

# Caracterização das Etapas de Produção de Cachaça por meio de Perfis Cromatográficos Obtidos por Cromatografia Gasosa Bidimensional Abrangente

**Zenilda de L. Cardeal\***

*Universidade Federal de Minas Gerais, Departamento de Química - ICEx  
31270-901 – Belo Horizonte (MG)*

**Philip J. Marriott**

*RMIT University, School of Applied Sciences, Australian Centre for Research on Separation Science  
GPO Box 2476V, Melbourne 3001  
Austrália*

## Resumo

Amostras de cachaça foram estudadas por meio de Cromatografia Gasosa Bidimensional Abrangente, com Detector de Espectrometria de Massas por Tempo de Voo (GCxGC/TOFMS), durante o processo de fermentação e após o envelhecimento em diferentes tipos de madeira. As análises dos compostos do aroma foram realizadas pelo método de microextração em fase sólida no modo *headspace* (HS-SPME), usando uma fibra de poliacrilato (PA) de 85  $\mu\text{m}$ .

O monitoramento do tipo impressão digital da destilação permitiu a fácil determinação dos pontos de viragem do processo e a comparação de alta resolução das frações cabeça, coração e cauda. O processo de envelhecimento em diferentes tipos de madeira foi bem caracterizado por meio de observações de similaridade de impressão digital. Na ausência de uma métrica adequada para exprimir a semelhança global, foram usadas comparações visuais e de tempo de retenção para identificar picos coincidentes e divergentes entre as amostras. Para efeito de controle de qualidade, uma simples observação dos diagramas de contorno obtidos pode, portanto, permitir a identificação do tipo de madeira utilizada no processo de envelhecimento e do processo de envelhecimento, sem tratamento estatístico ou identificações de pico. Dessa forma, foram encontrados facilmente picos que eram mais discriminantes entre as diferentes misturas estudadas, ou seja, compostos exclusivos foram identificados em cada etapa do processo de destilação. Os índices de retenção linear (I) para tais compostos identificados foram calculados em um conjunto de colunas bidimensional polar/não-polar definida na parte experimental e foram usados em conjunto com a biblioteca de massa espectral para a tentativa de identificação dos compostos. Ao longo do processo de destilação, 70 compostos puderam ser visualmente discriminados entre amostras, e seus índices de retenção apresentaram boa correlação com dados da literatura.

## Palavras-chave

Cromatografia Gasosa Bidimensional Abrangente; cachaça; microextração em fase sólida; compostos orgânicos voláteis; impressão digital.

## Abstract

Cachaça samples were studied by means of comprehensive two-dimensional gas chromatography and time-of-flight mass spectrometry (GC×GC/TOFMS) during the fermentation process, and after ageing in different wood materials. The analyses of the aroma compounds were performed after headspace-solid phase microextraction method (HS-SPME) using an 85 µm polyacrylate (PA) fiber.

Fingerprint monitoring of the distillation process allowed the easy determination of the turning points of the process and high resolution comparison of cabeça (head), coração (core) and cauda (tail) fractions. The ageing process in different wood materials was well characterized through fingerprint similarity observations. In the absence of a suitable metric for expressing the overall similarity, here we use visual and retention time comparison to identify coincident peaks and those that differ between samples. For quality control purposes, a simple observation of the contour plots can thus allow the identification of the type of wood used in the ageing process, and the process of ageing, without further statistical treatment or peak identification. In this manner, the most discriminating peaks among different mixtures were readily identified, that is to say, unique compounds were identified in each stage of the distillation process. Approximate first dimension linear retention indices (I) for these identified compounds were calculated in a bi-dimensional polar/non-polar column set in the GC×GC experiment, and were used in conjunction with mass spectral library searching for tentative identification. Along the progression of the distillation process, 70 compounds appear to visually discriminate between samples and their retention indices are indicated, presenting good correlation with literature data.

## Keywords

Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography; Cachaça; Volatile Organic Compounds; SPME; GC×GC/TOFMS; Fingerprinting.

## 1 Introdução

A bebida alcoólica brasileira de cana de açúcar, popularizada como cachaça, é licor destilado diretamente a partir do suco da cana de açúcar não refinado. A cachaça foi produzida pela primeira vez por colonos portugueses do Brasil, por volta de 1540. Trabalhadores locais de engenhos de açúcar constataram que o suco de cana de açúcar (garapa), cozido e deixado em repouso, era fermentado e se transformava em uma suave bebida alcoólica. O produto, denominado cagaça, era consumido por escravos, como um substituto barato para o cauim dos nativos. Logo após, a tecnologia de destilação foi introduzida ao processo de fermentação bruta e, assim, a bebida conhecida como cachaça foi produzida [1]. O processo de produção de aguardente de cana de açúcar inicia-se com o corte de cana (exceto com a cana verde que produz metanol) e a extração de seu suco completamente limpo. A primeira fase da fermentação é chamada artesanal, quando o fermento para a produção de cachaça é preparado com uma mistura de milho triturado, limões, arroz e amido. As fontes de substratos complementares são os

ingredientes que se associam ao caldo da cana para transformá-lo em vinho, com graduação alcoólica, por meio da fermentação espontânea (leveduras naturais que estão no ar) à temperatura ambiente por 12–24 h. Em seguida, o suco de cana de açúcar é adicionado ao caldo até que fique submerso e é deixado em repouso por mais de 24 h [2]. Para a destilação, o suco fermentado é transferido para o alambique, aquecido e destilado em um processo de estágio único para aumentar o teor de álcool. No início, o destilado possui teor alcoólico muito alto, cerca de 75 g L<sup>-1</sup>, e contém metanol (entre outros compostos de baixa massa molecular, como aldeídos e éteres). Perto do final, o destilado não tem quase nenhum etanol. A fim de se obter um produto de alta qualidade, são coletadas apenas as frações que apresentam um montante de etanol entre 38 e 68 g L<sup>-1</sup>. Essas frações são chamadas de coração. O critério de coleta da fração, efetuado de acordo com o conteúdo de etanol, não é confiável porque ligeiras modificações no processo de produção de cachaça podem produzir grandes diferenças para a quantidade de etanol [2]. Após a destilação, a aguardente de cana-de-açúcar pode ser engarrafada ou envelhecida

de 6 a 18 meses, ou por mais tempo, de acordo com o tipo de madeira usado para fabricação do barril. Existem muitos tipos de madeira, as brasileiras empregadas são amburana (*Amburana cearencis*), jequitibá e jequitibá-rosa (*Cariniana estrellensis*), ipê (*Tabebuia genus*) e bálsamo (*Myrocarpus frondosus avium e Prunus cerasus*), e a estrangeira é o carvalho (*Quercus genus*) [3].

Um método rápido, que possa mostrar as diferenças entre amostras de cachaça envelhecidas em diferentes tipos de madeira, seria muito útil para aplicações industriais, a fim de garantir a qualidade da bebida e evitar fraudes, como a adição de corantes, de sabores ou de outros tipos de madeira, diferentes daquelas comunicadas pelo produtor. O Brasil é um dos principais produtores e consumidores de bebidas alcoólicas, com uma produção anual no montante de 1,3 bilhões de litros de cachaça. Duzentos milhões de litros [1] da cachaça são produzidos a partir de milhares de pequenas fábricas espalhadas por todo o país, sendo o Estado de Minas Gerais considerado como o melhor fornecedor de cachaça artesanal. Há um interesse generalizado no estabelecimento de normas de qualidade para a bebida, como frequentemente declarado pelos setores acadêmicos e industriais, governo e as associações de produtores. As características físico-químicas e organolépticas de cachaça dependem de vários fatores relativos à fermentação, condições de envelhecimento, entre outros [2, 4]. Essa bebida pode ser descrita como uma mistura complexa de compostos em uma matriz de etanol-água, tais como alcoóis superiores alifáticos e aromáticos, etil ésteres, aldeídos, uma série de compostos aromáticos e terpenos [5-7]. O método de amostragem por microextração em fase sólida (SPME) foi anteriormente aplicado a análises comparativas e desempenha um importante papel para realizar análises de controle de qualidade, bem como para a determinação de adulteração na indústria alimentar. Vinaixa e colaboradores [8] analisaram o ranço de batatas fritas usando SPME, e os resultados obtidos foram investigados estatisticamente por meio de análise de discriminante linear (LDA). SPME foi também utilizada em estudos de óleo de lúpulo [9], usando análise PCA (análise de componentes principais) como uma ferramenta estatística para

determinar e verificar variedades de lúpulo. Em bebidas destiladas, tais como vinhos, uma análise de impressão digital foi realizada [10] para classifica-los pela variedade, origem e idade. No referido estudo, os compostos orgânicos voláteis (VOC) foram extraídos por SPME e estudados diretamente por espectrometria de massas. Os dados de espectrometria de massas obtidos foram analisados, e as diferenças entre os vinhos de acordo com os padrões de fragmento de massa obtidos foram estatisticamente determinadas. No entanto, nenhuma atribuição de pico foi possível, uma vez que a amostra não foi submetida a uma separação cromatográfica.

A determinação de VOC em bebidas destiladas é realizada com mais frequência por métodos de cromatografia a gás, usando uma técnica de separação e de pré-concentração. A extração líquido-líquido requer, em geral, o uso de uma variedade de solventes orgânicos em experimentos de múltiplas etapas [11-13]. Além disso, parte do solvente deve ser parcialmente removida antes da análise cromatográfica, a fim de concentrar o extrato final, podendo ocorrer perda por evaporação de alguns dos componentes mais voláteis. Isso frequentemente mascara importantes compostos característicos que apresentam pontos de ebulição muito baixos, como alcoóis de baixas massas moleculares, éteres e compostos carboxílicos. A extração em fase sólida (SPE), embora menos demorada, apresenta desvantagens semelhantes às da extração líquida, uma vez que é necessário o uso de solventes para a eluição dos compostos da fase estacionária [13]. Em um estudo anterior, um método SPME no modo *headspace* foi desenvolvido para a determinação de compostos secundários de cachaça brasileira por cromatografia a gás com detector de ionização em chama (GC/FID) e por cromatografia a gás com detector de espectrometria de massas (GC/MS) [6]. Esse estudo demonstrou o bom desempenho da SPME para analisar os VOC na cachaça, mas uma limitada resolução é observável por meio dos cromatogramas apresentados, sugerindo que uma técnica mais poderosa de separação deveria ser usada para uma adequada caracterização dos VOC em cachaças. Maior resolução também facilita a identificação rápida dos componentes que diferenciam amostras

e, então, auxilia na comparação de impressão digital. A cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GC×GC) com detecção não seletiva de ionização em chama (FID) ou seletiva por espectrometria de massa por tempo de voo (TOFMS) parece ser um método ideal para essa finalidade. GC×GC envolve o uso de duas colunas com diferentes características de separação, serialmente acopladas por uma interface adequada que permite que os picos da coluna principal possam ser transferidos para a segunda coluna para uma separação adicional. A focalização obtida por esse processo de modulação reduz a largura de pico e, assim, a altura do pico e a sensibilidade aumentam [14-18].

Neste trabalho, as amostras de cachaça foram produzidas por metodologia artesanal em uma fábrica localizada no Estado de Minas Gerais, Brasil. Esse estado é responsável por uma produção de cachaça de cerca de 100.000 litros por ano. Frações voláteis das amostras de cachaça foram estudadas com amostras colhidas durante o processo de destilação. Elas foram analisadas por meio de HS-SPME-GC×GC/TOFMS, com um sistema criogênico longitudinalmente modulado (LCMS) [15, 19], utilizado como interface para análise GC×GC, conforme descrito anteriormente para análises de aromas [20-22].

## 2 Parte experimental

### 2.1 Amostras de Cachaça

Todas as amostras de cachaça foram obtidas de uma fábrica de Belo Horizonte, Minas Gerais. A produção segue a metodologia tradicional (artesanal) para a produção de cachaça.

O sistema SPME manual e a fibra de poliacrilato (PA) de 85 µm foram comprados da Supelco (Bellefonte, PA, USA). Antes de usar, as fibras foram condicionadas de acordo com as instruções do fabricante. As fibras foram expostas à fase gasosa da amostra por um tempo de absorção de 25 min a 60 °C, sendo, em seguida, introduzidas no injetor do GC para permitir a dessorção térmica das substâncias a serem analisadas, na temperatura de 240 °C, por período de 3 min, com um tempo de não divisão de 30 s, de acordo com o trabalho anterior [6].

Para o procedimento de SPME, uma alíquota de 4,00 mL de amostra de cachaça foi usada. Essa alíquota foi diluída em água num balão volumétrico de 50,00 mL, com o acréscimo de 2,5 g de cloreto de sódio [6]. Uma alíquota de 10,0 mL foi introduzida em frascos de vidro Pyrex de 20 mL, que foram imediatamente selados com tampas de alumínio contendo septos de Teflon. Para a amostra em branco, o mesmo procedimento foi executado sem adição de cachaça no balão volumétrico. Para determinação de índices de retenção, as amostras foram fortificadas com 3,0 µL de uma solução de hidrocarbonetos (C9-C22) de 10,0 mg L<sup>-1</sup> em hexano.

### 2.2 Equipamento

O sistema GC×GC/TOFMS era constituído por um cromatógrafo HP 6890 (Agilent Technologies, Burwood, Austrália) e um espectrômetro de massas por tempo de voo Pegasus III (LECO, São José, MI, EUA). Para implementar o processo de modulação, um sistema criogênico longitudinalmente modulado (LMCS; Chromatography Concepts, Doncaster, Austrália) foi usado, sendo operado com um período de modulação de 6 s, com uma temperatura de trap criogênico de -20 °C. O TOFMS foi operado a uma taxa de aquisição de 100 Hz, usando um intervalo de massas de 45–415 u e uma tensão de 1700V. Os dados foram processados pelo programa da LECO Corp ChromaTOF™ software.

O conjunto de colunas usado para os experimentos de GC×GC era composto por uma coluna primária de fase BPX5 (5% fenil-dimetilpolisiloxano) de 30 m × 0,25 mm de diâmetro interno × 0,25 µm de espessura de filme (df), diretamente ligada a uma segunda coluna de fase BPX20 (polietilenoglicol) de 1,5 m × 0,1 mm de diâmetro interno × 0,1 µm de espessura de filme (df). Ambas as colunas eram da SGE internacional (Ringwood, Austrália). O programa de temperatura do forno começou com 35 °C por 5 min e foi, depois, aumentado para 210 °C com taxa de 3 °C min<sup>-1</sup>; em seguida, a 240 °C a 40 °C min<sup>-1</sup>, permanecendo por 10 min nessa temperatura. Hélio foi usado como gás de arraste em um fluxo de 1,3 mL min<sup>-1</sup>. A coluna da linha de transferência para o sistema GC×GC/TOFMS era uma coluna de sílica fundida

vazia de 0,50 m com 0,1 mm de diâmetro interno (0,21 m dentro da linha de transferência e 0,29 m dentro do forno) da SGE internacional.

A comparação inicial dos resultados de GC×GC foi empreendida sobrepondo os respectivos diagramas de contorno para identificar os componentes que eram comuns para as duas amostras comparadas, ou que eram exclusivos para qualquer uma das amostras. Os compostos exclusivos puderam, em seguida, ser mais facilmente identificados por meio de pesquisa na biblioteca de massa espectral. Cálculos do índice de retenção suportaram a tentativa de identificação de cada composto. A técnica GC×GC possibilitou a distinção de amostras que não seriam resolvidas em GC monodimensional convencional devido as co-eluições na 1D.

### 3 Resultados e discussão

Um processo de destilação de um lote de cachaça foi seguido por meio de GC×GC/TOFMS. Durante tal processo, foram colhidas três amostras de diferentes fases da destilação: cabeça, coração e cauda. Em prática comum do processo de destilação, a cabeça (5% a 10% do total destilado) e as frações de cauda (10% a 15% do total destilado) são descartadas. Em geral, a primeira fração contém etanol como principal constituinte e outros alcoóis voláteis e semivoláteis, aldeídos, ésteres e compostos oxigenados que estão associados a efeitos tóxicos [23]. Os grandes contribuintes da última fração, com maior teor de água, são alcoóis mais pesados e não são permitidos na produção de cachaça. A Figura 1a-c, mostra uma sequência de três diagramas de contorno que reflete a evolução do processo de destilação. Em geral, só os compostos que visualmente diferem de amostra para amostra, e assim são exclusivos para cada amostra, são indicados em cada diagrama de contorno. Esses componentes estão identificados na Tabela 1, onde a identificação foi feita comparando-se os espectros obtidos com as bibliotecas de base de dados para espectros de massa, Adams e NIST 98. Os respectivos índices de retenção foram calculados de acordo com a equação de Van Den Dool e de Kratz [24], e os índices

de retenção teóricos utilizados foram os que estavam disponíveis na literatura [25-27], e que também estão listados.

A fração cabeça mostra, como esperado, uma maior contribuição de compostos mais voláteis. Etanol, que não consta no diagrama de contornos apresentado, pois a varredura em massas foi iniciada após sua eluição, é o principal contribuinte em todas as frações. Daí o etanol ser de pouco interesse em um sentido comparativo. Só na primeira fração pode-se observar a presença de isobutanol, acetato de etila e propanoato de etila, 3-metil-butan-1-propanol (5) e 2-metil-butan-1-propanol (6), os quais estão em quantidade muito reduzida na fração de cauda comparativamente à fração coração. Enquanto o 2-hidroxipoli-etilpropanoato (9) aumentou sua concentração da primeira até a última amostra, os compostos 7, 8 e de 10 a 25 (ver Tabela 1) praticamente desapareceram na mesma sequência. Isso demonstra que as fases iniciais do processo de destilação eliminam os componentes mais voláteis do licor mãe, alguns deles sendo reconhecidamente contribuintes negativos para as características organolépticas do aroma da cachaça [23], como é o caso dos compostos de éter com radicais etóxi (normalmente associados com produtos de degradação de tanino [28]), ou os alcoóis de baixa massa molecular; ambas as classes normalmente associadas com notas aromatizadas “verdes”. Por outro lado, o processo de destilação também elimina outros compostos que podem ser importantes para características organolépticas positivas da cachaça, tais como os ésteres, normalmente associados com atributos frutados e agradáveis. Comparando os diagramas de contorno, pode-se observar a evolução do processo de destilação por meio das frações recolhidas, em que a primeira fração (Figura 1A) é mais rica em compostos mais voláteis, e a última (Figura 1C), em componentes menos voláteis.

A fração coração (Figura 1B), que é a origem da cachaça final, selecionada como a bebida produzida, é mais rica em compostos semivoláteis, sendo composta principalmente de sesquiterpenos e ésteres. Esses são geralmente considerados como colaboradores de sabores essenciais de muitos produtos naturais. Uma vez que o objetivo deste

trabalho é a diferenciação entre amostras por meio de discriminação visual, uma descrição detalhada da composição de voláteis não é apresentada. No entanto, usando-se GC×GC, mais compostos foram encontrados e separados do que quando se empregou 1D GC, anteriormente [6] aplicado à análise de amostras de cachaça usando-se o mesmo processo de extração. A fração coração, quando comparada com o produto final (diagrama de contorno superior, Figura 2), revela uma semelhança significativa na constituição de compostos ou padrão global. Esse

produto final é constituído por todas as frações recolhidas no meio do processo de destilação, que é o motivo pelo qual ele apresenta mais picos na zona de semivoláteis que a amostra coração. A amostra coração, apresentada na Figura 1B, constitui apenas uma alíquota discreta de uma fração entre todas as outras que são coletadas no meio do processo de destilação. No entanto, em ambos os diagramas de contorno, os compostos mais voláteis e os compostos mais pesados estão praticamente ausentes.

**Tabela 1.** Tentativa de identificação dos picos mostrados na Figura 1 com base na comparação dos seus espectros de massa com bancos de dados de referência (MS) e índices de retenção (*I*) [25,26], após análise por HS-SPME-GC×GC/TOFMS. Os tempos de retenção nas colunas 1D ( $^1t_R$ ) e colunas 2D ( $^2t_R$ ) são mostrados. Os índices de retenção calculados foram obtidos com base em tempos de retenção no conjunto de colunas.

Pico	$^1t_R$	$^2t_R$	Composto	Fragmentação m/z	Literatura <i>I</i>	Calculado <i>I</i>
1	408	1.65	2-Metil-propan-1-ol		647	670
2	414	1.61	Etil acetato		628	670
3	630	1.71	Etil propanoato		717	726
4	648	1.42	1,2-Dietoxietano		734	738
5	684	5.05	3-Metilbutan-1-ol		741	749
6	720	4.6	2-Metilbutan-1-ol		736	759
7	816	1.75	Isobutil acetato		776	783
8	912	1.73	Etil butanoato		804	810
9	960	5.54	2-Hidroxietil propanoato		813	824
10	1086	1.4	1,1-Dietoxi-2-metil-propano		865	859
11	1098	1.70	Etil-3-metilbutanoato		858	861
12	1182	1.87	3-Metilbutanol acetato		876	885
13	1194	1.81	2-Metilbutil acetato		880	888
14	1260	2.66	Ciclooctatetraeno		889	907
15	1278	3.17	Heptan-2-ol		896	912
16	1428	1.43	1,1-Dietoxi-3-metil-butano		959	953
17	1428	1.42	1,1-Dietoxi-2-metil-butano		939*	953
18	1488	1.48	1-(1-Etoxi)pentano		1004*	970
19	1578	1.56	1,1-Dietoxipentano		1004*	995
20	1614	1.93	Etil hexanoato		998	1005
21	1626	2.98	Octan-2-ol		995	1009

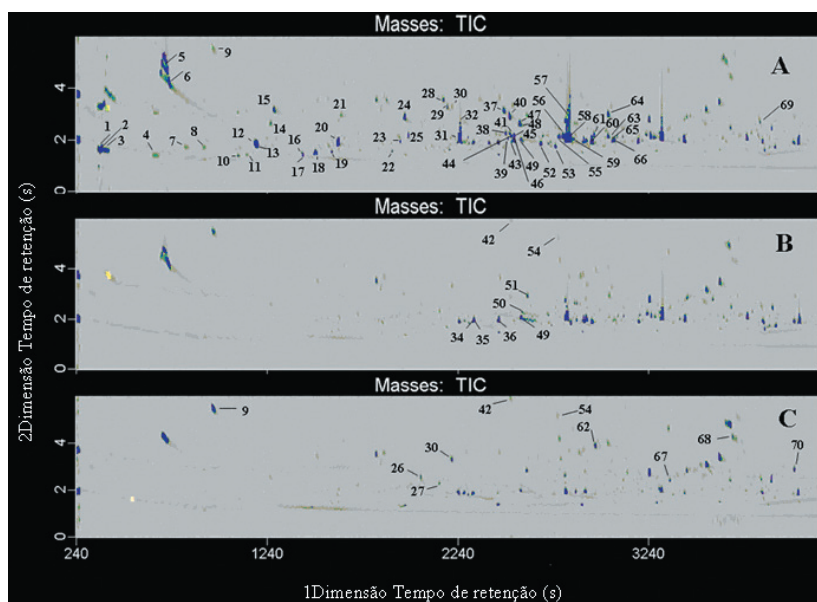
Tabela1 (continuação)

Pico	$^1t_R$	$^2t_R$	Composto	Fragmentação m/z	Literatura I	Calculado I
22	1896	1.59	1,1-Dietoxihexano		1003*	1092
23	1938	1.95	Etil heptanoato		1099	1106
24	1962	2.87	Nonan-2-ol		1100	1113
25	1974	2.10	Nonanal		1104	1118
26	2070	1.72	2-Feniletanol		1107	1140
27	2142	2.38	Tetra-metil substituído benzeno	M <sup>+</sup> 134 (36), 119 (100), 103 (8), 91 (37), 77 (22), 65 (13), 51 (17)	-	1171
28	2166	3.55	Benzeno C4- substituído	M <sup>+</sup> 134 (89); 119 (68), 91 (100), 65 (72), 51 (25)	-	1179
29	2184	3.27	Nonan-1-ol		1169	1185
30	2208	3.32	Dietil butanodioato		1179	1192
31	2244	2.06	Etil octanoato		1197	1204
32	2274	2.72	Decan-2-ol		1198	1215
33	2286	2.30	2-(4-Metil-1-ciclohex-3-enil) propan-2-ol		1195	1219
34	2316	1.91	3-Butilcicloheptan-1-ona		1370*	1229
35	2222	1.83	Trimetil 1,2,3,4-tetrahidro-naftaleno		-	1231
36	2322	1.950	Trimetil 1,2,3,4-tetrahidro-naftaleno		-	1277
37	2478	3.15	Decan-1-ol		1270	1286
38	2490	2.26	n.i.	M <sup>+</sup> 166 (13); 56 (61), 67 (77), 81 (100), 98 (72), 137 (33)	-	1289
39	2502	2.05	Etil non-3-enoato (isômero)		1290*	1294
40	2508	2.94	Undec-10-en-1-ol (isômero)		1285*	1296
41	2514	2.25	n.i.	M <sup>+</sup> 166 (13); 56 (61), 67 (77), 81 (100), 98 (72), 137 (32)		1298
42	2520	0.01	4-Etil-2-metoxi-fenol		1287	1299
43	2520	2.01	Propil octanoato		1277	1300
44	2520	2.150	Etil non-3-enoato (isômero)		1272*	1300
45	2532	2.27	Etil nonanoato		1296	1304
46	2544	2.15	Undecan-2-ona		1294	1306
47	2561	2.95	Undecen-2-ol (isômero)		1295*	1314

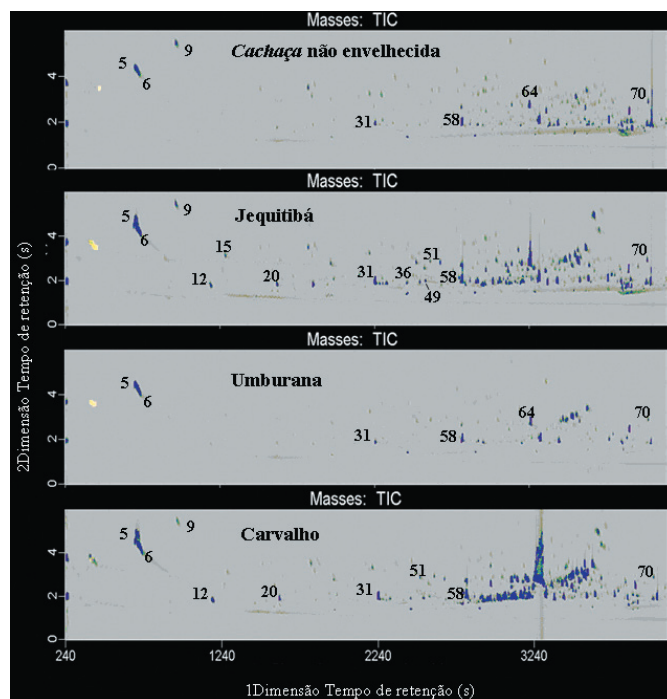
Tabela1 (continuação)

Pico	$^1t_R$	$^2t_R$	Composto	Fragmentação m/z	Literatura I	Calculado I
48	2562	2.83	Undecan-2-ol		1311	1315
49	2574	2.02	Tetrametil, 2,3-dihidro-1H-indeno		-	1319
50	2604	2.93	Anisole	M <sup>+</sup> 180 (14); 165 (89), 137 (100), 109 (57), 91 (48), 77 (60), 65 (36)	-	1330
51	2676	1.85	2-Metilpropil octanoato		1348	1355
52	2748	1.76	1,1-Dietoxinonano		1401*	1381
53	2766	5.250	2-Metoxi-4-propil-fenol		1369	1386
54	2772	2.12	(E)-Etil dec-4-enoato		1382	1389
55	2790	2.15	Etil dec-9-enoato (isômero)		1389	1396
56	2820	3.01	n.i.	97 (100); 45 (25)	-	1407
57	2826	2.00	Etiyl decanoato		1396	1409
58	2844	2.04	Decil-acetato		1408	1416
59	2934	1.9	3-Metilbutil octanoato		1446	1453
60	2952	2.18	Etil dec-2-enoate (isômero)		1389*	1458
61	2964	3.95	n.i	M <sup>+</sup> 192 (3); 91 (100), 105 (55), 133 (52), 177 (66), 159 (83)	-	1461
62	3012	2.12	Etil undecenoato (isômero)		1471*	1481
63	3024	3.03	n.i	55 (60); 67 (64); 79 (100); 93 (31); 107 (23)		1486
64	3048	3.31	Propyl decanoate		1493	1495
65	3060	2.00	Ethyl undecanoate		1479	1500
66	3348	2.46	n.i.	M <sup>+</sup> 218 (7) ; 115 (41), 128 (44), 142 (28), 157 (100), 172 (35), 189 (11) 203 (8)	-	1621
67	3666	4.48	(E)-Etil-tetradecanoato (isômero)		-	1770
68	3822	2.71	C15-Etil ester	M <sup>+</sup> 270 (2); 55 (40), 73 (22), 88 (100), 101 (51), 115 (6), 157 (10)	-	1852
69	3822	2.71	C15-etil ester	M <sup>+</sup> 270 (2); 55 (40), 73 (22), 88 (100), 101 (51), 115 (6), 157 (10)	-	1852
70	4002	2.91	Ftalato (impureza do branco)		-	1991





**Figura 1** . Diagramas de contorno GCxGC/TOFMS de extratos HS-SPME de amostras coletadas durante a destilação de cachaça. A: diagrama de contorno obtido para a primeira fração (cabeça) com elevado teor de etanol (não mostrado; a varredura de massas começa após a eluição de etanol) e os compostos mais voláteis e semivoláteis. B: coração, fração empobrecida de compostos mais voláteis e mais rica em compostos semivoláteis. C: cauda, fração correspondente ao fim da destilação com alto teor de água e menos compostos voláteis. Numeração de pico e atribuição (provisória), tal como apresentado na Tabela 1. Para condições cromatográficas, ver texto.



**Figura 2** . Diagramas de contorno GCxGC/TOFMS de extratos HS-SPME de amostras coletadas durante a destilação de cachaça. A: diagrama de contorno obtido para a primeira fração (cabeça) com elevado teor de etanol (não mostrado; a varredura de massas começa após a eluição de etanol) e os compostos mais voláteis. B: coração, fração empobrecida de compostos mais voláteis e mais rica em compostos semivoláteis. C: cauda, fração correspondente ao fim da destilação, com alto teor de água e menos compostos voláteis. Numeração de pico e atribuição (provisória), tal como apresentado na Tabela 1. Para condições cromatográficas, ver texto.

O controle do processo de destilação, ou seja, a identificação dos pontos de viragem da destilação da cachaça é uma tarefa desafiadora, visto que é necessária a eliminação de compostos tóxicos e, ao mesmo tempo, a eliminação dos importantes constituintes de impacto do aroma, garantindo, no entanto, que o conteúdo de etanol se mantenha entre 38 e 68% (g 100 mL<sup>-1</sup>). Na indústria de cachaça, a seleção e a remontagem das diferentes fases de destilação são controladas pelo tempo, com base em critérios básicos. Isto exige significativa experiência do operador a fim de habilitá-lo a distinguir e reconhecer, empiricamente, cada fração de destilação e a preservar ou garantir a qualidade do produto final. Essa metodologia está longe de ser precisa, não possui conhecimento objetivo sobre a composição efetiva de cada destilado e, provavelmente, depende em grande medida de amostragem olfatória e degustatória.

O uso do sistema GC×GC possibilita identificar claramente os diferentes pontos de viragem do processo de destilação por simples visualização e comparação dos diagramas de contorno. Tal metodologia pode ser aplicada para uso industrial pelo simples acompanhamento do processo de destilação, tornando fácil, por exemplo, a identificação dos principais compostos que não devem estar presentes no produto final, tornando possível a rejeição de uma fração particular. Cada fração pode ser monitorada pela análise GC×GC que, em uma rápida corrida otimizada, pode dar uma definição de perfis precisos ou padrão de composição do aroma de uma fração particular. Em outras palavras, uma impressão digital facilmente reconhecível, que representa a composição do destilado, é fornecida e auxilia na decisão relativa a coleta ou as descarte, de acordo com os parâmetros considerados aceitáveis pelo produtor. Uma vez identificados, os principais compostos, que claramente distinguem diferentes destilados e compreendem as qualidades organolépticas individuais desejáveis dessas frações, podem ser coletados e reagrupados na cachaça.

Outra importante aplicação da abordagem de impressão digital é a comparação entre diferentes diagramas de contorno obtidos a partir da mesma cachaça submetida a três processos de envelhecimento diferentes em três diferentes matrizes

de madeira. A Figura 2 mostra uma sequência de quatro diagramas de contorno, representando, no primeiro, a cachaça original e, nos três outros, o resultado do envelhecimento em três diferentes tipos de madeira. Entre os três tipos de madeira estudados, o diagrama de contorno correspondente à amburana mostra uma considerável redução de compostos quando comparado com o da cachaça original e também com os dos outros tipos de madeira empregados. Isso é consistente com o fato de que, em contraste com as outras duas madeiras, a amburana se caracteriza por diminuir a acidez, suavizar o sabor e manter a cor do licor. Por outro lado, jequitibá e carvalho promovem fortes alterações de sabor e cor. Todos eles contribuem para a diminuição do teor de álcool e de volume. Também não é surpreendente que cada tipo de madeira gere uma impressão de sabor diferente daquele do produto original, que deve ser quimicamente identificável e que deve se refletir claramente na visualização dos diagramas de contorno. Aparentemente a contribuição de cada madeira para a composição volátil da cachaça, proveniente de reação/extração entre o destilado e a madeira durante o período de armazenamento, varia significativamente, produzindo, assim distintos diagramas de contorno. O maior número de picos ocorre na cachaça envelhecida em carvalho e isso pode estar associado ao fato de a amostra ter sido envelhecida por um período de tempo mais longo (trinta meses) em comparação com a maturação de doze meses nos outros tipos de madeira. Pode também depender da idade do barril (e da madeira). Isso sugere que a metodologia proposta pode ser usada para impressão digital dos muitos perfis químicos que resultam de parâmetros ambientais/químicos e envelhecimento durante a produção de bebidas.

Uma evidente aplicação dos protótipos gerados pelo GC×GC e as informações que incluem esses protótipos (por exemplo, área do pico ou mesmo dados de espectrometria de massas) são as possíveis seleções de variáveis (picos) para análise multivariada, tais como a análise de componentes principais (PCA). Um aplicativo pode ser, por exemplo, caracterizar os efeitos dos distintos tipos de madeira à mesma madeira de origens diferentes, ou mesmo a diferentes tempo de envelhecimento. Para os estudos da PCA,

em que objetos (amostras) caracterizam-se em um espaço bidimensional por meio de combinações lineares das variáveis independentes (componentes principais), GC×GC oferece uma abordagem mais adequada ou confiável para gerar um banco de dados da composição química de cada amostra [29]. Dois mecanismos de separação diferentes e independentes, em duas colunas analíticas com polaridades diferentes, separam compostos em um espaço bidimensional. A ortogonalidade do sistema reduz coeluição e melhora a qualidade da seleção de variáveis para a caracterização do objeto em estudos multivariados. A vantagem é clara, já que, em vez de um demorado julgamento para determinar quais variáveis devem ser consideradas para o estudo PCA [30], a seleção agora pode se tornar tão simples como comparação ou inspeção dos diagramas de contorno. O processo de validação total pode ser realizado de forma mais rápida. Embora essa abordagem não mostre implicitamente identificação dos compostos em cada amostra, mas apenas a distribuição de picos no espaço 2D, a identificação é ainda um objetivo necessário, já que ela dará um significado químico para as diferentes amostras. Novamente, para dados GC×GC com detecção MS, os espectros de massas obtidos são espectros de compostos puros ou quase puros, por meio da redução de coeluições que diminui ambiguidades e identificações duvidosas.

#### 4 Conclusões

A cromatografia gasosa bidimensional abrangente permite fácil comparação entre amostras provenientes de acompanhamento da produção de cachaça. Ela é adequada para verificar a progressão do processo de destilação, reduzindo a dependência de métodos estatísticos, a fim de identificar os pontos de viragem do processo de destilação. Materiais de madeira de armazenamento e o período de envelhecimento podem também ser monitorados, tornando esse método adequado para a análise de qualidade do produto. Isso pode ser estendido para aplicações, tais como inspeção de práticas fraudulentas e substituição de produtos, tendo ramificações de alto valor agregado aos produtos ou àqueles alegadamente

feitos com processos mais caros. Impressões digitais oferecem uma maneira simples e rápida para obter uma caracterização essencialmente completa da amostra, uma vez que a amostragem, a extração e a análise levam aproximadamente de 1-2 h por amostra (se no laboratório local tais facilidades estão disponíveis), sugerindo que os operadores ainda inexperientes podem ser capazes de realizar a tarefa de garantia da qualidade. Capacidade de reconhecer visualmente padrões deve ser a única habilidade necessária à produção industrial, monitoramento, controle de qualidade e certificação.

#### Referências Bibliográficas

1. A. G. H. Lea, J. R. Piggott, *Fermented Beverage Production*, 2nd Edition, New York, Kluwer Academic/Plenum Publisher, cap 15,335 (2003).
2. M. A. Vicente, L. G. Fietto, I. de Miranda Castro, A. N. Gonçalves dos Santos, M. X. Coutrim, R. L. Brandão, *Int. J. Food Microbio.* 108,51(2006).
3. P. P. de Souza, H. G. L. Siebald, D. V. Augusti, W. B. Neto, V. M. Amorim, R. R. Catharino, M. N. Eberlin, R. Augusti, *J. Agric. Food Chem.* 55,2094(2007).
4. R. F. Nascimento, J. C. Marques, B. S. Lima Neto, D. De Keukeleire, D. W. Franco, *J. Chromatogr. A* 782,13(1997).
5. R. F. Nascimento, D. R. Cardoso, B. S. L. Neto, D. Franco, *Chromatographia* 48,757(1998).
6. E. A. Nonato, F. Carazza, F. C. Silva, C. R. Carvalho, Z. L. Cardeal, *J. Agric. Food Chem.* 49,3533(2001).
7. M. D. C. A. De Souza, P. Vasquez, N. L. Del Mastro, T. E. Acree, E. H. Lavin, *J. Agric. Food Chem.* 54,485(2006).
8. M. Vinaixa, A. Vergara, C. Duran, E. Llobet, C. Badia, J. Brezmes, X. Vilanova, X. Correig, *Sensor Actuat. B-Chem.* 106,67(2005).
9. M. Kovacevic, M. Kac, *J. Chromatogr. A* 918,159(2001).
10. M. P. Marti, O. Busto, J. Guasch, *J. Chromatogr. A* 1057,211(2004).
11. J. Villén, F. J. Señoráns, G. Reglero, M. Herraiz, *J. Agric. Food Chem.* 43,717 (1995).
12. R. Eisert, K. Levsen, *J. Chromatogr. A* 733,143(1996).
13. P. L. Buldinia, L. Ricci, J. L. Sharma, *J. Chromatogr. A* 975,47(2002).
14. W. Bertsch, *J. High Resol. Chromatogr.* 23,167(2000).
15. P. J. Marriott, R. Shellie, *Trends Anal. Chem.* 21,573(2002).
16. J. Dallüge, J. Beens, U. A. Th Brinkman, *J. Chromatogr. A* 1000,69(2003).
17. T. Górecki, J. Harynuk, O. Panić, *J. Sep. Sci.* 27,359(2004).
18. M. Adahchour, J. Beens, R. J. J. Vreuls, U.A.Th. Brinkman *Trends Anal. Chem* 25,438(2006)

19. P. J. Marriott, R. M. Kinghorn. *Anal. Chem.* 69,2582(1997).
20. X. Di, R. A. Shellie, P. J. Marriott, C. W. Huie, *J. Sep. Sci.* 27,451(2004).
21. D. Ryan, P. Watkins, J. Smith, M. Allen, P. Marriott, *J. Sep. Sci.* 28,1075(2005).
22. G. Eyres, J. –P. Dufour, G. Hallifax, S. Sotheeswaran, P. J. Marriott, *J. Sep. Sci.* 28,1061(2005).
- 23.23. W. Wardencki, P. Sowiński, J. Curylo, *J. Chromatogr. A* 984,89(2003).
24. H. Van Den Dool, P. D. Kratz, *J. Chromatogr.* 11,463(1963).
25. Adams RP, "Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectrometry" Allured Publishing Corp., Illinois, USA, 2001.
26. <http://webbook.nist.gov/chemistry>, NIST Standard Reference Database Number 69, June 2005 Release, accessed April 2007
27. Mass Spectra Library NIST vers. 2.0, 2005
28. J.R. Mosedale, J-L. Puech, *Trends Food Sci. Technol.* 9,95 (1998).
29. J. L. Hope, B. J. Prazen, E. J. Nilsson, M. E. Lidstrom, R. E. Synovec, *Talanta* 65,380(2005).
30. M. D. R. Gomes da Silva, H. J. Chaves da Neves, *J. High Resol. Chromatogr.* 20,275(1997).