
Benzo(k)fluoranteno	2,42E-02	0,0193	< L.D.	0,0137	< L.Q.	< L.Q.	< L.D.
Benzo(a)pireno	2,04E-02	0,0239	< L.D.	0,0122	< L.Q.	< L.Q.	< L.D.
Dibenzo(a,h)antraceno	0,0325	< L.Q.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.
Benzo(g,h,i)perileno	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.

< L.D. = Menor que o limite de detecção. < L.Q. = Menor que o limite de quantificação. Vide Tabela 12.

Tabela 9. Concentrações dos HPAs nas amostras de cachaça da 08 a14 ($\mu\text{g L}^{-1}$).

HPAs	Amostra 08	Amostra 09	Amostra 10	Amostra 11	Amostra 12	Amostra 13	Amostra 14
Naftaleno	< L.D.	2,68	0,982	< L.D.	< L.D.	< L.D.	0,887
Acenafteno	2,44	5,62	0,472	0,443	0,327	0,305	0,336
Fluoreno	2,10	4,74	0,195	0,153	0,100	0,449	0,263
Fenantreno	9,51	8,24	0,911	1,20	0,869	0,684	1,13
Antraceno	1,09	1,71	< L.Q.	0,111	< L.Q.	0,340	< L.D.
Fluoranteno	1,81	2,55	0,183	0,348	< L.Q.	0,252	0,398
Pireno	1,26	2,09	0,178	0,184	0,155	0,218	0,121
Benzo(a)antraceno	0,0452	0,237	0,0843	0,0122	0,0342	0,0599	0,198
Criseno	< L.D.	< L.D.	0,0600	< L.Q.	0,0419	0,0460	0,159
Benzo(b)fluoranteno	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	0,0235	< L.Q.	< L.D.
Benzo(k)fluoranteno	< L.D.	< L.D.	0,0279	7,06E-03	0,0295	0,0260	0,0282
Benzo(a)pireno	< L.D.	< L.D.	0,0175	0,109	0,0420	0,0408	0,599
Dibenzo(a,h)antraceno	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	0,0976	0,0628	2,54
Benzo(g,h,i)perileno	< L.D.	< L.D.	0,0365	0,0639	0,246	< L.Q.	< L.D.
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.

< L.D. = Menor que o limite de detecção. < L.Q. = Menor que o limite de quantificação. Vide Tabela 12.

Tabela 10. Concentrações dos HPAs nas amostras de cachaça da 15 a 21 ($\mu\text{g L}^{-1}$).

HPAs	Amostra 15	Amostra 16	Amostra 17	Amostra 18	Amostra 19	Amostra 20	Amostra 21
Naftaleno	0,341	< L.D.	< L.D.	< L.D.	0,261	< L.D.	< L.D.
Acenafteno	1,92	< L.D.	0,133	0,731	3,19	1,64	< L.D.
Fluoreno	1,77	< L.D.	0,131	0,656	3,04	1,40	< L.D.
Fenantreno	10,6	0,183	2,22	6,46	6,84	7,23	0,0720
Antraceno	1,30	< L.D.	0,744	1,01	1,57	0,749	< L.Q.
Fluoranteno	3,12	< L.Q.	2,07	2,47	2,33	3,16	< L.D.
Pireno	2,22	< L.D.	0,582	3,06	1,53	2,42	< L.D.
Benzo(a)antraceno	0,157	0,167	0,124	0,216	0,143	0,155	< L.Q.
Criseno	0,151	< L.D.	0,0708	0,117	0,204	< L.Q.	< L.D.
Benzo(b)fluoranteno	< L.Q.	< L.Q.	< L.D.	0,0272	0,135	< L.D.	< L.D.
Benzo(k)fluoranteno	0,0340	0,0113	2,21E-03	0,0137	0,0393	0,0490	3,76E-03
Benzo(a)pireno	0,0553	0,0229	0,0097	0,0172	0,0454	0,0910	0,0372
Dibenzo(a,h)antraceno	0,255	< L.D.	< L.D.	0,0738	< L.D.	0,329	< L.Q.
Benzo(g,h,i)perileno	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.

< L.D. = Menor que o limite de detecção. < L.Q. = Menor que o limite de quantificação. Vide Tabela 12.

Tabela 11. Concentrações dos HPAs nas amostras de cachaça da 22 a 28 ($\mu\text{g L}^{-1}$).

HPAs	Amostra 22	Amostra 23	Amostra 24	Amostra 25	Amostra 26	Amostra 27	Amostra 28
Naftaleno	< L.Q.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	0,282	< L.D.	< L.D.
Acenafteno	0,214	0,152	0,211	1,52	0,194	0,115	0,506
Fluoreno	0,220	< L.Q.	0,101	0,435	0,165	< L.Q.	0,189
Fenantreno	0,563	< L.Q.	0,981	1,59	1,50	0,201	0,869
Antraceno	0,133	< L.Q.	< L.Q.	0,281	< L.D.	< L.Q.	0,122
Fluoranteno	0,519	0,155	< L.D.	0,425	0,442	< L.Q.	0,453
Pireno	0,187	< L.D.	0,101	0,210	0,142	< L.Q.	0,251
Benzo(a)antraceno	0,0567	0,0103	0,0129	0,0275	0,0166	0,0315	< L.Q.
Criseno	< L.Q.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.Q.	0,0779	< L.Q.
Benzo(b)fluoranteno	< L.Q.	0,0717	< L.D.	< L.D.	0,0234	< L.Q.	< L.D.
Benzo(k)fluoranteno	< L.Q.	0,0160	< L.D.	5,21E-03	0,0424	0,0258	< L.Q.
Benzo(a)pireno	< L.Q.	0,0219	< L.Q.	< L.Q.	0,0702	0,0331	< L.Q.
Dibenzo(a,h)antraceno	0,105	< L.D.	< L.Q.	< L.D.	< L.Q.	< L.D.	< L.D.
Benzo(g,h,i)perileno	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	0,171	< L.D.	< L.D.
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.

< L.D. = Menor que o limite de detecção. < L.Q. = Menor que o limite de quantificação. Vide Tabela 12.

Tabela 12. Concentrações dos HPAs nas amostras de cachaça da 29 a 35 ($\mu\text{g L}^{-1}$).

HPAs	Amostra 29	Amostra 30	Amostra 31	Amostra 32	Amostra 33	Amostra 34	Amostra 35
Naftaleno	< L.D.	< L.D.	< L.D.	0,180	< L.Q.	1,81	1,62
Acenafteno	0,126	2,77	0,122	0,0874	0,434	< L.Q.	0,649
Fluoreno	0,0655	0,235	0,387	< L.D.	0,363	0,0514	0,425
Fenantreno	0,320	0,216	1,23	0,0772	3,13	0,424	0,625
Antraceno	0,0516	0,0722	0,116	< L.D.	0,192	< L.Q.	0,137
Fluoranteno	< L.Q.	0,390	0,302	0,119	0,582	0,129	0,559
Pireno	0,121	0,201	0,266	0,0920	0,672	0,121	0,154
Benzo(a)antraceno	0,0937	0,0239	0,0398	0,0101	0,0231	0,0101	0,0261
Criseno	< L.Q.	< L.Q.	0,0351	< L.D.	< L.Q.	< L.Q.	0,0146
Benzo(b)fluoranteno	< L.D.	0,0524	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.Q.	< L.Q.
Benzo(k)fluoranteno	< L.D.	0,0098	7,66E-03	5,16E-03	2,15E-03	< L.Q.	8,65E-03
Benzo(a)pireno	< L.D.	0,0097	0,0100	6,38E-03	5,53E-03	6,15E-03	6,47E-03
Dibenzo(a,h)antraceno	< L.D.	0,299	< L.D.	0,0192	0,0281	0,0307	< L.Q.
Benzo(g,h,i)perileno	< L.D.	0,112	< L.D.	< L.D.	< L.Q.	< L.D.	< L.D.
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.

< L.D. = Menor que o limite de detecção. < L.Q. = Menor que o limite de quantificação. Vide Tabela 12.

Tabela 13. Concentrações dos HPAs nas amostras de cachaça da 36 a 42 ($\mu\text{g L}^{-1}$).

HPAs	Amostra 36	Amostra 37	Amostra 38	Amostra 39	Amostra 40	Amostra 41	Amostra 42
Naftaleno	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	0,0993	0,286
Acenafteno	0,495	1,13	0,294	0,985	0,0547	0,265	0,994
Fluoreno	0,106	0,468	0,195	< L.Q.	0,0398	0,228	0,145
Fenantreno	0,655	2,53	0,554	0,439	0,566	1,20	0,971
Antraceno	< L.Q.	0,160	0,143	< L.Q.	< L.D.	0,0688	< L.Q.
Fluoranteno	0,142	0,293	0,070	< L.Q.	0,101	0,106	< L.D.
Pireno	1,19	0,167	0,172	< L.Q.	0,0357	< L.Q.	< L.D.
Benzo(a)antraceno	0,0384	0,0144	0,0159	< L.D.	0,195	0,0143	< L.D.
Criseno	< L.Q.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.Q.	< L.D.
Benzo(b)fluoranteno	< L.Q.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.
Benzo(k)fluoranteno	< L.D.	9,87E-03	0,0174	< L.D.	< L.D.	4,35E-03	4,23E-03
Benzo(a)pireno	2,27E-03	5,73E-03	7,10E-03	< L.D.	< L.D.	7,83E-03	6,21E-03
Dibenzo(a,h)antraceno	< L.D.	0,0262	0,0970	< L.D.	< L.Q.	< L.D.	0,0435
Benzo(g,h,i)perileno	< L.D.	9,64E-03	< L.Q.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	0,111
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.

< L.D. = Menor que o limite de detecção. < L.Q. = Menor que o limite de quantificação. Vide Tabela 12.

Tabela 14. Concentrações dos HPAs nas amostras de cachaça da 43 a 49 ($\mu\text{g L}^{-1}$).

HPAs	Amostra 43	Amostra 44	Amostra 45	Amostra 46	Amostra 47	Amostra 48	Amostra 49
Naftaleno	0,0800	< L.D.	0,657	0,572	< L.D.	0,242	0,253
Acenafteno	0,0791	0,243	0,324	0,0815	0,187	0,0665	< L.D.
Fluoreno	0,0354	0,218	0,100	< L.Q.	0,100	0,0609	0,0312
Fenantreno	0,126	1,80	0,381	0,178	0,280	0,383	0,190
Antraceno	0,0447	< L.D.	< L.Q.	0,0284	0,0475	0,0340	< L.D.
Fluoranteno	0,0724	0,200	0,0710	0,0762	0,126	0,108	0,0939
Pireno	0,0395	< L.Q.	0,0750	0,0978	0,169	0,110	0,0379
Benzo(a)antraceno	0,0098	< L.D.	0,0119	0,008	0,0251	7,59E-03	0,0121
Criseno	6,71E-03	< L.Q.	< L.Q.	< L.Q.	< L.Q.	0,0179	< L.D.
Benzo(b)fluoranteno	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.
Benzo(k)fluoranteno	0,0147	< L.D.	3,76E-03	3,69E-03	0,0225	3,49E-03	0,0361
Benzo(a)pireno	2,35E-03	< L.D.	5,46E-03	6,07E-03	8,39E-03	5,00E-03	4,03E-03
Dibenzo(a,h)antraceno	0,0994	< L.D.	0,0370	0,0513	0,168	0,0102	0,0283
Benzo(g,h,i)perileno	< L.D.	0,0163	< L.D.	< L.D.	< L.D.	0,0370	0,0460
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.

< L.D. = Menor que o limite de detecção. < L.Q. = Menor que o limite de quantificação. Vide Tabela 12.

Tabela 15. Concentrações dos HPAs nas amostras de cachaça da 50 a 56 ($\mu\text{g L}^{-1}$).

HPAs	Amostra 50	Amostra 51	Amostra 52	Amostra 53	Amostra 54	Amostra 55	Amostra 56
Naftaleno	0,929	0,149	0,103	< L.Q.	0,137	0,926	< L.Q.
Acenafteno	0,654	0,180	0,181	0,0242	0,132	0,234	1,12
Fluoreno	< L.D.	0,272	0,0716	0,0380	0,0487	0,116	0,886
Fenantreno	0,368	0,547	0,375	0,203	0,423	1,20	5,92
Antraceno	< L.Q.	0,0794	0,100	< L.Q.	< L.D.	0,209	2,43
Fluoranteno	0,0921	0,307	0,189	0,128	0,243	0,399	3,00
Pireno	0,115	0,149	0,125	0,0701	0,474	0,439	2,16
Benzo(a)antraceno	0,0152	0,0120	0,0215	< L.D.	0,0124	0,0479	0,213
Criseno	< L.D.	0,0177	0,0190	< L.D.	< L.D.	0,0772	0,167
Benzo(b)fluoranteno	< L.D.	0,0207	< L.Q.	< L.D.	< L.D.	8,89E-03	< L.D.
Benzo(k)fluoranteno	7,33E-03	6,28E-03	8,98E-03	< L.D.	8,30E-03	0,0140	0,0232
Benzo(a)pireno	9,92E-03	0,101	0,0130	< L.D.	0,0105	0,0202	0,0336
Dibenzo(a,h)antraceno	< L.D.	< L.D.	0,0326	< L.D.	< L.D.	< L.Q.	< L.Q.
Benzo(g,h,i)perileno	< L.D.	0,0234	0,0443	< L.D.	< L.D.	< L.Q.	< L.D.
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.

< L.D. = Menor que o limite de detecção. < L.Q. = Menor que o limite de quantificação. Vide Tabela 12.

Tabela 16. Concentrações dos HPAs nas amostras de cachaça da 57 a 63 ($\mu\text{g L}^{-1}$).

HPAs	Amostra 57	Amostra 58	Amostra 59	Amostra 60	Amostra 61	Amostra 62	Amostra 63
Naftaleno	< L.D.	< L.D.	1,38	0,139	0,201	< L.D.	0,364
Acenafteno	0,470	0,275	< L.D.	0,0519	0,112	0,107	0,0983
Fluoreno	0,469	2,14	< L.D.	0,0243	0,648	0,0332	0,0257
Fenantreno	1,40	0,443	0,448	0,551	0,403	0,339	0,139
Antraceno	0,265	1,00	< L.Q.	< L.D.	0,0713	0,0650	< L.Q.
Fluoranteno	0,503	4,82	0,208	0,0635	0,300	0,109	< L.D.
Pireno	0,463	0,592	0,0327	0,0534	0,264	0,0656	0,0870
Benzo(a)antraceno	0,0937	0,476	8,50E-03	< L.D.	0,0980	9,07E-03	< L.D.
Criseno	0,105	0,0526	< L.Q.	< L.D.	0,0885	0,0715	< L.D.
Benzo(b)fluoranteno	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.Q.	< L.D.	0,0155	< L.D.
Benzo(k)fluoranteno	0,0120	0,0312	8,68E-03	3,37E-03	0,0200	4,85E-03	5,32E-03
Benzo(a)pireno	0,0103	0,0690	< L.Q.	5,75E-03	0,0389	2,94E-03	6,02E-03
Dibenzo(a,h)antraceno	0,0741	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.Q.	< L.D.	0,0383
Benzo(g,h,i)perileno	0,241	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.Q.	< L.D.	< L.D.
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	0,136	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.

< L.D. = Menor que o limite de detecção. < L.Q. = Menor que o limite de quantificação. Vide Tabela 12.

Tabela 17. Concentrações dos HPAs nas amostras de cachaça da 64 a 70 ($\mu\text{g L}^{-1}$).

HPAs	Amostra 64	Amostra 65	Amostra 66	Amostra 67	Amostra 68	Amostra 69	Amostra 70
Naftaleno	< L.D.	< L.D.	< L.D.	0,0502	0,0108	0,155	0,0396
Acenafteno	0,0694	0,361	0,120	0,493	< L.Q.	0,0308	0,226
Fluoreno	0,0495	0,364	0,0439	< L.Q.	< L.Q.	0,0239	0,156
Fenantreno	0,341	0,975	0,787	0,0847	0,295	0,244	1,10
Antraceno	0,044	1,54	0,0461	< L.D.	0,503	0,0288	0,0782
Fluoranteno	0,0702	1,37	0,278	0,118	0,277	0,101	0,425
Pireno	0,198	0,337	0,277	0,0851	0,0413	0,258	0,297
Benzo(a)antraceno	0,0154	0,0218	0,0178	0,0180	0,0198	0,0216	0,0263
Criseno	0,0201	2,18	0,116	0,0785	1,14	0,0613	0,0822
Benzo(b)fluoranteno	< L.Q.	0,206	< L.Q.	3,43E-02	0,341	0,0278	0,0262
Benzo(k)fluoranteno	< L.D.	0,0158	3,95E-03	0,0115	0,0171	7,76E-03	0,0135
Benzo(a)pireno	< L.D.	0,0121	0,0114	8,45E-03	0,0232	2,82E-03	9,02E-03
Dibenzo(a,h)antraceno	0,0657	< L.D.	< L.D.	0,0292	0,0614	< L.D.	< L.Q.
Benzo(g,h,i)perileno	0,0253	< L.D.	< L.D.	0,0260	< L.D.	< L.D.	< L.D.
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.

< L.D. = Menor que o limite de detecção. < L.Q. = Menor que o limite de quantificação. Vide Tabela 12.

Tabela 18. Concentrações dos HPAs nas amostras de cachaça da 71 a 77 ($\mu\text{g L}^{-1}$).

HPAs	Amostra 71	Amostra 72	Amostra 73	Amostra 74	Amostra 75	Amostra 76	Amostra 77
Naftaleno	0,0314	2,65	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.
Acenafteno	1,19	0,0693	0,256	0,223	0,152	0,281	0,0118
Fluoreno	0,980	0,0370	0,1717	0,231	0,438	0,269	0,0127
Fenantreno	14,9	0,626	2,15	2,78	7,46	4,02	0,0987
Antraceno	1,03	0,134	0,468	2,58	1,51	0,608	0,0224
Fluoranteno	0,394	3,61	0,965	1,67	1,79	1,36	0,182
Pireno	2,41	5,46	0,968	0,920	2,45	1,20	0,0732
Benzo(a)antraceno	0,271	0,970	0,0953	0,110	0,159	0,087	0,0163
Criseno	0,179	1,90	0,0644	3,93	0,242	0,0507	0,0902
Benzo(b)fluoranteno	< L.D.	< L.Q.	< L.D.	0,371	< L.Q.	< L.Q.	0,0477
Benzo(k)fluoranteno	0,0393	0,0793	0,0196	0,0357	0,0300	0,0139	5,58E-03
Benzo(a)pireno	0,350	0,109	0,0321	0,0491	0,0407	0,0185	0,0139
Dibenzo(a,h)antraceno	< L.Q.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.Q.	< L.Q.	0,0567
Benzo(g,h,i)perileno	< L.Q.	< L.D.	< L.Q.	< L.D.	< L.Q.	< L.Q.	0,0606
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.

< L.D. = Menor que o limite de detecção. < L.Q. = Menor que o limite de quantificação. Vide Tabela 12.

Tabela 19. Concentrações dos HPAs nas amostras de cachaça da 78 a 84 ($\mu\text{g L}^{-1}$).

HPAs	Amostra 78	Amostra 79	Amostra 80	Amostra 81	Amostra 82	Amostra 83	Amostra 84
Naftaleno	0,219	0,0569	< L.Q.	0,115	0,0740	< L.D.	0,420
Acenafteno	0,0388	0,103	0,0571	0,0180	0,0703	< L.D.	0,0269
Fluoreno	0,0114	0,0431	0,0207	0,0212	8,79E-03	< L.D.	0,0185
Fenantreno	0,309	0,0848	0,230	0,126	0,149	0,295	0,0634
Antraceno	0,0644	0,0638	0,0613	0,0628	0,0264	< L.Q.	< L.Q.
Fluoranteno	0,162	0,128	0,183	0,0882	0,0881	< L.Q.	0,0872
Pireno	0,0872	0,0594	0,156	0,0245	0,0404	0,879	0,0421
Benzo(a)antraceno	0,0144	0,0138	0,0218	< L.D.	6,19E-03	0,0231	0,0116
Criseno	0,122	0,124	0,0303	< L.D.	0,0320	0,0577	0,0417
Benzo(b)fluoranteno	< L.Q.	< L.Q.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.
Benzo(k)fluoranteno	7,24E-03	8,40E-03	7,33E-03	1,97E-03	< L.Q.	5,58E-03	4,28E-03
Benzo(a)pireno	0,0149	9,57E-03	7,72E-03	1,77E-03	7,39E-03	6,29E-03	7,31E-03
Dibenzo(a,h)antraceno	< L.Q.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.Q.	< L.D.	< L.D.
Benzo(g,h,i)perileno	< L.Q.	< L.Q.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.

< L.D. = Menor que o limite de detecção. < L.Q. = Menor que o limite de quantificação. Vide Tabela 12.

Tabela 20. Concentrações dos HPAs nas amostras de cachaça da 85 a 91 ($\mu\text{g L}^{-1}$).

HPAs	Amostra 85	Amostra 86	Amostra 87	Amostra 88	Amostra 89	Amostra 90	Amostra 91
Naftaleno	0,472	0,481	< L.D.	0,105	0,0663	< L.D.	0,213
Acenafteno	0,0198	< L.D.	0,146	0,199	0,143	< L.D.	< L.D.
Fluoreno	< L.D.	< L.D.	0,104	0,109	0,0676	< L.D.	< L.D.
Fenantreno	0,125	0,272	3,46	0,753	0,595	0,0369	0,252
Antraceno	0,0384	0,0959	1,05	0,0604	0,0505	0,108	0,0247
Fluoranteno	0,188	0,140	2,19	0,136	0,124	0,0403	0,0777
Pireno	0,162	0,122	2,57	0,201	0,233	0,0332	0,203
Benzo(a)antraceno	0,0115	0,0104	0,114	0,128	0,0182	0,0450	< L.Q.
Criseno	0,0578	0,0260	3,01	0,0552	0,0796	0,0192	< L.Q.
Benzo(b)fluoranteno	< L.D.	< L.D.	0,242	< L.D.	< L.Q.	6,30E-03	< L.Q.
Benzo(k)fluoranteno	< L.Q.	0,0438	0,0138	6,59E-03	< L.Q.	3,58E-03	< L.D.
Benzo(a)pireno	< L.Q.	4,03E-03	0,0227	0,0101	< L.Q.	3,89E-03	< L.D.
Dibenzo(a,h)antraceno	< L.D.	< L.Q.	< L.Q.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.
Benzo(g,h,i)perileno	< L.D.	< L.Q.	< L.Q.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.

< L.D. = Menor que o limite de detecção. < L.Q. = Menor que o limite de quantificação. Vide Tabela 12.

Tabela 21. Concentrações dos HPAs nas amostras de cachaça da 92 a 98 ($\mu\text{g L}^{-1}$).

HPAs	Amostra 92	Amostra 93	Amostra 94	Amostra 95	Amostra 96	Amostra 97	Amostra 98
Naftaleno	0,442	0,0869	< L.D.	< L.D.	0,0512	< L.D.	0,245
Acenafteno	< L.D.	< L.Q.	0,347	0,118	0,175	< L.Q.	< L.D.
Fluoreno	< L.D.	0,0709	< L.D.	0,0535	0,0430	0,0643	< L.Q.
Fenantreno	1,09	0,380	0,263	0,358	0,237	0,828	0,486
Antraceno	0,0658	0,105	0,0378	0,0965	0,0545	0,905	0,131
Fluoranteno	0,456	0,296	0,0808	0,135	0,0454	0,502	0,203
Pireno	0,114	0,149	0,0787	0,206	0,0491	0,258	0,0677
Benzo(a)antraceno	0,0303	0,0215	9,45E-03	0,0126	< L.Q.	0,0388	0,0191
Criseno	< L.D.	0,178	0,0788	0,102	0,0892	1,79	0,0958
Benzo(b)fluoranteno	< L.D.	< L.D.	0,0158	0,0246	< L.D.	0,175	0,0610
Benzo(k)fluoranteno	7,40E-03	< L.D.	5,36E-03	5,60E-03	< L.D.	< L.Q.	7,00E-03
Benzo(a)pireno	0,0114	< L.D.	0,0399	7,49E-03	< L.D.	< L.Q.	0,0115
Dibenzo(a,h)antraceno	< L.D.	< L.Q.	< L.D.	< L.Q.	< L.D.	< L.D.	0,0739
Benzo(g,h,i)perileno	< L.D.	0,0601	0,0273	< L.Q.	< L.D.	< L.D.	< L.D.
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.

< L.D. = Menor que o limite de detecção. < L.Q. = Menor que o limite de quantificação. Vide Tabela 12.

Tabela 22. Concentrações dos HPAs nas amostras de cachaça da 99 a 105 ($\mu\text{g L}^{-1}$).

HPAs	Amostra 99	Amostra 100	Amostra 101	Amostra 102	Amostra 103	Amostra 104	Amostra 105
Naftaleno	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	0,277	0,614	0,164
Acenafteno	< L.D.	0,438	0,0729	0,114	0,181	< L.D.	< L.D.
Fluoreno	0,0281	0,130	0,0862	0,0390	< L.Q.	0,0369	< L.D.
Fenantreno	0,329	1,25	0,986	0,992	0,690	0,228	0,101
Antraceno	0,0359	1,35	0,153	0,221	0,121	0,0939	0,148
Fluoranteno	0,0887	0,117	0,842	1,47	0,135	0,0670	< L.D.
Pireno	0,105	0,0371	0,0209	0,839	0,240	0,0813	< L.Q.
Benzo(a)antraceno	< L.Q.	7,94E-03	0,186	0,0373	7,02E-03	8,16E-03	0,0126
Criseno	< L.Q.	1,05	0,316	0,168	0,0963	0,0711	0,0826
Benzo(b)fluoranteno	< L.D.	0,113	0,0254	< L.Q.	< L.Q.	< L.Q.	< L.D.
Benzo(k)fluoranteno	5,59E-03	5,01E-03	0,0166	5,83E-03	< L.Q.	0,0458	0,0112
Benzo(a)pireno	< L.D.	7,78E-03	0,0415	9,77E-03	< L.Q.	8,68E-03	7,47E-03
Dibenzo(a,h)antraceno	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	0,0266	< L.D.
Benzo(g,h,i)perileno	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	0,340	0,139
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.

< L.D. = Menor que o limite de detecção. < L.Q. = Menor que o limite de quantificação. Vide Tabela 12.

Tabela 23. Concentrações dos HPAs nas amostras de cachaça da 106 a 112 ($\mu\text{g L}^{-1}$).

HPAs	Amostra 106	Amostra 107	Amostra 108	Amostra 109	Amostra 110	Amostra 111	Amostra 112
Naftaleno	< L.D.	0,596	< L.D.	0,137	0,0255	< L.D.	< L.D.
Acenafteno	< L.D.	0,0817	< L.D.	0,288	0,0121	< L.D.	0,0487
Fluoreno	< L.D.	0,877	0,0102	0,151	< L.D.	< L.D.	< L.Q.
Fenantreno	0,288	12,9	6,06E-03	1,68	0,0976	0,582	0,419
Antraceno	0,461	2,62	0,0611	1,14	0,0610	0,393	0,310
Fluoranteno	0,921	0,574	< L.Q.	0,954	0,0551	< L.Q.	0,195
Pireno	0,733	3,95	< L.Q.	0,386	0,0526	< L.Q.	0,147
Benzo(a)antraceno	0,0355	0,0643	< L.Q.	0,0403	5,03E-03	8,02E-03	0,0132
Criseno	0,0598	0,226	< L.Q.	6,75	0,0300	0,763	< L.Q.
Benzo(b)fluoranteno	< L.D.	< L.D.	< L.D.	0,546	< L.D.	0,0582	< L.D.
Benzo(k)fluoranteno	7,40E-03	< L.D.	< L.D.	0,0299	< L.Q.	4,79E-03	< L.D.
Benzo(a)pireno	< L.Q.	< L.D.	< L.Q.	0,0410	2,58E-03	0,0101	< L.D.
Dibenzo(a,h)antraceno	< L.D.	< L.D.	7,67E-03	< L.Q.	< L.D.	< L.D.	< L.D.
Benzo(g,h,i)perileno	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.Q.	< L.D.	< L.D.	< L.D.
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.

< L.D. = Menor que o limite de detecção. < L.Q. = Menor que o limite de quantificação. Vide Tabela 12.

Tabela 24. Concentrações dos HPAs nas amostras de cachaça da 113 a 119 ($\mu\text{g L}^{-1}$).

HPAs	Amostra 113	Amostra 114	Amostra 115	Amostra 116	Amostra 117	Amostra 118	Amostra 119
Naftaleno	< L.D.	0,458	0,659	< L.D.	< L.D.	< L.D.	0,343
Acenafteno	1,75	0,137	< L.D.	< L.D.	0,724	< L.D.	0,682
Fluoreno	3,85	0,286	< L.D.	0,122	1,10	0,0375	0,861
Fenantreno	33,7	3,35	0,331	0,557	10,1	1,00	17,2
Antraceno	5,39	0,787	0,0126	0,826	2,08	0,298	2,39
Fluoranteno	8,95	1,25	0,144	0,748	4,80	0,240	1,61
Pireno	15,3	1,24	0,149	1,05	5,10	0,258	2,97
Benzo(a)antraceno	1,27	0,0850	0,0117	0,193	0,400	0,0262	0,233
Criseno	0,685	0,0826	0,0279	0,171	0,216	0,009	0,347
Benzo(b)fluoranteno	< L.D.	< L.Q.	< L.Q.	< L.Q.	< L.D.	< L.Q.	< L.D.
Benzo(k)fluoranteno	0,0423	0,0220	4,49E-03	0,0270	0,0417	0,0141	7,74E-03
Benzo(a)pireno	0,0623	0,0159	6,17E-03	0,0322	0,0569	0,0143	0,110
Dibenzo(a,h)antraceno	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.Q.	< L.D.
Benzo(g,h,i)perileno	< L.D.	< L.D.	< L.Q.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.

< L.D. = Menor que o limite de detecção. < L.Q. = Menor que o limite de quantificação. Vide Tabela 12.

Tabela 25. Concentrações dos HPAs nas amostras de cachaça da 120 a 126 ($\mu\text{g L}^{-1}$).

HPAs	Amostra 120	Amostra 121	Amostra 122	Amostra 123	Amostra 124	Amostra 125	Amostra 126
Naftaleno	< L.D.	0,268	0,923	0,310	0,698	1,35	0,0569
Acenafteno	1,54	0,0575	< L.D.	< L.D.	0,0786	0,0493	0,0281
Fluoreno	2,14	0,0456	< L.D.	< L.D.	< L.D.	0,0107	0,0199
Fenantreno	20,7	0,543	0,217	0,313	0,710	0,193	0,201
Antraceno	3,84	0,166	0,134	0,193	0,209	0,120	0,137
Fluoranteno	1,60	0,116	0,0543	0,104	0,903	0,0386	0,147
Pireno	3,39	0,105	0,0746	0,0804	0,583	0,145	0,0895
Benzo(a)antraceno	0,253	1,12	5,48E-03	8,93E-03	0,0256	9,09E-03	8,45E-03
Criseno	0,627	0,0363	0,0305	0,0672	0,0835	0,0488	0,0663
Benzo(b)fluoranteno	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.Q.	< L.D.
Benzo(k)fluoranteno	< L.D.	0,0101	4,27E-03	5,79E-03	0,0139	7,36E-03	4,82E-03
Benzo(a)pireno	0,0812	0,0145	5,92E-03	4,70E-03	0,0109	8,33E-03	4,72E-03
Dibenzo(a,h)antraceno	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.Q.	< L.D.
Benzo(g,h,i)perileno	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.

< L.D. = Menor que o limite de detecção. < L.Q. = Menor que o limite de quantificação. Vide Tabela 12.

Tabela 26. Concentrações dos HPAs nas amostras de cachaça da 127 a 131 ($\mu\text{g L}^{-1}$).

HPAs	Amostra 127	Amostra 128	Amostra 129	Amostra 130	Amostra 131
Naftaleno	0,337	0,531	0,185	< L.D.	< L.D.
Acenafteno	< L.D.	0,167	0,132	< L.D.	0,0534
Fluoreno	0,0256	0,120	0,0704	< L.D.	0,0414
Fenantreno	0,200	1,77	0,516	0,920	0,420
Antraceno	0,251	0,302	0,148	0,420	0,0353
Fluoranteno	0,306	0,0859	0,135	0,972	0,141
Pireno	0,186	0,434	0,162	0,781	0,0965
Benzo(a)antraceno	0,0180	0,0224	9,49E-03	0,0617	8,39E-03
Criseno	0,0799	0,0811	0,0837	< L.Q.	0,0702
Benzo(b)fluoranteno	0,0547	< L.D.	< L.D.	< L.D.	0,0240
Benzo(k)fluoranteno	0,0111	0,0112	4,80E-03	< L.Q.	5,10E-03
Benzo(a)pireno	0,0149	0,0199	8,06E-03	< L.Q.	4,87E-03
Dibenzo(a,h)antraceno	< L.Q.	< L.Q.	< L.D.	< L.D.	< L.D.
Benzo(g,h,i)perileno	< L.D.	< L.Q.	0,124	< L.D.	< L.D.
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.

< L.D. = Menor que o limite de detecção. < L.Q. = Menor que o limite de quantificação. Vide Tabela 12.

APÊNDICE III. Concentração dos HPAs nas amostras de cachaça envelhecida, rum, uísque escocês e uísque americano.

Tabela 27. Concentração dos HPAs nas amostras de cachaça envelhecida ($\mu\text{g L}^{-1}$).

HPAs	Cachaça envelhecida 01	Cachaça envelhecida 02	Cachaça envelhecida 03	Cachaça envelhecida 04
Naftaleno	19,5	13,3	0,326	0,462
Acenafteno	1,55	< L.D.	< L.D.	< L.D.
Fluoreno	1,59	0,893	0,402	0,276
Fenantreno	0,872	0,873	0,937	0,729
Antraceno	0,0921	0,0573	< L.Q.	< L.Q.
Fluoranteno	0,362	0,169	0,621	0,562
Pireno	0,679	0,548	0,698	0,698
Benzo(a)antraceno	0,163	0,170	0,194	0,177
Criseno	0,188	0,147	0,249	0,252
Benzo(b)fluoranteno	0,465	< L.D.	< L.D.	< L.D.
Benzo(k)fluoranteno	0,023	0,027	0,031	0,046
Benzo(a)pireno	0,0230	< L.Q.	0,0277	0,0429
Dibenzo(a,h)antraceno	0,0525	0,114	< L.D.	0,107
Benzo(g,h,i)perileno	0,215	0,0591	0,522	0,145
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.

< L.D. = Menor que o limite de detecção. < L.Q. = Menor que o limite de quantificação. Vide Tabela 12.

Tabela 28. Concentração dos HPAs nas amostras de rum ($\mu\text{g L}^{-1}$).

HPAs	Rum envelhecido 01	Rum branco 02	Rum envelhecido 03	Rum branco 04
Naftaleno	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.
Acenafteno	< L.D.	8,14E-03	< L.D.	< L.D.
Fluoreno	9,32E-03	< L.D.	< L.D.	< L.D.
Fenantreno	0,173	0,158	0,0266	0,0379
Antraceno	0,335	0,078	0,0900	0,109
Fluoranteno	0,0682	0,0959	0,0434	0,0315
Pireno	0,0438	0,102	0,0237	0,0151
Benzo(a)antraceno	8,05E-03	0,0110	5,75E-03	0,0116
Criseno	0,506	0,0143	0,0132	< L.D.
Benzo(b)fluoranteno	0,0576	< L.D.	< L.D.	< L.D.
Benzo(k)fluoranteno	6,12E-03	0,0333	3,53E-03	< L.D.
Benzo(a)pireno	5,85E-03	4,14E-03	4,77E-03	< L.D.
Dibenzo(a,h)antraceno	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.
Benzo(g,h,i)perileno	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.

< L.D. = Menor que o limite de detecção. < L.Q. = Menor que o limite de quantificação. Vide Tabela 12.

Tabela 29. Concentração dos HPAs nas amostras de uísque escocês ($\mu\text{g L}^{-1}$).

HPAs	Uísque escocês		Uísque escocês	
	01	02	03	04
Naftaleno	< L.Q.	0,531	0,0237	0,245
Acenafteno	< L.D.	< L.D.	0,0145	0,0180
Fluoreno	< L.Q.	< L.Q.	0,04	0,026
Fenantreno	0,229	0,559	0,535	0,583
Antraceno	0,085	0,106	< L.Q.	< L.Q.
Fluoranteno	0,101	0,0772	0,137	0,288
Pireno	0,099	0,096	0,192	0,177
Benzo(a)antraceno	0,0147	0,0133	0,0281	0,0824
Criseno	0,0735	0,0314	0,0395	0,0815
Benzo(b)fluoranteno	0,0355	< L.Q.	< L.D.	< L.Q.
Benzo(k)fluoranteno	4,75E-03	3,28E-03	0,0100	0,0128
Benzo(a)pireno	4,93E-03	5,26E-03	6,83E-03	0,0154
Dibenzo(a,h)antraceno	0,0337	< L.D.	< L.D.	< L.D.
Benzo(g,h,i)perileno	< L.Q.	< L.Q.	< L.D.	< L.D.
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.

< L.D. = Menor que o limite de detecção. < L.Q. = Menor que o limite de quantificação. Vide Tabela 12.

Tabela 30. Concentração dos HPAs nas amostras de uísque americano ($\mu\text{g L}^{-1}$).

HPAs	Uísque americano			
	01	02	03	04
Naftaleno	0,200	2,14	1,77	0,923
Acenafteno	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.
Fluoreno	0,831	0,434	0,337	0,961
Fenantreno	0,179	0,169	0,183	0,228
Antraceno	0,149	0,443	0,233	< LQ.
Fluoranteno	0,275	0,204	0,119	0,135
Pireno	0,312	0,0732	0,153	0,0456
Benzo(a)antraceno	0,0395	9,85E-03	0,128	0,010
Criseno	0,216	1,02	0,0487	0,0614
Benzo(b)fluoranteno	0,0416	0,121	< LQ.	< L.D.
Benzo(k)fluoranteno	0,146	9,87E-03	8,80E-03	0,0986
Benzo(a)pireno	0,0162	9,28E-03	9,84E-03	5,04E-03
Dibenzo(a,h)antraceno	< L.D.	< L.D.	0,0412	< L.D.
Benzo(g,h,i)perileno	0,151	< L.D.	0,035	< L.D.
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	< L.D.	< L.D.	< L.D.	< L.D.

< L.D. = Menor que o limite de detecção. < L.Q. = Menor que o limite de quantificação. Vide Tabela 12.

APÊNDICE IV. Espectros de absorção dos HPAs.

Abaixo estão listados espectros de absorção dos padrões de HPAs.

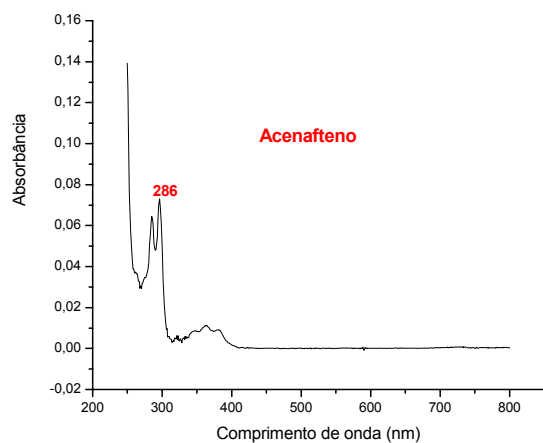


Figura 1. Espectro de absorção do acenafteno.

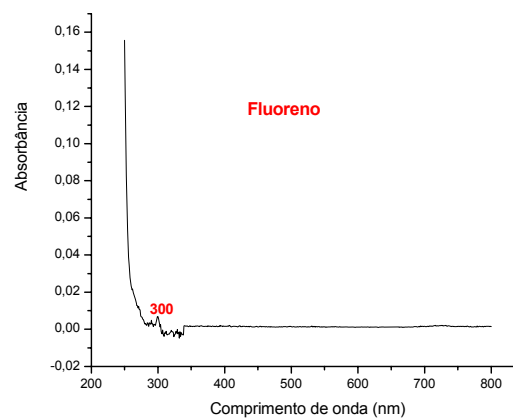


Figura 2. Espectro de absorção do fluoreno.

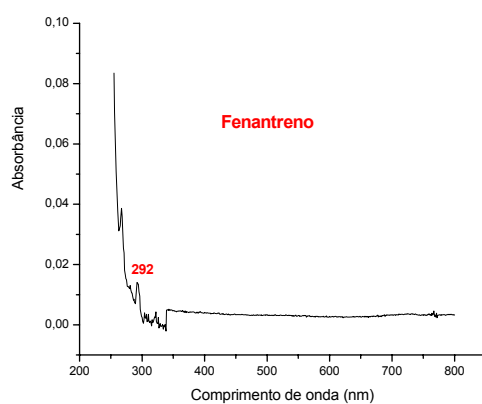


Figura 3. Espectro de absorção do fenantreno.

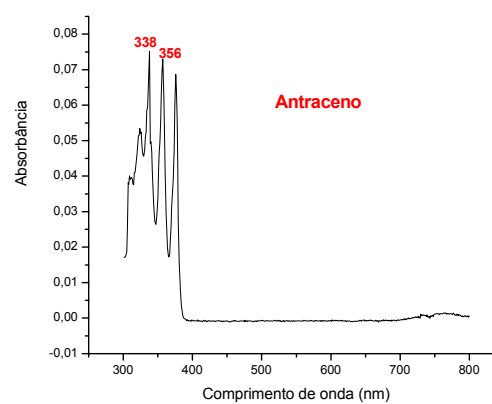


Figura 4. Espectro de absorção do antraceno.

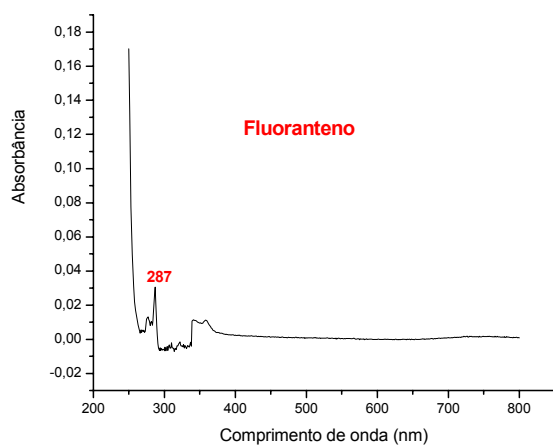


Figura 5. Espectro de absorção do fluoranteno

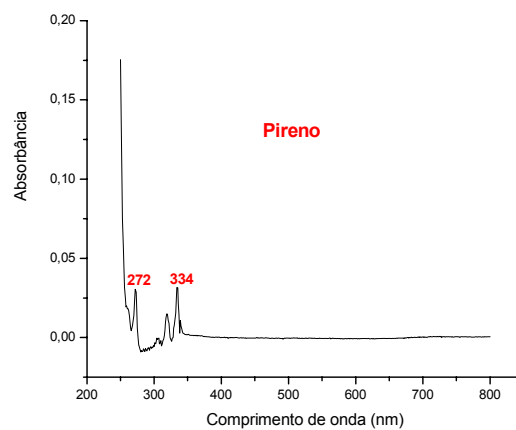


Figura 6. Espectro de absorção do pireno.

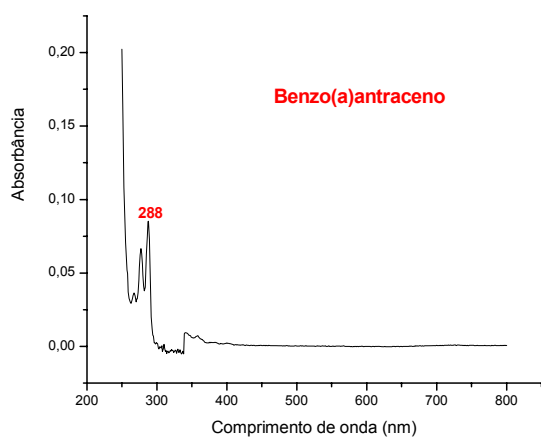


Figura 7. Espectro de absorção do benzo(a)antraceno.

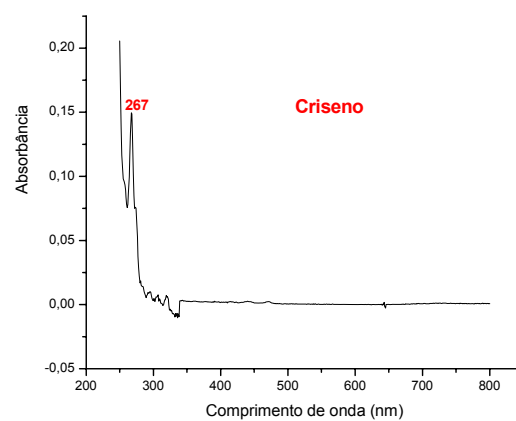


Figura 8. Espectro de absorção do criseno.

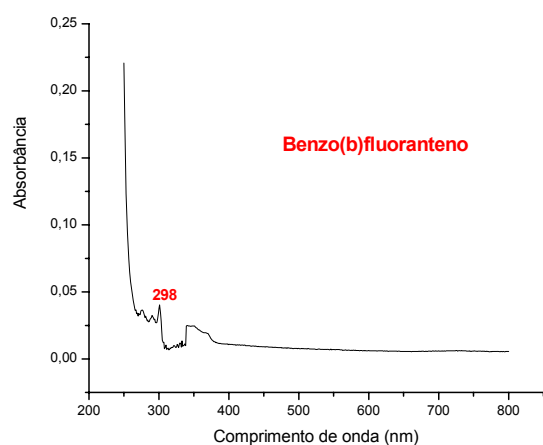


Figura 9. Espectro de absorção do benzo(b)fluoranteno.

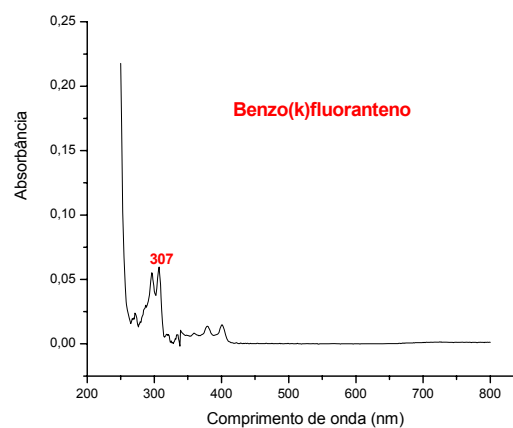


Figura 10. Espectro de absorção do benzo(k)fluoranteno.

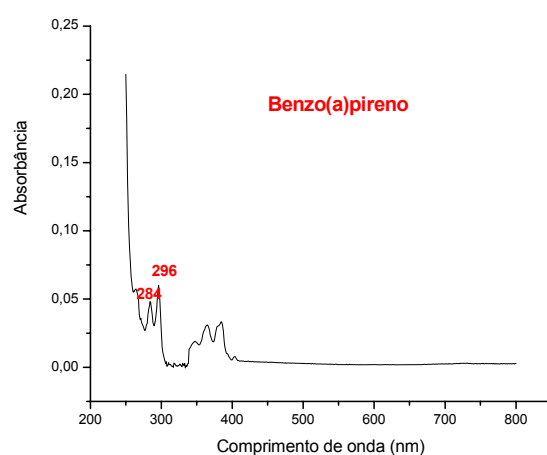


Figura 11. Espectro de absorção do benzo(a)pireno.

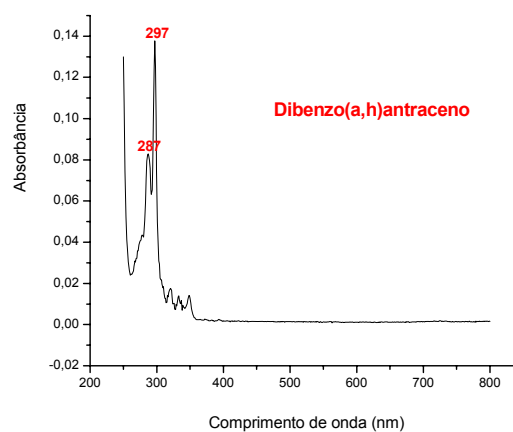


Figura 12. Espectro de absorção dibenzo(a,h)antraceno.

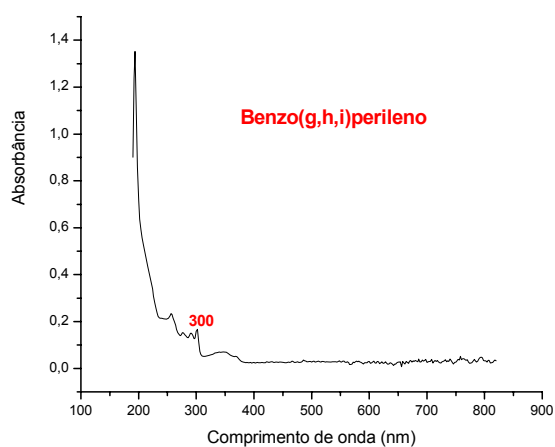


Figura 13. Espectro de absorção do benzo(g,h,i)perileno.

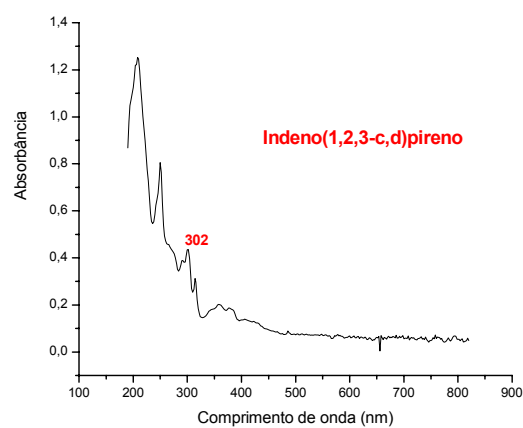


Figura 14. Espectro de absorção do indeno(1,2,3-c,d)pireno.

APÊNDICE V. Espectros de emissão de fluorescência dos HPAs.

A seguir são listados os espectros de emissão de fluorescência dos padrões de HPAs.

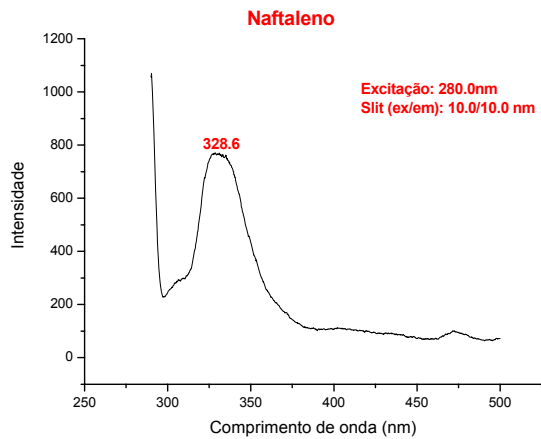


Figura 15. Espectro de fluorescência do naftaleno.

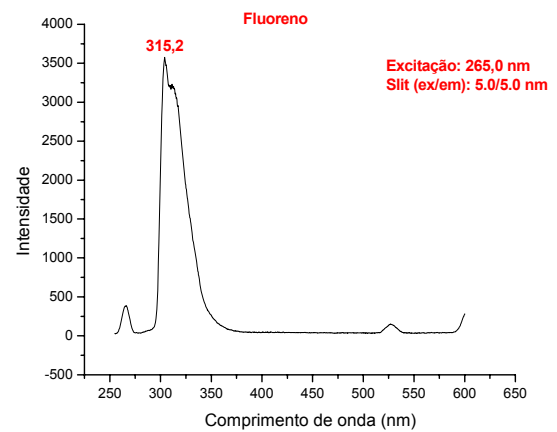


Figura 16. Espectro de fluorescência do fluoreno.

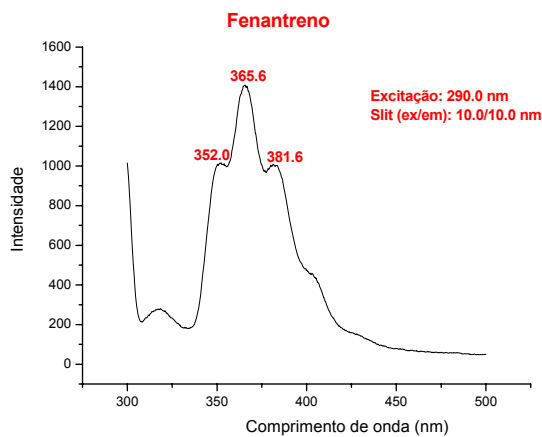


Figura 17. Espectro de fluorescência do fenantreno

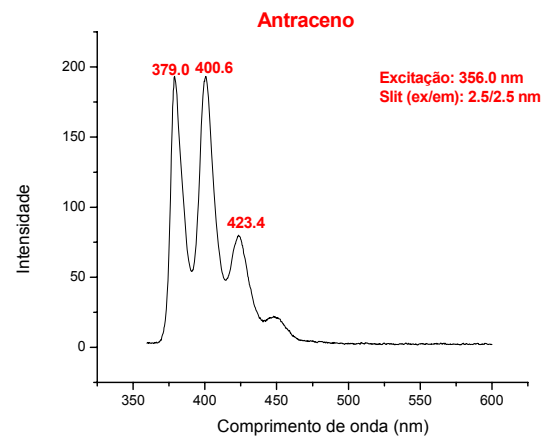


Figura 18. Espectro de fluorescência do antraceno

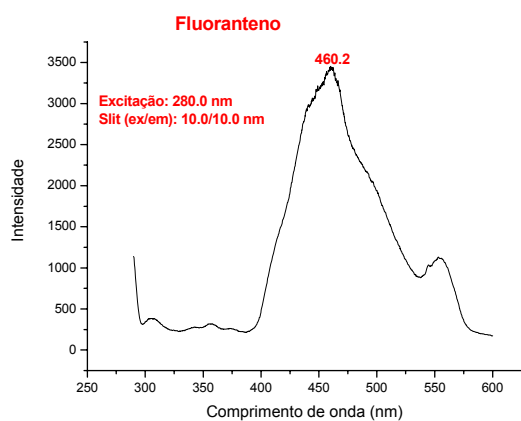


Figura 19. Espectro de fluorescência do fluoranteno

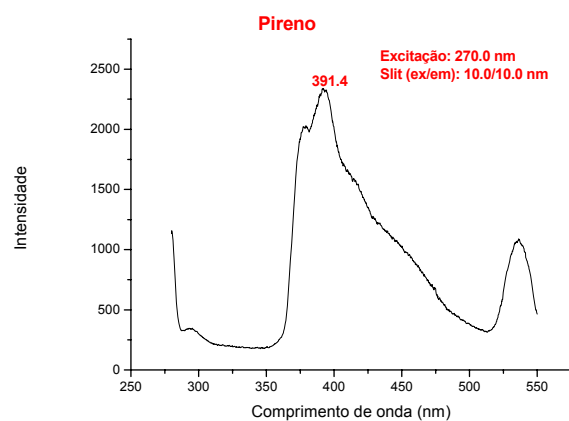


Figura 20. Espectro de fluorescência do pireno.

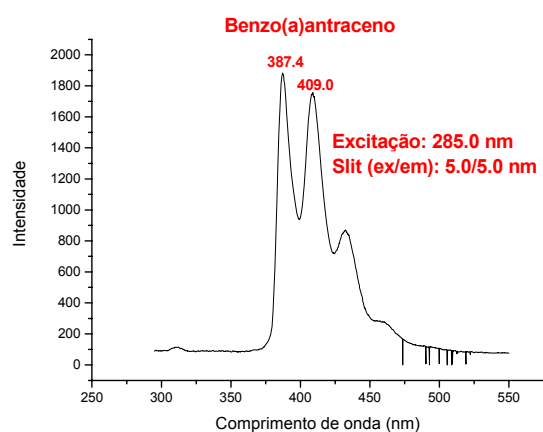


Figura 21. Espectro de fluorescência do benzo(a)antraceno.

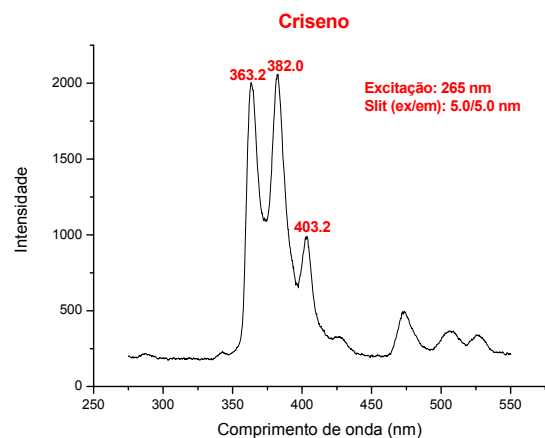


Figura 22. Espectro de fluorescência do criseno.

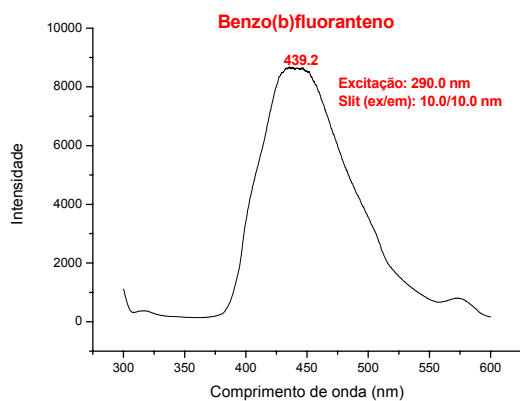


Figura 23. Espectro de fluorescência do benzo(b)fluoranteno.

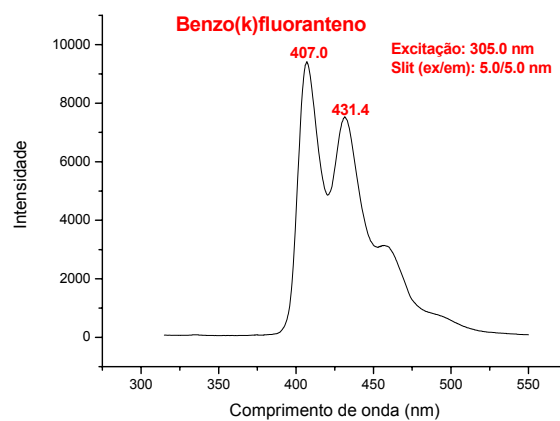


Figura 24. Espectro de fluorescência do benzo(k)fluoranteno.

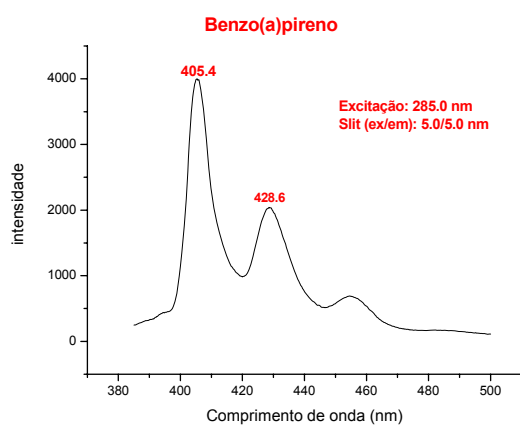


Figura 25. Espectro de fluorescência do benzo(a)pireno.

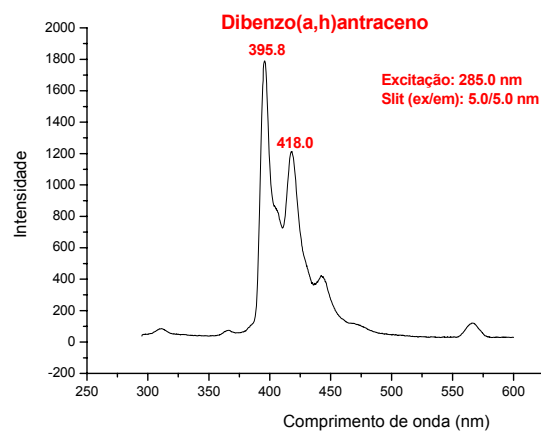


Figura 26. Espectro de fluorescência do dibenzo(a,h)antraceno.

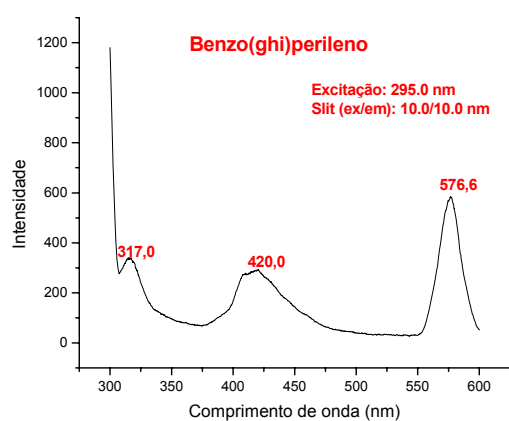


Figura 27. Espectro de fluorescência do benzo(g,h,i)perileno.

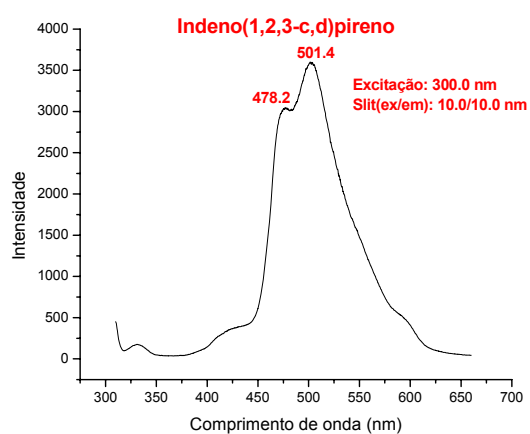


Figura 28. Espectro de fluorescência do Indeno(1,2,3-c,d)pireno.