UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: QUÍMICA ANALÍTICA

CACHAÇA: Produção artesanal e determinação de Co, Mn e Ni em amostras comercializadas na microrregião de Jequié-Ba

Joaquim Xavier Miranda Botelho

Orientador: Djalma Menezes de Oliveira.

JEQUIÉ – BA

JULHO/2019

Joaquim Xavier Miranda Botelho

CACHAÇA: Produção artesanal e determinação de Co, Mn e Ni em amostras comercializadas na microrregião de Jequié-Ba

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia como parte dos requisitos para a obtenção do grau de mestre. Área de concentração: Química Analítica

Orientador: Djalma Menezes de Oliveira.

JEQUIÉ – BA

JULHO/2019

B748c Botelho, Joaquim Xavier Miranda.

Cachaça: produção artesanal e determinação de Co, Mn e Ni em amostras comercializadas na microrregião de Jequié-Ba / Joaquim Xavier Miranda Botelho.- Jequié, 2019.

68f.

(Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB, sob orientação do Prof. Dr. Djalma Menezes de Oliveira)

1.Pré-concentração 2.Cachaça 3.Metais 4.Voláteis I.Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia II.Título

Rafaella Câncio Portela de Sousa - CRB 5/1710. Bibliotecária – UESB - Jequié

TERMO DE APROVAÇÃO

JOAQUIM XAVIER MIRANDA BOTELHO

Cachaça: Produção artesanal e determinação de Co, Mn e Ni e compostos orgânicos em amostras comercializadas na microrregião de Jequié-BA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Química.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Djalma Menezes de Oliveira - Orientador
(UFMG, Belo Horizonte - MG, 2012)

Prof. Dr. Valfredo Azevedo Lemos - Coorientador
(UFBA, Salvador - BA, 2001)

Prof. Dr. Anibal de Freitas Santos Junior
(UFBA, Salvador - BA, 2009)

Prof. Dr. Geovani Cardoso Brandão
(UFBA, Salvador - BA, 2013)

Dissertação aprovada pelo Colegiado do Curso de Pós-graduação em Química em 26 / 07 / 2013

“Se você quiser encontrar os segredos do universo, pense em termos de energia, freqüência e vibração.”

Nikola Tesla

AGRADECIMENTOS

Primeiramente queria agradecer ao nosso divino Deus pela a saúde, sabedoria e determinação concedida e por estar sempre do meu lado nessa jornada.

Gostaria de agradecer imensamente os Professores Dr. Djalma Menezes de Oliveira e Dr. Valfredo Azevedo Lemos pela Orientação. Não esquecendo de Rebeca Moraes Menezes que também esteve presente nas horas difíceis do laboratório. Gostaria de registrar que me sinto muito grato e feliz por ter sido seu orientando nesses dois anos. Agradeço, também, não só pela orientação, mas, pela amizade e conselhos sempre que necessário.

A minha família que esteve distante, mas presente em minha vida (minha mãe Sueli, Meu Pai Antônio (*in memória*), meus irmãos Glauber, Carol e Larissa (*in memoria*) pelo estímulo e carinho e Amanda Gusmão pelo incentivo e carinho que tive desde o princípio. Agradeço muito por ter vocês nessa trajetória.

Agradecer também ao companheiros de república Adonai, Jean e Rafael pela parceria que consideramos até mesmo uma família. Agradecer pelo estímulo que fornecemos um ao outro e sempre pela troca de conhecimento que nunca é o bastante. Considero isso com grande importância. Obrigado a todos.

Aos companheiros de LQA Jeferson Alves Barreto, Luana Bastos Santos e Leane Nunes, que como colegas, trouxe boas amizades. Obrigado pelo incentivo. Grande abraço.

Agradecer ao parceiro mestrando Hion Oliveira por estar sempre junto no processamento da aguardente mais saborosa de Jequié-Ba. Agradeço por esse trabalho importante. Grande abraço.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da UESB e todos os professores que contribuíram para aquisição de conhecimentos em química.

A FAPESB pela bolsa concedida.

Agradeço a todos que torceram e contribuíram pela realização deste trabalho.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: A Sistema de microextração com gota suspensa por imersão direta (DI-SDME); 1B Sistema de microextração com gota suspensa por headspace (HS-SDME). 22
Figura 2: (Lucília, adaptado) 2A Sistema de microextração em fase líquida de fibra oca bifásico; 2B Sistema de microextração em fase líquida de fibra oca trifásico. 23
Figura 3: Microextração líquido-líquido dispersiva assistida por ultrassom (USADLLME)..... 24
Figura 4: Martins M.L. Diagrama indicando as etapas da DLLME. 26
Figura 5: Fluxograma do processamento de aguardente artesanal. 28
Figura 6: Espectrômetro de absorção atômica com chama, Perkin Elmer. 34
Figura 7: Esquema ilustrativo da DLLME. 38
Figura 8: Procedimento realizado para o pé-de-cuba. 40
Figura 9: Ilustração do preparo do Pé-de-cuba e adição. 41
Figura 10: Alambique artesanal de cobre. 41
Figura 11: Imagem interior do alambique. 42
Figura 12: Frações feita da cachaça através da temperatura. 42
Figura 13: Estudo da variação de pH de 1-10. 45
Figura 14: Variação de pH do metais níquel, cobalto e manganês. 45
Figura 15: Influência do volume do PAN na DLLME para pré-concentração e determinação de cobalto, manganês e níquel por F AAS. 46
Figura 16: Melhores resultados de volume para o solvente extrator em níquel, manganês e cobalto. 47
Figura 17: Variação do volume do dispersor na DLLME em níquel, cobalto e manganês..... 48
Figura 19: Curva direta para o cobalto, manganês e níquel. 51
Figura 20: Curva pré-concentrada para cobalto, manganês e níquel. 51
Figura 21: Espectro de IV feito para a fração de cabeça de aguardente. 55
Figura 22: Espectro de IV feito para a fração do coração de aguardente. 56
Figura 23: Espectro de IV feito para a fração da calda de aguardente. 57
Figura 24: Cromatograma dos padrões dos álcoois e ésteres por CG-DIC por coluna capilar FFAP. 58
Figura 25: Cromatograma da fração da “cabeça” da aguardente de cana-de-açúcar. 58
Figura 26: Cromatograma da fração “coração” da aguardente de cana-de-açúcar. 59
Figura 27: Cromatograma da fração “cauda” da aguardente de cana-de-açúcar. 60
Figura 28: Frações do destilado em Jequié (UESB). 60
Figura 29: Aguardente Prata/Aguardente Ouro. Destilados da cana-de-açúcar. 61
Figura 30: Teor alcoólico na aguardente. 61

Lista de tabelas

Tabela 1: Cálculo para diluição do brix (Melicana) 31
Tabela 2: Características de algumas aguardentes de trabalhos com fermentação e destilação de bebidas artesanais. 33
Tabela 3: Cálculos para diluição do brix 43
Tabela 4: Condições otimizadas do sistema de Microextração Líquido-líquido em pré-concentração e determinação de Co, Ni e Mn usando o equipamento FAAS. 49
Tabela 5: Concentração de interferentes nos metais de estudo em µg/L. 50
Tabela 6: Principais parâmetros analíticos do método proposto. 53
Tabela 7: Resultados para a determinação do teor de Co, Mn e Ni em amostras de aguardentes da microrregião de Jequié-BA. 54

ABREVIATURAS E SIGLAS

CG-DIC - Cromatografia gasosa – Detector por Ionização por Chama

CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.

DI-SDME - Microextração com Gota Suspensa por Imersão Direta

DLLME - Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (*Do inglês: Dispersive Liquid-Liquid Microextraction*)

LLE – Extração Líquido-Líquido (*Do inglês: Liquid-Liquid Extraction)*

ET AAS - Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica *(Do inglês: Atomic Absorption Spectrometry with Electrothermal Atomization)*

F AAS - Espectrometria de Absorção Atômica com Chama *(Do inglês: Atomic Absorption Spectrometry Flame)*

FE - Fator de Enriquecimento

GF AAS - Espectrometria de Absorção Atômica com forno de Grafite *(Do inglês: Atomic Absorption Spectrometry Graphite Furnace)*

HFME - Microextração Líquido-Líquido com Fibra Oca

HP-FFAP- PolyethyleneGlycol - TPA modified.

HS-SDME - Microextração com Gota Suspensa por Headspace

ICP-MS - Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado (*Do inglês: Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry)*

ICP-OES - Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Indutivamente Acoplado *(Do inglês: Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry)*

IC - índice de consumo

IV - Infravermelho

LD - Limite de Detecção

LQ - Limite de Quantificação

LQA - Laboratório de Química Analítica

SDME - Microextração com Gota Suspensa

SPE - Extração em fase sólida

XRF - Fluorescência de Raios-X

µg - Microgramas

Sumário

1.0 INTRODUÇÃO 14
1.1 A toxicidade de alguns metais 15
1.1.1 Aspectos gerais do manganês 15
1.1.2. Cobalto 16
1.1.3. Níquel 17
1.1.4 Técnicas analíticas para determinação de cobalto, manganês e níquel 18
1.2 MÉTODOS DE SEPARAÇÃO E PRÉ-CONCENTRAÇÃO BASEADOS NA EXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO 20
1.2.1 Extração líquido-líquido (LLE) 20
1.2.2 Microextração com gota suspensa (SDME) 21
1.2.3 Microextração em fase líquida com fibra oca (HFME) 22
1.2.4 Microextração líquido-líquido dispersiva assistida por ultrassom (USADLLME) 23
1.3 Processamento da aguardente 26
1.3.1 Produtores de aguardente no Brasil (Região de Salinas) 28
1.3.2 Região de Caravelas- Bahia (Cachaça Matriarca) 29
1.3.3 Região de Minas Gerais (Cacharia Melicana) 30
1.3.4 Região de São Sebastião – Alagoas (Cachaça Gogó da Ema) 32
2.0 PARTE EXPERIMENTAL 34
2.1 Instrumentação 34
2.2 Otimização 35
2.3 Materiais e métodos 35
2.4 Reagentes 35
2.5 Solução padrão de metais (50 µg L-1) 36
2.5.1 Procedimento de microextração líquido-líquido dispersiva para pré-concentração e determinação de Ni, Co e Mn 36
2.5.2 Aplicação da microextração em fase liquida dispersiva em amostras de cachaça extração de níquel 37
2.5.3Aplicação da microextração líquido-líquido dispersiva em amostras de cachaça na determinação de Cobalto 37
2.5.4 Aplicação da microextração líquido-líquido dispersiva em amostras de cachaça na determinação de manganês 38

2.7 Processamento de Aguardente 38
2.7.1 Materiais e métodos 38
2.8 METODOLOGIA - Aguardente de cana-de-açúcar 39
2.8.1 Preparo do mosto 39
2.8.2 Fermentação 40
2.9 Metodologia - Aguardente destilada do mel 43
3.0 RESULTADOS DE DISCUSSÃO 44
3.1 Otimização das condições experimentais 44
3.1.1Efeito do pH 44
3.1.2 Estudo do volume do complexante (PAN) 46
3.1.3 Estudo do volume do solvente extrator 47
3.1.4 Estudo do volume do solvente dispersor 48
3.2 Validação de método 49
3.2.1 Seletividade 49
3.2.2 Curvas analíticas 50
3.2.3 Limite de detecção 51
3.2.4 Limite de quantificação 52
3.2.5 Fator de enriquecimento 52
3.2.6 Índice de consumo 52
3.2.7 Precisão 52
3.2.8 Aplicação em amostras de aguardente 54
3.3 Análises dos componentes do destilado 55
3.3.1 Infravermelho 55
3.4 Análise cromatográfica 57
3.5 Resultados das frações 58
3.6 Resultado do destilado 60
3.7 Produto final 60
3.8 Alcoômetro 61
4.0 CONSIDERAÇÕES FINAIS 62
5.0 REFERÊNCIAS 63

RESUMO

No presente trabalho foram desenvolvidas estratégias analíticas baseadas na microextração líquido-líquido dispersiva para a pré-concentração de metais em amostras de cachaças, empregando a determinação por FAAS. No princípio, realizou-se a otimização dos componentes para avaliar a significância das variáveis, pH, volume do complexante, volume do extrator(solvente) e volume do dispersor para uma mistura da DLLME e em seguida aplicada na amostras desejadas. As variáveis estatisticamente significativas foram otimizadas utilizando planejamento univariado a partir da qual foram determinadas as seguintes condições experimentais para cobalto, manganês e níquel: pH entre 8,0 e 10,0, volume do complexante entre 100 e 200µL, volume do extrator entre 25 e 100µL e volume do dispersor 500µL para todos metais, o tempo de centrifugação foi de 5 minutos. Os limites de detecção e quantificação foram 2,5 µg L-1 e 7,7 µg L-1 para cobalto. Para manganês o limite de detecção foi 1,8 µg L-1 e o limite de quantificação foi 5,5 µg L-1. O níquel teve limite de detecção de 1,6 µg L-1 e o limite de quantificação foi 5,0 µg L-1. A exatidão do método foi avaliada pelo teste de adição e recuperação, que apresentou recuperações entre 82 e 110 % para Co, Mn e Ni em amostras cachaça, através de análise em técnicas espectroanalíticas. Para comparar e fortificar o trabalho, o método foi aplicado em uma amostra de cachaça que foi destilada na UESB, produzida uma cachaça destilada de cana-de-açúcar e uma destilada de mel para a análise de suas frações (cabeça, coração e cauda) para os metais aplicado as demais amostras. Essas bebidas foram feitas análises de seus voláteis empregado por IV e GC-FID na determinação de álcoois, ésteres e ácidos na cachaça. A concentração de cobalto, manganês e níquel variou entre 0,41-3,8 µg L-1 para as amostras de cachaça na fração coração e quanto aos voláteis foi determinado metanol na fração cabeça e ésteres na fração coração e ácidos na fração calda. Através desses resultados os voláteis foram determinados em suas respectivas frações. Mostrando um ótimo recolhimento de suas frações. Portanto, o presente trabalho que como objetivo de determinar elementos inorgânicos e orgânicos em aguardente, mostrou bons resultados com as concentrações encontradas.

Palavras chave: Pré-concentração, cachaça, metais e voláteis

ABSTRACT

In the present work, analytical strategies were developed based on liquid-liquid dispersive microextraction for the preconcentration of metals in samples of spirits, using FAAS determination. In the beginning, the optimization of the components was performed to evaluate the significance of the variables, pH, complexer volume, extractor volume (solvent) and disperser volume for a mixture of DLLME and then applied to the desired samples. Statistically significant variables were optimized using univariate planning from which the following experimental conditions were determined for cobalt, manganese and nickel: pH between 8.0 and 10.0; volume of the complexant between 100 and 200μL, extractor volume between 25 and 100μL and volume of the disperser 500μL for all metals, the centrifugation time was 5 minutes. The detection and quantification limits were 2.5 μg L-1 and 7.7 μg L-1 for cobalt. For manganese the limit of detection was 1.8 μg L-1 and the limit of quantification was 5.5 μg L-1. Nickel had a detection limit of 1.6 μg L-1 and the limit of quantification was 5.0 μg L-1. The accuracy of the method was evaluated by the addition and recovery test, which showed recoveries between 90 and 110% for Co, Mn and Ni in cachaça samples, through analysis in specanalanalytic techniques. In order to compare and fortify the work, the method was applied in a sample of cachaça that was distilled in the UESB, produced a distilled sugar cane distillate and a honey distilled for the analysis of its fractions (head, heart and syrup) for the metals applied the other samples. These beverages were made analyzes of their volatiles employed by IV and GC-FID in the determination of alcohols, esters and acids in the cachaça. The concentration of cobalt, manganese and nickel varied between 0.41-3.8 μg L-1 for the samples of cachaça in the heart fraction and for the volatiles it was determined methanol in the fraction head and esters in the heart fraction and acids in the syrup fraction. Through these results the volatiles were determined in their respective fractions. Showing a great recollection of your fractions. Therefore, the present work, which aimed to determine inorganic and organic elements in brandy, showed good results with the concentrations found.

Keywords: Pre-concentração, spirits, metals and volatiles

1.0 INTRODUÇÃO

A segunda bebida alcoólica mais consumida no Brasil, em comparação com a cerveja, a cachaça ou aguardente entre outros nomes batizados vem conquistando mercados em razão dos esforços do setor produtivo aliados a ações governamentais em diversos níveis. A cachaça é a denominação típica e exclusiva da aguardente de cana-de-açúcar produzida no Brasil, com graduação alcoólica de 38% a 48% em volume, a 20°C, obtida pela destilação do mosto fermentado do caldo de cana-de-açúcar, com características sensoriais peculiares, podendo ser adicionada de açúcares até seis gramas por litro [1].

A carência de ações eficazes no sentido de desenvolver a cadeia produtiva e de promover a qualidade e a sustentabilidade do produto, assim como a grande quantidade de marcas e variedades de características trazem, não somente ao consumidor brasileiro, mas também aos importadores, certa dificuldade de diferenciação do produto no que se refere aos padrões de conformidade [2]. Dessa forma, se faz necessário o monitoramento dos níveis de compostos tanto orgânico como também inorgânicos em amostras de alimentos, bebidas e ambientais. Por outro lado, apesar de algumas espécies serem um elemento essencial, em altas concentrações no organismo humano pode levar a intoxicação, causando distúrbios no metabolismo energético e alteração na resposta do sistema imunológico [3].

Assim, a contaminação da aguardente pode acontecer desde o princípio da produção da cana-de-açúcar que vem do solo com diversos micronutrientes e em diferentes etapas do processamento da aguardente ou do armazenamento. A utilização de utensílios para o processo de destilação da cachaça com materiais inadequados, como, aço inoxidável, cobre, latão, ligas de alumínio e soldas feitas de chumbo são práticas proibidas. Esses materiais contribuem para as possíveis fontes de contaminação. Em alguns casos, como é bastante comum, elementos podem ser liberados de tintas de coberturas, conservantes e impregnados. Entretanto, durante a fermentação em presença das leveduras uma parte desses cátions, como Na, K, Ca, Mg, Cu e Fe são consumidas [4].

Os metais tóxicos estão naturalmente presentes no ambiente, no solo e nos alimentos e são amplamente utilizados nos processos de fabricação e no ambiente construído e, consequentemente, são transferidos e estão presentes nos resíduos orgânicos. (Lineres, 1992) [5].

1.1 A toxicidade de alguns metais

O risco toxicológico pode ser definido como a consequência tóxica de uma atividade particular em relação à probabilidade de que esta venha a ocorrer [6]. Os metais são elementos que ocorrem naturalmente, onipresentes e resistentes à degradação natural. Existem no ambiente em consequência de fontes naturais e antropogênicas [7]. No entanto, existem amostras em que as quantidades de metais são muito pequenas, o que dificulta a quantificação do elemento empregando-se algumas técnicas analíticas. Necessitando assim de um tratamento prévio, que pode envolver procedimentos de separação e pré-concentração.

A toxicidade dos metais está diretamente relacionada à forma química como ele se apresenta. Podem ser prejudiciais à saúde quando presentes em alimentos, água e ar e seus efeitos são agravados devido à exposição ocupacional (Lu, 1996) [8]. A saúde humana sempre esteve vulnerável a diversas contaminações, tanto do ar que respiramos, quanto do alimento que ingerimos. É bastante relativo a questão das reações químicas no organismo humano. Muitos são resistentes, mas outros acabam levando a falência. Alguns organismos podem ter tido experiências suficientes com os efeitos tóxicos ao longo de sua história evolutiva e desenvolvido mecanismos de defesa contra eles, ou de outra forma, não teriam sobrevivido (Ochiai,1995) [9].

1.1.1 Aspectos gerais do manganês

O manganês é um metal cinza semelhante ao ferro, porém mais duro e quebradiço. Os óxidos, carbonatos e silicatos de manganês são os mais

abundantes na natureza e caracterizam-se por serem insolúveis na água. É utilizado em fabricação de fósforos de segurança, ligas ferrosas (cobre e níquel), fertilizantes, tintas e fungicidas.

Os efeitos fisiológicos atua como co-fator para uma série de reações enzimáticas, entra na composição de uma enzima chamada superóxido (mitocondrial) que atua na proteção das membranas celulares, em especial a membrana das mitocôndrias. Apresenta também uma baixa toxicidade quando ingerido pela dieta ou na suplementação. Doses excessivas podem causar anemia e deficiência de vitaminas, além de interferirem na utilização da Tiamina (vitamina B1) e aumentarem a necessidade de vitamina C [42].

A inalação é uma das vias de intoxicação, caracterizado por sinais e sintomas psiquiátricos: mania, agressividade, insônia, alucinações, quadro neurológico semelhante com o do Parkinson.

Segundo a literatura, os teores de manganês em aguardentes são relativamente baixos e característicos dos solos, mais ou menos ricos deste metal, de onde são provenientes (Curvelo-Garcia, 1988) [9].

A natureza exógena da presença de manganês em cachaças é associada ao emprego de produtos fitossanitários contendo sais deste metal ou à utilização de determinados produtos enológicos, designadamente bentonites ou enzimas pectolíticas (Stella, 1974b) [9].

1.1.2. Cobalto

O cobalto é um elemento essencial, adequado para a formação de vitaminas. É relativamente raro e com características similares ao níquel ou o ferro. O consumo excessivo de cobalto influencia no aumento do bócio e reduz a atividade da tireóide. A fibrose intersticial pulmonar tem sido associada a exposição industrial ao pó do metal, mas somente quando este está presente com o tungsténio. A exposição ao cobalto puro pode causar dermatites de contato e asma ocupacional. Até hoje há controvérsias quanto aos efeitos carcinogênicos, pulmonares e cardiológicos do cobalto, pois em geral há outros metais presentes (BOOKMANN: Cobalt) [10].

Os sais minerais como magnésio, manganês e cobalto favorecem as reações enzimáticas da fermentação alcoólica. O caldo de cana já possui quantidades suficientes, sendo dispensável sua adição

1.1.3. Níquel

O Níquel é um elemento químico de símbolo Ni, considerado um metal de transição que tem coloração branco-prateada, condutor de eletricidade e calor, dúctil e maleável, porém não pode ser laminado e polido, apresentando certo caráter ferromagnético que pode ser encontrado em diversos minerais, em meteoritos (formando liga metálica com o ferro). O Ni está presente no solo, passa para as plantas e para os animais e dessa forma pode ser consumido pelo homem de todas as formas possíveis.

Pode ser adicionado aos alimentos por meios de seus processamentos. As principais fontes de contaminação são: tabaco, contato com moedas, o trabalho de niquelagem, peças de automóveis, equipamentos odontológicos, uso de bijuterias e joias e, principalmente, em alimentos como margarina e panelas de aço inox no cozimento de alguns produtos ácidos [41].

Quanto aos efeitos no organismo humano, geralmente as mulheres são mais predispostas a intoxicação. Alguns efeitos são as dermatoses, dermatites de contato, alergias (eczemas, rinite, sinusite, conjuntivite). O gás níquel carbamil está relacionado com o câncer dos seios paranasais, pulmão, e epilepsia. Os casos de intoxicação aguda produzem sintomas como: náuseas, vômitos, palpitação, fraqueza, vertigens, dor de cabeça [41].

1.1.4 Técnicas analíticas para determinação de cobalto, manganês e níquel

Diversas técnicas analíticas podem ser utilizadas para a detecção de elementos como níquel, cobalto, manganês e, também, de compostos voláteis presentes no ambiente e alimentos. No entanto, algumas técnicas analíticas não apresentam sensibilidade suficiente para determinação destes analitos, uma vez que, podem estar presentes em concentração traço e/ou apresentam interferência devido a matriz da amostra. (Rocha e Teixeira 2004) [11].

São reportadas na literatura algumas técnicas eficientes na determinação de elementos. A espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES), espectrometria de absorção atômica com chama (F AAS), espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ET AAS), fluorescência de raios-X (XRF), cromatografia gasosa com detector por Ionização de Chama (CG-DIC) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) são alguns exemplos.

Szymczycha-Madeja et al [12] afirma que os métodos espectrométricos baseados no plasma, tais como, espectrometria de massa de plasma indutivamente acoplada (ICP-MS) e espectrometria de emissão óptica (ICP OES) são bastante utilizados. O ICP-MS é aplicado para determinar elementos de traço individuais, Al, Cd, Cu, Co, Pb, Ni Sb e Mn ou análise multi-elementar, onde diferentes elementos em níveis de traço e ultratraço são determinados. O ICP OES é utilizado exclusivamente para tais determinações multielementares [13].

Lesniewicz A. et al [14] diz que concentrações de elementos individuais são muitas vezes medidas em cachaças destiladas usando espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS) e plataformas L'vov integradas ou inseridas. Os tubos de grafite sem plataformas raramente são usados. O GF AAS é utilizado na determinação de um grupo específico de oligoelementos (isto é, Al, como, Cd, Cr, Cu, Fe, Ni, Pbe Sb [15]. No entanto, tem alternativas que pode ser usado para determinar elementos maiores e menores selecionados, nesse caso, Zn, Fe, Ca, Mg e Na.

A fluorescência de raios-X (XRF) é uma técnica de análise elementar que vem sendo usada há aproximadamente meio século para caracterizar os materiais de interesse cultural. (BANKS, 1963) [16]. Suas primeiras aplicações neste campo remontam aos anos de 1950, quando espectrômetros com dispersão por comprimento de onda (HALL, 1958) [17] foram utilizados para analisar pequenos objetos metálicos (KRAAY, 1958) [18].

Marco Ferretti [19] trata de uma técnica elementar, que permite a identificação dos componentes de materiais, como também o estudo de sua proveniência e tecnologias de fabricação. Um instrumento portátil e que é uma técnica não destrutiva.

A espectrometria de absorção atômica (AAS) pode ser usada na determinação quantitativa e qualitativa de diversos elementos, sendo introduzida por Alan Wash em 1955, tendo como princípio a absorção de luz por parte dos elétrons. Costuma, então, ser o método atômico mais empregado entre os existentes devido sua simplicidade, efetividade, custo relativamente baixo.

No entanto, a determinação direta de íons metálicos em níveis de traço por FAAS é limitada, não apenas por causa da baixa sensibilidade, mas também por interferências de matriz [20]. Nestas circunstâncias, a fim de quantificar os níveis de traço de algumas espécies, tais como o Pb, Ni, Co, Mn e outros, uma metodologia prévia pode ter grande influência no enriquecimento, e ser considerada uma vantagem. Muitos procedimentos de enriquecimento foram relatados para a determinação de elementos traço, envolvendo diferentes técnicas analíticas, como extração em fase sólida (SPE) [21], extração líquido-líquido (LLE) [22], entre outras.

No que diz respeito aos equipamentos de análise de substâncias orgânicas, a cromatografia é caracterizada como parte de um grupo de importantes métodos, que permite o cientista separar elementos bastante semelhantes de misturas complexas. Os métodos cromatográficos podem ter duas classificações, são elas: A cromatografia em coluna, em que, a fase estacionária é mantida dentro de um tubo estreito através do qual a fase móvel é forçada a passar sob pressão. Alguns equipamentos modernos já disponibiliza essas funções como a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), cromatografia gasosa de detecção por ionização por chama (CG-DIC) e outros. Na cromatografia planar, a fase estacionária é suportada sob uma superfície

plana ou também através de um papel, que pode também ser visualizado as separações [56].

1.2 MÉTODOS DE SEPARAÇÃO E PRÉ-CONCENTRAÇÃO BASEADOS NA EXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO

1.2.1 Extração líquido-líquido (LLE)

Devido algumas limitações de sensibilidade dentre as técnicas com detecção, viavelmente é necessário recorrer a etapas preliminares para quantificação e concentração dos elementos desejados e consequentemente um aumento na sensibilidade.

Para minimizar estes problemas, diferentes métodos têm sido propostos a fim de otimizar e propor alternativas à extração líquido-líquido (LLE, do inglês *Liquid-Liquid Extraction*) convencional [23]. No entanto, a técnica LLE caracteriza-se pela demora, requer grandes volumes de solventes orgânicos, além de envolver várias etapas que estão associadas com as perdas de analito e ocorrência de contaminação [24].

Na extração de íons metálicos é necessário a utilização de reagentes orgânicos e reagentes complexantes, e assim esses complexos que possuírem caráter adequado, podem extrair os íons metálicos para a fase orgânica [25]. Por outro lado, essa técnica apresenta algumas desvantagens quando se trata de volume do uso de reagentes. Nesse caso, entre suas alternativas de perda, são elas: [26]

- Impurezas do solvente são concentradas junto com a amostra, implicando no uso de solventes ultrapuros;
- Pode ocorrer a formação de emulsões, o que resulta em grande consumo de tempo;
- Volumes relativamente grandes de amostras e de solventes são requeridos, gerando problemas de descartes;
- Alguns solventes orgânicos são tóxicos
- Pode ocorrer adsorção dos analitos nas paredes da vidraria;

Atualmente, grandes aprimoramentos vem acontecendo principalmente nessa área da analítica onde requer eficiência, rapidez e quanto menor o volume de reagentes, mais ecologicamente correto. Desta forma, métodos baseados em microextração vêm sendo desenvolvidos como alternativas aos métodos clássicos de extração [27]. Na tentativa de evitar tais problemas como grande consumo de reagentes, métodos baseados em microextração líquido-líquido, vem sendo utilizados, baseado na técnica de extração líquido-líquido, que se trata da redução da extração líquido-líquido comum, utilizando assim volumes na fração de microlitros de solventes orgânicos e outros reagentes.

Recentemente métodos de microextração estão sendo mais utilizados, dentre eles, estão: Microextração com gota única (SDME); Microextração por emulsificação assistida por ultrassom (USAEME); Microextração líquido-líquido com fibra oca (HFME) e Microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME).

1.2.2 Microextração com gota suspensa (SDME)

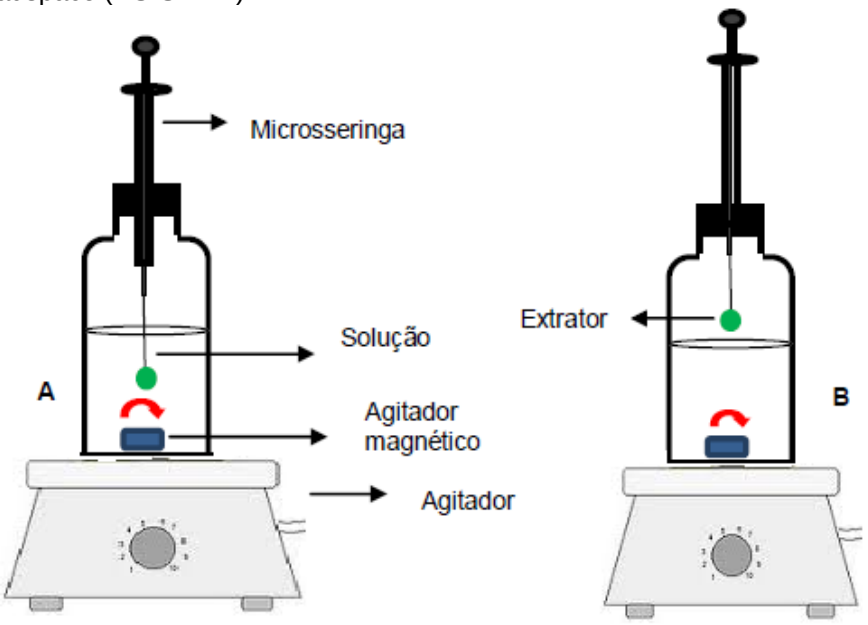
A primeira descrição da SDME foi proposta em 1996 por (JEANNOT 1996) [28]. Neste trabalho, a extração dos compostos orgânicos foi realizada através de uma gota de n-octano suspensa no final de um tubo teflon imerso na solução aquosa. Após a extração, é retirada com grande precisão e com ajuda de uma microsseringa e injetada em um cromatógrafo a gás. Frente à LPE, a microextração proposta mostrou-se mais rápida e simples, além de diminuir consideravelmente a quantidade de solvente orgânico [29].

Em 1997, [30] foi proposto uma pequena modificação na técnica. Em substituição ao tubo de Teflon, a gota do solvente extrator foi suspensa na ponta de uma microsseringa. A SDME tornou-se popular por causa de seu baixo custo, simplicidade, velocidade, redução na geração de resíduo e compatibilidade com cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) e cromatografia a gás (GC), bem como sua aplicabilidade para diferentes matrizes, uma vez que há um bom número de solventes que podem ser utilizados [31].

A SDME pode ser apresentada em diferentes categorias, sendo classificadas em sistemas com duas ou três fases. Quando a gota do solvente extrator e a amostra estão em contato direto, considera-se o sistema de duas fases. Quanto há uma terceira fase (*headpace* ou outro solvente) entre as duas,

assume-se o sistema de três fases [32]. Quando aplicada para a extração de analitos presentes na fase aquosa, a gota fica submersa e é chamada de microextração com gota suspensa por imersão direta (DI-SDME). Quando o analito de interesse passa a ser uma espécie volátil, é empregada a microextração com gota suspensa por headspace (HS-SDME), em que a gota fica suspensa acima da fase aquosa. A Figura 1 apresenta uma representação esquemática da DI-SDME e da HS-SDME.

Figura 1: (Lucília, adaptado 2019) A Sistema de microextração com gota suspensa por imersão direta (DI-SDME); 1B Sistema de microextração com gota suspensa por headspace (HS-SDME).



1.2.3 Microextração em fase líquida com fibra oca (HFME)

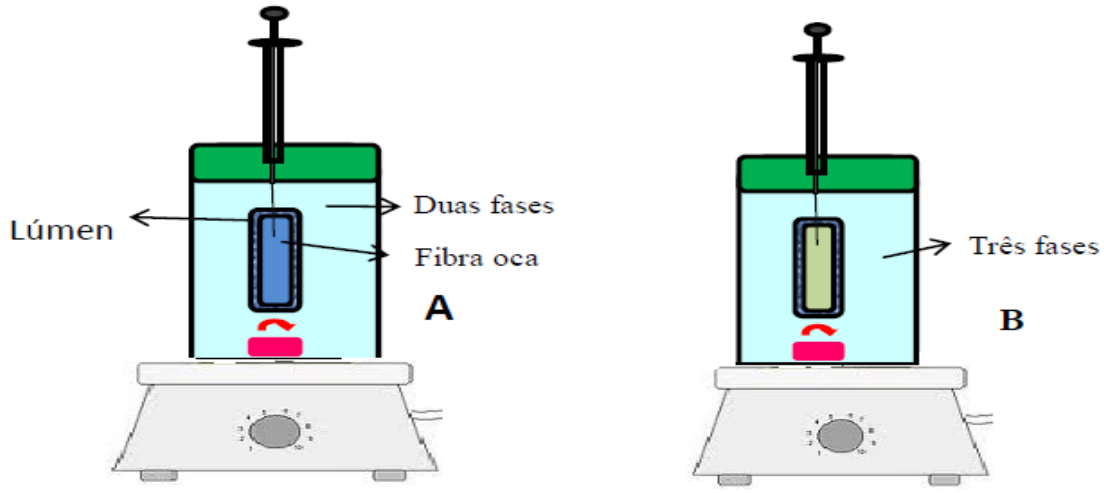
Em 1990, para aprimorar algumas condições da microextração, [33] idealizaram uma nova metodologia, a microextração em fase líquida com fibra oca. Esta técnica (microextração em fase líquida com fibras ocas, “hollow fiber liquid-phase microextraction” – HF-LPME) pode ser considerada uma evolução dos métodos de microextração com solventes. Os poros de uma membrana capilar porosa e hidrofóbica (fibra oca) são impregnados com o solvente orgânico de extração e o seu lúmen é preenchido com microlitros de uma fase receptora. Com isso, a fase receptora não entra em contato direto com a matriz aquosa (fase doadora), permitindo aplicar agitação constante durante a extração [34].

Além disso, o baixo custo de cada unidade de extração possibilita o seu uso uma única vez, evitando problemas de “carry-over”, efeito normalmente observado em outras técnicas de extração com membranas [35].

A HF-LPME pode ser apresentada em duas situações (Figura 2). Na primeira, duas fases ou na segunda, três fases. No sistema de duas fases, o analito é extraído da amostra aquosa (fase doadora) através de um solvente orgânico imiscível em água imobilizado nos poros da membrana, migrando para a para o mesmo solvente orgânico (fase receptora), presente no lúmen da fibra. Para obtenção de resultados favoráveis neste modo de extração, o analito deverá ser moderada ou altamente hidrofóbico, podendo conter grupos ionizáveis ácidos ou básicos [36].

No modo de três fases, o analito é extraído de uma amostra aquosa (fase doadora) através de um solvente orgânico imiscível em água imobilizado nos poros da membrana, passando para uma solução aquosa (fase receptora) presente no lúmen da fibra. A fase orgânica atua como uma barreira entre as fases receptora e doadora (ambas aquosas), impedindo o contato entre as duas fases [36].

Figura 2: (Lucília, adaptado 2019) 2A Sistema de microextração em fase líquida de fibra oca bifásico; 2B Sistema de microextração em fase líquida de fibra oca trifásico.

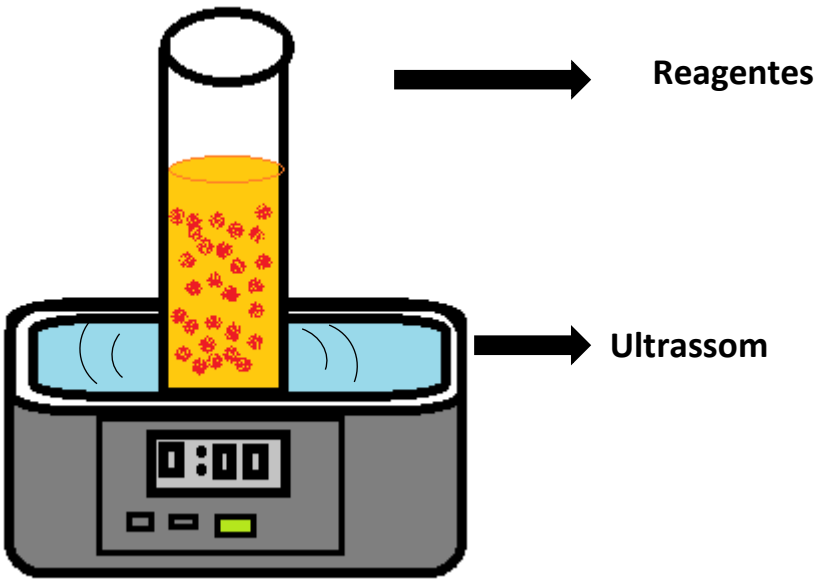


1.2.4 Microextração líquido-líquido dispersiva assistida por ultrassom (USADLLME)

Em 2006 a técnica da microextração líquido-líquido dispersiva apresentada por Rezaee [50], tem como princípio a pré-concentração junto com reagentes na determinação de componentes orgânicos e inorgânicos em diversas matrizes.

A USAEME, Figura 3, tem como função a extração do analito pelo uso de radiação de ultrassom, um aparelho bastante eficaz no processo de aceleração do processo de transferência de massa dos analitos entre a solução aquosa de amostra e o solvente de extração imiscível com a água, resultando no aumento da eficiência da extração em um curto tempo. A utilização de ultrassom leva a uma redução no tamanho das gotículas do solvente de extração, o que leva a um melhor contato entre os líquidos imiscíveis, melhorando assim a transferência de massa. Mas é importante observar o volume excessivo do dispersor, que pode afetar nas gotículas do solvente. Imediatamente após a extração, ocorre a centrifugação para a separação das fases [37].

Figura 3: Microextração líquido-líquido dispersiva assistida por ultrassom (USADLLME)



Em alguns caso, a técnica é alterada, podendo ser aplicada diretamente sem o aparelho de ultrassom. Esse procedimento é feito quando se utiliza uma

quantidade razoável de dispersor e é realizado em duas etapas: a mistura dos reagentes e a centrifugação.

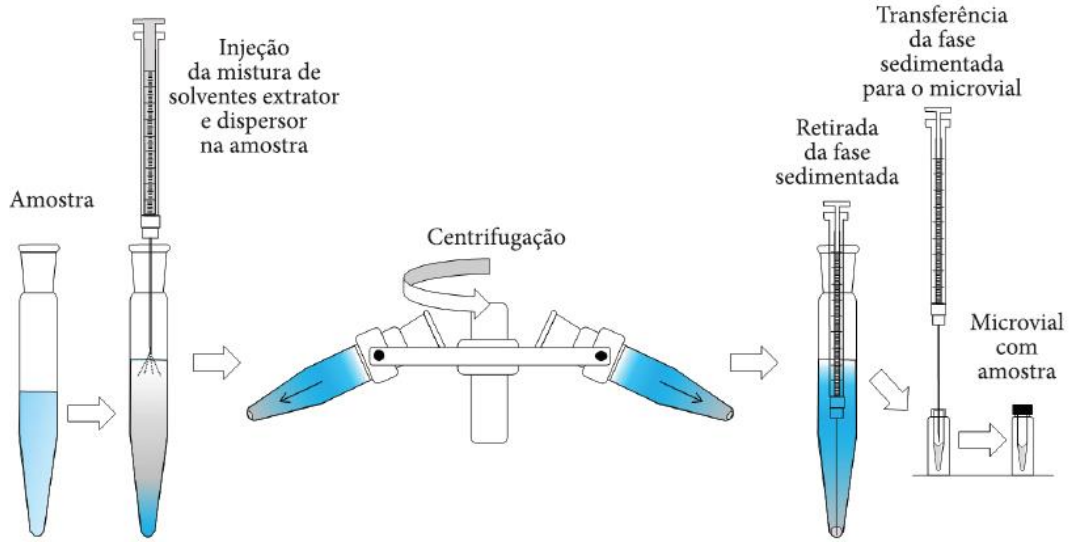
A DLLME, é uma técnica baseada na injeção rápida de um jato de uma mistura entre os reagentes (solvente dispersor, solvente extrator e complexante) a uma solução aquosa contendo os componentes a serem extraídos (Figura 4). Esse procedimento possibilita a formação de uma solução turva, o que faz a substituição de outros equipamentos, constituída por gotículas do reagente de extração, capazes de extraírem os íons metálicos complexados. Após a extração, a solução é centrifugada para separação e sedimentação da fase orgânica na parte inferior do tubo, formando duas fases. E em seguida o sobrenadante excessivo é retirado e a fase rica é então retirada com bastante cautela e quantificada por um sistema de detecção adequado [38].

É notório as diferenças observadas de técnicas anteriores como a extração líquido-líquido (LLE) em comparação com microextração líquido-líquido dispersiva. Sobre uma das principais vantagens, entre elas, está o uso de pequenas, ou nenhuma quantidade de reagentes nocivos.

A técnica utilizada fornece um processo simples, conveniente, rápido, sensível, econômico e ambientalmente viável para a determinação de compostos orgânicos voláteis e inorgânicos em diversas amostras.

Ojeta et al, [39] afirma que na microextração dispersiva emprega um mistura de solvente de alta densidade, o extrator e água miscível, solvente polar (dispersor). Acetona, Etanol, metanol e o acetonitrilo pode ser usado como dispersor, enquanto o clorado solventes (por exemplo, clorobenzeno, tetracloreto de carbono, tetracloroetileno) são úteis como extratores.

Figura 4: (Martins M.L.) Diagrama indicando as etapas da DLLME.



A importância de fatores que influenciam na eficiência da extração por DLLME são: a seleção e volume dos extratores e dispersor. Em DLLME, os fatores mais importantes que afetam o volume da fase sedimentada são: solubilidade do solvente extrator em água, volume e tipo da amostra, volume do solvente dispersor e volume do solvente extrator. Para se iniciar uma parte experimental, para obter um volume adequado de fase sedimentada, alguns testes devem ser efetuados antes do início da otimização.

No presente trabalho foi aplicado a técnica de DLLME (convencional), utilizando reagentes como complexantes, extratores, dispersores e soluções tampão. Durante a aplicação foi realizado uma otimização univariada para o volume dos reagentes e aplicado em amostras de aguardentes.

1.3 Processamento da aguardente

O Brasil tem como consumo grande parte de toda a produção interna de cachaça; as exportações representam por volta de 1% a 2% apenas (cerca de 2,5 milhões de litros). Dados históricos apontam que os maiores produtores de cachaça são: São Paulo (45%), Pernambuco (12%), Ceará (11%), Rio de Janeiro (8%), Minas Gerais (8%), Goiás (8%), Paraná (4%), Paraíba (2%) e Bahia (2%). A produção de cachaça artesanal ou de alambique está concentrada nos estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro, Bahia e São Paulo [57].

A cachaça de alambique é produzida desde as pequenas destilarias à grandes produções que temos em estados brasileiros, que utilizam colheita manual para corte da cana-de-açúcar em alambiques de cobre e até mesmo com processos mais modernos, em alambiques de aço inoxidável, que são chamadas de cachaças industrializadas. A moagem ocorre no máximo 24 horas após o corte, com o descarte da ponta e da palha. O processo de fermentação que pode levar de 15 a 36 horas a depender de que tipo de fruta está sendo utilizada, podendo utilizar fermentos produzidos no próprio alambique ou então fermentos selecionados (leveduras), disponíveis no mercado [44]. Existe também, um tipo de fermento específico, o CA-11 que é utilizado em grandes produções, onde se exige um produto registrado.

A aguardente de deve ser destilada em alambique de cobre ou aço inoxidável e ser específico para a destilação de cachaça. Quanto ao processo de destilação, quando aplicável, o produtor deve ter controle de variáveis de temperatura e graduação alcoólica do destilado.

No processamento, onde se obtém o produto resultante da destilação que será dividido em três frações: cabeça, coração e cauda. A primeira e a última fração (cabeça e cauda) são ricas em substâncias indesejáveis, devendo, portanto, ser eliminadas ou recicladas, pois além de serem prejudiciais à saúde do consumidor, podem comprometer o sabor da cachaça e seu desempenho nos ensaios de certificação [46].

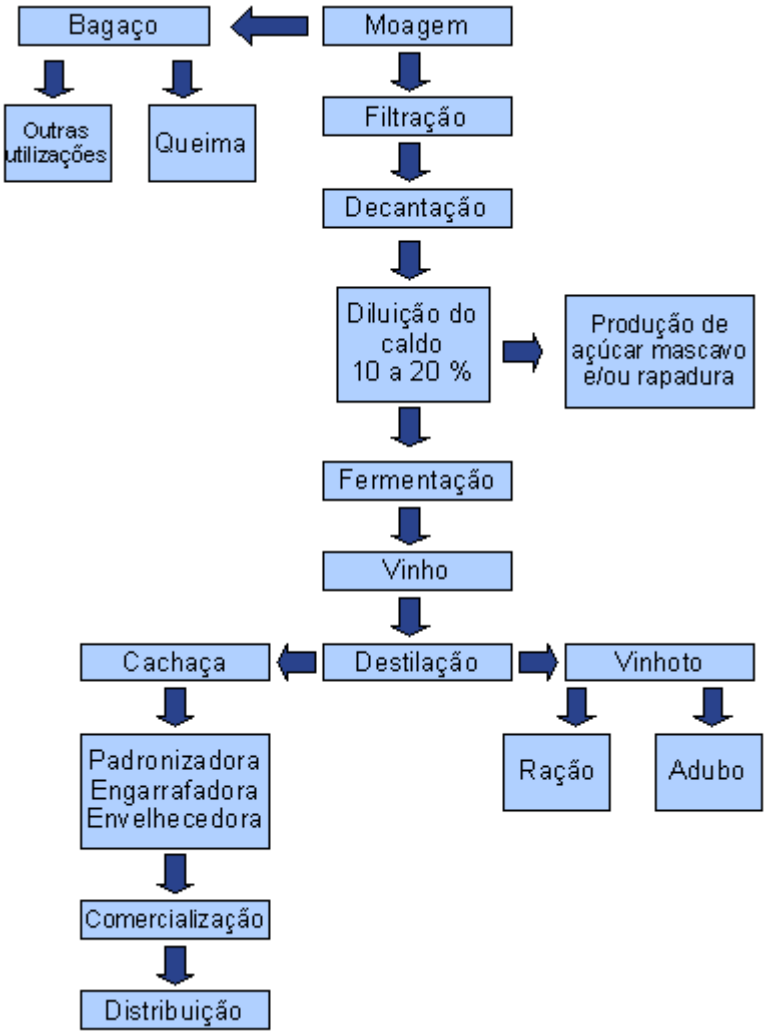
As leveduras são fungos de interesse industrial e artesanal sendo a espécie mais importante a *Saccharomyces cerevisiae*. Em alguns casos, são utilizados os fermentos caseiros, como o tradicional fermento de pão (biológico). Para iniciar a fermentação é necessário uma solubilização do fermento em água, chamado de pé-de-cuba, pé-de-fermentação, levedo alcoólico ou fermento, e deverá estar ativa e em quantidade adequada, para que o processo ocorra de modo satisfatório (Franklin, 2005) [48]. A escolha desses utensílios de metais deve-se a algumas propriedades, tais como, ser bom condutor de calor e também por catalisar reações químicas que eliminam substâncias com odores desagradáveis, como mercaptanas e ácidos graxos. (Meireles 2014) [44].

Segundo Almeida[47] para se obter uma ótima cachaça em sua destilação, a cana-de-açúcar dever ser cortada, moída e fermentada em um período de 24h. Logo após esse processo de limpeza da cana, é iniciado o

processo de fermentação, que pode ser em torno de 24h a depender do tipo de fermento utilizado.

Nessa fase o mosto passa por um processo químico, onde a sacarose através de suas leveduras se transforma em um teor alcóolico de 10% a 14%, por isso chamado de vinhoto. A etapa final é a destilação, quando o calor transforma o caldo fermentado em vapor, e, a água fria, separa o álcool por meio da condensação, transformando esse vinho em cachaça [47]. Veja a imagem abaixo:

Figura 5: Fluxograma do processamento de aguardente artesanal.



1.3.1 Produtores de aguardente no Brasil (Região de Salinas)

Na micro região de Salinas existe a COOPERCACHAÇA. A cooperativa possui oito unidades de produção localizadas em quatro municípios, com o objetivo de produzir a cachaça denominada Terra de Ouro. A Terra de Ouro

constitui a marca da cachaça de alambique produzida pela cooperativa com controle sanitário e suas destilações fracionadas separadas de acordo com os padrões.

Segundo Meireles e Almeida [48], a empresa utiliza o fermento “ligeiramente selecionado” e o “caipira” desenvolvido pela própria unidade produtora. Esse tipo de fermento é chamado desta forma porque nota-se que não há um padrão total das leveduras utilizadas, essas leveduras selecionadas são compradas ou cedidas pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Salinas/MG.

Na COOPERCACHAÇA também é utilizado o fermento pé-de-cuba de fubá de milho, entre outros, onde leva um período maior para o fermento completo. Em suas dornas de fermentação, sua temperatura atinge cerca 30°C e com 16° de brix, o suficiente para iniciar a destilação. O alambique de cobre tem suporte de em média 1000 litros de mosto e pode gerar em torno de 150 a 180 Litros de cachaça a 42% de graduação alcoólica.

1.3.2 Região de Caravelas- Bahia (Cachaça Matriarca)

Localizada na costa leste na região baiana, 280 km de Porto Seguro, na fazenda Cio da Terra com sua diversidade agrícola, como a cana-de-açúcar com todos seus derivados: doces caseiros, alimentos para os animais e principalmente a cachaça Matriarca. As plantações são próprias, sem agrotóxicos, colheita manual, sem uso de queimadas com fermento natural.

Em suas etapas, iniciando com a moagem que é realizado no tempo ideal de até 12 horas após o corte, sendo que nunca deverá ultrapassar 48 horas devido a perda de qualidade da cana-de-açúcar. Segundo Almeida e Dias [47] para se ter uma cachaça de qualidade é necessário seguir os padrões de qualidade, quando se trata da moagem da cana, tem que ser realizado no tempo adequado para evitar a perda de alguns nutrientes e desidratação da mesma.

Em sua fermentação, o caldo da cana pode apresentar teores diferenciados de açúcar em função do tipo de cana utilizado, com isso a cachaça Matriarca em seus padrões de correção utiliza uma concentração de açúcar por volta de 15º brix, que é ideal para fermentação. Durante a fermentação, a calda

que se transforma em vinhoto, com uma concentração baixa de etanol, é levada ao alambique de cobre para ser fervida e se obter o produto de qualidade previsto em lei com graduação alcoólica de 42% que corresponde a 80% do volume de suas frações destiladas. Com o objetivo de aprimorar o sabor e o aroma da cachaça, realiza-se o processo de envelhecimento que pode ser feito em barris de aço inox, que não alteram as características da cachaça, e em barris de madeira de Balsamo e Umburana, que permitem alterações desejadas na cor, no aroma ou no sabor. O tempo de envelhecimento da Cachaça Matriarca dura em torno de 2 anos em madeiras. O processo de produção da Cachaça Matriarca se resume nas etapas: moagem, filtragem, fermentação, destilação, armazenamento, envelhecimento, envase e rotulagem.

1.3.3 Região de Minas Gerais (Cacharia Melicana)

A cachaça produzida por Carlos José de Assis, inicia oficialmente suas atividades comerciais em Bom Despacho-Minas Gerais, onde resolveu ele mesmo criar uma bebida diferenciada para seu próprio consumo, a aguardente de mel, destilado feito somente do puro mel de abelha.

A sua fermentação é feita com o mel armazenado em potes feitos de cerume (uma mistura de cera e resinas). Alguns processos são feitos até chegar ao ponto de fermentação que são elas: física, pela evaporação de uma grande parte da sua água; biológica, pela fermentação de levedura e bactérias e química quando transforma a sacarose em glicose e frutose e até então em baixo teor de álcool.

Segundo Carneiro [49], inicialmente é necessário uma medição como normal de seu brix. Essa medição é feita, pois a concentração de açúcares no mel pode chegar até mais de 70 º brix, o que é muito açúcar para o processo de fermentação. Sendo assim faz-se necessário uma diluição com água até um valor entre 14 a 16 º brix, que é o valor ideal para uma boa fermentação e obter um ótimo produto mostrado na tabela 01.

Tabela 1: Cálculo para diluição do brix (Melicana)

Volume de Mel	**230 litros**
Teor de açúcar do mel	72° Brix
Teor de açucares desejado	15° Brix
Dados	230 x 72 = 16.560 $\frac{16.560}{15}$= 1.104 – 230 = **874 litros**

O volume de 874 litros é a quantidade de água a ser adicionada a 230 litros de mel, para diluir e corrigir a concentração de açucares para o Brix desejado. Sendo que o volume de mosto de mel a ser fermentado é de 1.104 litros.

Logo após o período de fermentação, quando todo açúcar foi transformado em álcool e demais componentes da aguardente, a leitura do teor de açúcar deve indicar zero e a denominação do fermentado passa a ser: "aguardente fermentado", o chamado de Hidro mel. Depois de alcançar esse valor do brix, o fermentado é deixado em descanso por aproximadamente 2 a 4 horas. Em seguida deve-se transferir a aguardente fermentada para a etapa de destilação no alambique de cobre. Em sua destilação, é bom lembrar que a elevação da temperatura deve ser lenta e controlada e que a temperatura ideal para a destilação é entre 85º a 92º Celsius. O tempo da destilação se situa entre 2:30 e 3:30horas, obtendo uma cachaça de 40% de graduação alcoólica.

Em comum, para se obter uma cachaça tradicional de cana-de-açúcar de qualidade, deve-se separar suas frações, cabeça e cauda, do destilado e ser aproveitado somente a fração coração, que é a parte nobre do destilado. Para tanto, é costume recolher separadamente o equivalente a 10% do destilado

inicial “cabeça” e os 10% finais “cauda” restando somente 80% do meio “Coração” [49].

O rendimento é de 160 litros de aguardente para cada 230 litros de mel de abelha a 72º Brix. Esse rendimento poderá variar para mais ou para menos dependendo da concentração de açucares do mel e da condução do processo fermentativo. Para o envelhecimento, a cachaça é armazenada em madeiras (por em média 2 anos) de Amburana, Bálsamo e Castanheira, deixando o aroma da aguardente com sabores ideais.

1.3.4 Região de São Sebastião – Alagoas (Cachaça Gogó da Ema)

A Cachaça GOGÓ DA EMA é produzida e envasada na Fazenda Recanto, no município de São Sebastião, região agreste do estado de Alagoas. Localizada em uma planície com cerca de 200 metros de altitude, essa região possui características de solo, clima ideais para o cultivo da cana-de-açúcar e para a produção da cachaça de qualidade. Com uma tradição familiar de mais de 50 anos no cultivo da cana-de-açúcar, o alambique GOGÓ DA EMA foi fundado em 2004 [50].

Seu processamento da aguardente também tem suas exigências de acordo com os padrões de qualidade, sendo fermentada com leveduras selecionadas CA-11 – 500 mg (*Saccharomyces cerevisiae*) por um período de 24h e destilada artesanalmente em alambique de cobre, aproveitando-se apenas o “coração”, parte nobre do procedimento da destilação que corresponde a uma cachaça pura de excelência com graduação alcoólica de 40%, aliada à utilização dos modernos equipamentos tecnológicos e respeitando as práticas ambientais de produção. No seu envelhecimento são utilizadas diversas madeiras nobres e outros utensílios, como Balsamo, Jequitibá rosa, Inox e até duplo envelhecimento podendo chegar de 2 a 10 anos de envelhecimento. A tabela 02 mostra todos os critérios para uma fermentação e destilação de uma cachaça de qualidade.

Tabela 2: Características de algumas aguardentes de trabalhos com fermentação e destilação de bebidas artesanais.

Nome	Origem	Pé de cuba	Produzida em	Destilada	Envelhecida
Coopercachaça	Salinas MG	Ca-11/ caseiro	Alambique de cobre	Cana-de-açúcar	Bálsamo
Matriarca	Caravelas-BA	Caseiro	Alambique de cobre	Cana-de-açúcar	Jaqueira Umburana Bálsamo
Melicana	Bom Despacho MG	Biológico	Alambique de cobre	Mel	Castanheira Bálsamo e Amburana
Gogó da Ema	São Sebastião - AL	Ca-11 500mg	Alambique de cobre	Cana-de-açúcar	Jequitibá rosa/ Bálsamo e Inox

O processamento da aguardente é um processo delicado, mas não se trata de um procedimento impossível, mas como todo processo, requer muitos cuidados. Mas para se obter uma boa cachaça é preciso sempre seguir alguns padrões, que podem variar de acordo com a localização da região, as condições do alambique e climáticas, o que no Brasil são extremamente relativos.

2.0 PARTE EXPERIMENTAL

2.1 Instrumentação

Espectrômetro de absorção atômica com chama ar/ acetileno Perkin Elmer (Norwalk, CT, EUA), modelo Analyst 200, equipado com lâmpadas de deutério com corretor de fundo foi utilizado para medições de absorvância (Figura 6). As lâmpadas de cátodo oco de cobalto, manganês e níquel foram utilizadas como fonte de radiação e as condições utilizadas na operação do espectrofotômetro foram as sugeridas pelo fabricante (atual: 30 mA, 15 mA e 25 mA, , cobalto,, manganês, e níquel respectivamente). Os comprimentos de onda utilizados foram de (Co), 240,7 nm (Mn) 279,4, nm e (Ni) 232,0 nm. A altura do queimador (13.5 mm) foi também utilizada com valores convencionais. A chama de acetileno (fluxo de 2,5 L min^{-1}) e ar (fluxo de 13,5 L min^{-1}). A taxa de fluxo utilizada para o nebulizador foi de 5,0 mL min^{-1}.

Medidor de pH Quimis, modelo G400AS usado para medir o pH as soluções.

Figura 6: Espectrômetro de absorção atômica com chama, Perkin Elmer**.**

Um centrífuga (modelo SP-32T), 3500 rpm (São Paulo, Brasil) analógica de capacidade 28 tubos de 10 mL, força máxima de 2.200 g foi utilizada para promover a separação de fases, com o objetivo de acelerar a deposição da fase enriquecida.

2.2 Otimização

Foi aplicada a otimização univariada para escolha do reagente extrator e complexante, posteriormente, para otimização do volume do reagente complexante, volume do solvente extrator e volume do reagente dispersor. Também foram avaliados os valores ótimos para o tempo de centrifugação e pH. Os experimentos foram realizados utilizando um volume de solução amostra de 5 mL.

2.3 Materiais e métodos

Foram utilizadas 09 amostras de aguardentes de cana obtidas em comércio do município de Jequié do estado da Bahia, sendo 04 obtidas de alambique da microrregião de Jequié, 03 bebidas industrializadas obtidas em comércio e 02 bebidas artesanais produzidas na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, em alambique de cobre. As amostras coletadas foram armazenadas de forma adequada. Estas foram levadas ao Laboratório de Química Analítica, do Departamento de Química (DQE) da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia para a procedência das análises. As amostras de aguardentes foram analisadas segundo os padrões de identidade e qualidade em vigor. Todos reagentes utilizados foram de grau analítico.

2.4 Reagentes

Os reagentes utilizados foram de grau analítico e a água utilizada na preparação de todas as soluções de trabalho foi obtida do sistema de purificação Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, EUA). As vidrarias utilizadas permaneceram imersas em solução de ácido nítrico 10% v/v durante a noite, para descontaminação, antes da utilização. Em seguida, foram enxaguadas com água desionizada e colocadas em um ambiente isento de poeira para secagem. Os reagentes utilizados estão citados abaixo:

- ✓ Gás acetileno (99,998% de pureza);
- ✓ Ácido nítrico 65% (m/v) (Merck);
- ✓ Etanol 99% (m/v) (Merck);
- ✓ Cloreto de amônio P.A (Vetec);

- ✓ Hidróxido de sódio (Quimex);
- ✓ (1-(2-piridilazo)-2-naftol) PAN;
- ✓ Tricloroetileno;
- ✓ Borato de sódio;
- ✓ Acetato de sódio;
- ✓ Ácido clorídrico 0,5 $MolL^{-1}$
- ✓ Padrão de Cobalto 1000 $\mu g\ mL^{-1}$
- ✓ Padrão de Níquel 1000 $\mu g\ mL^{-1}$
- ✓ Padrão de Manganês 1000 $\mu g\ mL^{-1}$

2.5 Solução padrão de metais (50 µg L^{-1})

Todas as soluções foram preparadas com reagentes de grau analítico PA e água deionizada foi utilizada durante todo o trabalho. Foram preparadas através da solução estoque (padrão), soluções amostras de concentração igual a 50 μgL^{-1}. Soluções tampão borato em pH 8,0 e amoniacal em pH 10,0 e soluções de ácido nítrico 5% (v/v) também foram utilizadas

2.5.1 Procedimento de microextração líquido-líquido dispersiva para pré-concentração e determinação de Ni, Co e Mn

Em tubos de ensaio de 10 mL, foram adicionados 5,0 mL de solução amostra de cada elemento a 50 μgL^{-1}. Em seguida, o reagente complexante PAN a 0,03% (m/v) foi adicionado nos seguintes volumes: 100 µL para a solução amostra de níquel e 200 µL para as soluções de cobalto e manganês. Para as soluções de níquel, cobalto e manganês foram adicionados, também, respectivamente,100, 50 e 25µL do solvente extrator tricloroetileno. A DLLME foi empregada para a pré-concentração dos analitos, e a solução foi centrifugada a 3500 rpm por um período de 4,0 a 5,0 minutos para promover a deposição da fase orgânica no fundo do tubo de ensaio. O sobrenadante foi descartado e 250 µL de uma solução de HNO_3 10% (m/v) foi adicionada a fase enriquecida. O níquel, cobalto e manganês, foram então determinados por espectrometria de absorção atômica com chama (F AAS).

2.5.2 Aplicação da microextração em fase liquida dispersiva em amostras de cachaça extração de níquel

Em tubos de ensaio de 10 mL foram adicionados 5,0 mL de cachaça,1,0 mL da solução tampão pH 8,0 na amostra, 100 µL de solução do reagente complexante PAN a 0,1% (m/v), 100 µL do reagente extrator (tricloroetileno) e 0,5 mL do dispersor (etanol). Como se tratava de uma amostra alcoólica, foi evaporado o etanol da amostra. Posteriormente foi centrifugada a 3500 rpm por 5,0 minutos para promover a deposição da fase orgânica no fundo do tubo de ensaio. O sobrenadante foi descartado. 250 µL de HNO_3 (10%) foi adicionado à fase enriquecida. O níquel foi então determinado nas amostras de cachaça por espectrometria de absorção atômica com chama (F AAS).

2.5.3Aplicação da microextração líquido-líquido dispersiva em amostras de cachaça na determinação de Cobalto

Em tubos de ensaio de 10 mL foram adicionados 5,0 mL de cachaça,1,0 mL da solução tampão pH 8,0, 200 µL de solução do reagente complexante PAN a 0,1% (m/v), 50 µL do reagente extrator e 0,5 mL do dispersor (etanol). Como se tratava de uma amostra alcoólica, foi evaporado o etanol da amostra. Posteriormente foi centrifugada a 3500 rpm por 4,0 minutos para promover a deposição da fase orgânica no fundo do tubo de ensaio. O sobrenadante foi descartado. 250 µL de HNO3 (10%) foi adicionado à fase enriquecida. O Cobalto foi então determinado nas amostras de cachaça por espectrometria de absorção atômica com chama (F AAS).

2.5.4 Aplicação da microextração líquido-líquido dispersiva em amostras de cachaça na determinação de manganês

Em tubos de ensaio de 10 mL foram adicionados 5,0 mL de cachaça,1,0 mL da solução tampão pH 10,0 na amostra, 200 µL de solução do reagente complexante PAN a 0,1% (m/v), 25 µL do reagente extrator e 0,5 mL do dispersor (etanol). Como se tratava de uma amostra alcoólica, foi evaporado o etanol da amostra. Posteriormente foi centrifugada a 3500 rpm por 5,0 minutos para promover a deposição da fase orgânica no fundo do tubo de ensaio. O sobrenadante foi descartado. 250 µL de HNO3 (10%) foi adicionado à fase enriquecida. O Manganês foi então determinado nas amostras de cachaça por espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS). Veja na figura 7 procedimento real da aplicação da técnica de DLLME.

Figura 7: Esquema ilustrativo da DLLME.

2.7 Processamento de aguardente

2.7.1 Materiais e métodos

A etapa seguinte foi a realização de planejamentos e discussões para uma produção de uma aguardente e levantamento de dados e experimentação no intuito de obter dados sobre elementos que se encontram em outros produtos e discussão das informações obtidas por meio da pesquisa bibliográfica. Na sequência foram realizados dois tipos de cachaça artesanais em campo, com características diferentes e até inéditas no Brasil em relação aos seus sabores,

são elas: Cana-de-açúcar e Mel. Todas essas amostras passaram pelo processo de fermentação e de destilação. Esse procedimento foi realizado através da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, no laboratório de catálise pelo município de Jequié – Bahia. Os matérias utilizados para a destilação foram:

- ✓ Alambique de cobre (10 litros)
- ✓ Fogareiro
- ✓ Cana-de-açúcar
- ✓ Mel de abelha (*Apis mellífera*)
- ✓ Fermento biológico
- ✓ Sacarímetro
- ✓ Alcoômetro
- ✓ Garrafas de vidro translúcida
- ✓ Água mineral

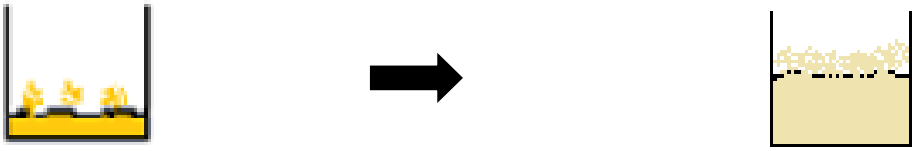
2.8 Metodologia - Aguardente de cana-de-açúcar

2.8.1 Preparo do mosto

A escolha da cana é importante, pois o mesmo deve se encontrar em boas qualidades para ter um bom aproveitamento de sua calda. Os colmos foram cortados sem queima, manualmente, raspando toda a cana e sendo processados no mesmo dia e colocado em modo de filtração.

No alambique com a capacidade de 10 litros, utilizou-se 10 litros de calda, extraído da cana-de-açúcar. No início foi preparado o chamado pé-de-cuba, com 3 g de fermento para 1litro de calda, nesse caso foram utilizados 30 g do fermento. O pé de cuba foi preparado com 250 mL de água e o fermento, logo após, foi adicionado um volume de calda de 750 mL para iniciar os efeitos da fermentação. Foi utilizado o fermento comercial biológico, constituído por leveduras *Saccharomyces cerevisiae* desidratado.

Figura 8: Procedimento realizado para o pé-de-cuba.



Pé de cuba
500 mL água com 30g

Pé de cuba
adição 1,5 Litro calda

2.8.2 Fermentação

Depois de ter feito o pé-de-cuba, verificou-se o Brix (teor de sacarose) da calda. O mais adequado para se iniciar a fermentação é com o Brix 16. Com o brix 18, tivemos que adicionar água mineral para diluir e calibrar para 16, esse procedimento é determinado com o refratômetro (RHB 32). Feito isso, foi adicionado, no intervalo de 2 horas, uma fração da calda a gotejamento para ter um maior aproveitamento das leveduras no processo químico na reação química abaixo de transformação de sacarose em etanol em baixo teor, o chamado mosto ou vinhoto devido seu baixo teor alcoólico em torno de 15%.

$$\underset{\text{sacarose}}{C_{12}H_{22}O_{11}} + \underset{\text{água}}{H_20} \rightarrow \underset{\text{glicose}}{C_6H_{12}0_6} + \underset{\text{frutose}}{C_6H_{12}O_6}$$

$$\underset{\text{Frutose}}{C_6H_{12}O_6} \rightarrow 2\,\underset{\text{etanol}}{C_2H_5OH} + \underset{\text{gás carbônico}}{2CO_2}$$

Neste período de fermentação, ocorreu liberação de gás carbônico, devido o processo químico da conversão de sacarose em álcool. Com isto, foi acoplada uma válvula de saída do gás gerado (Figura 9). O mosto ficou em descanso até teor de açúcar diminuir. Esse processo levou aproximadamente 36 horas.

.

Figura 9: Ilustração do preparo do Pé-de-cuba e adição.

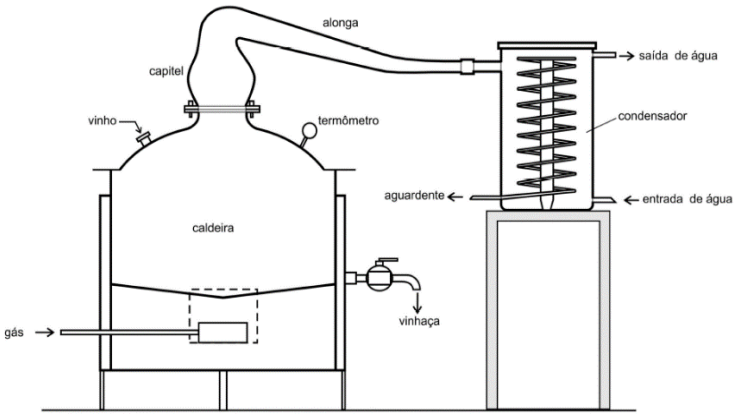
2.8.3 Destilação

Após 36 horas de processo de fermentação, que é exatamente quando o brix diminui de 16 para 6, tivemos como resultado o vinhoto, que é produto da sacarose que através de um processo químico transforma-se em álcool.

Antes da destilação do mosto, o alambique foi submetido a um processo de limpeza, em que, vinagre de álcool, foi destilado por duas vezes. Em seguida, após higienização do alambique, o mosto foi adicionado no recipiente, dando início a segunda etapa do processamento da cachaça, a destilação. Veja a seguinte imagem de um alambique pronto para a destilação.

Figura 10: Alambique artesanal de cobre.

Figura 11: Imagem interior do alambique.



É importante observar sempre com atenção as primeiras gotas de etanol na destilação. A separação das três frações (cabeça, coração e cauda) é feita através de “cortes” durante a destilação. Existem diferentes técnicas que podem ser utilizadas para a realização dos “cortes”, como por exemplo, a observação da temperatura dos vapores no topo do alambique (para o destilado de “cabeça”) e o teor alcoólico do destilado para obter a fração desejada, o coração.

Figura 12: Frações feita da cachaça através da temperatura.

Na destilação, a fração “cabeça” corresponde a 1,0% do volume total do mosto a ser destilado, o coração à 12% do total do destilado e a cauda à 5% do volume total do destilado. A qualidade da cachaça depende basicamente de alguns fatores para evitar componentes inadequados. A composição do mosto a

ser destilado; do formato do alambique (para assegurar um nível de refluxo que permita a separação adequada dos componentes secundários) e da habilidade do operador para efetuar os cortes nos momentos adequados [51].

Durante a destilação foram retirados 30 mL de cada fração para determinação do teor alcoólico e dos componentes secundários, sendo eles: Aldeídos, metanol, ésteres, álcoois superiores, ácidos voláteis e furfural.

Após sua destilação, as frações foram medidas em um alcoômetro Gay Lussac 0 a 100°GL. O teor alcoólico fração inicial “cabeça” com 60%, o “coração” com 46% e a “calda” com 13%.

2.9 Metodologia - Aguardente destilada do mel

Com um objetivo comparativo foi produzida uma aguardente com a fermentação do mel e sua destilação. Com o 72°brix, foi realizada uma diluição para alcançar o Brix adequado. Com isso, foi feito a diluição adicionando água mineral para diluir e calibrar para 15, esse procedimento foi realizado com o refratômetro. Veja abaixo:

Tabela 3: Cálculos para diluição do brix

Volume de Mel	**2 litros**
Teor de açúcar do mel	72° brix
Teor de açucares desejado	15° brix
Dados	2 x 72 = 144 $\frac{144}{15}$ = 9,6 – 2 = **7,600 litros**

Logo o volume de 7,600 litros foi a quantidade de água adicionada a 2 litros de mel, para diluir e corrigir a concentração de açucares para o brix desejado. O volume de mosto de mel fermentado foi de aproximadamente 9,600 litros. Esse processo de fermentação para o mel, um alimento com bastante sacarose, frutose e outros, durou cerca de 8 dias, aproximadamente.

Após a destilação do fermento de mel, as frações foram medidas em um alcoômetro Gay Lussac 0 a 100°GL. O teor alcoólico da fração inicial “cabeça” foi de com 61%, o “coração” de 56% e a “cauda” de 13%. A aguardente foi a matriz para a aplicação do método proposto neste trabalho em pregando a DLLME e determinação de metais pela F AAS e análise de compostos orgânicos voláteis por CG-FID.

3.0 RESULTADOS DE DISCUSSÃO

3.1 Otimização das condições experimentais

3.1.1Efeito do pH

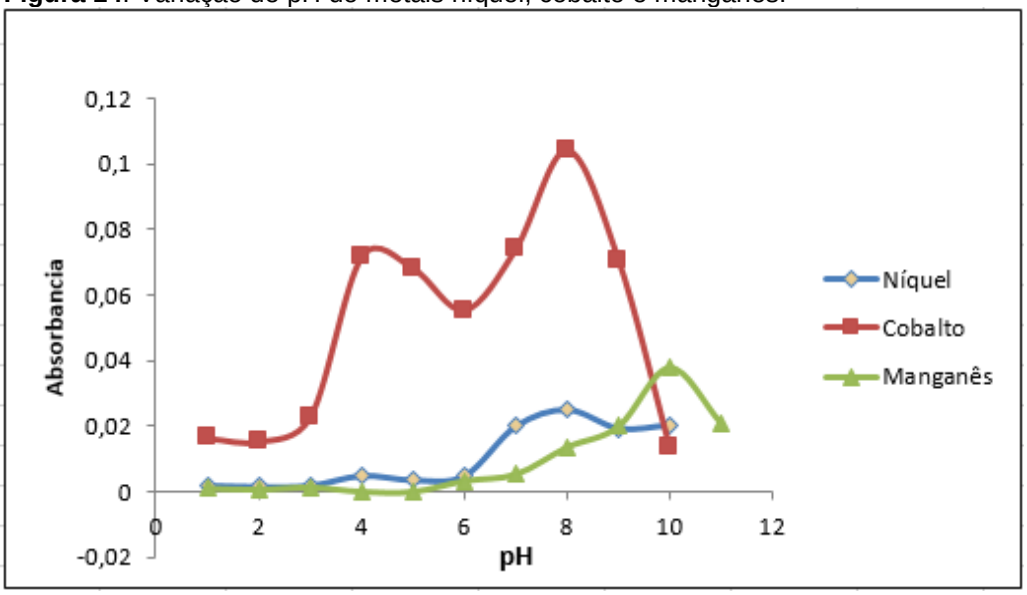
O estudo do pH de complexação é de fundamental importância para que ocorra a formação do complexo. Foram utilizadas algumas soluções tampão variando a faixa de pH entre 1,0 e 11,0. As soluções tampão foram: 1,0 - 3,0; acetato 4,0 - 6,0; borato 7,0 - 8,0; amoniacal 9,0 - 11,0 foi realizado um estudo para as pré-concentrações de níquel, cobalto e manganês, a fim de avaliar o tampão adequado para aplicar a técnica de DLLME.

Figura 13: Estudo da variação de pH de 1-10.

De acordo com os resultados apresentados na Figura 14, o melhor sinal analítico obtido foi em pH 8,0 para níquel e cobalto. Valores acima desse intervalo, a formação do complexo metálico diminui a sua magnitude, resultando em um sinal analítico menor. Observou-se também que em pH ácido, praticamente não ocorre a formação do complexo, diminuindo a extração a eficiência de extração. Portanto, foi utilizado um pH 8,0 para todos os estudos posteriores.

Para o elemento manganês, o pH também foi investigado. Os melhores resultados foram obtidos quando o pH 10,0 foi utilizado. Portanto, uma solução tampão amoniacal (pH 10,0) foi utilizada para ajustar o pH das soluções de manganês em todos experimentos.

Figura 14: Variação de pH do metais níquel, cobalto e manganês.

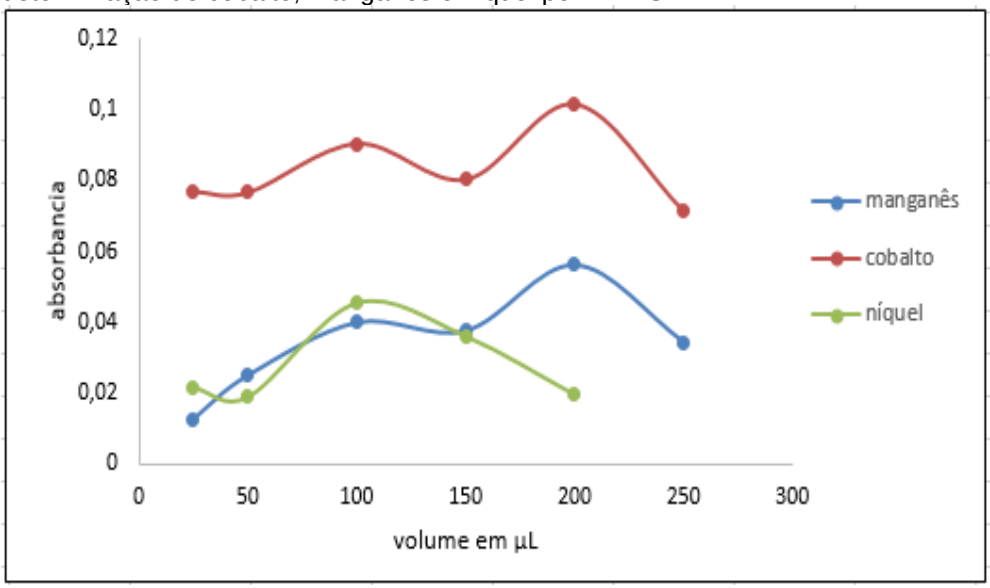


3.1.2 Estudo do volume do complexante (PAN)

O estudo da quantidade de (1-(2-piridilazo)-2-naftol) PAN utilizado na DLLME para extração dos íons metálicos foi realizado variando-se o volume do reagente quelante na faixa de 25 a 250 µL. As melhores respostas analíticas para os metais estudados foram observadas quando um volume de PAN se aproximava de 150 µL. A Figura 15, ilustra um aumento da resposta analítica quando um volume de 100 µL é utilizada para o níquel e 200 µL para o cobalto e manganês.

Muitos agentes complexantes como TAC, BROMOPDAP, APDC e outros podem ser utilizados na formação de complexos metálicos com cobalto, manganês e níquel. O (1-(2-piridilazo)-2-naftol) PAN é muito utilizado em procedimentos que envolve a microextração líquido-líquido dispersiva.

Figura 15: Influência do volume do PAN na DLLME para pré-concentração e determinação de cobalto, manganês e níquel por F AAS.

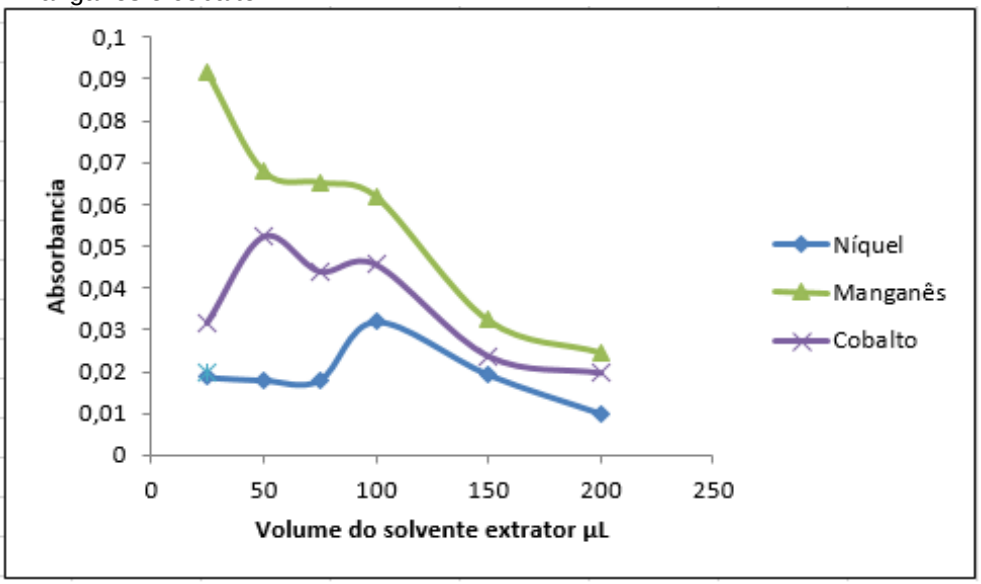


3.1.3 Estudo do volume do solvente extrator

O reagente extrator utilizado em microextração líquido-líquido dispersiva é um parâmetro muito importante para a eficiência da extração, porque a depende em grande parte da eficiência do reagente extrator. É necessário que o reagente seja imiscível na fase aquosa, que tenha baixa volatilidade e apresente uma densidade maior do que a água. Alguns solventes de extração como o clorofórmio e o tricloroetileno foram avaliados.

A quantidade do solvente extrator tricloroetileno foi estudada variando-se o volume entre 25 e 200 µL. De acordo com os resultados apresentados na Figura 16, para todos os elementos obteve-se variações distintas nas extrações utilizando-se na faixa de 25 e 100µL do solvente extrator. Quantidades de solvente extrator menores que 200 µL não extraíram com eficiência os analitos de interesse. À medida que aumenta a quantidade do solvente extrator, ocorre um aumento da fase sedimentada. O solvente extrator ou o solvente dispersor devem ter temperatura de ebulição relativamente alta e um volume adequado, para evitar perdas significativas de solvente durante o processo de extração. Portanto, um ótimo solvente extrator deve garantir tanto um elevado fator de pré-concentração quanto permitir a obtenção de um volume de fase sedimentada suficiente para as análises necessárias [45].

Figura 16: Melhores resultados de volume para o solvente extrator em níquel, manganês e cobalto.



3.1.4 Estudo do volume do solvente dispersor

Tratando-se da eficiência do dispersor (etanol), foi feita uma análise das condições para extração em DLLME. O volume de etanol (solvente dispersor) foi variado na faixa de 0,0 a 2,0 mL. A Figura 17 apresenta o estudo de volume do solvente dispersor em DLLME. Os resultados apresentados no estudo, mostrou-se satisfatório quando um volume de 0,5 mL de etanol foi utilizado. Quando volumes inferiores e superiores a 0,5 mL foram utilizados, a dispersão do solvente extrator não ocorria adequadamente. Quando se tem volumes do dispersor superiores ou inferiores ao valor ótimo, a extração não ocorre com eficiência, ou seja, como o etanol é um agente dispersor do extrator, em excesso a solubilidade dos complexos na solução aquosa é muito elevada, podendo dispersar o extrator ao ponto de não extrair seu analito, afetando diretamente a extração. Para os estudos posteriores, foi utilizado um volume de 0,5mL do solvente dispersor.

Figura 17: Variação do volume do dispersor na DLLME em níquel, cobalto e manganês.

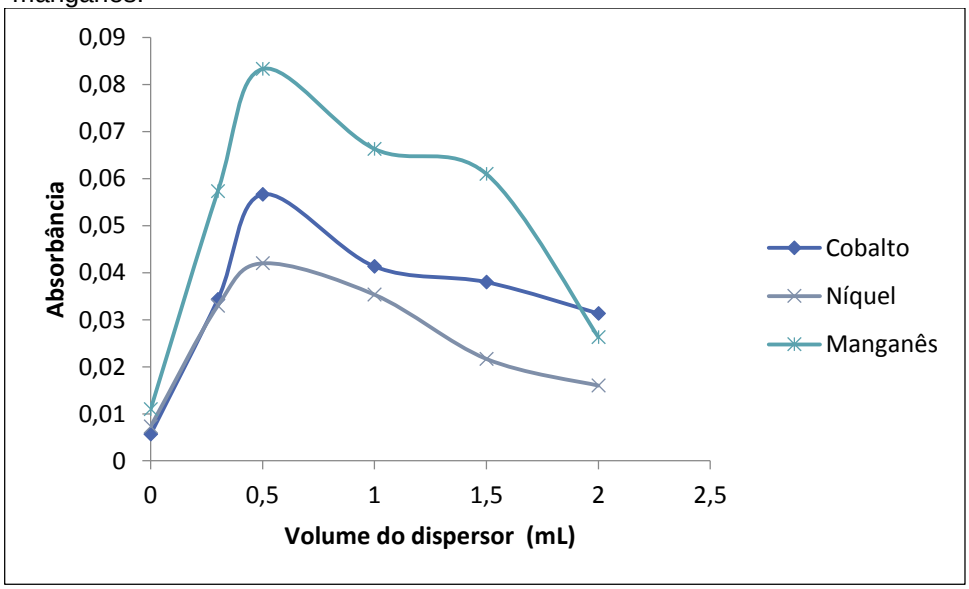


Tabela 4: Condições otimizadas do sistema de Microextração Líquido-líquido em pré-concentração e determinação de Co, Ni e Mn usando o equipamento FAAS.

Variáveis	Cobalto	Níquel	Manganês
Tampão	Borato	Borato	Amoniacal
pH	8,0	8,0	10,0
Complexante	PAN	PAN	PAN
Volume PAN 0,1% (µL)	200	100	200
Volume extrator (µL)	50	100	25
Volume Dispersor (mL)	0,5	0,5	0,5

3.2 Validação de método

3.2.1 Seletividade

O efeito de outras espécies no procedimento utilizando a DLLME para a determinação de Mn(II), Ni(II), e Co(II) também foi avaliado. A Tabela 5 mostra os resultados obtidos para este estudo. A concentração de Mn(II), Ni(II), e Co(II) foi fixada em 50 µg L^{-1} e variada a quantidade das outras espécies até o limite de interferência, iniciando a concentração de outras espécie a partir de 250 µg L^{-1} ou seja, quando ocorre uma variação significativa (±10%) na intensidade da resposta. Observando a tabela 5, foi possível observar que o método proposto ofereceu elevada tolerância à presença dos íons interferentes estudados.

O estudo de interferentes foi realizado para avaliar o efeito de outros íons metálicos em relação aos metais estudados: Co(II), Mn(II) e Ni(II). Para tal estudo

foram testados os seguintes cátions: Al(III), Zn(II), Cd(II), Ni(II), Cu(II), Co(II), Pb(II), Mg(II), K(I), Se(II), Na(I) e Mn(II). Foram preparadas concentrações adequadas para todos os cátions, iniciando com 250 µg/L e adicionada a cada solução a concentração de trabalho fixa de 50 µg/L dos cátions testados. Pelos valores obtidos, as interferências começaram a partir de 500 µg/L para o Ní e 1000 µg/L para o Co e Mn. A seletividade foi avaliada com base na sensibilidade do método e obtidas com e sem a presença dos cátions interferentes.

Tabela 5: Concentração de interferentes nos metais de estudo em µg/L.

Cátions	**Co**	**Mn**	**Ni**
Mg(II), Zn(II), Pb(II), Al(III), Cd(II), Ni(II), Cu(II), Co(II), Mn(II), Se(II), Na(I) e K(I)	1000 µg/L	1000 µg/L	500µg/L

3.2.2 Curvas analíticas

A fim de verificar a linearidade do método e comparar os sinais analíticos, foram construídas duas curvas. Sendo uma curva de medida direta por FAAS e a outra referente ao sistema de pré-concentração. Para a curva direta foram preparadas soluções de Co^{2+} Mn^{2+} e Ni^{2+} variando a concentração entre 100 a 1250 µg L^{-1} e para a curva pré-concentrada foi utilizada toda a otimização desenvolvida nos procedimentos da microextração líquido-líquido dispersiva, sendo as soluções preparadas nas concentrações variando de (10 a 125µg L^{-1}). Os resultados obtidos estão expressos na Figura 19 e 20.

Figura 18: Curva direta para o cobalto, manganês e níquel.

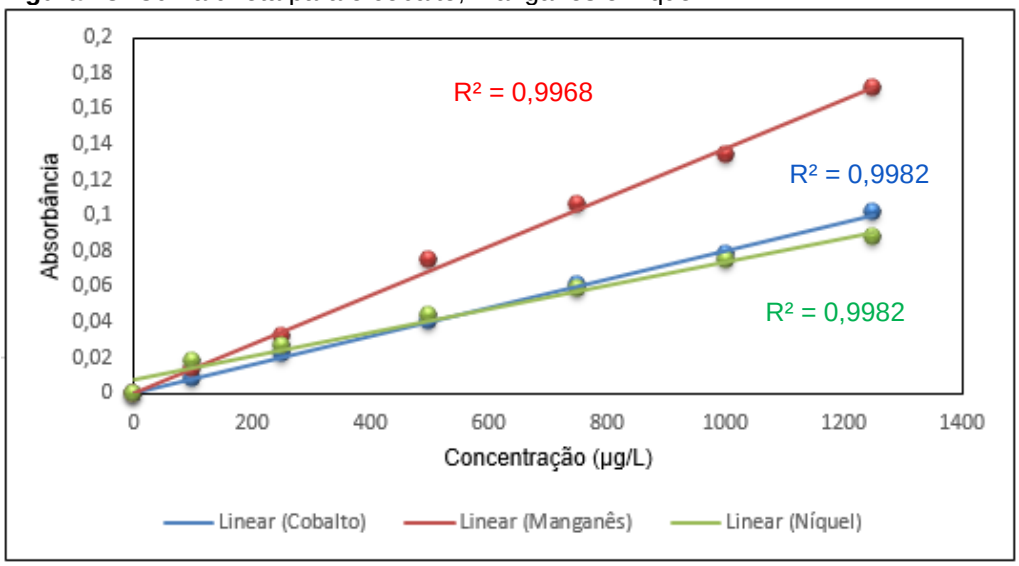
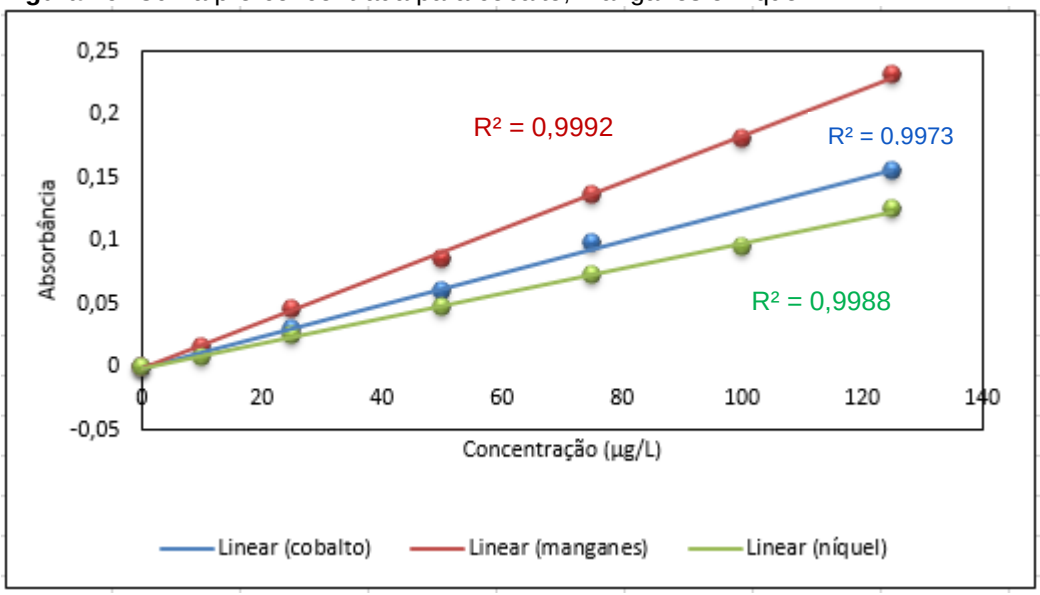


Figura 19: Curva pré-concentrada para cobalto, manganês e níquel.



3.2.3 Limite de detecção

O limite de detecção (LD), foi calculado para todos os elementos, calculado como 3sb/b, sendo (sb) o desvio-padrão para dez medidas do branco e (b) o coeficiente angular da seção linear da curva analítica. Os valores encontrados para este trabalho em µg L^{-1} foram de 2,5; 1,8 e 1,6 para o Co, Mn e Ni, respectivamente.

3.2.4 Limite de quantificação

O limite de quantificação (LQ) foi calculado como 10sb/b, sendo sb o desvio-padrão para dez medidas do branco e b o coeficiente angular da seção linear da curva analítica. Os resultados em $\mu g\ L^{-1}$ foram de 7,7; 5,5 e 5,0 para o Co, Mn e Ni, respectivamente.

3.2.5 Fator de enriquecimento

O fator de enriquecimento (FE) fornece a eficiência do método analítico proposto, e é definido, matematicamente, como a razão entre o coeficiente angular da curva de calibração com pré-concentração e o coeficiente angular da curva de calibração sem pré-concentração. O FE encontrado neste trabalho para o cobalto foi de 16,25; manganês 18 e níquel de 16,6.

3.2.6 Índice de consumo

O índice de consumo (IC) fornece o volume de amostra consumido para a obtenção de uma unidade de FE. O cálculo é baseado na razão entre o volume em (mL) de amostra utilizada no procedimento experimental (5 mL) e o fator de enriquecimento dos elementos. Logo, o IC para a microcroextração líquido-líquido dispersiva na parte experimental foi para o Co de 0,31 mL; Mn 0,28 mL e Ni 0,30 mL.

3.2.7 Precisão

Nos termos matemático a precisão pode ser calculada a partir do desvio padrão relativo, RSD% (ou coeficiente de variação), o qual é calculado pela razão entre o desvio padrão de várias medidas em uma determinada concentração (S_c) e a média dessas medidas (X_c), geralmente em percentagem.

$$\mathbf{RSD\% = \left(\frac{S_c}{X_c} \right) .100}$$

Logo, na pré-concentração de Co, Mn e Ni, a precisão foi expressa como repetibilidade entre os sinais de absorbância de 15 determinações em

concentrações iguais para cada analito. Para as soluções padrões foram de 50,0 μg L^{-1}, o desvio padrão relativo encontrado foi de 10,86%; 1,66% e 0,040%, respectivamente.

Tabela 6: Principais parâmetros analíticos do método proposto**.**

Parâmetro	**Co**	**Mn**	**Ni**
Limite de detecção (LD, μg L^{-1})	2,5	1,8	1,6
Limite de quantificação (LQ, μg L^{-1})	7,7	5,5	5,0
Linearidade	25-125	25-125	25-125
Fator de enriquecimento(FE)	16,25	18	16,6
Índice de consumo (IC)	0,31	0,28	0,30
Precisão	10,86%	0,040%	1,16%

3.2.8 Aplicação em amostras de aguardente

Tabela 7: Resultados para a determinação do teor de Co, Mn e Ni em amostras de aguardentes da microrregião de Jequié-BA.

Amostra	Quantidade de cobalto (μg g^{-1})			Quantidade de manganês (μg g^{-1})			Quantidade de níquel (μg g^{-1})		
	Adicionada	Encontrada	R (%)	Adicionada	Encontrada	R (%)	Adicionada	Encontrada	R (%)
Camelinho	0	<LQ	81	0	<LQ	100	0	<LQ	95
	25	21,44 ± 1,92		25	26,93 ±1,71		25	25,8 ± 3,00	
Vodka	0	<LQ	87	0	<LQ	106	0	<LQ	100
	25	23,23 ± 2,03		25	31,5 ± 1,34		25	28,8 ± 2,00	
Pitú	0	<LQ	95	0	<LQ	111	0	<LQ	96
	25	25,28 ± 1,93		25	29,15 ± 3,80		25	25,13 ± 2,08	
Rio pr. C.	0	<LQ	99	0	8,74 ± 0,45	106	0	12,47 ± 1,53	108
	25	30,15 ± 1,54		25	35,44 ± 1,1		25	39,47 ± 1,15	
Itagi	0	<LQ	96	0	<LQ	105	0	6,47 ± 1,53	107
	25	29,12 ± 3,63		25	29,52 ± 1,15		25	33,13 ± 1,15	
Jiquiriça	0	<LQ	101	0	<LQ	106	0	7,13 ± 0,58	104
	25	26,84 ± 1,92		25	31,23 ± 1,45		25	33,13 ± 2,52	
Ibirataia	0	<LQ	85	0	<LQ	101	0	15,47 ± 1,53	88
	25	26,57 ± 1,92		25	30,45 ± 1,45		25	37,50 ± 1,53	
UESB (A)	0	<LQ	97	0	<LQ	106	0	<LQ	97
	25	25,55 ± 0,75		25	27,30 ± 1,80		25	25,50 ± 1,53	
UESB (B)	0	<LQ	100	0	<LQ	113	0	<LQ	81
	25	25,55 ± 1,55		25	28,80 ± 1,70		25	24,13 ± 2,52	

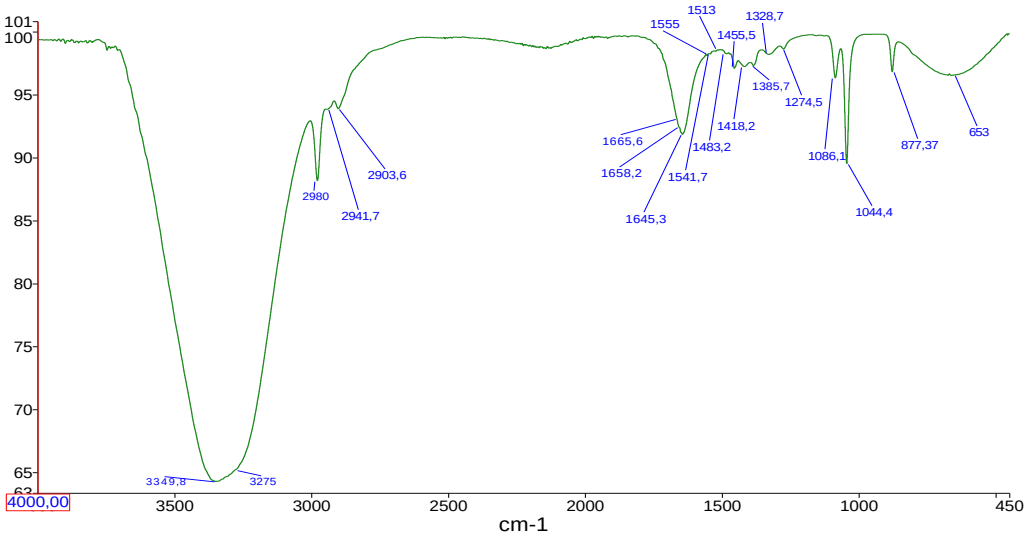
3.3 Análises dos componentes do destilado

A graduação alcoólica das amostras foi determinada com o alcoômetro Gay (Lussac 0 à 100%). Para as frações de cabeça, coração e cauda também foi feita as medidas e a determinação dos compostos orgânicos voláteis. Essas análises foram aplicadas na aguardente destilada pela UESB. Nesse caso a amostra (UESB A) de cana-de-açúcar. As análises pelo infravermelho foi feita no laboratório de cromatografia na UESB (Campus Jequié). Para a análise dos componentes voláteis, foi realizada uma leitura das frações no infravermelho, a fim de determinar as diversas funções orgânicas presentes na cachaça.

3.3.1 Infravermelho

O espectro de IV (Figura 20) apresentou sinais característicos de (-OH) apresentando banda de absorção intensas em 3275 cm^{-1} e sinais na região abaixo de 3000cm^{-1}, caracterizando estiramento de (-CH_3) sp3 em 2903cm^{-1} e 2980cm^{-1} que também informa sinais de aldeído. Além disso na região em 1044cm^{-1} apresenta um ou dois estiramento característico de ligação (-CO). Com uma absorção em 1658cm^{-1} mostra levemente uma presença de uma (C=O) de éster.

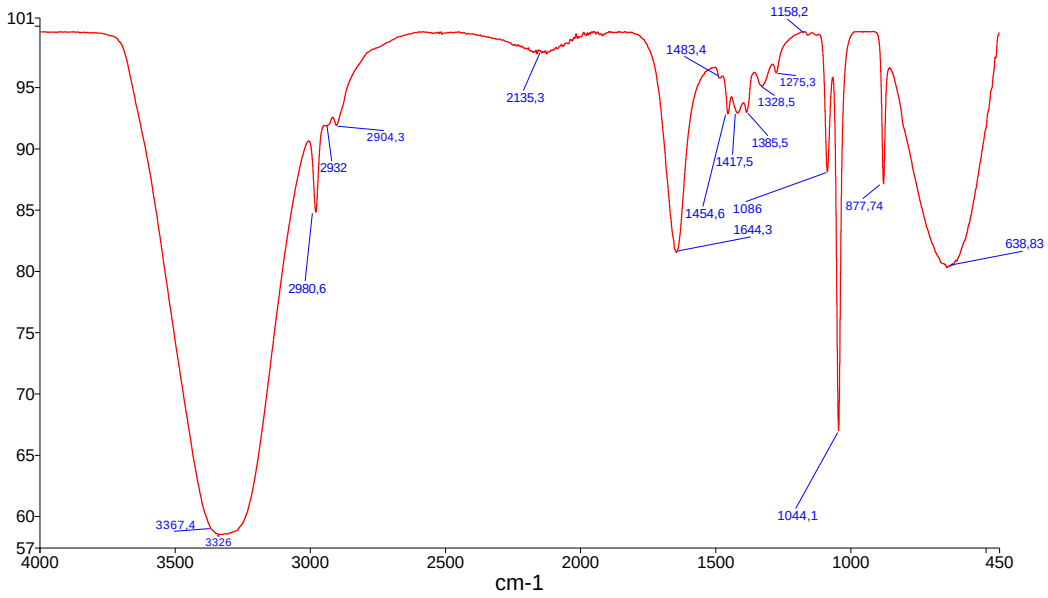
Figura 20: Espectro de IV feito para a fração de cabeça de aguardente.



O espectro de IV Figura 21 também apresentou sinais característicos de (-OH), mostrando a presença ainda de etanol com banda de absorção intensas em 3275 cm^{-1} e sinais na região abaixo de 3000 cm^{-1}, caracterizando estiramento de (-CH_3) sp^3 em 2903 cm^{-1} e 2980 cm^{-1} e sinais de aldeído. Em comparação

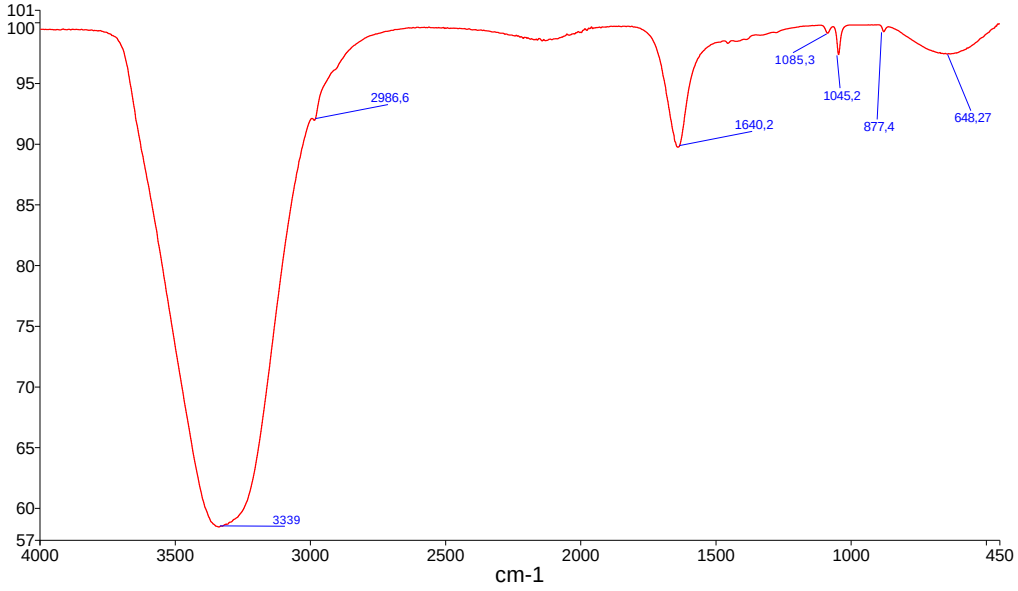
com o IV (Figura 20), na região em 1044 cm^{-1} apresenta com intensidade um ou dois estiramento característico de ligação (-CO). Em 1644 cm-1 apresentou uma banda mais intensa do que a anterior na “cabeça” mostrando mais volume de éster no “coração”. Na análise do IV na fração do coração é possível observar algumas diferenças. Como pode notar, uma presença de banda larga e intensa referente a (-OH) com a presença de etanol e o mesmo estiramento mais intenso de (-CO). Na região de 1644 cm^{-1} foi possível notar uma presença mais intensa de uma banda referente (-C=O). Isso mostra uma presença mais de ésteres.

Figura 21: Espectro de IV feito para a fração do coração de aguardente.



O espectro de IV (Figura 22) demonstra ainda com clareza a presença de sinais característicos de (-OH) acima 3300cm^{-1} mostrando a presença ainda de etanol com banda de absorção intensas em 3275 cm^{-1}. Sinais na região abaixo de 3000cm^{-1}, caracterizando estiramento de (-CH_3) sp3 não apareceram em comparação a cabeça e o coração em 2903cm^{-1}. Em 1044cm^{-1} apresentou com baixa intensidade um ou dois estiramento característico de ligação (-CO).

Figura 22: Espectro de IV feito para a fração da calda de aguardente.

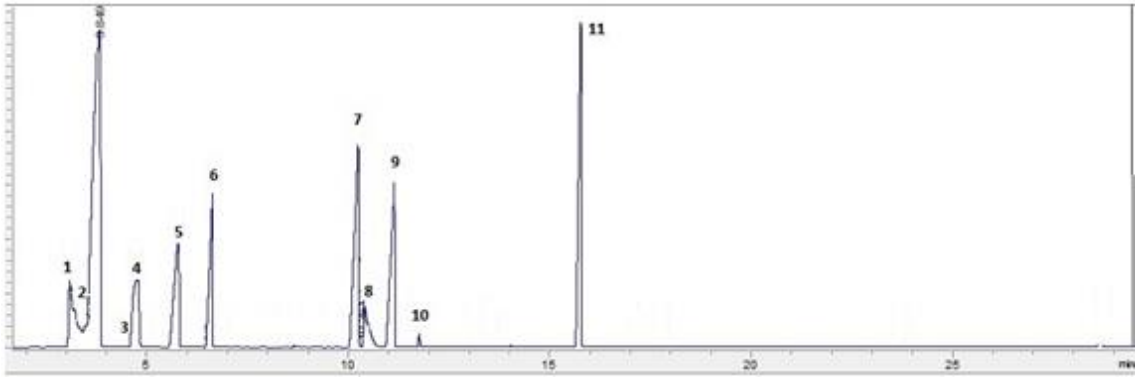


3.4 Análise cromatográfica

As determinações de ésteres, metanol e álcoois superiores (outros) foram realizadas em um CG-FID, Agilent Technologies, 7890B GC System, equipado com coluna capilar HP- FFAP (22m x 200 µm x 0,33 µm de espessura de filme). Detector de ionização de chama(FID). A razão de split foi de 1:15. O gás de arraste utilizado foi o Nitrogênio numa vazão de0,6mL/min. A temperatura do detector foi programada para 220°C.Todas as análises foram realizadas no laboratório de cromatografia na UESB (Campus Jequié). Foi feita uma injeção no CG-DIC de um padrão com a presença de uma variedade de álcoois que poderia ser encontrado nas frações da aguardente. O padrão era constituído por etanol, metanol, acetato de etila, álcool isopropílico, álcool butílico, álcool isobutílico, álcool benzílico, ácido acético, 2-metilexanol, cicloexanol, 2-etilexanol e caprilato de etila, em um volume final de 1mL. Foi utilizado 40µL de cada álcool e, como complemento, o etanol em maior quantidade. Uma simulação da própria aguardente. Em seguida em uma mesma programação do aparelho automático, foi injetado as frações da cachaça e feita a análise do que foi encontrado.

O programa de temperatura utilizado foi: 50°C (2min), 10°C/min para 190°C (5 min), 5°C/min para 220°C (30°C). Identificação dos picos: 1= acetato de etila, 2= metanol, 3= 2-butanol, 4= álcool isopropílico, 5= álcool isobutílico, 6= álcool butílico, 7= cicloexanol, 8= 2-metilexanol, 9= 2-etilexanol, 10= caprilato de etila, 11= álcool benzílico. Veja a figura abaixo:

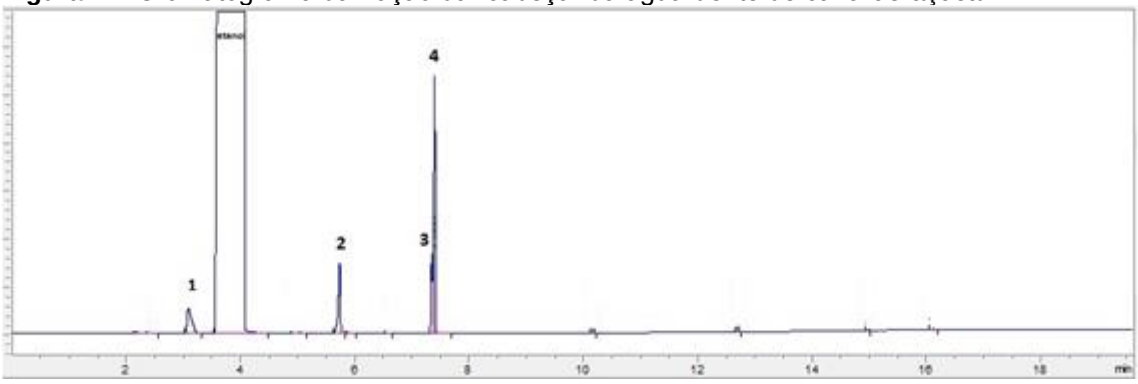
Figura 23: Cromatograma dos padrões dos álcoois e ésteres por CG-DIC por coluna capilar FFAP.



3.5 Resultados das frações

O cromatograma da Figura 24 indicam os picos correspondentes a presença de etanol, ésteres, metanol e álcoois superiores na amostra da fração da “cabeça” da aguardente de cana-de-açúcar. Nesse caso, foi possível a visualização dos picos: 1= metanol, 2= álcool isobutílico, 3= n-butanol e 4= acetato de amila. Na fração da cabeça, é notório a presença de compostos voláteis mais leves com pontos de ebulição inferiores aos demais a serem destilados. Quando foi recolhido a fração da cabeça, ou seja, quando a temperatura ainda é relativamente baixa entre 70 à 80°C tem-se o primeiros compostos. Os compostos derivados da cachaça tem origem nos processos de fermentação, destilação e armazenamento da bebida. Durante esse processo, ocorre a ação das enzimas provenientes de leveduras que adicionado no processo de fermentação, que transforma os açucares do mosto em etanol, gás carbônico e outros produtos secundários [52].

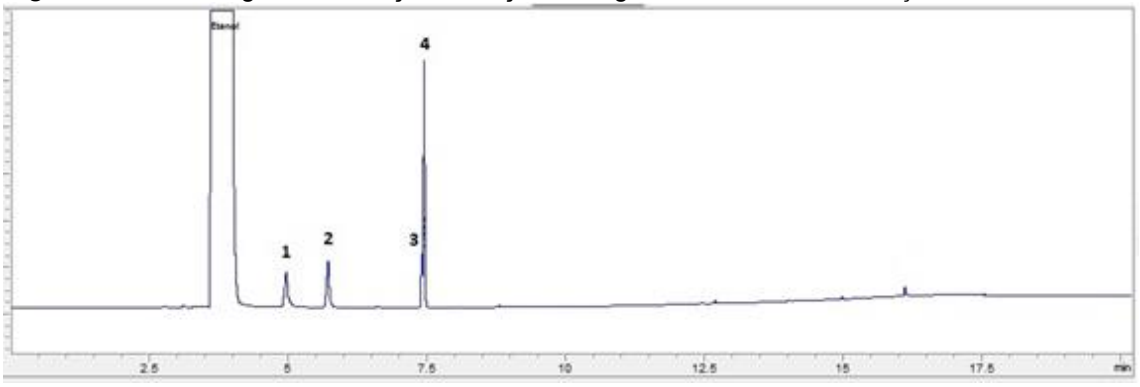
Figura 24: Cromatograma da fração da “cabeça” da aguardente de cana-de-açúcar.



A fração do “coração” apresentou características pouco similares à “cabeça”, como pode-se observar (Figura 25) os picos presentes no coração: 1=

álcool isopropílico, 2= álcool isobutílico, 3= n- butanol e 4= acetato de amila. Nessa fração, nota-se uma ausência de metanol devido ao corte feito na destilação entre a cabeça (1% do mosto) e o coração. Se esse procedimento não for realizado, a melhor fração da aguardente estará contaminada. No processo de fermentação o desenvolvimento de um aroma agradável, está relacionado a formação de éster, porém em quantidades maiores, tem como resultado da cachaça um sabor enjoativo e indesejado [53]. Segundo Valsechi (1960) acetato de amila é um dos principais ésteres encontrado na cachaça, e é obtido quando temos uma reação entre o etanol e o ácido acético, provenientes do processo de fermentação [54].

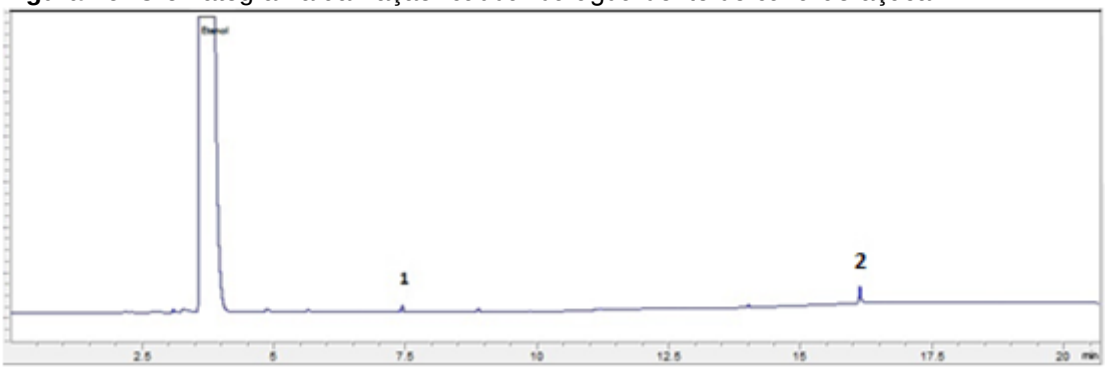
Figura 25: Cromatograma da fração “coração” da aguardente de cana-de-açúcar.



.

A Figura 26 mostra as características de uma fração da “calda” da aguardente que pode ser considera da como uma fração residual, onde poucos picos do etanol e 1= acetato de amila e 2= ácido isovalérico são encontrados. Nesta fração, as concentrações de etanol é relativamente baixa, essa conversão faz com o que o volume de água apresente aumento relativo ao final da destilação. Nessa fração a temperatura já se encontra em 170°C, portanto é encontrado quantidades de moléculas de grande porte com ponto de ebulição elevado e outros resíduos. A presença de ácido orgânicos pode ser pela contaminação do mosto pela bactérias acéticas ou leveduras para o procedimento de fermentação, que produzem o ácido acético, para gerar acetil-coenzima-A utilizada na síntese de ácidos graxos, esteróis e aminoácidos [55].

Figura 26: Cromatograma da fração “cauda” da aguardente de cana-de-açúcar.



3.6 Resultado do destilado

Figura 27: Frações do destilado em Jequié (UESB).

3.7 Produto final

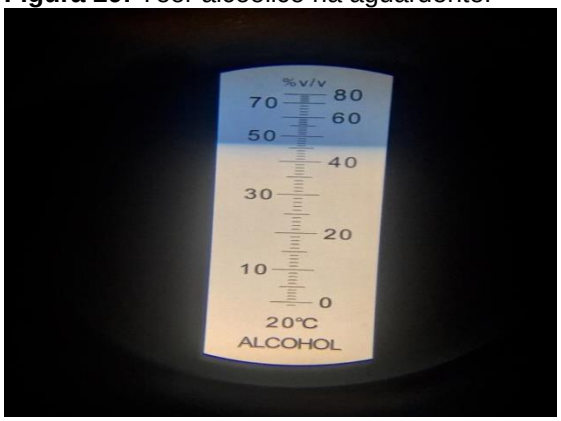
Como o objetivo do trabalho foi determinar espécies inorgânicas e orgânicas em amostras de cachaça, os estudos levou a curiosidade de produzir em alambique de cobre um tipo de cachaça artesanal destilado da cana-de-açúcar e analisar seus elementos possíveis, tendo como resultado em um ótimo produto final de uma cachaça pura e outra envelhecida em barril de umburana. Veja a Figura 29:

Figura 28: Aguardente Prata/Aguardente Ouro. Destilados da cana-de-açúcar.

3.8 Alcoômetro

Com um instrumento de medidas alcoólicas, um alcoômetro, foi possível determinar o teor alcoólico das bebidas em torno de 46° de etanol na cachaça. De acordo com as normas do Ministério da Agricultura que determina cachaça, o teor alcoólico que cita entre 38° e 48° denomina uma cachaça dentro dos padrões, significando que o recolhimento de suas frações foi feita de forma adequada.

Figura 29: Teor alcoólico na aguardente.



4.0 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As metodologias propostas neste trabalho mostraram simples, eficiente e de fácil execução para a determinação de Co(II), Mn (II) e Ni(II), em amostras de aguardente da microrregião de Jequié-BA por F AAS.

No procedimento, a otimização univariada, teve suas vantagens, como grande importância no trabalho que foi um passo a passo de todos os experimentos realizados, tendo como resultado um enorme aprendizado nesta técnica utilizada na DLLME para a pré-concentração de Co, Mn e Ni em amostras de aguardente, visto que para esse procedimento se faz necessário a utilização de proporções adequadas de cada componente.

A utilização de todos os reagentes como complexantes, dispersor, extrator e soluções de tampão mostrou-se eficiente na quantificação de todos os íons estudados no presente trabalho. A microextração líquido-líquido dispersiva combinada com diversos reagentes foram obtidos baixos limites de detecção e quantificação.

O sistema mostrou-se seletivo à determinação de Co, Mn e Ni em presença de outros íons, mediante resultados obtidos pela análise de uma amostra multielementar, considerando as composição e proporção dos referidos íons nestas.

A técnica da DLLME, baseada na metodologia utilizada para aplicar em amostras de cachaças, também foi aplicada em amostras produzidas em laboratório (UESB A-B), que proporcionou uma análise da qualidade química da aguardente de cana-de-açúcar obtendo bons resultados com os teores de metais.

Os cromatogramas dos compostos químicos orgânicos ao longo do processo de injeção da aguardente mostraram características típicas dos componentes voláteis da fração “cabeça” (aldeídos, ésteres e metanol) e da fração “cauda” (ésteres e ácidos de grande massa molecular) e principalmente o “coração” (álcoois e ésteres) componentes que confirmam uma aguardente de qualidade para o consumo próprio.

5.0 REFERÊNCIAS

[1] BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa n**. 13 de 29 de junho de 2005a. Aprova o regulamento técnico para a fixação dos padrões de qualidade e indentidade para aguardente de cana ou de cachaça. Disponível em :<http://www.agricultura.gov.br/>. Acesso em: 29 mar 2019.

[2] SORATTO, A. N. **A certificação agregando valor à cachaça do Brasil** Certification addsvalueto Brazilian “cachaça”. Ciênc. Tecnol. Aliment. Campinas, 27(4): 681-687, out.-dez. 2007.

[3] PINTO, F. G. et al. **Determinação de cobre e zinco em cachaça por espectrometria de absorção atômica com chama usando calibração por ajuste de matriz**. Analitica, v. 17, p. 48-50, 2005.

[4] FLEET, G. H. **Alimentos e fermentação**. Oxford, Food Science and Tecnology, v. 38, n.5p, 2003.

[5] LINERES M. **Transferofin organic pollution by composts**. In: Jackson JV, Merillot J-M, L'Hermite P, editors. Composting and Compost Quality Assurance Criteria. Luxembourg: Commissionofthe European Communities; p. 237–45, 1992.

[6] VAN LEEUWEN CJ, VERMEIRE TG. Risk **assessmento fchemicals**: na introduction. Springer: USA; 2010.

[7] DONKIN SG, OHLSON DL. **Properties and Effects of Metals**. In: Williams PL, James RC, Roberts SM (eds). Principles of Toxicology. New York: John Wiley& Sons; 2000.

[8] LU, F.C. **Basic toxicology: fundamentals, target organs and risk assessment**. Ed., p. 879-886. 3 ed. Taylor & Francis. Washintong, 1996.

[9] OCHIAI, E.l. **Toxicology of metals and biological defense**. Journal of Chemical Education, v. 72, n. 6, p. 472 - 484, 1995.

[10] BOOKMAN Online. Disponível na Internet, http.*11* www.bookrman.com.au/vitamins/cobalt.html. Acesso em 29/03/2019.

[11] ROCHA, F. R. P.; TEIXEIRA, L. S. G. **Estratégias para aumento de sensibilidade em espectrofotometria UV-VIS**. Química nova, v. 27, p.807-812, 2004.

[12] SZYMCZYCHA-MADEJA A.,**Advances in assessingthe elemental composition of distilled spirits using atomic spectrometry**. Analytical Chemistry Division, Faculty of Chemistry, Wroclaw University of Technology Wroclaw 50-370, Poland. Trends in Analytical Chemistry, 127–135, 2015

[13] O .M. SAMPAIO, R.V. RECHE, **Chemical profile of rums as a function oftheir origin**. The use of chemometric techniques for their identification, J. Agric. Food Chem. 56 (2008) 1661–1668.

[14] SZYMCZYCHA-MADEJA A. **Advance sinasses singthe elemental composition of distilled spirits using atomic spectrometry**.Analytical Chemistry Division, Facultyof Chemistry, Wroclaw Universityof Technology, 27, Wroclaw 50-370, Poland. Trends in Analytical Chemistry 64 (2015) 127–135

[15] M. OLALLA, M.C. Gonzalez, C. Cabrera, M.C. Lopez, **Optimized determination ofiron in grapejuice, wines, andother alcoholic beveragesby atomic absorption spectrometry**, J. AOAC Int. 83 (2000) 189–195.

[16] BANKS, M.S.; HALL, E.T. **X-ray fluorescent analysis in archaeology: the 'milliprobe'**. *Archaeometry*, v. 6, p. 31-36,1963.

[17] HALL, E.T. **Some uses of physics in archaeology**. In: *Year Book ofthe Physical Society.* [S.l.]: [s.n.], 22-34 p. 1958.

[18] KRAAY, C.M. **The Composition of electrum coinage**. *Archaeometry*, [v.] 1, p. 21-23,1958.

[19] FERRETTI, M. **Princípios e aplicações de espectroscopia de fluorescência de Raios X (FRX) com instrumentação portátil para estudo de bens culturais**. Revista CPC, São Paulo, n. 7, pp. 74-98, nov. 2008/abr. 2009

[20] ZANG XH, ET AL. **Developments of Dispersive Liquid-Liquid Microextraction Technique**. Chinese Journal of Analytical Chemistry 2009; 37(2):161-168. http:// dx.doi.org/10.1016/S1872-2040(08)60082-1

[21] MELEK, E.; TUZEN, M.; SOYLAK. M.; *Anal. Chim. Acta* **2006**, *578*, 213.

[22] VANDERPOOL, R. A.; Buckley, W. T.; *Anal. Chem.* **1999**, *71*, 652.

[23] MARTINS M. et al, **Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (DLLME): fundamentos e aplicações.** Instituto Internacional de Cromatografia, ScientiaChromatographica2012; 4(1):35-51

[24] OJEDA CB, ROJAS FS. **Separation and Preconcentration by Dispersive Liquid-Liquid Microextraction** Procedure: Recent Applications. Chromatographia; 74:651- 679. http://dx.doi.org/10.1007/s10337-011-2124-1. 2011.

[25] QUEIROZ, S. C. N.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F. **Métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados em Fluidos biológicos para posterior determinação cromatográfica**. Química Nova, v. 24, p.68-76, 2001.

[26] MEIRA, L. A. Desenvolvimento de método analítico baseado na microextração líquido-líquido dispersiva assistida por ultrassom utilizando 5-(4-dimetilaminobenzildeno) rodanina para pré-concentração de cádmio e zinco. **Dissertação de Mestrado em Química analítica**. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. 2016.

[27] MARTINS M. ET AL, **Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (DLLME): fundamentos e aplicações.** Instituto Internacional de Cromatografia, *Scientia Chromatographica*; 4(1):35-51, 2012.

[28] PSILLAKIS E, KALOGERAKIS N**. Developments in single-drop microextraction**. Trends in Analytical Chemistry. 2002;21(1):53–63.

[29] JEANNOT M A, Cantwell FF. Solvent microextraction into a single drop. ***Analytical Chemistry***. 68(13):2236–40p. 1996.

[30] HE Y, LEE HK. **Liquid-phase microextraction in a single drop of organic solvente byusing a conventional microsyringe**. ***Analytical Chemistry***; 69(22):4634–40,1997.

[31] JEANNOT, M.A.; PRZYJAZNY, A.; KOKOSA, J.M. Single drop microextraction--development, applicationsand future trends. **Journal of Chromatography A,** v. 1217, p. 2326, 2010.

[32] Hu B, He M, Chen B, Xia L. **Liquid phase microextraction for theanalysisof trace elements and theirspeciation**. Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy; 86:14–30, 2013.

[33] PEDERSEN-BJERGAARD, S.; RASMUSSEN, K. E. **Liquid-liquid-liquid microextraction for sample preparation of biological fluids prior tocapillaryelectro-phoresis**; Anal. Chem, 71, 2650, 1999.

[34] OLIVEIRA, A. R. de M. et al. **Microextração em fase líquida (LPME):** Fundamentos da técnica e aplicações na Análise de fármacos em fluidos biológicos. **Química nova**, p.637–644, 2008.

[35] PSILLAKIS, E.; KALOGERAKIS, N.; Trends Anal. Chem. 2003, 22, 565.

[36] OLIVEIRA, A. R. de M. et al. **Microextração em fase líquida (LPME):** Fundamentos da técnica e aplicações na Análise de fármacos em fluidos biológicos. **Química nova**, p.637–644, 2008.

[37] MEIRA, L. A. Desenvolvimento de método analítico baseado na microextração líquido-líquido dispersiva assistida por ultrassom utilizando 5-(4-dimetilaminobenzildeno) rodanina para pré-concentração de cádmio e zinco. **Dissertação de Mestrado em Química analítica**. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. 2016.

[38] AL-SAIDI, H. M.; EMARA, A. A. A. The recente developments in dispersive liquid–liquid microextraction for preconcentration and determination of inorganic analytes. **Journalof Saudi Chemical Society**, v. 18, p. 745–761, 2014.

[39] C. B. OJEDA ET AL, **Determination of Cobalt in Food**, Environmental and Water Samples with Preconcentrationby Dispersive Liquid-Liquid Microextraction, Received November 3, 2011; revised December 5, 2011; accepted December 16, 2011

[40] MARTINS M. ET AL, **Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (DLLME): fundamentos e aplicações.** Instituto Internacional de Cromatografia, *Scientia Chromatographica*; 4(1):35-51, 2012.

[41] PASCALICCHIO, Aurea. **Contaminação por metais pesados:** Saúde pública e medicina ortomolecular. São Paulo. Annablume. 2002.

[42] CARVALHO, Paulo Roberto**. Medicina Ortomolecular**: Um guia completo dos nutrientes e suas propriedades terapêuticas. 4ªEd. Rio de Janeiro, Nova Era: 2006.

[43] RODRIGUES, L. R.; OLIVEIRA, E. A. A. Q. de. **Expansão da exportação de cachaça brasileira:** uma nova oportunidade de negócios internacionais. In:

ENCONTRO PBDAC. Programa Brasileiro de Desenvolvimento da Cachaça.2006.

[44] MEIRELES F.O; S M ALMEIDA S. M. **Agricultura familiar no apl/cachaça da região de salinas:** caso de sucesso da cachaça terra de ouro, VI Simpósio Reforma Agrária e Questões Rurais NUPEDOR 2014.

[45] MARTINS M. et al, **Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (DLLME): fundamentos e aplicações.** Instituto Internacional de Cromatografia, *Scientia Chromatographica*; 4(1):35-51, 2012.

[46] SORATTO A. N. **A certificação agregando valor à cachaça do Brasil.** Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 27(4): 681-687, out.-dez. 2007

[47] ALMEIDA J; DIAS L. Os segredos da CACHAÇA. Tudo que você precisa saber sobre bebida mais popular do Brasil. Editora Alaúde, São Paulo. 2018.

[48] MEIRELES O. F.; ALMEIDA L. C. S. M. **Agricultura familiar no apl/cachaça da região de salinas:** caso de sucesso da cachaça terra de ouro; VI Simpósio Reforma Agrária e Questões Rurais NUPEDOR. Pag. 16, 2014.

[49] CARNEIRO M. **Oficina sobre elaboração de aguardente a partir do mel de abelha sem ferrão.** Disponível em: https://www.apacame.org.br/mensagemdoce/130/artigo2.htm Acesso em 25/02/19.

[50] HENRIQUE T. **Cachaça Gogó da Ema**; http://www.cachacagogodaema.com.br/home/ Acesso em 13/02/2019.

[51] CORNIANI, L. S. **Boas práticas na Destilação da Cachaça**; casa do produtor rural, Disponível em: http://www.esalq.usp.br/cprural/boapratica/mostra/76/boas-praticas-na-destilacao-da-cachaca-.html; ESALQ/USP; Acesso em 24/03/2019.

[52] NOVAES, F.V. **Tecnologia da aguardente**. Piracicaba: Centro Acadêmico Luiz de Queiroz, 143p. 1974.

[53] WINDHOLZ, M.; BUDAVARI S; (ed) **The merck index:** na encyclopedi of chemical sand drugs. 9th Ed. Rahway: Merck &Co, 1835 p. 1976.

[54] VALSECHI, O. **Aguardente de cana de açúcar.** Livroceres, São Paulo: 120 p. 1960.

[55] CHERUBIN, R.A. **Efeitos da adição de benzoato de sódio na fermentação alcoólica para produção de aguardente de cana-de-açúcar (Saccharumssp.).** 70p. 1998.

[56] DOUGLAS A.SKOOG F. JAMES HOLLER. **Princípios de Análise Instrumental**. Edição 5°. Porto Alegre. 598-599p. 2002.

[57] RODRIGUES, L. R.; OLIVEIRA, E. A. A. Q. de. **Expansão da exportação de cachaça brasileira: uma nova oportunidade de negócios internacionais**. São José dos Campos. *[Anais]*. São José dos Campos: Univap, 2007.

[58] LEMOS, V. A.; SANTOS, J. S.; NUNES, L. S.; Synthesis and application of a new functionalized resin in on-line preconcentration of lead. **Separ Sci Technol,** v.40, p.1401. (2005).