



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Instituto de Biociências de Botucatu
Campus Botucatu - SP

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU, CAMPUS BOTUCATU

PAULO JOSÉ GOMES PERIN

**VARIAÇÕES ISOTÓPICAS DE ^{13}C , ^2H e ^{18}O EM
COPRODUTOS DA CANA-DE-AÇÚCAR VISANDO
AVALIAÇÃO DE AUTENTICIDADE**

BOTUCATU
2025

PAULO JOSÉ GOMES PERIN

**VARIAÇÕES ISOTÓPICAS DE ^{13}C , ^2H e ^{18}O EM
COPRODUTOS DA CANA-DE-AÇÚCAR VISANDO
AVALIAÇÃO DE AUTENTICIDADE**

Monografia apresentada à Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociências, Campus Botucatu, como parte dos requisitos para conclusão do curso de graduação em Física Médica.

Orientador: Prof. Dr. Vladimir Eliodoro Costa

BOTUCATU
2025

P445v Perin, Paulo José

Variações isotópicas de ^{13}C , ^2H e ^1O em coprodutos da cana-de-açúcar visando avaliação de autenticidade / Paulo José Perin.

-- Botucatu, 2025

26 p. : il., tabs.

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Física Médica) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Botucatu

Orientador: Vladimir Eliodoro Costa

1. análise isotópica. 2. isótopos estáveis. 3. autenticidade. 4. cana-de-açúcar. I. Título.

PAULO JOSÉ GOMES PERIN

**VARIAÇÕES ISOTÓPICAS DE ^{13}C , ^2H e ^{18}O EM COPRODUTOS DA
CANA-DE-AÇÚCAR VISANDO AVALIAÇÃO DE AUTENTICIDADE**

Trabalho de Conclusão de Curso,
apresentado a Universidade Estadual
Paulista, como parte das exigências para
a obtenção do título de Bacharel, do curso
de Graduação em Física Médica.

Botucatu, 28 de novembro de 2025.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Vladimir Eliodoro Costa
Departamento de Biofísica e Farmacologia

Prof. Dr. Thiago Revers Dreyer
Departamento de Biofísica e Farmacologia

Me. Samuel Perri Gimenes
Instituto de Biociências de Botucatu

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao meus pais, Paulo e Lilian, e à minha vó, Neusa, que sempre me apoiaram e serviram de exemplo para mim.

Aos meus amigos, Letícia, Yuji, Marceline e Vitória, que me acompanharam e facilitaram toda essa jornada dentro da Física Médica.

A todos os professores que se dedicam a tentar mostrar a beleza da física, em especial ao Prof. Francisco, que me inspirou a chegar aonde estou.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela dádiva da vida e pelo amparo constante que me permitiu vencer cada obstáculo surgido durante o curso.

À toda a equipe do Centro de Isótopos Estáveis “Prof. Dr. Carlos Ducatti”, em especial, ao Prof. Dr. Vladimir Eliodoro Costa, meu orientador neste trabalho, que me acolheu como aluno de iniciação científica durante os últimos dois anos da minha graduação.

À UNESP e ao Instituto de Biociências de Botucatu, por todas as oportunidades e experiências proporcionadas.

À PIBIC CNPq, pelo apoio financeiro.

À Vitória, por me indicar ao professor Vladimir para dar continuidade em sua pesquisa, a qual deu início a este trabalho.

À minha família, por fornecer todo o apoio necessário para que eu pudesse ter a melhor experiência possível durante meu período de graduação.

Aos meus amigos, que me apoiaram durante toda a minha trajetória.

Resumo

A cana-de-açúcar desempenha um papel estratégico na agroindústria brasileira, sendo o Brasil o maior produtor mundial dessa cultura. Constantemente utilizada como matéria-prima na produção de açúcares, álcoois e vinagres, o grande volume produtivo desta matriz, a alta utilização no país, e o risco de adulterações, torna-se necessário medidas de controle de qualidade e autenticidade desses produtos. Sendo a análise isotópica uma metodologia cada vez mais aplicada em testes de autenticidade de produtos, este trabalho avaliou a aplicabilidade da caracterização isotópica de $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^2\text{H}$ e $\delta^{18}\text{O}$ como método para controle de autenticidade e rastreabilidade de produtos derivados da cana. Este trabalho foi organizado em duas etapas, sendo a primeira para a caracterização de $\delta^{13}\text{C}$ e a segunda para a caracterização de $\delta^2\text{H}$ e $\delta^{18}\text{O}$. Durante as etapas, foram analisados conjuntos de amostras de coprodutos da cana-de-açúcar (açúcares, álcoois e vinagres), sendo realizado moagem criogênica para os açúcares, e análise direta dos álcoois e vinagres. A análise isotópica foi realizada pelo espectrômetro de massa de razões isotópicas (IRMS) Delta V, acoplado ao analisador elementar EA-FLASH 2000 para carbono e EA-Flash HT para hidrogênio e oxigênio, em duplicata. Os resultados indicaram concordância com a literatura para plantas C4, onde os valores de $\delta^{13}\text{C}$ dos coprodutos variaram entre -11,39‰ e -14,49‰, evidenciando que a assinatura isotópica de carbono característica da cana-de-açúcar é preservada em seus coprodutos, permitindo diferenciar produtos derivados de plantas C3, que possuem uma diferente assinatura isotópica de carbono. Com relação à caracterização isotópica de hidrogênio e oxigênio, observou-se que, com relação aos açúcares, a razão isotópica de hidrogênio apresentou elevada variabilidade estatística, com ausência de padrão definido, enquanto a razão isotópica de oxigênio apresentou comportamento mais uniforme entre os açúcares, com média global de 36,40‰ e baixo desvio-padrão, indicando potencial aplicação no controle de qualidade. Nas amostras de etanol, evidenciou-se correlação com o teor alcoólico: $\delta^2\text{H}$ tende a tornar-se mais positivo com a redução do teor alcoólico, enquanto $\delta^{18}\text{O}$ torna-se mais positivo com o aumento do teor alcoólico. Com base nos resultados obtidos neste trabalho, conclui-se que a análise isotópica de $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^2\text{H}$ e $\delta^{18}\text{O}$ é uma ferramenta promissora e viável para rastreabilidade de origem, controle de qualidade e testes de autenticidade em produtos derivados da cana-de-açúcar, contribuindo para a detecção de adulterações comerciais.

Abstract

Sugarcane plays a strategic role in the Brazilian agroindustry, with Brazil being the world's largest producer of this crop. Constantly used as raw material in the production of sugars, alcohols, and vinegars, the large production volume of this matrix, its high use in the country, and the risk of adulteration make quality control and product authenticity measures necessary. As isotopic analysis is a methodology increasingly applied in product authenticity testing, this study evaluated the applicability of isotopic characterization of $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^2\text{H}$, and $\delta^{18}\text{O}$ as a method for authenticity control and traceability of sugarcane-derived products. This work was organized in two stages, the first for $\delta^{13}\text{C}$ characterization and the second for $\delta^2\text{H}$ and $\delta^{18}\text{O}$ characterization. During the stages, sets of samples of sugarcane co-products (sugars, alcohols, and vinegars) were analyzed, with cryogenic milling performed for sugars and direct analysis for alcohols and vinegars. Isotopic analysis was carried out using the Delta V isotope ratio mass spectrometer (IRMS), coupled to the EA-FLASH 2000 elemental analyzer for carbon and the EA-Flash HT for hydrogen and oxygen, in duplicate. The results indicated agreement with the literature for C4 plants, with $\delta^{13}\text{C}$ values of the co-products ranging from -11,39‰ to -14,49‰, showing that the carbon isotopic signature characteristic of sugarcane is preserved in its co-products, allowing differentiation from products derived from C3 plants, which have a different carbon isotopic signature. Regarding the isotopic characterization of hydrogen and oxygen, it was observed that, for sugars, the hydrogen isotopic ratio showed high statistical variability, with no defined pattern, while the oxygen isotopic ratio showed more uniform behavior among sugars, with a global mean of 36,40‰ and low standard deviation, indicating potential application in quality control. In ethanol samples, a correlation with alcohol content was observed: $\delta^2\text{H}$ tends to become more positive with decreasing alcohol content, while $\delta^{18}\text{O}$ becomes more positive with increasing alcohol content. Based on the results obtained in this work, it is concluded that isotopic analysis of $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^2\text{H}$, and $\delta^{18}\text{O}$ is a promising and feasible tool for origin traceability, quality control, and authenticity testing in sugarcane-derived products, contributing to the detection of commercial adulteration.

Sumário

Resumo	6
Abstract	7
1. Introdução	9
2. Objetivo	10
3. Materiais e Métodos	10
4. Resultados e Discussões.....	14
5. Conclusão	24
6. Referências bibliográficas	24

1. Introdução

Pertencente à família das gramíneas, a cana-de-açúcar desempenha um papel estratégico na agroindústria brasileira, sendo o Brasil o maior produtor mundial dessa cultura. Constantemente utilizada como matéria-prima na produção de açúcares, álcoois e vinagres, possui grande destaque no país, com 8,79 milhões de hectares destinados à sua cultura em 2025. De acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento - CONAB, estima-se uma produção total de 75.451 kg por hectare no ciclo 2025/26, sendo o sudeste do país a principal região produtora, totalizando 420,2 milhões de toneladas^{1,2}.

Além de sua relevância produtiva, os coprodutos da cana-de-açúcar desempenham papéis importantes em diversos setores, dada a ampla variedade de suas aplicações. O açúcar, por exemplo, é empregado na elaboração de bebidas e confeitados, além de atuar como adoçante³, apresentando crescimento significativo de consumo no Brasil nas últimas décadas. O álcool, por outro lado, é amplamente utilizado como componente de medicamentos, solvente na indústria de cosméticos, agente desinfetante e conservante, entre outras finalidades cotidianas. Já o vinagre pode ser aplicado tanto como condimento quanto em práticas de higienização, devido à sua ação bactericida⁴.

Devido ao elevado volume produtivo em solo brasileiro, os coprodutos provenientes da cana-de-açúcar possuem menor valor comercial quando comparados aos derivados de outras matrizes, tornando-os potenciais adulterantes, como em vinagres de maçã⁵. Além disso, devido à alta utilização desses coprodutos, os mesmos também são alvos de adulterações, como no etanol, onde a adição de metanol, substância tóxica, é utilizada para aumentar o teor alcoólico de bebidas, sanitizantes e solventes⁶. Durante a pandemia de COVID-19, sua presença em sanitizantes causou centenas de mortes e casos de cegueira nos EUA e Irã⁷. Dessa forma, torna-se essencial garantir a qualidade e autenticidade desses coprodutos.

A análise isotópica baseia-se em técnicas analíticas que empregam isótopos estáveis para determinar a origem de uma amostra ou até mesmo investigar sua procedência geográfica. Dessa forma, esta metodologia vem sendo cada vez mais utilizada no controle de autenticidade de produtos^{8,9,10}.

Para estudos de autenticidade, é comum a utilização da assinatura isotópica de carbono ($\delta^{13}\text{C}$), capaz de investigar a origem botânica de uma amostra, a partir dos diferentes processos fotossintéticos. Plantas C3, como trigo, arroz e soja, realizam a fixação de carbono pelo Ciclo de Calvin, enquanto plantas C4, como a cana-de-açúcar, utilizam a via Hatch-Slack para a fixação inicial de CO_2 e o Ciclo de Calvin na etapa seguinte de síntese de açúcares. A

variação nos valores isotópicos de carbono advém da diferença do fracionamento de gás carbônico entre plantas C3 e C4, ocasionando em diferentes assinaturas isotópicas. Para plantas C3, espera-se que um valor de $\delta^{13}\text{C}$ entre -22‰ a -34‰, enquanto para plantas C4 os valores variam de -8‰ a -16‰¹¹.

Para o estudo da localização geográfica de uma amostra, pode-se utilizar da análise da assinatura isotópica de hidrogênio ($\delta^2\text{H}$) e oxigênio ($\delta^{18}\text{O}$). Essa abordagem é possível pois essas razões isotópicas são particularmente sensíveis a fatores climáticos e hídricos, refletindo condições ambientais específicas, tornando possível distinguir regiões de produção com elevada precisão^{12,13,14}.

Entretanto, fatores externos podem ocasionar em alterações no valor isotópico da cana-de-açúcar, como a salinidade presente no solo de plantio, o quanto a planta foi exposta à radiação solar e a umidade, a pluviosidade anual da região de origem e a temperatura do local, consequentemente, causando alterações nos valores encontrados na análise isotópica de seus coprodutos^{15,16}.

2. Objetivo

Este trabalho teve por objetivo caracterizar e analisar a variação isotópica de $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^2\text{H}$ e $\delta^{18}\text{O}$ em coprodutos da cana-de-açúcar, investigando a existência de relações entre esses valores para aplicação em testes de autenticidade. Adicionalmente, caracterizou-se os valores isotópicos de amostras comerciais de açúcar, álcool hidratado e fermentados acéticos.

3. Materiais e Métodos

Os materiais utilizados e a metodologia adotada para a realização deste estudo foram organizados em duas etapas: a primeira para a caracterização de $\delta^{13}\text{C}$ e a segunda para a caracterização de $\delta^2\text{H}$ e $\delta^{18}\text{O}$.

3.1. Etapa 1

3.1.1 Amostras analisadas

As amostras analisadas constituíram de 56 açúcares, 14 fermentados acéticos e 15 álcoois, todos com a cana-de-açúcar como matéria prima. Além disso, foram analisados 12 fermentados acéticos de maçã e 12 vinagres de vinho, que possuem plantas C3 como matéria prima, para uma análise comparativa. As amostras analisadas foram adquiridas em estabelecimentos comerciais locais, abrangendo diferentes tipos, marcas e lotes de produção. Os álcoois analisados foram de concentrações 46,2° INPM e 70° INPM, além de etanol,

coletado em postos de combustível. Com relação aos açúcares, foram utilizados os tipos demerara, mascavo, refinado e cristal. Todas as amostras foram catalogadas, com suas informações de fabricação registradas em um banco de dados.

3.1.2 Preparação das amostras

Para as amostras de açúcar, foi realizado uma moagem criogênica por meio de um moinho criogênico com utilização de nitrogênio líquido (Spex CertiPrep 6750 Freezer/Mill), onde as amostras foram submetidas a 6 minutos de agitação à uma temperatura de -196 °C, para alcançar nas amostras uma textura fina e nível adequado de homogeneidade. Depois de moídas, foram pesados cerca de 100 µg de cada amostra por meio de uma balança analítica (resolução de 1 µg, XP6, Mettler Toledo, *Switzerland*), que foram alocados em cápsulas de estanho (5,0 mm x 3,5 mm). Todas as amostras foram produzidas em duplicata. As amostras líquidas foram alocadas em frascos de borossilicato, e posteriormente, titulado 0,5 ml de cada amostra diretamente nas cápsulas de estanho.

3.1.3 Análise isotópica

Na determinação dos valores de $\delta^{13}\text{C}$, foi utilizado o Espectrômetro de Massa de Razões Isotópicas (IRMS) Delta V, acoplado ao analisador elementar Flash 2000 (Thermo Scientific, *Germany*). As cápsulas de estanho contendo as amostras preparadas anteriormente foram inseridas no equipamento, onde passaram por um processo de queima, resultando no valor de $\delta^{13}\text{C}$ a partir da diferença relativa entre a assinatura isotópica de carbono da amostra e a assinatura isotópica de carbono do padrão internacional Vienna Pee Dee Belemnite (VPDB), conforme apresentado na equação 1. A incerteza analítica estimada associada aos valores apresentados pelo IRMS é de $\pm 0,10\%$ para $\delta^{13}\text{C}$. Os resultados foram normalizados a partir do padrão USGS90 ($\delta^{13}\text{C} = -13,75 \pm 0,06\%$) e USGS91 ($\delta^{13}\text{C} = -28,28 \pm 0,08\%$). A partir da análise em duplicata, foi feito a média dos dois valores de $\delta^{13}\text{C}$ obtidos de cada amostra para a determinação do valor final.

$$\delta^{13}\text{C}(\text{‰}) = \frac{R(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{Amostra}}}{R(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{Padrão}}} - 1 \quad (1)$$

3.1.4 Análise estatística

Para a avaliação dos resultados encontrados, foram calculadas a média e o desvio-padrão dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ referentes aos açúcares, vinagres e álcoois. Também foi determinada a amplitude para cada tipo de amostra, definida pela diferença entre os valores máximo e mínimo obtidos. Para comparar os diferentes tipos de açúcar, fermentados acéticos e álcoois analisados, foi elaborado um gráfico do tipo *violin plot*, que permite visualizar a distribuição e a dispersão dos dados de forma mais detalhada. Além disso, aplicou-se o teste de Shapiro–Wilk aos conjuntos de dados para verificar a normalidade dos valores, juntamente com o teste de Kruskal–Wallis, utilizado para avaliar a existência de diferenças estatísticas entre os grupos, e o pós-teste de Dunn com correção de Bonferroni, empregado para comparar especificamente os grupos entre si nas análises múltiplas.

3.2. Etapa 2

3.2.1 Amostras analisadas

Na análise dos açúcares, foram utilizadas 53 amostras de açúcar de cana provenientes da primeira etapa do estudo, abrangendo os tipos demerara, mascavo, refinado e cristal. Na análise dos álcoois, foram selecionadas 20 amostras possuindo em sua composição álcool proveniente de cana-de-açúcar, incluindo sanitizantes e etanol de postos de combustível, também já analisados na etapa prévia, além de misturas preparadas em laboratório com água bidestilada ($\text{H}_2\text{O}_{\text{dd}}$) e etanol P.A., nas concentrações alcoólicas de 23,6%, 49,2%, 74,1% e 99,5% (concentração do etanol P.A.) v/v, além de uma amostra de somente água, todas para controle experimental.

3.2.2 Preparação das amostras

As concentrações apresentadas (23,6%, 49,2% e 74,1% v/v), se devem ao fato de que as misturas foram inicialmente preparadas por meio de uma micropipeta de precisão com volumes calculados buscando obter as concentrações de 25%, 50% e 75 % v/v. Em seguida as amostras foram pesadas e, a partir das massas medidas de água e etanol, foi determinada a densidade das misturas e recalculada a concentração v/v, sendo essas concentrações obtidas as de maior precisão experimental, e assim utilizadas na análise. Essa diferença entre os valores calculados por volume e os valores finais deve-se principalmente à evaporação parcial do etanol durante a manipulação e à retenção de líquido no interior da ponteira da pipeta, que reduz o volume efetivamente transferido. Foi também testado o preparo por seringa de

precisão, porém, esse método apresentou maior variabilidade (erro mecânico superior) e, portanto, resultados menos reprodutíveis.

As amostras de álcool foram armazenadas em frascos de borossilicato e analisadas diretamente. Já as amostras de açúcar foram submetidas a moagem criogênica em um moinho criogênico com nitrogênio líquido (Spex CertiPrep 6750 Freezer/Mill), no qual permaneceram sob agitação por 6 minutos a $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$, para a obtenção de partículas finas e homogêneas. Após a moagem, foram selecionados aproximadamente 300 μg de cada, a partir do uso de uma balança analítica (resolução de 1 μg , XP6, Mettler Toledo, *Switzerland*), que foram acondicionados em cápsulas de prata (5,0 mm x 3,5 mm).

3.2.3 Análise isotópica

Para a análise das razões isotópicas de oxigênio e hidrogênio, utilizou-se o Espectrômetro de Massa de Razões Isotópicas (IRMS) DELTA V acoplado ao analisador elementar EA-Flash HT (Thermo Scientific, *Germany*). As amostras de açúcar, previamente acondicionadas em cápsulas de prata, foram inseridas no IRMS, enquanto as amostras de líquidas foram analisadas em frascos de 2 ml com septo em amostrador líquido (AS3000, Thermo Scientific, *Germany*). O processamento dos dados foi realizado no software ISODAT (Thermo Scientific, *Germany*), e os valores de $R(^2\text{H}/\text{H})$ e $R(^{18}\text{O}/^{16}\text{O})$ foram expressos em notação delta (δ), com base na diferença relativa entre a assinatura isotópica da amostra e o padrão internacional Vienna Standard Mean Ocean Water (VSMOW), conforme apresentado nas Equações 2 e 3.).

$$\delta^2\text{H}(\text{‰}) = \frac{R(^2\text{H}/\text{H})_{\text{Amostra}}}{R(^2\text{H}/\text{H})_{\text{Padrão}}} - 1 \quad (2)$$

$$\delta^{18}\text{O}(\text{‰}) = \frac{R(^{18}\text{O}/^{16}\text{O})_{\text{Amostra}}}{R(^{18}\text{O}/^{16}\text{O})_{\text{Amostra}}} - 1 \quad (3)$$

3.2.4 Análise estatística

A análise dos dados encontrados consistiu no cálculo das médias dos valores de $\delta^2\text{H}$ e $\delta^{18}\text{O}$ obtidos para as amostras de açúcares e álcoois de cana, bem como na determinação dos respectivos desvios-padrão.

4. Resultados e Discussões

Etapa 1:

Por meio da utilização do IRMS, foi possível caracterizar e analisar a variação da assinatura isotópica de carbono das amostras dos coprodutos da cana-de-açúcar. Na tabela 1 é possível observar a média, o desvio padrão e a amplitude dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ obtidos.

Tabela 1 - Resultados dos valores isotópicos em delta (‰) das amostras analisadas.

Amostra	N	Média $\delta^{13}\text{C}$	Desvio Padrão	Máximo	Mínimo
Açúcar	56	-12,29	0,28	-11,39	-12,96
Fermentado Acético	14	-13,48	0,57	-12,45	-14,49
Álcool	15	-13,19	0,32	-12,5	-13,74

Com base nos dados apresentados na tabela, verifica-se que os açúcares exibiram a maior média dos valores de $\delta^{13}\text{C}$, assim como o menor desvio-padrão. Em contraste, as amostras de fermentado acético apresentaram a menor média e o maior desvio-padrão. Observou-se ainda que os fermentados acéticos apresentaram a maior amplitude de valores (2,04‰), enquanto os álcoois apresentaram a menor (1,24‰). O menor valor absoluto de $\delta^{13}\text{C}$ foi identificado nos fermentados acéticos, enquanto o maior foi registrado nos açúcares. Considerando todas as amostras de subprodutos da cana-de-açúcar analisadas, os valores de $\delta^{13}\text{C}$ variaram de -11,39‰ a -14,49‰, resultando em uma amplitude total de 3,1‰. A média geral de $\delta^{13}\text{C}$ entre todas as amostras foi de -12,64‰. Dessa forma, foi possível observar uma diferença de aproximadamente 1‰ no fracionamento de ^{13}C do açúcar para o álcool, tanto com relação à média dos valores obtidos, quanto entre os valores máximos e mínimos. Em relação aos álcoois e aos fermentados acéticos, não foram observadas diferenças significativas no fracionamento de $\delta^{13}\text{C}$. A única variação relevante ocorreu no valor mínimo encontrado, sugerindo possíveis contaminações nas amostras comerciais de fermentados acéticos de álcool.

Na Figura 1, apresenta-se a dispersão dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ das amostras de açúcar analisadas, organizadas conforme o tipo. A Figura 2 mostra a dispersão dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ para as amostras de fermentados acéticos, enquanto a Figura 3 exibe a dispersão correspondente às amostras de álcool. Mesmo com uma maior amostragem, os valores de $\delta^{13}\text{C}$ dos açúcares apresentaram grande agrupamento na região de -12‰ a -12,5‰, enquanto os vinagres de álcool e os álcoois apresentaram agrupamento na região de -13‰ a -14‰.

Com relação aos 3 subprodutos, os resultados mais dispersos apresentaram uma divergência máxima de 0,5‰ da zona de agrupamento.

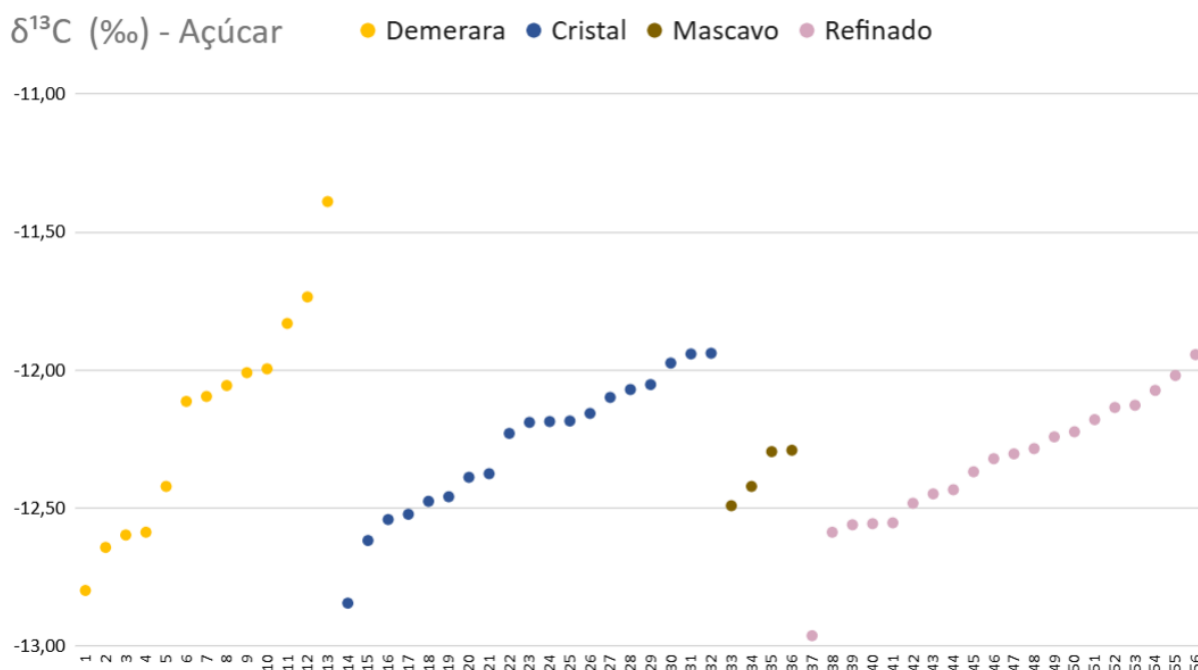


Figura 1: Dispersão dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ obtidos na análise das amostras de açúcar.

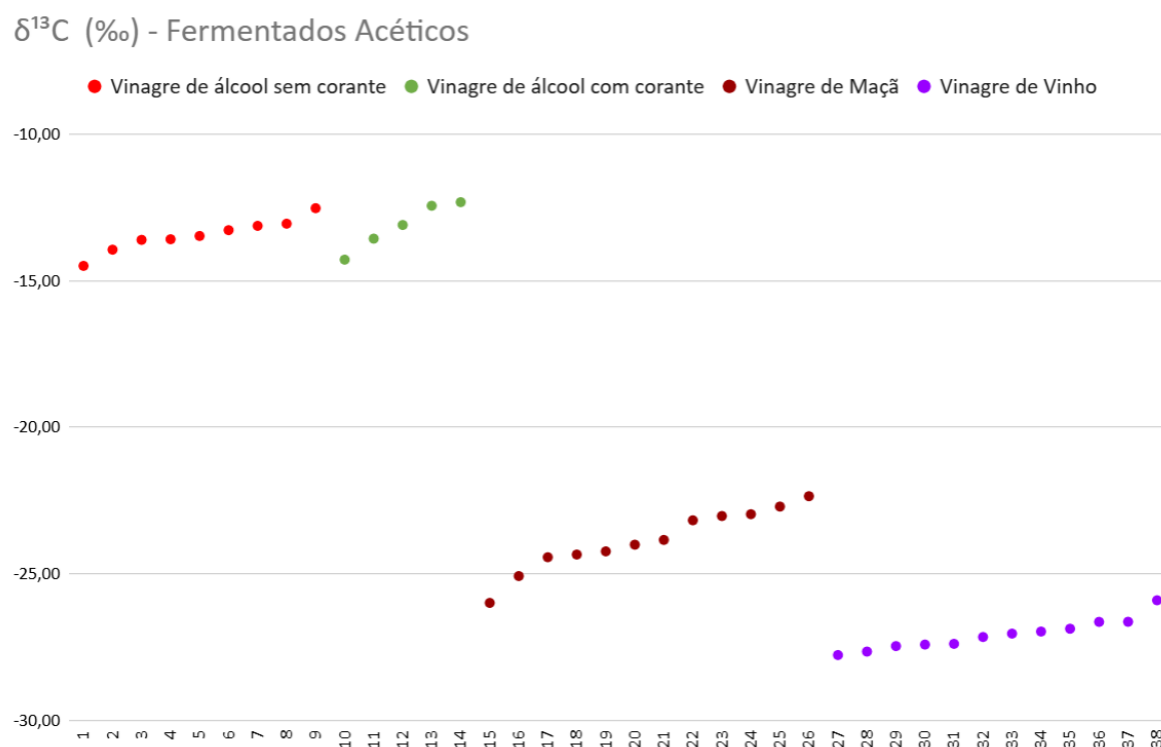


Figura 2: Dispersão dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ obtidos na análise das amostras de fermentados acéticos.

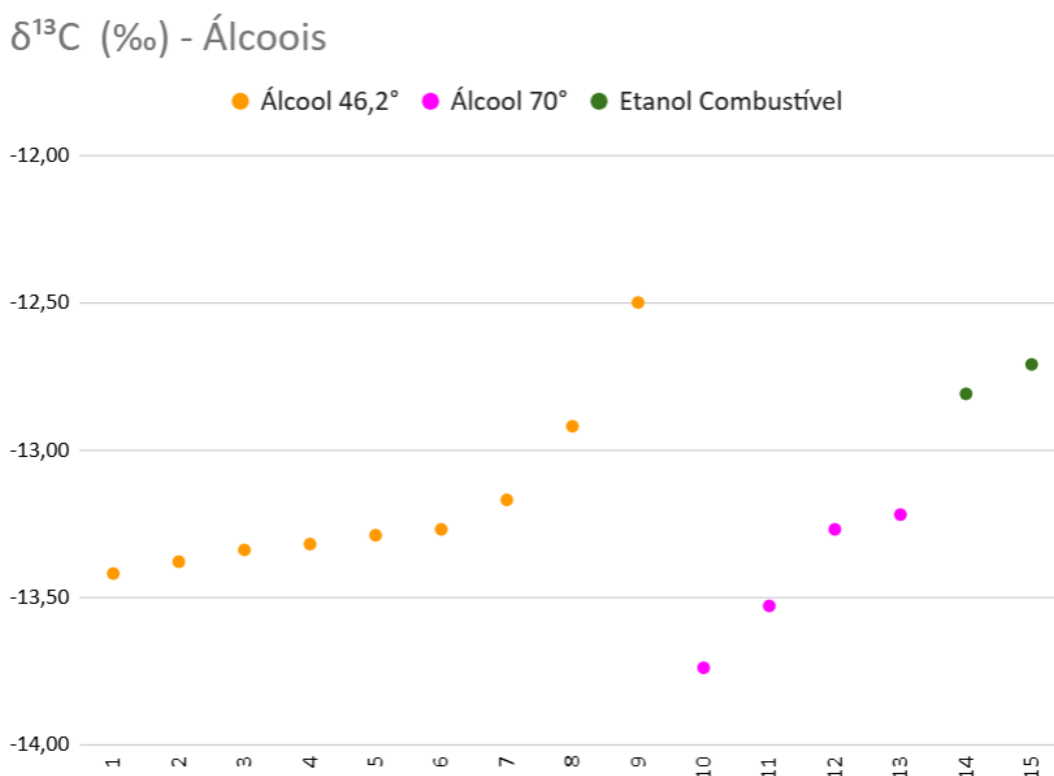


Figura 3: Dispersão dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ obtidos na análise das amostras de álcool de cana-de-açúcar.

A Figura 4 apresenta a distribuição dos valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ de acordo com os diferentes tipos de açúcar analisados. A análise dos dados evidencia que o processo de refinamento apresenta influência nos valores da assinatura isotópica de carbono dos açúcares. O açúcar mascavo, que não passa por processos de refinamento, apresentou a menor amplitude entre os tipos analisados, com valores de $\delta^{13}\text{C}$ bem definidos. O açúcar demerara, que é submetido a um refinamento leve e sem aditivos químicos, apresentou a maior amplitude, principalmente quando comparado aos outros tipos, além de apresentar valores mais elevado de $\delta^{13}\text{C}$. Os açúcares dos tipos cristal e refinado, que passam por uma refinação mais intensa e com a utilização de aditivos químicos, apresentaram amplitudes intermediárias, sendo que o açúcar cristal registrou o menor valor de $\delta^{13}\text{C}$ entre as amostras de açúcar analisadas. A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk, não sendo observada violação dessa suposição para os açúcares demerara ($W = 0,95$; $p = 0,66$), cristal ($W = 0,96$; $p = 0,65$), mascavo ($W = 0,87$; $p = 0,29$) e refinado ($W = 0,95$; $p = 0,45$). Os valores de $\delta^{13}\text{C}$ dos diferentes tipos de açúcar (demerara, cristal, mascavo e refinado) foram comparados por meio do teste de Kruskal-Wallis, não sendo observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($H = 1,60$; $p = 0,66$). Além disso, o pós-teste de

Dunn com correção de Bonferroni não indicou diferenças estatisticamente significativas entre nenhum dos pares de açúcares analisados ($p > 0,05$), confirmando a homogeneidade isotópica entre os tipos demerara, cristal, mascavo e refinado. Dessa forma, estatisticamente, as pequenas variações observadas são apenas variações naturais advindas dos diferentes processamentos que cada açúcar é submetido, possuindo a mesma população isotópica de $\delta^{13}\text{C}$.

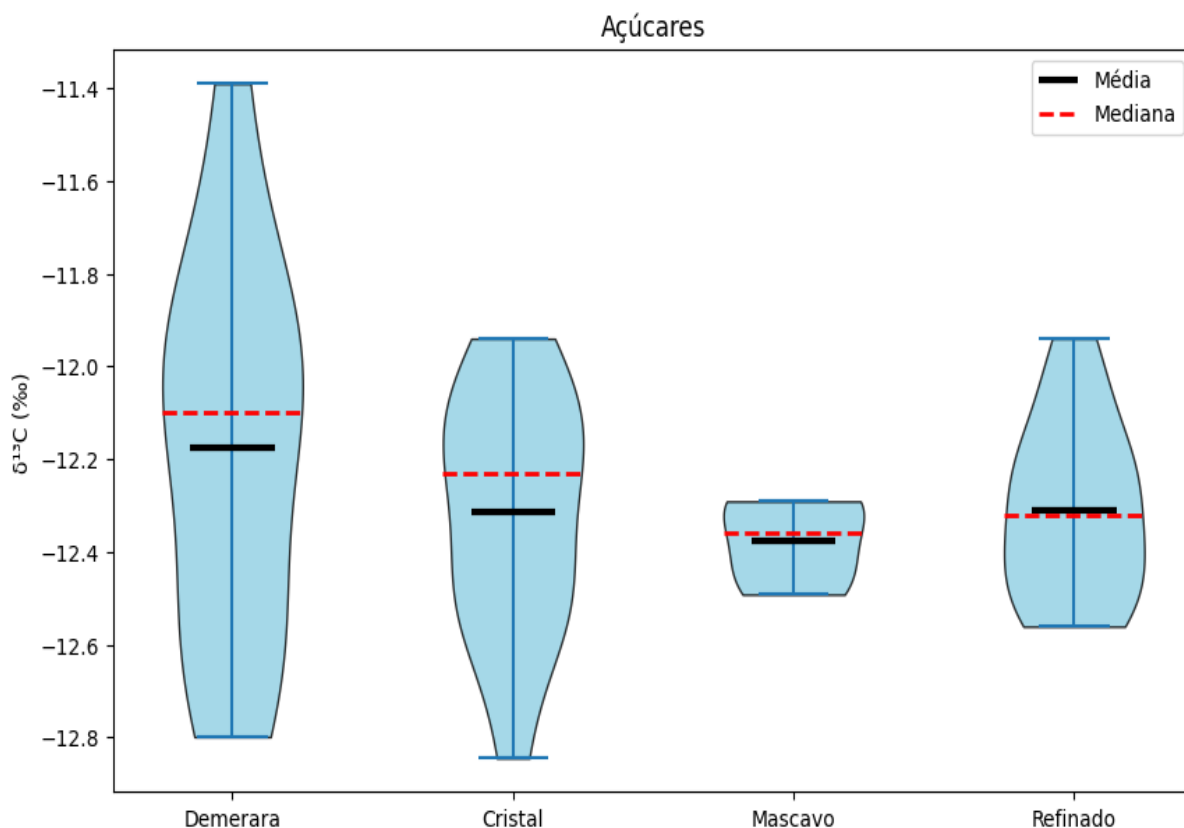


Figura 4: Distribuição dos valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ das amostras de açúcar, separados por tipo.

A Figura 5 apresenta a distribuição dos valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ para as amostras de álcool de cana-de-açúcar analisadas. Os dados referentes ao álcool 46,2% ($W = 0,84$; $p = 0,061$) e ao álcool 70% ($W = 0,92$; $p = 0,51$) não apresentaram violação da suposição de normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk. O etanol combustível não pôde ser avaliado quanto à normalidade devido ao tamanho amostral reduzido ($n = 2$). A partir da avaliação pelo teste de Kruskal-Wallis, as amostras de álcool de forma geral não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($H = 4,30$; $p = 0,12$). Por meio do pós-teste de Dunn com correção de Bonferroni, não se obteve diferenças estatisticamente significativas

entre os pares analisados para os álcoois 46,2%, 70% e etanol combustível ($p > 0,05$), confirmando a homogeneidade isotópica entre os grupos.

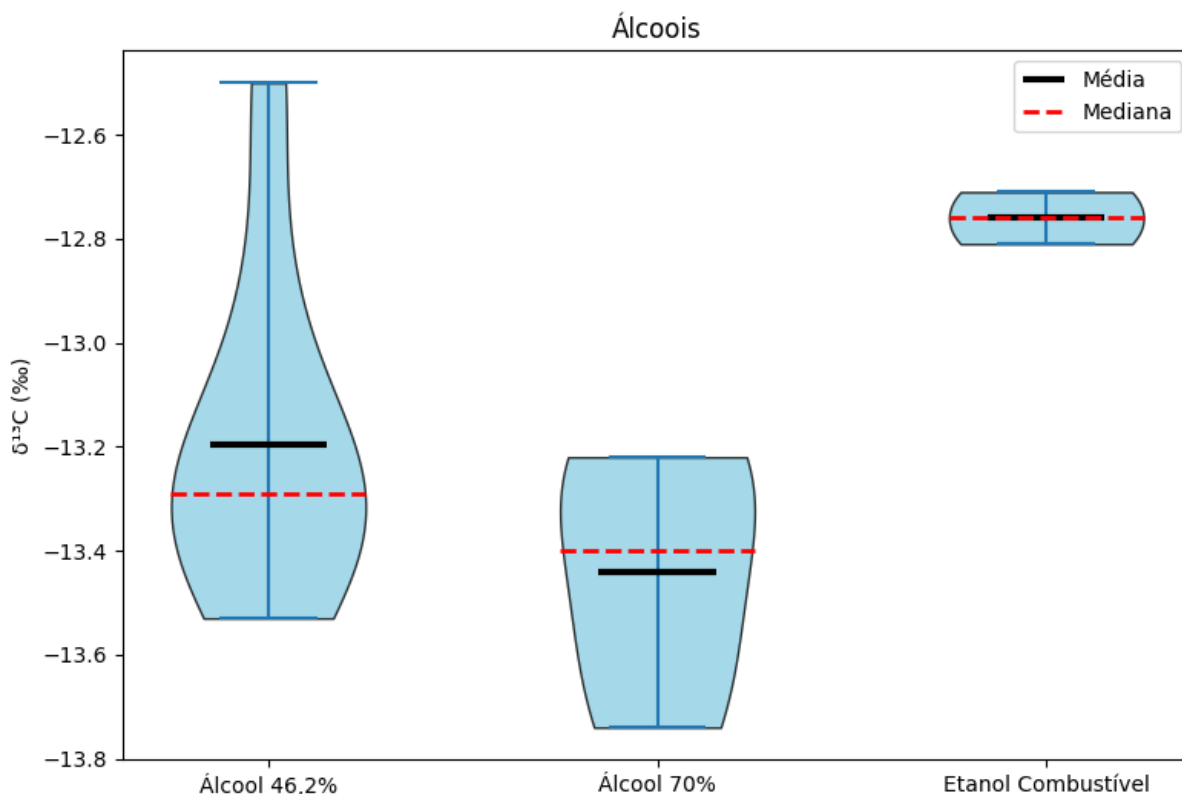


Figura 5: Distribuição dos valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ das amostras de álcool de cana-de-açúcar analisadas.

A Figura 6 apresenta a distribuição dos valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ dos fermentados acéticos de álcool. Para fins comparativos, também estão presentes na figura o resultado da análise dos vinagres de vinho e dos fermentados acéticos de maçã, que são derivados de plantas C3. Observa-se uma clara distinção entre os valores encontrados para o fermentado acético produzido a partir da cana-de-açúcar, uma planta C4, e os provenientes de plantas C3. Além disso, pode-se observar uma diferença significativa nos valores de $\delta^{13}\text{C}$ encontrados para vinagres de vinho e fermentados acéticos de maçã: os vinagres de vinho apresentaram valores na faixa de -22‰ a -26‰, enquanto os fermentados acéticos de maçã estão situados entre -26‰ a -28‰. A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk. Os resultados indicaram que não houve violação da suposição de normalidade para os fermentados acéticos de álcool ($W = 0,97$; $p = 0,85$), vinho ($W = 0,96$; $p = 0,78$) e maçã ($W = 0,94$; $p = 0,52$). Os valores de $\delta^{13}\text{C}$ dos fermentados acéticos de álcool, vinho e maçã foram comparados pelo teste de Kruskal-Wallis, sendo observada diferença estatisticamente

altamente significativa entre os grupos ($H = 32,50$; $p = 8,77 \times 10^{-8}$). O pós-teste de Dunn com correção de Bonferroni indicou diferença estatisticamente significativa entre todos os pares de vinagres analisados, incluindo álcool/vinho ($p = 0,0048$), álcool/maçã ($p = 4,91 \times 10^{-8}$) e vinho/maçã ($p = 0,0439$). Dessa forma, confirma-se estatisticamente que cada tipo de vinagre pertence a uma população isotópica distinta de $\delta^{13}\text{C}$.

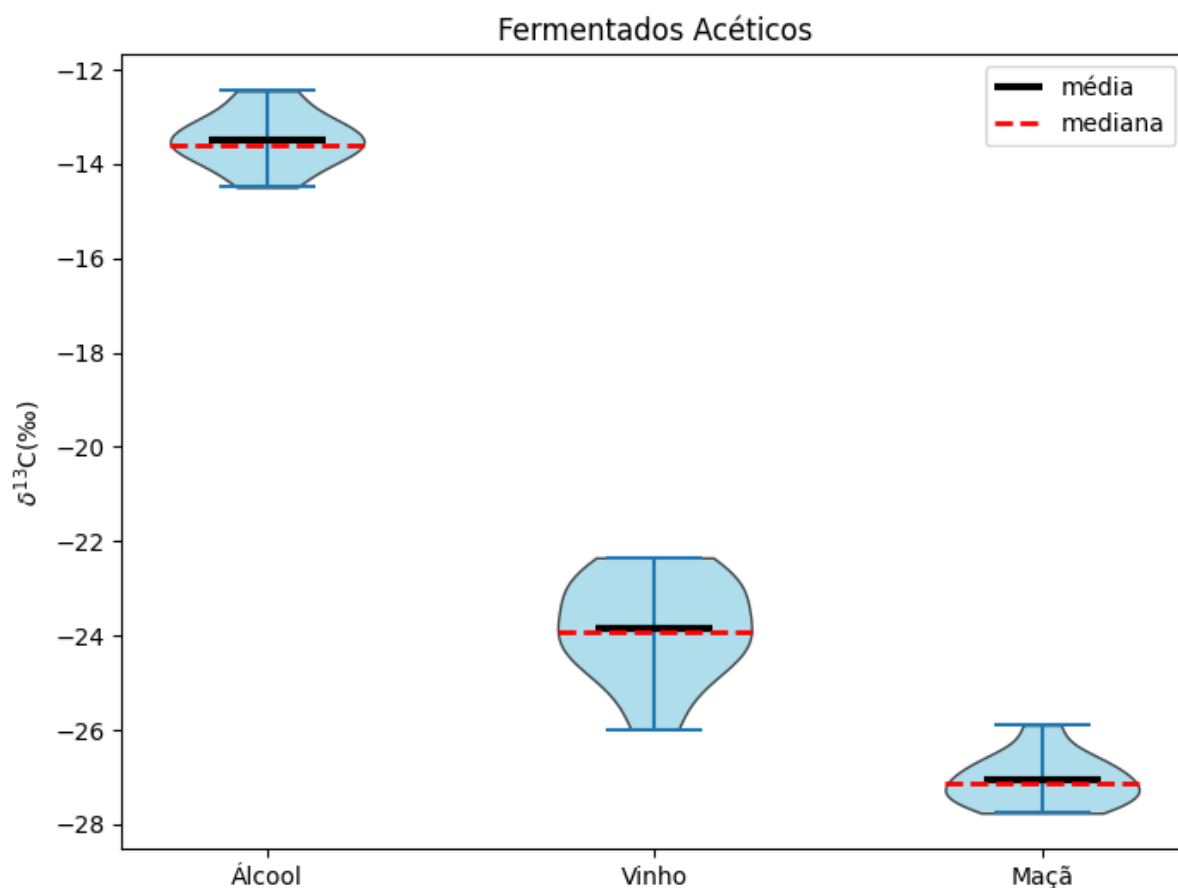


Figura 6: Distribuição dos valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ das amostras de vinagre de álcool, de vinho e de maçã.

Os valores de $\delta^{13}\text{C}$ obtidos para os subprodutos da cana-de-açúcar se mostraram compatíveis com os valores encontrados na literatura, que descreve uma faixa típica de -8‰ a -16‰ para plantas C4. Dessa forma, pode-se afirmar que a assinatura isotópica de carbono característica de plantas C4 é preservada por seus coprodutos. Além disso, a análise dos vinagres demonstrou que a diferenciação de coprodutos de plantas C3 e C4 por meio da análise da assinatura isotópica de $\delta^{13}\text{C}$ é uma metodologia eficaz.

Etapa 2:

A partir da IRMS, foi realizado a caracterização isotópica e a análise $\delta^2\text{H}$ e $\delta^{18}\text{O}$ das amostras de açúcar e de álcool. A tabela 2 apresenta a média dos valores obtidos e o desvio padrão, assim como o número total de amostras de açúcar de cana-de-açúcar analisadas.

Tabela 2 - Valores médios e desvios padrões de $\delta^2\text{H}$ e $\delta^{18}\text{O}$ em ‰ encontrados na análise das amostras de açúcar.

Amostra	n	$\delta^2\text{H}$ (‰)	$\delta^{18}\text{O}$ (‰)
Açúcar Demerara	11	$-1,06 \pm 12,99$	$35,81 \pm 1,93$
Açúcar Cristal	19	$-2,88 \pm 6,59$	$36,08 \pm 1,25$
Açúcar Mascavo	4	$-4,97 \pm 11,25$	$36,12 \pm 1,63$
Açúcar Refinado	19	$-8,25 \pm 9,37$	$36,60 \pm 1,48$
Geral	53	$-5,13 \pm 9,60$	$36,40 \pm 1,48$

Com base nos dados presentes na tabela 2, observa-se que a caracterização da razão isotópica de ^2H não apresentou resultados satisfatórios, pois a análise estatística revelou alto desvio-padrão, tanto para as amostras em sua totalidade quando na separação por tipo, demonstrando a ausência de um padrão comportamental nos valores. A caracterização da razão isotópica de ^{18}O , entretanto, revelou um padrão de comportamento nas amostras analisadas, com os açúcares em sua totalidade apresentando valor médio de $\delta^{18}\text{O}$ de 36,40‰, apresentando baixa variabilidade estatística, a partir do desvio padrão encontrado de 1,48. O mesmo comportamento foi observado analisando os tipos de açúcar.

A Figuras 7 e 8 apresentam a dispersão dos valores de $\delta^2\text{H}$ e $\delta^{18}\text{O}$, respectivamente. Na Figura 7, observa-se a ampla variabilidade dos resultados para $\delta^2\text{H}$, como indicado na tabela 2, com valor máximo de 24,2‰ e mínimo de -23,4‰, com uma amplitude de 47,6‰. Por outro lado, a Figura 8 evidencia como a caracterização dos valores de $\delta^{18}\text{O}$ apresentou um comportamento mais uniforme entre as amostras, variando na faixa de 40,15‰ a 33,02‰, com amplitude de 7,13‰.

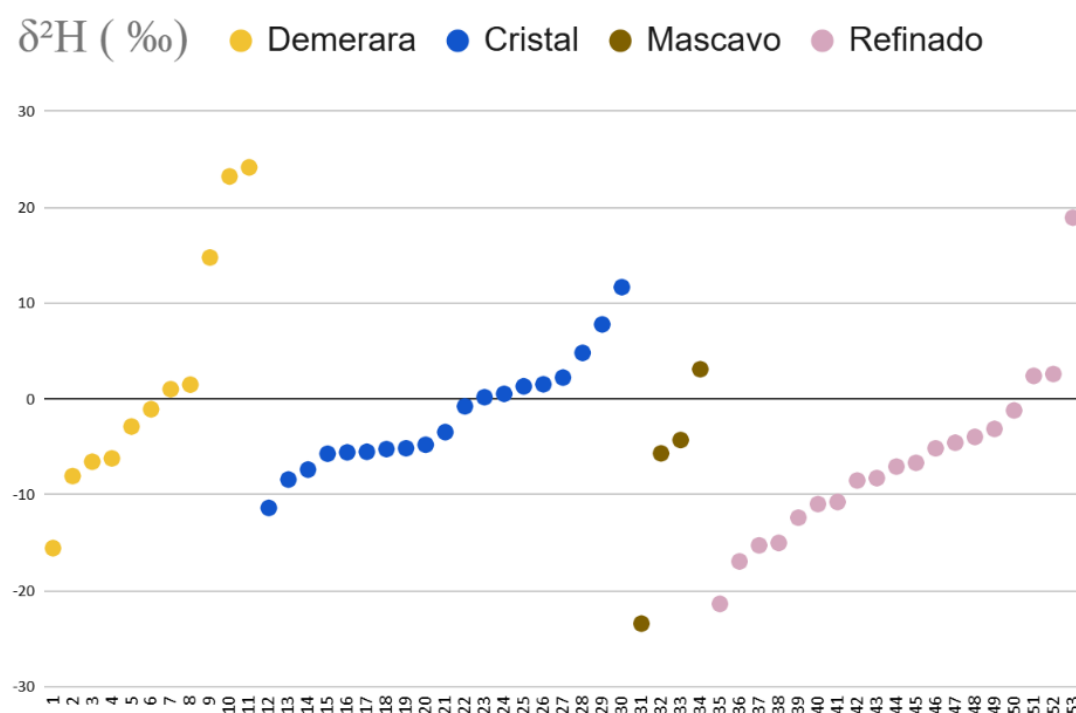


Figura 7: Dispersão dos valores de $\delta^2\text{H}$ obtidos para as amostras de açúcar.

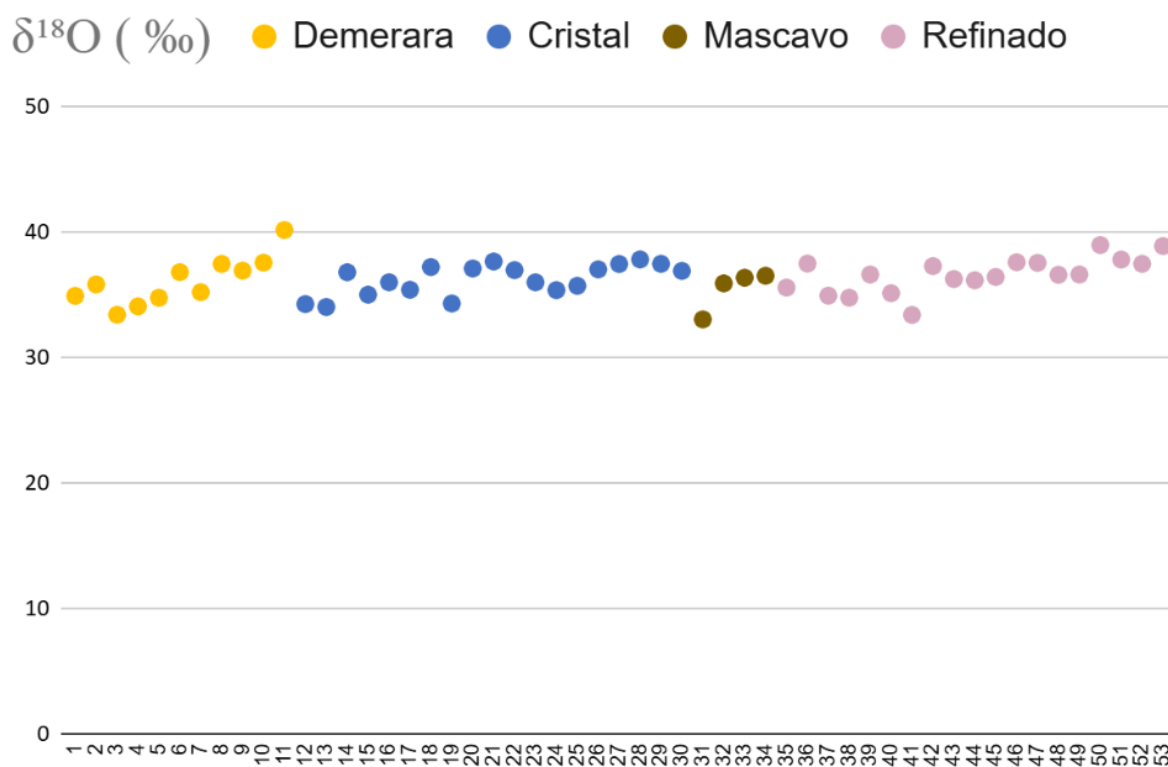


Figura 8: Dispersão dos valores de $\delta^{18}\text{O}$ obtidos para as amostras de açúcar.

A Tabela 3 apresenta as médias dos valores obtidos, juntamente com os respectivos desvios-padrão e do número de amostras referentes ao álcool comercial de cana-de-açúcar. A Tabela 4 reúne os mesmos parâmetros para as misturas preparadas em laboratório, utilizadas como controle.

Tabela 3 - Valores de $\delta^2\text{H}$ e $\delta^{18}\text{O}$ em ‰ encontrados na análise das amostras comerciais de álcool de cana-de-açúcar.

Amostra	n	$\delta^2\text{H}$ (‰)	$\delta^{18}\text{O}$ (‰)
Combustível (95%)	2	$-207,13 \pm 11,73$	$11,52 \pm 0,15$
Álcool 70% (Comercial)	4	$-166,25 \pm 8,13$	$4,85 \pm 0,59$
Álcool 46,2% (Comercial)	9	$-139,17 \pm 5,55$	$-1,74 \pm 0,93$

Tabela 4 - Valores de $\delta^2\text{H}$ e $\delta^{18}\text{O}$ em ‰ encontrados na análise das misturas preparadas com álcool etílico P.A. de cana-de-açúcar e água bidestilada.

Amostra	n	$\delta^2\text{H}$ (‰)	$\delta^{18}\text{O}$ (‰)
Álcool 99,5% (P.A.)	1	-214,59	20,51
Álcool 74,1% (Mistura)	1	-167,03	9,32
Álcool 49,2% (Mistura)	1	-119,10	1,96
Álcool 23,6% (Mistura)	1	-78,00	-2,27
0% Álcool (H_2O)	1	-35,54	-4,97

A análise dos dados apresentados nas tabelas 3 e 4 mostrou que a caracterização isotópica revelou uma relação consistente entre as razões isotópicas de $\delta^2\text{H}$ e $\delta^{18}\text{O}$ e o teor alcoólico das amostras. Para $\delta^2\text{H}$, verificou-se que os valores tornam-se mais positivos à medida que o percentual alcoólico da amostra diminui, de forma linear, comportamento evidenciado no gráfico presente na Figura 9. Em contraste, para $\delta^{18}\text{O}$ observou-se o comportamento inverso, onde os valores se tornam mais positivos com o aumento do teor alcoólico da amostra, de forma não linear, conforme ilustrado na Figura 10. A linearidade observada nos valores de $\delta^2\text{H}$ pode ser explicada pelo percentual de hidrogênio na composição elementar das amostras, que corresponde a 11,11% da massa na água e 13,13% no etanol. Em contraste, a ausência de linearidade nos valores de $\delta^{18}\text{O}$ decorre das diferenças no teor de oxigênio, que representa 88,98% da massa na água, mas apenas 34,78% no etanol.

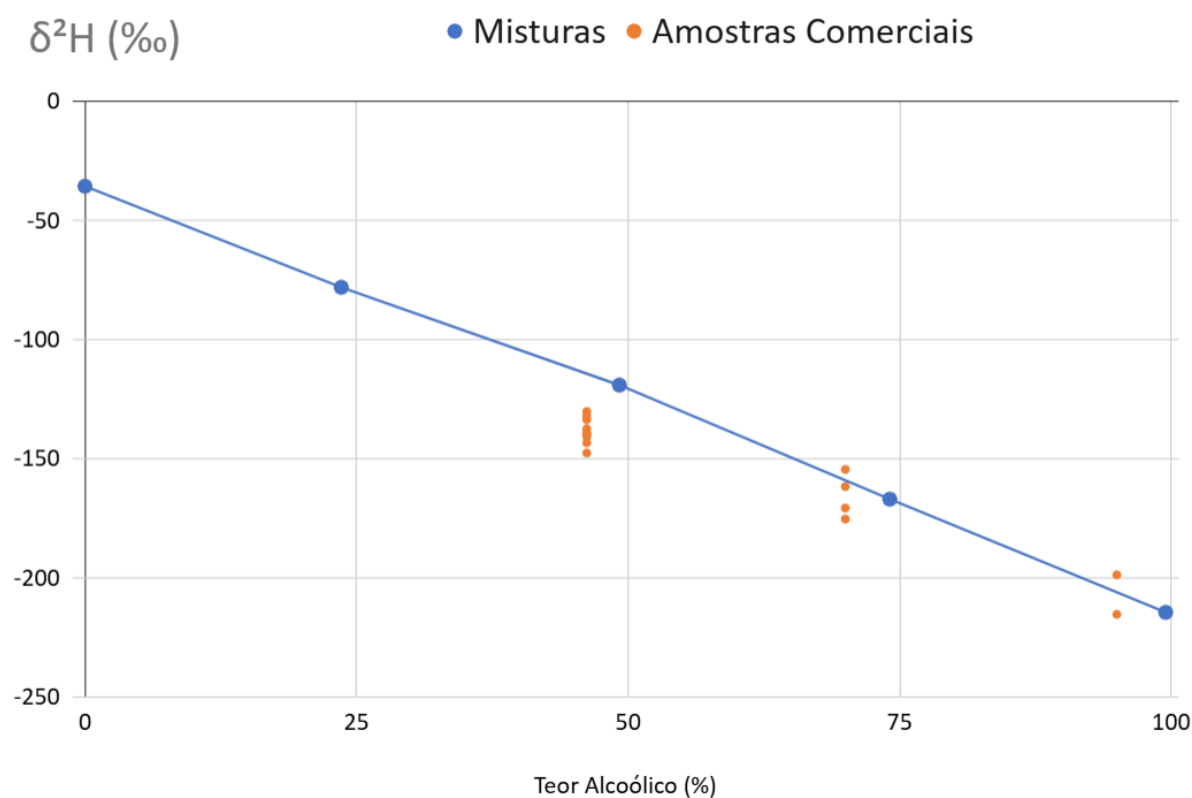


Figura 9: Valores de $\delta^2\text{H}$ para as amostras de álcool de cana-de-açúcar em relação ao teor alcoólico da amostra.

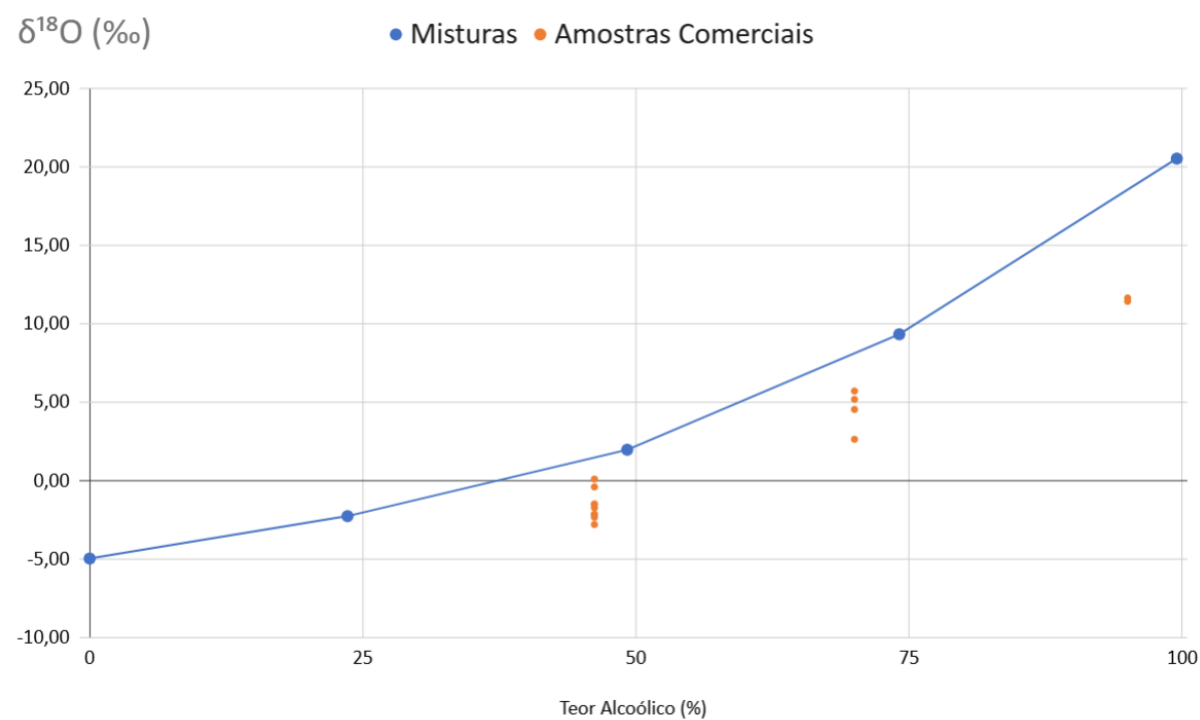


Figura 10: Valores de $\delta^{18}\text{O}$ para as amostras de álcool de cana-de-açúcar em relação ao teor alcoólico da amostra.

5. Conclusão

Os resultados obtidos no presente trabalho demonstraram que a análise da variação isotópica de $\delta^{13}\text{C}$ em coprodutos da cana-de-açúcar permite estabelecer relações consistentes entre a assinatura isotópica original da planta C4 e seus derivados. Além disso, observou-se que os valores de $\delta^{13}\text{C}$ diferenciam de forma clara amostras provenientes de plantas C3 e C4, reforçando o potencial da análise isotópica como ferramenta em análises de autenticidade.

No que se refere à caracterização das razões isotópicas de $\delta^2\text{H}$ e $\delta^{18}\text{O}$, os açúcares comerciais apresentaram comportamentos distintos para cada isótopo. Os valores de $\delta^2\text{H}$ exibiram elevada variabilidade, impedindo a definição de um padrão entre os diferentes tipos analisados, enquanto os valores de $\delta^{18}\text{O}$ mostraram baixa dispersão e comportamento consistente, evidenciando sua aplicabilidade em processos de controle de qualidade e verificação de autenticidade. Para as amostras de álcool hidratado de cana-de-açúcar, observou-se uma correspondência entre as razões isotópicas e o teor alcoólico, com $\delta^2\text{H}$ tornando-se mais positivo conforme o percentual alcoólico diminui e $\delta^{18}\text{O}$ apresentando valores mais positivos com o aumento do teor alcoólico.

De forma geral, os resultados encontrados indicam que a caracterização isotópica apresenta potencial significativo para a detecção de adulterações, rastreabilidade e garantia de autenticidade em coprodutos da cana-de-açúcar. A análise de $\delta^{13}\text{C}$ mostra-se eficaz para diferenciar origens botânicas, a caracterização de $\delta^{18}\text{O}$ destaca-se como indicador confiável para açúcares comerciais, e a combinação dos valores de $\delta^2\text{H}$ e $\delta^{18}\text{O}$ pode ser explorada na avaliação de etanóis e bebidas derivadas.

6. Referências bibliográficas

- [1] EMBRAPA. Açúcar. 2022. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/cana/pos-producao/acucar>. Acesso em: 24 de out. 2025.
- [2] CONAB. Cana-de-açúcar tem produção estimada em 663,4 milhões de toneladas na safra 2025/26. 2025. Disponível em: <https://www.gov.br/conab/pt-br/assuntos/noticias/cana-de-acucar-tem-producao-estimada-em-663-4-milhoes-de-toneladas-na-safra-2025-26>. Acesso em: 30 de out. 2025.
- [3] COPERSUCAR. As aplicações comerciais dos diferentes tipos de açúcar. 2021. Disponível em: <https://www.copersucar.com.br/as-aplicacoes-comerciais-dos-diferentes-tipos-de-acucar/>. Acesso em: 10 de set. 2025.

- [4] CAMPAGNOL, G.; ANDRADE, C. R. M.; Usinas de açúcar: habitação e patrimônio industrial. Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008.
- [5] BRASIL. Ministério da Agricultura e Pecuária. Mapa faz ação de combate à fraude em vinagres de maçã em três estados. 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/mapa-faz-acao-de-combate-a-fraude-em-vinagres-de-maca-em-tres-estados>. Acesso em: 13 de set. 2025.
- [6] MÉDECINS SANS FRONTIÈRES. Methanol Poisoning. 2025. Disponível em: <https://methanolpoisoning.msf.org/en>. Acesso em: 27 de set. 2025.
- [7] GÜNTNER, Andreas T.; MAGRO, Leandro; VAN DEN BROEK, Jan; PRATSINIS, Sotiris E. Detecting methanol in hand sanitizers. *iScience*, v. 24, n. 2, p. 102050, 12 jan. 2021.
- [8] CHIEN, H. et al. Determination of adulteration, geographical origins, and species of food by mass spectrometry. *Mass Spectrometry Reviews*, v. 42, n. 6, p. 2273–2323, nov. 2023.
- [9] SAADAT, S. et al. Food forensics: Techniques for authenticity determination of food products. *Forensic Science International*, v. 333, p. 111243, abr. 2022.
- [10] SUZUKI, Y. Achieving Food Authenticity and Traceability Using an Analytical Method Focusing on Stable Isotope Analysis. *Analytical Sciences*, v. 37, n. 1, p. 189–199, 10 jan. 2021.
- [11] WEIGT, M et al; EA-IRMS: Testing sugar package label claims using carbon isotope fingerprints; ThermoFisher Scientific, 2017.
- [12] BEHKAMI, S. et al. Precipitation isotopic information: A tool for building the data base to verify milk geographical origin traceability. *Food Control*, v. 107, n. December 2018, p. 106780, jan. 2020.
- [13] JIMÉNEZ-MORILLO, N. T. et al. Combination of Stable Isotope Analysis and Chemometrics to Discriminate Geoclimatically and Temporally the Virgin Olive Oils from Three Mediterranean Countries. *Foods*, v. 9, n. 12, p. 1855, 12 dez. 2020.
- [14] WU, H. et al. Origin verification of French red wines using isotope and elemental analyses coupled with chemometrics. *Food Chemistry*, v. 339, n. April 2020, p. 127760, mar. 2021.
- [15] GORI, Y. et al. Oxygen and Hydrogen Stable Isotope Ratios of Bulk Needles Reveal the Geographic Origin of Norway Spruce in the European Alps. *PLOS ONE*, v. 10, n.3, p. e0118941, 5 mar. 2015.

[16] BOUTTON, T. W; Razões estáveis de isótopos de carbono da matéria orgânica e seu uso como indicadores de vegetação e mudanças climáticas; Espectrometria de Massa de Solos, 1996.