Revista Virtual de Química

Review

http://dx.doi.org/10.21577/1984-6835.20220135

Análise de Álcool a 70% e Impurezas: Métodos Analíticos, Controle de Qualidade, Riscos à Saúde e Legislação

Analysis of 70% Alcohol and Impurities: Analytical Methods, Quality Control, Health Risks and Legislation

Isabella R. Silva,[a] Jéssica C. Q. de Souza,[a,#] Marcone A. L. de Oliveira[a,]*

[a] Universidade Federal de Juiz de Fora, Instituto de Ciências Exatas, Departamento de Química, CEP 36036-900, Juiz de Fora-MG, Brasil

E-mail: *marcone.oliveira@ufjf.br; #jessica.cordeiro@ice.ufjf.br

Recebido em: 14 de Abril de 2022

Aceito em: 20 de Novembro de 2022

Publicado online: 30 de Janeiro de 2023

In March 2020, COVID-19 was declared a pandemic by the World Health Organization, which led to a series of recommendations regarding personal hygiene, among which, the use of alcohol 70% as hand sanitizers. Due to the great demand for this product, it became scarce and the regulatory agencies made the legislation for production by some industries, manipulation pharmacies, and laboratories more flexible. This situation promoted the commercialization of alcohol-based products within concentrations outside of the limits, compromising their efficiency. Therefore, this is important that these products are submitted to rigorous quality control to avoid harm issues to human health. However, ANVISA does not specify an official method for monitoring alcohol 70%, especially when impurities are present. Within this context, the present work aims to present the use of the classic technique, such as the gas chromatography, as well some alternative analytical methods applied to alcohol 70% determination, taking into account literature reports published in the last two pandemic years.

Keywords: Gas chromatography; hand sanitizers; ethanol; isopropanol

1. Introdução

Com o rápido aumento do número de casos de pessoas infectadas pelo vírus SARS-CoV-2 (do inglês, *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*) ao redor do mundo, com cerca de 114 países afetados em todos os continentes com exceção da Antártida, a COVID-19 (do inglês, *coronavirus disease*) foi declarada como pandemia pela Organização Mundial da Saúde (OMS) em março de 2020.[1] Esta decisão levou à criação de uma série de medidas pelas autoridades de saúde nacionais e internacionais sobre cuidados com a higiene para que fosse evitada a propagação do vírus, como o uso de produtos à base de soluções alcoólicas para a limpeza de mãos, superfícies, objetos e outros possíveis vetores de transmissão.[2] A OMS, por exemplo, passou a ratificar enfaticamente a grande importância dos hábitos diários de higiene e limpeza.[3]

O álcool etílico (etanol) e o álcool isopropílico (isopropanol) são classificados como antissépticos ou sanitizantes por possuírem propriedades que inibem o crescimento de microrganismos em tecidos vivos, como pele e mucosas e superfícies, quando em concentrações entre 55% e 75% (m/m). Como não possuem ação residual, apresentam ineficácia na eliminação de esporos e vírus não-envelopados, sendo não recomendado na esterilização de materiais.[2] Estes álcoois são altamente solúveis em água, devido às fortes ligações de hidrogênio que se formam entre as hidroxilas das moléculas de água e dos álcoois quando estas estão próximas umas das outras. Por este motivo, é comum encontrar estes compostos disponíveis no comércio em preparações alcoólicas nas formas líquida, gel ou espuma.[3]

De acordo com a Resolução RDC 42/2010 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), as formulações líquidas para higienização das mãos devem conter concentração alcóolica entre 60% (m/m) e 80% (m/m), enquanto que para as formulações em gel e espuma, a concentração mínima deve ser de 70% (m/m),[4] com um tempo médio de fricção de 20 a 30 segundos.[5] Nessa concentração, a presença de água retarda a evaporação do álcool, ocasionando maior eficiência antimicrobiana e rápida ação contra vírus, bactérias e fungos. Ao entrar em contato com a membrana celular do microrganismo, a solução alcoólica provoca a desnaturação das proteínas e o rompimento das estruturas lipídicas nela presentes. Esse processo de rompimento da membrana é chamado de lise celular e promove a destruição do microrganismo.[6] Por este motivo, soluções alcoólicas com concentrações muito altas são menos eficazes devido à sua rápida evaporação após ser aplicada.[5]

©2023 Sociedade Brasileira de Química

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License.

Em 2020, a ANVISA publicou a Resolução RCD 422/2020, que apresenta, entre outros tópicos, as preparações antissépticas e suas respectivas concentrações alcoólicas recomendadas.[7] Dentre essas preparações estão o álcool etílico 70% (m/m) (70° INPM), álcool etílico glicerinado 80% (v/v) (80° GL), álcool gel, álcool isopropílico glicerinado 75% (v/v) (75° GL) e digliconato de clorexidina 0,5% (m/v).[7]

1.1. Composição da formulação em gel

A formulação em gel descrita no Formulário Nacional da Farmacopeia Brasileira (2012) é composta por álcool etílico 96° GL, carbômer 980, solução de trietanolamina a 50% (m/v) e água purificada.[6] O carbômer 980, ou carbopol, é um polímero carboxivinílico hidrossolúvel de alta massa molecular derivado do ácido poliacrílico frequentemente empregado por indústrias de cosméticos e farmacêuticas.[8] O carbopol é um gelificante que, quando disperso em meio aquoso, age como espessante elevando a viscosidade da solução. O comportamento reológico do produto final, assim como sua estabilidade, pode variar com o tipo de polímero utilizado durante a produção do álcool gel.[9,10] Outro polímero também muito utilizado é a hidroxietilcelulose, um derivado da celulose, conhecido comercialmente como Natrosol.[11] Com a alta demanda e escassez de espessantes, novos compostos foram utilizados na produção da formulação em gel, como o polímero hidroxipropilmetilcelulose comercializado pelo nome de HPMC kolagel®, e uma dispersão de copolímero acrílico, comercializada pelo nome de Luvset®360. [12]

Com o avanço da pandemia de COVID-19 em 2020, a procura por preparações antissépticas cresceu rapidamente, provocando a sua escassez em muitos estabelecimentos comerciais. Neste contexto, a OMS publicou o "Guia da Organização Mundial da Saúde para produção de soluções antissépticas",[13] e a ANVISA disponibilizou o guia "Orientações Gerais para Produção de Formulações Antissépticas Alcoólicas",[14] além de, junto com a RDC 422/2020,[7] isentar o registro desses produtos, devido a emergência de saúde pública internacional em vigência.[15]

O guia da ANVISA foi baseado no Formulário Nacional da Farmacopeia Brasileira e no guia da OMS,[6,13] e apresenta informações sobre a produção, o armazenamento e o controle de qualidade após a produção para as preparações antissépticas em gel.[14] Duas formulações são recomendadas e a principal diferença entre elas está no tipo e na concentração de álcool empregado, uma vez que são usados o álcool etílico 96% (m/m) e o álcool isopropílico 99,8% (m/m). Os demais componentes, peróxido de hidrogênio 3%, glicerol 98% e água destilada, são comuns às formulações.[14]

1.2. Fraudes na produção de álcool gel

Devido a isenção de registro e da publicação de orientações para produção de álcool gel pela ANVISA, muitas indústrias, farmácias de manipulação e laboratórios passaram a se dedicar à produção de antissépticos ou sanitizantes para suprir a alta demanda durante a pandemia de COVID-19. Entretanto, constatou-se a disponibilidade no mercado popular de álcool gel produzido a partir de receitas caseiras, as quais podem ser encontradas facilmente na internet e que não garantem a eficácia semelhante ao produto industrializado.[16] Esta atitude coloca em risco tanto a segurança dos indivíduos que fabricam estes produtos quanto daqueles que possam vir a utilizá-los. A manipulação e mistura de produtos inflamáveis sem os devidos cuidados ou sem conhecimento prévio das reações que podem ocorrer durante a produção pode levar a acidentes graves. Por não ser submetido a um controle de qualidade, não é possível inferir se o álcool gel produzido a partir destas receitas será eficiente na higienização das mãos ou se poderá causar reações inesperadas como intoxicação, irritações na pele e, em casos mais graves, queimaduras. Por esse motivo, apenas empresas regularizadas por órgãos de vigilância sanitária e que possuem profissionais devidamente capacitados podem fabricar esse tipo de produto.[17]

Nesse contexto, no Brasil foram relatados diversos casos em que os produtos apreendidos apresentavam concentrações alcoólicas fora dos limites exigidos pela ANVISA e, em alguns casos, também foram detectadas a presença de substâncias que seriam ineficazes na higienização das mãos ou prejudiciais à saúde.

No Rio Grande do Sul, o Departamento de Perícias Laboratoriais do Instituto-Geral de Perícias (IGP) apreendeu amostras de álcool gel 70% (m/m) falsificadas.[18] Nas análises realizadas pelo laboratório, em média, 65% do material que havia sido recolhido estava imprópria para o uso e, em alguns casos, foram identificadas amostras em que a concentração alcoólica era apenas de 16% (m/m). Segundo a perícia, houve a suspeita do uso de cachaça e de combustível etanol como matéria-prima no processo de preparação dos produtos, o que pode causar irritações e alergias na pele. A fim de evitar que o consumidor seja exposto a este tipo de produto, é recomendado estar atento às informações contidas na embalagem como o nome do fabricante, a data de vencimento, o número do lote e o nome do farmacêutico responsável pela composição. A análise desses produtos foi realizada pela técnica de cromatografia em fase gasosa com detecção por ionização de chamas (GC-FID – *gas chromatography with flame ionization detection*), sendo a primeira vez que o laboratório realizou este procedimento em amostras de álcool gel.[18]

O Núcleo de Química Forense (NUQFO) da Perícia Forense do Estado do Ceará (Pefoce) em parceria com o Núcleo de Tecnologia e Qualidade Industrial do Ceará (Nutec), desde março de 2020 até as primeiras semanas de abril de 2021, já havia realizado 17 investigações envolvendo amostras de álcool gel e líquido adulterados. Por meio desta parceria foi possível desenvolver metodologias para que fosse criado um protocolo de análise. Além dos produtos estarem fora das especificações exigidas pela

ANVISA em relação a concentração alcoólica, os peritos também identificaram a presença de substâncias inesperadas e ineficientes no combate ao vírus, como gel capilar sendo comercializado como álcool gel, e substâncias tóxicas, como metanol, clorofórmio e contaminantes originários de combustível etanol. Para realizar as análises das amostras de álcool gel foi utilizado um densímetro para determinar o teor alcoólico e a GC-FID para identificar possíveis contaminantes, como os hidrocarbonetos derivados de combustíveis.[19]

Já para o Laboratório de Análises Químicas do Instituto de Pesquisas Tecnológicas (IPT) foi necessário desenvolver um método para determinar o teor de etanol presente em higienizadores para as mãos. Pela GC-FID foi realizada a quantificação do etanol presente em sete amostras de álcool gel que, de acordo com suas embalagens, deveriam conter uma fração de 70% (m/m), sendo também testado o efeito do banho ultrassônico no preparo das amostras. Ao fim das análises, os valores das concentrações de etanol obtidos variaram entre 53,9% e 65,3% (m/m), ficando abaixo do valor indicado no rótulo e das especificações da ANVISA. A divergência nos valores foi atribuída ao processo de fabricação, onde as perdas por volatilização provavelmente não foram consideradas. Através do novo método desenvolvido pelo laboratório pode-se constatar boa repetibilidade, reprodutibilidade e especificidade dentro da faixa de aplicação. O tempo total de análise, da preparação da amostra até a obtenção dos resultados, foi de 20 minutos.[20]

1.3. Determinação do teor alcoólico

Com o aumento da fabricação e comercialização dos produtos antissépticos, o controle de qualidade destas preparações alcoólicas é imprescindível para evitar a falsificação e prejuízo para saúde dos indivíduos. Essa etapa deve ser feita através de testes laboratoriais com procedimentos adequados para determinar se a concentração alcoólica está dentro dos limites preconizados pela ANVISA. No entanto, a ANVISA não especifica um método para a determinação da concentração alcoólica em soluções, além da presença de impurezas,[20] sendo possível apenas verificar se o produto possui autorização para comercialização. Esse procedimento é realizado pela verificação do número do CNPJ indicado no rótulo do produto e o número de Autorização de Funcionamento da Empresa (AFE) que podem ser consultados no site da ANVISA.[19,21]

A determinação do teor alcoólico de uma solução pode ser realizada utilizando-se um alcoômetro, mas este método só pode ser empregado em misturas que contenham apenas água e etanol, em uma temperatura conhecida. Quando há a presença de outras substâncias indesejadas, como o metanol, a densidade e a concentração alcoólica do produto sofrem pequenos desvios. Neste caso, é necessário o uso de técnicas mais sofisticadas como a GC e a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC - *High Performance Liquid Chromatography*).[10]

A GC é uma técnica analítica de separação utilizada para a realização de análises qualitativas e quantitativas, e na separação de compostos voláteis ou que possam ser volatilizados.[22] A amostra é vaporizada ao ser introduzida no injetor, com o auxílio de uma microseringa, sendo então transportada por um fluxo de gás inerte contínuo, também conhecido como gás de arraste ou fase móvel. A temperatura do injetor dever ser alta o suficiente para vaporizar a amostra instantaneamente sem que haja o risco de sofrer decomposição. Em seguida, os componentes da amostra são separados ao passarem pela coluna cromatográfica que contém a fase estacionária, podendo esta ser líquida ou sólida. A escolha do tipo de coluna cromatográfica, principal responsável pela separação dos componentes presentes na amostra, a ser utilizada deve levar em consideração as propriedades dos analitos.[23] Após a separação, estes componentes cruzam a janela de detecção, sendo gerado um sinal que é proporcional à quantidade do analito que foi eluído.[22,24]

Devido à volatilidade dos álcoois, esses produtos são frequentemente analisados por GC. Neste cenário, investigamos o uso da GC para a determinação da concentração alcoólica em produtos antissépticos ou sanitizantes nas formulações líquida, gel e espuma, além da identificação de impurezas prejudiciais à saúde. As referências utilizadas neste trabalho foram obtidas usando diferentes bases de dados, como *Web of Science*, *Science Direct* e Google Acadêmico. As palavras-chaves utilizadas para encontrar os artigos foram *gas chromatography*, *hand sanitizers*, *ethanol*, *isopropylalcohol*, cromatografia gasosa, álcool gel, etanol, isopropanol ou álcool isopropílico. O intervalo de tempo considerado foi de 2 anos (2020-2021) devido a emergência do tema frente a pandemia de COVID-19.

2. Cromatografia em Fase Gasosa para a Determinação da Concentração Alcoólica

Nos últimos dois anos foram publicados 8 artigos que abordam o uso da GC para a análise da concentração alcoólica em preparações antissépticas nas formulações líquida, gel e espuma. Todos os artigos enfatizam a necessidade de métodos de controle de qualidade, principalmente devido à alta demanda durante a pandemia de COVID-19. Essa situação provocou a flexibilização para a produção e a comercialização, resultando na permissão temporária do uso de matérias-primas e outras substituições nessas formulações pelas agências reguladoras governamentais.

Na Tabela 1 é possível observar as condições cromatográficas e do detector, descritas nos trabalhos encontrados, para a análise de etanol, isopropanol e metanol, sendo que este último álcool possui alta toxicidade.

O detector por ionização em chama (FID – *flame ionization detector*) é um detector simples, de baixo custo, com alta sensibilidade e eficiente para análises de álcoois.

Baseia-se na combustão da amostra quando esta entra em contato com uma chama de gás hidrogênio e ar.[22] Por ser mais acessível, foi utilizado em sete artigos. Em apenas um artigo foi utilizado a detecção por espectrometria de massas (MS – *mass spectrometry*), que se baseia na razão massa/carga dos íons dos analitos, focando em identificar e quantificar as possíveis impurezas presentes nas amostras. Apesar de ser considerado universal e com alta sensibilidade, esse detector é menos acessível devido ao alto custo do equipamento e de reagentes.[22]

O preparo das amostras caracteriza uma etapa importante a ser otimizada. De acordo com a Tabela 1, estudo aborda o uso da microextração em fase sólida (SPME– *solid phase microextraction*), dois artigos utilizaram a técnica *headspace* (HS), que consiste em extrair os componentes voláteis seguida da injeção automática no equipamento, enquanto que os demais trabalhos apresentam um procedimento de diluição, seguido ou não, por etapas de homogeneização e filtração.

O método que utiliza a GC-FID para a determinação de etanol em 7 amostras de higienizadores para mãos em gel, além do uso do banho ultrassônico no preparo das amostras, foi desenvolvido por Lacerda e colaboradores.[25] A avaliação do melhor procedimento para a homogeneização das amostras foi realizada considerando a agitação manual, por 2 minutos, e o banho ultrassônico, por 2 minutos a 25 kHz. O tempo ajustado para o banho ultrassônico foi de 2 minutos, pois se a agitação ocorresse por um tempo prolongado, haveria um aumento na temperatura da solução, provocando a volatilização do etanol. Os resultados indicaram que a homogeneização das amostras foi mais eficiente com a utilização do banho ultrassônico, pois houve aumento na reprodutibilidade dos resultados. As amostras apresentaram concentrações alcoólicas variando entre 53,9% e 65,3% (m/m), valores abaixo da concentração declarada no rótulo e da concentração recomendada para serem classificados como produtos sanitizantes pela ANVISA. Esta diferença pode ser atribuída ao processo de fabricação que exige um longo tempo na etapa de homogeneização para incorporar o etanol na matriz do gel. Como o etanol é uma substância muito volátil, se durante sua produção não for contabilizada algumas perdas devido à volatilização ao longo do processo, a concentração final pode ser bem inferior ao valor esperado.

O uso da HS foi descrito em dois estudos. Uma avaliação do teor alcoólico de 30 amostras de diversos higienizadores para as mãos por GC-FID, utilizando a técnica de HS para extração e injeção dos compostos da amostra, foi realizada por Berkkan & Ulutas.[26] Para a realização das análises, padrões de etanol, isopropanol e metanol com água deionizada foram preparados para evitar a evaporação dos álcoois. A identificação dos analitos foi realizada pelas comparações de seus tempos de retenção (t_R) com os tempos de retenção dos padrões puros sob as mesmas condições cromatográficas. Os álcoois de interesse foram detectados na presença de componentes, como o glicerol, sem interferências e sem qualquer necessidade de realizar um processo de purificação. Os resultados indicaram que a concentração alcoólica total estava na faixa de 1,2 a 88,2% (m/m). Onze das 30 amostras que foram testadas apresentaram etanol com concentração inferior a 50% enquanto dois produtos testados apresentaram metanol em suas composições.[26]

A importância em diferenciar as preparações alcoólicas que são antissépticas ou sanitizantes dos produtos que são considerados cosméticos foi abordada no segundo estudo conduzido por Berardi e pesquisadores.[27] Os autores apresentam o uso da GC-FID, com preparo de amostra por HS e SPME, para a análise de etanol em 7 amostras de álcool gel, classificadas em dois produtos biocidas e cinco produtos cosméticos.[27] O trabalho teve como objetivo verificar se a concentração estava de acordo com o valor indicado na embalagem e com a faixa de concentração recomendada pela OMS para garantir a desinfecção, que é de 60% (v/v), ou 52,1% (m/m).[27] A quantificação do etanol foi realizada por padronização externa, a partir das análises de padrões de etanol com concentrações conhecidas. Os resultados indicaram que as duas amostras classificadas como biocidas possuíam concentração igual ou acima do limite (≥ 60% m/m). Entretanto, foram observadas discrepâncias entre o valor indicado no rótulo de cada biocida, 74% e 70% (m/m), e o valor obtido na quantificação por GC, 64% e 66,1% (m/m), respectivamente. Em relação às amostras classificadas como produtos cosméticos, todos os ingredientes devem ser indicados no rótulo, mas não é exigido especificar a concentração alcoólica presente. Os resultados indicaram que uma amostra possuía concentração igual ou acima do limite (≥ 60% m/m), enquanto que as outras quatro amostras possuíam concentração abaixo ao limite (< 60% m/m). Estes produtos não são indicados para a desinfecção, devido à baixa concentração alcoólica. Não houve detecção de metanol em nenhuma das amostras.[27]

Com o mesmo objetivo de diferenciar preparações antissépticas ou sanitizantes de produtos cosméticos, um método por GC-FID para determinação da concentração alcoólica de 50 amostras de higienizadores de mãos de diferentes formulações e origens foi desenvolvido por Yusuf e colaboradores.[28] Dentre as amostras analisadas, 38 eram formulações líquidas, 11 em gel e 1 em spray, sendo produtos comerciais e de fabricação artesanal, conforme as orientações da OMS. Das 50 amostras totais, apenas 21 apresentaram concentração de etanol igual ou acima de 70% (m/m), das quais 18 são formulações líquidas, 2 em gel e 1 em spray. Dos 41 produtos comerciais analisados, 14 possuíam teor alcoólico igual ou maior que 70% (m/m). Sobre os 8 produtos artesanais analisados, 7 apresentaram teor alcóolico acima de 70% (m/m), porém dentro da faixa permitida. O etanol estava presente na maioria das amostras como componente principal, enquanto que apenas duas amostras apresentaram isopropanol e em um produto foi identificada uma mistura de etanol e isobutanol. A presença de metanol não foi detectada em nenhuma amostra. A

Tabela 1. Métodos analíticos utilizados para a determinação da concentração alcoólica em produtos higienizadores para as mãos

Analitos	Tipo de formulação	Preparo da amostra	Técnica/ Detecção	Condições Instrumentais	Condições do detector	Ref.
Etanol	Gel	Diluição em n-butanol, seguido de agitação manual ou banho ultrassônico, e filtração	GC-FID	Coluna: Poraplot Q (10 m x 0,32 mm x 0,10 µm). Injetor: *Split*, 50:1, 0,5 µL, 250 °C. Gás de arraste: Hélio 3 mL min^{-1}. Gradiente forno: 85 ºC (2 min), 35 ºC min^{-1} até 260 ºC (5 min). Tempo de corrida: 15 min.	Temperatura: 280 °C	25
Etanol, isopropanol e metanol		Adição de água seguido de diluição e injeção no HS	GC-FID	Coluna: DB-624 (30 m x 0,32 mm, 1,8 µm). Injetor: *Split*, 200:1; 200 °C. Gás de arraste: Hélio 1,0 mL min^{-1}. Gradiente forno: 40 °C (5 min), 5 °C min^{-1} até 60 °C, 30 °C min^{-1} até 210 °C (4 min). Tempo de corrida: 18 min.	Temperatura: 230 °C. Gases da chama: H_2 (30 mL min^{-1}), gás seco (400 mL min^{-1})	26
Etanol	Gel	HS-SPME	GC-FID	Coluna: sílica fundida Supelcowax-10 (60 m x 0,25 mm, 0,25 µm). Injetor: *Splitless*, 5 min, 250 °C. Gás de arraste: Hélio 1,0 mL min^{-1}. Gradiente forno: 65 °C, 6 °C min^{-1} até 155 °C, 20 °C min^{-1} até 250 °C.	Temperatura: 260 °C	27
Etanol, isopropanol, metanol e outras impurezas	Gel, líquido e spray	Não especificado	GC-FID	Coluna: HP-INNOWax de polietileno glicol (25 m x 200 µm x 0,20 µm). Injetor: *Split*, 30:1; 1 µL, 140 °C. Gás de arraste: 1,4 mL min^{-1}. Gradiente forno: 35 °C (1 min), 5 °C min^{-1} até 40 °C, 15 °C min^{-1} até 75 °C (1 min), 25 °C min^{-1} até 220 °C.	Temperatura: 200 °C. Gases da chama: H_2 (40 mL min^{-1}), Ar (150 mL min^{-1}), N_2 (25 mL min^{-1})	28
Etanol, isopropanol e impurezas	Não especificado	Diluição em ACN	GC-MS	Coluna: DB-624 (30m x 0.25 mm, 1.4 µm). Injetor: *Split*, 50:1, 1µL, 250 °C. Gás de arraste: Hélio 1,0 mL min^{-1}. Gradiente forno: 40 °C (5 min), 30 °C min^{-1} até 240 °C (4 min). Tempo de corrida: 15.667 min.	Fonte de ionização: impacto de elétrons (70 eV). Analisador: triplo quadrupolo. Faixa de m/z: 29-105	29
Etanol, isopropanol, metanol e impurezas	Gel e líquido	Gel: diluição em água, com adição de padrão interno e HCl concentrado Líquido: diluição em água, com adição de padrão interno	GC-FID (álcoois) GC-MS (impure-zas)	Coluna: RXI-1301 Sil MS (60 m x 250 µm, 1 µm). Para etanol e isopropanol - Injetor: *Split*, 100:1, 0.4 µL, 250 °C. Gás de arraste: Hélio 1 mL min^{-1}. Gradiente forno: 40 °C (1 min), 10 °C min^{-1} até 250 °C (10 min). Tempo de corrida: 32 min. Para impurezas - Injetor: *Split*, 50:1, 0.4 µL, 275 °C. Gás de arraste: Hélio 1 mL min^{-1}. Gradiente forno: 40 °C (1 min), 5 °C min^{-1} até 250 °C (5 min). Tempo de corrida: 48 min.	Temperatura: 250 °C. Gases da chama: H_2 (34 mL min^{-1}), Ar (375 mL min^{-1}) e N_2 (29 mL min^{-1})	30
Etanol, isopropanol, metanol, acetaldeído e outras impurezas	Gel e líquido	Gel: Adição de solução de dicloro-metano com 4-metil-2-pentanol, seguido de agitação e filtração Líquido: sem tratamento	GC-FID	Coluna: DB-624 (30 m x 0,32 mm, 1,80 µm). Injetor: *Split*, 40:1; 1 µL, 140 °C. Gás de arraste: Hélio 6 mL min^{-1}. Gradiente forno: 40 °C (5 min), 20°C min^{-1} até 225 °C (2,5 min). Tempo de corrida: 16.75 min.	Temperatura: 250 °C. Gases da chama: Ar (400 mL min^{-1}), H_2 (30 mL min^{-1}) e N_2 (25 mL min^{-1})	31
Etanol, isopropanol, metanol		Diluição em água e adição de padrão interno	GC-FID	Coluna: ZB-WAX plus (60 m x 0,25 mm, 0,25 µm). Injetor: 270 °C. Gás de arraste: Hélio 1,36 mL min^{-1}. Gradiente forno: 45 °C (7 min), 30 °C min^{-1} até 240 °C (7 min).	Temperatura: 270 °C	32

FID: *flame ionization detector*; GC: *gas chromatography*; HS: *headspace*; MS: *mass spectrometry*; SPME: *solid phase microextraction*.

maioria dos produtos analisados não podem ser classificados como higienizadores de mãos, mas como cosméticos, porque apenas produtos contendo concentração alcoólica acima de 70% (m/m) evidenciam a capacidade de desnaturar as membranas lipídicas e proteicas dos microrganismos. Esses trabalhos reforçam a necessidade do controle de

qualidade, especialmente nos níveis de fabricação de atacado e varejo, para garantir que o consumidor obtenha produtos de boa qualidade, com ação antisséptica e devidamente rotulados.[28]

Outro tópico importante no controle de qualidade é a detecção de impurezas e/ou contaminantes nas preparações antissépticas, sendo necessário o uso de detectores mais sensíveis, como o MS. Um procedimento analítico utilizando a GC-MS para avaliar a qualidade dos higienizadores para as mãos, considerando a concentração de etanol, isopropanol e a presença de impurezas que possam ser prejudiciais à saúde, foi desenvolvido pela *U. S. Food & Drug Administration* (FDA).[29] De acordo com as orientações da FDA, as possíveis impurezas são divididas em duas categorias, ou seja, nível 1 e nível 2. As impurezas de nível 1 correspondem ao metanol, benzeno, acetaldeído e acetal. Já as impurezas de nível 2 correspondem a acetona, 1-propanol, acetato de etila, 2-butanol, isobutanol, 1-butanol, 3-metil-1-butanol e álcool amílico. Neste trabalho, as impurezas classificadas como nível 1 foram avaliadas de forma quantitativa e as impurezas de nível 2 foram avaliadas qualitativamente utilizando uma abordagem de teste limite.[29] Para realizar a identificação das impurezas foram feitas comparações entre as amostras e os padrões, considerando os tempos de retenção e os espectros de massas correspondentes disponíveis no NIST17 *MASS SPECTRAL LIBRARY.* Os cromatogramas associados às análises em questão podem ser visualizados através da consulta ao documento da FDA disponibilizado gratuitamente na internet.[29] O método foi eficiente para a identificação e quantificação dos álcoois etanol e isopropanol, e das impurezas.[29]

Com o mesmo objetivo secundário de identificar impurezas, a concentração alcoólica e a presença de impurezas em 72 amostras de higienizadores para as mãos, de diferentes marcas e formulações, foram determinadas mediante emprego de quatro métodos analíticos desenvolvidos pelo *National Institute of Standarts and Technology* (NIST), agência governamental do Departamento de Comércio dos Estados Unidos.[30] Os autores relatam o uso da GC-FID como técnica clássica e de referência, e o uso de técnicas alternativas para a análise, como a cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por ultravioleta (HPLC-UV – *high performance liquid chromatography coupled to ultravioleta detection*), a ressonância magnética nuclear (NMR – *nuclear magnetic ressonance*) e a reflexão total atenuada no infravermelho com transformada de Fourier (ATR-FTIR - *attenuated total reflectance Fourier-transform infrared spectroscopy*).[30] Entre as amostras estavam formulações provenientes de locais que passaram a produzir durante a pandemia de COVID-19 de acordo com o guia disponibilizado pela OMS.[13] Alguns dos métodos utilizados pelo NIST também foram avaliados para formulações mais complexas, semelhantes às encontradas no comércio, em que há a presença de agentes gelificantes. As técnicas de GC-FID e HPLC-UV foram utilizadas para a quantificação dos analitos e das impurezas, enquanto que a técnica de ATR-FTIR foi utilizada como *screening* para estimar o teor de etanol nas amostras, e a NMR foi utilizada como *screening* para o etanol e para detectar possíveis impurezas.[30]

Para a determinação quantitativa do etanol foram aplicados os quatro métodos desenvolvidos e os resultados indicaram que cinco amostras estavam com concentração alcoólica abaixo de 60% (m/m), que é o limite recomendado pela OMS. Além disso, uma das amostras apresentou concentração alcoólica de 27,2% (m/m), muito abaixo do valor recomendado e indicado no rótulo.[30] O isopropanol foi detectado como componente principal em apenas uma amostra, e nas outras estava em níveis bem mais baixos.[30] O metanol foi identificado de forma qualitativa, sendo que as técnicas de GC-FID e RMN apresentaram resultados concordantes enquanto que os resultados por HPLC-UV indicaram divergências com alta variabilidade. Esse fato se deve provavelmente as condições das amostras e a concentração estar abaixo do limite de detecção. Os resultados de *screening* por NMR indicaram de forma quantitativa que quatro amostras apresentaram teor de metanol acima do limite permitido pela FDA. Ao utilizar a técnica de GC-FID, considerada como técnica clássica para análise de compostos volatéis como os alcóois, três amostras excederam o limite permitido.[30]

Os autores apresentam uma tabela de comparação entre a técnica clássica e as alternativas, considerando suas aplicabilidade, vantagens e desvantagens para a análise de etanol, isopropanol e metanol, conforme pode ser consultada no documento dispobilizado de forma gratuita na internet.[30] Sobre a GC, o detector FID foi escolhido como principal por ser simples, robusto e com alta reprodutibilidade, sendo desenvolvido um método específico para a determinação de etanol e outro para o isopropanol. O uso do detector MS auxiliou nas medidas qualitativas adicionais para a identificação de impurezas. O método por GC foi adequado para a quantificação dos componentes alcoólicos e impurezas presentes em higienizadores de mão. Os cromatogramas associados às análises em questão podem ser visualizados através da consulta ao documento do NIST disponibilizado gratuitamente na internet.[30] Apesar do tempo de análise elevado, esse parâmetro pode ser modificado otimizando a programação de temperatura do forno. A presença de impurezas em diferentes concentrações nas formulações pode ser um fator limitante para a utilização do detector FID, devido ao seu limite de detecção ser maior do que o detector por MS, por exemplo. Nesses casos, se faz necessário o uso de preparos de amostras específicos, como por exemplo, uma diluição menor da amostra e etapas de pré-concentração dos analitos.

Com a permissão temporária do uso de matérias-primas e outras substituições nos higienizadores de mãos pelas agências reguladoras, a rápida fabricação e disponibilização desses produtos fez com que etanol com concentrações elevadas de impurezas tóxicas, como o acetaldeído e o metanol, fosse amplamente utilizado. Neste contexto, 26

formulações líquidas e 16 em gel de higienizadores para as mãos, adquiridos no comércio local e na internet, foram analisados, em relação a presença de nove impurezas para determinar suas conformidades com as normas provisórias da agência governamental *Health Canada*, utilizando a GC-FID em um estudo descrito por Tse e colaboradores.[31] O preparo das formulações em gel consistiu em uma extração dos analitos com diclorometano, enquanto que as formulações líquidas não tiverem nenhum tratamento antes da injeção no equipamento de GC.[31] Das 42 amostras analisadas, 11 não estavam de acordo com as normas e o teor de etanol nas amostras líquidas variou entre 63% a 90% (v/v), sendo que apenas uma amostra apresentou concentração de 50%.[31] Apesar de não ter sido quantificado, o isopropanol foi detectado em 12 amostras. Duas amostras em gel continham isopropanol como ingrediente ativo, enquanto que quatro amostras (três líquidas e uma em gel) continham uma mistura elevada de etanol e isopropanol como ingredientes ativos. As seis amostras restantes indicavam a presença de quantidades mínimas deste composto.[31]

Inicialmente, eram permitidas concentrações de acetaldeído inferiores a 1000 ppm. No entanto, em junho de 2020, esse valor foi reduzido para 400 ppm e posteriormente para 75 ppm (em setembro de 2020). Essa queda nos limites permitidos foi atribuída em parte aos processos de destilação e purificação que foram melhorados em muitos locais de produção. Normalmente, os higienizadores de mãos são formulados usando etanol de grau farmacêutico, sendo limitada a concentração de 10 ppm de acetal e acetaldeído. Felizmente, das 42 amostras analisadas, 31 estavam de acordo com as diretrizes provisórias da *Health Canada* para etanol de grau técnico, enquanto que as outras 11 amostras apresentaram alta concentração de acetaldeído.[31] Outras impurezas também foram detectadas, como o 1-propanol, acetato de etila, 1-butanol e isobutanol, entretanto, suas concentrações estavam abaixo dos limites provisórios individuais da *Health Canada*. Na maioria dos produtos analisados foram detectadas a presença de umectantes, como glicerol e 1,2-propanodiol, que são normalmente adicionados como um agente hidratante. Das 26 amostras líquidas, 20 amostras continham glicerol. As presenças de outros componentes, como fragrâncias, podem dificultar as análises destes produtos.[31]

Os cromatogramas das amostras em gel apresentaram diversos picos não identificados, sugerindo, possivelmente, a contribuição de aditivos, como por exemplo, fragrâncias. Na maioria dos produtos analisados, as impurezas que foram identificadas e quantificadas indicam uma toxicidade mínima para o consumidor. No entanto, a presença de compostos não identificados pode ser preocupante, pois eles representam uma parcela significativa das impurezas totais em várias das amostras analisadas.[31]

O uso de etanol com alto teor de impurezas na fabricação de preparações antissépticas também foi reportado por Abuga e colaboradores.[32] Os pesquisadores desenvolveram um método por GC-FID para determinar a concentração de etanol, isopropanol e metanol de 74 higienizadores de mãos, de diferentes marcas. Cerca de 62 amostras apresentavam os álcoois permitidos individualmente ou uma mistura de etanol/isopropanol, com níveis variados de metanol, enquanto que em 11 amostras foi detectado o uso do metanol como substituição e principal constituinte. Em uma amostra, nem etanol ou isopropanol foram detectados enquanto que a concentração de metanol estava abaixo do limite permitido. As amostras foram avaliadas em relação a soma total de etanol e isopropanol, sendo 8 amostras com concentração alcoólica ≥ 60 % v/v, 30 amostras cumpriram com os limites de metanol presente, enquanto que nas amostras restantes foi verificado o uso de metanol como substituinte ou acima do limite de 630 ppm. Outras 18 amostras apresentaram diferentes tipos de álcoois dos indicados no rótulo como os principais ingredientes ativos. No geral, apenas três das amostras analisadas cumpriram todos os testes a que foram submetidos, enquanto que todas as outras amostras restantes falharam em pelo menos um dos testes. A partir dos resultados obtidos foi possível observar a grande quantidade de produtos abaixo do padrão ou falsificados na área de estudo, resultado da grande demanda devido a pandemia de coronavírus e o fato de muitos dos fabricantes não possuírem experiência na produção.[32]

O uso de etanol impuro pode ter sido o responsável pelo alto números de amostras em que a presença de metanol foi detectada. É necessário que os fabricantes fiquem atentos aos fornecedores de álcoois, através da constatação de laudos oficiais ou pela realização de testes nas matérias-primas antes do uso. Além disso, diversos produtos apresentaram componentes voláteis que não foram identificados e que requerem uma maior investigação. Para que isso seja possível, é mandatório o uso de técnicas mais avançadas como a GC-MS.[32]

3. Considerações Finais

A pandemia de COVID-19 proporcionou um aumento na procura por preparações alcoólicas antissépticas ou sanitizantes, levando a flexibilização da legislação de produção e comercialização desses produtos pelas agências reguladoras, como a OMS e a ANVISA. Dentro desse cenário, amostras de higienizadores para mãos nas formulações líquida, em gel e em spray, passaram a ser analisadas e avaliadas quanto a concentração alcoólica. As técnicas de GC-FID ou GC-MS possuem características compatíveis para a análise de álcoois e ao longo dos anos vêm sendo aplicadas como técnica de referência para a determinação da concentração alcoólica em diversos produtos. Dentre as vantagens, podemos destacar a alta seletividade e precisão, alta sensibilidade associada ao uso de diferentes detectores, uso do injetor adaptado com a técnica *headspace*, a qual permite prolongar a vida útil das colunas e evitar contaminações no injetor, além de ser uma técnica amplamente difundida entre os pesquisadores

e laboratórios com foco em análise pericial ou pesquisa.

A partir do levantamento realizado neste estudo de revisão, observamos que diferentes condições cromatográficas são empregadas para a análise da concentração alcoólica, destacando-se o uso de colunas com diferentes fases estacionárias e dimensões, a temperatura do detector FID e o preparo das amostras de acordo com o tipo da formulação (liquida, em gel ou em spray). Em todos os trabalhos considerados na presente revisão utilizaram programação de temperatura, a qual favorece a identificação simultânea de diferentes substâncias, com diferentes pressões de vapor, em uma mesma amostra, tendo o gás hélio empregado como gás de arraste. O uso do detector MS é relevante quando se deseja identificar e quantificar impurezas, uma vez que esses compostos geralmente estão em concentrações muito pequenas. A otimização desses parâmetros durante o desenvolvimento de um método é essencial para obtenção de resultados adequados e eficientes ao objetivo do trabalho.

Nesse contexto, a ausência de um método oficial recomendando pela OMS ou ANVISA para a determinação da concentração alcoólica de higienizadores para as mãos foi o ponto crítico para que fossem incentivados o desenvolvimento de métodos novos ou alternativos por GC.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (303355/2017-4 e 424032/2018-0), ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Bioanalítica (INCTBio) (FAPESP 2014/50867-3 e CNPq 465,389/2014-7), à Financiadora de Inovação e Pesquisa (FINEP) (CT-INFRA 01/2013-REF 0633/13), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (APQ-00585-21) e à Rede Mineira de Química (RQ-MG) (CEX.RED- 00010-14).

Referências Bibliográficas

1. Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS). *Histórico da pandemia de COVID-19.* Disponível em: <https://www.paho.org/pt/covid19/historico-da-pandemia-covid-19>. Acesso em: 19 agosto 2022.
2. Conselho Federal de Química. Nota Oficial - Esclarecimentos sobre álcool em gel caseiro, limpeza de eletrônicos e outros. Disponível em: <http://cfq.org.br/noticia/nota-oficial-esclarecimentos-sobre-alcool-gel-caseiro-higienizacao-de-eletronicos-e-outros/> Acesso em: 06 agosto 2021.
3. Lima, M. L. S. O.; Almeida, R. K. S.; da Fonseca, F. S. A.; Gonçalves, C. C. S.; A química dos saneantes em tempos de covid-19: Você sabe como isso funciona? *Química Nova* **2020**, *43*, 685. [Crossref].
4. Brasil, Ministério da Saúde, ANVISA. Resolução de Diretoria Colegiada - RDC n° 42, de 25 de outubro de 2010. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2010/res0042_25_10_2010.html> Acesso em: 07 abril 2022.
5. Brasil, Ministério da Saúde, ANVISA. *Formulário Terapêutico Nacional 2010: Rename 2010*, 2ª ed. Brasília, **2010**.
6. Brasil, Ministério da Saúde, ANVISA. *Formulário Nacional Da Farmacopeia Brasileira,* 2ª edição - Revisão 02, **2012**.
7. Brasil, Ministério da Saúde, ANVISA. Resolução de Diretoria Colegiada - RDC n ° 422, de 16 de setembro de 2020. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-de-diretoria-colegiada-rdc-n-422-de-16-de-setembro-de-2020-277906952>. Acesso em: 09 agosto 2021.
8. Araújo, S. B. de; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal de Pernambuco, **2009**. [Link]
9. Corrêa, N. M.; Júnior, F. B. C.; Ignácio, R. F.; Leonardi, G. R.; Avaliação do comportamento reológico de diferentes géis hidrofílicos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas* **2005**, *41*, 73. [Crossref]
10. Sequinela, R.; Lenza, G. F.; Silva, F. J. L. B. da; Silva, F. R. da; Soluções a base de álcool para higienização das mãos e superfícies na prevenção da Covid-19: compêndio informativo sob o ponto de vista da química envolvida. *Química Nova* **2020**, *43*, 679. [Crossref]
11. Melo, C. A. de S.; Domingues, R. J. de S.; Lima, A. B. de; *Elaboração de Géis e Análise de Estabilidade de Medicamentos* Editora da UEPA, 2018. [Crossref]
12. Pelufo, D. I.; Durante, L. C.; Diretrizes para implantação de um sistema de saúde e segurança do trabalho em empresas produtoras de álcool em gel. *E&S Engineering and Science* **2021**, *10*, 1. [Crossref]
13. Organização Mundial da Saúde. *Guia de Produção Local: formulações em gel antisséptico recomendadas pela OMS (traduzido)*, Jornal da USP. Disponível em: <https://jornal.usp.br/wp-content/uploads/2020/03/Guia-produção-de-gel-antisséptico-OMS.pdf>. Acesso em: 09 agosto 2021.
14. Brasil, Ministério da Saúde, ANVISA. *Orientações Gerais para Produção de Formulações Antissépticas Alcoólicas*. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/arquivos-noticias-anvisa/743json-file-1>. Acesso em: 09 agosto 2021.
15. Brasil, Ministério da Saúde, ANVISA. *Publicadas orientações sobre a produção de álcool gel*. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2020/publicadas-orientacoes-sobre-a-producao-de-alcool-gel>. Acesso em: 06 agosto 2021.
16. BBC News. *Coronavírus: os riscos do álcool gel feito em casa*. Disponível em: <https://www.bbc.com/portuguese/geral-51907893>. Acesso em: 06 agosto 2021.
17. Conselho Federal de Química. *Entenda por que produzir álcool gel em casa é perigoso*. Disponível em: <https://cfq.org.br/qs/entenda-por-que-produzir-alcool-gel-em-casa-e-perigoso/>. Acesso em: 12 outubro 2020.
18. Instituto Geral de Perícias. *Perícia identifica falsificação de álcool gel 70%*. Disponível em: <https://igp.rs.gov.br/igp-identifica-falsificacao-de-alcool-gel>. Acesso em: 15 julho 2021.
19. Perícia Forense do Estado do Ceará. *Após um ano de pandemia, Pefoce segue identificando substâncias ineficazes contra o vírus e tóxicas à saúde*. Disponível em: <https://www.pefoce.

ce.gov.br/2021/04/20/apos-um-ano-de-pandemia-pefoce-segue-identificando-substancias-ineficazes-contra-o-virus-e-toxicas-a-saude/>. Acesso em: 30 julho 2021.

20. Instituto de Pesquisas Tecnológicas. *Eficácia do álcool gel*. Disponível em: <https://www.ipt.br/noticia/1640-eficacia_do_alcool_gel.htm>. Acesso em: 15 julho 2021.
21. Brasil, Ministério da Saúde, ANVISA. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br>. Acesso em: 30 agosto 2021.
22. Skoog, D. A.; West, D. M.; Holler, F. J.; Crouch, S. R.; *Fundamentos de Química Analítica*, 9ª ed. Cengage Learning: São Paulo, 2014.
23. Zeeuw, J. de; Luong, J.; Developments in stationary phase technology for gas chromatography. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* **2002**, *21*, 594. [Crossref]
24. Rego, T. C. E. D.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, **2008**.
25. Lacerda, J. P. A.; de Oliveira, S. S.; Marcante, A.; a Rapid and Effective Method for Determination of Ethanol Content in Hand Sanitizers (Alcohol Gel). *Revista Ipt Tecnologia E Inovação* **2020**, *4*, 57. [Crossref]
26. Berkkan, A.; Ulutaş, O. K.; Analytical Performance and Validation of Head Space – Gas Chromatography – Flame Ionization Detector (Hs-Gc-Fid) Method for Alcohol Content and Evaluation of Efficiency and Possible Toxicity of Hand Sanitizers At the Time of Pandemic. *Revue Roumaine de Chimie* **2021**, *66*, 547. [Crossref]
27. Berardi, A.; Cenci-Goga, B.; Grispoldi, L.; Cossignani, L.; Perinelli, D. R.; Analysis of Commercial Hand Sanitisers amid CoViD-19: Are We Getting the Products that We Need? *AAPS PharmSciTech* **2020**, *21*, 1. [Crossref] [PubMed].
28. Yusuf, A. A.; Determination of alcohols in hand sanitisers: Are off-the-shelf hand sanitisers what they claim to be? *South African Journal of Science* **2021**, *117*, 1. [Crossref].
29. U.S. Food & Drug Administration; Direct Injection Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC-MS) Method for the Detection of Listed Impurities in Hand Sanitizers. **2020**, 1. [Crossref]
30. Bedner, M.; Murray, J. A.; Urbas, A. A.; Maccrehan, W. A.; Wilson, W. B.; A Comparison of Measurement Methods for Alcohol-Based Hand Sanitizers. *National Institute of Standards and Technology* **2021**, 1. [Crossref]
31. Tse, T. J.; Nelson, F. B.; Reaney, M. J. T.; Analyses of commercially available alcohol-based hand rubs formulated with compliant and non-compliant ethanol. *International Journal of Environmental Research and Public Health* **2021**, *18*, 1. [Crossref] [PubMed]
32. Abuga, K.; Nyamweya, N.; King'Ondu, O.; Quality of alcohol based hand sanitizers marketed in the nairobi metropolitan area. *East and Central African Journal of Pharmaceutical Sciencies* **2021**, *24*, 29. [Crossref]