



**RICHARD BISPO BARBOSA**

**CHEMICAL COMPOSITION OF AND QUANTIFICATION OF  
PAHS IN CACHAÇAS COMMERCIALIZED IN PET  
BOTTLES AND IN CACHAÇAS AGED IN OAK (*Quercus* sp.)  
CASKS WITH DIFFERENT THERMAL TREATMENTS**

**Lavras – MG**

**2022**

**RICHARD BISPO BARBOSA**

**CHEMICAL COMPOSITION OF AND QUANTIFICATION OF PAHS IN  
CACHAÇAS COMMERCIALIZED IN PET BOTTLES AND IN CACHAÇAS AGED  
IN OAK (*Quercus* sp.) CASKS WITH DIFFERENT THERMAL TREATMENTS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa do Pós-Graduação em Agroquímica na área de concentração Química/Bioquímica para aprovação na atividade.

Profa. Dr. Maria das Graças Cardoso  
Orientadora

Prof. Wilder Douglas Santiago  
Coorientador

**Lavras – MG**

**2022**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca  
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Barbosa, Richard Bispo.

Chemical composition of and quantification of PAHs in  
cachaças commercialized in pet bottles and in cachaças aged in oak  
(*Quercus* sp.) casks with different thermal treatments / Richard  
Bispo Barbosa. - 2021.

87 p. : il.

Orientador(a): Maria das Graças Cardoso.

Coorientador(a): Wilder Douglas Santiago.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de  
Lavras, 2021.

Bibliografia.

1. Cachaça. 2. HPA's. 3. Envelhecimento. I. Cardoso, Maria das  
Graças. II. Santiago, Wilder Douglas. III. Título.

**RICHARD BISPO BARBOSA**

**CHEMICAL COMPOSITION OF AND QUANTIFICATION OF PAHS IN  
CACHAÇAS COMMERCIALIZED IN PET BOTTLES AND IN CACHAÇAS AGED  
IN OAK (*Quercus sp.*) CASKS WITH DIFFERENT THERMAL TREATMENTS**

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA E QUANTIFICAÇÃO DE HPA'S EM CACHAÇAS  
COMERCIALIZADAS EM GARRAFAS PET E EM CACHAÇAS ENVELHECIDAS  
EM TONÉIS DE CARVALHO (*Quercus sp.*) COM DIFERENTES TRATAMENTOS  
TÉRMICOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa do Pós-Graduação em Agroquímica na área de concentração Química/Bioquímica para aprovação na atividade.

APROVADA em 26 de novembro de 2021.

Dr<sup>(a)</sup>. Maria das Graças Cardoso, UFLA

Dr<sup>(a)</sup>. Adelir Aparecida Saczk, UFLA

Dr<sup>(a)</sup>. David Lee Nelson, UFVJM

Dr<sup>(a)</sup>. Ana Maria De Resende Machado, CEFET-MG

Profa. Dr. Maria das Graças Cardoso  
Orientadora

Prof. Wilder Douglas Santiago  
Coorientador

**Lavras – MG**

**2022**

## AGRADECIMENTOS

A Deus e São Jorge, por me acompanharem diariamente em minha vida, principalmente nos momentos de grande dificuldade.

À Universidade Federal de Lavras e o DQI- UFLA, pelo suporte ao trabalho.

Aos órgãos de fomento CNPq, Fapemig e a Capes pelo suporte financeiro.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Aos meus pais, José e Marta, por confiarem em mim em todos esses anos e serem os pilares de mais uma conquista. Aos meus familiares, especialmente minha avó, Maria Camila, meu tio João e tia Patrícia e meus primos Lucas, Jhonatha e Bianca, por todo o apoio e carinho nos momentos que mais precisei.

À professora Maria das Graças Cardoso, pelos anos de ensinamentos, paciência, ensino e compreensão, obrigado pela oportunidade e por acreditar no meu trabalho, você foi essencial em minha caminhada.

Aos professores e funcionários do Departamento de Química, por todos OS ensinamentos, e pelos anos de convivência.

A toda à equipe do alambique Rainha da Cana, especialmente ao Pedro e Epitácio, pelo apoio, conversas e contribuição ao ceder amostras e pela hospitalidade.

Aos meus amigos de Jacareí Wagner, Raul, Yan e Pedro Water, obrigado por sempre estarem disponíveis quando a saudade de casa bateu, pelos divertidos encontros e as lembranças inesquecíveis.

Às amigas feitas em Lavras Allan, Gustavo, Marina, Luciano, Ander, Patrícia, Larissa, Matheus Julien, Wilder, Juliana, Rodolfo, Lucas PC, Best, Gabriela Lucas C. e Rafa, pelos momentos em que tive a oportunidade de estar perto e aproveitar a companhia de vocês.

Aos amigos do laboratório de óleos essenciais: Alex, Vanúzia, Rafaela, Jéssica, Danúbia, Luana, Gabriela, Isadora e Pamela. Obrigado pela ajuda e principalmente pelo ótimo convívio.

Aos amigos de laboratório Rafaella, Renan, Gabriela, Gabriel, Ana Paula. Obrigado pela grande colaboração nos experimentos, e principalmente pelos momentos divertidos que passamos juntos. À nossa querida técnica Cleusinha, eu agradeço por todo o suporte, paciência, conselhos preciosos e nossas agradáveis conversas pela manhã.

Agradeço a todos que contribuíram de alguma forma na realização deste trabalho.

## RESUMO

No Brasil, a cachaça é considerada um patrimônio cultural, nasceu com a história do país, ganhando cada vez mais espaço no mercado nacional e internacional. O setor passa por mudanças na comercialização do seu produto, desde novos rótulos, derivados e diferentes tipos de embalagens para a bebida, como as embalagens poliméricas PET. Elas, têm sido utilizadas por alguns produtores, devido ao seu menor custo e maior durabilidade para o transporte. A técnica de envelhecimento é utilizada para agregar valor à cachaça e outras bebidas; durante o contato da cachaça com a madeira ocorrem reações que são responsáveis pela extração e formação de novos compostos, que atribuem cor e aroma diferenciados à bebida. Neste trabalho pesquisou-se a influência do armazenamento de 15 amostras de cachaças comerciais acondicionadas em embalagens poliméricas, e em uma segunda etapa, estudou-se a influência dos diferentes níveis de tosta (sem tosta, fraca, média e forte), em cachaças envelhecidas em tonéis de carvalho. Foram analisados o perfil físico-químico, os compostos fenólicos e a concentração de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA's). Os dados obtidos mostraram que 60% das amostras armazenadas em PET apresentaram resultados fora dos Padrões de Qualidade e Identidade (PIQ's), estabelecidos pelo Ministério da Agricultura e Abastecimento (MAPA), sendo que a maioria das amostras apresentou baixos valores de grau alcoólico. Todas as amostras estudadas apresentaram concentrações de HPA's, sendo encontrados valores superiores aos da literatura para cachaças armazenadas em outras embalagens. O perfil físico-químico da bebida armazenada em tonéis de carvalho apresentou resultados dentro dos padrões exigidos pela legislação, com exceção da amostra RY3 para a quantificação de aldeídos, que se apresentou acima do limite exigido (30,41 mg 100 ml<sup>-1</sup> a.a.). Dentre as amostras envelhecidas em tonéis com diferentes níveis de tosta, a cachaça armazenada no tonel com tosta média (RY3) apresentou os maiores valores de concentração de compostos fenólicos (36,43 mg L<sup>-1</sup>), sendo o ácido gálico o composto majoritário encontrado em todas as amostras. As maiores concentrações de HPA's foram encontradas nas amostras armazenadas em tonéis com tosta média e forte, associando-se a formação destes compostos a tratamentos térmicos.

**Palavras-chave:** Cachaça, Envelhecimento, Tosta, Embalagens poliméricas

## ABSTRACT

In Brazil, cachaça is considered a cultural heritage, born with the country's history, gaining more and more space in the national and international market. The sector is undergoing changes in the marketing of its product, from new labels, derivatives and different types of beverage packaging, such as PET polymeric packaging. These have been used by some producers, due to their lower cost and greater durability for transport. The aging technique is used to add value to cachaça and other beverages; During the contact of the cachaça with the wood, reactions occur that are responsible for the extraction and formation of new compounds that give a different color and aroma to the drink. The influence of the storage of 15 samples of commercial cachaça stored in polymeric packaging was studied. In a second step, the influence of different levels of charring of oak barrels (no charring, weak charring, medium charring and intense charring) on cachaça aged in those barrels was determined. The physicochemical profile, the phenolic compounds and the concentration of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) were analyzed. The results for 60% of the samples stored in PET containers were outside the Quality and Identity Standards (PIQs) established by the Ministry of Agriculture and Supply (MAPA), and most of the samples had low alcohol concentrations. All the samples studied contained concentrations of PAHs higher than those found in the literature for cachaça stored in other types of packaging. The physical-chemical profiles of the beverages stored in oak barrels were within the standards required by legislation, with the exception of the RY3 sample for the quantification of aldehydes, which was above the legal limit (30.41 mg 100 mL<sup>-1</sup> a.a.). Among the samples aged in barrels with different levels of charring, the highest concentration of phenolic compounds (36.43 mg L<sup>-1</sup>) was found in the cachaça stored in the barrel with medium charring (RY3), and gallic acid was the principal compound found in all the samples. The highest concentrations of HPAs were found in samples stored in barrels with medium and intense charring, so the formation of these compounds appears to be associated with heat treatments.

**Keywords:** Cachaça, Aging, Toast, Polymeric packaging

## Sumário

1.	INTRODUÇÃO .....	9
2.	REFERENCIAL TEÓRICO.....	11
2.1.	Histórico da cachaça.....	11
2.2.	Mercado.....	11
2.3.	Cachaça x Aguardente.....	12
2.4.	Cachaça de alambique x Cachaça de coluna .....	13
2.5.	Processo produtivo da cachaça.....	14
2.5.1.	Matéria-prima.....	15
2.5.2.	Moagem.....	16
2.5.3.	Filtragem .....	16
2.5.4.	Fermentação .....	16
2.5.5.	Destilação .....	17
2.5.6.	Envelhecimento .....	18
2.6.	Padrões de qualidade .....	20
2.6.1.	Compostos secundários .....	21
2.6.2.	Contaminantes .....	22
2.7.	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA's).....	24
2.7.1.	Propriedades físico-químicas.....	25
2.7.2.	Toxicidade .....	27
2.7.3.	Formação de HPA's .....	28
2.7.4.	HPA's em alimentos bebidas.....	31
2.8.	Embalagens poliméricas.....	32
	REFERÊNCIAS.....	33
	Artigo 1 - Quantificação de HPA's, carbamato de etila e Perfil Físico-químico em amostras de cachaça comercializadas em embalagens PET .....	40
	Artigo 2 - Perfil Físico-químico, compostos fenólicos e quantificação de HPA's, em amostras de cachaça envelhecidas em tonéis de carvalho ( <i>Quercus</i> sp.) com diferentes tratamentos térmicos .....	61



## **PRIMEIRA PARTE – INTRODUÇÃO GERAL**

## 1. INTRODUÇÃO

A história da cachaça tem laços profundos com o descobrimento do Brasil; sua origem relaciona-se com os primeiros engenhos de açúcar construídos pelos portugueses durante a colonização. A cachaça é um dos setores do agronegócio que vem ganhando destaque pelo seu crescimento. O estado de Minas Gerais está entre aqueles que mais produzem a bebida no país, representando 50% da produção nacional de cachaça produzida em alambique (BRASIL, 2021).

Mantendo-se a tradição, a produção da bebida no país tem passado por grandes inovações, com a melhoria no processo de fabricação por meio de equipamentos mais modernos e boas práticas de produção. O aumento no consumo e produção de aguardente de qualidade viabiliza cada vez mais o aumento das exportações da bebida. A produção de cachaça requer conhecimentos científicos e tecnológicos apurados, competência, sensibilidade e dedicação.

Na produção, comumente empregam-se destiladores fabricados em cobre metálico. Após destilada, a bebida pode ser armazenada ou envelhecida em tonéis de madeira. O envelhecimento é uma técnica utilizada para agregação de valor; por meio do contato da cachaça com a madeira ocorrem reações que são responsáveis pela extração e formação de novos compostos que atribuem cor e aroma diferenciados à bebida. O carvalho é a madeira mais empregada para o envelhecimento, entretanto, essa não é uma madeira nativa do Brasil, que acarreta um alto custo na sua obtenção.

Os tonéis de carvalho passam geralmente por um processo de tosta, objetivando melhorar a qualidade sensorial da bebida por meio da degradação de biomacromoléculas em moléculas menores, que podem ser incorporadas à bebida com maior facilidade. A intensidade da tosta pode ser realizada em diferentes níveis de acordo com o solicitado pelo produtor, por meio de processos com chama direta ou pelo uso de maçaricos. A queima da superfície da madeira pode estar relacionada com a geração de alguns Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA's), compostos extremamente indesejáveis à bebida devido seu caráter ser comprovadamente carcinogênico.

Além dos tonéis, outra possível fonte de contaminação da bebida por HPA's pode estar relacionada com as garrafas PET's utilizadas na comercialização da bebida. As garrafas plásticas são amplamente utilizadas na comercialização de cachaça devido ao seu baixo custo, fácil manuseio, resistência a choques; entretanto, durante o armazenamento de bebidas, essas embalagens podem ser expostas a condições de alta incidência de luz e grandes diferenças de temperatura. O contato da cachaça com o plástico em condições anormais de acondicionamento

pode estar relacionado com o aumento da extração de HPA's das embalagens poliméricas, acarretando risco iminente à saúde do consumidor.

No presente estudo teve-se como objetivos elucidar a composição química e quantificação de HPA's em cachaças comercializadas em garrafas PET e em cachaças envelhecidas em tonéis de carvalho (*Quercus* sp.) com diferentes tratamentos térmicos.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1. Histórico da cachaça

A cachaça tem sua história enraizada com o descobrimento e colonização do Brasil. Os primeiros registros de sua produção datam dos engenhos de açúcar, no período da escravidão. Portugal comercializava o vinho e a bagaceira para o Brasil colônia, porém essas bebidas sofriam grandes acréscimos em seus valores devido à grande tributação de impostos. A produção de cachaça ganhou destaque pelas classes econômicas mais baixas, pois era uma bebida de menor custo e de sabor muito agradável, sua popularização dentro da colônia foi questão de tempo. Portugal viu seu comércio de bagaceira e vinho diminuírem, e então, por meio de decretos governamentais portugueses, proibiram a produção e comercialização da cachaça em 1659. Tal ato gerou uma revolta, em que produtores tomaram o poder no Rio de Janeiro, que teve como resultado a liberação da produção da bebida e eliminação das taxas; o movimento ficou conhecido como “Revolta da Cachaça” (ALCARDE, 2017; CARDOSO, 2020).

Atualmente, a cachaça é produzida por quase todo o território brasileiro, tendo ingredientes e técnicas específicas de cada região. São Paulo é o maior produtor de cachaça de coluna. Minas Gerais, Rio de Janeiro e Espírito Santo continuam a produzir em maior quantidade a cachaça de alambique (BRASIL, 2021).

A cachaça é considerada patrimônio cultural do Brasil, ela possui um dia em sua homenagem (13 de setembro), e a denotação “cachaça” só pode ser utilizada para o destilado de caldo de cana-de-açúcar produzido no Brasil, respeitando os PIQ’s (Padrões de Identidade e Qualidade) estabelecidos pelo Mapa (Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento). Em outros países, a bebida se torna cada dia mais famosa, em sua forma convencional de doses, ou no preparo de “*drinks*”, como a consagrada caipirinha (CARDOSO, 2020).

### 2.2. Mercado

A cachaça é a segunda bebida alcoólica mais consumida no Brasil, mundialmente a bebida ocupa o terceiro lugar de destilado mais vendido. A cadeia produtiva da cachaça é responsável pela geração de diversos empregos diretos e indiretos, com mais de 4000 mil marcas registradas e sua produção ser espalhada por quase todo o território brasileiro (CARDOSO, 2020).

Atualmente, no Brasil, a produção de cachaça ocorre em quase todos os estados brasileiros, mas Minas Gerais, São Paulo, Espírito Santo, Rio de Janeiro e Paraíba são os principais estados produtores, sendo responsáveis por maior parte da produção de 1,4 bilhão de litros de cachaça anualmente, com 70% da produção de cachaça industrial e de coluna e 30% de cachaça de alambique de cobre (BRASIL, 2021).

O consumo da bebida no Brasil é responsável pela movimentação de grandes valores, sendo apenas 1% da produção total exportada; estima-se um consumo de cerca de 6,9 litros por pessoa. O Paraguai, Alemanha e França são os maiores importadores da bebida em volume, sendo no ano de 2020 exportados mais de 5 milhões de litros da bebida, comércio exterior que movimentou cerca de US\$ 15 bilhões de dólares no ano de 2018 (BRASIL, 2021).

Dentre os estados produtores, São Paulo e Pernambuco foram em 2018 os principais exportadores da bebida, representado juntos cerca de 60% da exportação total da bebida. O estado de São Paulo é reconhecido pela produção da cachaça em colunas de aço inox, sendo esse um dos principais produtos exportados atualmente (BRASIL, 2021).

A produção e comercialização da cachaça é protegida por leis federais estaduais que definem a bebida como patrimônio cultural nacional. Dessa forma, a produção do destilado de cana-de-açúcar e sua denominação como cachaça é protegida, a fim de preservar os interesses comerciais brasileiros na produção e exportação da bebida (CARDOSO, 2020).

### **2.3.Cachaça x Aguardente**

Em seus quase 500 anos de história, a produção de cachaça provém de algumas técnicas clássicas, que são adequadas aos novos conhecimentos científicos, mecanização e expansão da cadeia produtiva. A produção é dividida em dois tipos de processos diferentes, cachaça de coluna, com destilação de mosto fermentado em colunas de aço inox ou cachaça destilada em alambiques de cobre (CARDOSO, 2020).

A Instrução Normativa de nº 13, de 30/06/2005 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa), revogada pelo decreto nº 6.871, de 04/06/2009, definem que aguardente de cana é a bebida com graduação alcoólica de 38 a 54% v/v à 20°C, obtida por meio 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 30 g L<sup>-1</sup>, expressas em sacarose. A cachaça é definida como sendo toda aguardente de cana-de-açúcar que apresenta graduação alcoólica entre 38 a 48% em volume (BRASIL, 2005a).

As aguardentes podem ser produzidas pela utilização de outras matérias-primas vegetais para a fermentação, como o milho, frutas, trigo, etc. São produzidas do destilado alcoólico simples a partir do suco integral, do suco concentrado ou da polpa, todos da mesma fruta com graduação alcoólica entre 38 a 54% v/v a 20°C (BRASIL, 2011).

#### **2.4. Cachaça de alambique x Cachaça de coluna**

A destilação das cachaças é uma etapa crucial na formação do produto final, o tipo de aparelho utilizado e seu material tem influência direta na presença de compostos e em suas quantidades no destilado final. A cachaça de alambique é aquela que passa pelo processo de destilação em destilador de cobre, onde é realizada a etapa de cortes de frações (cabeça, coração e cauda) em um processo de batelada. A cachaça de coluna emprega a destilação em colunas de aço inox, em um processo contínuo sem a separação de frações.

O estado de Minas Gerais é o principal produtor de cachaças e aguardentes em alambique de cobre, enquanto São Paulo é o principal estado produtor da bebida em colunas de aço inox. A produção de cachaça de coluna é característica de empresas de médio e grande porte, cerca de 50% da produção de cachaça brasileira é proveniente desse método de destilação.

Apesar de seguirem os mesmos princípios e etapas de produção, o aparelho de destilação e a prática de separação de frações traz em grandes diferenças sensoriais para as bebidas. As cachaças produzidas em alambiques de cobre apresentam maior concentração de compostos secundários em comparação àquelas produzidas em colunas, além de que a utilização de cobre na estrutura do alambique faz com que muitas reações sejam catalisadas durante a destilação da bebida, gerando um aroma e constituição característicos da bebida de alambique (ALCARDE, 2017; AQUARONE et al., 2005; CARDOSO, 2020).

Serafim e colaboradores (2012), estudando as diferenças do perfil físico químico de um vinho destilado em alambique de cobre e coluna de aço inox, observaram que a composição das bebidas difere estatisticamente, parte da sua justificativa é embasada na separação de frações da cachaça de alambique, influenciando diretamente na diferenciação pela concentração dos compostos. Concluíram que o método de destilação deve ser informado ao consumidor, já que ele tem influência direta no perfil da bebida.

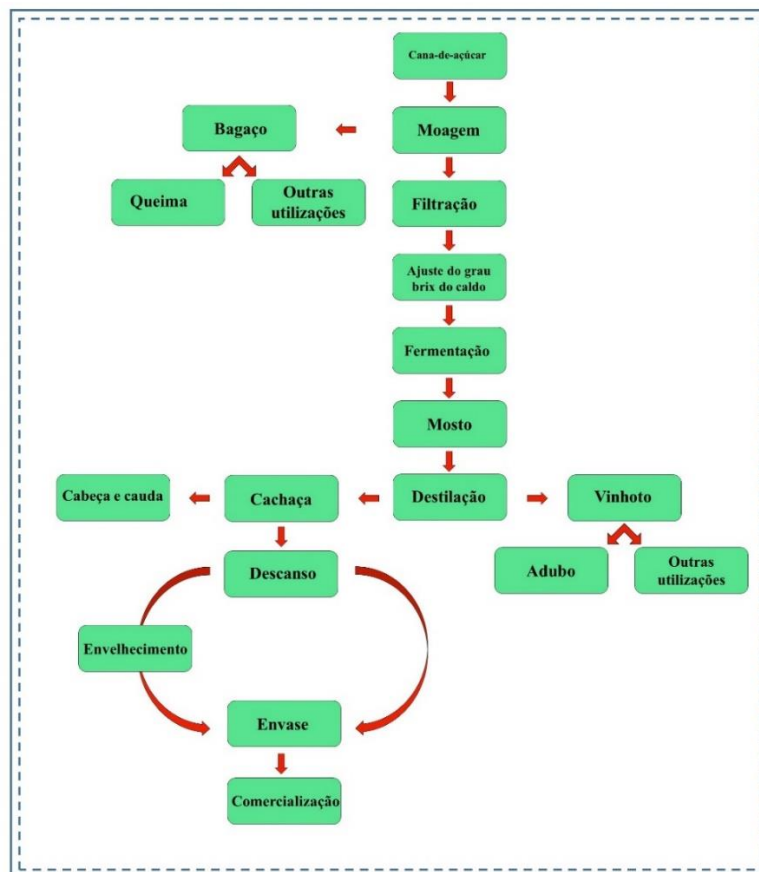
Em relação aos contaminantes em cachaças, Rodrigues et al. (2020), estudando 44 amostras de cachaças de alambique e de coluna, observaram maiores concentrações de carbamato de etila e 2,3-butadiona em cachaças destiladas em coluna de aço inox em

comparação as de alambique. Além disso, o autor encontrou diferenças nos perfis físico-químicos das bebidas para os álcoois superiores e acidez volátil.

## 2.5. Processo produtivo da cachaça

A cadeia produtiva da cachaça/aguardente pode ser dividida em quatro etapas principais, moagem da cana-de-açúcar para obtenção do mosto, fermentação, destilação e envelhecimento (Figura 1) (CARDOSO 2020).

Figura 1 - Fluxograma da cadeia produtiva da cachaça.



Fonte: Do autor.

Como apresentado na Figura 1, a cana-de-açúcar passa pelo processo de moagem e o caldo segue para a filtração, ajuste da quantidade de açúcar (diluição do caldo) e finalmente a fermentação. Nessa etapa, o açúcar será transformado em etanol, CO<sub>2</sub> e compostos secundários por meio da ação de leveduras. O fermentado será destilado, dando origem ao produto final, “a cachaça”. Esse é encaminhado para descanso para melhor harmonização dos compostos

secundários da bebida e pode então ser envasado e comercializado ou ainda passar pela etapa adicional de envelhecimento, objetivando-se com essa prática agregar valor à bebida por meio da extração de compostos da madeira que são responsáveis por alterar a qualidade sensorial (CARDOSO, 2020).

### **2.5.1. Matéria-prima**

A cana-de-açúcar é uma espécie vegetal pertencente ao gênero *Saccharum*, com diferentes espécies conhecidas para diferentes aplicações. Essa cultura foi introduzida no Brasil durante o descobrimento e colonização do país, tendo a planta se adaptado rapidamente ao clima tropical, tornando-se um produto econômico (CARDOSO, 2020).

Para uma maior geração de renda, o setor sucroalcooleiro é um dos principais interessados na variação genética de espécies de cana-de-açúcar. O melhoramento genético na matriz busca uma maior produtividade, rentabilidade e maior resistência a pragas e doenças (MATTOS et al., 2018).

O regime de produção dos canaviais tem variações regionais e anuais, devido a diferenças climáticas, regionais e tempo de crescimento da planta. Esses fatores têm influência direta na produtividade e rendimento das plantações. O planejamento e manejo adequado de cada variedade influenciam diretamente na qualidade industrial da colheita (PIMENTEL e ANDRADE, 2020).

Na cadeia produtiva de cachaças e aguardentes não há especificação de variedades de cana a serem utilizadas, podendo elas ser escolhidas pelo produtor de acordo com as condições da região de plantio, buscando a melhor adaptação (MATTOS et al., 2018).

A colheita da cana-de-açúcar pode ser realizada de forma manual ou por meio de equipamentos especializados; entretanto, a utilização da queima do canavial é proibida; a aplicação dessa prática tem como objetivo facilitar a colheita manual por meio da queima do palhço da planta; entretanto, estudos da literatura associam o surgimento de altas concentrações de contaminantes como o furfural e o 5-hidroximetilfurfural a partir de reações de desidratação de pentoses e hexoses, por meio da queima do canavial (MASSON et al., 2007).

A qualidade de cultivo, corte e processamento da cana-de-açúcar estão diretamente relacionadas à qualidade final da cachaça produzida, a cana-de-açúcar deve ser cortada limpa e armazenada em local adequado por pequenos intervalos de tempo para a produção de cachaça, evitando-se a degradação dos colmos e a sua contaminação por bactérias formadoras de compostos indesejáveis (CARDOSO, 2020).



### **2.5.2. Moagem**

Após a colheita, a cana-de-açúcar passa pelo processo de separação da parte sólida e fibrosa e a parte líquida (caldo de cana bruto rico em açúcares e sólidos solúveis). A composição do caldo de cana é de 65 a 75% água e 11 a 18% de açúcares, sendo também encontrados em pequenas quantidades alguns compostos nitrogenados, fibras, ceras, lipídeos, pectinas e sais minerais (MOTA; MENDONÇA; VEIGA, 2020).

Nessa etapa, a escolha e manutenção de uma moenda adequada para o estabelecimento é fundamental à qualidade da bebida. Esse equipamento deve ser capaz de atender à demanda de cana-de-açúcar necessária para a alimentação dos tanques de fermentação e destilação. Após a moagem, o equipamento deve ser higienizado, evitando-se o contato das graxas utilizadas na lubrificação dos anteparos metálicos com a cana-de-açúcar e o caldo extraído; a contaminação do caldo com graxas está diretamente ligado ao surgimento de HPA's no destilado final (BORTOLETTO et al., 2018).

### **2.5.3. Filtragem**

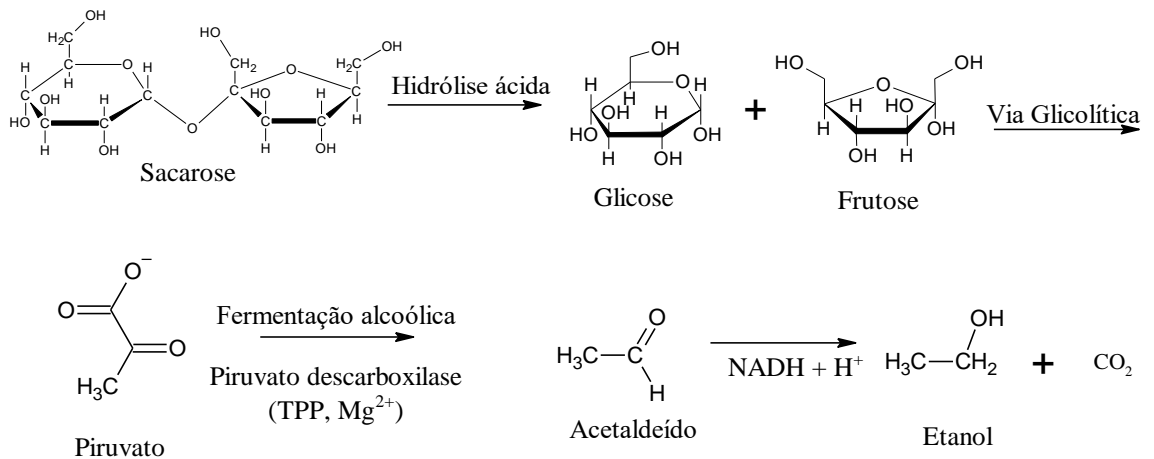
Após obtido o caldo de cana-de-açúcar, ele deve ser peneirado para que impurezas sólidas sejam removidas antes de prosseguir para a etapa de fermentação. Podem ser utilizados diferentes tipos de peneiras, sendo os decantadores os mais empregados e a separação é realizada por gravidade. Nesse equipamento, são separados sólidos indesejáveis à fermentação, que podem estar associados à formação de contaminantes, como o metanol, que é proveniente da degradação da pectina proveniente de bagacilhos durante a destilação (CARDOSO, 2020; ALCARDE, 2017).

A concentração de açúcares pode ser ajustada, de acordo com a necessidade para um maior controle do processo de fermentação. A partir de então, esse caldo passa a ser chamado de mosto, estando pronto para a adição do fermento (CARDOSO, 2020)

### **2.5.4. Fermentação**

O processo de fermentação é etapa fundamental na produção de bebidas alcoólicas, nele são envolvidas reações de transformação dos açúcares e água em etanol, gás carbônico e outros compostos secundários por meio do metabolismo de leveduras. A equação geral está descrita na Figura 2.

Figura 2 – Reação geral da fermentação alcoólica da sacarose.



Fonte: Do autor.

O processo de fermentação inicia-se pela hidrólise da sacarose (Figura 2), obtendo-se os monômeros glicose e frutose. Esses açúcares são convertidos em moléculas de piruvato (via glicolítica) e sofrem a descarboxilação pela enzima Piruvato descarboxilase, formando acetaldeído. Esse composto pode então ser finalmente reduzido a CO<sub>2</sub> (SCHWAN e DIAS, 2020).

As leveduras empregadas nesse processo possuem fontes variadas (leveduras selecionadas produzidas em laboratório ou selvagens de diferentes culturas como milho e arroz ou da própria cana), de acordo com o objetivo de cada produtor quanto à qualidade sensorial final da bebida. Dentre as mais utilizadas, destacam-se as linhagens de *Saccharomyces cerevisiae*; a utilização de diferentes espécies de leveduras tem como resultado a formação de compostos secundários em diferentes quantidades, influenciando diretamente na harmonização e qualidade sensorial da bebida (SCHWAN e DIAS, 2020).

Na cachaça, o processo de fermentação tem duração em torno de 18 a 24 horas, processo relativamente rápido quando comparado à produção de outras bebidas alcoólicas, ele é realizado em dornas de aço inox com controle de temperatura e sem agitação, em um sistema de bateladas; após a finalização do processo, o fermento é decantado, separado e pode ser utilizado em outro ciclo de produção (SCHWAN e DIAS, 2020).

### 2.5.5. Destilação

Após fermentada, a mistura complexa de diferentes substâncias é separada e/ou pré-concentrada por meio do processo de destilação. O objetivo da técnica é a separação de substâncias por meio do seu aquecimento até as suas respectivas temperaturas de ebulição,

gerando vapores que, ao entrar em contato com uma superfície continuamente resfriada (condensador), condensa na forma de gotículas, podendo ser coletado em sua forma líquida (SMITH; NESS; ABBOTT, 2000).

O princípio físico para a separação está associado às diferentes temperaturas de ebulição de cada um dos compostos presentes na mistura, podendo ser realizadas destilações em sistemas mais complexos que permitem diversos fracionamentos de substâncias na sua forma pura. Na destilação da cachaça, a mistura de etanol e água dão origem a uma mistura azeotrópica, ou seja, a temperatura de ebulição da água é reduzida, enquanto a do álcool aumenta e ambos são destilados com temperatura de ebulição 78,15 °C (DIAS e MACHADO, 2020)

Para a destilação de cachaça, é comum o uso de alambiques de cobre ou colunas de aço inox. Nas cachaças de alambique, o processo é realizado em bateladas, e o destilado é dividido em três frações: cabeça, coração e cauda. O coração é considerado a parte mais nobre, por apresentar o melhor equilíbrio de compostos. Na cachaça de coluna, é realizada a destilação em processo contínuo em colunas de aço inox, nos quais todo o álcool destilado compõe a bebida, sem a separação de frações. Ambos os equipamentos podem gerar produtos dentro dos padrões estabelecidos pela legislação; entretanto, eles podem apresentar diferentes características sensoriais (BORTOLLETO, et al. 2018).

A cachaça destilada então deve seguir para o armazenamento em tonéis de madeira ou dornas de aço inox para o processo de maturação. Durante o tempo de armazenamento ocorrem reações entre os compostos presentes na bebida, gerando um equilíbrio no aroma e sabor, processo que a torna menos pungente e mais agradável ao paladar (ALCARDE, 2017).

#### **2.5.6. Envelhecimento**

O descanso da bebida após sua destilação é necessário para que ocorra o equilíbrio dos compostos químicos e uma melhoria na qualidade sensorial; entretanto, o processo de envelhecimento é uma etapa não obrigatória, mas tem como finalidade a agregação de valor. A cachaça em contato com os tonéis realizará reações específicas com moléculas presentes na madeira, conferindo-lhe cor, aroma e sabor diferenciados (WARREN-VEGA et al. 2021)

São inúmeras as reações envolvidas no processo de envelhecimento, partindo da extração de compostos da madeira e a conversão deles por meio de oxidações e outros processos químicos. Para cada tipo de madeira utilizada, são obtidos resultados característicos para coloração e sabor; entretanto, em madeiras de mesmas espécies fatores relacionados com o país,

floresta de origem, clima e solo são variáveis importantes na composição química de cada árvore (BORTOLETTO, 2016).

O carvalho é a madeira mais empregada mundialmente no envelhecimento de bebidas, a estrutura do seu cerne apresenta a resistência física e porosidade perfeitas para o processo, além de conferir aromas e sabor adocicado diferenciado à bebida. O carvalho é uma madeira nativa de climas mais frios, sendo encontrado principalmente na América do Norte e Europa (BORTOLETTO, 2016; SANTIAGO, 2016).

Devido ao fato de o carvalho não ser uma madeira nativa, os tonéis utilizados no Brasil são provenientes da reutilização de tonéis de vinho, rum ou outras bebidas; assim, o processo de envelhecimento poderia trazer um certo efeito de memória de constituintes das bebidas armazenadas anteriormente. A exportação de carvalho pode acarretar altos custos; deste modo, pesquisas relacionadas ao uso de madeiras nacionais têm ganhado espaço e vêm mostrando bons resultados (BORTOLETTO, 2016; SANTIAGO, 2016).

Os tonéis são fabricados a partir de diversas técnicas tradicionais da tanoaria; entretanto, vem ocorrendo a modernização dos processos pelo uso de aparelhos que auxiliam e funcionalizam a fabricação. Após o corte, a madeira passa por processos de secagem, modelagem e corte. Os cortes são realizados de maneira que as duelas tenham um encaixe manual perfeito, elas são então seguradas e presas por meio de cintas de aço. Após isso, o tonel é finalmente modelado por meio de um processo térmico interno, que possibilita a maleabilidade da madeira (BORTOLETTO, 2016; MOSEDALE; PUECH, 1998)

A tosta é um processo térmico que pode ser utilizado após a modelagem do tonel de forma opcional; seu surgimento ocorreu em tanoaria francesa e pode ser dividido de acordo com a intensidade de exposição à queima, que é padronizada pela tanoaria em níveis fracos, médios e fortes. O intuito de se utilizar a tostagem é uma adaptação na composição química superficial da madeira, melhorando o desempenho durante o envelhecimento por meio da degradação de biomacromoléculas em moléculas menores que podem ser mais facilmente absorvidas (BORTOLETTO, 2016; MOSEDALE; PUECH, 1998)

Durante os tratamentos térmicos realizados na madeira, são formados o furfural e 5-hidroxi metilfurfural, esses compostos são provenientes da desidratação de açúcares presentes na madeira e vão conferir coloração marrom ao destilado em contato; nesse processo, há a formação de outros produtos que podem ser ou não importantes para a qualidade da bebida (BORTOLETTO, 2016).

## 2.6. Padrões de qualidade

Os limites estabelecidos pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (Mapa), para os Padrões de Qualidade da Bebida estão descritos no Quadro 1, com seus valores mínimos e seus limites máximos de concentração estabelecidos pela Instrução Normativa de nº 13, de 30/06/2005 e Instrução Normativa nº 28, de 08/08/2014.

Quadro 1 - Padrões de Identidade e Qualidade (PIQs) da aguardente de cana-de-açúcar e da cachaça (Brasil, 2005a, 2014).

Componente	Unidade	Limite	
		Mínimo	Máximo
Graduação alcoólica ( <b>aguardente</b> )	% v/v de álcool etílico a 20°C	<b>38,0</b>	<b>54,0</b>
Graduação alcoólica ( <b>cachaça</b> )	% v/v de álcool etílico a 20°C	<b>38,0</b>	<b>48,0</b>
Sacarose, em açúcar refinado, invertido ou glicose	g L <sup>-1</sup>	6,0	30,0
Acidez volátil, em ácido acético	mg 100 mL <sup>-1</sup> de álcool anidro	-	150,0
Ésteres, em acetato de etila	mg 100 mL <sup>-1</sup> de álcool anidro	-	200,0
Aldeídos, em aldeído acético	mg 100 mL <sup>-1</sup> de álcool anidro	-	30,0
Furfural	mg 100 mL <sup>-1</sup> de álcool anidro	-	5,0
Álcool <i>sec</i> - butílico	mg 100 mL <sup>-1</sup> de álcool anidro	-	10,0
Álcool butílico	mg 100 mL <sup>-1</sup> de álcool anidro	-	3,0
Álcoois superiores*	mg 100 mL <sup>-1</sup> de álcool anidro	-	360,0
Álcool metílico	mg 100 mL <sup>-1</sup> de álcool anidro	-	20,0
Acroleína	mg 100 mL <sup>-1</sup> de álcool anidro	-	5,0
Carbamato de etila	µg L <sup>-1</sup>	-	210,0
Cobre	mg L <sup>-1</sup>	-	5,0
Arsênio	µg L <sup>-1</sup>	-	100,0
Chumbo	µg L <sup>-1</sup>	-	200,0
Extrato seco	g L <sup>-1</sup>	-	6,0

\*Álcoois superiores: isobutílico + isoamílico + propílico.

O processo fermentativo da cana-de-açúcar é responsável pela transformação dos açúcares em etanol; entretanto, durante esse processo são formados outros compostos orgânicos

de grande importância para a bebida, sendo alguns deles responsáveis pela formação do “*flavour*” da bebida, dando-lhe aroma e sabor diferenciados. Os compostos majoritários produzidos são água, etanol e CO<sub>2</sub> (DATO et al., 2005; CARDOSO 2020).

Além dos compostos secundários, há o controle de contaminantes, como o carbamato de etila, metanol, HPA's, acroleína e os metais pesados.

Os HPA's ainda não são controlados por nenhuma legislação brasileira em cachaça ou em outras bebidas; devido à sua alta toxicidade, há necessidade de uma futura padronização e controle desses compostos em bebidas (PURCARO et al., 2016).

## 2.7. Compostos secundários

Provenientes de toda cadeia produtiva, os componentes secundários são encontrados na bebida em menor quantidade que os compostos majoritários; entretanto, apresentam grande importância para a qualidade sensorial da bebida. Suas funções orgânicas podem ser álcoois, ácidos, hidrocarbonetos e compostos carbonilados com três ou mais átomos de carbono. Outras substâncias como cetonas, compostos fenólicos, aminas e compostos sulfurados também podem ser encontradas em pequenas proporções (CARDOSO, 2020, BETTIN e FRANCO, 2005; MAGALHÃES et al., 2007; GALINARO et al., 2007).

O ácido acético tem sido quantitativamente o principal componente da fração ácida das aguardentes, sendo responsável por cerca de 70% dos ácidos presentes. Altos índices de acidez em aguardentes podem ser atribuídos à contaminação da matéria-prima ou do próprio mosto fermentativo por bactérias acéticas e outras, fazendo com que parte do substrato sofra fermentação acética, elevando-se, assim, a acidez e diminuindo o rendimento da produção de etanol (CARDOSO, 2020).

Os aldeídos são compostos indesejáveis na produção da bebida, porém possuem papel importante, sendo considerados intermediários na formação dos álcoois superiores por meio de processos redutivos. Os principais aldeídos são etanal (aldeído acético), metanal (aldeído fórmico), butanal (aldeído butírico), pentanal (aldeído valérico) e hexanal (hexaldeído). A maior concentração desses compostos é encontrada na fração cabeça, o “coração” da bebida apresenta níveis equilibrados principalmente de acetaldeído, o que contribui diretamente para a formação do “*flavour*”. (CARDOSO, 2020; MASSON et al., 2007).

O acetato de etila, um éster proveniente do processo fermentativo, é um dos principais constituintes do aroma da bebida, tendo papel agradável, pungente e suave quando em quantidades adequadas. O excesso do composto confere à aguardente um sabor enjoativo e

indesejável. A formação dos ésteres ocorre por meio das reações de esterificação entre os álcoois e os ácidos carboxílicos formados durante o processo oxidativo ou durante o processo de fermentação (PEREIRA et al., 2003; MIRANDA et al., 2006, SCHWAN; DIAS, 2020).

Os álcoois com três a cinco átomos de carbono, denominados de álcoois superiores, são frequentemente encontrados em bebidas destiladas. Os aromas desses compostos se assemelham aos odores característicos de flores. Os principais álcoois superiores encontrados em aguardentes são os álcoois 3-metilbutan-1-ol (isoamílico), pentan-1-ol (amílico), butan-2-ol (*sec*-butílico), butan-1-ol (butílico) e propan-1-ol (propílico) (VILELA et al., 2007).

## 2.8. Contaminantes

Durante a cadeia produtiva das aguardentes, alguns compostos indesejados podem ser formados e estar presentes na bebida, os quais podem trazer algumas características sensoriais indesejáveis ou até mesmo risco à saúde. Os contaminantes em cachaça são divididos em orgânicos e inorgânicos (CARDOSO, 2020).

Entre os contaminantes orgânicos, citam-se o metanol, acroleína, carbamato de etila, HPA's, acroleína, furfural e o hidroximetilfurfural que são indesejáveis na constituição da bebida por causarem danos à saúde.

No processo de produção da cachaça, o pH ácido em conjunto com a alta temperatura do mosto, resultam na desidratação de carboidratos (açúcares) que dão origem ao furfural, hidroximetilfurfural e outros compostos. As pentoses formam a molécula de furfural, ao passo que as hexoses dão origem ao hidroximetilfurfural (CARDOSO, 2020; MASSON et al., 2007).

A queima do canavial para a realização da colheita manual é fonte de contaminação dessas moléculas, o aquecimento realizado causa a desidratação dos carboidratos. Além disso, outros fatores, como a adição de caramelo e pirogenização da matéria orgânica depositada no fundo dos alambiques, também podem contribuir para o aumento no teor desses componentes, sendo que uma das vias de formação desses compostos está relacionada com a reação de um açúcar redutor e um aminoácido ou uma proteína (Reação de Maillard) (MASSON et al., 2007 e ZACARONI et al., 2011).

Outro aldeído importante em bebidas destiladas é o prop-2-enal (acroleína), formada pela desidratação do glicerol durante a destilação; sua presença em aguardente é indesejável devido ao seu forte odor pungente. A intoxicação por aldeídos pode levar a sérios problemas relacionados com sistema nervoso central (CARDOSO, 2020; MASSON et al., 2007).

O metanol (álcool metílico) é um álcool particularmente indesejável na aguardente, já que esse composto é um álcool de apenas um carbono e alta volatilidade. Sua principal via de formação está ligada com a degradação da pectina, um polissacarídeo presente na cana-de-açúcar. Aguardentes e outras bebidas fermentadas de frutas, sucos e polpa ricos em pectinas podem apresentar altos teores do metanol (CARDOSO, 2020).

A molécula de pectina é um polímero formado pela associação de monômeros de ácidos galacturônicos, que quando degradados durante o processo de fermentação, liberam moléculas de metanol. Quando em contato com o organismo, o metanol é oxidado a ácido fórmico e, posteriormente, a CO<sub>2</sub>, provocando uma acidose grave (diminuição do pH sanguíneo por excesso de CO<sub>2</sub> no tampão sanguíneo), afetando o sistema respiratório. Em grandes quantidades, pode intoxicar e levar ao coma e à morte. Sua ingestão, mesmo em quantidades reduzidas, por longos períodos, pode ocasionar danos à visão e morte (CARDOSO, 2020).

O carbamato de etila (CE) é um contaminante que vem sendo largamente estudado, quanto à via de formação e às formas de quantificação. Esse é um composto carcinogênico encontrado em bebidas alcoólicas e em outros alimentos fermentados (SANTIAGO et al., 2014). A quantificação desse composto é parte importante por questões de saúde pública, e para a exportação da bebida (ANJOS et al., 2011). A legislação brasileira fundamentada pela Instrução Normativa nº 28 de 08/08/2014 define como o limite máximo dessa substância em 210 µg L<sup>-1</sup>.

A via de formação do CE ainda é uma questão de debate e de pesquisas; acredita-se que sua formação é decorrente da degradação enzimática da arginina em ureia, pelo metabolismo das leveduras durante o processo fermentativo, a qual reage com etanol produzindo o carbamato de etila. A sua formação é favorecida pela presença de precursores nitrogenados durante o processo de destilação e por altas temperaturas, resultante do mau dimensionamento do sistema de destilação ou operação com níveis de refluxo impróprios (POLASTRO et al., 2001; BRUNO et al., 2007).

Os contaminantes inorgânicos encontrados nas aguardentes são principalmente os íons metálicos, como o cobre, chumbo e o arsênio. Dentre os metais encontrados na cachaça, o cobre recebe maior destaque. O metal é utilizado na confecção dos alambiques de destilação, sendo essa a principal fonte da sua origem. O teor máximo de cobre permitido pela legislação brasileira é de 5 mg L<sup>-1</sup> (BRASIL, 2005a).

Na produção da cachaça, acredita-se que ele contribui na eliminação de certos odores desagradáveis, observados em aguardentes destiladas em alambiques confeccionados com



materiais nos quais ele não está presente, como por exemplo, as colunas de aço inox. O que se observa é que a limpeza cuidadosa dos alambiques após o procedimento de alambicagem tende a reduzir consideravelmente os problemas de excesso de cobre nas aguardentes, uma vez que grande parte da contaminação ocorre pelo carbonato básico de cobre. Esse composto, que é formado no interior do alambique, é solúvel em meio aquoso, sendo assim, incorporado à cachaça (LIMA et al., 2006; CARDOSO, 2020).

A equação de formação desse composto (1), está expressa abaixo:



Equação 1 - Formação do carbonato básico de cobre.

A absorção do cobre na digestão ocorre por meio das paredes do estômago e do intestino delgado, sendo quantidades excessivas do metal excretadas na urina, fluxo menstrual e fezes na forma iônica. Alterações nos níveis de cobre no organismo podem causar dois distúrbios conhecidos como a hiper (excesso do metal nos tecidos) ou hipocupremia (baixo nível do metal nos tecidos) (DUARTE et al., 2012; DELGADINHO, 2014).

Quando em excesso no organismo, ele apresenta afinidade com moléculas que possuem grupos funcionais aminas e sulfidrilas, presentes em proteínas e enzimas. A degradação dessas moléculas por meio das reações com o metal pode acarretar transtornos como epilepsia, melanoma e artrite reumatoide, em alguns casos, Alzheimer. Em alguns casos, intoxicações podem acarretar problemas no fígado (DUARTE et al., 2012; PEDROSA e COZZOLINO, 1999).

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA's) são contaminantes que têm sido amplamente estudados em alimentos, água e bebidas; eles apresentam caráter carcinogênico e sua origem pode estar relacionada com diversas etapas da cadeia produtiva, o controle desse contaminante é de interesse mundial.

## 2.9. Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA's)

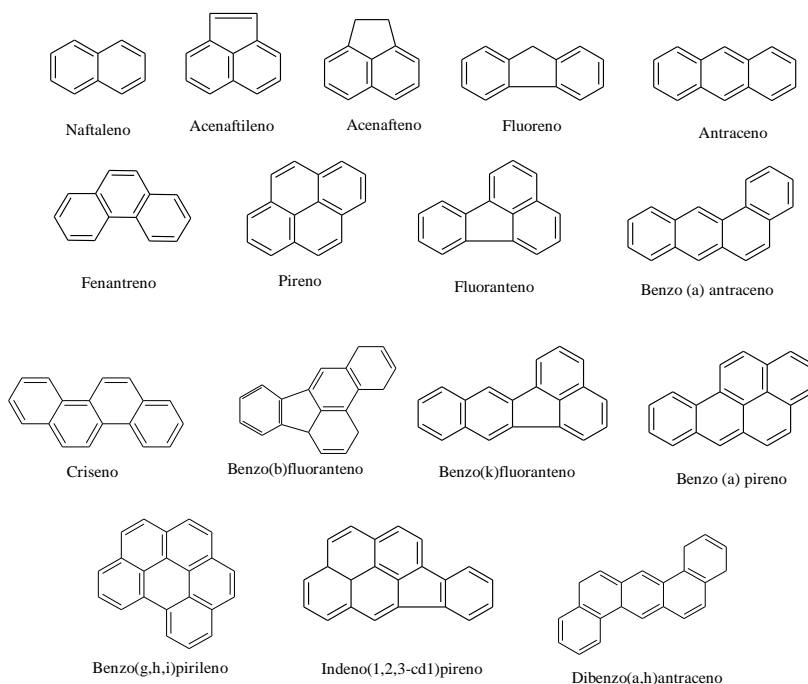
A classe de compostos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA's) é composta por centenas de estruturas químicas já identificadas, as quais já foram encontradas depositadas em diferentes partes do meio ambiente. A via formação desses compostos está associada principalmente com o processo de combustão e aquecimento, gerando-se a energia necessária

para que ocorram reações radiculares entre moléculas menores que se recombinam, originando estruturas mais estáveis (PURCARO et al., 2016; SOUZA, 2019).

## 2.10. Propriedades físico-químicas

Os HPA's apresentam estruturas cíclicas compostas por átomos de carbono e hidrogênio unidas por ligações  $\sigma$  e  $\pi$ . As duplas ligações presentes nas moléculas encontram-se de forma conjugada, e junto a outros fatores conferem aromaticidade ao composto. As estruturas são formadas por pelo menos dois ciclos aromáticos, sendo o representante mais simples da classe o naftaleno. A Figura 3 apresenta as estruturas químicas de alguns exemplos de HPA's (PURCARO et al., 2016; SOUZA, 2019).

Figura 3 – Estruturas de alguns hidrocarbonetos policíclicos aromáticos.



Fonte: Do autor

As temperaturas de ebulição dessas moléculas são superiores aos alcanos de massa equivalente; além disso, são pouco solúveis em solventes polares, demonstrando grande afinidade lipofílica. A maioria desses compostos com mais de três anéis são encontrados na forma sólida no meio ambiente; estruturas com dois ou três anéis são encontrados principalmente em sua forma gasosa. O aumento da massa desses compostos os torna menos solúveis em água e menos voláteis. No Quadro 2, é possível observar o exemplo de alguns HPA's, suas respectivas massas molares, solubilidade em água, temperaturas de fusão e ebulição (PURCARO et al., 2016).

Quadro 2 – Exemplos de HPA's e seus dados de massa molar e solubilidade.

HPA's	Massa Molar (g/mol)	Temperaturas (°C)		Solubilidade em água a 25°C (µg/L)
		Fusão	Ebulição	
Naftaleno	128	149	360	12500-34000
Acenaftileno	152	92	297	3420
Acenafteno	154	92	265	0
Fluoreno	166	116	293	800
Antraceno	178	216	340	59
Fenantreno	178	101	340	435
Pireno	202	149	360	133
Fluoranteno	202	111	-	260
Benzo(a)antraceno	228	158	400	11
Criseno	228	265	-	1,9
Benzo(b)fluoranteno	252	167	-	2,4
Benzo(k)fluoranteno	252	217	480	0,8
Benzo(a)pireno	252	179	496	3,8
Benzo(g,h,i)perileno	276	222	-	0,3
Indeno(1,2,3-cd)pireno)	276	163	-	62
Dibenzo(a,h)antraceno	278	262	-	0,4

Fonte: adaptado de (Purcaro et al., 2016 e Souza, 2019).

As estruturas químicas desses compostos lhes conferem alta estabilidade, devido ao constante compartilhamento de elétrons pelos orbitais  $\pi$  em ressonância. As moléculas apresentam propriedades aromáticas (respeitando regra de Huckel, forma cíclica, ressonância e estrutura plana). As interações intermoleculares nessas moléculas são as de natureza  $\pi$ - $\pi$  que são facilmente interrompidas para a geração de novos produtos, conferindo uma maior reatividade das moléculas no meio onde são encontradas (MACHADO, et al. 2014; PURCARO, et al. 2016).

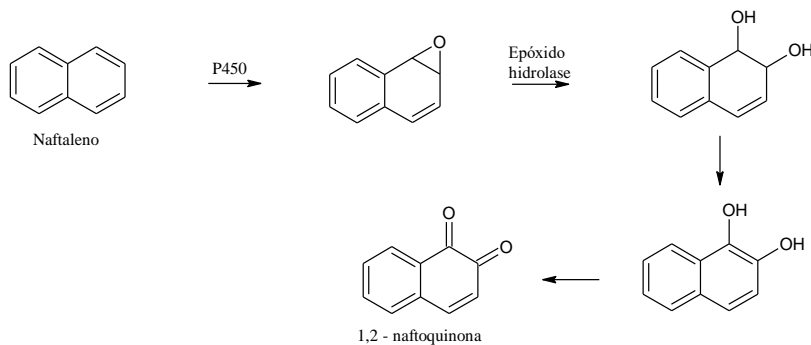
Existem diversos mecanismos reacionais indicando a dispersão desses compostos no solo, causando a contaminação de lençóis freáticos. Na atmosfera, esses compostos podem interagir com gases, como o ozônio, e serem transportados por grandes distâncias, ou até deteriorados pela alta incidência de radiação UV (PURCARO et al., 2016).

### 2.10.1. Toxicidade

O contato do ser humano com essas moléculas ocorre por diversos meios, já que esses compostos se encontram depositados no solo, ar, água e conseqüentemente em alimentos. A contaminação de alimentos por ocorrer devido à exposição da matéria-prima em ambiente contaminado, ou durante processos industriais realizados de maneira inadequada (BASAL; KIM, 2015; SOUZA, 2019).

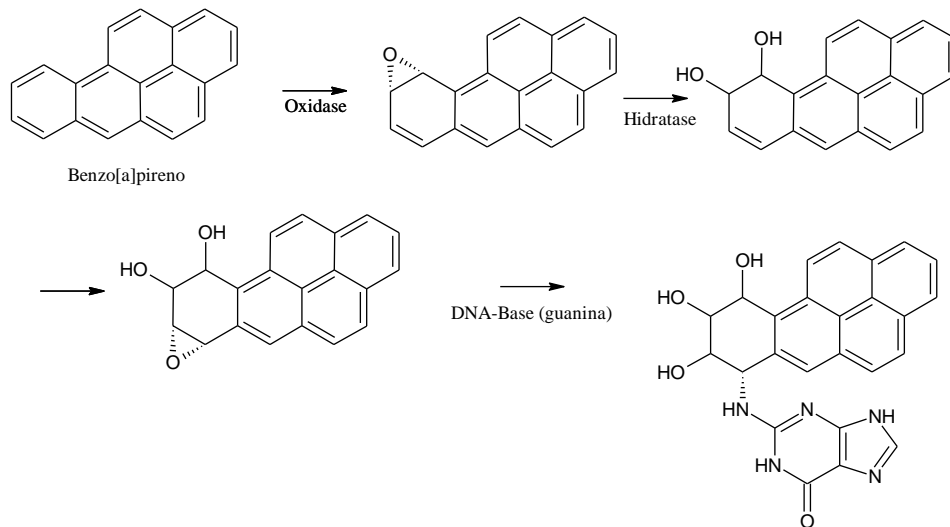
A exposição do ser humano aos HPA's causa preocupação, sendo fonte de estudos pelo fato de esses compostos estarem associados a riscos para a saúde. Em contato com o organismo, as moléculas podem sofrer reações enzimáticas complexas, formando-se regiões eletrofílicas por meio de diversas reações, levando à formação de epóxidos, fenóis e di-hidrióis. O mecanismo para o naftaleno é mostrado na Figura 4. Por sua vez, esses produtos podem interagir diretamente com o DNA e RNA (Figura 5), iniciando-se mutações nas células que se multiplicam, originando diferentes tipos de câncer, e as ligações químicas ocorrem no grupo amino da guanina ou adenina. (BERNARDO et al., 2016; CACHO et al., 2016).

Figura 4 – Reação do naftaleno com enzimas que formam produto com caráter carcinogênico.



Fonte: Adaptado de Bernardo et al., 2016.

Figura 5 – Reação do Benzo[a]pireno com enzimas e fragmento de DNA.



Fonte: Adaptado de Souza (2019).

O controle de quantificação e identificação desses compostos em produtos é abordado pela legislação de diversos países. São controlados diferentes tipos de alimentos e bebidas e um número diversificado de HPA's. No Brasil, têm-se apenas portarias e resoluções normativas da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) para benzo(a)pireno em alimentos defumados ( $0,03 \mu\text{g}/\text{Kg}$ ), água envasada e gelo ( $0,7 \mu\text{g}/\text{L}$ ) e azeite de oliva ( $2,0 \mu\text{g}/\text{kg}$ ) (Anvisa, 2003, 2005, 2007).

A Agência de Proteção Ambiental dos EUA e a União Europeia listam 16 compostos como poluentes prioritários: naftaleno, acenafteno, acenaftileno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, benzo (b) fluoranteno, benzo (k) fluoranteno, benzo (a) antraceno, criseno, benzo (a) pireno, indeno (1,2,3) pireno, dibenzo (a, h) antraceno e benzo (g, h, i) perileno (SINGH; AGARWAL, 2018).

### 2.10.2. Formação de HPA's

A formação de HPA's tem como principal fonte a combustão incompleta de material orgânico por meio de mecanismos de reação de produtos da pirólise (pequenas moléculas instáveis e/ou radicais formados reagem formando estruturas aromáticas). Como a temperatura da queima é determinante no tipo de HPA formado; temperaturas mais baixas favorecem a formação de HPA's de dois a cinco anéis. Acima dos  $500^\circ\text{C}$ , são favorecidas a formação de HPA's com estruturas maiores e mais complexas (MACHADO, et al. 2014).

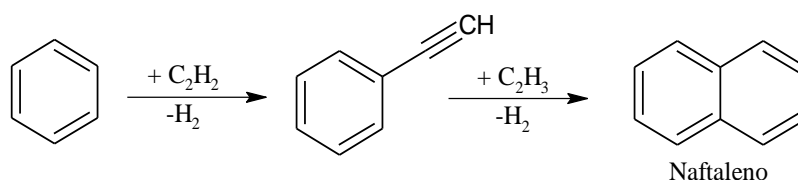
Durante a combustão desses compostos orgânicos, são formados diferentes produtos, eles sendo em maioria radicais muito reativos. As principais estruturas formadas durante a pirólise com até dois carbonos (eteno e etino) são conhecidos como principais formadores de

HPA's, pois eles são responsabilizados pela aceleração da reação de formação devido à sua alta concentração (SHUKLA e KOSHI, 2012).

As moléculas de eteno sofrem autodecomposição a 860,85 °C, sendo formados radicais vinila responsáveis pela formação do 1,3-butadieno. No decorrer da reação, por meio da eliminação de hidrogênios, o 1,3-butadieno pode ser convertido em vinil acetileno, molécula que também pode ser formada a partir da pirólise do etino por mecanismos radiculares. O benzeno pode ser formado nesse momento da reação a uma temperatura de 1003,85 °C por meio de uma condensação de Diels-Alder entre 1,3-butadieno e eteno. Ainda durante o aumento de temperatura em 1073,85 °C, por meio da desidrogenação do 1,3-butadieno, forma-se o diacetileno, molécula de extrema importância para o aumento das cadeias de HPA's (MARTINGULLON; ESPERANZA E FONT, 2001; SHUKLA E KOSHI, 2012).

O principal mecanismo de formação dos HPA's, considerada nesse momento, é a reação entre um composto aromático (benzeno formado na etapa anterior), reagindo com um radical acetileno, provocando a abstração do hidrogênio molecular. Em uma segunda etapa, outra molécula de acetileno pode ser adicionada ao anel, resultando no fechamento de uma nova estrutura cíclica (Figura 5): a formação do naftaleno. A reação pode se repetir continuamente, gerando moléculas com mais ciclos aromáticos (LEMMENS et al. 2020; ZHOU et al., 2015).

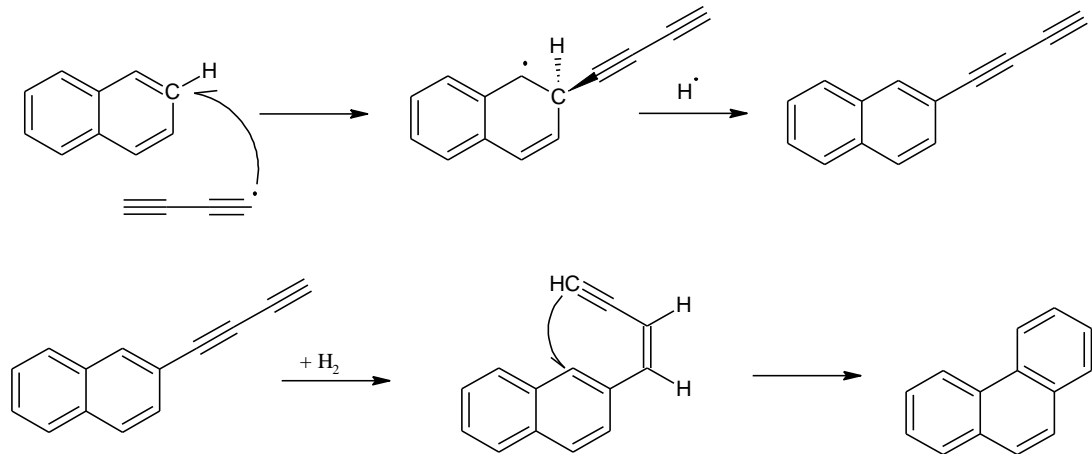
Figura 6 - Reação entre um composto aromático com um radical acetileno



Fonte: Adaptado de ZHOU et al., 2015.

Apesar de ser, a proposta mais aceita atualmente, o mecanismo apresentado anteriormente se limita a formação de HPA's de até 3 ciclos; nesse ínterim, outra proposta interessante leva em consideração a reação do naftaleno com o diacetileno, formando-se o fenantreno (Figura 7). O diacetileno radicalar reage com o anel aromático por meio da eliminação de um hidrogênio, a cadeia lateral então sofre uma redução em uma das triplas ligações, e finalmente os elétrons  $\pi$  da tripla ligação da extremidade da cadeia acessam o orbital p antiligante do naftaleno, estabelecendo uma nova ligação  $\sigma$ , mantendo a aromaticidade do sistema (LEMMENS et al. 2020).

Figura 7 – Reação do Naftaleno com o diacetileno.



Fonte: adaptado de Lemmens et al. 2020.

Os plásticos são amplamente utilizados na sociedade, sendo encontrados em diversos lugares na forma de embalagens ou de produtos. O baixo preço e resistência mecânica alta desses polímeros os tornaram uma preferência em comparação às embalagens de vidro. O polímero mais utilizado nessa área tem sido o PET (politereftalato de etileno). Após a utilização, esses plásticos podem ser reciclados; entretanto, muitas vezes seu descarte é realizado de maneira incorreta no meio ambiente (TOMSEJ, et al., 2018).

Em um estudo realizado por Zhou e colaboradores (2015), foi observado que a incineração desses materiais plásticos encontrados em frações de lixo de uma cidade tinha influência direta na quantidade de HPA's formados, tendo a fração de PET utilizada gerado um maior número de HPA's. Além disso, nesse mesmo estudo, em busca de mecanismos de formação dessas moléculas, o autor associa uma maior formação de HPA's à incineração de compostos que possuam benzenos em sua estrutura. De acordo com o autor, a presença de benzenos (como ocorre no PET) pode facilitar e acelerar a formação de HPA's por meio do mecanismo *Hydrogen Abstraction Acetylene Addition* (HACA) apresentado na Figura 5.

Martin-Gullon, Esperanza e Font (2001), investigando o modelo cinético para pirólise e combustão de PET, encontraram como os principais HPA's na degradação térmica: bifenil, naftaleno, fenantreno, metilantraceno e terfenil.

Pesquisas realizadas por Zolfagharpour e colaboradores (2020) sobre a geração de HPA's de 4 a 6 anéis na pirólise de resíduos médicos (compostos na maioria por plásticos e papel) observaram influência direta no aumento da concentração de HPA's com o aumento da temperatura de pirólise de 300 para 700 ° C, sendo o resíduo composto por (% em peso) plástico

(39,3); papel (11,15); têxtil (23,8); vidro / partículas afiadas (22,7); outros (3,05). A maior concentração de HPA's no estudo foi de 1148 mg/kg na temperatura de 525°C.

### **2.11. HPA's em alimentos e bebidas**

Os alimentos podem ser contaminados por diferentes fontes durante o processo de produção, e as rotas para contaminação incluem água e solo contaminados, queima agrícola, contato com óleos minerais, como graxas de aparelhos, práticas de processamento (cozimento, fritura e outros) e embalagens. Os processamentos industriais térmicos em alimentos e embalagens podem ser uma das principais fontes de contaminação de alimentos por HPA's; materiais queimados ou a fumaça proveniente desse processo são fontes diretas de contaminação (BASAL; KIM, 2015; SINGH; AGARWAL, 2018).

Singh, Agarvel et al (2018) citam que as contaminações de diferentes tipos de alimentos por moléculas de HPA's são encontrados em derivados de leite, óleos, bebidas, cereais, chás e cafés.

Os teores de HPA's em cachaças têm concentrações variáveis. Para os destilados, são encontrados maiores quantidades os que possuem maior massa molar. A contaminação da bebida pode ser decorrente das diferentes etapas de produção, como a região de plantio e a água utilizada no preparo da cana, óleos e graxas provenientes das moendas, o processo de envelhecimento em tonéis com tratamento térmico e o armazenamento do destilado em recipientes de plástico, como bombonas de PET de baixa e alta densidade (BETTIN; FRANCO, 2005; MACHADO, 2014; PURCARO et al., 2016; SOUZA, 2019).

Tfouni e colaboradores (2007), pesquisando a concentração de HPA's em amostras de caldo de cana, observaram que a queima da cana-de-açúcar na pré-colheita aumentou a concentração dessas substâncias no suco. Atualmente, a técnica de queima de canavial é proibida por causar danos à saúde do consumidor e ao meio ambiente.

Menezes e colaboradores (2015) analisaram 29 amostras de cachaça de alambique do estado de Minas Gerais, e encontraram concentrações médias de HPA's de 0,14  $\mu\text{g L}^{-1}$  de fluoranteno, 5,77  $\mu\text{g L}^{-1}$  de dibenzo [ a, h ] antraceno e 0,77  $\mu\text{g L}^{-1}$  de Naftaleno. Além disso, dois compostos (fenantreno e fluoranteno) foram quantificados em 93% das amostras de cachaça.

Da Silva e colaboradores (2018), estudando a padronização de método de QuEChERS Modificado para quantificação de HPA's e pesticidas, utilizaram 5 amostras de cachaça e todas as amostras comerciais foram positivas à contaminação por HPA's na faixa de 2 a 4  $\mu\text{g L}^{-1}$ .



Pesquisando diferentes embalagens para armazenamento, Machado et al., (2014) avaliaram a presença de 16 HPA's em cachaças em garrafas de vidros e em bombonas de polietileno de alta densidade (PEAD) e observaram a presença de 13 HPA's nas amostras armazenadas em bombonas, enquanto nas amostras acondicionadas em vidros, somente 3 HPAs foram identificados.

Souza (2019) avaliou a concentração de HPA's em cinco amostras de cachaças em diferentes garrafas PET, em dois períodos de tempo de armazenamento. Após quatro e oito meses de armazenamento em garrafas PET, o autor observou alterações na qualidade físico-química da bebida e na concentração de HPA's. As amostras armazenadas por 8 meses em embalagens PET apresentaram maiores concentrações de HPA's em todas as marcas de cachaça analisadas, em comparação às amostras armazenadas por 4 meses e em garrafas de vidro.

## **2.12. Embalagens poliméricas**

O envase da cachaça para sua comercialização é uma das últimas etapas da produção, devendo ser realizado seguindo boas práticas de fabricação, garantindo a limpeza e qualidade. A utilização de embalagens poliméricas tem sido uma alternativa encontrada pelos produtores para diminuir o custo, em comparação com as garrafas de vidro. Além do uso em bebidas alcoólicas, as garrafas PET têm sido empregadas nos mais diferentes tipos de alimentos e bebidas, como água, refrigerantes, iogurtes, grãos, massas, farinhas e outros. Os materiais poliméricos ganham destaque e preferência na indústria por sua versatilidade, durabilidade e maior resistência ao transporte (NERIN, 2016; SOUZA, 2019).

Entretanto, os polímeros têm sido testados e estudados em diversos centros de pesquisa pelo mundo, a contaminação de alimentos por substâncias presentes na superfície desses materiais tem preocupado os pesquisadores devido à alta toxicidade dos elementos encontrados. Alguns dos compostos são provenientes do método de produção dos plásticos, podendo interagir com o alimento, causando transformações. Carneado e colaboradores (2017) identificaram a formação de um novo complexo de antimônio encontrado em bebidas alcoólicas destiladas armazenadas em garrafas PET. Os autores observaram também que as variações do tempo de contato e as condições de exposição de temperatura influenciam diretamente no aumento da concentração do composto na bebida.

Machado et al. (2014) e Souza (2019), pesquisando o armazenamento de cachaça em diferentes tipos de garrafa observaram um aumento na concentração de HPA's devido ao aumento no tempo de armazenamento da bebida em garrafas PET e bombonas PEAD.

## REFERÊNCIAS

- Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 2, de 15 de janeiro de 2007. **Regulamento Técnico sobre Aditivos Aromatizantes.**
- Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada RDC no 274, de 22 de janeiro de 2005. **Regulamento técnico para águas envasadas e gelo.**
- Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada RDC no 281, de 06 de outubro de 2003. **Regulamento técnico para procedimento de importação para "aceite de orujo de oliva" ou óleo de bagaço e ou caroço de oliva.**
- ALCARDE, A. R. **Cachaça: ciência, tecnologia e arte.** Editora Blucher, 2017.
- ANDRADE, L. A. B. Cultura da cana-de-açúcar. In: CARDOSO, M. G. **Produção de aguardente de cana. 3 ed.** Lavras: Editora da UFLA, p. 25- 55., 2013.
- ANJOS, J. P.; CARDOSO, M. G. ; SACZK, A. A. ; ZACARONI, L. M. ; SANTIAGO, W. D. ; DÓREA, H. S. ; MACHADO, A. M. R. Identificação do carbamato de etila durante o armazenamento da cachaça em tonel de carvalho (*Quercus* sp.) e recipiente de vidro. **Química Nova**, São Paulo, V. 34, No. 5, 874-878, 2011.
- AQUARONE, E. et al. **Biotecnologia industrial: na produção de alimentos.** São Paulo: Editora Blucher, v. 4, 525 p. 2005.
- BASAL, V.; KIM, K. H. Review of PAH contamination in food products and their health hazards. **Environment International**, v. 84, p. 26-38, 2015.
- BERNARDO, D. L. et al. Carcinogenicity of polycyclic aromatic hydrocarbons. **Química Nova**, v. 39, p. 789-794, 2016.
- BETTIN, S. M.; FRANCO, D. Wagner. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em aguardentes. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 2, p. 234-238, 2005.

BORTOLETTO, A. M., Influência da madeira na qualidade química e sensorial da aguardente de cana envelhecida. **Tese de Doutorado**. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz - 2016.

BORTOLETTO, Aline Marques; SILVELLO, Giovanni Casagrande; ALCARDE, André Ricardo. Good manufacturing practices, hazard analysis and critical control point plan proposal for distilleries of cachaça. **Scientia Agricola**, v. 75, n. 5, p. 432-443, 2018.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Instrução normativa n.13**, de 29 de junho de 2005a.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Instrução Normativa nº 15**, de 31 de março de 2011.

BRASIL, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento; **Instrução Normativa nº 28**, de 11/08/2014. BRASIL, Diário Oficial da União, Seção I, p. 3-3, de 12/08/2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **A cachaça no Brasil: dados de registro de cachaças e aguardentes ano 2021**, 2021.

BRUNO, S. N. F. et al. Influence of the distillation processes from Rio de Janeiro in the ethyl carbamate formation in Brazilian sugar cane spirits. **Food Chemistry**, London, v. 104, n. 4, p. 1345-1352, 2007.

CACHO, J. I. et al. Evaluation of the contamination of spirits by polycyclic aromatic hydrocarbons using ultrasound-assisted emulsification microextraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry. **Food Chemistry**, v.190, p.324-330, 2016.

CARDOSO, M. G. Análises físico-químicas de aguardente. In: CARDOSO, M. G. **Produção de aguardente de cana. 4 ed.** Lavras: Editora UFLA, 2020

CARNEADO, S. et al.. Antimony speciation in spirits stored in PET bottles: Identification of a novel antimony complex. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 32, n. 6, p. 1109-1118, 2017.

DA SILVA, Mariana C. et al. Simultaneous extraction of pesticides and polycyclic aromatic hydrocarbons in Brazilian cachaça using a modified QuEChERS method followed by gas chromatography coupled to tandem mass spectrometry quantification. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 67, n. 1, p. 399-405, 2018.

DATO, M. C. F.; JÚNIOR, J. M. P.; MUTTON, M. J. R. Análise dos componentes secundários produzidos por *Saccharomyces cerevisiae* e leveduras selvagens durante a produção de cachaça. **Brazilian Journal Microbiology**. São Paulo, v. 36, n. 1, jan./mar. 2005.

DELGADINHO, M. J. C. Distúrbios do metabolismo do cobre, ferro e zinco. **Tese de Doutorado**, 2014.

DIAS, S. M. B. C.; MACHADO, A. M. R. Destilação In: CARDOSO, M. G. **Produção de aguardente de cana. 4 ed.** Lavras: Editora da UFLA, p. 120 - 168. 2020.

DUARTE, F. C. et al. Physicochemical and sensory changes in aged sugarcane spirit submitted to filtering with activated carbon filter. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 32, n. 3, p. 471-477, jul./set. 2012.

GALINARO, C. A.; CARDOSO, D. R.; FRANCO, D. W. Profiles of polycyclic aromatic hydrocarbons in brazilian sugar cane spirits: discrimination between cachaças produced from nonburned and burned sugar cane crops. **Journal Agriculture Food Chemistry** ., v. 55, n. 8, p. 3141-3147, 2007.

LIMA, A. J. B.; CARDOSO, M. G.; GUERREIRO, M. C.; PIMENTEL, F. A. Emprego do carvão ativado para remoção de cobre em cachaça. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 247-250, 2006.

LEMMENS, A. K.; RAP, D. B.; THUNNISSEN, J. M. M. et al. Química da formação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos em jato de plasma revelada por espectroscopia de ação por IR-UV. **Nat Commun** 11, 269, 2020.

MACHADO, A. M de R. et al. Contamination of cachaça by PAHs from storage container. **Food Chemistry**, v.146, p. 65-70, 2014.

MAGALHÃES, D.; BRUNS, R. E.; VASCONCELLOS, P. C. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos como traçadores da queima de cana-de-açúcar: uma abordagem estatística. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 577-581, 2007.

MARTIN-GULLON, I.; ESPERANZA, M.; FONT, R. Kinetic model for the pyrolysis and combustion of poly-(ethylene terephthalate)(PET). **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 58, p. 635-650, 2001.

MASSON, J.; CARDOSO, M. G.; VILELA, F. J.; PIMENTEL, F. A.; MORAIS, A. R.; ANJOS, J. P. Parâmetros físico-químicos e cromatográficos de aguardentes de cana queimada e não queimada. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 6, p. 1805-1810, 2007.

MATTOS, D. S.; L. MARGARIDO, A. C.; CECCATO-ANTONINI, S. R. Influence of sugarcane variety and management on the mineral composition of vinasse from alembic cachaça. **Acta Scientiarum - Technology**, 40, 2018.

MENEZES, Helvécio C. et al. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in artisanal cachaça by DI-CF-SPME-GC/MS. **Microchemical Journal**, v. 118, p. 272-277, 2015.

MIRANDA, M. B.; HORII, J.; ALCARDE, A. R. Estudo do efeito da irradiação gamma ( $^{60}\text{Co}$ ) na qualidade da cachaça e no tonel de envelhecimento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 4, p. 772-778, out./dez. 2006.

MOSEDALE, J. R.; PUECH, J.-L. Wood maturation of distilled beverages. **Trends in Food Science & Technology**, v. 9, n. 3, p. 95-101, 1998.

MOTA, M. F. G. C.; MENDONÇA, H. A.; VEIGA, J. F. Equipamentos para Produção e Controle de Operação da Fábrica De Cachaça. In: CARDOSO, M. G. **Produção de aguardente de cana. 4 ed.** Lavras: Editora da UFLA, p. 67- 90., 2020.

NERIN, C. *Plastics and Polymers for Food Packaging Manufacturing*. Elsevier, 2016.  
**Nova**, v. 39, n. 7, p. 789-794, 2016.

PEDROSA, L. F. C.; COZZOLINO, S. M. F. Alterações metabólicas e funcionais do cobre em diabetes mellitus. **Revista Nutrição**, Campinas, v. 12, n.3, p. 213-224, set./dez. 1999.

PEREIRA, N. E.; CARDOSO, M. G.; AZEVEDO, S. M.; MORAIS, A. R.; FERNANDES, W.; AGUIAR, P. M. Compostos secundários em cachaças produzidas no Estado de Minas Gerais. **Ciência Agro tecnologia.**, v. 27, n. 5, p. 1068-1075, 2003.

PIMENTEL, G. V.; ANDRADE, L. A. B. Cultura da cana-de-açúcar. In: CARDOSO, M. G. **Produção de aguardente de cana. 4 ed.** Lavras: Editora da UFLA, p. 27- 63., 2020.

POLASTRO, L. R.; BOSO, L. M.; ANDRADE-SOBRINHO, L. G.; LIMA-NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Compostos nitrogenados em bebidas destiladas: cachaça e tiquira. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 21, n. 1, p. 78-81, 2001.

PURCARO, G., MORET, S., & CONTE, L. S. **Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. Encyclopedia of Food and Health**, 406–418, 2016.

RODRIGUES, L. M. A.; CARDOSO M.G.; SANTIAGO, W.D.; BARBOSA R. B.; SANTIAGO, J. A. LIMA, L. M. Z.; NELSON, D. L. Organic contaminants in distilled sugar cane spirits produced by column and copper alembic distillation. **Research, Society And Development**, v. 9, p. 930974879, 2020.

SANTIAGO, W. D., et al. Comparação do perfil físico-químico de cachaças envelhecidas em tonéis de carvalho (*Quercus* sp) e amburana (*Amburana cearensis*). **e-xacta**, v. 7, n. 2, p. 17-29, 2014.

SANTIAGO, W. D., Perfil físico-químico, compostos voláteis, carbamato de etila e compostos fenólicos de cachaças armazenadas em tonéis recém-confeccionados de carvalho e madeiras nativas brasileiras – **Tese de Doutorado** Lavras: UFLA, 2016.

SCHWAN, R. F.; DIAS D. R. Fermentação In: CARDOSO, M. G. **Produção de aguardente de cana. 4 ed.** Lavras: Editora da UFLA, p. 93 - 119. 2020.

SERAFIM, F. A. T. et al . Comparação do perfil químico entre cachaças de um mesmo vinho destiladas em alambiques e em colunas. **Química Nova**, São Paulo, v.35, n.7, p.1412-1416, 2012.

SHUKLA, Bikau; KOSHI, Mitsuo. A novel route for PAH growth in HACA based mechanisms. **Combustion and flame**, v. 159, n. 12, p. 3589-3596, 2012.

SINGH, Lochan; AGARWAL, Tripti. Polycyclic aromatic hydrocarbons in diet: Concern for public health. **Trends in Food Science & Technology**, v. 79, p. 160-170, 2018.

SMITH, J. M.; NESS, H. C. Van.; ABBOTT, M. M. **Introdução à Termodinâmica da Engenharia Química**. 5ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, cap 12, p. 390-95, 2000.

SOUZA, P. P. et al. Determination of volatile compounds in Brazilian distilled cachaça by using comprehensive two-dimensional gas chromatography and effects of production pathways. **Journal of Chromatography, A**, Amsterdam, v. 1216, n. 14, p. 2881–2890, Apr. 2009.

SOUZA, R. H. Z., Análises físico-químicas, identificação e quantificação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em cachaças envasadas s em garrafas de poli tereftalato de etileno. **Dissertação de Mestrado** - 2019.

TFOUNI, S. A. V.; VITORINO, S. H. P.; TOLEDO, M. C. F. Efeito do processamento na contaminação de cana-de-açúcar e derivados por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 1, p. 76-82, 2007.

TOMSEJ, Tomas et al. The impact of co-combustion of polyethylene plastics and wood in a small residential boiler on emissions of gaseous pollutants, particulate matter, PAHs and 1, 3, 5-triphenylbenzene. **Chemosphere**, v. 196, p. 18-24, 2018.

VEIGA, J. F. Equipamentos para produção e controle de operação da fábrica de cachaça. In: CARDOSO, M. G. **Produção de aguardente de cana. 3 ed.** Lavras: Ed. UFLA, p.61, 2013.

VILELA, F. J. et al. Determinação das composições físico-químicas de cachaças do Sul de Minas Gerais e de suas misturas. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 4, p. 1089-1094, jul./ago. 2007.

WARREN-VEGA, Walter M. et al. Caracterização química do processo de maturação da tequila e sua relação com as propriedades físico-químicas do barril. **Journal of Food Composition and Analysis** , v. 98, p. 103804, 2021.

ZACARONI, L. M.; CARDOSO, M. G.; SACZK, A. A.; SANTIAGO, W. D.; ANJOS, J. P.; MASSON, J.; DUARTE, F. C.; NELSON, D.L. Caracterização e quantificação de contaminantes em aguardentes de cana. **Química Nova**, São Paulo, v. 34, p. 320-324, 2011.

ZHOU, Hui et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) formation from the pyrolysis of different municipal solid waste fractions. **Waste Management**, v. 36, p. 136-146, 2015.

ZOLFAGHARPOUR, Hamid Reza et al. Influência da temperatura, tamanho dos resíduos e tempo de permanência na geração de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos durante a rápida pirólise de resíduos médicos. **Jornal Cáspio de Ciências Ambientais**, p. 1-11, 2020.



**SEGUNDA PARTE – ARTIGO 1**

## **Artigo 1 - Quantificação de HPA's, carbamato de etila e Perfil Físico-químico em amostras de cachaça comercializadas em embalagens PET**

### **Cachaça sold in PET packaging: determination of the physical-chemical profile, PAHs and ethyl carbamate**

RICHARD BISPO BARBOSA; WILDER DOUGLAS SANTIAGO; GABRIELA FONTES ALVARENGA; RENAN ELLAN DA SILVA OLIVEIRA; VANUZIA RODRIGUES FERNANDES FERREIRA; DAVID LEE NELSON; MARIA DAS GRAÇAS CARDOSO.

#### **RESUMO**

A produção de cachaça no Brasil é uma prática histórica e cultural que vem ganhando cada vez mais espaço no setor comercial. O setor passa por mudanças na comercialização do seu produto, desde novos rótulos, derivados e diferentes tipos de embalagens para a bebida. As embalagens poliméricas PET têm sido utilizadas por alguns produtores, devido seu menor custo e maior durabilidade para o transporte. Neste trabalho pesquisou a influência do armazenamento de 15 amostras de cachaças comerciais acondicionadas em embalagens poliméricas. Foram avaliados a qualidade físico química e a presença de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA's) nas bebidas. Os resultados mostraram que 60% apresentaram resultados fora dos Padrões de Qualidade estabelecidos pelo MAPA, sendo que a maioria das amostras apresentou baixos valores de grau alcoólico. Todas as amostras estudadas apresentaram concentrações de HPA's, sendo encontrados valores superiores aos da literatura para cachaças armazenadas em outras embalagens. A contaminação por HPA's pode ser associada aos processos térmicos envolvidos na produção da embalagem. A amostra R12 apresentou a maior concentração do somatório de HPA's, 20,90  $\mu\text{g L}^{-1}$  seguido das amostras R7 (17,23  $\mu\text{g L}^{-1}$ ), R8 (17,61  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) e R9 (17,02  $\mu\text{g L}^{-1}$ ). O valor médio da concentração de HPA's totais foi de 10,91  $\mu\text{g L}^{-1}$ . O Fluoreno foi o HPA encontrado em maior quantidade com concentração de 18,61  $\mu\text{g L}^{-1}$  na amostra R 12.

**Palavras-chave:** Embalagens poliméricas, PET, HPA'S, Cachaça.

## ABSTRACT

The production of cachaça in Brazil is a historical and cultural practice that has been gaining space in the commercial sector. This sector is undergoing changes in the marketing of its product, with new labels, derivatives and different types of packaging for the beverage. PET packaging has been used by some producers because of its lower cost and greater durability for transport. The influence of storage on 15 samples of commercial cachaça packed in polymeric packaging was investigated. The physical-chemical quality and the presence of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH's) in the beverages were evaluated. Of these samples, 60% contained concentrations of components that were outside the limits of the Quality Standards established by Ministry of Agriculture, Livestock and Supply (MAPA), and most of the samples contained low alcohol concentrations. All the samples studied contained concentrations of PAHs higher than those found in the literature for cachaça stored in other types of packages. Contamination by PAHs can be associated with the thermal processes involved in the production of packages. Sample R12 contained the highest total concentration of the PAHs ( $20.90 \mu\text{g L}^{-1}$ ), followed by samples R7 ( $17.23 \mu\text{g L}^{-1}$ ), R8 ( $17.61 \mu\text{g L}^{-1}$ ) and R9 ( $17.02 \mu\text{g L}^{-1}$ ). The mean concentration was  $10.91 \mu\text{g L}^{-1}$ . Fluorene was the PAH found in the largest quantity with a concentration of  $18.61 \mu\text{g L}^{-1}$  in the R12 sample.

## INTRODUCTION

Cachaça is a cultural symbol of Brazil; it has been produced since the colonization period. It was discovered when the slaves who work in the sugar cane mills realized that the leftover sugarcane juice fermented and gave rise to a different beverage. The news quickly reached the sugar mill owners, who improved the techniques for distilling the beverage, giving rise to cachaça. The popularization of the beverage in the country was so great that Portugal banned its production in 1659 because of competition with Portuguese wine. The ban lasted a short time and led to the Cachaça Revolt, which ended the ban by the crown in 1661 (CARDOSO, 2020).

According to the Ministry of Agriculture, Livestock and Supply (MAPA), distilled sugarcane spirits is defined as the beverage produced by distilling sugarcane must. It has an alcoholic strength of 38% to 54% v/v at 20 °C, and as much as 6 g L<sup>-1</sup> of sugar can be added. Cachaça is considered to be the Cane Spirit produced in Brazil, with an alcoholic strength of 38% v/v to 48% v/v at 20 °C, obtained by the distillation of the fermented sugarcane juice with peculiar sensory characteristics, to which up to 6 g L<sup>-1</sup> of sugar can be added (BRAZIL, 2005a).

The beverage has been commercialized in different ways using new types of packaging, labels, and lids. These changes are employed to increase the sales, as well as to reduce packaging costs. The use of glass bottles is the most traditional manner of marketing the beverage; however, the use of polymeric packaging has been an alternative because of its lower cost and durability during storage and transport.

The polymeric packaging used is made of polyethylene terephthalate (PET) (Ethylene Polyterephthalate), which has greater resistance to physical shocks, and different models and sizes exist on the market. Storage, physical changes and beverage packaging have been the subject of research in different areas, such as the presence of different compounds that are considered contaminants and can be associated with migration from the plastic packaging to the beverage.

Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) formed from the degradation of organic molecules in thermal treatments are contaminants found in soil, plants, water and air. The control of the amount of these compounds is a topic of discussion in several countries because of their toxic and carcinogenic character. In thermal processes, radicals are formed from the degradation of organic structures. These radicals can react with one another to form cyclic structures that have high stability. These substances can definitively bind to DNA when in contact with the body and cause changes in cells (LEMMENS et al., 2020; SINGH;

AGARWAL, 2018). During the production of polymeric packaging, thermal processes are used to prepare the raw material and to mold the shape of the packaging. These processes can be associated with the formation of PAHs and, consequently, the contamination of the stored beverage (LEMMENS et al., 2020)

This study sought to elucidate possible ways in which cachaça stored and marketed in PET packaging can be contaminated by PAHs. The discovery of contamination sources and their traceability is an important factor for ensuring that the product reaches the consumer in a safe manner and avoids exposure to unhealthy compounds.

## **MATERIAL AND METHODS**

### **Obtaining samples**

The samples of cachaça sold in 500-mL PET containers were acquired in the local commerce and distribution units in the Southeast region of Brazil. Fifteen samples were obtained from different production units with different production methods (column and alembic), and they were coded from R1 to R15. These samples were sent to the Laboratory of Quality Analysis of Spirits of the Department of Chemistry (DQI) of the Federal University of Lavras (UFLA) in the state of Minas Gerais.

### **Physicochemical analysis of cachaça**

The physicochemical analyses were performed according to the methods established by MAPA (BRAZIL, 2005b), wherein the dry extract, volatile acidity, alcohol concentration, aldehydes, esters, furfural, higher alcohols and copper were quantified in samples of cachaça. Analyses were performed with the beverage before and after the adsorption test.

### **Analysis of Higher Alcohols**

The identification and quantification of higher alcohols was performed according to the method of Vilela et al. (2007) with some modifications. Analysis was performed by gas chromatography (Perkin Elmer, Clarus 580) using a flame ionization detector (FID) under the following experimental conditions: DB-WAX column (30 m x 0.25 mm id, film thickness, 0.25  $\mu\text{m}$ );  $\text{N}_2$  (White Martins, Rio de Janeiro, Brazil) was the carrier gas at a flow rate of 1.4  $\text{mL min}^{-1}$ ; injector temperature: 150  $^{\circ}\text{C}$ ; detector temperature: 170  $^{\circ}\text{C}$ ; volume of sample injected: 1.0  $\mu\text{L}$  diluted; 1:10 split ratio. The temperature program started at 35  $^{\circ}\text{C}$  for four minutes,

increased to 80 °C at a rate of 10 °C min<sup>-1</sup>, held for 1 minute and then increased to 120 °C at a rate of 20 °C min<sup>-1</sup>, where it was held for 1 minute. The temperature was then raised to 140 °C at a rate of 25 °C min<sup>-1</sup> and held for 30 seconds. The total run time was 13.48 min.

HPLC or chromatographic grade standards (butan-2-ol, propan-1-ol, 2-methylpropan-1-ol, butan-1-ol and 3-methylbutan-1-ol (Merck, Darmstadt, Germany) were used. The analytical curve (concentration range) was prepared from a solution with a concentration of 4 g L<sup>-1</sup> in 40% ethanol. The samples were distilled via a simple distillation process and analyzed.

### **Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs)**

The PAHs were identified and quantified by HPLC in a Shimadzu high efficiency liquid chromatograph equipped with two model LC-6AD high pressure pumps, a model DGU-20A3 degasser, a model CBM-20A interface and a model SIL-10AF automatic injector with sampler. The diode array detector (DAD) was used according to the method standardized by and Souza (2019). The identification of these compounds was performed by comparison of their respective retention times with the retention times obtained using the pure standards of these compounds. Quantification was performed using the external standardization method by comparison of the peak areas obtained in the cachaça samples with the areas from the analytical curve previously constructed using the respective standard at concentrations that varied from 10 to 500 µg L<sup>-1</sup>. For separations, an Agilent HX891706 column (4.6 x 250 mm, 5 µm) connected to an Agilent HX891706 guard column (4.6 x 12.5 mm, 5 µm) was used. Solvents for the mobile phase were water (Solvent A) and acetonitrile (Solvent B). Samples were eluted according to a gradient from 0 to 3 min (50%); 3 to 10 min (50 to 100%); 10 to 35 min (100%); 35 to 40 min (100 to 50%). The wavelength used was 254 nm, the flow rate was 0.8 mL min<sup>-1</sup>, and the injected volume was 20 µL.

A stock solution with a concentration of 1000 µg L<sup>-1</sup> was prepared containing the analytically pure PAH standards (Merck and Sigma-Aldrich) naphthalene, acenaphthene, fluorene, phenanthrene, anthracene, fluoranthene, pyrene, benzo(a) anthracene, acephenanthylene and benzo(a)pyrene. Dilutions varying from 10 to 500 µg L<sup>-1</sup> were made in ethyl acetate for the construction of the analytical curve.

The sample was extracted by the Solid Phase Extraction (SPE) technique using an Agilent Sampli Q12 collector Manifold, in which samples were passed through 500 mg/6 mL cartridges (ODS-5 Octadecyl; 18% EC - Whatman). Each cartridge was activated with 5.0 mL of dichloromethane, 5.0 mL of methanol and 5.0 mL of Milli-Q water. After conditioning,

aliquots of a solution containing 50.0 mL of the sample and 10 ml of acetonitrile were passed through the cartridge. Ethyl acetate was used to elute the analytes. The extract was concentrated on a Buchi R-114 rotavapor at 50 °C, and the final volume was completed to 1.0 mL with ethyl acetate (MACHADO et al., 2014).

### **Ethyl Carbamate**

Ethyl carbamate was quantified by HPLC according to the method proposed by Anjos et. al (2011) using the previously described chromatograph equipped with a model RF-10AXL fluorescence detector (DFL) and an Agilent-Zorbax Eclipse a.a.A column (4.6 x 150 mm, 5 µm) connected to an Agilent-Zorbax Eclipse a.a.A pre-column (4.6 x 12.5 mm, 5 µm). External standardization was used to quantify the contaminant. A stock solution of 10.0 mg L<sup>-1</sup> was prepared from ethyl N-xanthyl carbamate (CNXE) in ethyl acetate. In the construction of the analytical curve, eight points in the range of 15.0 - 210.0 µg L<sup>-1</sup> were used. The excitation and emission wavelengths employed were 233 and 600 nm, respectively. The samples were derivatized by adding 4 mL of cachaça sample to an amber flask, followed by the addition of 0.8 mL of a propanol solution of 0.02 mol L<sup>-1</sup> 9-xanthidrol. After gentle stirring, 0.4 ml of 1.5 mol L<sup>-1</sup> hydrochloric acid was added, and the mixture was stirred for one minute. The reaction mixture was kept at rest for 60 minutes and filtered through a 0.45 µm polyethylene membrane (Millipore).

### **Furfural and Hydroxymethylfurfural**

The quantification of furfural and hydroxymethylfurfural was performed by HPLC using a diode array detector (DAD) according to the method of Rodrigues et al. (2020), with minor modifications. The identification of these compounds was performed by comparison of their respective retention times with the retention times obtained using the pure standards of these compounds. The external standardization method was used, in which the peak areas obtained in the cachaça samples were compared with the areas from the analytical curve previously constructed by the dilution of the stock solution to yield concentrations varying from 0.1 to 25 mg L<sup>-1</sup>.

The separation was achieved on an Agilent-Zorbax Eclipse XDB-C18 column (4.6 x 250 mm, 5 µm) connected to an Agilent-Zorbax Eclipse XDBC18 (4.6 x 12.5 mm, 5 µm) pre-column. A diode array detector was employed. The mobile phase was composed of 2% acetic acid in water (Solvent A) and methanol:water:acetic acid (70:28:2% v/v/v) (Solvent B). The

gradient varied from 0 to 25 min (0-40%B); 25 to 40 min (40 to 55% B); 40 to 43 min (55-60% B); 43 to 50 min (60-100% B); 50 to 55 min (100-0% B); 55 to 60 min (0% B). The wavelength employed was 280 nm, the flow rate was  $0.8 \text{ mL min}^{-1}$ , and the volume injected was  $20 \text{ }\mu\text{L}$ . Samples and standards were filtered through a  $0.45 \text{ }\mu\text{m}$  polyethylene membrane (Millipore) and injected directly into the chromatographic system. Injections were performed in triplicate.

## **RESULTS AND DISCUSSION**

The results for the quantification of methanol and higher alcohols in the cachaça samples sold in PET packaging are described in Table 1. The only sample that contained methanol concentrations greater than the detection limit was the R3 sample ( $6.70 \text{ mg } 100 \text{ mL}^{-1}$  a.a.); however, the concentration was within the legal limit. Methanol is considered to be an undesirable contaminant in the beverage because of its toxicity (Cardoso, 2020). It can be formed by the degradation of pectin present in the cellular structure of sugarcane through the boiling of plant material during the distillation process. Its formation can be avoided through proper filtration of the sugarcane juice and must before distillation.



Table 1: Results for concentrations of methanol and higher alcohols in cachaça samples

Sample	Methanol <sup>1</sup>	Butan-1-ol <sup>1</sup>	Butan-2-ol <sup>1</sup>	Propan-1-ol <sup>1</sup>	2-Methylpropano l <sup>1</sup>	3-Methylbutano l <sup>1</sup>	Sum of higher alcohols <sup>1</sup>
R1	<LD	0.61 ± 0.07c	<LD	53.28 ± 0.34d	68.45 ± 0.22b	154.21 ± 0.70b	275.93 ± 1.26c
R2	<LD	0.36 ± 0.02e	<LD	56.06 ± 0.18c	64.95 ± 0.99c	167.06 ± 0.65b	288.07 ± 1.81b
R3	6.70 ± 0.25a	0.05 ± 0.01g	<b>24.48 ± 0.50a</b>	44.11 ± 0.72e	19.57 ± 0.16j	9.16 ± 0.35g	72.83 ± 0.90m
R4	<LD	0.85 ± 0.01a	<LD	44.44 ± 0.13e	53.20 ± 0.22f	159.72 ± 1.00b	257.36 ± 1.35f
R5	<LD	0.38 ± 0.05e	<b>19.53 ± 0.23b</b>	98.61 ± 0.10a	53.35 ± 0.47f	116.21 ± 0.57d	268.17 ± 0.94d
R6	<LD	0.64 ± 0.06d	<LD	33.18 ± 0.02i	68.45 ± 0.22i	93.62 ± 0.84e	152.68 ± 0.88j
R7	<LD	0.53 ± 0.24e	2.55 ± 0.05e	42.11 ± 0.07f	64.95 ± 0.99h	58.83 ± 0.44f	137.99 ± 0.56k
R8	<LD	0.11 ± 0.18f	<LD	68.69 ± 0.63b	19.57 ± 0.16f	143.63 ± 0.49c	264.37 ± 0.22e
R9	<LD	0.70 ± 0.01b	8.82 ± 0.15c	44.16 ± 1.16e	53.20 ± 0.22a	198.28 ± 0.02a	321.86 ± 0.13a
R10	<LD	0.86 ± 0.01a	<LD	54.13 ± 0.25d	53.35 ± 0.47h	123.88 ± 0.90d	215.05 ± 1.51h
R11	<LD	0.07 ± 0.01g	2.40 ± 0.17e	39.83 ± 0.68g	25.88 ± 0.06h	54.69 ± 0.42e	130.33 ± 0.45k
R12	<LD	0.09 ± 0.01g	3.34 ± 0.01d	44.37 ± 0.11e	37.05 ± 0.19h	59.03 ± 0.02e	140.51 ± 0.13l
R13	<LD	0.43 ± 0.02e	<LD	36.76 ± 0.85h	52.06 ± 0.07e	154.39 ± 0.01b	247.27 ± 1.23g
R14	<LD	0.32 ± 0.02e	<LD	41.92 ± 0.65f	79.43 ± 1.05g	93.56 ± 0.29e	178.96 ± 1.61i
R15	<LD	0.56 ± 0.02d	<LD	54.64 ± 0.14d	37.05 ± 0.36d	155.42 ± 1.65b	269.36 ± 1.31d
Legislation	20.00	3.00	10.00	-	-	-	360.00

1: mg 100 mL<sup>-1</sup> anhydrous alcohol; <LD: lower than limit of detection

Butan-1-ol and butan-2-ol are considered to be contaminants, and their legal limits are 3.0 and 10 mg 100 mL<sup>-1</sup> a.a., respectively. All the samples contained concentrations of butan-1-ol below the legal limit; however, samples R3 (24.48 mg 100 mL<sup>-1</sup> a.a.) and R5 (19.53 mg 100 mL<sup>-1</sup> a.a.) contained concentrations of butan-2-ol superior to that established by the legislation. High levels of these two alcohols can be associated with contamination of sugarcane or must by butyl bacteria, and this contamination occurs as a result of inadequate cleaning of equipment or the transportation (dragging) and storage of sugarcane in direct contact with the soil (CARDOSO, 2020).

The sum of the concentrations of higher alcohols was within the established limits. Sample R3 contained the lowest concentration of higher alcohols (72.83 mg 100 mL<sup>-1</sup> a.a.). Despite being a result within legal limits, higher alcohols are desirable in the beverage. They contribute to the formation of the "flavour" of the beverage. Low levels of higher alcohols can be associated with the fermentation process; the type of yeast or stress to which the yeast is submitted during the process can lead to a smaller yield of secondary compounds (BORTOLETTO et al., 2018). The results of the physicochemical analyses can be seen in Table 2. Of the 15 samples under study, only 5 were within the legal limits for the ethanol concentration.

Low values for the alcohol concentration can be associated with different factors, such as failure during the production process, incorrect cutting of fractions, storage, among others. The dilution of beverages to an alcoholic strength inferior to the legal limit is an illegal practice. It increases the yield of the product and reduces the cost of the final product. However, the product delivered to the consumer is of a low quality that does not match the label on the beverage (BORTOLETTO et al., 2018).

Samples R7, R8 and R11 had the lowest ethanol concentrations observed in this study, and these values were about 10-12% below what is required by the legislation. Despite the possible losses during the production process and storage of the beverage, the values are much lower than others reported in the literature.

Table 2: Results of the physicochemical analysis and quantification of ethyl carbamate in the cachaça samples stored in PET and glass containers

Sample	Ethanol conc. <sup>1</sup>	Aldehydes <sup>2</sup>	Furfural <sup>2</sup>	Volatile acidity <sup>2</sup>	Copper <sub>3</sub>	Esters <sup>2</sup>	Dry extract <sup>3</sup>	Ethyl carbamate <sup>4</sup>
R1	39.23 ± 0.06b	18.58 ± 0.03d	ND	22.34 ± 0.03f	0.13 ± 0.01g	21.85 ± 0.03d	15.89 ± 0.05b	57.20 ± 0.88c
R2	39.445 ± 0.05b	14.84 ± 0.30f	ND	29.63 ± 0.03d	0.31 ± 0.01f	21.73 ± 0.02d	0.88 ± 0.01g	77.80 ± 0.24a
R3	<b>35.52 ± 0.04e</b>	6.69 ± 0.16k	ND	18.51 ± 2.08g	0.19 ± 0.01g	18.10 ± 1.23e	0.10 ± 0.01h	18.31 ± 0.10g
R4	38.53 ± 0.05d	10.89 ± 0.01j	ND	26.54 ± 0.03e	0.80 ± 0.02e	26.70 ± 0.03c	0.04 ± 0.01h	8.31 ± 0.40j
R5	<b>36.45 ± 0.02e</b>	26.82 ± 0.14a	1.97 ± 0.05b	<b>262.55 ± 2.11<sup>a</sup></b>	4.03 ± 0.01a	119.93 ± 0.05a	1.17 ± 0.01g	<LD
R6	38.30 ± 0.05d	13.84 ± 0.02h	1.77 ± 0.10c	70.57 ± 2.00b	2.90 ± 0.04b	45.87 ± 1.06b	2.26 ± 0.01f	<LD
R7	<b>25.73 ± 0.03j</b>	17.17 ± 0.02e	<b>5.08 ± 0.07a</b>	45.42 ± 0.05c	1.07 ± 0.01d	29.98 ± 0.03c	3.57 ± 0.01d	37.24 ± 0.13f
R8	<b>27.88 ± 0.13i</b>	11.88 ± 0.06i	ND	68.12 ± 0.32b	0.31 ± 0.01f	29.20 ± 1.40c	0.07 ± 0.01h	<LQ
R9	<b>32.01 ± 0.12f</b>	22.43 ± 0.26b	ND	70.75 ± 2.55b	2.26 ± 0.15c	33.47 ± 1.46c	0.02 ± 0.01h	51.57 ± 1.46d
R10	<b>31.99 ± 0.01f</b>	11.05 ± 0.01j	ND	27.40 ± 0.01e	0.08 ± 0.02h	26.79 ± 0.01c	0.07 ± 0.02h	11.59 ± 0.53i
R11	<b>27.64 ± 0.11i</b>	14.38 ± 0.06g	ND	31.71 ± 0.13d	1.00 ± 0.01d	29.45 ± 1.43c	0.08 ± 0.01h	37.43 ± 0.13f
R12	<b>29.24 ± 0.04h</b>	13.60 ± 0.02h	ND	24.98 ± 0.03e	1.11 ± 0.07d	30.77 ± 1.42c	2.62 ± 0.01e	47.53 ± 0.20e
R13	40.00 ± 0.21a	14.36 ± 0.08g	ND	27.40 ± 1.97e	0.39 ± 0.01f	27.85 ± 0.15c	28.68 ± 0.09a	13.2 ± 0.30h
R14	<b>31.07 ± 0.04g</b>	7.11 ± 0.01k	ND	23.51 ± 0.03f	0.13 ± 0.01g	30.34 ± 2.71c	0.14 ± 0.01h	6.73 ± 0.60k
R15	38.94 ± 0.02c	21.27 ± 0.27c	0.61 ± 0.01d	23.51 ± 0.03e	0.18 ± 0.02g	24.21 ± 2.21d	14.76 ± 0.38c	61.44 ± 0.22b
<b>Legislation</b>	38-48	30,00	5,00	150,00	5,00	200,00	-	210,00

1: % v/v ethanol at 20 °C; 2: mg 100 mL<sup>-1</sup> of anhydrous ethanol; 3: mg L<sup>-1</sup>; ND: Not detected

Santiago et al. (2017) determined the concentrations of higher alcohols, phenolic compounds, color intensity and dry extract in cachaça stored and aged in different types of wood and mentioned that the beverage can be stored in wooden barrels or stainless steel drums before commercialization. For the authors, the sealing of these containers and control of the temperature in the storage room must be performed correctly to avoid the evaporation of volatile compounds. During the aging and storage of beverages, a decrease in the alcohol concentration

is common. It can be corrected with the use of a freshly distilled white cachaça or by adding a beverage with a higher alcohol content during aging to compensate for the loss during storage.

Packaging can influence the loss of volatile compounds during storage, and the type of sealing, material, exposure and transport conditions are extremely important variables in this process. However, Holanda et al. (2015) stored cachaça in glass and plastic containers for 120 days, and observed that there were no differences in the ethanol concentrations of cachaça stored in the PET or glass containers. These results do not corroborate those found in this work, where several variations occurred.

The aldehyde concentration in the beverage was within the legal limits for all the samples. Acetaldehyde is the principal compound in this class. It is formed during the fermentation of the beverage, where it is reduced to ethanol. Sample R5 had the highest concentration of this compound (26.82 mg 100 mL<sup>-1</sup> a.a.), whereas sample R14 contained the lowest concentration. In large quantities, it is undesirable because it is associated with sensory damage, and it is responsible for the hangover after drinking the beverage (CARDOSO, 2020).

Furfural and hydroxymethylfurfural are two aldehydes that are controlled separately and are considered to be undesirable contaminants in the beverage because of their toxicity. Its presence can be associated with different factors, including the burning of sugarcane before harvesting, aging of the beverage in charred barrels, or the distillation of the fermented must without the total consumption of sugar by the yeasts (BORTOLETTO et al., 2018; MASSON et al., 2007). Glucose and fructose undergo a dehydration reaction when exposed to thermal processes, a water molecule is eliminated, and furfural and hydroxymethylfurfural, respectively, are formed (ALCARDE, 2017).

The volatile acidity in most of the samples was within the established limit of 150.0 mg 100 mL<sup>-1</sup> with the exception of sample R5, which contained a 262.55 mg 100 mL<sup>-1</sup>. The volatile acidity arises during the fermentation process, and it contributes to the aroma and flavor of the beverage at low levels. To control the volatile acidity in cachaça, the still must be well sanitized, and the yeasts that ferment the must should be homogeneous so as to avoid contamination by bacteria during fermentation. In addition, other factors such as must management and control of time and temperature during fermentation are essential to prevent high levels of volatile acidity in the cachaça (CARDOSO, 2020).

The concentrations of copper were within the legal limits. This metal is a contaminant in the beverage and comes from the distillation apparatus. It is found in beverages produced in copper stills. Sample R5 had the highest concentration of the contaminant, 4.03 mg L<sup>-1</sup>. The

copper from copper stills can result in the complexation of dimethyl sulfide (DMS). As a consequence, the removal of this sulfur compound improves the sensory quality of the beverage. In adequate concentrations and with adequate cleaning of the stills, copper can be an alternative that helps improve the final quality of the distillate (BORTOLETTO et al., 2018).

Esters are compounds responsible for the composition of the “flavour” of the beverage. In ideal concentrations, they provide fruity and floral aromas that contribute to the sensory quality of the beverage (CARDOSO, 2020). In the samples analyzed, all the concentrations found were within the established limits, and sample R5 contained the highest concentration (119.93 mg 100 mL<sup>-1</sup>).

Esters can be associated with the fermentation and production process. Ribeiro et al. (2017) studied the influence of must treatment and the use of native and selected yeast. There was a difference in the total contents of these compounds in cachaças produced with different yeasts. The levels found were higher in the cachaça fermented with the native yeast, for which the concentrations ranged from 32.75 to 37.16 mg 100 mL<sup>-1</sup>. These results that corroborate most of the samples in this work, with the exception of sample R5, which contained the highest concentration among the samples.

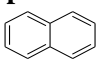

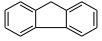
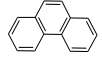
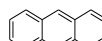
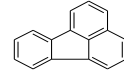
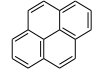
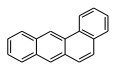
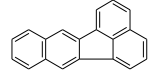
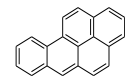
The results obtained for the concentrations of dry extract were low, ranging from 28.68 mg 100 mL<sup>-1</sup> for the R13 sample, 15.89 mg 100 mL<sup>-1</sup> for the R1 sample, to 14.76 mg 100 mL<sup>-1</sup> for R15. After production, the beverage can be sweetened by adding sugar, which in turn dissolves in the beverage and is detected in the dry extract analysis (BRASIL, 2005a). Oliveira et al. (2020) studied cachaça produced in the state of Paraíba and found values of up to 6.21 g L<sup>-1</sup> of dry extract in the cachaça samples. the authors associated the high values of dry extract with the fact that the samples had been sweetened. The results found in this work corroborate those of the authors because the highest values for dry extract were found in the sweetened cachaça samples.

The ethyl carbamate concentrations of the samples analyzed in this work are within the legal limit (Table 2). The highest concentrations were found in samples distilled through stainless steel columns: R1 (57.20 µg L<sup>-1</sup>), R2 (77.80 µg L<sup>-1</sup>) and R15 (61.44 µg L<sup>-1</sup>). The presence of these contaminants can be associated with the distillation system used in the production of the beverages. Rodrigues et al. (2020) studied organic contaminants in cachaça produced in copper stills and stainless steel columns and observed higher ethyl carbamate concentrations in beverages produced by the fractional distillation through stainless steel columns. Values ranging from <LQ to 245.31 µg L<sup>-1</sup> were found. Their results corroborate those

found in this work, where the highest values found were those obtained with beverages distilled through a stainless steel column. Other factors can be associated with the presence of ethyl carbamate in other samples, such as those studied by Cravo et al. (2019). The authors studied the presence of cyanogenic glycosides in different sugarcane varieties and observed a correlation of the compound dhurrin, a cyanogenic glycoside, with the levels of ethyl carbamate found in the cachaça samples.

The results obtained in the identification and quantification of 10 Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) can be seen in Table 3. All the samples contained PAHs, and the lowest concentrations ( $0.731$  and  $0.741 \mu\text{g L}^{-1}$ ) were found in samples R4 and R13, respectively. Sample R12 had the highest concentration of all the PAHs ( $20.90 \mu\text{g L}^{-1}$ ), followed by samples R7 ( $17.23 \mu\text{g L}^{-1}$ ), R8 ( $17.61 \mu\text{g L}^{-1}$ ) and R9 ( $17.02 \mu\text{g L}^{-1}$ ). The mean value found for all the samples in this study was  $10.91 \mu\text{g L}^{-1}$ .

Table 3: Concentrations of PAHs in samples of cachaça sold in PET packaging.

Sample	Naphthalene 	Acenaphthylene 	Fluorene 	Phenanthrene 	Anthracene 	Fluoranthene 	Pyrene 	Benzo (a) anthracene 	Acefenanthylene 	Benzo(a)pyrene 	Sum of the PAHs
R1	0.26 ± 0.01 g	1.34 ± 0.01 e	<LQ	0.60 ± 0.01 c	<LD	<LQ	<b>3.25 ± 0.02 a</b>	0.86 ± 0.01 b	<b>2.84 ± 0.06 a</b>	<LD	9.15h
R2	<LQ	7.51 ± 0.01 b	0.84 ± 0.01 i	1.56 ± 0.11 b	<LD	<LD	1.74 ± 0.02 b	0.67 ± 0.02 c	0.98 ± 0.01 h	<LD	13.31e
R3	<LD	0.87 ± 0.01 g	3.09 ± 0.02 h	0.54 ± 0.01 d	<LD	<LD	<LQ	<LD	0.71 ± 0.01 j	<LD	5.21k
R4	0.09 ± 0.01 h	<LD	<LQ	0.12 ± 0.01 f	<LD	<LQ	0.52 ± 0.01 d	<LD	<LQ	<LD	0.73l
R5	<LD	5.39 ± 0.11 c	7.39 ± 0.04 c	<LD	<LD	<LQ	<LD	0.53 ± 0.02 d	0.97 ± 0.01 h	<LD	14.29d
R6	<LD	<b>7.70 ± 0.13 a</b>	3.57 ± 0.05 g	<LD	<LD	<LQ	<LD	<LD	1.47 ± 0.04 e	<LD	12.75f
R7	<LD	<LD	15.98 ± 0.11 b	<LD	<LD	<LD	<LQ	<LD	1.24 ± 0.03 f	<LD	17.23c
R8	2.97 ± 0.05 b	1.12 ± 0.04 f	6.48 ± 0.05 d	<LQ	<LD	<LQ	0.37 ± 0.01 e	<b>2.47 ± 0.03 a</b>	2.21 ± 0.01 d	1.99 ± 0.04 a	17.61b
R9	<b>4.72 ± 0.04 a</b>	2.35 ± 0.08 d	0.65 ± 0.02 j	0.49 ± 0.02 e	<LD	1.12 ± 0.03 b	0.87 ± 0.01 c	<b>2.63 ± 0.01 a</b>	2.49 ± 0.02 b	1.71 ± 0.02 b	17.02c
R10	0.25 ± 0.02 f	0.57 ± 0.09 h	5.53 ± 0.06 e	<b>1.78 ± 0.01 a</b>	<LD	0.26 ± 0.01 d	<LD	<LD	1.07 ± 0.01 g	1.46 ± 0.01 c	10.91g
R11	0.37 ± 0.01 e	0.29 ± 0.03 j	4.55 ± 0.03 f	<LD	<LD	<LQ	<LQ	<LD	0.43 ± 0.22 n	0.62 ± 0.01 e	6.26j
R12	0.25 ± 0.01 f	<LD	<b>18.61 ± 0.04 a</b>	<LD	<LD	<LQ	<LD	<LD	0.86 ± 0.01 i	1.17 ± 0.01 d	<b>20.90a</b>
R13	<LQ	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	0.27 ± 0.02 f	<LD	0.47 ± 0.01 n	<LD	0.74l
R14	0.68 ± 0.01 d	0.53 ± 0.02 i	3.11 ± 0.05 h	<LD	<LD	<LQ	<LQ	<LD	0.97 ± 0.01 h	<LD	5.28k
R15	1.24 ± 0.02 c	<LQ	<LD	<LD	<LD	<b>1.68 ± 0.04 a</b>	<b>3.01 ± 0.03 a</b>	0.69 ± 0.02 c	0.43 ± 0.01 h	<LD	7.05i
LD	<b>0.06</b>	<b>0.08</b>	<b>0.19 ±</b>	<b>0.11</b>	<b>0.16</b>	<b>0.07</b>	<b>0.08</b>	<b>0.13</b>	<b>0.09</b>	<b>0.17</b>	-
LQ	<b>0.21</b>	<b>0.27</b>	<b>0.62</b>	<b>0.36</b>	<b>0.54</b>	<b>0.24</b>	<b>0.27</b>	<b>0.45</b>	<b>0.29</b>	<b>0.57</b>	-

PAHs with up to three rings were found in higher concentrations in all the samples, and anthracene was not detected in any sample. Acenaphylene was detected in all the samples. Fluorene was found in large concentrations in the samples with the highest levels of PAHs, R7 ( $15.98 \mu\text{g L}^{-1}$ ) followed by R12 ( $18.61 \mu\text{g L}^{-1}$ ).

Research carried out by Wenzl and Zelinnova (2019) showed that PAHs of lower molar mass are the most common in food contamination; their formation occurs at lower temperatures, and they are more easily absorbed by the food matrix. These data corroborate those found in this work, where it was observed that the greatest contamination by compounds with up to three rings were found in the R12 sample, representing about 90% of the total concentration of the contaminants in the beverage.

Other studies on the quantification of PAHs in cachaça have obtained similar results, and Silva et al. (2018) found contaminants in the 20 samples of alembic cachaça analyzed. Benzo(a)pyrene was present in 19 of the samples analyzed, a result that partially corroborates those of this work because the compound was detected in only five samples.

Galinaro et al. (2007) and Riachi et al. (2014) studied cachaça produced with burnt and unburned sugarcane and observed a higher concentration of PAHs in cachaça produced with burnt sugarcane. The increase was associated with the thermal process that played a role in the degradation of organic molecules of residual agricultural pesticides that gave rise to the formation of PAHs

The emergence of PAHs is associated with thermal combustion or pyrolysis processes by some authors. According to Purcaro et al. (2016), the ideal temperature for formation of these compounds is between 500 and 750 °C. The breakdown of organic compounds into unstable and small radicals occurs. These radicals recombine through successive reactions to form cyclic and structures stabilized through resonance of electron pairs. During the manufacturing process, PET packaging undergoes thermal processes in material synthesis and polymer molding so that it obtains the desired shape. These processes can be associated with the formation of PAHs and other contaminants found in polymeric packaging for food purposes (KHAUSTOV; REDINA; GORYAINOV; 2020)

Machado et al. (2014) investigated the storage of cachaça in high-density polyethylene drums and glass containers. The beverage samples stored in glass bottles were contaminated only by PAHs of up to three rings, whereas high concentrations of PAHs with more than three rings were found in the samples stored in polyethylene drums. Among the compounds with high molar mass, fluoranthene and pyrene were the most frequently found, whereas



benzo(a)anthracene, acephenanthylene and benzo(a)pyrene were almost not detected in the samples. The contamination of cachaça by PAHs from high-density polyethylene packaging can be associated with the production of the packaging at high temperatures, which can cause the formation of these compounds.

When he evaluated five brands of cachaça stored in PET packaging for different periods of time, Souza (2019) observed that the types of packaging interfered in the concentration of these contaminants. Samples stored for a longer time in PET packaging contained higher concentrations of these contaminants in all the brands of cachaça analyzed. The highest total concentration of PAH's in the packages at the times analyzed was found in the MAZ sample ( $17.916 \mu\text{g L}^{-1}$ ), a result that corroborates those found in this work.

No limits are defined for the presence of PAHs in foods and beverages by Brazilian legislation. The only limitations found were for the levels of benzo(a)pyrene in specific products such as ice, water and olive oil, which range from 0.03 to  $2.00 \mu\text{g Kg}^{-1}$ ; According to European regulation No. 835/2011, which determines the maximum levels of PAHs in some foods, the maximum levels must be safe and represent the lowest possible values (CE, 2011; GARCIA et al., 2014). The total sum of PAH's suggested by the German Society for Fat Science is  $25 \mu\text{g L}^{-1}$  for smoked foods (DA SILVA, 2021; GALINARO 2009). In this work, no sample contained concentrations higher than those suggested by this legislation. However, the lack of specific legislation for cachaça can be a problem for controlling the content of these substances to ensure the safety and health of the consumer.

## CONCLUSION

The storage of cachaça in PET packaging is an alternative for replacing glass packaging. However, 60% of the samples analyzed contained concentrations of contaminants outside the legal limits, and most of the samples had low ethanol concentrations. The samples stored in polymeric packaging all contained PAHs with concentrations higher than those normally found in the literature for cachaça stored in other types of packaging. Contamination by PAHs can be associated with the thermal processes involved in the production of the packaging. Setting limits for these compounds in legislation would be necessary to ensure product quality and consumer safety.

## REFERENCES

ALCARDE, A. R. Cachaça: ciência, tecnologia e arte. **Editora Blucher**, 2017.

ANJOS, J. P.; CARDOSO, M. G.; SACZK, A. A.; ZACARONI, L. M.; SANTIAGO, W. D.; DÓREA, H. S.; MACHADO, A. M. R. Identificação do carbamato de etila durante o armazenamento da cachaça em tonel de carvalho (*Quercus* sp) e recipiente de vidro. **Química Nova**, São Paulo, V. 34, No. 5, 874-878, 2011.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Instrução normativa n.13, de 29 de junho de 2005a.**

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Instrução normativa n.24, de 08 de setembro de 2005b.**

BORTOLETTO, Aline Marques; SILVELLO, Giovanni Casagrande; ALCARDE, André Ricardo. Good manufacturing practices, hazard analysis and critical control point plan proposal for distilleries of cachaça. **Scientia Agricola**, v. 75, n. 5, p. 432-443, 2018.

CARDOSO, M. G. Análises físico-químicas de aguardente. In: CARDOSO, M. G. **Produção de aguardente de cana**. 4 ed. Lavras: Editora UFLA, 2020.

CE. Regulamento (EU) nº 835/2011 da Comissão de 19 de agosto de 2011. **Jornal Oficial da União Europeia**, p. L 215/4 - L 215/8, 2011.

CRAVO, Francieli D.'Carlos et al. Composition of Cachaças Produced from Five Varieties of Sugarcane and the Correlation of the Presence of Dhurrin in the Cane with That of Ethyl Carbamate in the Product. **American Journal of Plant Sciences**, v. 10, n. 2, p. 339-350, 2019.

DA SILVA, Monise Ellen Alves et al. Determinação de PAHs em preparações comerciais com base em pimenta. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 12, n. 6, 2021.

GALINARO, Carlos A .; CARDOSO, Daniel R .; FRANCO, Douglas W. Perfis dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos na aguardente de cana-de-açúcar brasileira: discriminação entre cachaças produzidas a partir de lavouras de cana-de-açúcar queimada e não queimada. **Jornal de química agrícola e alimentar** , v. 55, n. 8, pág. 3141-3147, 2007.

GALINARO, C. A., FRANCO, D.W. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAH's) em cachaça, rum, uísque e álcool combustível. **Química Nova**, São Carlos, v. 32, n. 6, p. 1447-1451, 2009.

GARCIA, L. P. et al. Hidrocarbonetos policíclicos aromaticos em alimentos: uma revisão. **PUBVET**, Londrina, v. 8, n. 19, 2014.

HOLANDA, Viviane Brasileiro et al. Análise sensorial e desenvolvimento de embalagem para aguardente de algaroba. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 10, n. 4, p. 27, 2015.

LEMMENS, AK, Rap, DB, Thunnissen, JMM et al. Química da formação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos em jato de plasma revelada por espectroscopia de ação por IR-UV. **Nat Commun** 11, 269, 2020.

MACHADO, Ana Maria de R. et al. Contamination of cachaça by PAHs from storage containers. **Food chemistry**, v. 146, p. 65-70, 2014.

MASSON, J.; CARDOSO, M. G.; VILELA, F. J.; PIMENTEL, F. A.; MORAIS, A. R.; ANJOS, J. P. Parâmetros físico-químicos e cromatográficos de aguardentes de cana queimada e não queimada. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 6, p. 1805-1810, 2007.

OLIVEIRA, R. E. et al. Parâmetros físico-químicos e composição volátil de cachaças produzidas no estado da Paraíba, Brasil Physicochemical parameters and volatile composition of cachaça produced in the state of Paraíba, Brasil Parámetros fisicoquímicos y composición volátil de las cachaças producidas en el estado. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 7, p. e504974409, 2020.

PEREIRA, Jaedson dos Santos et al. Degradação térmica do polietileno tereftalato (PET): obtenção de parâmetros cinéticos a partir da equação de Arrhenius. Monografia (Curso de Licenciatura em Química) – Centro de Educação e Saúde / UFCG, Cuité – Paraíba. 2018. 42fl

PURCARO, G., Moret, S., & Conte, L. S. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. **Encyclopedia of Food and Health**, 406–418, 2016.

RIACHI, L. G. et al. A review of ethyl carbamate and polycyclic aromatic hydrocarbon contamination risk in cachaça and other Brazilian sugarcane spirits. **Food chemistry**, v. 149, p. 159-169, 2014.

RIBEIRO, M. L. D. et al. Physico-chemical treatment of sugarcane juice produces quality cachaça. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 48, n. 3, p. 458-463, 2017.

RODRIGUES, L. M. A. et al. Organic contaminants in distilled sugar cane spirits produced by column and copper alembic distillation. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 7, p. e930974879-e930974879, 2020.

SANTIAGO, W. D., et al. Comparação do perfil físico-químico de cachaças envelhecidas em tonéis de carvalho (*Quercus* sp) e amburana (*Amburana cearensis*). **e-xacta**, v. 7, n. 2, p. 17-29, 2014.

SANTIAGO, W. D.; CARDOSO, M. G.; NELSON, D. L. Cachaça stored in casks newly constructed of oak (*Quercus* sp.), amburana (*Amburana cearensis*), jatoba (*Hymenaea caribouril*), balsam (*Myroxylon peruiferum*) and peroba (*Paratecoma peroba*): alcohol content, phenol composition, colour intensity and dry extract. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 123, n. 2, p. 232-241, 2017.

SILVA, M. C. et al. Simultaneous extraction of pesticides and polycyclic aromatic hydrocarbons in Brazilian cachaça using a modified QuEChERS method followed by gas chromatography coupled to tandem mass spectrometry quantification. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 67, n. 1, p. 399-405, 2018.

SINGH, L.; AGARWAL, T. Polycyclic aromatic hydrocarbons in diet: Concern for public health. **Trends in Food Science & Technology**, v. 79, p. 160-170, 2018.

SOUZA, R. H. Z., Análises físico-químicas, identificação e quantificação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em cachaças envasadas sem garrafas de poli tereftalato de etileno. Dissertação de Mestrado - 2019.

VILELA, F. J. et al. Determinação das composições físico-químicas de cachaças do Sul de Minas Gerais e de suas misturas. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 4, p. 1089-1094, jul./ago. 2007.

WENZL, T., ZELINKOVA, Z. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Food and Feed. European Commission, Joint Research Centre, Geel, Belgium, 2019.

**TERCEIRA PARTE - ARTIGO 2**

**Artigo 2 - Perfil Físico-químico, compostos fenólicos e quantificação de PAH's, em amostras de cachaça envelhecidas em tonéis de carvalho (*Quercus sp.*) com diferentes tratamentos térmicos**

**Article 2 - Physical-chemical profile and quantification of phenolic compounds and PAHs in cachaça samples aged in oak (*Quercus sp.*) barrels with different heat treatments**

RICHARD BISPO BARBOSA; WILDER DOUGLAS SANTIAGO; GABRIELA FONTES  
ALVARENGA; RENAN ELLAN DA SILVA OLIVEIRA; DAVID LEE NELSON; MARIA DAS  
GRAÇAS CARDOSO;

**RESUMO**

A técnica de envelhecimento é utilizada para agregação de valor a cachaça e outras bebidas; durante o contato da cachaça com a madeira ocorrem reações que são responsáveis pela extração e formação de novos compostos que atribuem cor e aroma diferenciados à bebida. O carvalho é a madeira mais empregada para o envelhecimento, entretanto essa não é uma madeira nativa do Brasil acarretando um alto custo na sua obtenção. Os tonéis de carvalho podem passar por um processo de tosta durante sua produção, com o objetivo de aumentar a extração de compostos pela bebida. O objetivo deste trabalho foi determinar o perfil físico-químico, quantificar os HPA's e determinar composição fenólica das cachaças envelhecidas nos tonéis de carvalho com diferentes níveis de tosta (sem tosta, fraca, média e forte). Foram adquiridos quatro tonéis em uma tanoaria, aonde foram acondicionadas amostras de cachaça pelo período de 1 ano. O perfil físico-químico da bebida apresentou resultados dentro dos padrões exigidos pela legislação, com exceção da amostra RY3 para a quantificação de aldeídos que se apresentou acima do limite exigido (30,41 mg 100 ml<sup>-1</sup> a.a.). As maiores concentrações de HPA's foram encontradas nas amostras armazenadas em tonéis com tosta média e forte, associando-se a formação destes compostos a tratamentos térmicos. O processo de queima influencia na degradação da lignina e outras macromoléculas em compostos menores, que podem ser incorporados pela cachaça com maior facilidade. Foi observado que uma tosta forte não contribuiu no aumento de concentração de fenólicos na bebida em comparação a tosta média, o que pode estar associado ao aumento da temperatura na tosta forte.

## ABSTRACT

The aging process is used to increase the value of cachaça and other beverages. During its contact with wood, reactions occur that are responsible for the extraction and formation of new compounds that give a different color and aroma to the beverage. Oak is the most widely used wood for aging; however, this is not a native wood in Brazil and it is expensive. Oak barrels can go through a charring process during their production that facilitates the extraction of compounds by the beverage. The objective of this work was to determine the physicochemical profile, quantify the PAH's and determine the phenolic composition of cachaça aged in oak barrels with different levels of charring (no charring, weak, medium and intense charring). Four barrels were purchased from a cooperage, and samples of cachaça were stored for a period of one year. The physicochemical profile of the beverage was within the legal limits with the exception of the RY3 sample for which the concentration of aldehydes was above the legal limit (30.41 mg 100 ml<sup>-1</sup> a.a.). The highest concentrations of PAH's were found in samples stored in barrels with medium and strong charring so the formation of these compounds is associated with the heat treatments. The charring process causes the degradation of lignin and other macromolecules into smaller compounds, which can be more easily incorporated by cachaça. The concentration of phenolics in the beverage stored in barrels that suffered intense charring was not greater than that observed for cachaça stored in barrels that suffered medium charring.



## INTRODUCTION

The genuinely Brazilian beverage cachaça was born with Brazil, being part of its history. The production techniques were passed on through several generations, guaranteeing tradition, and they have been improved by the use of scientific research in the quest to standardize quality and ensure the health of consumers.

The states of São Paulo and Minas Gerais stand out among the main producers of the beverage. Copper stills are employed in Minas Gerais. After distillation, the beverage can be stored or aged in wooden barrels, a technique that is employed in an attempt to increase its value. Through the contact of the cachaça with the wood, reactions occur during aging that are responsible for the extraction and formation of new compounds that give a different color and aroma to the beverage. Oak is the most widely used wood for aging; however, it is not native to Brazil, and it is expensive (BRASIL, 2021).

Oak vats generally go through a charring process to improve the sensory quality of the beverage through the degradation of biomacromolecules into smaller molecules, which can be incorporated into the beverage more easily. The beverage's sensory characteristics and physicochemical parameters are directly influenced by heat treatments, which can significantly improve the final quality of the distillate.

The intensity of the charring process can have different levels according to the producer's preference, being accomplished through the use of an open flame or by the use of blow torches. However, the formation of unwanted contaminants that can be absorbed by the beverage can occur in processes performed at high temperatures or for a prolonged period of time. Burning of the wood surface can be related to the generation of some Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH's), compounds that are extremely undesirable in the beverage because of their proven carcinogenic character.

PAH's are formed from the degradation of organic molecules in thermal treatments, and they are contaminants found in soil, plants, water and air. The control of the amount of these compounds is a topic of discussion in several countries because of their toxic and carcinogenic character. In thermal processes, radicals are formed from the degradation of organic structures. They can react with each other to form cyclic structures, which have a high stability and, in contact with the human organism, can permanently bind to DNA and cause changes in the cells (LEMMENS et al., 2020).

The objective of this work was to determine the physicochemical profile, quantify the PAH's and determine the phenolic composition of cachaça aged in oak barrels with different levels of charring (no charring, weak, medium and intense). The discovery of contamination sources and their traceability are important factors that ensure that the product reaches the consumer safely, avoiding exposure to compounds that are harmful to health.

## **MATERIAL AND METHODS**

### **Storage in oak barrels**

Fifty liters of cachaça of the Rainha da Cana brand was collected at the Estiva bottler located in the District of Abreus, Alto Rio Doce, MG, Brazil. These samples were sent to the Laboratory of Quality Analysis of Spirits of the Department of Chemistry (DQI) of the Federal University of Lavras (UFLA). Four oak barrels constructed in a cooperage in the metropolitan region of Belo Horizonte were used. The wood used in making the barrels came from a European oak barrel that was disassembled and sanded for the construction of the new barrels, with volumes of approximately 10 L each. The average dimensions of the barrels were 30.9 cm long, 27.6 cm tall, 25.4 cm wide and 1.3 cm thick. After construction, they were conditioned for two days with distilled water. Ten liters of cachaça was added to each barrel for the storage process. The characteristics of the barrels were:

Cask 1: no charring (RY1);

Cask 2: light charring (RY2);

Cask 3: medium charring (RY3);

Cask 4: intense charring (RY4).

Glass: One liter of the collected cachaça sample was stored in a glass bottle for comparison with the samples stored in the barrels (V).

The cachaça samples were added to the barrels and placed in a room at a temperature of 25 °C for future collections that were performed after a period of one year.

### **Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH's)**

The PAH's were identified and quantified by HPLC in a Shimadzu high efficiency liquid chromatograph equipped with two model LC-6AD high pressure pumps, a model DGU-20A3 degasser, a model CBM- 20A interface and a model SIL-10AF automatic injector with sampler. A diode array detector (DAD) was used according to the method standardized by Souza (2019).

The identification of these compounds was performed by comparison of their respective retention times with the retention times obtained using the pure standards of these compounds. Quantification was performed using the external standardization method through comparisons of the peak areas obtained in the cachaça samples with the values of areas from the analytical curve previously constructed using the standard for each compound analyzed at concentrations from 10 to 500  $\mu\text{g L}^{-1}$ . An Agilent HX891706 column (4.6 x 250 mm, 5  $\mu\text{m}$ ) connected to an Agilent HX891706 guard column (4.6 x 12.5 mm, 5  $\mu\text{m}$ ) was used for separation. The mobile phase was composed of water (Solvent A) and acetonitrile (Solvent B). Samples were eluted by a gradient from 0 to 3 min (50%); 3 to 10 min (50 to 100%); 10 to 35 min (100%); 35 to 40 min (100 to 50%). The wavelength used was 254 nm, the flow rate was 0.8  $\text{mL min}^{-1}$  and the injected volume was 20  $\mu\text{L}$ .

A 1000  $\mu\text{g L}^{-1}$  stock solution was obtained with the PAH standards of analytical purity (Merck and Sigma-Aldrich): naphthalene, acenaphthene, fluorene, phenanthrene, anthracene, fluoranthene, pyrene, benzo(a) anthracene, acephenanthylene and benzo(a)pyrene. Dilutions were made in ethyl acetate, with variations from 10 to 500  $\mu\text{g L}^{-1}$ , to construct the analytical curve.

The sample extraction process was performed by Solid Phase Extraction (SPE) using an Agilent Sampli Q12 collector manifold, in which samples were passed through 6-mL cartridges containing 500 mg of 18% ODS-5 Octadecyl (EC - Whatman). Each cartridge was activated with 5.0 mL of dichloromethane, 5.0 mL of methanol and 5.0 mL of Milli-Q water. After conditioning, aliquots of a 50.0-mL solution of the sample and 10 mL of acetonitrile were passed through the cartridge. Ethyl acetate was used to elute the analytes. The extract was concentrated on a Buchi R-114 rotaevaporator at 50 °C, and the final volume was completed to 1.0 mL with ethyl acetate (Machado et al. 2014).

### **Phenolic Compounds**

The same liquid chromatograph described above was used in the quantification of phenolic compounds, and the 12 phenols in cachaça stored in oak barrels were determined according to the method proposed by Anjos et al. (2011) and Santiago et al. (2014). The diode array detector (DAD) was used. The chromatographic separation was accomplished on an Agilent - Zorbax Eclipse XDB-C18 column (4.6 x 250 mm, 5  $\mu\text{m}$ ) connected to an Agilent - Zorbax Eclipse XDB-C18 4-Pack (4.6 x 12, 5 mm, 5  $\mu\text{m}$ ) guard column. The phenolic compounds analyzed and their concentration ranges ( $\text{mg L}^{-1}$ ) were the following: gallic acid

(0.067 - 1.345), catechin (0.116 - 2.322), vanillic acid (0.067 - 1.345), phenol (0.038 - 0.979), syringic acid (0.079 - 1.823), vanillin (0.060 - 1.216), syringaldehyde (0.073 - 2.113), *p*-coumaric acid (0.066 - 0.852), sinapic acid (0.089 - 2.331), coumarin (0.058 - 1.344), 4-methylumbelliferone (0.070 - 1.832) and *o*-coumaric acid (0.065 - 1.508).

The elution of the compounds was achieved with 2% acetic acid in water (Solvent A) and methanol:water:acetic acid (70:28:2% v/v) (Solvent B) using the gradient of 0 to 25 min (0-40% B); 25-40 min (40-55% B); 40-50 min (55-100% B); 50-60 min (100-0% B). The wavelength employed was 280 nm, the flow rate was 0.8 mL min<sup>-1</sup> and the injected volume was 20 µL. Samples and standards were filtered through a 0.45 µm polyethylene membrane (Milipore) and injected directly into the chromatographic system. Standard and sample injections were performed in triplicate, and the identities of the analytes were confirmed by comparison of the retention times and the profiles of the sample peaks in comparison with the standards.

### **Color intensity**

The intensity of the color of the cachaças was determined by means of spectrophotometric readings at 420 nm (wavelength with the greatest response in the scan), in a Shimadzu UV-1601 PC spectrophotometer using quartz cuvettes (SANTIAGO; CARDOSO; NELSON 2017).

### **Physicochemical analysis of cachaça**

The physicochemical analyses were performed according to the method established by MAPA (Brasil, 2005b). Cachaça, dry extract, volatile acidity, alcoholic strength, aldehydes, esters, higher alcohols and copper were quantified in the samples. Analyses were performed with the beverage before and after the adsorption test.

### **Quantification of Higher Alcohols**

The identification and quantification of higher alcohols was performed according to the method of Vilela et al. (2007) with some modifications. Analysis was performed by gas chromatography (Perkin Elmer, Clarus 580) using a flame ionization detector (FID) under the following experimental conditions: DB-WAX column (30 m x 0.25 mm id, film thickness 0.25 µm); N<sub>2</sub> (White Martins, Rio de Janeiro, Brazil) was the carrier gas; the flow rate was 1.4 mL min<sup>-1</sup>; the injector temperature was 150 °C; the detector temperature was 170 °C; sample

injection volume of 1.0  $\mu\text{L}$  diluted; 1:10 split ratio. The temperature program started at 35  $^{\circ}\text{C}$  for four minutes, increased to 80  $^{\circ}\text{C}$  at a rate of 10  $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , maintained for 1 minute and then increased to 120  $^{\circ}\text{C}$  at a rate of 20  $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , where it was held for 1 minute. A final increase to 140  $^{\circ}\text{C}$  was performed at a rate of 25  $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , where it was held for 30 seconds. The total running time was 13.48 min.

Chromatographic grade standards were (butan-2-ol, propan-1-ol, 2-methylpropan-1-ol, butan-1-ol and 3-methylbutan-1-ol Merck, (Darmstadt, Germany) The analytical curve (concentration range) was prepared from a solution with a concentration of 4  $\text{g L}^{-1}$  in 40% ethanol. The samples were distilled and injected into the device.

### **Ethyl Carbamate**

Ethyl carbamate was quantified by HPLC according to the method proposed by Anjos et al. (2011) using the chromatograph described above equipped with a model RF-10AXL fluorescence detector (FLD) and an Agilent – Zorbax Eclipse AAA column (4.6 x 150 mm, 5  $\mu\text{m}$ ) connected to an Agilent – Zorbax Eclipse AAA guard column (4.6 x 12.5 mm, 5  $\mu\text{m}$ ). External standardization was performed to quantify the contaminant. A stock solution of 10.0  $\text{mg L}^{-1}$  was prepared from ethyl N-xanthyl carbamate (CNXE) in ethyl acetate. Eight points in the range of 15.0 – 210.0  $\mu\text{g L}^{-1}$  were used in the construction of the analytical curve. The excitation and emission wavelengths employed were 233 and 600 nm, respectively. The samples were derivatized by adding 4 mL of cachaça sample to an amber bottle, followed by the addition of 0.8 mL of a 0.02  $\text{mol L}^{-1}$  9-xanthinol solution in propanol. After gentle stirring, 0.4 mL of 1.5  $\text{mol L}^{-1}$  hydrochloric acid was added, and the solution was stirred for one minute. The reaction mixture was kept at rest for 60 minutes and filtered through a 0.45  $\mu\text{m}$  polyethylene membrane (Millipore).

### **Furfural and Hydroxymethylfurfural**

The quantification of furfural and hydroxymethylfurfural was performed by HPLC using a DAD and employing the method of Rodrigues et al. (2020). The external standardization method was employed by comparing the peak areas obtained for the cachaça samples with the areas from the analytical curve previously constructed by the dilution of the previously prepared stock solution to furnish concentrations from 0.1 to 25  $\text{mg L}^{-1}$ .

The separation was performed on an Agilent - Zorbax Eclipse XDB-C18 column (4.6 x 250 mm, 5  $\mu\text{m}$ ) connected to an Agilent - Zorbax Eclipse XDBC18 (4.6 x 12.5 mm, 5 $\mu\text{m}$ ) pre-column and a diode array detector. Solvents used as the mobile phase were 2% acetic acid in

water (Solvent A) and methanol, water, acetic acid (70:28:2% v/v/v) (Solvent B). The gradient varied from 0 to 25 min (0-40% B); 25 to 40 min (40 to 55% B); 40 to 43 min (55-60% B); 43 to 50 min (60-100% B); 50 to 55 min (10-0% B); 55 to 60 min (0% B). The wavelength employed was 280 nm, the flow rate was 0.8 mL min<sup>-1</sup> and the injected volume was 20 µL. Samples and standards were filtered through a 0.45 µm polyethylene membrane (Millipore) and injected directly into the chromatographic system. Injections were performed in triplicate.

## **RESULTS AND DISCUSSION**

### **Physicochemical profile and chromatographic analysis**

The results of the physicochemical quality parameters of the cachaças evaluated are shown in Table 1. The values for the samples stored in a glass container and in the uncharred oak barrel (RY1) were all within the legal limits. However, the concentrations of furfural were higher in the samples of cachaça aged in oak barrels than those found in the sample stored in a glass bottle.

Table 1: Results of physicochemical analysis and quantification of methanol and higher alcohols in cachaça samples aged in barrels with different degrees of charring and in cachaça stored in a glass bottle.

Parameter	RY1	RY2	RY3	RY4	Glass	Limit
<b>Alcohol conc.<sup>1</sup></b>	42.79 ± 0.06c	43.28 ± 0.07b	43.95 ± 0.03a	43.63 ± 0.17a	44.25 ± 0.09a	38-48
<b>Aldehydes<sup>2</sup></b>	27.87 ± 0.48a	29.86 ± 0.11a	<b>30.41 ± 0.27a</b>	28.61 ± 0.14a	25.52 ± 0.20a	30.00
<b>Volatile acidity<sup>2</sup></b>	122.00 ± 1.55b	142.73 ± 0.25a	127.15 ± 0.09b	124.73 ± 0.50b	126.57 ± 0.25b	150.00
<b>Copper<sup>3</sup></b>	0.35 ± 0.02c	0.45 ± 0.04b	0.65 ± 0.01a	0.43 ± 0.01b	0.66 ± 0.01a	5.00
<b>Esters<sup>2</sup></b>	117.95 ± 1.17b	153.51 ± 0.27a	113.85 ± 1.89b	116.68 ± 0.47b	86.29 ± 0.16c	200.00
<b>Dry extract<sup>4</sup></b>	0.85 ± 0.01b	0.88 ± 0.01b	1.10 ± 0.01c	0.71 ± 0.01 b	0.68 ± 0.01a	-
<b>Furfural*</b>	0.23 ± 0.01c	1.39 ± 0.01a	1.42 ± 0.01a	0.75 ± 0.01b	ND	-
<b>HMF*</b>	0.04 ± 0.01c	0.32 ± 0.01b	0.57 ± 0.01a	0.28 ± 0.01b	ND	-
<b>Furfural + HMF*</b>	0.27 ± 0.01c	1.71 ± 0.03a	1.99 ± 0.04a	1.03 ± 0.01b	ND	5.00
<b>Other alcohols<sup>2</sup></b>						
<b>Methanol</b>	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	20.00
<b>Butan-2-ol</b>	6.83 ± 0.15a	7.39 ± 0.46a	6.35 ± 0.06a	7.74 ± 0.15a	8.16 ± 0.66a	10.00
<b>Propan-1-ol</b>	132.85 ± 0.97a	168.19 ± 0.59a	157.75 ± 1.95a	151.65 ± 1.68a	152.87 ± 1.01a	-
<b>2-metilbutan-1-ol</b>	38.03 ± 0.22a	38.62 ± 0.28a	37.55 ± 0.48a	33.99 ± 0.39b	33.77 ± 0.64b	-
<b>Butan-1-ol</b>	0.91 ± 0.03a	0.85 ± 0.04a	0.70 ± 0.01a	1.00 ± 0.02a	1.08 ± 0.06a	3.00
<b>3-metilbutan-1-ol</b>	114.29 ± 0.58b	121.82 ± 0.16a	117.07 ± 1.37b	106.34 ± 1.48c	102.95 ± 0.60c	-
<b>Total</b>	285.17 ± 1.33c	328.64 ± 1.02a	312.37 ± 0.01b	291.98 ± 0.01c	291.43 ± 1.30c	360.00

<sup>1</sup> °GL %v/v; <sup>2</sup>mg 100 mL<sup>-1</sup> a.a.; <sup>3</sup>mg L<sup>-1</sup>; <sup>4</sup>: g L<sup>-1</sup>; LD for methanol = 1.48 mg 100 mL<sup>-1</sup> a.a.; ND: Not detected. \*Furfural and HMF quantified by HPLC mg 100 mL<sup>-1</sup> a.a.

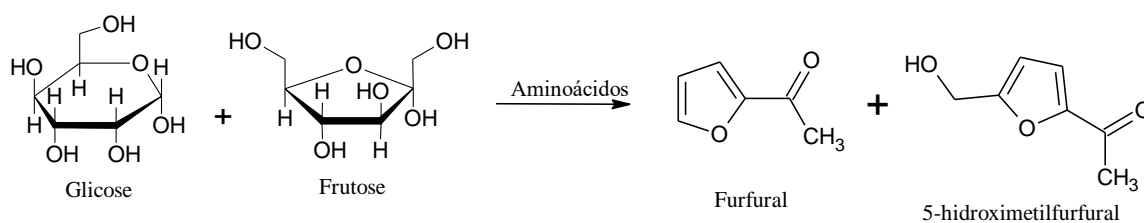
Furfural and 5-hydroxymethylfurfural (5-HMF) were determined separately by chromatography. The highest concentrations of furfural and 5-HMF were found in samples RY2 and RY3. These compounds were not detected in the cachaça sample stored in the glass bottle, so their appearance was associated with the aging process.

The presence of these contaminants in cachaça can be associated with the beverage's stages of production, and they can originate from practices such as burning of the sugarcane, which is prohibited, but it is used in some places to facilitate harvesting in the sugarcane field through the burning of the leaves (MASSON et al., 2007). Furfural and 5-HMF can be formed

during distillation by means of the pyrolysis of organic matter or the presence of residual sugars from the fermentation in the distillation broth. To avoid the presence of this compound during the distillation, attention must be paid to the degree of Brix of the must after fermentation, in addition to the control of temperature during distillation (BORTOLETTO et al., 2018; CARDOSO, 2020).

The increase in furfural concentration observed in this work is probably related to the aging of the beverage, and it can be explained by the Maillard and caramelization reactions (Figure 1) that occurred in the cask during its production. During the charring of the barrels, the polysaccharides (cellulose and hemicellulose) that make up the wood's vegetal structure undergo dehydration reactions and are converted into 5-HMF and furfural, respectively. The highest furfural concentrations were observed in the samples stored in vats with weak (RY2) and medium (RY3) charring. The concentration of the compound was higher than that observed in the beverage aged in uncharred oak barrels. There was an increase in the concentration of furfural in the barrel produced with intense charring (RY4). However, the concentration of the compound remained below those found in RY2 and RY3. The increase in charring intensity through higher temperatures and longer exposure times might have resulted in the degradation of furfural and 5-HMF and caused their carbonization (BORTOLETTO et al., 2018; CARDOSO, 2020).

Figure 1: General Maillard reaction with the formation of Furfural and 5-HMF.



Increases in the concentration of the compound during aging have been observed in other studies such as those performed by Santiago et al. (2017), who monitored the physicochemical profile of cachaça stored in recently constructed barrels of different wood species. The authors observed an increase in furfural concentration with longer storage times and an influence of the type of wood used. The cachaça stored in oak barrels had a final concentration of  $0.937 \text{ mg } 100 \text{ mL}^{-1}$  a.a. after a period of 12 months. Furfural was not found in the non-aged samples; results that partially corroborate the present work.

Bortolletto et. al (2016) investigated the influence of the type of charring on oak species (American and European) used in the production of the barrels and the aging of beverages for



a period of 24 months. They observed an increase in furfural concentration during the first three months of aging. The French cask with intense charring had the greatest concentration of the compound. No large variations during the aging of the beverages was observed for the 5-HMF. There were higher concentrations of furfural and 5-HMF in the American cask than in the cask made with the French oak species.

D'Ávila (2019) observed low levels of the compound ( $0.52$  to  $5.03$  mg  $100$  mL<sup>-1</sup> a.a.) when they analyzed samples of cachaça from different vintages stored in stainless steel vats for up to 20 years, and the increase in the concentration did not correlate with the storage time. This observation demonstrates that use of the steel container, unlike the wooden barrels, does not result in the extraction of compounds that can lead to an increase in the furfural concentration. These results corroborate those found in the cachaça sample stored in a glass bottle, where the inert material did not contribute to an increase in the concentration of the compound.

The RY3 sample contained an aldehyde concentration of  $30.41$  mg  $100$  mL<sup>-1</sup> a.a., which exceeded the legal limit. The aldehydes present in the beverage were mainly made up of acetaldehyde, which can be formed by fermentation or oxidation of ethanol during the beverage production process. The higher concentration of aldehydes, as well as that of furfural, compared to the sample stored in a glass bottle is probably related to the aging of the beverage.

Aldehydes can be formed mainly during fermentation because acetaldehyde is formed from the decarboxylation of pyruvate during fermentation, and it is later reduced to ethanol. Mendonça et al. (2016), researching the use of different yeast varieties, observed a direct relationship between the type of yeast and the chemical composition of the beverage. Among the compounds analyzed, there was a great variation in aldehyde concentrations, and the authors found aldehyde concentrations greater than the legal limit in cachaça produced with corn meal-based fermentation, .

During the storage of the beverage in wooden barrels, a greater degree of oxygenation of the beverage was observed due to the presence of pores in the wooden barrels. The oxidation reactions are favored under these conditions, a fact that is observed with the increase in the presence of aldehydes and acids, which are products of the oxidation reactions of the alcohols present in the beverage (CARDOSO, 2020; PORTUGAL et al., 2017).

The alcoholic strength of the beverage is one of the parameters that can undergo great variations during aging. The alcohol present in cachaça is adsorbed by the porous structure of the wood, and it can evaporate in the absence of adequate control of temperature and humidity,

causing great losses in the concentration of alcohol in the beverage. No statistical differences in variance in alcoholic strength compared to the sample stored in a glass bottle were observed for the RY3 and RY4 samples, unlike the RY2 and RY1 samples, where there was a decrease in the concentration of ethanol in the beverages (BORTOLETTO et al., 2018; CARDOSO, 2020).

During the charring process, the thermal degradation of biomacromolecules and sugars occurs. These compounds can undergo dehydration reactions and form other smaller molecules that can occupy the pores of the wood, thus reducing the number of pores available for the evaporation of the alcohol (BORTOLETTO et al., 2018). Warren-Vega et al. (2021) studied the characterization of the tequila maturation process and its relationship with the degree of charring of the cask and observed that there were no variations in the concentration of alcohol in the beverage stored in charred casks over a period of 12 months. However, a decrease in alcohol concentration was observed for the sample stored in the uncharred barrel, results that corroborate those found in this study.

The RY2 sample contained the highest volatile acidity. It was the only sample for which a statistical difference was observed for this parameter when compared to the others. The increase in acidity is mainly caused by the presence of acetic acid, the main compound in the acidic fraction of the beverage, and it can be associated with oxidation of aldehydes to acids and the hydrolysis of the acetyl groups of hemicellulose, which produce acetic acid in aqueous medium. (GARCÍA-MORENO et al., 2021).

Research by García-Moreno et al. (2021) on the chemical content and sensory changes of the Sherry Oloroso wine aged with four different types of wood observed an increase in the total acidity of the samples after aging in all the types of woods studied (three species of oak and one of Brazil nut). The barrels received heat treatments; however, for the authors, the charring of the barrels was not associated with statistical differences in the total acid content.

Bortoletto et al. (2016) observed a constant increase in acidity during the aging period when they studied the aging of cachaça in American and European oak barrels over a 24-month period. They noted that the acid fraction tripled its concentration from that initially found in the cachaça samples. Another conclusion of this work was that the use of the American oak species was responsible for an increase in acidity 14% greater than that of the European oak species. Santiago et al. (2017) studied the aging of beverages in different types of wood over a period of one year and obtained similar results. They observed an increase in acidity in all their samples

during the entire aging period and an expressive increase of  $16 \text{ mg } 100 \text{ mL}^{-1}$  a.a. in the oak-aged sample.

The concentration of esters increased in all the aged samples relative to the sample stored in a glass bottle ( $86.29 \text{ mg } 100 \text{ mL}^{-1}$  a.a.). The RY2 sample stood out because of the higher concentration of the compounds ( $153.51 \text{ mg } 100 \text{ mL}^{-1}$  a.a.). Esters are essential compounds in the formation of the beverage's aroma. They are known for their floral and fruity fragrances; in ideal concentrations, they are responsible for the sensory evaluation of the beverage and the formation of the flavour (CARDOSO, 2020). The increase in the concentration of these compounds can be associated with reactions between acids and alcohols present in the beverage during the aging period to form mainly ethyl acetate (CARDOSO, 2020).

In the determination of copper, a decrease in concentration was observed relative to the blank sample ( $0.66 \text{ mg L}^{-1}$ ) used in the aging process. The RY3 sample was the only one for which no change in metal concentration was observed. A decrease in copper concentration can be associated with adsorption of metallic ions by lignin and cellulose molecules present in the wood structure of the barrel. Zacaroni, et al. (2015) mentioned that the positively charged copper ion can be attracted by free electrons present in hydroxyl groups of lignin and cellulose.

The concentrations of methanol found in the cachaça samples aged in oak barrels with different levels of charring and in the sample stored in a glass bottle were below the detectable limits established by the chromatographic method ( $1.42 \text{ mg } 100 \text{ mL}^{-1}$  a.a.). Methanol is an undesirable compound in the beverage, and it is considered to be a contaminant because of its toxicity. The consumption of large quantities of methanol in high concentrations can lead to blindness or severe acidosis. Cardoso (2020) mentioned that the formation of methanol is the result of the degradation of pectin present in the cellular structure of sugarcane through the boiling of plant material during the distillation process. The formation of this contaminant can be avoided through filtration of the sugarcane juice and the must before distillation.

Butan-2-ol and butan-1-ol, which are considered to be contaminants, were quantified in all the samples studied. However, none of the concentrations were greater than the legal limits. In addition, no statistical variations in the contents between the aged samples and the blank sample stored in a glass bottle were observed. Thus, there was no influence of aging on the concentrations of these compounds.

The sum of the other alcohols propane-1-ol, 2-methylbutan-1-ol, and 3-methylbutan-1-ol and their separate concentrations are shown in Table 1. The variation in results is shown, but the concentrations were within the legal limits. The highest concentrations of these compounds

were found in the RY2 sample. Higher alcohols are essential for the formation of the flavour of the beverage; they have characteristic aromas and are desirable in adequate concentrations. An excess of these substances in the beverage can result in a nauseating aroma and an increase in the viscosity of the beverage (CARDOSO, 2020).

Studies by Santiago et al. (2017) on the aging of beverages found small variations in the concentrations of higher alcohols, results that corroborate those found in this work. For Cardoso (2020), higher alcohols are formed mainly during the fermentation and distillation of the must, resulting from oxidation reactions and amino acid transformations.

Ethyl carbamate is an undesirable compound in the beverage. Its toxicity classifies it as a contaminant. The concentrations in the samples studied were lower than the detection limit (LD) of the chromatographic method. That is, the carbamate concentrations were lower than  $1.71 \mu\text{g L}^{-1}$  in the samples. Aging did not cause a change in the concentration of carbamate in the beverages.

Cravo et al. (2019) studied the presence of precursors (cyanogenic glycosides) of ethyl carbamate in different sugarcane varieties and observed a correlation between the presence of dhurrin and the levels of ethyl carbamate found in cachaças produced with the different varieties of sugar cane. Furthermore, the samples that contained the highest concentrations of ethyl carbamate were produced in different fermentation and distillation systems. Thus, there was no evidence of an effect of the production system on the quantity of the compound in the beverage.

### **Identification and quantification of PAHs**

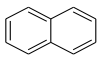
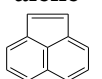
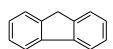
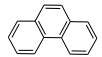
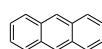
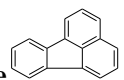
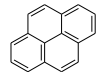
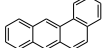
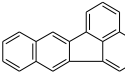
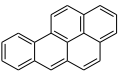
The results obtained in the identification and quantification of 10 polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH's) are described in Table 2. There was an increase in the concentration of PAH's during aging. The total concentration of PAH's in the sample stored in a glass bottle was  $8.30 \mu\text{L}^{-1}$ , and fluorene, pyrene and acephenanthylene were found in the highest concentrations, representing about 70% of the total PAH's. Seven of the 10 PAH's studied were also found, but anthracene, benzo(a)anthracene and benzo(a)pyrene were not detected (<LD). The only PAH that was not identified in any of the aged samples was anthracene.

The concentrations of PAH's were related to the intensity levels of the heat treatments performed on the barrels. The highest levels of contaminants were found in the barrels exposed to the medium and intense charring. The highest total concentration of PAH's ( $28.07 \mu\text{g L}^{-1}$ ) was found in barrels that suffered medium charring, followed by the those that received intense charring (RY4) ( $12.13 \mu\text{L}^{-1}$ ). There was a greater formation of high molecular weight PAH's in

the medium charred barrel, where benzo(a)anthracene, acephenanthylene and benzo(a)pyrene were the principal PAH's found with the highest concentrations in the beverage.

Brazilian legislation has not yet established limits for PAH's in food and beverages, only limitations were found on the levels of benzo(a)pyrene in specific products such as ice, water and olive oil, which range from 0.03 to 2,00  $\mu\text{g Kg}^{-1}$ . European regulation No. 835/2011, which determines the maximum levels of PAH's in some foods, establishes that the maximum levels must be safe and represent the lowest possible values (EC, 2011; GARCIA et al., 2014).

Table 2: Concentrations of PAH's in samples of aged cachaça and in the sample stored in a glass bottle.

Sample	Naphthalene 	Acenaphth alene 	Fluorene 	Phenanthrene 	Anthracene 	Fluoranthene 	Pyrene 	Benzo(a) anthracene 	Acephenanthylene 	Benzo(a) pyrene 	Sum of total PAH's
RY1	0.32 ± 0.01e	0.78 ± 0.01b	3.48 ± 0.06a	<LQ	ND	0.24 ± 0.02e	4.57 ± 0.01a	<LD	0.70 ± 0.01d	<LD	10.10 ± 0.04c
RY2	1.81 ± 0.01	0.69 ± 0.03c	3.61 ± 0.02a	0.40 ± 0.01b	ND	1.36 ± 0.07c	<LQ	<LQ	1.32 ± 0.01c	<LQ	9.19 ± 0.01d
RY3	2.95 ± 0.05a	2.87 ± 0.11a	1.73 ± 0.04d	<LD	ND	2.34 ± 0.05b	<LD	5.26 ± 0.07a	6.00 ± 0.08a	6.93 ± 0.10a	28.07 ± 0.03a
RY4	0.63 ± 0.02c	0.51 ± 0.23d	1.96 ± 0.03c	<LQ	ND	3.14 ± 0.33a	<LD	1.29 ± 0.01b	2.34 ± 0.01b	2.27 ± 0.13b	12.13 ± 0.09b
Branca (Glass)	0.43 ± 0.01d	0.67 ± 0.01d	1.93 ± 0.09c	0.63 ± 0.01a	ND	0.85 ± 0.06d	1.48 ± 0.12b	<LD	2.32 ± 0.01b	<LD	8.30 ± 0.04e
LD	0.06	0.08	0.19 ±	0.11	0.16	0.07	0.08	0.13	0.09	0.17	-
LQ	0.21	0.27	0.62	0.36	0.54	0.24	0.27	0.45	0.29	0.57	-

<LD: lower than the limit of detection; <LQ: lower than the limit of quantification; ND: not detected.

Silva et al. (2018) studied different methods of extraction and quantification of pesticides and PAH's in 20 samples of alembic cachaça and found concentrations of these compounds ranging from 1.00 – 29  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Among the compounds analyzed, benzo(a)pyrene was present in 19 of the studied samples, followed by benzo(b)fluoranthene and benzo(j)fluoranthene, which were found in 17 samples. Their results corroborate those found in the present work, because the levels of benzo(a)pyrene found in the samples are similar to those of cachaça stored in barrels with medium and intense charring.

The emergence of PAH's is associated by some authors with thermal combustion or pyrolysis processes. Data from Purcaro et al. (2016) mention that the ideal temperature for linear formation of these compounds is in the range 500 - 750 °C. Their formation results from the breakdown of organic compounds into small, unstable radicals, which recombine through successive reactions to form stable cyclic structures by means of electron pair resonance (LEMMENS et al., 2020).

The RY2 sample contained the highest concentration of low molar mass PAH's (up to three aromatic rings), whereas the RY3 and RY4 samples contained the highest concentrations of high molar mass PAH's. Zelinnova and Wenzel (2016) mention that the PAH's of low molar mass are the most common in contaminated food. This result partially corroborates the data found in this work because most PAH's with up to three rings were quantified in nearly all the samples, with the exception of anthracene, which was not detected in any of the cachaça samples.

Machado et al. (2014) compared the effects of storage of cachaça in glass containers and high-density polyethylene (HDPE) drums, and they found PAH's of low molar mass in samples in glass containers and those of high molar mass in samples stored in drums. Among the high molar mass PAH's, fluoranthene and pyrene were the most frequently found, whereas benzo(a)anthracene, acephenanthylene and benzo(a)pyrene were hardly detected in the samples. The contamination of cachaça by PAH's in high-density polyethylene packaging can be associated with the heating of the raw material during the production of the packaging at high temperatures, which can cause the formation of these compounds. The cachaça samples in the present work were contaminated by high molecular weight PAH's, but, unlike the other work, high concentrations of benzo(a)anthracene, acephenanthylene and benzo(a)pyrene were found in these samples, mainly in samples stored in barrels with medium and intense charring.

Galinaro and Franco (2009) detected 14 PAH's with mean concentrations ranging from 4.32 to  $2.52 \times 10^{-2} \mu\text{g L}^{-1}$  when they investigated the presence of 15 PAH's in samples of

commercially obtained cachaça. The authors also found an total mean PAH concentration of  $9.43 \mu\text{g L}^{-1}$ . There was a similarity in their result for samples of cachaça in barrels with light charring and without charring and those stored in a glass bottle with the results obtained in the present study. However, when the intensity of charring increased, the concentrations found were greater than those found by those authors in their study.

The charring process can directly influence the appearance and increase in the concentration of PAH's in the beverage. Guatemala et al. (2016) determined PAH's in coffee bean samples with different types of roasting. They found that higher concentrations of compounds were obtained at higher roasting temperatures. Another factor was the fact that the coffee beans that were roasted for longer periods of time also had higher levels of PAH's.

Dos Santos et al. (2019) quantified 16 PAH's in coffees prepared with beans at different levels of roasting. They observed values ranging from  $1.086$  to  $2.169 \mu\text{g L}^{-1}$ . The authors observed that several factors influenced the total concentration of PAH's in beverages prepared with the beans, such as the degree of roasting, the brand, the method of brewing the coffee and the cultivar.

Contamination of the beverage by PAH's can be associated with factors other than storage of the beverage. It can be associated with contamination of the raw material, equipment or the sugarcane juice before distillation. Studies by Tfouni, Vitorino and Toledo (2007) indicate that the practice of burning the cane straw can lead to the contamination of sugarcane juice by PAHs. However, the contamination of the juice does not mean that the final product will contain similar levels of contamination because the various cleaning steps to which the juice is subjected to obtain the final product (sugar) are effective in reducing and eliminating these contaminants.

The contamination of the soil and, consequently, of plants by PAH's is common in urban and rural environments. Wang et al. (2017) observed that the soil and crops were contaminated with concentrations in the range of  $103.8$ – $1070.4$  and  $244.1$ – $2234.6 \mu\text{g kg}^{-1}$ , respectively, when they evaluated the contamination and health risk by PAH's in soils and plantations in industrial areas. The authors associated the combustion of coal and oil in the neighboring region as the main sources of the contaminant. In addition to the care in food processing and storage, the raw materials must be investigated to avoid contamination of the final product. Contamination of the sugarcane fields, equipment and means of production can explain the levels of PAH's found in the beverage stored in a glass bottle.



### Phenol composition and color intensity

The data regarding the concentrations and identification of phenolic compounds in the samples of cachaça aged for one year in oak barrels at different levels of charring and the beverage stored in a glass bottle are shown in Table 3. Catechin and vanillic acid were not quantified in any of the samples analyzed; gallic acid was present in the highest concentrations in all the aged samples.

In addition to gallic acid, the other principal compounds found were syringic acid and syringaldehyde. These results were similar to those found by Anjos et al. (2011), where the authors evaluated the evolution of the phenolic composition in cachaça aged in oak barrels for 12 months and found syringaldehyde and gallic acid to be the predominant contaminants. Santiago et al. (2014) evaluated the phenol composition in cachaça aged in amburana and oak barrels and observed that gallic acid, syringic acid and syringaldehyde were the principal contaminants in the cachaça aged in oak barrels. The results obtained were very similar to those found in the literature, which can be associated with the fact that the beverages were stored in oak barrels, despite factors such as charring, number of uses and storage of other beverages that can affect these concentrations. The concentration of phenolic compounds in the RY3 sample was similar to those found in the literature (36.43 mg L<sup>-1</sup>).

Table 3: Concentrations of phenolic compounds in cachaça samples aged in barrels with different heat treatments and in a glass bottle.

Sample	RY1	RY2	RY3	RY4	Branca (Glass)	LD	LQ
Gallic acid	11.06 ± 0.78b	10.32 ± 0.11c	14.11 ± 0.14a	9.62 ± 0.14d	<LD	0.035	0.119
Catechin	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LD	0.046	0.154
Vanillic acid	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	0.038	0.127
Phenol	1.64 ± 0.14 a	3.01 ± 0.18 a	3.08 ± 0.01a	1.53 ± 0.51 a	<LD	0.029	0.098
Syringic acid	3.54 ± 0.51 b	1.16 ± 0.09 c	8.34 ± 0.16 a	4.24 ± 0.13 b	<LD	0.041	0.139
Vanillin	0.12 ± 0.05d	0.99 ± 0.02c	6.72 ± 0.03 a	3.60 ± 0.06b	<LD	0.028	0.095
Syringaldehyde	5.39 ± 0.06b	2.22 ± 0.19d	2.89 ± 0.18c	9.86 ± 0.17a	<LD	0.035	0.118
<i>p</i> -Coumaric acid	<LQ	<LD	0.14 ± 0.01a	0.13 ± 0.07 a	<LD	0.027	0.093
Sinapic acid	0.17 ± 0.02c	<LD	0.24 ± 0.04b	<LD	0.36 ± 0.01a	0.032	0.109
Coumarin	<LQ	0.81 ± 0.25 a	0.76 ± 0.04 a	0.55 ± 0.03 a	<LD	0.025	0.084
4-methylumbelliferone	0.07 ± 0.01 a	0.09 ± 0.02 a	<LD	<LD	<LD	0.034	0.114
<i>o</i> -Coumaric acid	<LD	<LD	0.12 ± 0.01 a	<LD	<LD	0.022	0.073
Total	21.83 ± 0.09c	18.64 ± 0.39d	36.43 ± 0.07a	29.59 ± 0.44b	<LD	-	-

<LD: less than detection limit; <LQ: less than the limit of quantification; ND: not detected.

Literature data mention that phenolic compounds add different flavors, aromas and color to the beverages, which, when stored in oak barrels, are known to have a golden color and an extremely pleasant flavor and aroma (CARDOSO, 2020). Warren-Vega et al. (2021) observed an increase in the color intensity of the beverage stored in casks with increased charring, the yellow color in the sample being more evident, when they studied the chemical characteristics of the tequila maturation process and its relationship with the charring of the cask.

The highest color intensity in the aged beverage was observed for the RY3 sample, followed by the RY4, RY2 and RY1 samples. the highest color intensity was observed in the medium charred sample, followed by the sample stored in intensely charred, weakly charred and uncharred casks. Bortolletto et al. (2016) observed the greatest intensities of color in beverages stored in barrels with a greater intensity of charring. They concluded that different oak species did not influence the color of the beverage. During charring, larger molecules are degraded into smaller compounds, which can be easily absorbed by the beverage and directly influence the final color of the beverage.

The highest concentrations of phenolic compounds and, consequently, the highest sum of these compounds in the beverage were found in the RY3 sample. During the charring process, the lignin molecules are degraded into smaller molecules, which facilitates the extraction and absorption of phenolic compounds by the cachaça stored in the cask. The highest concentrations were found in the sample stored in a barrel with medium charring, a fact that can be associated with the time and temperature of exposure to fire. In the intensely charred cask, exposure to higher temperatures and for a longer period of time might have resulted in the degradation of lignin fragments through its complete carbonization (BORTOLETTO et al., 2016).

Bortoletto et al. (2016) studied the phenolic composition of cachaça stored in oak barrels of different species and those with weak, medium and intense charring. They observed that burning increases the concentration of maturation congeners. However, a higher concentration of total phenolic compounds was observed with the American oak species. The authors observed that, with the medium charring, an increase in the concentration of phenols in the beverage occurred with French oak, making charring an alternative for the increase in phenolic compounds extracted by the beverage during storage.

## **CONCLUSION**

The different levels of charring influenced the types of compounds formed and the amount of these compounds extracted by the cachaça samples. PAH's were detected in all the samples, including that stored in glass bottles. However, an increase in the concentration of compounds in cachaça stored in charred barrels was evident, and the sample of cachaça in a medium charred barrel was the one with the highest concentrations of contaminants.

**REFERENCES**

ANJOS, J. P.; CARDOSO, M. G.; SACZK, A. A.; ZACARONI, L. M.; SANTIAGO, W. D.; DÓREA, H. S.; MACHADO, A. M. R. Identificação do carbamato de etila durante o armazenamento da cachaça em tonel de carvalho (*Quercus* sp) e recipiente de vidro. **Química Nova**, São Paulo, V. 34, No. 5, 874-878, 2011.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Instrução normativa n.13, de 29 de junho de 2005a.**

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Instrução normativa n.24, de 08 de setembro de 2005b.**

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **A cachaça no Brasil: dados de registro de cachaças e aguardentes ano 2021**, 2021.

BORTOLETTO, A. M., **Influência da madeira na qualidade química e sensorial da aguardente de cana envelhecida.** Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz - 2016.

BORTOLETTO, Aline Marques; SILVELLO, Giovanni Casagrande; ALCARDE, André Ricardo. Good manufacturing practices, hazard analysis and critical control point plan proposal for distilleries of cachaça. **Scientia Agricola**, v. 75, n. 5, p. 432-443, 2018.

CARDOSO, M. G. Análises físico-químicas de aguardente. In: CARDOSO, M. G. **Produção de aguardente de cana.** 4 ed. Lavras: Editora UFLA, 2020.

CE. Regulamento (EU) n° 835/2011 da Comissão de 19 de agosto de 2011. **Jornal Oficial da União Europeia**, p. L 215/4 - L 215/8, 2011.

CRAVO, Francieli D. Carlos et al. Composition of Cachaças Produced from Five Varieties of Sugarcane and the Correlation of the Presence of Dhurrin in the Cane with That of Ethyl Carbamate in the Product. **American Journal of Plant Sciences**, v. 10, n. 2, p. 339-350, 2019.

D’ÁVILA, G.B., Storage of sugarcane spirit/cachaça produced from copper stills in stainless steel vats for a period of 20 years – Tese doutorado, 2019.

DA SILVA, Mariana C. et al. Simultaneous extraction of pesticides and polycyclic aromatic hydrocarbons in Brazilian cachaça using a modified QuEChERS method followed by gas chromatography coupled to tandem mass spectrometry quantification. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 67, n. 1, p. 399-405, 2018.

DOS SANTOS, Rosimeire Resende et al. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons and their nitrated and oxygenated derivatives in coffee brews using an efficient cold fiber-solid phase microextraction and gas chromatography mass spectrometry method. *Journal of Chromatography A*, v. 1584, p. 64-71, 2019.

GALINARO, C. A., FRANCO, D.W. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAH's) em cachaça, rum, uísque e álcool combustível. **Química Nova**, São Carlos, v. 32, n. 6, p. 1447-1451, 2009.

GARCIA, L. P. et al. Hidrocarbonetos policíclicos aromaticos em alimentos: uma revisão. **PUBVET**, Londrina, v. 8, n. 19, 2014.

GARCÍA-MORENO, M. Valme et al. Chemical content and sensory changes of Oloroso Sherry wine when aged with four different wood types. **LWT**, v. 140, p. 110706, 2021.

GUATEMALA-MORALES, G.M., Beltrán-Medina, E.A., Murillo-Tovar, M.A., et al., 2016. Validation of analytical conditions for determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in roasted coffee by gas chromatography–mass spectrometry. **Food Chem.** 197 (Part A), 747–753.

LEMMENS, AK, Rap, DB, Thunnissen, JMM et al. Química da formação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos em jato de plasma revelada por espectroscopia de ação por IR-UV. **Nat Commun** 11, 269, 2020.

MACHADO, Ana Maria de R. et al. Contamination of cachaça by PAHs from storage containers. **Food chemistry**, v. 146, p. 65-70, 2014.

MASSON, J.; CARDOSO, M. G.; VILELA, F. J.; PIMENTEL, F. A.; MORAIS, A. R.; ANJOS, J. P. Parâmetros físico-químicos e cromatográficos de aguardentes de cana queimada e não queimada. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 6, p. 1805-1810, 2007.

MENDONÇA, J. G. P. et al. Determination of ethyl carbamate in cachaças produced by selected yeast and spontaneous fermentation. **Journal of the Institute of Brewing**, London, v. 122, n. 1, p. 63-68, jan. 2016.

PORTUGAL, Cauré B. et al. How native yeasts may influence the chemical profile of the Brazilian spirit, cachaça?. **Food Research International**, v. 91, p. 18-25, 2017.

Purcaro, G., Moret, S., & Conte, L. S. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. **Encyclopedia of Food and Health**, 406–418, 2016.

RODRIGUES, Leonardo Milani Avelar et al. Organic contaminants in distilled sugar cane spirits produced by column and copper alembic distillation. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 7, p. e930974879-e930974879, 2020.

SANTIAGO, W. D., et al. Comparação do perfil físico-químico de cachaças envelhecidas em tonéis de carvalho (*Quercus* sp) e amburana (*Amburana cearensis*). **e-xacta**, v. 7, n. 2, p. 17-29, 2014.

SANTIAGO, Wilder Douglas; CARDOSO, Maria das Graças; NELSON, David Lee. Cachaça stored in casks newly constructed of oak (*Quercus* sp.), amburana (*Amburana cearensis*), jatoba (*Hymenaeae carbouril*), balsam (*Myroxylon peruiferum*) and peroba (*Paratecoma peroba*): alcohol content, phenol composition, colour intensity and dry extract. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 123, n. 2, p. 232-241, 2017.

SANTIAGO, Wilder Douglas et al. Determination of ethyl carbamate in cachaça stored in newly made oak, amburana, jatobá, balsa and peroba vats and in glass containers. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 123, n. 4, p. 572-578, 2017.

SINGH, Lochan; AGARWAL, Tripti. Polycyclic aromatic hydrocarbons in diet: Concern for public health. **Trends in Food Science & Technology**, v. 79, p. 160-170, 2018.

SOUZA, R. H. Z., Análises físico-químicas, identificação e quantificação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em cachaças envasadas s em garrafas de poli tereftalato de etileno. Dissertação de Mestrado - 2019.

TFOUNI, Silvia AV et al. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in cachaça by HPLC with fluorescence detection. **Food Chemistry**, v. 101, n. 1, p. 334-338, 2007.

VILELA, F. J. et al. Determinação das composições físico-químicas de cachaças do Sul de Minas Gerais e de suas misturas. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 4, p. 1089-1094, jul./ago. 2007.

WANG, Jian et al. Avaliação de contaminação e risco à saúde de PAHs em solos e plantações em áreas industriais da região do Delta do Rio Yangtze, China. **Chemosphere**, v. 168, p. 976-987, 2017.

WARREN-VEGA, Walter M. et al. Caracterização química do processo de maturação da tequila e sua relação com as propriedades físico-químicas do barril. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 98, p. 103804, 2021.

ZELINKOVA, Zuzana; WENZL, Thomas. The occurrence of 16 EPA PAHs in food—a review. **Polycyclic aromatic compounds**, v. 35, n. 2-4, p. 248-284, 2015.

ZACARONI, L. M. et al. Natural clay and commercial activated charcoal: Properties and application for the removal of copper from cachaça. **Food Control**, v. 47, p. 536-544, 2015.

ZELINKOVA, Z.; WENZL, T. The occurrence of 16 EPA PAHs in food—a review. **Polycyclic aromatic compounds**, v. 35, n. 2-4, p. 248-284, 2015.

ZOLFAGHARPOUR, Hamid Reza et al. Influência da temperatura, tamanho dos resíduos e tempo de permanência na geração de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos durante a rápida pirólise de resíduos médicos. **Jornal Cáspio de Ciências Ambientais**, p. 1-11, 2020.