



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**



HELENA BAGO TARABORELLI

**TÉCNICAS ANALÍTICAS E FERRAMENTAS QUIMIOMÉTRICAS PARA
AUTENTICAÇÃO DE UÍSQUES:
Uma revisão**

São Carlos
2025



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**



HELENA BAGO TARABORELLI

**TÉCNICAS ANALÍTICAS E FERRAMENTAS QUIMIOMÉTRICAS PARA
AUTENTICAÇÃO DE UÍSQUES:
Uma revisão**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
como requisito parcial para a obtenção do título de
Bacharel em Química ao Departamento de
Química da Universidade Federal de São Carlos.

Orientador: Prof. Dr. Evandro Piccin

São Carlos
2025

**FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS****DEPARTAMENTO DE QUÍMICA - DQ/CCET**

Rod. Washington Luís km 235 - SP-310, s/n - Bairro Monjolinho, São Carlos/SP, CEP 13565-905

Telefone: (16) 33518206 - <http://www.ufscar.br>

DP-TCC-FA nº 14/2025/DQ/CCET

Graduação: Defesa Pública de Trabalho de Conclusão de Curso**Folha Aprovação (GDP-TCC-FA)****FOLHA DE APROVAÇÃO****HELENA BAGO TARABORELLI****TÉCNICAS ANALÍTICAS E FERRAMENTAS QUIMIOMÉTRICAS PARA AUTENTICAÇÃO DE UÍSQUES: UMA REVISÃO****Trabalho de Conclusão de Curso****Universidade Federal de São Carlos – Campus São Carlos**

São Carlos, 13 de fevereiro de 2025

ASSINATURAS E CIÊNCIAS

Cargo/Função	Nome Completo
Orientador	Prof. Dr. Evandro Piccin
Membro da Banca 1	MSc. Bruno Arantes Borges
Membro da Banca 2	Dr. Tales Giuliano Vieira



Documento assinado eletronicamente por **Ricardo Samuel Schwab, Professor(a)**, em 20/02/2025, às 08:34, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site <https://sei.ufscar.br/autenticacao>, informando o código verificador **1752750** e o código CRC **6DC5EEF**.

Referência: Caso responda a este documento, indicar expressamente o Processo nº 23112.001933/2024-38

SEI nº 1752750

Modelo de Documento: Grad: Defesa TCC: Folha Aprovação, versão de 02/Agosto/2019

AGRADECIMENTOS

À minha família, em especial meus pais, Derli e Agnaldo, e minhas irmãs, Lorena e Marina. Por todo suporte, por sempre acreditarem no meu sucesso e por vibrarem a cada conquista.

Ao meu companheiro, Bruno, por me incentivar e me acalmar quando eu não acreditava que daria conta. Por cada conselho e cada palavra de carinho, muito obrigada.

Aos meus amigos de graduação, Bruno, Débora, Guilherme, Jennifer, Joana, Lívia e Rafaela, por tornarem esses anos mais leves. Das prosas despreziosas às conversas mais importantes a respeito do futuro, saibam que jamais esquecerei de sequer uma.

Aos meus colegas de laboratório, por todo apoio prestado a mim quando estava perdida. Obrigada pela paciência, pela gentileza e pela sensibilidade.

Aos meus professores, especialmente aqueles que mais exigiram de mim: por vezes não enxerguei o quanto era capaz. Obrigada por me mostrarem que sou, e muito mais do que imagino.

Eu quase que nada não sei. Mas desconfio
de muita coisa.

(João Guimarães Rosa)

RESUMO

Adulterações são comumente observadas em produtos cujo custo é elevado. Bebidas alcoólicas, principalmente as com maior procura, são o maior alvo desse tipo de infração. Os uísques, destilados alcoólicos de cereais fermentados, são falsificados das mais diversas maneiras, seja por diluição com outros destilados mais baratos, seja por substituição total do conteúdo da garrafa por um produto de menor valor. Em vista disso, técnicas analíticas são empregadas para analisar amostras de uísque suspeitas e adulteradas com o propósito de verificar sua autenticidade. O objetivo desta revisão bibliográfica é comparar diferentes técnicas analíticas usadas para analisar uísques apreendidos por suspeita de falsificação, para classificação de amostras autênticas, com destaque para análise quimiométrica como instrumento para tratar e interpretar os dados obtidos em espectros. Por meio de técnicas como espectrofotometria de absorção molecular na região do UV-vis, espectrometria de massas e colorimetria em dispositivos baseados em papel, trabalhos da literatura verificaram a presença de compostos marcadores de determinados uísques, bem como aditivos inadequados que marcam a presença de adulteração. Essas metodologias apresentam vantagens como consumo ínfimo e a dispensa de preparo de amostra. Aliadas à Quimiometria, as ferramentas tornam-se fundamentais para análises mais confiáveis e com a possibilidade de construção de modelos mais abrangentes, sendo capazes de distinguir e verificar cada vez mais infrações deste setor.

Palavras-chave: Adulteração; autenticação; quimiometria; uísque; química forense, análise de alimentos.

ABSTRACT

Adulteration is often observed in high-priced products. Alcoholic beverages, especially those in high consumption, are the main target of such violations. Whiskies, distilled spirits made from fermented grain, are frequently counterfeited in various ways, either by diluting them with cheaper spirits or by completely replacing the contents of the bottle with an inferior product. Thus, analytical techniques are employed to analyze suspect whiskey samples in order to verify their authenticity. The aim of this literature review is to compare different analytical techniques used to examine seized whiskies and to verify differences between authentic products, focusing on chemometric analysis as a tool for processing and interpreting spectral data. Using spectrophotometry, mass spectrometry and paper-based devices, the presence of markers specific to certain whiskies as well as unauthorized additives that confirms adulterations. These methods offer advantages such as minimal sample consumption and no sample preparation is required. In combination with chemometrics, these tools are an indispensable instrument for trustworthy analyses and enable the development of more comprehensive models capable of increasingly detecting and verifying violations in this area.

Keywords: Adulteration; authentication; chemometrics; whisky; forensic analysis; food analysis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Fluxograma do processo de produção do uísque.....	15
Figura 2 – À esquerda, alambique de cobre da destilaria Dalmunach, em Moray, no Reino Unido, usado na destilação do uísque em batelada. À direita, Coluna Coffey da destilaria Kilbeggan, Irlanda, usada na destilação contínua	16
Figura 3 - Técnicas instrumentais e quimiométricas aplicadas na análise de uísque. Para mais informações a respeito das técnicas, sugere-se consultar a fonte	21
Figura 4 - Reprodução da Análise por Componentes Principais (PCA).....	23
Figura 5 - Reprodução da PLS1-DA	24
Figura 6 - Reprodução da PLS2-DA	24
Figura 7 - Espectros de absorção sobrepostos dos uísques estudados. A: Espectros sobrepostos de Johnnie Walker Red Label (6 anos) e Johnnie Walker Black Label (12 anos); B: Espectros sobrepostos de J&B 8 anos, 12 anos e 15 anos	27
Figura 8 - Gráfico de pontuação (escores) com duas componentes principais para separação dos uísques por tempo de maturação	28
Figura 9 - Gráfico de pontuação (escores) da PLS-DA para amostras de uísque, discriminando-as de acordo com anos de envelhecimento.....	29
Figura 10 - Espectro de absorção de uísques genuínos, sendo (■) Black Label, (■) Old Parr, (■) Chivas Regal, (■) Red Label, (■) White Horse, (■) Ballantine's, (■) Natu Nobilis.....	30
Figura 11 - Gráfico de influência e resíduo para discriminação de Red Label.....	31
Figura 12 - Valores de classe estimados para discriminação das amostras genuínas de Red Label (■) das genuínas de Black Label (■), White Horse (■), Chivas Regal (■), Ballantine's (◇), Natu Nobilis (▲), Grand Old Parr (★), amostras genuínas de marcas não incluídas no conjunto de treinamento (●), (---) limite de discriminação e (- -) limite para valores de classe estimados.....	31
Figura 13 - Valores de classe estimados para discriminação das amostras genuínas de Red Label (■) em relação às de Black Label (■), White Horse (■), Chivas Regal (■), Ballantine's (◇), Natu Nobilis (▲), Grand Old Parr (★), amostras genuínas adulteradas (●), (---) limite de discriminação e (---) limite para valores de classe estimados	32
Figura 14 - PCA para amostras autênticas envelhecidas em tipos diferentes de barril. Círculo laranja: bourbon; círculo preto: bourbon e barril de vinho.....	34

Figura 15 - PLS-DA para amostras autênticas envelhecidas em tipos diferentes de barril. Círculo laranja: bourbon; círculo preto: bourbon e barril de vinho.....	35
Figura 16 - Gráfico VIP com seleção dos marcadores	35
Figura 17 - Gráficos dos marcadores significativos. A: N-(3-metilbutil)acetamida; B: 5-oxoprolinato de etila; C: ácido 5-oxooxano-2-carboxílico; D: 4(2-hidroxietil)fenol em amostras de uísque de malte	36
Figura 18 - Gráfico PCA baseado nos quatro marcadores selecionados, de acordo com o barril utilizado para a maturação do uísque (bourbon/vinho, bourbon/vinho xerez e barril de bourbon)	36
Figura 19 - Gráfico de pontuação (escores) da PCA de uísques genuínos (malte, misturados premium e misturados) e falsos	37
Figura 20 - Espectros de massas obtidos por PS-MS de amostras de uísque escocês. A: RL autêntico; B: RL falsificado; C: BL autêntico; D: BL falsificado; E: WH autêntico; F: WH falsificado	39
Figura 21 - Gráfico de PCA gerado pelos espectros das amostras de uísque. A: escores das duas componentes principais; B: pesos considerando a PC2. Amostras autênticas (círculos azuis) falsificadas (quadrados vermelhos)	40
Figura 22 - Previsões da PLS-DA. Elementos preenchidos configuram o vetor de pontuação de amostras autênticas e elementos vazios, amostras falsificadas. Quadrados pretos representam BL, círculos vermelhos, RL, e triângulos azuis, WH41	
Figura 23 - Vetores de regressão informativos obtidos pela PLS-DA para a discriminação entre uísques escoceses autênticos e falsificados.....	42
Figura 24 - Testes colorimétricos para quatro marcas de uísque, estas variando entre autênticas, adulteradas sofisticadamente e adulterações amadoras.....	43
Figura 25 - Variação na intensidade de sinal com a adição de corante caramelo em diferentes concentrações ao uísque Ballantine's, considerando os canais de cores magenta (triângulos roxos), CMYK (círculos vermelhos) e RGB (quadrados pretos)44	
Figura 26 - PCA para triagem de amostras apreendidas. Pela identificação feita, os círculos azuis são amostras falsificadas e os triângulos roxos são amostras autênticas, conforme indicado pelas áreas sombreadas em branco e cinza. Os quadrados verdes são uísques originais de 6 marcas diferentes (Red Label, Black Label, Jack Daniels, Ballantine's, Chivas Regal e White Horse).....	44

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

μPAD	<i>Paper-based Analytical Device</i> (Dispositivo Analítico em Papel)
a. C.	antes de Cristo
cm	Centímetro
CMYK	<i>Cyan-Magenta-Yellow-Key</i> (Ciano-Magenta-Amarelo-Principal)
EI	<i>Electronic Impact</i> (Impacto Eletrônico)
ESI	<i>Electrospray Ionization</i> (Ionização por Eletrospray)
eV	Elétron-volt
GC	<i>Gas Chromatography</i> (Cromatografia Gasosa)
GC-HRMS	<i>Gas Chromatography Coupled to High Resolution Mass Spectrometry</i> (Cromatografia Gasosas acoplada à Espectrometria de Massas de Alta Resolução)
GC-MS	<i>Gas Chromatography Coupled to Mass Spectrometry</i> (Cromatografia Gasosas acoplada à Espectrometria de Massas)
kV	Quilovolt
L	Litro
LDA	<i>Linear Discriminant Analysis</i> (Análise Discriminante Linear)
LOD	<i>Limit of Detection</i> (Limite de Detecção)
m/z	Razão massa/carga
MS	Mass Spectrometry (Espectrometria de Massas)
nm	Nanômetro
PC	<i>Principal Component</i> (Componente Principal)
PCA	<i>Principal Component Analysis</i> (Análise por Componentes Principais)
PLS	<i>Partial Least Squares</i> (Mínimos Quadrados Parciais)
PLS1-DA	<i>Binary Partial Least Squares Discriminant Analysis</i> (Análise Discriminante Binária por Mínimos Quadrados Parciais)
PLS2-DA	<i>Multi-class Partial Least Squares Discriminant Analysis</i> (Análise Discriminante Multiclasse por Mínimos Quadrados Parciais)
PLS-DA	<i>Partial Least Squares Discriminant Analysis</i> (Análise Discriminante por Mínimos Quadrados Parciais)
POC	<i>Point-of-care</i> (Local de Atendimento)
PSI	<i>Paper Spray Ionization</i> (Ionização por Paper Spray)

PSI-MS	<i>Paper Spray Ionization Mass Spectrometry</i> (Espectrometria de Massas com Ionização por <i>Paper Spray</i>)
RGB	<i>Red-Gren-Blue</i> (Vermelho-Verde-Azul)
UV-Vis	Ultravioleta-Visível
v/v	Volume por volume
VIP	<i>Variable Importance Projection</i> (Importância de Projeção de Variável)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	10
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	12
2.1	Uísque	12
2.1.1	<i>Definição</i>	12
2.1.2	<i>História</i>	13
2.1.3	<i>Produção</i>	14
2.1.4	<i>Composição</i>	17
2.1.5	<i>Adulteração</i>	19
2.2	Quimiometria	20
2.2.1	<i>Análise por Componentes Principais (PCA)</i>	22
2.2.2	<i>Análise Discriminante por Mínimos Quadrados Parciais (PLS-DA)</i>	23
2.3	Espectrofotometria no UV-Vis.....	25
2.3.1	<i>Classificação de uísques quanto à marca e tempo de maturação em barril</i>	26
2.3.2	<i>Identificação de adulterações com amostras apreendidas</i>	29
2.4	Cromatografia Gasosa e Espectrometria de Massas.....	32
2.4.1	<i>Cromatografia Gasosa</i>	33
2.4.2	<i>Espectrometria de Massas</i>	33
2.4.3	<i>Ionização por Paper Spray</i>	38
2.5	Dispositivo analítico em papel para testes colorimétricos	42
2.5.1	<i>Análise de adulteração de uísque com corante caramelo por μPADs</i>	43
3	CONCLUSÃO	46
	REFERÊNCIAS	47

1 INTRODUÇÃO

Uísque é um destilado alcoólico obtido da fermentação de cereais como trigo, milho e cevada maltada. Sua origem é um tanto quanto incerta entre Irlanda e Escócia, mas o fato é que registros históricos datam sua existência desde meados de 1500 naquela região (LYONS, 2000). Com o passar do tempo, a bebida ganhou popularidade mundial e é motivo de apreciação para muitos, já que seu processo de envelhecimento em barris de carvalho a torna um produto complexo, com imensa variedade de aromas e sabores.

Por esse motivo, o uísque é consumido mundialmente e, conseqüentemente, seu valor é elevado. Dessa maneira, com o aumento da demanda, a exigência quanto à qualidade do produto cresce, e este fator somado ao alto custo (principalmente de sua importação) fazem do destilado o maior alvo de falsificações e adulterações dentre as bebidas alcoólicas (REZENDE *et al.*, 2022; SANTOS; HARTWIG, 2023). Fraudes envolvendo uísques podem assumir inúmeras formas, desde a diluição com água, adição de caramelo ou outras bebidas alcoólicas, até a substituição do conteúdo da garrafa por bebidas de menor valor (CANTARELLI *et al.*, 2014).

Essas práticas apresentam muitos prejuízos financeiros. Em 2022, estima-se que o crime organizado faturou quase 57 bilhões de reais com a fabricação de bebidas falsificadas, superando os valores da Ambev neste mesmo ano, que foi de pouco mais de 42 bilhões de reais (ANDRADE, 2024). Além disso, os riscos à saúde pública são altíssimos, uma vez que a contaminação por subprodutos tóxicos é eminente e, em alguns casos, pode levar à morte, como foi o caso das mais de 20 mortes decorrentes de uma bebida adulterada com metanol em Istambul, na Turquia, em dezembro de 2024 (FRANCE PRESSE, 2025).

Sendo assim, submeter uísques a análises químicas tornou-se indispensável a fim de garantir a autenticidade do produto e a segurança de quem o consome. Diversas técnicas podem ser empregadas para identificar adulterações, como a cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas – GC/MS (AYLOTT; MACKENZIE, 2010; HEINZ; ELKINS, 2019), espectrometria de massas com diferentes modos de ionização (AYLOTT; MACKENZIE, 2010; TEODORO *et al.*, 2017; STUPAK *et al.*, 2018), espectrofotometria na região do UV-Visível (CANTARELLI *et al.*, 2014; MARTINS *et al.*, 2017), dispositivos baseados em papel (CARDOSO *et al.*, 2017), entre outras (ELLIS *et al.*, 2019; KEW *et al.*, 2019).

Nesse sentido, devido à grande complexidade na composição química dos uísques e das inúmeras maneiras de adulterá-los, a Quimiometria emerge como um mecanismo fundamental para tratamento de dados espectrais (POWER *et al.*, 2020), unindo química e estatística. Ferramentas quimiométricas como a Análise de Componentes Principais (PCA, do inglês *Principal Component Analysis*) e a Análise Discriminante por Mínimos Quadrados Parciais (PLS-DA, do inglês *Partial Least Squares Discriminant Analysis*) permitem identificar amostras suspeitas como fraudulentas ou assegurar sua autenticidade, por meio do reconhecimento de padrões.

Portanto, este trabalho tem como objetivo revisar e comparar diferentes técnicas analíticas para detectar adulterações em amostras de uísque, destacando a análise quimiométrica como instrumento para tratar e interpretar os dados obtidos. Isso permitirá compreender a contribuição da quimiometria para o controle de qualidade dentro do comércio e fabricação de uísques, além de promover segurança ao consumidor e evitar o avanço de infrações neste setor.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Uísque

O uísque é uma bebida alcoólica mundialmente popular, conhecida por seus sabores complexos e elaborada por meio de, entre outros métodos, os de destilação. Suas variedades – uísque cortado, uísque de cereais e uísque puro malte - oferecem perfis sensoriais distintos que são influenciados por técnicas de produção e fatores geográficos (WIŚNIEWSKA *et al.*, 2014). Os uísques cortados (*blended*), que combinam grãos e malte, são amplamente preferidos pelos produtores devido ao seu sabor consistente, enquanto os uísques puro malte variam muito entre lotes e regiões (TEODORO *et al.*, 2017). O alto valor de mercado e sua popularidade fazem com que a bebida seja, frequentemente, alvo de falsificação e adulteração, o que leva ao desenvolvimento de métodos avançados de controle de qualidade e autenticação (TOSATO *et al.*, 2018).

Nas seções subseqüentes, serão apresentados outros aspectos interessantes a respeito do uísque, como sua definição perante a legislação brasileira, a história da bebida, seus principais meios de produção, a composição química, maneiras conhecidas de adulteração e métodos de análise.

2.1.1 Definição

O uísque, *whisky* ou *whiskey*, como também é grafado, é definido pela legislação brasileira como uma bebida alcoólica com teor alcoólico de 38% a 54% em volume a 20 graus Celsius. É produzida a partir do destilado de cereais, que podem ser parcial ou totalmente maltados, e é maturada para desenvolver seus sabores característicos. A bebida também pode conter álcool etílico potável obtido de fontes agrícolas, além de água para ajustar o teor alcoólico e corante caramelo, que corrige a cor (BRASIL, 2009).

De acordo com as regulamentações brasileiras, o uísque é categorizado em tipos distintos com base em sua composição e processo de produção:

- O “uísque puro malte” é produzido exclusivamente a partir do destilado de cereais maltados, exigindo uma concentração mínima de congêneres - compostos que contribuem para o aroma e o sabor - de 350 mg/100 mL de álcool anidro;
- O “uísque cortado” (também conhecido como *blended whisky*) é produzido pela mistura de pelo menos 30% da bebida de malte envelhecido com outros grãos

destilados ou álcool etílico agrícola, com um teor mínimo de congêneres de 100 mg/100 mL de álcool anidro.

- O “uísque de cereais” (ou *grain whisky*) é produzido a partir de fontes reconhecidas de grãos, parcialmente sacarificado por enzimas da cevada maltada e maturado por pelo menos dois anos, também mantendo um mínimo de 100 mg de congêneres por 100 mL de álcool anidro;

- Por último, *Bourbon whisky* ou *tennessee whisky* é a bebida que foi produzida exclusivamente nos Estados Unidos da América (BRASIL, 2009).

Certas designações, como “uísque escocês”, “uísque canadense” e “uísque irlandês” são restritas à origem, o que significa que essas variedades só podem ser assim denominadas se tiverem sido produzidas e maturadas em seus respectivos países de origem. Somente os uísques importados que atendam aos critérios estabelecidos na regulamentação de seus países podem usar esses nomes em território brasileiro, sendo permitido apenas o ajuste de graduação alcoólica com água e a correção da cor com caramelo quando engarrafados no Brasil (BRASIL, 2009).

2.1.2 História

A história do uísque é marcada por práticas de destilação desenvolvidas e preservadas por monges e alquimistas, que viam na técnica um meio de criar bebidas para fins medicinais. Embora a destilação tenha sido inicialmente descoberta na China, por volta de 800 a.C., no início do século I, começando no norte da África, alquimistas árabes disseminaram o conhecimento do processo pela Europa (VENTURINI FILHO, 2016). Lá, a destilação foi associada à ideia de uma bebida com propriedades especiais, chamada de *aqua vitae*, ou “água da vida” em latim, por suas supostas qualidades curativas.

A expressão “uísque” deriva do gaélico *uisge beatha*, equivalente ao termo latino, e inicialmente o seu preparo foi associado a práticas monásticas. Laroche (2014) descreve que, em razão do papel religioso irlandês durante a Idade Média, é possível que o uísque tenha sido produzido primeiramente na Irlanda, dado que a fabricação de bebidas alcoólicas era principalmente realizada em mosteiros naquela época. Apesar desta especulação, documentos históricos indicam que a primeira referência ao uísque data de 1494, em um registro tributário da Escócia que

menciona a venda de malte a um monge, refletindo o papel de mosteiros na comercialização do destilado.

Em 1505, em Edimburgo, concedeu-se à associação médica a posse sobre a produção de uísque. Isso reforçou a produção da bebida entre as elites, tornando-a um símbolo de distinção social. Assim, o uísque consolidou-se como parte importante da tradição escocesa e irlandesa, status que se mantém até hoje.

2.1.3 Produção

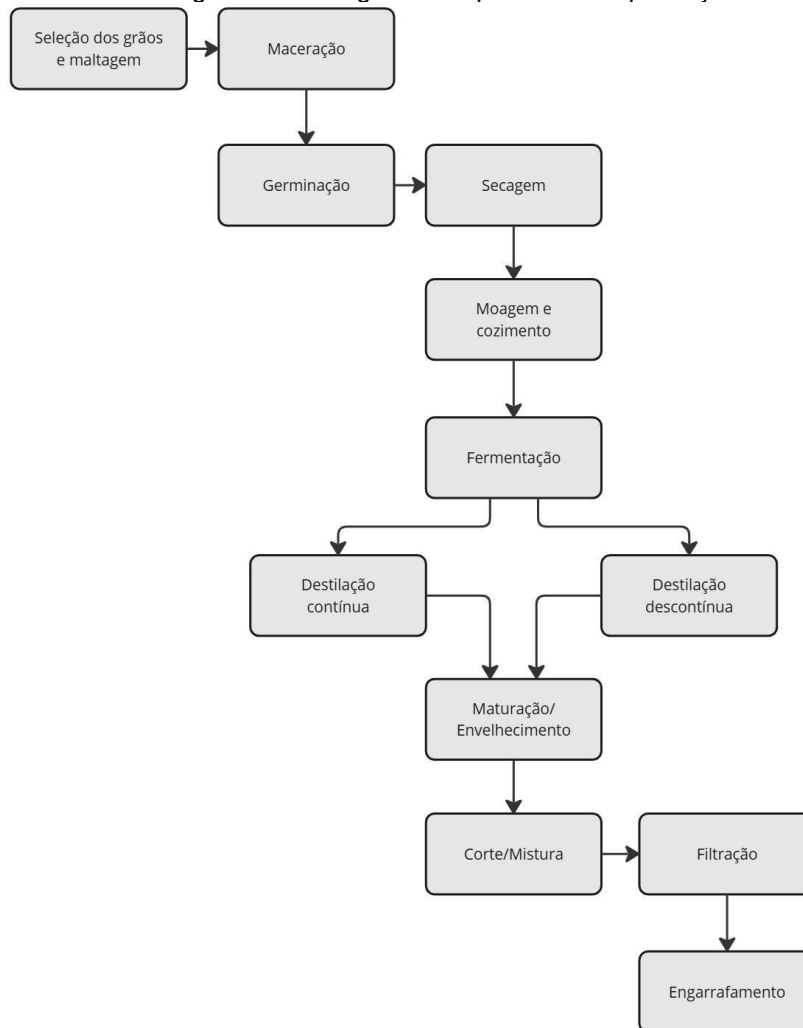
O mercado de uísque, de acordo com a Associação de Uísque Escocês (*Scotch Whisky Association*), revela uma forte demanda por esta bebida ao redor do mundo. No primeiro semestre de 2024, o Brasil figurou como o 8º maior importador de uísque escocês, com compras totais de 16,5 milhões de garrafas. No ano de 2023, esse número foi ainda maior, quase 23% a mais, resultando na importação de 21,3 milhões de garrafas.

Em valores, o panorama mundial de consumo da bebida tem os Estados Unidos, França e Cingapura como os maiores destinos da exportação de uísque escocês em 2024, com um total de 421,4 milhões, 158,5 milhões e 128 milhões de euros movimentados, respectivamente (*Scotch Whisky Association*, 2024).

No que diz respeito aos principais ingredientes, o uísque deriva de grãos com alto teor de amido, como milho, centeio, cevada e trigo, que possibilitam um rendimento significativo de álcool. Além deles, água (para diluição) e leveduras compõem o processo produtivo (ADAM; DALLAGO, 2018).

Ao longo de sua produção, o uísque passa por diversas etapas complexas e muito importantes para as características sensoriais e manutenção da qualidade, conforme ilustra a Figura 1. Para uísques de cevada, Venturini Filho (2016) afirma que, após serem escolhidos os cereais, inicia-se a maltagem, que estimula a síntese das enzimas necessárias para a quebra de amido em açúcares fermentáveis.

Figura 1 - Fluxograma do processo de produção do uísque



Fonte: elaborado pelo autor (2024)

Primeiramente, maceram-se os grãos a fim de aumentar o teor de umidade. Em seguida, a germinação leva à formação de um pequeno broto, que marca o ápice da ativação enzimática. Então os grãos são levados para a secagem para interromper a atividade biológica. Conforme Venturini Filho (2016), essa etapa estabiliza o malte para armazenamento e também ajuda a desenvolver compostos de sabor específicos por meio do uso de fumaça de turfa em alguns tipos de uísque.

Já na moagem, os amidos tornam-se mais acessíveis devido ao aumento da superfície de contato. Com o cozimento, eles ficam ainda mais disponíveis para as enzimas e estas provocam a decomposição dos amidos, formando-se um líquido doce conhecido como mosto (VENTURINI FILHO, 2016).

Na etapa de fermentação, o mosto filtrado entra em contato com as leveduras, sendo a mais comum a *Saccharomyces cerevisiae*, que convertem os

açúcares em álcool, dióxido de carbono (CO₂) e calor, entre outros compostos que conferem sabor ao produto final.

Em seguida, ocorre a destilação, normalmente realizada duas vezes, embora alguns uísques possam passar por uma terceira. Ela consiste em ebulir os líquidos e condensá-los, purificando por separação ou até formando produtos ao decompor as frações. Assim, concentra-se o álcool e refinam-se os sabores (PIGGOTT, 2016).

De acordo com Aylott e MacKenzie (2012), há dois métodos principais de destilação usados na produção de uísque: destilação em batelada (ou alambique) e destilação contínua (ou em coluna). Em batelada, o destilado apresenta sabor mais forte, e é comum a utilização de alambiques de cobre, pois o material tem alta condutividade térmica e é capaz de remover compostos de enxofre indesejados, o que contribui para um perfil de sabor mais agradável. Geralmente, o uísque escocês de puro malte é destilado assim. Já a destilação contínua é mais adequada quando se deseja a produção de produtos mais leves que são frequentemente usados para misturas, obtendo-se uma bebida de sabor equilibrado. A Figura 2 apresenta, à esquerda, um exemplo de alambique utilizado para destilação em batelada. À direita, vê-se um exemplo de coluna para destilação contínua de uísque.

Figura 2 – À esquerda, alambique de cobre da destilaria Dalmunach, em Moray, no Reino Unido, usado na destilação do uísque em batelada. À direita, Coluna Coffey da destilaria Kilbeggan, Irlanda, usada na destilação contínua



Fonte: CHIVAS... (2015); Highking (2013)

O destilado então segue para a maturação (ou envelhecimento), realizada em barris de carvalho. A formação de propriedades sensoriais da bebida está concentrada nesta etapa (ADAM; DALLAGO, 2018). O período que o destilado deve maturar varia a depender do país onde ele foi produzido (TOSATO *et al.*, 2018). Para uísques Bourbon, por exemplo, o envelhecimento é de pelo menos um ano. Já

os uísques escoceses, irlandeses, canadenses e puro malte, o período mínimo é de três anos (VENTURINI FILHO, 2016). Durante o envelhecimento, ocorrem várias reações químicas, incluindo a extração de compostos da madeira (como taninos e ligninas), reações entre os compostos da madeira e o álcool e evaporação de componentes voláteis. O tipo de carvalho, o uso anterior do barril e as condições climáticas influenciam o sabor final (PIGGOTT, 2016).

Finalmente, retirado do barril, o uísque pode ir para corte (*blend*) ou mistura. Combinam-se diferentes uísques de forma controlada para obter um perfil de sabor encorpado e característico (VENTURINI FILHO, 2016). Os uísques leves, à base de grãos, geralmente são misturados com puro malte (que são mais fortes) para equilibrar o produto final. Essa etapa também pode envolver a adição de água desmineralizada para ajustar o teor alcoólico, garantindo que ele atenda aos padrões legais.

Por último, o destilado é filtrado para remover partículas e garantir uma aparência clara e polida. Então ele é engarrafado. No caso da bebida cortada, o rótulo deve apresentar o menor tempo de envelhecimento dentre os uísques utilizados para a mistura (MARTINS, 2015).

2.1.4 Composição

O uísque é uma bebida alcoólica complexa, composta essencialmente por uma mistura de água, etanol e uma variedade de congêneres (componentes secundários), que juntos formam suas características sensoriais distintivas. Destes últimos, os principais presentes na bebida incluem álcoois, ácidos, ésteres, compostos de carbonila, fenóis e compostos com nitrogênio e enxofre, os quais são originados ao longo da produção do destilado (ADAM; DALLAGO, 2018). Análises por cromatografia gasosa ou cromatografia líquida acopladas à espectrometria de massas permitem identificar e quantificar constituintes voláteis e não voláteis, respectivamente.

De acordo com a legislação brasileira, o uísque deve ser um destilado de cereais envelhecido, com adição permitida de água para padronização da graduação alcoólica e caramelo para ajuste de cor, quando necessário. Adições de substâncias que alterem as características naturais do uísque são proibidas, assegurando a integridade e qualidade do produto final (BRASIL, 2024).

O etanol representa cerca de 40% em volume na composição do uísque, sendo o principal produto da fermentação dos cereais utilizados na produção. Ele é concentrado na destilação, resultando na alta graduação alcoólica característica da bebida.

Embora em concentrações menores (cerca de 0,1% v/v), os congêneres são fundamentais para o perfil sensorial do uísque. Os mais voláteis incluem uma série de álcoois superiores (VENTURINI FILHO, 2016), como propan-1-ol, isobutanol e metilbutanóis, que são gerados principalmente durante a fermentação.

Dentre os ácidos, o que prevalece em composição é o ácido acético, com teores que atingem até 90% do total de ácidos voláteis, e é formado em uma reação oxidativa do etanol, que tem acetaldeído como intermediário (VENTURINI FILHO, 2016). Da mesma forma que os ésteres, podem ser encontradas cadeias de até 16 átomos de carbono para ácidos e álcoois. Ademais, os ésteres mais comuns são etílicos, derivados dos ácidos butanoico, pentanoico, octanoico, decanoico e dodecanoico. Alguns ésteres de hidroxiácidos também podem surgir, pois são destilados com álcool (PIGGOTT, 2016).

Nos compostos carbonílicos, identificam-se aldeídos, cetonas, acetais e hemiacetais, os últimos dois coexistindo em equilíbrio com os aldeídos em razão da alta concentração de etanol (KLEIN, 2013). Eles são formados ao longo de quase toda a produção do uísque, seja pela ação das leveduras, seja via ácidos graxos oxidados. Ainda, Piggott (2016) aponta que, devido ao acetaldeído ser o aldeído mais comumente encontrado, este é usado como parâmetro para determinação do conteúdo aldeídico total.

Compostos de nitrogênio e enxofre provêm das leveduras, da degradação de aminoácidos e vitaminas e, também, por reação de Maillard ao longo da fermentação e do cozimento. Após o período de maturação, seu teor diminui, pois os extratos da madeira no barril e traços de cobre degradam estes congêneres. Os identificados frequentemente incluem pirazinas, piridinas e pirróis, além de tiazóis, tiofenos e sulfuretos (PIGGOTT, 2016).

Segundo consta em Venturini Filho (2016), os fenóis, produtos da degradação por calor de derivados do ácido benzoico do malte, conferem aroma característico de defumado à bebida. A degradação da lignina da madeira do carvalho libera compostos como vanilina, sirigaldeído e coniferaldeído, que se incorporam ao destilado no período de maturação.

Por último, dentre os principais, compostos heterocíclicos de oxigênio também fazem parte da composição química do uísque. Furfural e lactonas são exemplos deles, sendo o primeiro formado a partir de pentoses e hexoses a partir da etapa de maceração (PIGGOTT, 2016). As lactonas, por sua vez, são derivadas da desidratação de ácidos hidroxialifáticos e são extraídas dos barris de carvalho durante a maturação, contribuindo para os aromas doces e amadeirados característicos da bebida (WIŚNIEWSKA *et al.*, 2014).

É importante estar atento aos constituintes da bebida devido aos riscos à saúde que alguns podem causar. Carbamato de etila, por exemplo, como afirma Wisniewska *et al.* (2014), mostrou ter efeitos carcinogênicos em animais de laboratório em estudos recentes. Ele foi analisado por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas em tandem (GC/MS/MS).

Portanto, a complexidade do uísque resulta de uma combinação meticulosa de ingredientes, processos de produção e maturação, que influenciam diretamente em suas propriedades organolépticas. Cada classe de compostos contribui com notas e sabores distintos, tornando o uísque uma das bebidas destiladas mais ricas em compostos aromáticos e em sabor.

2.1.5 Adulteração

A adulteração de uísque é um problema recorrente na indústria de bebidas alcoólicas, afetando a autenticidade e a qualidade dos produtos disponíveis no mercado (SANTOS; HARTWIG, 2018). De acordo com o Decreto n. 6.871, de 4 de junho de 2009, a adulteração é definida como a alteração intencional da bebida por meio de substituição, modificação ou adição de ingredientes não permitidos, ou pela utilização de métodos proibidos na produção (BRASIL, 2009).

No contexto do uísque, as adulterações mais frequentes praticadas abrangem a adição de destilados de menor custo, como vodka ou cachaça, até misturas com álcool e água, que recebem aditivos como o caramelo chá ou extratos de madeira para imitar características sensoriais do uísque autêntico (TEODORO *et al.*, 2017; TOSATO *et al.*, 2018).

Estudos indicam que o uísque escocês é especialmente vulnerável à falsificação, possivelmente devido à sua popularidade e ao valor agregado que possui em mercados internacionais (WIŚNIEWSKA *et al.*, 2014).

Essas práticas de adulteração representam não apenas uma fraude econômica, mas também um risco potencial à saúde dos consumidores. Métodos modernos de análise como, por exemplo, a espectrometria de massas com ionização por *paper spray*, têm se mostrado eficientes para a detecção de adulterantes e para a quantificação de substâncias não autorizadas em amostras de uísque. A aplicação de ferramentas quimiométricas associadas a essas técnicas analíticas possibilita uma identificação rápida e confiável de fraudes, reforçando a necessidade de controles rigorosos e do uso de metodologias científicas para autenticação de uísque (TEODORO *et al.*, 2017; TOSATO *et al.*, 2018).

2.2 Quimiometria

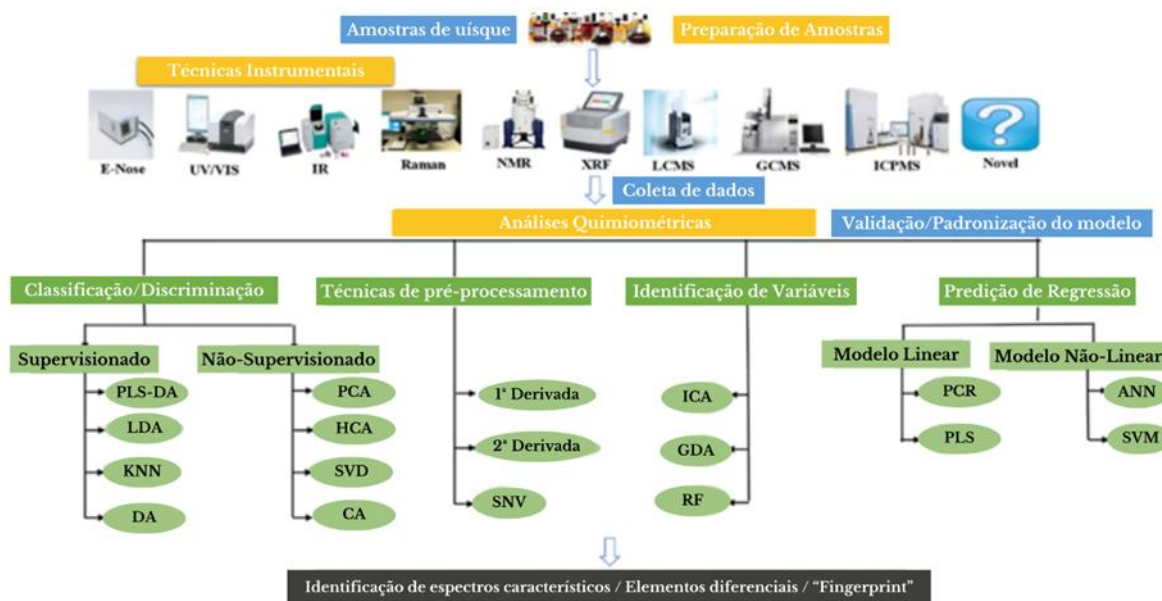
De acordo com Varmuza e Filzmoser (2009), define-se por Quimiometria a disciplina responsável por estudar dados químicos extraindo o máximo de informação por meio da aplicação de métodos matemáticos e estatísticos para as análises. Com essa abordagem, estudiosos não se sustentam somente em leis e regras da natureza, mas orientam-se também por dados.

Apesar de ser precursora, a estatística univariada deu lugar à análise multivariada dos dados. Dessa forma, ao invés de relacionar uma variável dependente com uma variável independente de cada vez, na análise multivariada, todas elas são levadas em consideração, o que acaba por qualificar os resultados (VARMUZA; FILZMOSE, 2009).

Okolo *et al.* (2023), em sua revisão sobre análises de uísque para fins de autenticação e controle de qualidade, afirma que a quimiometria surge como um complemento às técnicas analíticas empregadas, extraindo informações relevantes dos dados obtidos. Por ser capaz de promover reconhecimento de padrões, é um ramo importante e útil no estudo de adulteração e falsificação de bebidas alcoólicas.

A Figura 3 apresenta um resumo das principais técnicas (instrumentais e quimiométricas) aplicadas em análise de uísque (OKOLO *et al.*, 2023). É possível observar que, para que a análise seja adequadamente aplicada, alguns critérios devem ser cumpridos, como a validação do modelo e o pré-processamento dos dados.

Figura 3 - Técnicas instrumentais e quimiométricas aplicadas na análise de uísque. Para mais informações a respeito das técnicas, sugere-se consultar a fonte



Fonte: Adaptado de Okolo et al. (2023)

Em qualquer experimento, o sinal medido é acompanhado pela informação que realmente é desejada e um ruído aleatório, assim como variações que comprometem a análise. O pré-tratamento dos dados consiste em remover essas variações por meio de técnicas de alisamento, correções de linha de base e dispersão (para amostras) e centragem dos dados na média e autoescalamiento (para variáveis) (PEREIRA FILHO, 2021).

Após o pré-tratamento, o modelo pode ser construído. Contudo, antes de aplicá-lo a problemas reais, é de suma importância validá-lo com amostras específicas do seu conjunto de dados, aquelas em que se tem conhecimento das informações (como concentração, por exemplo) (FERREIRA, 1999).

Ao proceder as análises quimiométricas de discriminação, as subdivisões consistem em métodos supervisionados, para o caso em que se faz necessária uma suposição inicial sobre a estrutura das amostras em estudo (como é o caso da Análise Discriminante de Mínimos Quadrados Parciais, PLS-DA – do inglês, *Partial Least Squares Discriminant Analysis*), e em métodos não-supervisionados, em que esse conhecimento prévio não é requerido (como é o caso da Análise por Componentes Principais, PCA – do inglês, *Principal Component Analysis*) (BRERETON, 2009).

2.2.1 Análise por Componentes Principais (PCA)

A Análise por Componentes Principais, dentro dos métodos não-supervisionados, é considerada uma análise exploratória de dados (KOKOT *et al.*, 1998), uma vez que ela possibilita revelar elementos e tendências valiosas em dados até então desconhecidos. Sua principal finalidade é reduzir a dimensionalidade do conjunto de dados em estudo (WOLD *et al.*, 1987; COVA, 2011) ao construir um novo sistema de eixos baseado nas componentes principais, variáveis não correlacionadas que advêm da combinação linear das variáveis originais e, portanto, são menores em número.

Além disso, sua função é explicar a variância dos dados, de forma que a primeira componente (PC1) retenha a maior variância e sua subsequente, PC2, retenha a segunda maior variância e assim por diante. Por serem ortogonais entre si, são independentes e fornecem uma interpretação mais clara dos resultados, já que essas propriedades incitam o agrupamento das amostras (PEREIRA, 2016), facilitando o reconhecimento de padrões.

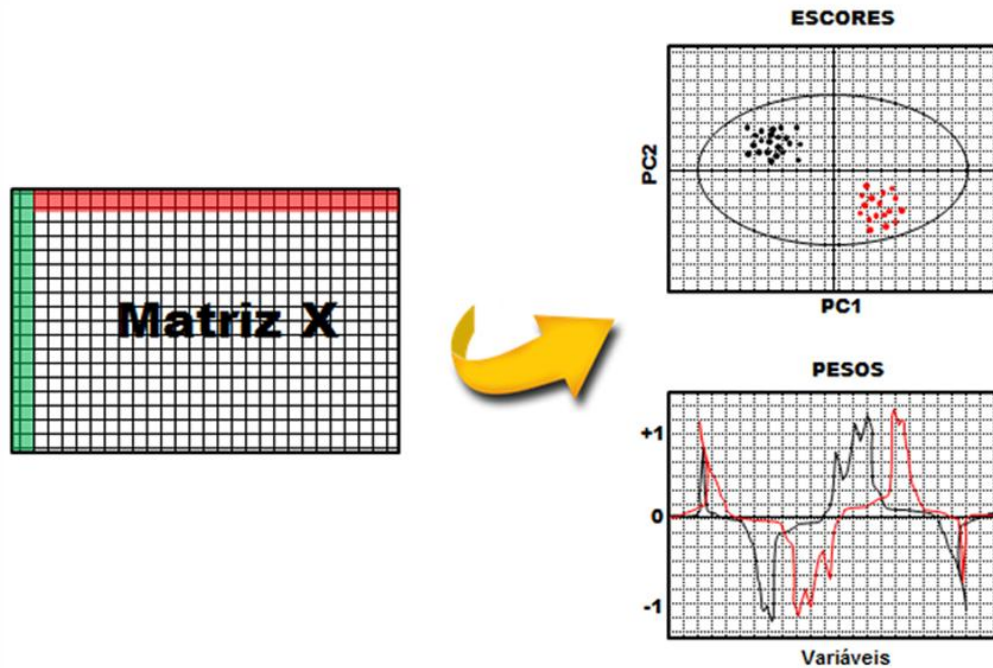
Matematicamente, a transformação para esse novo sistema decompõe a matriz original X ($I \times J$) em duas outras menores:

$$X = T P^t + E \quad (1)$$

Onde, T é uma matriz ($I \times A$) de pontuação (ou escores/scores), P é uma matriz ($J \times A$) de pesos (ou *loadings*) e E é uma matriz de resíduos ($I \times J$), sendo A o número de componentes principais. Esta última carrega os ruídos e informações que não devem estar contidas na análise, mas tem sua relevância para a detecção de amostras anômalas (*outliers*) (PEREIRA, 2016).

Detalhadamente, como as componentes principais formam um novo sistema, as coordenadas das amostras que os formam são os escores ou pontuações, sendo a matriz representada por eles a representação de objetos em um espaço menor (Figura 4). E como já dito também, as componentes são combinações lineares das antigas variáveis, e seus coeficientes são os pesos, isto é, sua matriz avalia, dada um PC, quanto cada variável vale para ela (GRANATO *et al.*, 2018).

Figura 4 - Reprodução da Análise por Componentes Principais (PCA)



Fonte: Silva (2021)

2.2.2 Análise Discriminante por Mínimos Quadrados Parciais (PLS-DA)

A Análise Discriminante por Mínimos Quadrados Parciais, dentro dos métodos supervisionados, tem caráter classificatório, isto é, considerando-se várias classes predefinidas, indica a qual delas dada amostra pertence (BARKER; RAYENS, 2003).

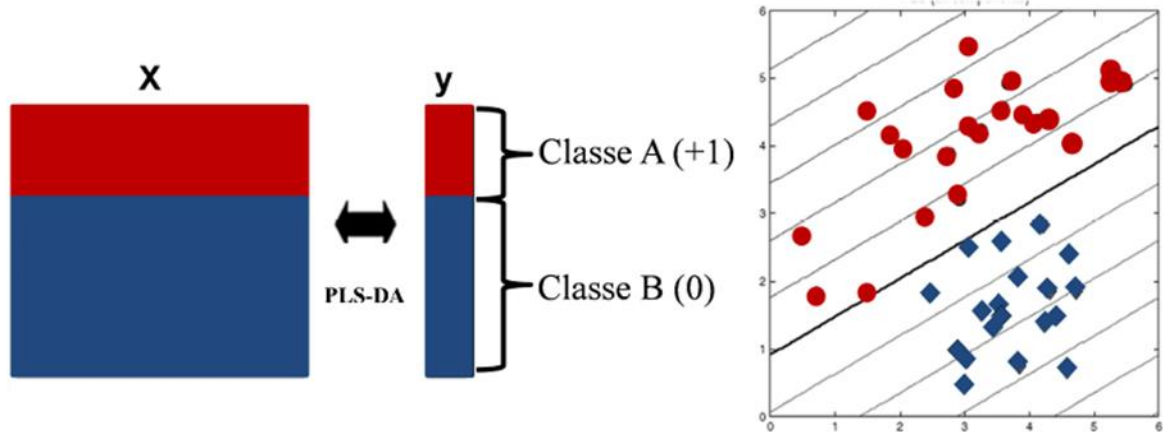
É uma variação do modelo PLS, cujo objetivo é relacionar diretamente uma matriz X (que carrega respostas instrumentais) com uma matriz Y ou vetor y (uma propriedade de interesse). Em se tratando de análises discriminantes, todavia, a matriz Y ou vetor y é uma variável categórica que descreve a concessão de uma classe à amostra (SANTANA *et al.*, 2020).

Para isso, ambas as matrizes são decompostas em suas variáveis latentes, estabelecendo-se um hiperespaço que é delimitado para discriminar as amostras (BRERETON; LLOYD, 2014). Além disso, considera-se a matriz X como sendo preditora e, ao aplicar o modelo, supõe-se um valor de resposta para determinada amostra. Ao compará-lo com as variáveis categóricas de Y, pode-se atribuir à amostra a classe cuja variável categórica esteja mais próxima do valor de resposta previsto (STÄHLE; WOLD, 1987).

Cabe ressaltar que o método PLS-DA atua de duas maneiras: na forma binária (PLS1-DA) e na multiclasse (PLS2-DA). Na PLS1-DA, valores binários 1 e 0 são tomados no vetor y e somente uma atribuição pode ser feita: pertencente ou não pertencente à classe (Figura 5). Se pertencente àquela classe, receberá valor 1, se

não pertencente, valor 0 para quaisquer que sejam as demais classes (SILVA, 2021).

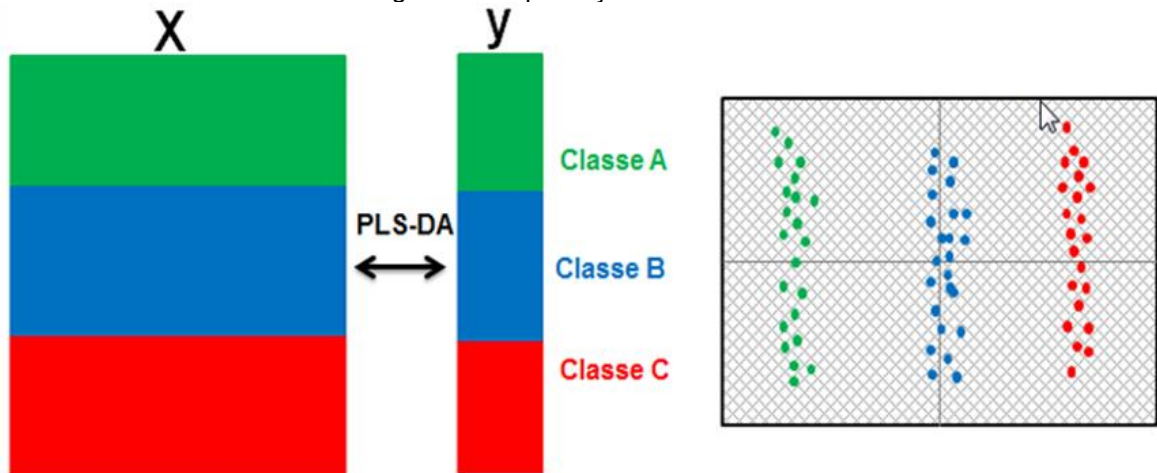
Figura 5 - Reprodução da PLS1-DA



Fonte: Pereira (2016)

Já para PLS2-DA, todas as classes são modeladas e distribuídas simultaneamente (Figura 6). Conseqüentemente, a matriz Y apresentará somente um conjunto de escores e pesos em todas as colunas (SANTANA *et al.*, 2020).

Figura 6 - Reprodução da PLS2-DA



Fonte: Silva (2021)

A seguir, será discutido como a quimiometria foi aplicada para tratar os dados obtidos em espectros e cromatogramas como resultado de experimentos de diversos autores que estudaram e/ou propuseram modelos para identificar adulteração de uísque.

Teodoro *et al.* (2017) utilizou Espectrometria de Massas com Ionização por *Paper Spray* (PSI-MS, do inglês *Paper Spray Ionization Mass Spectrometry*) para estudar amostras de uísque apreendidas por falsificação. Ainda na Espectrometria

de Massas, Stupak *et al.* (2019) verificou adulterações com um cromatógrafo a gás. Todos aplicaram pelo menos PCA e PLS-DA para tratar os dados.

Por espectrofotometria na região do UV-Visível, Cantarelli *et al.* (2014) comparou amostras de uísque para discriminá-las por tempo de envelhecimento em barril, e Martins *et al.* (2017) identificou amostras contrafeitas apreendidas. Para isso, ambos adotaram como método quimiométrico a PLS-DA.

Por último, dispositivos analíticos em papel para reações colorimétricas foram alvo dos estudos de Cardoso *et al.* (2017), que detectou adulterações em uísque feitas com corante caramelo. Evidenciando a aplicabilidade da Quimiometria para diversas técnicas, em todos esses casos, pelo menos a Análise por Componentes Principais foi utilizada para estes trabalhos.

2.3 Espectrofotometria no UV-Vis

A espectrofotometria na região do UV-Vis baseia-se na interação entre radiação eletromagnética e matéria, especificamente na absorção de radiação nas regiões do ultravioleta (180 - 400 nm) e visível (400 - 800 nm) no espectro eletromagnético (PAVIA *et al.*, 2010). Quando uma molécula absorve a energia proveniente da radiação, ocorre a transição de elétrons entre orbitais eletrônicos: geralmente, ele sai do orbital molecular ocupado de maior energia (HOMO, do inglês *Highest Occupied Molecular Orbital*) para o orbital desocupado de menor energia (LUMO, do inglês *Lowest Unoccupied Molecular Orbital*).

Essas transições dependem do tipo de ligação, que determinam o comprimento de onda da absorção. Sendo assim, essa técnica é capaz de correlacionar as duas coisas, podendo identificar grupos funcionais (SKOOG *et al.*, 2002). Espécies absorventes nessa região são chamadas de cromóforos, e grupos substituintes ligados a eles deformam a banda de absorção alterando-as em posição e intensidade (PAVIA *et al.*, 2010).

Em se tratando das medições quantitativas, a concentração (c) do analito está relacionada com a absorbância através da lei de Beer:

$$A = \epsilon bc \quad (2)$$

Quando a radiação monocromática incide perpendicularmente na cubeta de espessura (ou caminho óptico) "b". A absorvidade molar é dada em termos de $L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ e é específica de cada espécie.

É importante ressaltar que essa relação é considerada dentro de um limite: em altas concentrações, isto é, concentrações maiores que $0,01 \text{ mol.L}^{-1}$ (SKOOG et al., 2002), as interações intermoleculares ocasionadas pela diminuição da distância causam desvios de linearidade, pois a absorção em dado comprimento de onda fica comprometida.

A instrumentação é relativamente simples e tem como componentes principais uma fonte de radiação, um seletor de comprimento de onda ou monocromador (responsável por selecionar a radiação monocromática), o compartimento onde vai a amostra – cubeta – e um detector que converte a radiação em sinal.

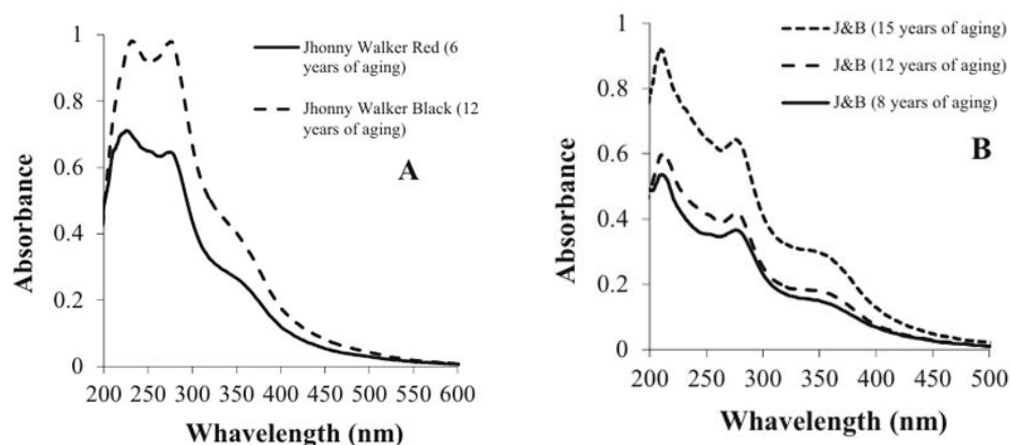
O equipamento pode ser de simples feixe ou duplo feixe. No primeiro caso, realiza-se uma varredura primeiramente na solução-referência e, então, nas amostras. As absorbâncias são obtidas pela comparação dos dados acumulados de ambos. Com duplo feixe, a radiação do monocromador que incide na solução-referência passa por um espelho que reflete o feixe para a amostra simultaneamente. Do detector, amplificam-se as saídas e o sinal é gerado (NÓBREGA, 2022).

2.3.1 Classificação de uísques quanto à marca e tempo de maturação em barril

Cantarelli et al. (2014) autenticou e classificou com sucesso amostras de uísque com base na marca e no tempo de envelhecimento em barril. Para isso, foram analisadas 15 amostras de uísque (6 garrafas de cada), sendo 5 delas produzidas em destilarias superiores: Johnnie Walker Red Label (6 anos) e Black Label (12 anos) e J&B (8, 12 e 15 anos). As demais amostras (10 marcas) foram destinadas ao desenvolvimento de modelos multivariados.

A Figura 7 mostra os espectros UV-Vis obtidos para as diferentes amostras. Antes mesmo do tratamento quimiométrico, um padrão já pôde ser observado:

Figura 7 - Espectros de absorção sobrepostos dos uísques estudados. A: Espectros sobrepostos de Johnnie Walker Red Label (6 anos) e Johnnie Walker Black Label (12 anos); B: Espectros sobrepostos de J&B 8 anos, 12 anos e 15 anos



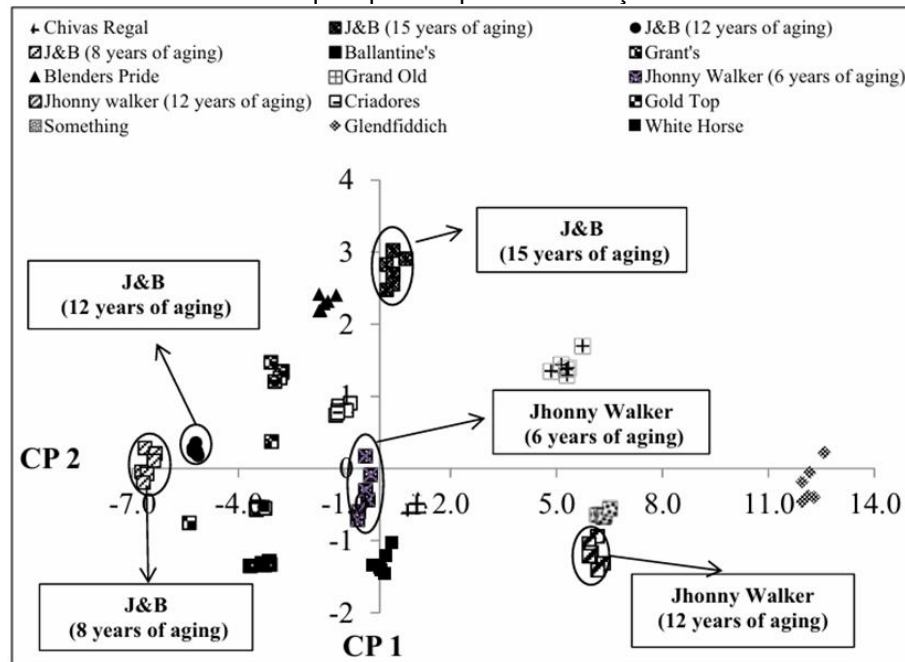
Fonte: Cantarelli *et al.* (2014)

Como observado, os perfis diferem para o tempo de envelhecimento dentro de cada marca. De fato, quanto mais tempo maturando em barril, maior será a concentração de congêneres, de forma que os uísques mais envelhecidos apresentam maiores absorbâncias (AYLOTT; MACKENZIE, 2004).

Então, para também classificar as amostras por marca e refinar a discriminação por grau de maturação, realizaram-se as análises quimiométricas para reconhecimento desses padrões. Primeiramente, aplicou-se a PCA nos espectros obtidos com seleção de 200 variáveis em razão da faixa de comprimento de onda selecionada (de 200 nm e 400 nm) e três componentes principais foram suficientes para explicar 99,85% da variância total (CANTARELLI *et al.*, 2014).

Na Figura 8 observa-se que foi possível a elucidação de 5 grupos (circulados) principais que claramente distinguem marca e tempo de envelhecimento.

Figura 8 - Gráfico de pontuação (escores) com duas componentes principais para separação dos uísques por tempo de maturação

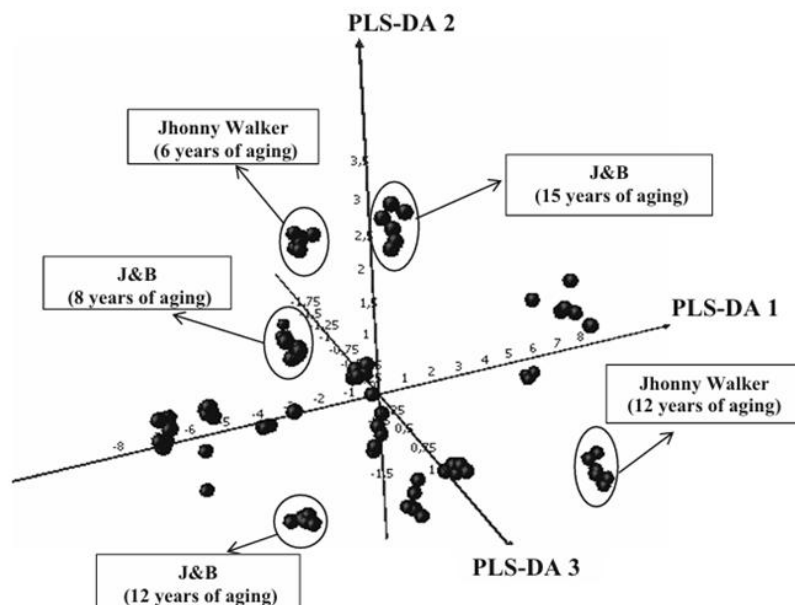


Fonte: Cantarelli *et al.* (2014)

Ademais, a Análise Discriminante por Mínimos Quadrados Parciais proporciona a redução de ruído eventualmente presente na LDA – Análise Discriminante Linear (CANTARELLI *et al.*, 2014). Aqui, três discriminantes de componentes principais explicaram 99,5% da variância.

Como se pode observar, o gráfico da Figura 9 é muito semelhante ao da PCA, mas sua vantagem é a separação óbvia entre uísques com diferentes anos de envelhecimento, uma consequência da PLS: separar grupos ao maximizar a variância entre eles.

Figura 9 - Gráfico de pontuação (escores) da PLS-DA para amostras de uísque, discriminando-as de acordo com anos de envelhecimento



Fonte: Cantarelli *et al.* (2014)

Os resultados do estudo mostraram que as técnicas modernas de reconhecimento de padrões e a espectrofotometria podem ser usadas eficazmente para classificar e autenticar uísques quanto à marca e ao tempo de maturação em barril, sem necessidade do uso de técnicas de análises químicas mais complexas. Isso resultou em um método simples e rápido que pode ser usado em análises de rotina e controle de qualidade.

Apesar de os espectros já mostrarem alguma diferença entre graus de envelhecimento, as ferramentas quimiométricas revelam-se essenciais para uma autenticação clara e segura.

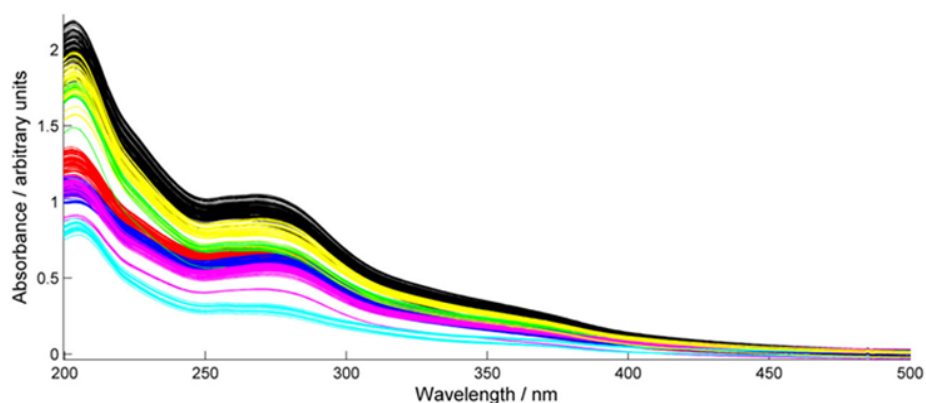
2.3.2 Identificação de adulterações com amostras apreendidas

Martins *et al.* (2017) desenvolveu uma metodologia para discriminar marcas de uísque e identificar amostras falsificadas utilizando a espectroscopia na região do UV-Visível combinada com PLS-DA. O estudo abrangeu 164 amostras autênticas de 18 marcas diferentes e 73 amostras atestadas como falsificadas segundo as análises de rotina da Polícia Federal Brasileira, de onde as amostras foram cedidas. Sete marcas foram selecionadas para análises quimiométricas, e as amostras apreendidas correspondiam somente a estas.

Espectros de UV-Vis foram obtidos das amostras autênticas das sete marcas e são mostrados a seguir (Figura 10). Como já visto anteriormente, quanto maior o tempo de maturação em barril, maior a concentração de congêneres e maiores são

as absorvâncias observadas no espectro (AYLOTT; MACKENZIE, 2004; CANTARELLI *et al.*, 2014). Neste estudo, havia uísques com 12 anos de envelhecimento (Black Label, Old Parr e Chivas Regal) e com 8 anos de envelhecimento (Red Label, White Horse, Ballantine's e Natu Nobilis).

Figura 10 - Espectro de absorção de uísques genuínos, sendo (■) Black Label, (▲) Old Parr, (▼) Chivas Regal, (◆) Red Label, (◇) White Horse, (▽) Ballantine's, (◇) Natu Nobilis



Fonte: Martins *et al.* (2017)

A fim de se obter uma análise mais rebuscada e segura, ferramentas quimiométricas foram utilizadas para relacionar e reconhecer padrões não tão óbvios e visíveis. Portanto, as amostras foram submetidas à PLS-DA.

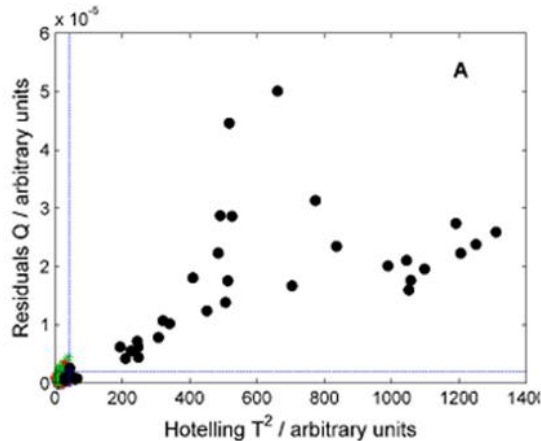
Para isso, um modelo foi construído para cada marca, considerando-se os espectros das amostras autênticas. Os modelos foram ajustados para distinguir amostras autênticas da marca-alvo (classe 1) de todas as outras (classe 0). Para a validação, os modelos foram aplicados a conjuntos independentes de amostras autênticas de marcas não incluídas no treinamento (11 marcas adicionais) e às 73 amostras falsificadas.

Adicionalmente, um gráfico de influência (T^2) e resíduo (Q) foi construído para cada modelo de discriminação (Figura 11). Assim, é possível identificar anomalias nos dados, pois a estatística de Hotelling T^2 avalia a variabilidade das amostras dentro do modelo, medindo a distância de cada uma em relação ao centro da distribuição do modelo. Os valores de Q medem os resíduos, isto é, a variabilidade que não foi explicada e quanto determinada amostra está fora do modelo desenvolvido (MARTINS, 2015).

Então, considerando o modelo para discriminação de Red Label com marcas autênticas, o gráfico de T^2 em função de Q exibe uma linha tracejada que indica um limite de confiança de 99,9%. Os círculos pretos indicam amostras que não estão

incluídas no modelo, e sua maioria está acima do limite de confiança tanto para T^2 quanto para Q , o que revela a capacidade de identificação de marcas alheias às do modelo e incompatíveis com qualquer marca incluída.

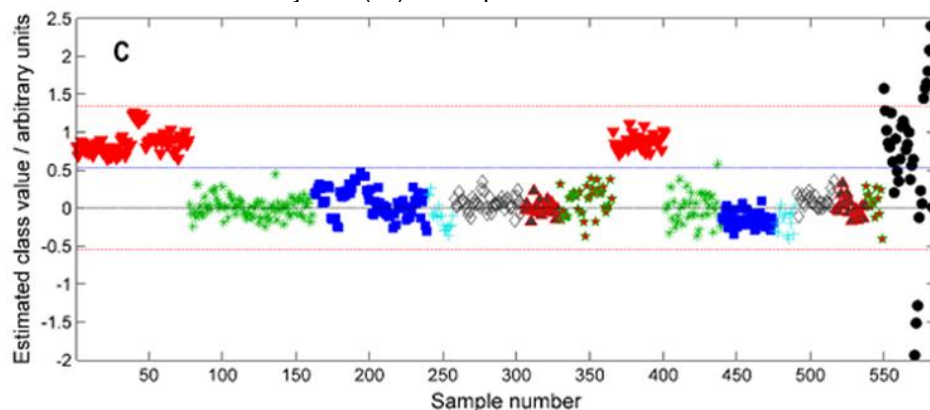
Figura 11 - Gráfico de influência e resíduo para discriminação de Red Label



Fonte: Martins *et al.* (2017)

Para os valores de classe, o gráfico a seguir (Figura 12) exhibe que as amostras de Red Label (pertencentes à classe, portanto) realmente foram classificadas como tal pois estão dentro dos limites de 1. As demais foram bem separadas e identificadas como pertencentes a outras marcas (classe 0). Na extremidade direita, os círculos pretos correspondem às amostras não pertencentes ao modelo.

Figura 12 - Valores de classe estimados para discriminação das amostras genuínas de Red Label (▼) das genuínas de Black Label (■), White Horse (□), Chivas Regal (+), Ballantine's (◇), Natu Nobilis (▲), Grand Old Parr (*), amostras genuínas de marcas não incluídas no conjunto de treinamento (●), (---) limite de discriminação e (---) limite para valores de classe estimados

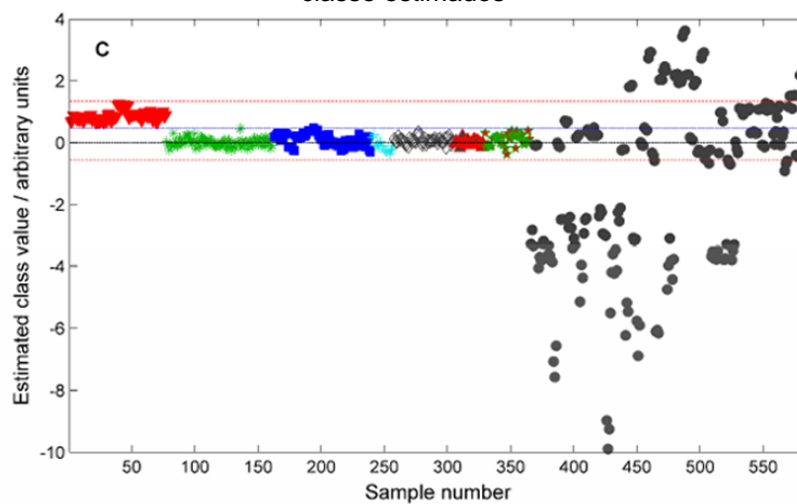


Fonte: Martins *et al.* (2017)

Em seguida, fez-se a análise com amostras apreendidas e dadas como falsificadas, ainda considerando-se o modelo para Red Label. Praticamente todas as amostras falsificadas apresentaram valores discrepantes, acima do limite de

confiança. Entretanto, seis amostras encontraram-se abaixo da linha, mas essa análise combinada ao gráfico de valores de classe mostrou aos autores que apenas uma havia sido classificada dentro dos limites estipulados (classe 1, no caso). Sendo assim, 1 falso positivo detectado.

Figura 13 - Valores de classe estimados para discriminação das amostras genuínas de Red Label (▼) em relação às de Black Label (■), White Horse (□), Chivas Regal (◆), Ballantine's (◇), Natu Nobilis (▲), Grand Old Parr (★), amostras adulteradas (●), (---) limite de discriminação e (---) limite para valores de classe estimados



Fonte: Martins *et al.* (2017)

Por fim, os procedimentos descritos foram repetidos para todos os modelos restantes e os resultados foram semelhantes. De 73 amostras falsificadas e 7 modelos propostos, apenas 8 falso-positivos foram relatados, resultando em uma taxa de discriminação correta de 98,4% (MARTINS *et al.*, 2017).

Em conclusão, pelo método proposto foi possível diferenciar amostras autênticas de falsificadas, visto que adulterações apresentaram valores discrepantes em todos os parâmetros medidos por PLS-DA, devido às alterações químicas introduzidas pela falsificação. Ademais, os modelos foram validados com sucesso ao considerar marcas não incluídas e ao testar as diferenças de uma marca para a outra, provando que adulterações em que um uísque de menor valor é tratado com um de maior valor serão identificadas.

2.4 Cromatografia Gasosa e Espectrometria de Massas

A técnica de Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (GC-MS, do inglês *Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry*) combina a separação de componentes voláteis de uma amostra pela cromatografia gasosa

(GC) com a identificação e quantificação por espectrometria de massas (MS), garantindo alta sensibilidade e especificidade analítica (RODRIGUES, 2023).

2.4.1 Cromatografia Gasosa

A separação cromatográfica inicia com a volatilização dos analitos. A amostra é injetada em um injetor aquecido (geralmente a 250 °C) que volatiliza os componentes e os transfere para a coluna cromatográfica. Um gás inerte atua como fase móvel, carregando os analitos através da coluna (BUSTILLOS, 2020). Dentro da coluna, os analitos interagem diferencialmente com a fase estacionária (geralmente sólida ou líquida sobre um suporte sólido), resultando na separação dos componentes com base em suas afinidades químicas (polaridade). A temperatura controlada do forno otimiza a eluição dos compostos. Cada composto separado gera um sinal em um detector, associado ao seu tempo de retenção característico (RODRIGUES, 2023).

2.4.2 Espectrometria de Massas

Nessa técnica instrumental, utiliza-se da razão m/z (massa/carga) para determinar a massa molecular de um íon em fase gasosa, íon este que foi gerado por um sistema de ionização (acoplado ao GC, por impacto eletrônico). De modo simplificado, os espectrômetros operam principalmente em quatro etapas: um sistema de introdução de amostra, uma fonte de ionização, um analisador de massas e um detector. Um sistema de bombeamento também é inserido devido à exigência de os analisadores atuarem em baixas pressões (MARTINIS; OLIVEIRA, 2015).

Após a separação cromatográfica, os analitos são transferidos em fase gasosa para a fonte de íons do espectrômetro de massas por meio de uma interface GC-MS. A ionização ocorre por impacto eletrônico (EI), onde um feixe de elétrons com energia de 70 eV excita e ioniza as moléculas da amostra, resultando na formação de íons carregados positivamente e seus fragmentos (MASS SPEC... 2024). O analisador de massas, então, discrimina os íons formados e o detector realiza a conversão da energia em sinal.

2.4.2.1 Verificando autenticidade de uísque escocês

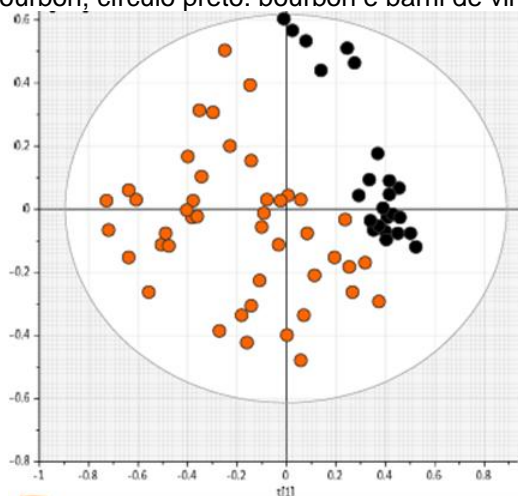
Stupak *et al.* (2018) desenvolveram um trabalho que se fundamenta em encontrar compostos diferentes dos já reportados na literatura (AYLOTT e MACKENZIE, 2010) para atuarem como discriminantes de uísques autênticos e

fraudulentos. Os autores utilizaram GC-HRMS (Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas de Alta Resolução, do inglês *Gas Chromatography Coupled to High Resolution Mass Spectrometry*) e PCA e PLS-DA para processar os resultados.

Um total de 191 amostras foram coletadas, sendo categorizadas em uísques de malte autênticos, uísques escoceses misturados (*blended*), uísques de malte envelhecidos em mais de um tipo de barril e 20 amostras falsificadas. Para alguns deles eram conhecidos o tempo de envelhecimento, o tipo de barril utilizado e turfa.

Por PCA, discriminaram-se uísques autênticos pelo tipo de barril utilizado na maturação, considerando amostras em que a bebida foi envelhecida em barris de carvalho para bourbon e aquelas em que, após passarem por ele, envelheceram mais um período em barris anteriormente usados com vinho. O gráfico de PCA (Figura 14) mostra a clara separação entre as duas.

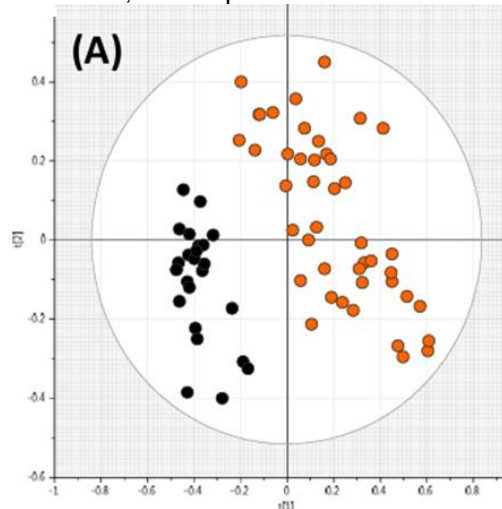
Figura 14 - PCA para amostras autênticas envelhecidas em tipos diferentes de barril. Círculo laranja: bourbon; círculo preto: bourbon e barril de vinho



Fonte: Stupak *et al.* (2018)

Além da PCA, obteve-se um resultado mais esclarecedor por PLS-DA (Figura 15).

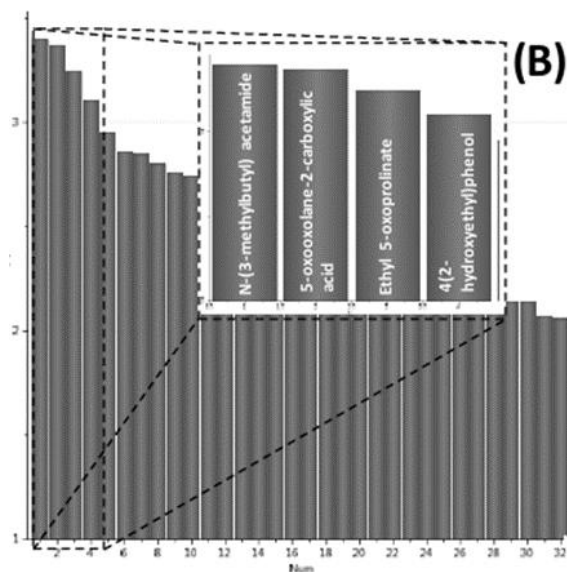
Figura 15 - PLS-DA para amostras autênticas envelhecidas em tipos diferentes de barril. Círculo laranja: bourbon; círculo preto: bourbon e barril de vinho



Fonte: Stupak *et al.* (2018)

Então, a seleção e identificação dos componentes marcadores responsáveis por essa diferenciação foram realizadas por meio da construção de um gráfico VIP-scores (Importância das Variáveis na Projeção de escores, do inglês *Variable Importance Projection Scores*), que avalia a importância de variáveis em modelos multivariados, atribuindo um valor de importância a cada variável e, assim, indicando sua contribuição para explicar a variância nos dados e/ou prever a variável dependente (BOTELHO, 2014). Como ambos os uísques passaram pelo barril do tipo bourbon, a diferenciação caberia aos compostos pertencentes ao barril de vinho, e 4 foram selecionados (Figura 16).

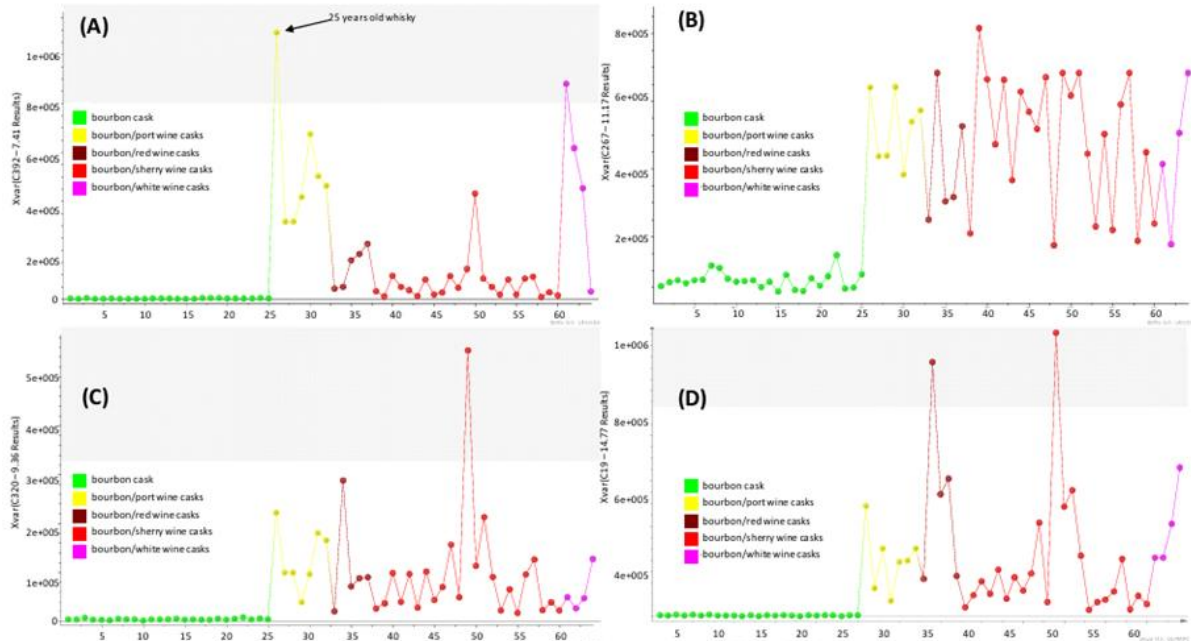
Figura 16 - Gráfico VIP com seleção dos marcadores



Fonte: Stupak *et al.* (2018)

Entretanto, ao serem plotados (Figura 17), não foi observada a presença de 3 deles em uísques envelhecidos em barris bourbons.

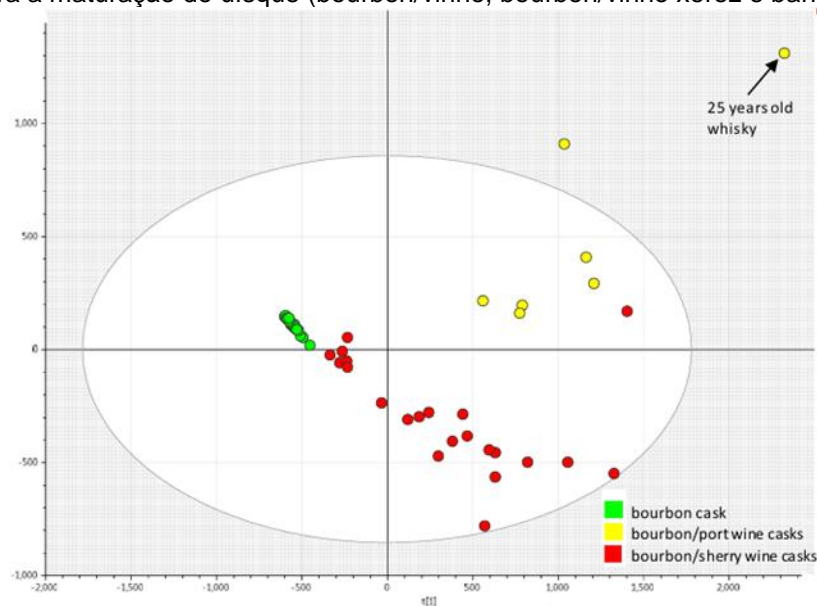
Figura 17 - Gráficos dos marcadores significativos. A: N-(3-metilbutil)acetamida; B: 5-oxoprolinato de etila; C: ácido 5-oxooxano-2-carboxílico; D: 4(2-hidroxi-etil)fenol) em amostras de uísque de malte



Fonte: Stupak *et al.* (2018)

Finalmente, aplicada a PCA para os quatro marcadores, uma separação nítida dos diferentes uísques foi obtida:

Figura 18 - Gráfico PCA baseado nos quatro marcadores seleccionados, de acordo com o barril utilizado para a maturação do uísque (bourbon/vinho, bourbon/vinho xerez e barril de bourbon)

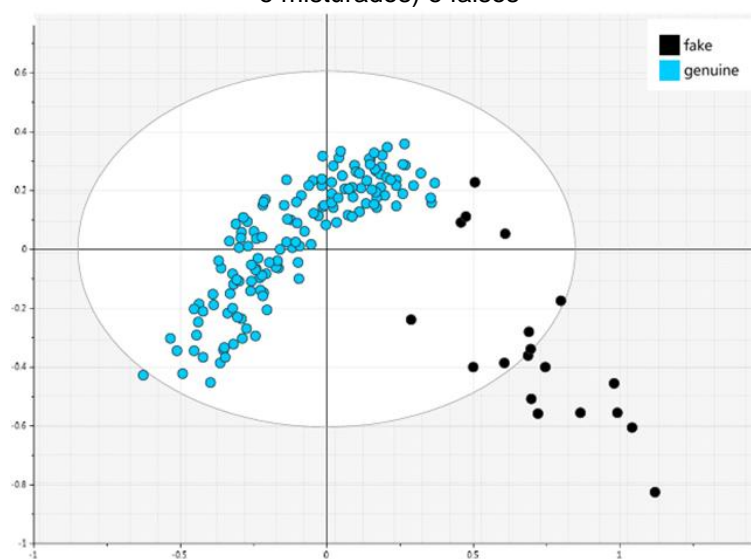


Fonte: Stupak *et al.* (2018)

Essa triagem simplifica a análise pois é baseada somente nos marcadores selecionados e, como visto, permitiu diferenciar uísques envelhecidos em barris de bourbon daqueles que também utilizaram barris de vinho, apesar da maior variabilidade observada nas amostras com influência do tipo de vinho.

Para identificar as amostras fraudulentas, o mesmo procedimento foi aplicado: PCA e a seleção de componentes marcadores. Na Figura 19, observa-se que a ferramenta separou com sucesso os dois tipos de uísque.

Figura 19 - Gráfico de pontuação (escores) da PCA de uísques genuínos (malte, misturados premium e misturados) e falsos



Fonte: Stupak *et al.* (2018)

Três compostos principais contribuíram significativamente para essa distinção: siringaldeído, dodecanoato de etila e 1-(3-acetilfenil)etanona. Siringaldeído é liberado como produto da degradação da lignina presente no carvalho (PIGGOTT, 2016), tendo sido encontrado em maiores concentrações nos uísques genuínos, especialmente naqueles maturados por mais tempo. Como era de se esperar, em uísques produtos de adulteração sua concentração era bem mais baixa ou nula. Dodecanoato de etila apresentou níveis similares entre algumas amostras falsas comparadas às genuínas, e foi associado ao aroma de alguns uísques (KEW *et al.*, 2016). Na literatura não foi encontrada informação a respeito da fonte de 1-(3-acetilfenil)etanona. Contudo, ela estava presente em maior concentração nas amostras genuínas.

Por fim, alguns compostos foram detectados nas falsificações em concentrações anormais se comparados aos uísques originais. Vanilina, por exemplo, foi encontrada em concentrações muito mais altas, em conformidade com

o estudo de Kew *et al.* (2019). Entretanto, para Wisniewska *et al.* (2014), as concentrações eram bem mais baixas para os uísques falsificados. Isso prova a grande variação sofrida pelos componentes da bebida devido às inúmeras formas e proporções de adulterá-la.

2.4.3 Ionização por Paper Spray

Nessa técnica, um pedaço de papel em formato triangular acomoda a amostra, em geral, na forma de solução. Os analitos de interesse são extraídos por meio de um solvente aplicado na parte de trás do papel. Então, aplica-se uma alta tensão (positiva ou negativa, a depender do modo em que se deseja trabalhar) e, semelhante ao mecanismo de ionização por *electrospray* (ESI), os analitos são ionizados e atraídos para o espectrômetro (LIU *et al.*, 2010; MCBRIDE *et al.*, 2019; PIMENTA, 2021).

O *spray* se forma pelas gotículas que se desprendem. O potencial elétrico pode variar de 2,0 a 5,5 kV (positiva e negativamente) (MCBRIDE *et al.*, 2019).

2.4.3.1 Identificação de uísques escoceses misturados (*blended*) e produtos de falsificação

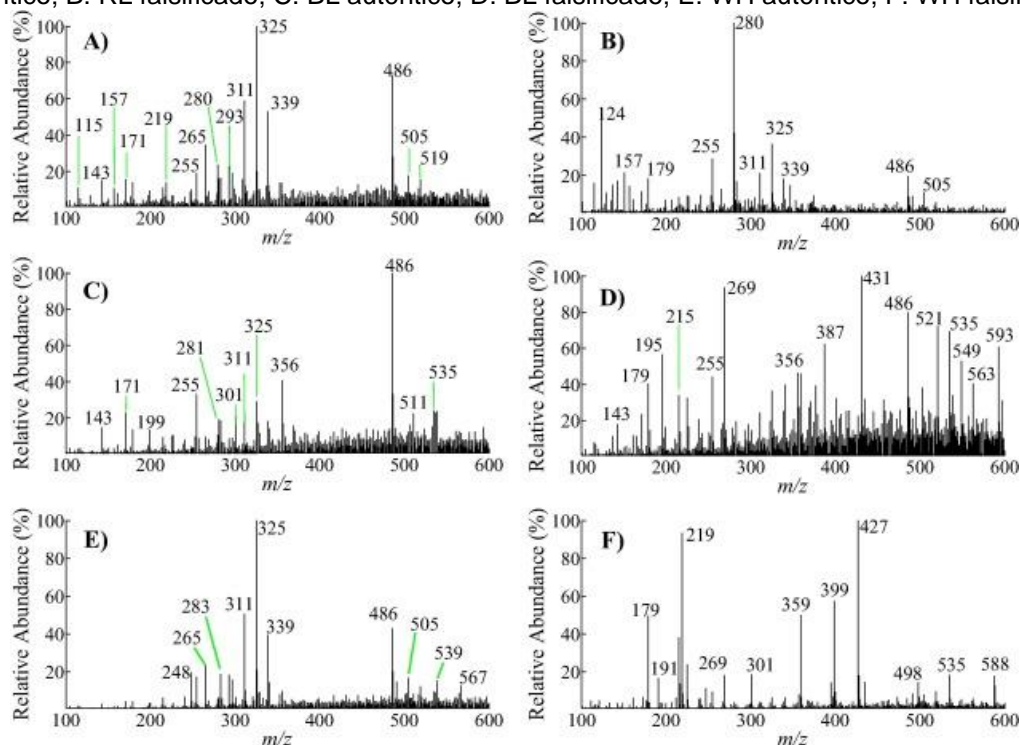
Aplicando PCA e PLS-DA aos resultados de espectrometria de massas com ionização por *paper spray*, Teodoro *et al.* (2017) puderam realizar uma identificação rápida de amostras falsificadas de uísques escoceses. A técnica analítica em modo negativo foi escolhida por sua maior reprodutibilidade e alta estabilidade de sinal. Além disso, ela é considerada simples, barata e possível para análise em campo (SMITH *et al.*, 2019), visto que com esse tipo de ionização não se faz necessária a geração de pulverização por gás e nem de preparo de amostra.

Para o estudo, 88 amostras ao todo foram disponibilizadas, sendo 44 delas autênticas e a outra metade falsificadas, cedidas pela Polícia Federal. Ambos os conjuntos eram compostos pelas três marcas mais apreendidas no Brasil (TEODORO *et al.*, 2017): Johnnie Walker Red Label (RL) e Black Label (BL) e White Horse (WH).

A comparar com as demais técnicas anteriormente discutidas, era esperado que os espectros de massas também mostrassem diferenças evidentes entre amostras autênticas e adulteradas, o que de fato foi observado. Moller *et al.* (2005) identificou ânions característicos de amostras autênticas e falsificadas que são vistas nos espectros abaixo, como é o caso dos íons m/z 143, 171 e 199. Para

amostras adulteradas, os íons majoritários foram m/z 179, 195, 215, 225, 269, 359, 377, 387 e 431. Cabe ressaltar que este autor utilizou um método de ionização diferente, baseado em *electrospray*, o que pode resultar em algumas diferenças de intensidade relativa.

Figura 20 - Espectros de massas obtidos por PS-MS de amostras de uísque escocês. A: RL autêntico; B: RL falsificado; C: BL autêntico; D: BL falsificado; E: WH autêntico; F: WH falsificado

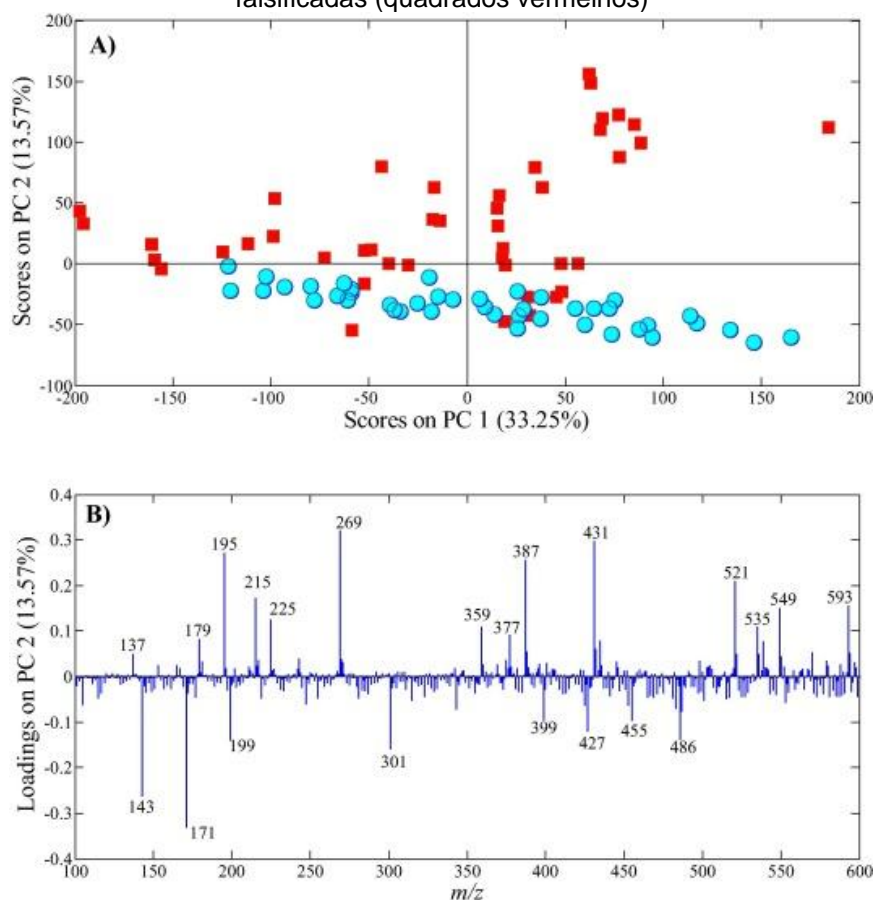


Fonte: Teodoro *et al.* (2017)

Embora os *fingerprints* indiquem diferenças entre as amostras autênticas e adulteradas, métodos quimiométricos foram utilizados, uma vez que inúmeros tipos de falsificação podem ser feitos e, por isso, muitos padrões espectrais podem ser obtidos.

Primeiramente, a PCA (Figura 21) foi desenvolvida ao dispor os dados dos espectros em uma matriz com 88 linhas, que correspondiam às amostras, e 600 colunas, que são as variáveis, isto é, as razões m/z e as intensidades relativas. Após centrar os dados na média, dois componentes principais explicaram 46,82% da variância total.

Figura 21 - Gráfico de PCA gerado pelos espectros das amostras de uísque. A: escores das duas componentes principais; B: pesos considerando a PC2. Amostras autênticas (círculos azuis) falsificadas (quadrados vermelhos)



Fonte: Teodoro *et al.* (2017)

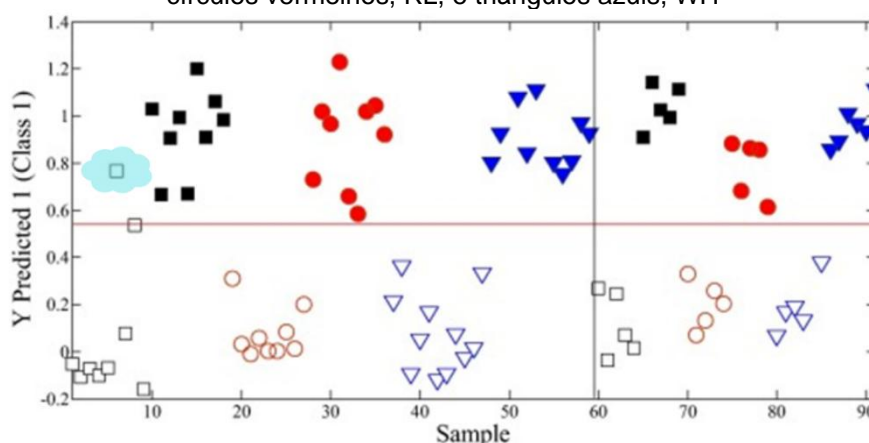
Pela figura 21A, mostra-se que o componente principal 1 (PC1) não discriminou as amostras entre autênticas e falsificadas, mas pôde correlacioná-las com o tempo de maturação dos uísques autênticos (círculos azuis), uma vez que a maioria das amostras de Black Label (8 anos) ficou em escores positivos, enquanto os uísques Red Label (3 anos) ficaram em escores negativos. Em contrapartida, a componente principal 2 (PC2) diferenciou as amostras por autenticidade, pois 34 amostras falsificadas (quadrados vermelhos) exibiram valores positivos e as 44 amostras autênticas se mantiveram na porção negativa.

Ainda, na análise de cargas do componente principal 2 (Figura 21B), destacaram-se ânions responsáveis pela separação, sendo os valores mais negativos de m/z 143, 171, 199, 301, 427 e 486 associados às amostras autênticas e, predominantemente, m/z 179, 195, 215, 225, 269, 359, 377, 387 e 431 para valores mais positivos, associados às amostras adulteradas. Esses números corroboram o estudo citado anteriormente a respeito das espécies diagnósticas de autenticidade e falsificação.

Salienta-se que os autores fizeram atribuições a alguns íons marcadores, como m/z 301 sendo o ácido elágico, muito encontrado em destilados e atua como antioxidante; m/z 399 foi associado a um produto advindo da maturação. Já os ânions m/z 179, 431 e 521 estão ligados a práticas fraudulentas, como a adição de caramelo para ajuste de cor e sabor.

Então, aplicou-se um modelo PLS-DA considerando três variáveis latentes. Para amostras autênticas, atribuiu-se valor 1 e para as falsificadas, 0. Abaixo, observa-se que o modelo dividiu pela linha vertical os conjuntos de treinamento (à esquerda) e teste (à direita), e pela linha horizontal o limite estimado. A única amostrada classificada incorretamente está marcada em azul, resultando em um único falso-positivo para um conjunto de 88 amostras.

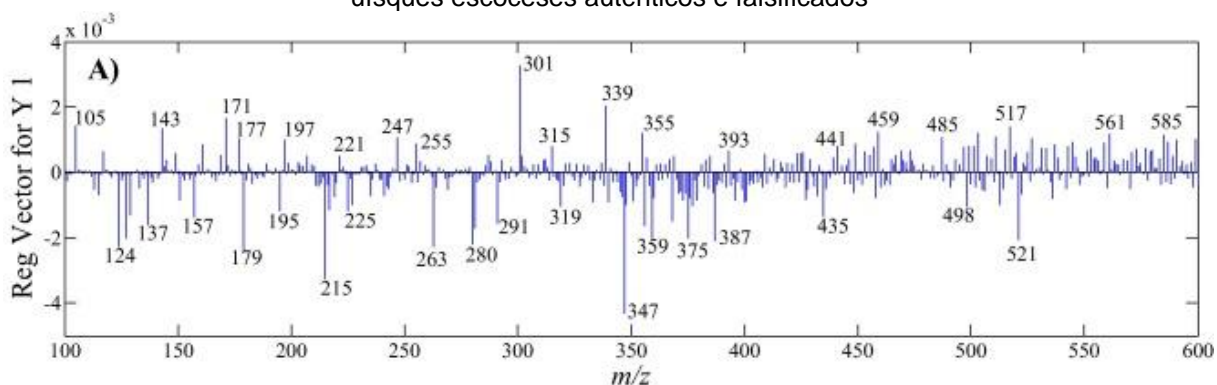
Figura 22 - Previsões da PLS-DA. Elementos preenchidos configuram o vetor de pontuação de amostras autênticas e elementos vazios, amostras falsificadas. Quadrados pretos representam BL, círculos vermelhos, RL, e triângulos azuis, WH



Fonte: adaptado de Teodoro *et al.* (2017)

A Figura 23 exhibe os vetores informativos de regressão. Eles foram úteis para identificar as variáveis mais relevantes na discriminação entre uísques autênticos e falsificados. O vetor de regressão destacou os ânions de m/z 105, 143, 171, 301 e 486 como os mais positivos, caracterizando-os como marcadores diagnósticos para amostras autênticas (classe 1). Em contrapartida, os ânions que apresentaram coeficientes negativos (m/z 124, 179, 195, 215, 347, 387 e 521) foram relacionados a uísques falsificados (classe 0).

Figura 23 - Vetores de regressão informativos obtidos pela PLS-DA para a discriminação entre uísques escoceses autênticos e falsificados



Fonte: Teodoro *et al.* (2017)

As análises, portanto, demonstraram ótimos resultados, sendo 96,6% de especificidade, para as amostras de treinamento em que houve somente uma classificação errada. Desse modo, a quimiometria mais uma vez se demonstrou eficaz, quando aliada a técnicas analíticas, para identificar bebidas produtos de falsificação. Esse modelo, entretanto, tem melhor aproveitamento para amostras adulteradas em que se há certeza de que pertencem às marcas do modelo. Para marcas não incluídas e que o tipo de produção varia (por exemplo, uísques *Bourbon* ou *single malt*), os íons diagnósticos podem ser outros (MOLLER *et al.*, 2005), e a análise fica comprometida.

2.5 Dispositivo analítico em papel para testes colorimétricos

Dispositivos analíticos em papel (μ PADs, do inglês *Paper-based Analytical Devices*) surgiram em 2007 para atuarem como sensores colorimétricos. Eles são produzidos de forma simples, barata e rápida, por meio da fusão de um padrão de cera impresso sobre papel cromatográfico (CARRILHO *et al.*, 2009).

Comumente em formato circular, barreiras hidrofóbicas de cera delimitam regiões do papel e atuam como poços para que reações colorimétricas entre reagentes e amostras formem um produto colorido. Então, fotografias são coletadas para detecção de padrões de cores via *software* específico. Para cada canal de cor, é feita uma correlação entre intensidade da coloração e concentração do analito para o qual a medição está sendo feita (SOUZA *et al.*, 2012; SOUZA *et al.*, 2014).

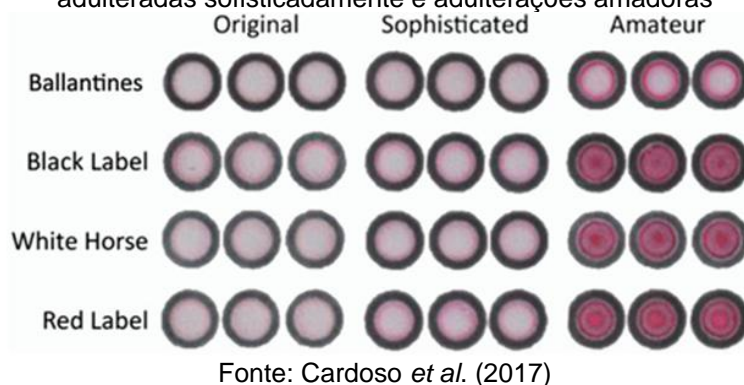
Cardoso *et al.* (2017) demonstraram a aplicação de μ PADs para testes colorimétricos de diagnóstico em local de atendimento (POC, do inglês *point-of-care*) em uísques adulterados com corante caramelo, promovendo o desenvolvimento de um método sensível e seletivo com instrumentação simples e barata.

2.5.1 Análise de adulteração de uísque com corante caramelo por μ PADs

O estudo conduzido por Cardoso *et al.* (2017) apresentou o desenvolvimento de dispositivos analíticos colorimétricos baseados em papel (μ PADs) para a detecção de bebidas alcoólicas adulteradas, com foco em uísque falsificado contendo corante caramelo. O principal objetivo do trabalho foi criar uma solução portátil, de baixo custo e aplicável no local para atender às demandas de análise rápida em campo.

O método descrito no estudo demonstra o uso de reações colorimétricas para a detecção de corante caramelo, sacarose e glicose (as duas últimas compondo os ingredientes principais do corante). A abordagem fundamenta-se em uma sequência de reações químicas e enzimáticas que culminam na formação de um produto magenta detectável. Esses testes colorimétricos foram aplicados para 4 marcas diferentes de uísque sendo, para uma mesma marca, uísques originais e adulterados tanto de forma amadora quanto de forma sofisticada (em que um uísque mais barato é rotulado como um mais caro) (Figura 24).

Figura 24 - Testes colorimétricos para quatro marcas de uísque, estas variando entre autênticas, adulteradas sofisticadamente e adulterações amadoras



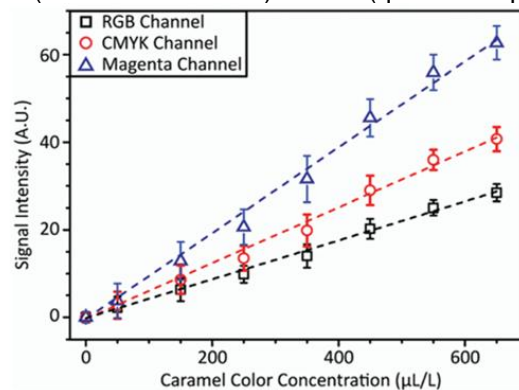
Nitidamente, os resultados para as amostras originais e adulteradas de maneira sofisticada muito se assemelham, enquanto o oposto é observado ao comparar os resultados para uísques originais com os de produto de falsificação amadora. Nesse sentido, faz-se necessária a aplicação de métodos avançados para distinguir adulterações sofisticadas (CARDOSO *et al.*, 2017).

Os autores, então, construíram curvas de calibração ao adulterarem, gradativamente, 6 marcas diferentes de uísque com uma solução alcoólica de caramelo com concentração conhecida, de modo que ela mimetizasse o uísque autêntico em cor. A sensibilidade foi determinada por meio de estudo quantitativo usando canais de cores (RGB, CMYK, magenta e amarelo) em análise

de imagens. O canal magenta apresentou maior sensibilidade e menor limite de detecção (LOD), de $79 \mu\text{L}^{-1}$ (Figura 25).

Para essas amostras quantitativamente adulteradas com corante caramelo, a intensidade do sinal se distanciou muito comparado ao sinal de amostras autênticas, a exemplo do uísque Ballantine's. Cardoso *et al.* (2017) optaram pela construção de uma PCA para fazer a discriminação.

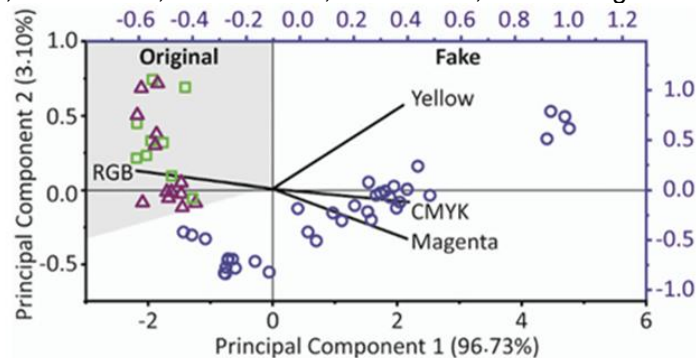
Figura 25 - Variação na intensidade de sinal com a adição de corante caramelo em diferentes concentrações ao uísque Ballantine's, considerando os canais de cores magenta (triângulos roxos), CMYK (círculos vermelhos) e RGB (quadrados pretos)



Fonte: Cardoso *et al.* (2017)

Dois componentes principais foram capazes de explicar 99,86% da variância total. Neste estudo, 47 amostras apreendidas pela Polícia Federal foram usadas para testar o método. Os canais de cor anteriormente aplicados para as curvas de calibração foram considerados como variáveis principais, com exceção do canal amarelo. Este foi tratado como variável adicional pois, em se tratando de uísques falsificados, o caramelo se faz presente de inúmeras formas (como concentração e intensidade de cor) (CARDOSO *et al.*, 2017).

Figura 26 - PCA para triagem de amostras apreendidas. Pela identificação feita, os círculos azuis são amostras falsificadas e os triângulos roxos são amostras autênticas, conforme indicado pelas áreas sombreadas em branco e cinza. Os quadrados verdes são uísques originais de 6 marcas diferentes (Red Label, Black Label, Jack Daniels, Ballantine's, Chivas Regal e White Horse)



Fonte: Cardoso *et al.* (2017)

Somente pela PCA, foi possível identificar 75% das amostras como produto de adulteração. O restante, representado por triângulos roxos na Figura 26, foi considerado uísque original. Adicionalmente, a análise das amostras em relação às curvas de calibração construída pôde identificar 39 amostras adulteradas, mas três amostras foram adicionadas a essa conta depois que o canal amarelo revelou alterações de cor marrom não vistas nas amostras originais. Finalmente, 90% (42) das amostras apreendidas foram identificadas como adulteradas graças à combinação de testes colorimétricos com análise por Componentes Principais (PCA), que se revelou eficaz.

O trabalho apresenta, portanto, avanços relevantes para química analítica, como a redução de custos e a menor necessidade de amostras. Além disso, a integração de ferramentas estatísticas, como PCA, com a análise colorimétrica, proporcionou maior precisão na identificação de adulterações, especialmente em casos mais complexos. O protocolo também se mostrou adaptável e aplicável a diferentes cenários de análise em campo, reforçando seu potencial como uma ferramenta prática.

Ademais, em se tratando de análises em campo, este método apresenta uma vantagem para o caso de perícias reais. Se o equipamento necessário não puder ser levado ao local onde encontram-se amostras suspeitas, estas devem ser encaminhadas a um laboratório que tenha a infraestrutura necessária, o que demanda muito tempo para uma resposta que poderia ser rapidamente obtida com testes práticos e simples, como o de dispositivos baseados em papel para detecção de corante caramelo. Dessa forma, caso não seja constatada sua presença, esta amostra não precisa ser encaminhada pois já terá sido detectada como autêntica.

Embora o trabalho de Cardoso *et al.* (2017) represente um avanço metodológico no uso de dispositivos analíticos baseados em papel (PADs) para a identificação de uísques adulterados, o método proposto é dependente da detecção de corante caramelo como principal indicador de adulteração. Essa abordagem apresenta um viés que pode restringir a aplicabilidade do método em cenários onde outros parâmetros ou adulterantes são relevantes para a identificação de falsificações.

3 CONCLUSÃO

Nesta revisão, apresentou-se o processo de produção de uísques em geral e como sua composição é influenciada pela produção, obtendo-se como produto final um destilado rico em congêneres que conferem aroma e sabor característicos à bebida. Além disso, discutiu-se a imensa variedade de adulterações que o mercado de bebidas alcoólicas enfrenta, principalmente quando se trata de produtos de custo elevado.

Dessa maneira, foram apresentadas técnicas analíticas utilizadas para detectar essas adulterações, tratando seus resultados com modelos quimiométricos que buscam reconhecer padrões, explorar as variações sofridas pelas amostras, discriminá-las e, sempre que possível, classificá-las.

Contudo, nestes estudos, foi possível perceber que, para identificar claramente o tipo de adulteração, isto é, marca, tempo de maturação, aditivos ilícitos, adições de componentes em quantidades indevidas e não permitidas, é desejável ter um mínimo conhecimento prévio das amostras ou construir modelos com um número muito grande de amostras. Do contrário, a depender do modelo que é aplicado ao estudo, a amostras pode ser considerada anômala, sendo necessário testá-la em outros modelos ou construir um novo conforme características observadas em espectros e outros ensaios preliminares.

Apesar dessas limitações quanto ao uso dos modelos propostos em razão da imprevisibilidade das adulterações, os métodos puderam ser aplicados e têm potencial de serem aperfeiçoados. Observou-se que, para todos os casos, as análises foram bem-sucedidas e os erros, relativamente pequenos. A Quimiometria se mostrou um método fundamental para o tratamento de dados espectrais quando há padrões ocultos que, a olho nu, seriam inacessíveis. Desde a validação até os testes com amostras apreendidas, os resultados apresentados pelos autores são interessantes e promissores. Os modelos podem ser adaptados para se alcançar o maior número possível de alternativas, evidenciando a grande aplicabilidade de métodos analíticos quando unidos à Quimiometria.

REFERÊNCIAS

- ADAM, Vinícios Diego; DALLAGO, Rogério Marcos. Whisky. In: VENQUIARUTO, Luciana Dornelles; DALLAGO, Rogério Marcos (org.). **Química das Bebidas**. Erechim: Edifapes, 2018. p. 49-54. Disponível em: https://www.uricer.edu.br/site/publicacoes/Ebook_Qu%C3%ADmica_das_Bebidas_publica%C3%A7%C3%A3o_final_2018.pdf. Acesso em: 08 out. 2024.
- ANDRADE, Matheus Gouvea de. **Crime organizado aposta na falsificação de bebidas no Brasil**. 2024. Disponível em: <https://www.dw.com/pt-br/crime-organizado-investe-na-falsifica%C3%A7%C3%A3o-de-bebidas-no-brasil/a-71142355>. Acesso em: 10 jan. 2025.
- AYLOTT, R. I.; MACKENZIE, W. M.. Analytical strategies to confirm Scotch whisky authenticity. **The Analyst**, [S.L.], v. 129, n. 7, p. 607, 2004. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/b403068k>. Acesso em: 15 out. 2024.
- AYLOTT, R. I.; MACKENZIE, W. M.. Analytical Strategies to Confirm the Generic Authenticity of Scotch Whisky. **Journal Of The Institute Of Brewing**, [S.L.], v. 116, n. 3, p. 215-229, 2010. The Institute of Brewing & Distilling. <http://dx.doi.org/10.1002/j.2050-0416.2010.tb00424.x>.
- BARKER, Matthew; RAYENS, William. Partial least squares for discrimination. **Journal Of Chemometrics**, [S.L.], v. 17, n. 3, p. 166-173, mar. 2003. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/cem.785>.
- BOTELHO, Bruno Gonçalves. **Desenvolvimento e validação de métodos para análise direta de alimentos usando ferramentas quimiométricas, espectroscopia no infravermelho e imagens digitais**. 2014. 136 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014. Disponível em: https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/SFSA-9TMH34/1/tese_bruno_g_botelho_2014.pdf?utm_source=chatgpt.com. Acesso em: 16 dez. 2024.
- BRASIL**. Decreto n. 6.871, de 4 de junho de 2009. Regulamenta a Lei n. 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. *Diário Oficial da União: seção 1*, Brasília, DF, 4 jun. 2009. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2007-2010/2009/Decreto/D6871.htm. Acesso em: 11 out. 2024.
- BRASIL**. Ministério da Agricultura e Pecuária. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Vegetal. **Consolidação das Normas de Bebidas, Fermentado Acético, Vinho e Derivados da Uva e do Vinho**. Anexo à Instrução Normativa SDA/MAPA n. 140/2024, 4ª ed. Brasília: MAPA, 2024. Disponível em: www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-de-produtos-origem-vegetal/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/Anexo_Instrucao_Normativa_140_2024_4Edicao.pdf. Acesso em: 22 out. 2024.

BRERETON, Richard G.. **Chemometrics for Pattern Recognition**. Bristol: Wiley, 2009. 512 p.

BRERETON, Richard G.; LLOYD, Gavin R.. Partial least squares discriminant analysis: taking the magic away. **Journal Of Chemometrics**, [S.L.], v. 28, n. 4, p. 213-225, 18 mar. 2014. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/cem.2609>.

BUSTILLOS, Oscar Vega. A cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas – GC/MS. **Analytica**, [s. l.], v. 18, n. 105, p. 28-30, fev./mar. 2020. Bimestral. Disponível em: <https://www.yumpu.com/pt/document/read/63165073/revista-analytica-ed-105>. Acesso em: 09 dez. 2024.

CANTARELLI, Miguel Ángel et al. Authentication and Discrimination of Whiskies of High Commercial Value by Pattern Recognition. **Food Analytical Methods**, [S.L.], v. 8, n. 3, p. 790-798, 13 ago. 2014. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s12161-014-9958-8>.

CARDOSO, Thiago M. G. et al. A paper-based colorimetric spot test for the identification of adulterated whiskeys. **Chemical Communications**, [S.L.], v. 53, n. 56, p. 7957-7960, 2017. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c7cc02271a>.

CHIVAS Brothers has completed the construction of its new Speyside malt whisky distillery, reinforcing its long term growth prospects in the face of increased global demand for Scotch whisky. 2015. Parent company: Pernod Ricard; Current owner: Chivas Brothers Holdings. Disponível em: <https://www.pernod-ricard.com/en/media/chivas-brothers-new-speyside-malt-whisky-distillery>. Acesso em: 20 nov. 2024.

Consolidação das Normas de Bebidas, Fermentado Acético, Vinho e Derivados da Uva e do Vinho: anexo à norma interna DIPOV nº01/2019 – Cartilhão/Coordenação Geral de Vinhos e Bebidas. – Brasília: MAPA/AECS, 2022. (4ª Edição com ISBN Atualizada até 15/10/2024).

COVA, Tânia Firmino Guerra Guerreiro. **Aplicações em quimiometria. Do diagnóstico médico à ciétiometria**. 2011. 156 f. Dissertação (Doutorado) - Curso de Química, Universidade de Coimbra, Coimbra, 2011. Disponível em: <https://hdl.handle.net/10316/16193>. Acesso em: 20 nov. 2024.

ELLIS, D. I. et al. Rapid through-container detection of fake spirits and methanol quantification with handheld Raman spectroscopy. **The Analyst**, [S.L.], v. 144, n. 1, p. 324-330, 2019. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c8an01702f>.

FERREIRA, Márcia M. C. *et al.* Quimiometria I: calibração multivariada, um tutorial. **Química Nova**, [S.L.], v. 22, n. 5, p. 724-731, set. 1999. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40421999000500016>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/kDYTsX5cKvQxzFpdQft7TXw/>. Acesso em: 18 out. 2024.

FRANCE PRESSE (ed.). **Bebida alcoólica adulterada deixa 23 mortos em menos de 48 horas na Turquia**. 2025. Disponível em: <https://g1.globo.com/mundo/noticia/2025/01/16/bebida-alcoolica-adulterada-deixa-mortos-na-turquia.ghtml>. Acesso em: 20 jan. 2025.

GRANATO, Daniel *et al.* Trends in Chemometrics: food authentication, microbiology, and effects of processing. **Comprehensive Reviews In Food Science And Food Safety**, [S.L.], v. 17, n. 3, p. 663-677, 30 mar. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/1541-4337.12341>.

HEINZ, Heather Ann; ELKINS, Joe Travis. Comparison of unaged and barrel aged whiskies from the same Mash Bill using gas chromatography/mass spectrometry. **Journal Of Brewing And Distilling**, Greeley, v. 8, n. 1, p. 1-6, 30 jun. 2019. Academic Journals. <http://dx.doi.org/10.5897/jbd2018.0051>.

HIGHKING. **Coffey Still from Kilbeggan Distillery in County Westmeath in Ireland**. 2013. Disponível em: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Coffey_Still.JPG. Acesso em: 20 nov. 2024.

KEW, Will *et al.* Chemical Diversity and Complexity of Scotch Whisky as Revealed by High-Resolution Mass Spectrometry. **Journal Of The American Society For Mass Spectrometry**, [S.L.], v. 28, n. 1, p. 200-213, 17 out. 2016. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1007/s13361-016-1513-y>. Acesso em: 16 dez. 2024.

KLEIN, David. **Organic Chemistry**. 2. ed. [S.I.]: Wiley, 2013. 1373 p. Johns Hopkins University.

KOKOT, Serge *et al.* Data Interpretation by some Common Chemometrics Methods. **Electroanalysis**, Brisbane, v. 10, n. 16, p. 1081-1088, nov. 1998. Wiley. [http://dx.doi.org/10.1002/\(sici\)1521-4109\(199811\)10:163.0.co;2-x](http://dx.doi.org/10.1002/(sici)1521-4109(199811)10:163.0.co;2-x).

LAROCHE, Marco de. UÍSQUE, ÁGUA DA VIDA. In: ABRABE – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE BEBIDAS (Brasil) (org.). **Um brinde à vida: a história das bebidas**. São Paulo: Dba, 2014. p. 114-119.

LYONS, T.P.. **Production of Scotch and Irish whiskies**: their history and evolution. their history and evolution. 2000. Chapter 11. Disponível em: <https://smwhisky.com.au/wp-content/uploads/2016/10/scotch-and-irish-whiskies-their-history-and-evolution.pdf>. Acesso em: 21 nov. 2024.

MARTINIS, Bruno Spinosa de; OLIVEIRA, Marcelo Firmino de (org.). **Química Forense Experimental**. São Paulo: Cengage Learning, 2015.

MARTINS, Angélica Rocha. **Desenvolvimento de método para discriminação entre marcas de uísque e identificação de adulteração por espectroscopia UV-Vis e PLS-DA**. 2015. 101 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Instituto de Química, Universidade de Brasília, Brasília, 2015. Disponível em: https://repositorio.unb.br/jspui/bitstream/10482/20938/1/2015_Ang%c3%a9licaRochaMartins.pdf. Acesso em: 22 out. 2024.

MARTINS, Angélica Rocha et al. Discrimination of whisky brands and counterfeit identification by UV–Vis spectroscopy and multivariate data analysis. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 229, p. 142-151, ago. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.02.024>.

MASS Spectrometry. The Scripps Center for Metabolomics and Mass Spectrometry. Disponível em: <https://masspec.scripps.edu/learn/ms/index.html>. Acesso em: 09 dez. 2024.

MIRO. Disponível em: <https://miro.com/pt/fluxograma/>. Acesso em: 19 nov. 2024.

MØLLER, Jens K. S. *et al.* Electrospray ionization mass spectrometry fingerprinting of whisky: immediate proof of origin and authenticity. **The Analyst**, [S.L.], v. 130, n. 6, p. 890-897, abr. 2005. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/b415422c>. Acesso em: 16 dez. 2024.

OKOLO, Chioke A. *et al.* Recent advances in whiskey analysis for authentication, discrimination, and quality control. **Comprehensive Reviews In Food Science And Food Safety**, [S.L.], v. 22, n. 6, p. 4957-4992, 12 out. 2023. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/1541-4337.13249>.

PAVIA, Donald L. *et al.* **Introdução à Espectroscopia**. 4. ed. Bellingham: Cengage Learning, 2010. 716 p. Tradução de 4ª edição norte-americana.

PEREIRA FILHO, Edenir. **Análise de Componentes Principais (PCA), Planejamento fatorial (DoE)**. 2021. Disponível em: https://www.youtube.com/watch?v=syThfUpzEdA&list=PL4CuftF4I_fDCTvwI6QGJieFYEnS0NKj. Acesso em: 20 nov. 2024.

PEREIRA, Hebert Vinicius. **Espectrometria de massas com ionização por paper spray combinada a métodos quimiométricos para identificação de falsificações em cervejas**. 2016. 81 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Departamento de Química, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2016. Disponível em: https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/SFSA-AEXNC8/1/disserta__o__vers_o_final_hebert_vinicius_pereira_.pdf. Acesso em: 08 nov. 2024.

PIGGOTT, J.R.. Whisky, Whiskey and Bourbon: composition and analysis of whisky. **Encyclopedia Of Food And Health**, Araraquara, p. 514-518, 2016. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-384947-2.00752-2>.

POWER, Aoife C. *et al.* A Brief History of Whiskey Adulteration and the Role of Spectroscopy Combined with Chemometrics in the Detection of Modern Whiskey Fraud. **Beverages**, [S.L.], v. 6, n. 3, p. 49, 3 ago. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/beverages6030049>.

REZENDE, Kariolanda C. A. *et al.* Portable Analytical Platforms Associated with Chemometrics for Rapid Screening of Whisky Adulteration. **Food Analytical**

Methods, [S.L.], v. 15, n. 9, p. 2451-2461, 23 abr. 2022. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s12161-022-02303-5>.

RODRIGUES, Edson. **Métodos Físicos de Separação e Análise de Compostos**. São Carlos: [S.I.], 2023. Color. Notas de aula.

SANTANA, Felipe *et al.* EXPERIMENTO DIDÁTICO DE QUIMIOMETRIA PARA CLASSIFICAÇÃO DE ÓLEOS VEGETAIS COMESTÍVEIS POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO MÉDIO COMBINADO COM ANÁLISE DISCRIMINANTE POR MÍNIMOS QUADRADOS PARCIAIS: um tutorial, parte v. **Química Nova**, [S.L.], v. 43, n. 3, p. 371-381, fev. 2020. Sociedade Brasileira de Química (SBQ). <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170480>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/Bq7xdFNQ8dsKrxhPCbsHYPc/?format=pdf>. Acesso em: 07 nov. 2024.

SANTOS, Henrique Rodrigues dos; HARTWIG, Carla de Andrade. O uísque sob uma abordagem Forense: principais adulterações e técnicas analíticas de determinação. **Revista Brasileira de Criminalística**, [S.L.], v. 12, n. 5, p. 16-24, 8 dez. 2023. Associação Brasileira de Criminalística - ABC. <http://dx.doi.org/10.15260/rbc.v12i5.716>. Disponível em: <https://www.researchgate.net>. Acesso em: 27 out. 2024.

SCOLARI, Hortência Adelina; VENQUIARUTO, Luciana Dornelles. A Química da Cachaça. In: VENQUIARUTO, Luciana Dornelles; DALLAGO, Rogério Marcos (org.). **Química das Bebidas**. Erechim: Edifapes, 2018. p. 44-48. Disponível em: https://www.uricer.edu.br/site/publicacoes/Ebook_Qu%C3%ADmica_das_Bebidas_publica%C3%A7%C3%A3o_final_2018.pdf. Acesso em: 08 out. 2024.

SCOTCH Whisky Association. Disponível em: <https://www.scotch-whisky.org.uk/>. Acesso em: 19 nov. 2024.

SILVA, Luis Augusto da. **Desenvolvimento de metodologia analítica utilizando ressonância magnética nuclear aliada à quimiometria para análise de cervejas nacionais**. 2021. 89 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química, Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2021. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/server/api/core/bitstreams/a61a393a-d8c2-4140-a51a-277d31a717db/content>. Acesso em: 07 nov. 2024.

SKOOG, Douglas A. *et al.* **Princípios de Análise Instrumental**. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 2002. 1056 p. Tradução de: Ignez Caracelli [et al.].

STÅHLE, Lars; WOLD, Svante. Partial least squares analysis with cross-validation for the two-class problem: a monte carlo study. **Journal Of Chemometrics**, [S.L.], v. 1, n. 3, p. 185-196, jul. 1987. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/cem.1180010306>.

STUPAK, Michal *et al.* A novel approach to assess the quality and authenticity of Scotch Whisky based on gas chromatography coupled to high resolution mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, [S.L.], v. 1042, p. 60-70, dez. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2018.09.017>.

TEODORO, Janaína Aparecida Reis *et al.* Paper spray mass spectrometry and chemometric tools for a fast and reliable identification of counterfeit blended Scottish whiskies. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 237, p. 1058-1064, dez. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.062>.

TOSATO, Flávia *et al.* Paper spray ionization mass spectrometry allied to chemometric tools for quantification of whisky adulteration with additions of sugarcane spirit. **Analytical Methods**, [S.L.], v. 10, n. 17, p. 1952-1960, 2018. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c8ay00071a>.

VARMUZA, Kurt; FILZMOSER, Peter. **Introduction to Multivariate Statistical Analysis in Chemometrics**. [S.I.]: Taylor & Francis Group, 2009. 326 p.

VENTURINI FILHO, Waldemar Gastoni (coord.). **Bebidas alcoólicas: ciência e tecnologia**. 2. ed. São Paulo, SP: Blucher, 2016. *E-book*. Disponível em: <https://plataforma.bvirtual.com.br>. Acesso em: 22 out. 2024.

WIŚNIEWSKA, Paulina; DYMERSKI, Tomasz; WARDENCKI, Waldemar; NAMIEŚNIK, Jacek. Chemical composition analysis and authentication of whisky. **Journal Of The Science Of Food And Agriculture**, [S.L.], v. 95, n. 11, p. 2159-2166, 13 nov. 2014. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.6960>.

WOLD, Svante *et al.* Principal component analysis. **Chemometrics And Intelligent Laboratory Systems**, [S.L.], v. 2, n. 1-3, p. 37-52, ago. 1987. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0169-7439\(87\)80084-9](http://dx.doi.org/10.1016/0169-7439(87)80084-9).