

Artigo Técnico

2,4,6-Tricloroanisol como Desafio à Qualidade de Vinhos: Cork Taint, Detecção e Controle

2,4,6-Trichloroanisole as a Quality Challenge in Wines: Cork Taint, Detection and Control

Lydia Fumiko Yamaguchi^a, Hiléia dos Santos Barroso^b, Amanda Marcante^c, Jamille Moreira Moraes^c, Ana Carolina de Souza Canario^c, Sandra Souza de Oliveira^c, Helena Correa de Araújo Gomes^{c*}

^a Núcleo de Tecnologias Avançadas em Bem-Estar e Saúde (NUTABES), Fundação de Apoio ao IPT, São Paulo-SP, Brasil.

^b Laboratório de Biotecnologia Industrial (LBI), Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo S.A., São Paulo-SP, Brasil.

^c Núcleo de Tecnologias Avançadas em Bem-Estar e Saúde (NUTABES), Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo S.A., São Paulo-SP, Brasil.

Palavras-chave: vinho; controle de qualidade; contaminação; haloanisóis.

Keywords: wine; quality control; contamination; haloanisoles.

* e-mail: helenagomes@ipt.br

Resumo

O mercado mundial de vinhos, após um período de retração entre 2020 e 2021 em decorrência da pandemia de COVID-19, apresentou retomada do crescimento a partir de 2023, com aumentos significativos no consumo global. Nesse contexto de recuperação e expansão, o controle da qualidade tornou-se ainda mais relevante para a sustentabilidade e competitividade do setor vitivinícola. Entre os principais desafios associados à qualidade do vinho destaca-se a presença de haloanisóis, em especial o 2,4,6-tricloroanisol (TCA), composto responsável por aromas e sabores indesejáveis descritos como mofo. Estima-se que a contaminação por TCA seja responsável pela condenação de aproximadamente 4% da produção mundial de vinhos, resultando em expressivas perdas econômicas e prejuízos à imagem dos produtores. Diante desse cenário, o presente artigo tem como objetivo discutir os principais aspectos relacionados aos haloanisóis em vinhos, abordando sua origem, a sensibilidade do sistema olfativo humano, os métodos de extração e análise, bem como as estratégias de prevenção e remediação da presença desses compostos em vinhos e rolhas de cortiça.

Abstract

The global wine market, after experiencing a period of contraction between 2020 and 2021 due to the COVID-19 pandemic, resumed growth in 2023, with substantial increases in worldwide consumption. In this context of recovery and expansion, quality control has become increasingly important for the sustainability and competitiveness of the wine industry. Among the main challenges related to wine quality is the presence of haloanisoles, particularly 2,4,6-trichloroanisole (TCA), a compound responsible for undesirable musty and cork taint aromas and flavors. It is estimated that TCA contamination leads to the rejection of approximately 4% of the global wine production, resulting in significant economic losses and damage to producers reputations. Therefore, this article aims to discuss key aspects related to haloanisoles in wine, including their origin, human sensory sensitivity, extraction and analytical methods, as well as prevention and remediation strategies for their presence in wines and cork closures.

1 Introdução

O mercado de vinhos mundial tem crescido de forma vertiginosa e em 2022 chegou ao valor consumo estimado de 232 milhões de hectolitros, com produção de 258 milhões de hectolitros (OIV, 2022) chegando ao valor de cerca de 37 bilhões de Euros exportados. O Brasil atinge a posição de 15o produtor mundial com 3,2 milhões de hectolitros. Apesar dessa grande demanda por vinhos, cerca de 4 % das garrafas de vinho mundiais são descartadas devido a uma condição conhecida como “cork taint” ou “gosto a rolha” que é a presença de compostos que conferem sabor e odor desagradáveis de mofo, papel molhado, umidade, que diminuem drasticamente a qualidade do vinho (ZHOU *et al.*, 2024). Os principais responsáveis por esse problema são os anisóis, que são contaminantes provenientes da cortiça; dentre estes o principal é o 2,4,6-Tricloroanisol (TCA), que foi identificado pela primeira vez em 1981 (BUSER; ZANIER; TANNER, 1982) e outros como 2,3,4,6-Tetracloroanisol, Pentacloroanisol e 2,4,6-Tribromoanisol que foram identificados em 1989 como causadores do mesmo efeito. Estes compostos mesmo em concentrações baixas (ng/L) são capazes de provocar mudanças organolépticas perceptíveis no vinho. A origem desses compostos pode ser atribuída a metilação provocada por fungos dos compostos 2,4,6-Triclorofenol, 2,3,4,6-Tetraclorofenol, Pentaclorofenol e 2,4,6-Tribromofenol (TINDALE *et al.*, 1989; WHITFIELD; LY NGUYEN; LAST, 1991; WHITFIELD; LY NGUYEN; TINDALE, 1991; AMON; VENDEPEER; SIMPSON, 1989).

2 Procedimento metodológico

O presente estudo foi realizado como uma revisão da literatura, de natureza qualitativa e exploratória. O primeiro relato da presença de TCA em vinhos foi realizado em 1982, e, dessa forma, a busca bibliográfica inicial foi realizada de 1982 a 2025, utilizando as seguintes bases de dados: Google Acadêmico, Scopus e PubMed. Foram encontrados 291 artigos, em qualquer língua, utilizando o termo “cork taint in wine”. Foram selecionados os artigos com base na leitura dos títulos e resumos, priorizando aqueles que abordavam principalmente estudos sobre sensibilidade humana (6%), fontes de anisóis (8%), métodos de extração e análises físico-químicas desses compostos (64%), sensores olfatórios (4%), bem como estratégias de prevenção e remediação de sua formação (9%) e revisões bibliográficas abordando todos os aspectos (9%), sendo que mais da metade dos trabalhos estavam relacionados à temática da extração e detecção. Após essa etapa, realizou-se a leitura completa dos artigos selecionados, e o presente trabalho foi elaborado a partir dessas fontes, além de outros estudos por elas referenciados, considerados relevantes para a descrição e a consolidação dos dados apresentados.

3 Resultados e discussão

3.1 Sensibilidade humana ao TCA

O TCA (2,4,6-tricloroanisol), principal composto responsável por odores e sabores desagradáveis no vinho, também é encontrado em cafés, onde é conhecido como defeito Rio (“Rio defect”), que afeta cerca de 20% dos cafés brasileiros (ROMANO *et al.*, 2022). Além disso, o TCA pode estar presente em outros produtos, como carne de aves, água tratada para consumo humano, entre diversos alimentos.

Tabela 1: Limiar sensorial, odor e sabor dos diferentes haloanisóis.

Composto	Odor e sabor	Limiar sensorial (ng/L)
TCA	Embolorado	0,03-50
TeCA	Embolorado-empoleirado	5-15
TBA	Embolorado	3.4-7.9
PCA	Empoleirado	10.000

TCA: 2,4,6-Tricloroanisol, TeCA: Tetracloroanisol, TBA: 2,4,6-Tribromoanisol, PCA: Pentacloroanisol.

Adaptado de: Fontana, 2012.

O sistema olfativo humano é extremamente sensível ao TCA. No caso dos vinhos, o limiar sensorial médio situa-se entre 1,4 e 1,5 ng/L, podendo variar de acordo com fatores como a matriz do alimento, características individuais do sistema olfativo, o modo de avaliação sensorial e a supressão olfativa. A presença de álcool, como ocorre nos vinhos, pode aumentar significativamente esse limiar sensorial, enquanto na água ele é consideravelmente menor, em torno de 0,03 ng/L (TABELA 1).

Vinhos mais aromáticos, especialmente os tintos, tendem a mascarar o impacto sensorial do TCA, ao contrário de vinhos brancos e espumantes, nos quais o limiar sensorial é mais baixo. Indivíduos treinados, com maior experiência na detecção do TCA, bem como aqueles com maior sensibilidade olfativa, apresentam limiares ainda menores para esse composto.

O modo de avaliação sensorial também influencia significativamente a percepção do TCA. Ensaios ortonasais, que avaliam apenas o odor, apresentam limiares mais elevados quando comparados à avaliação retronasal, na qual os compostos voláteis são transportados da cavidade oral para a cavidade nasal. Essa diferença é atribuída, em parte, ao aquecimento dos compostos na boca, que aumenta sua volatilidade no modo retronasal.

Após a exposição ao TCA, mesmo em concentrações muito baixas, o sistema olfativo pode perder rapidamente a sensibilidade, tornando-se menos responsivo a outros aromas. Embora esse mecanismo ainda não esteja totalmente elucidado, evidências indicam que o TCA interfere na transdução dos sinais olfativos, resultando na atenuação dos aromas característicos do vinho. (MCKAY; BUICA, 2020).

3.2 Fontes de anisóis em vinhos

A presença de compostos altamente halogenados na natureza provém de atividades antropogênicas. Os precursores de haloanisóis são os compostos halofenólicos (como o pentaclorofenol, 2,4,6-triclorofenol, etc) (FIGURA 1) que foram utilizados por muitas décadas como agrotóxicos (herbicidas, inseticidas, fungicidas, dentre outros) baseados em clorofenóis. Esses compostos eram utilizados principalmente no tratamento de madeira, papelão e materiais têxteis, entre outros. Em razão do uso intensivo desses produtos à época, a preocupação com a presença de TCA aumentou significativamente (SIMPSON; SEFTON, 2007). Os policlorofenóis são relativamente estáveis, porém, são degradados lentamente, podendo perder os átomos de cloro, tornando-se triclorofenóis que persistem por muito tempo na natureza e se acumulam no solo ou em cascas de árvores, como no caso da cortiça. Uma vez nas cascas ou na madeira, pode ocorrer metabolização pelos microrganismos como fungos dos gêneros *Fusarium*, *Trichoderma*, *Penicillium*, etc., que são capazes de promover uma *O*-metilação nos triclorofenóis com a formação de TCA em um rendimento de 5 a 25 % de eficiência (BUSER; ZANIER; TANNER, 1982). Estudos recentes indicam que *Aspergillus versicolor*, *Paecilomyces variotti* e *Trichoderma atroviride* são fungos comumente encontrados em construções de madeira e são eficientes conversores de triclorofenóis em TCA (EKBERG, 2021; VELOSO *et al.*, 2024). Este processo ocorre com o intuito de promover uma destoxificação de triclorofenóis que são altamente tóxicos a estes microrganismos. Apesar desses biocidas terem sido banidos há muito tempo (na década de 80 em muitos países), ainda são encontrados em locais remotos transportados por vias pluviais e precipitações, e a sua biodegradação é reduzida por terem um número limitado de organismos que podem biotransformá-los. Além dessa fonte, há outras formas de acúmulo de triclorofenóis em cortiça. Uma das formas é a cloração de fenóis presentes na casca da árvore. Esses fenóis são formados pela degradação de lignina ou pela biossíntese destes por fungos utilizando a via do chiquimato (JUNG; SCHAEFER, 2010). Dessa forma, com a disponibilidade do fenol na cortiça, a cloração ocorre pela disponibilidade do cloro através de agentes clorados utilizados no processo de tratamento da cortiça, como por exemplo, no branqueamento de cilindros de cortiça com solução de hipoclorito de cálcio ou fervura das placas de cortiça com água de torneira com Cl_2 . Esse procedimento era

muito comum antes de 1990, porém foi banido pelos produtores de rolha e é desencorajado pela Confederação de Rolhas da Europa. O hipoclorito foi substituído por peróxido de hidrogênio que não causa os problemas com haloanisóis (TARASOV *et al.*, 2022) (FIGURA 1).

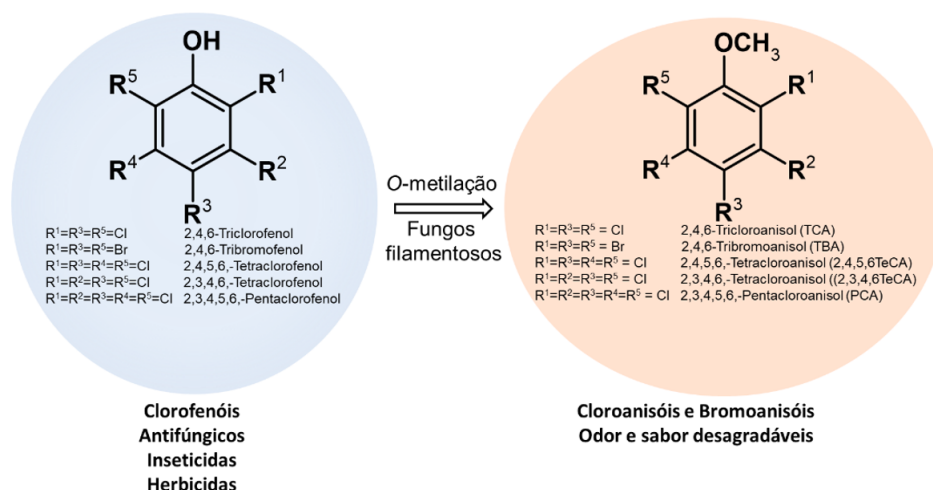


Figura 1. Esquema de biotransformação por fungos filamentosos de Triclorofenol, Tribromofenol, Tetraclorofenol e Pentaclorofenol em Tricloroanisol (TCA), Tribromoanisol (TBA), Tetracloroanisol (TeCA) e Pentacloroanisol (PCA).

A formação de TCA pode ocorrer também durante a produção do vinho, através do ar e equipamentos contaminados, pois os clorofenóis, utilizados como antifúngicos de materiais feitos de madeira, como barris, teto de galpões, paredes, pallets e pintura, podem ser transformados em TCA por fungos filamentosos e por ser volátil, contaminar o ar e outros equipamentos utilizados na produção de vinho. Esse cenário é mais comum em plantas de produção de vinhos mais antigas, de uma época que a utilização dos precursores de TCA era habitual. Porém, mesmo em plantas recentes, a contaminação pode ocorrer devido à utilização de biocidas baseados em bromofenóis, que são permitidos para o tratamento de madeiras, preservativos de tintas, laminados, etc., com a mesma finalidade e da mesma forma que os clorofenóis podem sofrer reações de O-metilação com a formação de 2,4,6-tribromoanisóis (TBA) que têm o mesmo efeito indesejável que o TCA (FIGURA 1). Em um estudo conduzido em três vinícolas, foi observada a presença de TBA no ar ambiente, nos vinhos armazenados em barris de aço inoxidável ou de madeira e nas paredes das instalações, com concentrações variando entre 2.000 e 2.185 ng/L (CHATONNET *et al.*, 2004).

3.3 Métodos de extração e análise de halofenóis e haloanisóis em vinhos e rolhas de cortiça

3.3.1 Extração em vinhos

Considerando as baixas concentrações desses compostos nas diferentes matrizes, torna-se recomendável a utilização de metodologias de extração altamente eficazes e/ou de etapas de pré-concentração, a fim de viabilizar sua detecção. Em razão da presença dos analitos em níveis traço, da elevada complexidade das matrizes e da necessidade de redução do consumo de materiais e solventes durante a extração, têm sido realizados esforços no sentido da miniaturização dos processos de extração. Esses avanços buscam manter ou aprimorar a sensibilidade, a seletividade e a robustez analítica dos métodos desenvolvidos.

3.3.1.1 Microextração em fase líquida (LPME)

A microextração em fase líquida possibilita a extração e concentração do analito de uma forma miniaturizada utilizando-se a matriz que seria a fase doadora, aquosa, nesse caso o vinho, e uma fase aceptora, um líquido imiscível com a água que favorece a transferência de analitos da fase aquosa para a fase aceptora, reduzindo a razão volumétrica entre eles. Esse efeito é obtido utilizando-se uma gota de um solvente apolar na ponta de uma seringa ou uma membrana separando as fases, imersos na fase aquosa. Assim no primeiro caso, os analitos com elevado coeficiente de partição são transferidos por difusão para a gota do solvente apolar em volumes grandes (1-5 mL) para gotas (5-50 μ L). A fase orgânica é então recolhida na seringa e são injetados diretamente nos aparelhos como CG-EM (cromatografia a gás acoplado a um espectrômetro de massas). Apesar da miniaturização e rapidez do método, esse procedimento não é robusto, podendo haver perda da gota por agitação, ou em líquidos muito viscosos ou com partículas presentes na matriz. Em estudos realizados por Marquez-Sillero *et al.* (2011) e Márquez-Sillero, Cárdenas e Valcárcel (2011), foram utilizados líquidos iônicos para extração de TCA em água e vinhos com o intuito de diminuir as desvantagens de utilizar um solvente orgânico, resultando em uma maior reprodutibilidade do método. O mesmo problema não ocorre com a extração em membranas, cuja fase orgânica encontra-se em uma membrana hidrofóbica porosa, o qual é exposto à amostra (JEANNOT; CANTWELL, 1996; DE OLIVEIRA *et al.*, 2008; FONTANA, 2012).

3.3.1.2 Microextração em fase sólida (SPME)

Essa metodologia é a mais explorada na literatura para extração de compostos semivoláteis e voláteis de vinhos. É uma técnica que tem a vantagem de não utilizar solventes e é de fácil automação, a qual se baseia em uma haste de sílica fundida recoberta com um filme de adsorvente que pode ser polimérico (polidimetilsiloxano, poliacrilato ou Carbowax) ou de um sólido, por exemplo, carvão ativo microparticulado. A extração ocorre ao mergulhar a haste no líquido onde o analito se encontra ou no seu head space (HS), espaço ocupado pelos compostos voláteis da amostra acondicionada em um sistema fechado. A transferência de massa ocorre até atingir o equilíbrio de partição ou de adsorção do analito entre o filme e o meio. Após a fase de extração, o filme impregnado é exposto à dessorção térmica e os componentes são geralmente analisados por cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) (VALENTE; AUGUSTO, 2000).

3.3.1.3 Extração sortiva em barra magnética (SBSE)

Nessa técnica, os analitos são extraídos de uma fase líquida aquosa para uma barra magnética de agitação recoberta por uma fase polimérica. A principal vantagem da SBSE em relação à SPME é a maior quantidade de fase extratora, o que proporciona maior capacidade de extração e, conseqüentemente, maior sensibilidade analítica. No entanto, essa elevada capacidade pode também favorecer a coextração de compostos indesejáveis da matriz (LIZARRAGA *et al.*, 2004).

3.3.1.4 QuEChERS

A técnica QuEChERS, acrônimo de Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe (rápido, fácil, barato, eficiente, robusto e seguro), foi desenvolvida para a extração de diversos analitos em matrizes alimentares e caracteriza-se pela extração com solvente orgânico, seguida da separação de fases por salting out e centrifugação (ANASTASSIADES *et al.*, 2003). Entre as principais vantagens desse método, destacam-se o uso reduzido de amostra e de solventes, bem como a elevada eficiência de extração, decorrente da maior interação entre a amostra e o adsorvente. Essas características tornam o QuEChERS adequado para a extração de uma ampla gama de analitos com diferentes propriedades químicas, compatível com diversas técnicas cromatográficas. Para a extração de TCA, foi empregado um método QuEChERS modificado, no qual a extração foi realizada com tolueno e a separação de fases promovida pela adição de MgSO_4 e NaCl. A etapa de limpeza (clean-up) foi conduzida

em baixas temperaturas, utilizando CaCl_2 , amina primária e secundária (PSA) e MgSO_4 , de modo a minimizar interferentes e reduzir o efeito de matriz (MAGGI *et al.*, 2008).

3.3.2 Extração de TCA de rolhas de cortiça

Existem duas abordagens principais para a avaliação da presença de tricloroanisóis em rolhas de cortiça: a determinação do TCA total e do TCA liberável. O TCA total corresponde à quantidade total desse composto presente na rolha, sendo expressa em ng/g de rolha. Já o TCA liberável refere-se à fração do composto que é liberada quando a rolha entra em contato com o vinho, sendo expressa em ng/L. A extração do TCA liberável foi padronizada por métodos analíticos estabelecidos pela norma ISO 20752:2014(E) (ISO, 2014) e pela Organização Internacional da Vinha e do Vinho (OIV, 2009). Ambos os protocolos recomendam a extração por maceração durante 24 horas, utilizando uma solução hidroalcoólica a 12%. No caso do método da OIV, essa extração pode ser realizada diretamente com vinho branco contendo entre 10 e 12% de álcool.

Uma alternativa à maceração é a extração por sonicação em banho ultrassônico por aproximadamente 2 horas, apresentando resultados comparáveis aos obtidos pelos métodos da ISO e da OIV (VESTNER; FRITSCH; RAUHUT, 2010). No entanto, a extração por maceração é considerada uma análise destrutiva, pois as rolhas tornam-se inutilizáveis, principalmente devido à extração de compostos fenólicos responsáveis pela alteração de sua coloração. Em função disso, as principais empresas fabricantes de rolhas têm buscado métodos alternativos para o controle de qualidade individual das rolhas. Nesse contexto, a partir da década de 1990, foram desenvolvidos métodos sensoriais não destrutivos. Em um dos métodos, cada rolha é acondicionada em frasco de vidro de 100 mL contendo um volume definido de água e mantido fechado por 24 horas à temperatura ambiente, até que seja atingido o equilíbrio dos compostos voláteis liberados pela rolha. Após esse período, o aroma de cada frasco é avaliado por um provador experiente. Em um estudo no qual aproximadamente 2.000 rolhas foram analisadas por esse método, cerca de 6% foram descartadas e posteriormente submetidas à análise por HS-SPME-GC-MS (headspace solid-phase microextraction coupled to gas chromatography–mass spectrometry) para validação dos resultados. Dentre essas rolhas descartadas, 25,5% apresentaram níveis de TCA inferiores a 1 ppt, 21,5% entre 1 e 5 ppt e 9,5% superiores a 5 ppt. As demais rolhas descartadas continham outros compostos responsáveis por odores desagradáveis (MACKU *et al.*, 2009). Apesar da eficácia do método sensorial, sua aplicação é limitada por ser demorada e não automatizada. Dessa forma, a indústria passou a desenvolver métodos analíticos mais rápidos, como o aquecimento das rolhas em frascos de vidro seguido da análise dos vapores por cromatografia gasosa. Atualmente, algumas empresas dispõem de equipamentos capazes de analisar individualmente cada rolha em aproximadamente 20 segundos.

A extração do TCA total é, em geral, realizada por métodos que assegurem a remoção extensiva dos haloanisóis da matriz. Para esse fim, são comumente empregadas técnicas como a extração por Soxhlet e a maceração do material previamente congelado e moído, estratégias que visam reduzir a perda de compostos voláteis e aumentar a eficiência da extração por meio do aumento da superfície de contato. Os solventes mais frequentemente utilizados nesses procedimentos incluem diclorometano, n-pentano, n-hexano e metanol. Após a etapa de extração, o solvente é normalmente evaporado para concentrar a amostra antes da análise. No entanto, para evitar essa etapa de evaporação, podem ser empregadas técnicas alternativas, como HS-SPME ou SBSE. Além disso, outros métodos descritos para a extração de TCA em vinhos podem ser adaptados para rolhas de cortiça, bem como a análise direta das rolhas por dessorção térmica (TDA) (CARASEK; CUDJOE; PAWLISZYN, 2007; RIU *et al.*, 2006).

3.3.3 Análise química de halofenóis e haloanisóis

Considerando a natureza volátil desses compostos, as análises devem ser conduzidas de modo a minimizar perdas por evaporação, especialmente durante as etapas de concentração das amostras. Assim, as metodologias analíticas empregadas devem apresentar elevada seletividade, sensibilidade e simplicidade, permitindo a determinação e quantificação inequívoca desses compostos em níveis traço.

3.3.3.1 Cromatografia a gás acoplada a diferentes detectores

A cromatografia a gás, considerando as propriedades físico-químicas dos haloanisóis e halofenóis, é considerada a técnica de escolha para a análise desses compostos (FONTANA, 2012). O acoplamento dessa técnica a diferentes detectores, como espectrometria de massas (EM), espectrometria de massas em tandem (EM/EM) e detector de captura de elétrons (ECD), entre outros, possibilita a detecção inequívoca desses analitos com elevada sensibilidade.

A análise de triclorofenóis pode ser facilitada por meio de etapas de derivatização, uma vez que esses compostos apresentam menor volatilidade em comparação aos haloanisóis e são mais suscetíveis a interferências da matriz (OZHAN *et al.*, 2009). Nesse contexto, a derivatização com anidrido acético, resultando na formação de derivados acetilados, é frequentemente recomendada (ITO *et al.*, 2008).

O detector de captura de elétrons (ECD) apresenta elevada sensibilidade e é específico para compostos halogenados, sendo amplamente utilizado na detecção de TCA em vinhos e água, com limites de detecção reportados tão baixos quanto 0,177 ng/L em vinhos (VLACHOS *et al.*, 2007). No entanto, apesar da alta sensibilidade, uma limitação desse detector está na dificuldade de confirmação inequívoca da identidade dos compostos analisados (CALLEJÓN *et al.*, 2016).

O detector mais recomendado para a análise de haloanisóis é a espectrometria de massas em tandem (EM/EM), especialmente em sistemas de triplo quadrupolo. Essa técnica oferece elevada sensibilidade aliada a alta seletividade quando operada no modo de monitoramento de reações múltiplas (MRM), permitindo a detecção inequívoca dos analitos e reduzindo significativamente a ambiguidade analítica (JELÉN; DZIADAS; MAJCHER, 2013) (TABELA 2). Além disso, o uso do MRM contribui para a minimização de interferências provenientes da matriz, que podem ser mais pronunciadas quando se utilizam outros tipos de detectores (PIZARRO; PEREZ-DEL-NOTARIO; GONZALES-SAIZ, 2007).

Tabela 2. Íons precursores, seus fragmentos e as energias de colisão ideais para detecção dos cloroanisóis.

Composto	Ion quantificador (m/z)	Energia de Colisão (V)	Ion qualificador1 (m/z)	Energia de Colisão(V)	Ion qualificador 2 (m/z)	Energia de Colisão(V)
TCA	210-195	10	212-197	10		
TeCA	231-203	15	246-203	20		
TBA	344-329	10	346-303	25	346-331	10
PCA	280-237	30	265-237	10	280-269	15

TCA: 2,4,6-Tricloroanisol, TeCA: Tetracloroanisol, TBA: 2,4,6-Tribromoanisol, PCA: Pentacloroanisol.
Adaptado de Jové *et al.*, 2021

Na análise de água, limites de detecção inferiores a 1 ng/mL já foram reportados (YU *et al.*, 2014). Para vinhos, alguns estudos relataram limites de detecção $\leq 0,1$ ng/L para cloroanisóis e de aproximadamente 0,5 ng/L para TBA (HJELMELAND *et al.*, 2012).

Paralelamente às técnicas cromatográficas, tecnologias emergentes, como o nariz eletrônico (electronic nose, e-nose), têm sido investigadas como sensores para a detecção de TCA. Os narizes eletrônicos consistem em conjuntos de sensores eletroquímicos

de gases associados a sistemas de reconhecimento de padrões responsáveis pelo processamento dos sinais gerados. Devido à sua miniaturização e ao baixo custo, essa metodologia tem despertado interesse para aplicações na indústria vinícola. Contudo, ainda é necessária a implementação de sensores com maior sensibilidade e seletividade para garantir resultados confiáveis (MELÉNDEZ *et al.*, 2020).

3.4 Prevenção

No processo de elaboração do vinho, a contaminação pode ocorrer em diferentes etapas, incluindo o cultivo da uva, situação na qual o material deve ser descartado, a vinificação, o armazenamento ou ainda após o uso de água eletrolisada para operações de lavagem dos instrumentos (GIACOSA *et al.*, 2019).

As principais medidas preventivas incluem a não utilização de sanitizantes à base de cloro, o controle rigoroso da umidade e da temperatura para limitar o desenvolvimento da microrganismos, bem como a verificação da qualidade de todos os materiais e insumos utilizados tanto no processo produtivo quanto na construção e manutenção das instalações. Isso abrange tintas, lubrificantes e materiais de construção, além da restrição ao uso de produtos madeireiros que possam ter sido tratados com triclorofenóis como agentes antifúngicos.

Com o objetivo de assegurar a qualidade e a autenticidade dos vinhos, a OIV publicou, em 2000, o guia “Boas práticas para o transporte em larga escala de vinhos”, adotado por todos os países membros (OIV, 2023). Adicionalmente, a Federação Europeia de Rolhas (CELIÈGE) estabeleceu um Código de Boas Práticas para a Produção de Rolhas, que define os padrões de qualidade a serem seguidos pelas empresas credenciadas no processo de fabricação.

3.5 Remediação

As técnicas de remediação para vinhos contaminados incluem a remoção de haloanisóis por meio da adsorção utilizando diferentes materiais, tais como polietileno de ultra-alto peso molecular, polianilina, peneiras moleculares do tipo zeólita Y e yeast hulls (paredes celulares de leveduras), entre outros. Em geral, esses materiais são adicionados diretamente ao vinho sob agitação e, após um período de contato, removidos por filtração ou decantação (GARDE-CERDÁN, 2008; VALDÉS *et al.*, 2018).

A peneira molecular zeólita Y demonstrou elevada eficiência na remoção seletiva de TCA, promovendo reduções de até 87% em vinhos contaminados. Em 2016, a União Europeia aprovou o uso de filtros contendo esse material para a remoção de cloroanisóis em vinhos (OIV, 2023). O polietileno de ultra-alto peso molecular, na forma granular, também se mostrou eficaz na redução de TCA a níveis abaixo do limiar sensorial. Contudo, a adsorção concomitante de compostos responsáveis pelo aroma e pela cor do vinho resultou em perdas sensoriais, limitando a aplicação desse material (SWAN, 2001).

O uso de yeast hulls para a remoção de odores indesejáveis também apresentou resultados promissores, com redução de até 73% nos níveis de TCA após 48 horas de tratamento com a adição de 400 mg/L. Além disso, a análise sensorial não indicou a presença de aromas ou sabores associados à levedura, o que representa uma vantagem significativa para a aplicação desse material (FERNANDEZ *et al.*, 2007).

4. Conclusão

A presença de halofenóis e haloanisóis, especialmente em vinhos, café e água, tem sido reconhecida como uma das principais causas de desqualificação desses produtos, resultando em expressivas perdas econômicas. Embora entidades internacionais tenham implementado diretrizes e Boas Práticas para a produção de rolhas e vinhos, bem como para o controle da qualidade dos produtos finais, os dados disponíveis para produtos brasileiros permanecem escassos. A ausência de políticas claras para o monitoramento sistemático desses compostos em produtos destinados ao consumo interno evidencia a necessidade urgente de estudos, regulamentações e ações coordenadas, tornando o tema particularmente crítico no contexto nacional.

5 Referências

AMON, J. M.; VANDEPEER, J. M.; SIMPSON, R. F. Compounds responsible for cork taint. **Australian & New Zealand Wine Industry Journal**, v.4, p.62-69, 1989. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2005.tb00290.x>.

ANASTASSIADES, M.; LEHOTAY, S.; STAJNBAHER, D.; SCHENCK, F. J., Fast and easy multi-residue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce. **Journal AOAC International**, v.83, p.412-431, 2003. <http://dx.doi.org/10.1093/jaoac/86.2.412>.

BUSER, H. R.; ZANIER, C.; TANNER, H. Identification of 2,4,6-*Trichloroanisole* as a potent compound causing cork taint in wine. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 30, p. 359-362, 1982. <https://doi.org/10.1021/JFO0110AO37>.

CALLEJÓN, R. M.; UBEDA, C.; RÍOS-REINA, R.; MORALES, M. L.; TRONCOSO, A. M. Recent developments in the analysis of musty odour compounds in water and wine: A review. **Journal of Chromatography A**, v.1428, p.72-85, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.09.008>.

CARASEK, E.; CUDJOE, E.; PAWLISZYN, J. Fast and sensitive method to determine chloroanisoles in cork using an internally cooled solid-phase microextraction fiber. **Journal of Chromatography A**, v.1138, p.10-17, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.10.092>.

CHATONNET, P.; BONNET, S.; BOUTOU, S.; LABADIE, M. -D. Identification and responsibility of 2,4,6-Tribromoanisole in musty, corked odors in wine. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.52, p.1255-1262, 2004. <https://doi.org/10.1021/jf030632f>.

DE OLIVEIRA, A. R., M.; MAGALHÃES, I. R. DOS S.; DE SANTANA, F. J. M.; BONATO, P. S. Microextração em fase líquida (LPME): fundamentos da técnica e aplicações na análise de fármacos em fluidos biológicos, **Química Nova**, v. 31, p. 637-644, 2008. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422008000300031>.

EKBERG, O. Literature review of fungi in buildings and their ability to methylate chlorophenols into malodorous chloroanisoles. **Journal of Physics Conference Series**, v. 2069, p. 012207, 2021. <http://dx.doi.org/10.1088/1742-6596/2069/1/012207>.

FERNANDEZ, O.; FAUVEAU, C.; PELLERIN, P.; PUECH, C.; VUCHOT, P.; VIDAL, S. Elimination des goûts de bouchon/moisi et de l'OTA à l'aide d'écorces de levures hautement adsorbantes. **Revue Internet de Viticulture et Oenologie**, v.2, p.62-72, 2007.

FONTANA, A. R. Analytical methods for determination of cork-taint compounds in wine. **Trends in Analytical Chemistry**, v.37, p.135-147, 2012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2012.03.012>.

GARDE-CERDAN, T. Molecularly imprinted polymer-assisted simple clean-up of 2,4,6-*Trichloroanisole* and ethylphenols from aged red wines. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.59, p.396-400, 2008. <http://dx.doi.org/10.5344/ajev.2008.59.4.396>.

GIACOSA, S.; GABRIELLI, M.; TORCHIO, F.; SEGADE, S. R.; GROBAS, A. M. M.; AIMONINO, D. R.; GAY, P.; GERBI, V.; MAURY, C.; ROLLE, L. Relationships among electrolyzed water postharvest treatments on winegrapes and chloroanisoles occurrence in wine. **Food Research International**, v.120, p.235-243, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.02.034>.

HJELMELAND, A. K.; COLLINS, T. S.; MILES, J. L.; WYLIE, P. L.; MITCHELL, A. E.; EBELER, S. E. High-throughput, sub ng/L analysis of haloanisoles in wines using HS-SPME with GC triple quadrupole MS. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.63, p.494-499, 2012. <http://dx.doi.org/10.5344/ajev.2012.12043>.

ISO. ISO20752:2014(E): **Determination of releasable 2,4,6 trichloroanisole in wine by cork stoppers**. 2014. <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:20752:dis:ed-3:v1:en>.

ITO, R.; KAWAGUCHI, M.; HONDA, H.; KOGANEI, Y.; OKANOUCHI, N.; SAKUI, N.; SAITO, K.; NAKAZAWA, H. Hollow-fiber-supported liquid phase microextraction with in situ derivatization and gas chromatography–mass spectrometry for determination of chlorophenols in human urine samples. **Journal of Chromatography B**, v.872, p.63-67, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2008.07.008>.

JEANNOT, M. A.; CANTWELL, F. F. Solvent microextraction into a single drop. **Analytical Chemistry**, v.68, p. 2236-2240, 1996. <https://doi.org/10.1021/ac960042z>.

JELÉN, H. H.; DZIADAS, M.; MAJCHER, M. Different headspace solid phase microextraction-Gas chromatography/mass spectrometry approaches to haloanisoles analysis in wine. **Journal of Chromatography A**, v.1313, p.185-193, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.07.080>.

JOVÉ, P.; PARERAS, A.; DE NADAL, R.; VERDUM, M. Development and optimization of a quantitative analysis of main odorants causing off flavours in cork stoppers using headspace solid-phase microextraction gas chromatography tandem mass spectrometry. **Journal of Mass Spectrometry**, v.56, p.e4728, 2021. <https://doi.org/10.1002/jms.4728>.

JUNG, R.; SCHAEFER, V. **Reducing cork taint in wine**. In: Reynolds AG, editor. Managing Wine Quality. Woodhead Publishing, p. 388-417, 2010. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-1-84569-798-3.50013-9>.

LIZARRAGA, E.; IRIGOYEN, A.; BELSUE, V.; GONZALEZ-PENAS, E. Determination of chloroanisole compounds in red wine by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v.1052, p.145, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.08.046>.

MACKU, C.; GONZALEZ, L.; SCHLEUSSNER, C.; MESQUITA, A. C.; HERWATT, J. W.; KIRCH, L. C.; SCHWARTZ, R. J. Sensory screening for large-format natural corks by “Dry Soak” testing and its correlation to headspace Solid-Phase Microextraction (SPME) Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS) releasable *Trichloroanisole* (TCA) analysis. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 57, p. 7962-7968, 2009. <https://doi.org/10.1021/jf901135p>.

MAGGI, L.; ZALACAIN, A.; MAZZOLENI, V.; ALONSO, G. L.; SALINAS, M. R. Comparison of stir bar sorptive extraction and solid-phase microextraction to determine halophenols and haloanisoles by gas chromatography–ion trap tandem mass spectrometry. **Talanta**, v.75, p.753-759, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2007.12.013>.

MÁRQUEZ-SILLERO, I.; AGUILERA-HERRADOR, E.; CÁRDENAS, S.; VALCÁRCEL, M. Determination of 2,4,6-trichloroanisole in water and wine samples by ionic liquid-based single-drop microextraction and ion mobility spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v.702, p.199-204, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2011.06.046>.

MÁRQUEZ-SILLERO, I.; CÁRDENAS, S.; VALCÁRCEL, M. Direct determination of 2,4,6-trichloroanisole in wines by single-drop ionic liquid microextraction coupled with multicapillary column separation and ion mobility spectrometry detection. **Journal of Chromatography A**, v.1218, p.7574-7580, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.06.032>.

MCKAY, M.; BUICA, A. Factors influencing olfactory perception of selected off-flavour-causing compounds in red wine - A review, **South African Journal of Enology and Viticulture**, v.41, p.56-71, 2020. <http://dx.doi.org/10.21548/41-1-3669>.

MELÉNDEZ, F.; ARROYO, P.; AGUSTÍN, J. L.; FERNÁNDEZ MUÑOZ, J.; CARMONA DEL BARCO, P.; RODRIGUEZ, S.; LOZANO, J. Fast detection of TCA in cork stoppers by means of electronic noses. **Conference: 2020 IEEE International Symposium on Circuits and Systems (ISCAS)**, p.1-4, 2020. <http://dx.doi.org/10.1109/ISCAS45731.2020.9181289>.

OIV. Resolution OIV-Oeno296/2009, **Method OIV-MA-AS315-16**, 2009. <https://www.oiv.int/public/medias/2544/oiv-ma-as315-16.pdf>

OIV. **State of the world vine and wine sector in 2022**. Disponível em: https://www.oiv.int/sites/default/files/documents/OIV_State_of_the_world_Vine_and_Wine_sector_in_2022_2.pdf (acessado em 17 de agosto de 2023).

OIV. II.3.2.15 **Use of filter plates containing zeolites Y-Faujasite to adsorb haloanisoles**, 2023. Disponível em: <https://www.oiv.int/standards/international-code-of-oenological-practices/part-ii-oenological-treatments-and-practices/wines/use-of-filter-plates-containing-zeolites-y-faujasite-to-adsorb-haloanisoles> (acessado em 18 de agosto de 2023)

OIV. Part III **Good Practices Guide for Bulk Wine Transportation**, in International Code of Oenological Practices. p. III.1.1-1, 2023. Disponível em: <http://www.oiv.int/public/medias/6558/code-2019-en.pdf> (acessado em 18 de agosto de 2023).

OZHAN, D.; ANLI, R. E.; VURAL, N.; BAYRAM, M. Determination of chloroanisoles and chlorophenols in cork and wine by using HS-SPME and GC-ECD detection, **Journal of the Institute of Brewing**, v.115, p.71-77, 2009. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.2009.tb00346.x>.

PIZARRO, C.; PEREZ-DEL-NOTARIO, N.; GONZALEZ-SAIZ, J.M. Optimisation of a headspace solid-phase microextraction with on-fiber derivatisation method for the direct determination of haloanisoles and halophenols in wine. **Journal of Chromatography A**, v.1143, p.26-35, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.01.023>.

RIU, M.; MESTRES, M.; BUSTO, O.; GUASCH, J. Determination of total chloroanisoles in different kinds of cork stoppers. **Analytical Chimica Acta**, v.563, p.310-314, 2006. <http://dx.doi.org/10.1016%2Fj.aca.2005.10.045>.

ROMANO, A.; NAVARINI, L.; LONZARICH, V.; BOGIALLI, S.; PASTORE, P.; CAPPELLIN, L. 2,4,6-*Trichloroanisole* off-flavor screening in green *Coffea arabica* by a novel vocus NO+ CI-MS method: A study on green coffee from different geographical origins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.70, p.11412-11418, 2022. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c03899>.

SIMPSON, R. F.; SEFTON, M. A. Origin and fate of 2,4,6-*Trichloroanisole* in cork bark and wine corks. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v.13, p.106-116, 2007. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2007.tb00241.x>.

SWAN, J. **Process for removing off-flavors and odors from foods and beverages**. US6610342B2, 2001.

TARASOV, A.; CABRAL, M.; LOISEL, C.; LOPES, P.; SCHUESSLER, C.; JUNG, R. State-of-the-art knowledge about 2, 4, 6-*Trichloroanisole* (TCA) and strategies to avoid cork taint in wine. **Grapes and Wine**, v.337, 2022. <https://doi.org/10.5772/intechopen.103709>.

TINDALE, C. R.; WHITFIELD, F. B.; LEVINGSTON, S. D.; LY NGUYEN, T. H. Fungi isolated from packaging materials: their role in the production of 2,4,6-*trichloroanisole*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v.49, p.437-447, 1989. <https://doi.org/10.1002/JSFA.2740490406>.

VALDÉS, O.; MARICAN, A.; AVILA-SALAS, F.; CASTRO, R.; JOHN, A.; LAURIE, F.; SANTOS, L. Polyaniline based materials as response to eliminate haloanisoles in spirits beverages. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, v.57, p.8308-8318, 2018. <http://dx.doi.org/10.1021/acs.iecr.8b01139>.

VALENTE, A. L. P.; AUGUSTO, F. Microextração por fase sólida, *Química Nova*, v.23, p.523-530, 2000. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422000000400016>.

VESTNER, J.; FRITSCH, S.; RAUHUT, D. Development of a microwave assisted extraction method for the analysis of 2,4,6-*trichloroanisole* in cork stoppers by SIDA–SBSE–GC–MS. *Analytica Chimica Acta*, v.660, p.76-80, 2010. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2009.11.050>.

VLACHOS, P.; KAMPIOTI, A.; KORNAROS, M.; LYBERATOS, G. Matrix effect during the application of a rapid method using HS-SPME followed by GC-ECD for the analysis of 2,4,6-TCA in wine and cork soaks, *Food Chemistry*, v.105, p.681-690, 2007. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.12.056>.

VELOSO, S.; MAGRO, A.; HENRIQUES, J.; BONIFACIO, L.; FERNANDES, J. P.; RAMOS, A. P.; DIOGO, E.; BRAGANÇA, H. Trichoderma atrobrunneum associated with yellow stain defect of cork planks and critical values of TCA for wine cork stoppers industry. *European Journal of Wood and Wood Products*, v.82, p.1009–1019, 2024. <https://doi.org/10.1007/s00107-024-02070-6>.

WHITFIELD, F. B.; LY NGUYEN, T. H.; LAST, J. H. Effect of relative humidity and chlorophenol content on the fungal conversion of chlorophenols to chloroanisoles in fibreboard cartons containing dried fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v.54, p.595-604, 1991. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740540411>.

WHITFIELD, F.B.; LY NGUYEN, T.H. AND TINDALE, C.R. Effect of relative humidity and incubation time on the O-methylation of chlorophenols in fibreboard by *Paecilomyces variotii*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v.55, p.19-26, 1991. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740550104>.

YU, S.; XIAO, Q.; ZHU, B.; ZHONG, X.; XU, Y.; SU, G.; CHEN, M. Gas chromatography mass spectrometry determination of earthy-musty odorous compounds in waters by two phase hollow-fiber liquid-phase microextraction using polyvinylidene fluoride fibers. **Journal of Chromatography A**, v.1329, p.45-51, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.01.002>.

ZHOU, H; XIE, Y; WU, T; WANG, X; GAO, J; TIAN, B.; HUANG, W.; YOU, Y.; ZHAN, J. Cork taint of wines: the formation, analysis, and control of 2,4,6- *trichloroanisole*. **Food Innovation and Advances**, v.3, p.111 125, 2024. doi: 10.48130/fia-0024-001.

10.29327/2774886.10.30-3

