



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DOUTORADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

OSCAR WILLIAM BARBOSA FERNANDES

**AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE CACHAÇA
DE ALAMBIQUE DE CINCO CULTIVARES DE CANA-DE-AÇÚCAR
COLHIDAS EM TRÊS ÉPOCAS DE MATURAÇÃO**

**OURO PRETO/MG
2013**

OSCAR WILLIAM BARBOSA FERNANDES

**AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE CACHAÇA
DE ALAMBIQUE OBTIDA DE CINCO CULTIVARES DE CANA-DE-
AÇÚCAR COLHIDAS EM TRÊS ÉPOCAS DE MATURAÇÃO**

Orientador: Prof. Dr. Robson José de Cássia Franco Afonso

Co-orientador: Prof. Dr. Mauricio Xavier Coutrim

Tese apresentada ao programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Ouro Preto como parte integrante dos requisitos para obtenção do título de doutor em Ciências Biológicas, área de concentração: Bioquímica Estrutural e Biologia Molecular.

Ouro Preto/MG,
Julho de 2013

F363a Fernandes, Oscar William Barbosa.
Avaliação da composição físico-química da cachaça de alambique obtida de cinco cultivares de cana-de-açúcar colhidas em três épocas de maturação [manuscrito] / Oscar William Barbosa Fernandes – 2013.
xv, 115f.: il. color.; graf.; tab.; mapas.

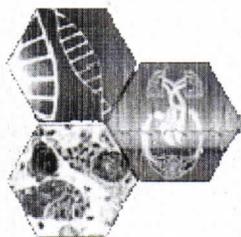
Orientador: Prof. Dr. Robson José Franco Afonso.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Ouro Preto. Instituto de Ciências Exatas e Biológicas. Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas.
Área de concentração: Bioquímica Estrutural e Biologia Molecular.

1. Cana-de-açúcar - Teses. 2. Cultivares - Teses. 3. Colheita - Teses. 4. Cachaça - Teses. I. Afonso, Robson José Franco. II. Universidade Federal de Ouro Preto. III. Título.

CDU: 663.543:577

Catálogo: sisbin@sisbin.ufop.br



Universidade Federal de Ouro Preto
Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas - NUPEB
Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas



Ata da Banca Examinadora de Defesa de Tese Intitulada:

“Avaliação da composição físico-química de cachaça de alambique obtida de cinco cultivares de cana-de-açúcar colhidas em três épocas de maturação”

Aos dezoito dias do mês de Julho de 2013, às 14:00, no Auditório do NUPEB da Universidade Federal de Ouro Preto, reuniu-se a Comissão Examinadora da Tese do aluno **Oscar William Barbosa Fernandes**. A defesa da tese iniciou-se pela apresentação oral feita pelo candidato e, em seguida, argüição pelos membros da banca. Ao final, os membros da banca examinadora reuniram-se e decidiram por **APROVAR** o candidato. A concessão do título está condicionada ao cumprimento das demais exigências previstas no Regimento deste Programa.

Membros da Banca Examinadora:

Prof. Dr. Rogério Lopes Brandão
Examinador (UFOP)

Prof. Dr. Helmuth Guido Siebald Luna
Examinador (UFMG)

Prof. Dr. Leandro Márcio Moreira
Examinador (UFOP)

Prof. Dr. Luiz Antônio de Bastos
Andrade
Examinador (UFLA)

Prof. Dr. Robson José de Cássia Franco
Afonso
Presidente

DATA DA DEFESA: **18/07/2013**

Agradecimentos

Se fosse agradecer, citando nomes, minha tese teria centenas de páginas só de agradecimentos. Entretanto, vou me permitir agradecer aqueles que neste momento me vêm à lembrança, porém peço desculpas àqueles que com certeza não vou conseguir lembrar.

Primeiramente a Deus pela força e sabedoria em todos os momentos da minha vida.

A Universidade Federal de Ouro Preto, pela oportunidade da realização deste curso.

Ao orientador, Prof. Dr. Robson José de Cássia Franco Afonso, pela valiosa orientação e pela confiança depositada em meu trabalho.

Ao co-orientador, Prof. Dr. Maurício Xavier Coutrim, pela disponibilidade, orientação e amizade.

Ao Prof. Dr. Rogelio Brandão, meu sincero agradecimento pelo estímulo e apoio que muito contribuíram para que eu iniciasse este curso.

A meus pais, Oscar e Neide, meus filhos Rodrigo e Aline e em especial a minha amada esposa pela compreensão, dedicação e carinho.

Aos colegas do doutorado Thiago, Lázaro, Magalhães, Rosimeire, Edilene, Antônio Roque, Andréia e em especial a Daniela companheira dos períodos de permanência em Ouro Preto.

Aos colegas do Laboratório Caracterização Molecular/Espectrometria de Massas da UFOP, especialmente Júlio, Gustavo, Ananda, Amanda, Júlia, Bruno, Bruna, Carlúcio, Débora e Cláudia, colaboradores deste projeto e que foram imprescindíveis para a realização das análises físico-químicas das cahaças.

Aos amigos Flávio Pena, Jáber Peixoto, Fernando Santos, Wanderson Lima, Marcelo Rossi, Leonardo Lanna, Isaias Teixeira, Ricardo Cardoso, Álvaro Diego, André Ramiro, Osmar e Rogério Amorim pela amizade, coleguismo e apoio em todas as etapas deste curso.

Ao IFNMG – Campus Salinas pela oportunidade da realização deste curso

Aos servidores do IFNMG – Campus Salinas, em especial a Profa. Dra. Maria Araci Magalhães e o Prof. Dr. Charles Bernardo Buteri, pelo apoio, pela atenção e presteza com as quais sempre fui muito bem atendido. Muito obrigado!

Enfim, a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a execução deste trabalho, os mais sinceros agradecimentos.

RESUMO

A qualidade da composição tecnológica da cana-de-açúcar como matéria-prima é importante para obtenção de cachaça de alambique de excelência. Neste sentido, este trabalho teve como objetivo avaliar as variações na composição físico-química da cachaça de alambique produzida sob condições controladas de fermentação e destilação a partir de cinco cultivares de cana-de-açúcar (RB72454, SP79-1011, SP80-1842, JAVA e RB765418), plantadas no mês de julho, conduzidas com irrigação suplementar e colhidas no ano seguinte em três estágios de maturação (junho, agosto e outubro). Para isto foi realizado um planejamento fatorial completo do tipo 5x3, com três replicatas. Verificou-se que os graus de maturação das cultivares avaliadas através do brix do caldo, pol da cana, pureza e açúcares redutores da cana diferiram entre a primeira e demais épocas, visto que na primeira época as condições ambientais ainda não favoreciam à maturação. Os resultados da avaliação multivariada utilizando análise de componente principal (PCA) dos valores resultantes da composição tecnológica das cultivares indicaram que as amostras de canas colhidas em junho possuíam características de composição tecnológicas próprias em relação às outras épocas, formando um grupo discriminado, porém não pode ser observada a distinção entre as cultivares. A partir das cinco cultivares de cana-de-açúcar, colhidas em três épocas distintas, com três replicatas, foram produzidas 45 amostras de cachaça sob as mesmas condições de produção, usando a mesma levedura selecionada. A composição físico-química das cachaças produzidas foi obtida por procedimentos oficiais e pela análise qualitativa dos compostos voláteis por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas. As análises quantitativas dos compostos voláteis não apresentaram diferenças significativas para os objetivos deste trabalho, porém todos apresentaram valores dentro dos limites estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). O perfil da composição dos compostos voláteis atestou que o tipo de cultivar não interferiu na formação de compostos presentes na cachaça. O mesmo não se pode afirmar em relação aos compostos avaliados por época de colheita, principalmente no que se refere à produção de ácido acético, lactato de etila e álcool n-butílico. Tais substâncias apresentaram um perfil qualitativo significativamente maior na primeira época em relação às outras épocas. Estes resultados submetidos ao teste estatístico de PCA permitiram de forma consistente a separação entre os grupos de cachaças produzidas em três épocas de maturação da cana-de-açúcar.

ABSTRACT

The quality of the technological composition of the sugar cane as raw is important for obtainment of alembic's cachaça of excellence. The aim of this study was to evaluate variations in the physico-chemical composition of the cachaça produced under controlled fermentation and distillation from five cultivars of sugar cane (RB72454, SP79-1011, SP80-1842, JAVA and RB765418) planted in July with use of additional irrigation and harvested in the next year, in three stages of maturation (June, August and October). The optimization of this stage was performed according to multivariate experimental designs; 5 x 3 full factorial designs in triplicates. The experiments showed that the degree of maturation of the cultivars evaluated by brix of the juice, cane's pol, purity and reducing sugars of the sugar cane were different between the first and others period. In the first period, environmental conditions did not favor the maturation. The results of the multivariate evaluation utilizing principal components analysis (PCA) of the values of technological conditions of the cultivars, showed that the samples of sugar cane harvested in June presented unique characteristics of technological composition when compared with sugar cane harvested in others periods, forming a discriminated group. However, it was not observed any distinctions between the cultivars. From five cultivars of sugar cane, harvested at three different periods, with three replicates, forty five cachaça samples were produced under the same conditions, using the same selected yeast. The physico-chemical composition of the produced cachaça was obtained by official procedures and qualitative analysis of the volatile compounds utilizing gas chromatographic coupled to mass spectrometry (GC-MS). The quantitative analysis of the volatile compounds not presented significant differences to the objective of this work, however, all samples presented concentrations within the limits established by the "Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA)". The composition profile of the volatile compounds confirmed that the type of cultivar did not interfere in the formation of compounds found present in the alembic cachaça. The same may not be affirmed in relation the compounds evaluated by harvested period, especially when is reported the production of acetic acid, ethyl lactate and n-butyl alcohol. Those compounds presented a qualitative profile higher in the first period when compared the others periods. The results obtained and submitted the PCA test showed the separation between the groups of cachaça produced in the three periods of sugar cane maturation.

SUMÁRIO

RESUMO.....	V
ABSTRACT.....	VI
LISTA DE FIGURAS.....	X
LISTA DE TABELAS.....	XIII
LISTA DE ABREVIATURAS.....	XIV
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. JUSTIFICATIVA.....	3
3. OBJETIVOS	4
3.1 Objetivo geral.....	4
3.2 Objetivos específicos.....	4
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
4.1 A cachaça e legislação brasileira.....	5
4.2 Cenário econômico da cachaça.....	5
4.3 Processo produtivo da cachaça de alambique.....	8
4.3.1 Cana-de-açúcar.....	9
4.3.2 Moagem.....	17
4.3.3 Fermentação.....	17
4.3.4 Propagação de leveduras.....	20
4.3.5 Destilação.....	22
4.4 Cachaça: aspectos da composição química e requisitos de qualidade.....	24
4.4.1 Compostos secundários.....	26
4.4.2 Contaminantes.....	30
4.5 Análises instrumentais.....	33

5. MATERIAIS E MÉTODOS.....	38
5.1 Planejamento experimental.....	38
5.2 Descrição da área de plantio e manejo fitotécnico das cultivares selecionadas de cana-de-açúcar.....	38
5.3 Cultivares de cana-de-açúcar utilizadas.....	42
5.4 Épocas de colheita das cultivares de cana-de-açúcar.....	44
5.5 Determinação dos parâmetros químico-tecnológico da cana-de-açúcar.....	44
5.5.1 Determinação do brix (%) do caldo.....	45
5.5.2 Determinação da fibra da cana-de-açúcar (F).....	45
5.5.3 Determinação da pol do caldo (S).....	45
5.5.4 Cálculo do coeficiente “C”.....	46
5.5.5 Determinação da pol da cana-de-açúcar (PC).....	46
5.5.6 Determinação da pureza do caldo (Q).....	46
5.5.7 Determinação dos açúcares redutores do caldo (AR % caldo).....	47
5.5.8 Determinação dos açúcares redutores da cana (AR % Cana).....	47
5.5.9 Determinação dos açúcares redutores totais % caldo extraído (ART % caldo).....	47
5.5.10 Determinação dos açúcares redutores totais % na cana-de-açúcar (ART % cana).....	47
5.5.11 Determinação do açúcar total recuperável (ATR).....	48
5.5.12 Determinação do caldo absoluto % da cana.....	48
5.5.13 Determinação da umidade % da cana.....	48
5.6 Fermentação e destilação.....	49
5.6.1 Linhagem utilizada.....	49
5.6.2 Manutenção da levedura LBCM 678.....	49
5.6.3 Meios de cultivo para fermentação.....	49
5.6.4 Preparo do inóculo para fermentação em escala piloto.....	49
5.6.5 Fermentação em escala piloto.....	50

5.6.6 Destilação.....	51
5.7 Análises físico-químicas estabelecidas pela legislação Brasileira.....	52
5.7.1 Graduação alcoólica.....	52
5.7.2 Análise de Cobre por Espectrometria de absorção atômica.....	52
5.8 Análises cromatográficas.....	52
5.8.1 Análise qualitativa de Compostos Voláteis por GC-MS.....	53
5.8.2 Análise quantitativa de carbamato de etila por GC-MS.....	54
5.8.3 Análises de Aldeídos e Cetonas por HPLC-DAD-MS.....	55
5.8.4 Análises Cromatográficas (CG-FID).....	57
5.9 Análise quimiométrica.....	58
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	60
6.1 Determinação dos parâmetros da composição tecnológica da cana-de-açúcar.....	60
6.1.1 Análise de componentes principais (PCA – Principal Components Analysis).....	63
6.1.2 Avaliação dos parâmetros tecnológicos da cana-de-açúcar em três épocas de colheita.....	64
6.1.3 Avaliação dos parâmetros tecnológicos da cana-de-açúcar de cada cultivar nas três épocas de colheita.....	68
6.1.4 Avaliação quantitativa dos parâmetros tecnológicos de cada cultivar de cana-de-açúcar por época de colheita.....	71
6.2 Parâmetros físico-químicos.....	74
6.2.1 Análise qualitativa de Compostos Voláteis por GC-MS.....	74
6.2.2 Análise quantitativa dos parâmetros físico-químicos.....	84
7. CONCLUSÕES.....	97
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	99
9. ANEXOS.....	113
9.1 ANEXO I.....	113
9.2 ANEXO II.....	114

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Principais países importadores em volume de cachaça brasileira em 2011.....	7
Figura 2. Fluxograma simplificado da cadeia produtiva de cachaça.....	8
Figura 3. Características da composição química e tecnológica da cana-de-açúcar.....	12
Figura 4. Ciclo da cana-de-açúcar e variações climáticas da região centro sul do Brasil.....	16
Figura 5. Via Simplificada Embden-Meyerhoff-Parmas (EMP pathway).....	18
Figura 6. Localização de Salinas no Estado de Minas Gerais.....	39
Figura 7a. Chuva acumulada mensal e número de dias com chuva em Salinas – MG no ano de 2009.....	40
Figura 7b: Chuva acumulada mensal e número de dias com chuva em Salinas – MG no ano de 2010.....	40
Figura 8a. Temperatura média mensal em Salinas – MG no ano de 2009.....	41
Figura 8b. Temperatura média mensal em Salinas – MG no ano de 2010.....	41
Figura 9. Gráfico de PCA <i>scores</i> para análise tecnológica de amostras de matéria-prima de diferentes cultivares de cana-de-açúcar, colhidas em três épocas de maturação.....	63
Figura 10. Gráfico de PCA <i>loadings</i> para os discriminadores da composição tecnológica das diferentes cultivares de cana-de-açúcar, colhidas em três épocas de maturação.....	64
Figura 11. Valor médio \pm erro padrão das concentrações do Brix do caldo % da cana, colhida em diferentes épocas de maturação.....	65
Figura 12. Valor médio \pm erro padrão das concentrações do pol da cana %, colhida em diferentes épocas de maturação.....	66
Figura 13. Valor mediano e percentis 25 e 75% das concentrações de pureza aparente % da cana ,colhida em diferentes épocas de maturação.....	67
Figura 14. Valor mediano e percentis 25 e 75% das concentrações de açúcares redutores da cana %, colhida em diferentes épocas de maturação.....	68
Figura 15. Valor mediano e percentis 25 e 75% das concentrações de brix do caldo % de cada cultivar de cana-de-açúcar, colhida em diferentes épocas de maturação.....	69
Figura 16. Valor mediano e percentis 25 e 75% das concentrações de pol da cana % de cada cultivar de cana-de-açúcar, colhida em diferentes épocas de maturação.....	70

Figura 17. Valor mediano e percentis 25 e 75% das concentrações de pureza aparente % de cada cultivar de cana-de-açúcar, colhida em diferentes épocas de maturação.....	70
Figura 18. Valor mediano e percentis 25 e 75% das concentrações de açúcares redutores % de cada cultivar de cana-de-açúcar, colhida em diferentes épocas de maturação.....	71
Figura 19. Cromatograma obtido por <i>GC-MS</i> correspondente à amostra de cachaça analisada no modo <i>fullscan</i>	74
Figura 20. Gráfico de <i>PCA scores</i> para análise de compostos voláteis nas amostras de cachaças produzidas com diferentes cultivares de cana-de-açúcar, colhidas em três épocas de maturação.....	75
Figura 21. Gráfico de <i>PCA loadings</i> para os discriminadores químicos determinados nas análises de compostos voláteis de amostras de cachaças produzidas com diferentes cultivares de cana-de-açúcar, colhidas em três épocas de maturação.....	76
Figura 22. Valor médio \pm erro padrão das áreas dos picos cromatográficos referentes aos teores de álcool isobutílico presente nas amostras de cachaças produzidas com diferentes cultivares de cana-de-açúcar colhidas em três épocas de maturação.....	77
Figura 23. Valor médio \pm erro padrão das áreas dos picos cromatográficos referentes aos teores de álcool isoamílico presente nas amostras de cachaças produzidas com diferentes cultivares de cana-de-açúcar colhidas em três épocas de maturação.....	77
Figura 24. Valor médio \pm erro padrão das áreas dos picos cromatográficos referentes aos teores de álcool phenethyl presente nas amostras de cachaças produzidas com diferentes cultivares de cana-de-açúcar colhidas em três épocas de maturação.....	78
Figura 25. Valor médio \pm erro padrão das áreas dos picos cromatográficos referentes aos teores de álcool n-butílico presente nas amostras de cachaças produzidas com diferentes cultivares de cana-de-açúcar colhidas em três épocas de maturação.....	79
Figura 26. Valor mediano e percentis 25 e 75% das áreas dos picos cromatográficos referentes aos teores de álcool n-butílico presente nas amostras de cachaças de cada cultivar de cana-de-açúcar, colhida em diferentes épocas de maturação.....	80
Figura 27. Valor mediano e percentis 25 e 75% das áreas dos picos cromatográficos referentes aos teores de lactato de etila presente nas amostras de cachaças produzidas com diferentes cultivares de cana-de-açúcar colhidas em três épocas de maturação.....	81
Figura 28. Valor mediano e percentis 25 e 75% das áreas dos picos cromatográficos referentes aos teores de lactato de etila presente nas amostras de cachaças de cada cultivar de cana-de-açúcar, colhida em diferentes épocas de maturação.....	81
Figura 29. Valor mediano e percentis 25 e 75% das áreas dos picos cromatográficos referentes aos teores de ácido acético presente nas amostras de cachaças produzidas com diferentes cultivares de cana-de-açúcar colhidas em três épocas de maturação.....	83

Figura 30. Valor mediano e percentis 25 e 75% das áreas dos picos cromatográficos referentes aos teores de ácido acético presente nas amostras de cachaças de cada cultivar de cana-de-açúcar, colhida em diferentes épocas de maturação.....	83
Figura 31. Gráfico de PCA <i>scores</i> para análise de compostos voláteis nas amostras de cachaças produzidas com diferentes cultivares de cana-de-açúcar, colhidas em três épocas de maturação.....	84
Figura 32. Cromatograma obtido por <i>CG-MS</i> para análise de carbamato de etila. Ion 188 monitorado no modo SIM para o padrão interno.....	87
Figura 33. Cromatograma obtido por <i>HPLC-DAD</i> correspondente à amostra de cachaça analisada em 360nm, no qual se identifica o pico correspondente ao 2,3 butanodiona.....	88
Figura 34. Cromatograma obtido de um <i>GC-FID</i> . Picos cromatográficos apresentados na seguinte ordem: 1-acetaldeído, 2-acetato de etila, 3-metanol, 4-n-propanol, 5-isobutanol, 6-n-butanol, 7-isoamílico e 8-n-pentanol.....	91

LISTA TABELAS

Tabela 1. Sugestão de Manejo de cultivares em Minas Gerais.....	11
Tabela 2. Limites estabelecidos pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – MAPA para os congêneres e contaminantes da aguardente de cana.....	25
Tabela 3. Valores mensais de precipitação pluviométrica (P), evapotranspiração da cana de açúcar (ETR) e Irrigação (Ir) em milímetros.....	42
Tabela 4. Concentração do carbamato de etila utilizado na curva analítica.....	54
Tabela 5. Valores médios (três repetições) e desvio padrão da composição tecnológica das cultivares de cana-de-açúcar colhidas em junho, agosto e outubro	61
Tabela 6. Valores médios e desvio padrão de parâmetros tecnológicos analisados em cultivares de cana-de-açúcar nos meses de junho, agosto e outubro.....	73
Tabela 7. Valores médios e desvio padrão de análises físico-química em amostras de cachaças produzidas a partir de cultivares de cana-de-açúcar nos meses de junho, agosto e outubro.....	85

LISTA DE ABREVIATURAS

ABRABE	Associação Brasileira de Bebidas
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
CONSECANA	Conselho dos Produtores de Cana-de-açúcar e álcool do Estado de São Paulo
COPERSUCAR	Cooperativa Central dos Produtores de Açúcar e Álcool do Estado de São Paulo
CTC	Centro de Tecnologia Canavieira
DAD	Detector de Arranjo de Diodos
EMATER	Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural
EMP	<i>Emden Meyerhoff Parmas</i>
ESI	<i>Electrospray Ionization</i>
FID	<i>Flame Ionization Detector</i>
FDP	<i>Flame Photometric Detector</i>
GC	<i>Gas Chromatography</i>
HCA	<i>Hierarchical Cluster Analysis</i>
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
IBRAC	Instituto Brasileiro da Cachaça
INMET	Instituto Nacional de Meteorologia
IT	<i>Íon Trap</i>
LBCM	Laboratório de Biologia Celular e Molecular
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
MS	<i>Mass Spectrometer</i>
PCA	<i>Principal Componentes Analysis</i>
PC	Principal Componente

Q-TOF	<i>Quadrupole Time of Flight</i>
RIDESA	Rede Interuniversitária para Desenvolvimento do Setor Sucroalcooleiro
SIM	<i>Selected ion monitoring</i>
SEBRAE	Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas
TOF	<i>Time of Flight</i>
UFC	Unidade Formadora de Colônia
v/v	Volume por volume
YP	<i>Yeast Peptone</i>
YPD2%	<i>Yeast Extract Peptone Dextrose 2%</i>

1. INTRODUÇÃO

O setor sucroalcooleiro do Brasil é o mais competitivo do mundo, pois apresenta maiores níveis de produtividade e de rendimento industrial, comparativamente aos seus principais concorrentes, sendo este, líder mundial do setor, possui menores custos de produção, proporcionado pela adoção de tecnologias modernas genuinamente brasileiras na produção agrícola, processamento e gestão (VIDAL *et al.*, 2006).

Segundo o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2013), introduzida no período colonial, a cana-de-açúcar se transformou em uma das principais culturas da economia brasileira.

A qualidade da matéria-prima é de suma importância na produção de álcool e está diretamente relacionada com a época de colheita da cana-de-açúcar, sendo esta influente nas características físico-químicas e microbiológicas que mais tarde acarretarão em alterações nas fases de fermentação, destilação e finalmente nas características químicas do álcool produzido (FIGUEIREDO *et al.*, 2008). Da mesma forma é de se esperar que as variações na composição química influenciem nas características físico-químicas e sensoriais da cachaça. Neste aspecto, as cultivares de cana-de-açúcar alocadas em condições de clima e solo mais adequados ao seu perfil genético, assumem papel decisivo no sucesso do agronegócio da cachaça (BARBOSA *et al.*, 2007).

A cachaça é uma bebida tipicamente brasileira, produzida praticamente em todas as regiões do país. É considerada a bebida destilada mais consumida no Brasil e a terceira mais consumida no mundo (ABRABE, 2011). Tem como principal característica o teor alcoólico superior ao de bebidas fermentadas. Inovações tecnológicas relacionadas à produção da cachaça vêm sendo introduzidas mais intensamente nas duas últimas décadas e abrangem desde a matéria-prima, passando pelos processos produtivos, no campo e no processamento industrial, até a apresentação final do produto (BARBOZA *et al.*, 2010).

Com o avanço tecnológico e a exigência do mercado consumidor, tanto nacional como internacional, o controle de qualidade em relação aos componentes químicos presentes na cachaça apresenta significativa importância. Por meio da Instrução Normativa nº 13/2005, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) aprovou o Regulamento Técnico para fixação dos padrões de qualidade para aguardente de cana e cachaça, alterando alguns componentes e acrescentando outros (BRASIL, 2005). Desde então, a cachaça deve atender a requisitos com limites máximos e mínimos de componentes voláteis em sua composição.

A análise instrumental da cachaça é realizada mais usualmente empregando técnicas cromatográficas. Essas análises objetivam relacionar a qualidade do produto com a presença ou ausência de certas substâncias, verificando se a bebida atende aos padrões nacionais e internacionais. Além disso, tais análises auxiliam na identificação e quantificação de alguns compostos prejudiciais à saúde humana, podendo ainda ser utilizada como ferramenta balizadora para percepção de semelhanças ou diferenças que possam ser traduzidos por indicadores químicos e sensoriais que possivelmente indiquem a origem geográfica da cachaça.

Este trabalho objetivou avaliar a influência de cinco cultivares de cana-de-açúcar, colhidas em três épocas de maturação e a conseqüente qualidade da matéria-prima sobre a composição físico-química das cachaças de alambique produzidas sob condições controladas. Com isto, espera-se gerar informações que possam orientar produtores e técnicos sobre as melhores cultivares e épocas de produção para obtenção de cachaça de qualidade.

2. JUSTIFICATIVA

A relação entre matéria-prima e a qualidade da cachaça de alambique é um ponto pouco estudado na produção dessa bebida. Porém, por analogia com a produção de açúcar, álcool e bebidas como cerveja, vinho e uísque, é factível pensar na existência de uma forte relação entre a qualidade da cana-de-açúcar e da cachaça. Desta forma, o presente estudo buscou relacionar a qualidade da matéria-prima de diferentes cultivares de cana-de-açúcar, em distintas épocas de colheita, aliada às boas práticas da cadeia produtiva da cachaça, como forma de melhorar as características químicas, sensoriais e estabelecer um padrão de qualidade para a cachaça de alambique.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral:

Avaliar a influência de cinco cultivares de cana-de-açúcar, colhidas em três épocas de maturação e a consequente qualidade da matéria-prima sobre a composição físico-química das cachaças de alambique produzidas sob condições controladas.

3.2 Objetivos específicos:

3.2.1 Determinar os parâmetros químico-tecnológicos de qualidade da matéria-prima das cultivares de canas-de-açúcar selecionadas.

3.2.2 Realizar análises físico-químicas e cromatográficas das cachaças de alambique obtidas pelo mosto fermentado do caldo de cada cultivar de cana-de-açúcar selecionada em três épocas de colheita.

3.2.3 Estabelecer relações entre a composição química dos destilados produzidos com a qualidade da matéria-prima e a cultivar utilizada.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 A cachaça e legislação brasileira

Cachaça é a denominação típica e exclusiva da aguardente de cana-de-açúcar produzida no Brasil obtida pela destilação do mosto fermentado do caldo de cana-de-açúcar com graduação alcoólica de 38% a 48% em volume a 20°C (graus Celsius), com características sensoriais peculiares, podendo ser adicionada de açúcares até 6 g.L⁻¹ (gramas por litro), expressos em sacarose (BRASIL, 2005). A avaliação da cachaça é efetuada com base em legislação específica (BRASIL, 1997), atualizada pela Instrução Normativa nº 13 de 29/06/2005 (BRASIL, 2005).

4.2 Cenário econômico da cachaça

Segundo a Associação Brasileira de Bebidas (ABRABE), o Brasil tem mais de 5 mil marcas de cachaça e cerca de 30 mil produtores. A cachaça ocupa a terceira posição no ranking mundial de bebidas destiladas. É reconhecida como um produto de grande potencial de exportação pelo governo brasileiro. Atualmente o setor de cachaça gera 650 mil empregos diretos e indiretos no país, movimentando cerca de US\$ 1 bilhão por ano. Entre 1970 e 2010, a produção passou de 418 milhões de litros para 1,8 bilhões de litros. A cachaça é consumida atualmente em mais de sessenta países, entre eles, alguns que têm sua população como sendo as mais sofisticadas e ricas do mundo (ABRABE, 2011).

A cadeia produtiva de cachaça ainda está focada nas vendas internas; o Brasil apresentava um consumo médio anual *per capita* de 4,42 L de cachaça em 1970, 8,72 L em 1985 e 12 L em 2008, para esses valores foi considerada apenas a população adulta (GONÇALVES *et al.*, 2008), logo, o país caracteriza-se como um dos maiores mercados mundiais da bebida.

Além da importância histórica e cultural, a cachaça desempenha importante papel na economia brasileira. Em Minas Gerais não é diferente, o estado é líder nacional na produção do destilado de cana-de-açúcar de alambique. Estima-se que existam em Minas Gerais cerca de 8.500 alambiques, dos quais 500 estão registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). O Estado responde por cerca de 250 milhões de litros da bebida por ano, gerando 116 mil empregos diretos e renda anual de R\$ 1,4 bilhão. (SILVEIRA *et al.*, 2010).

Poucas cidades brasileiras possuem símbolo que reflete a economia e cultura local. Salinas possui a cachaça como símbolo de sua vocação econômica e cultural. Para evitar a descaracterização da autêntica cachaça da Região de Salinas foi protocolado no INPI, em dezembro de 2009, o pedido de Indicação de Procedência (uma das modalidades de Indicação Geográfica). Com a concessão do selo, publicada em julho de 2012 pelo INPI, apenas as cachaças produzidas na região, usando as práticas agrícolas e modos de fabricação terão o selo apostado em suas garrafas. Esse selo será controlado pela Associação dos Produtores Artesanais de Cachaça de Salinas (APACS), através de um comitê gestor composto por associados e parceiros técnicos (EMATER - MG, SEBRAE e Instituto Federal-Campus Salinas). Atualmente, a produção anual gira em torno de 5 milhões de litros que é comercializada através de mais de 50 marcas. No município, a cadeia produtiva encontra-se consolidada e a formalidade do setor já é uma realidade (APACS, 2013).

De acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB), na safra 2010/2011 a estimativa de produção nacional de cana-de-açúcar destinada ao setor sucroalcooleiro foi de 624,991 milhões de toneladas, das quais 53,8% (336.276,1 milhões de toneladas) foram para a fabricação de álcool e 46,2% (288714,9 milhões de toneladas) para a produção de açúcar (CONAB, 2011). Em Minas Gerais, segundo maior produtor de cachaça de alambique do Brasil, vem ocorrendo grande evolução na atividade sucroalcooleira. A produção de cana passou de 18,2 milhões de t, em 2002, para 49,9 milhões de t no ciclo 2009/10. A extensão cultivada subiu 20% nos dois últimos anos, contando com 706,6 mil hectares na atual safra. Previsões do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa) indicam que a produção de cana-de-açúcar no Estado deverá subir 75% até 2020, índice facilmente alcançável após o crescimento de 180% entre 2003 e 2009. (SILVEIRA *et al.*, 2010).

Os estados de São Paulo, Pernambuco, Ceará, Minas Gerais e Paraíba são os que mais produzem aguardente. Por outro lado, o maior consumo interno ocorre nos estados de São Paulo, Pernambuco, Ceará, Bahia e Minas Gerais. A cachaça é a segunda bebida mais apreciada no país, ficando atrás somente da cerveja. No mundo, é a terceira bebida destilada mais consumida, perdendo apenas para a vodca, bebida de origem russa, e sochu, que é uma bebida coreana proveniente do arroz (SILVEIRA *et al.*, 2008).

Em relação ao comércio exterior (FIGURA 01), o país exportou para 60 países em 2011 totalizando 9.8 milhões de litros de cachaça. Sendo que os cinco primeiros concentram 53,17% do total de destino de vendas desse produto. A Alemanha foi o principal destino em

2010 e 2011, representando 18,81% nesse último ano, seguido por Estados Unidos (10,55%) e Portugal (10,0%) (BRASIL, 2013).

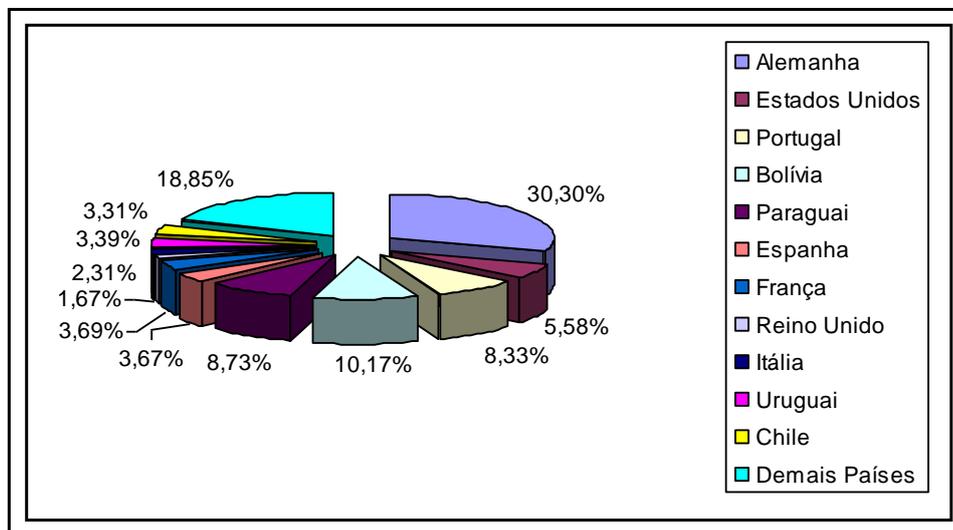


Figura 1: Principais países importadores em volume de cachaça brasileira em 2011 – Total: 9.801.094 L
Fonte: Brasil (2013).

Em 2011, as exportações de cachaça atingiram o valor de US\$ 17,3 milhões para todo o mundo. Desse total, US\$ 1,8 milhão, pouco mais de 10%, foi vendido para os Estados Unidos. Com o reconhecimento oficial da bebida pelo governo americano como um produto exclusivo e genuinamente brasileiro, a cachaça deixa de entrar no país como *brazilian rum*. O reconhecimento vai permitir às empresas brasileiras venderem este destilado aos Estados Unidos apenas com o nome de cachaça. Com a mudança, a promoção da cachaça no mercado americano poderá levar em conta seu caráter típico, tradicional. Também fica proibido o uso da denominação cachaça por empresas de outros países (IBRAC, 2013).

Com o objetivo de provar que o rum e a cachaça são produtos distintos, o IBRAC tem desenvolvido ações junto à agência americana responsável pela autorização e pelo controle da venda de bebidas alcoólicas (SILVEIRA *et al.*, 2008).

Um dos melhores preços no mercado internacional é obtido pela cachaça produzida em Minas Gerais. O que está associado ao tipo de cachaça produzida no estado, a de alambique (GONÇALVES *et al.*, 2008), e por destinar-se em maior quantidade a nichos de mercados mais exigentes.

4.3 Processo produtivo da cachaça de alambique

A produção de cachaça de alambique envolve as seguintes etapas: cultivo de cana-de-açúcar, moagem, filtração e decantação de caldo, fermentação, destilação, armazenamento/envelhecimento, padronização, engarrafamento e comercialização. O fluxograma representado na Figura 2 ilustra, de maneira simplificada, a cadeia produtiva de cachaça de alambique.

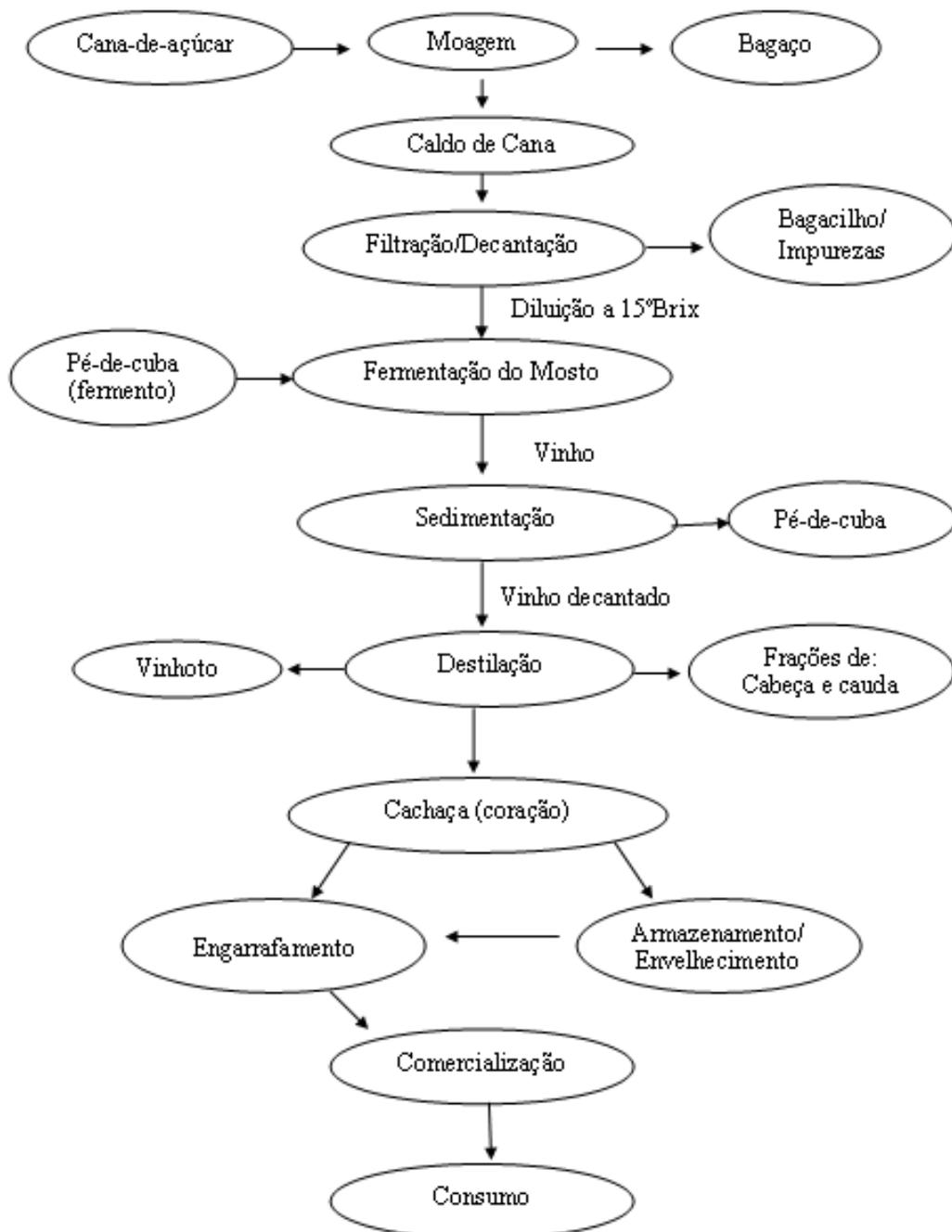


Figura 2: Fluxograma simplificado da cadeia produtiva de cachaça.
Fonte: França Junior, (2008).

4.3.1 Cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*), matéria-prima utilizada na fabricação de açúcar, álcool, aguardente, cachaça ou forragem, é uma planta de origem tropical pertencente à classe Monocotiledônea, família *Poaceae* (Graminea) e gênero *Saccharum*. Atualmente existem 32 espécies identificadas e catalogadas. As principais espécies conhecidas têm sua origem na Oceania (Nova Guiné) e Ásia (Índia e China), sendo as mais importantes a *Saccharum officinarum L.*, *Saccharum spontaneum L.*, *Saccharum sinense Roxb.*, *Saccharum barberi Jesw* e *Saccharum robustum Jesw*. As cultivares utilizadas comercialmente na atualidade no Brasil e no mundo para fins industriais são híbridos interespecíficos, envolvendo duas ou mais espécies diferentes, por esta razão, o nome científico da cana-de-açúcar é *Saccharum spp.* (ANDRADE, 2006).

As primeiras mudas de cana-de-açúcar foram introduzidas no Brasil em 1532, por Martim Afonso de Souza, procedentes da ilha da Madeira, impulsionando a formação dos primeiros engenhos açucareiros no país. Até o século XX, a espécie *Saccharum officinarum L.* foi responsável por grande parte da matéria-prima mundial, por meio de cultivares como Bourbon e Caiana. Entretanto, o surgimento da doença *sereh* e, posteriormente, o mosaico e a gomose, contribuíram para o início do melhoramento genético, a partir de 1880 (LANDELL *et al.*, 2006).

4.3.1.1 Manejo varietal da cana-de-açúcar

Barbosa e Silveira (2010) evidenciaram que o cultivar é a tecnologia mais importante e de menor custo para o produtor. Ela é a base que sustenta todas as demais tecnologias de produção. O sucesso na produção de energia, álcool, açúcar e outros subprodutos passa necessariamente pela produção de matéria prima de qualidade. Neste aspecto, a questão varietal é a tecnologia mais importante e de menor custo para o produtor (MACEDO *et al.*, 2009).

Através de vários programas de melhoramento genético, o Brasil é destaque em nível mundial quanto à obtenção de cultivares melhoradas para atender à produção de açúcar e álcool. A recomendação de cultivares para atender à produção de cachaça tem tomado como base aquelas que reúnem características agrônômicas e industriais mais adequadas à produção de açúcar e álcool (MACEDO *et al.*, 2009).

Ainda de acordo com Macedo *et al.* (2009), por questões probabilísticas, não é possível reunir numa só cultivar por meio de estudos de melhoramento genético, todas as características desejáveis, em termos agrônômicos e tecnológicos. No entanto, algumas características são importantes e desejáveis, tais como: máximo de produtividade em colmo e sacarose; boa adaptação a diferentes tipos de solos e clima, possibilitando maior adaptabilidade aos ambientes de produção; rápido desenvolvimento inicial; bom fechamento das entrelinhas; boa brotação de soqueira, especialmente quando cortadas no meio da safra, onde há falta de umidade no solo; colmos com diâmetro médio e uniforme, o que facilita a operação de moagem; despalha espontânea ou fácil, o que facilita a colheita e o processamento; ausência de joçal, que facilite o corte manual; longo período de industrialização, o que proporciona maior cobertura do período da safra; teor de fibra mais baixo, o que permite maior extração do caldo, quando do uso de moendas simples; tolerância às principais pragas e doenças, tendo em vista que estas trazem prejuízos incalculáveis ao canavial, podendo dizimá-lo; não apresente brotação tardia, o que evita maturação desuniforme; não haja tombamento de colmo, pois quando isto ocorre propicia sua quebra e/ou enraizamento, com conseqüente redução do teor de sacarose, além de dificultar o corte; não apresente florescimento e nem chochamento ou isoporização do colmo, pois isso propicia redução de sacarose e de peso da cana. Por fim, deve-se levar em conta o balanço qualidade/defeito para que a indicação de uma ou mais cultivares possa atender, como no álcool, à produção de cachaça de alambique de qualidade.

A alocação das cultivares em cada período de safra leva em conta, não somente a maturação, mas também todas as características agrônômicas das cultivares (BARBOSA *et al.*, 2007). Macedo *et al.* (2009) cita as principais cultivares de cana-de-açúcar que têm sido utilizadas para a produção de álcool e açúcar e também cachaça, no Estado de Minas Gerais, (TABELA 1).

Tabela 1 - Sugestão de Manejo de cultivares em Minas Gerais

Dias de Safra			
30 dias	45 dias	75 dias	75 dias
Precoce		Média	Tardia
Precoce 1	Precoce 2		
RB855156	RB835486	RB867515	RB72454
RB855453	SP80-1842	RB855536	RB867515
	RB855453	RB835486	
		SP79-1011	
		SP80-1816	
		SP80-3280	
		SP81-3250	

Fonte: Macedo *et al.* (2009).

Atualmente, são muitas as cultivares híbridas melhoradas geneticamente disponíveis e adaptadas a diferentes tipos de ambientes e manejo fitotécnico, possibilitando ao produtor a opção de escolha, e garantindo uma maior produtividade e qualidade da matéria-prima (FERNANDES, 2005). Os atuais híbridos recebem uma nomenclatura específica, onde é informada a instituição responsável pelo cruzamento e seleção, o ano do cruzamento e número específico do clone (ANDRADE *et al.*, 2002). As cultivares que possuem a sigla RB (República do Brasil) são desenvolvidas pelo Programa de Melhoramento das universidades federais que compõem a Rede Interuniversitária para Desenvolvimento do Setor Sucroalcooleiro (Ridesa) e a sigla SP (São Paulo), desenvolvidas pela Cooperativa dos Produtores de Cana-de-açúcar e Álcool do Estado de São Paulo (Copersucar), atualmente incorporado pelo Programa de Melhoramento do Centro de Tecnologia Canavieira (CTC) (BARBOSA *et al.*, 2007).

Atualmente, são muitas as cultivares melhoradas de cana-de-açúcar disponíveis e adaptadas a diferentes tipos de ambientes e manejo fitotécnico, possibilitando ao produtor a opção de escolha, e garantindo uma maior produtividade e qualidade da matéria-prima.

4.3.1.2 Parâmetros de qualidade da matéria-prima

O setor sucroalcooleiro nos últimos anos tem buscado com muita ênfase através de um cuidadoso trabalho de melhoramento genético, maior produtividade e melhor qualidade da matéria-prima. Na área industrial o objetivo principal tem sido o aumento do rendimento industrial, ou seja, maior quantidade de açúcar ou de álcool produzido por tonelada de cana,

que diretamente está relacionado com a qualidade da matéria-prima. Nos últimos anos, entretanto, maior tem sido a conscientização pelo aumento da eficiência industrial e melhoria da qualidade dos produtos finais (FERNANDES, 2011).

As pesquisas sobre a qualidade da matéria-prima têm demonstrado que a composição química da cana-de-açúcar é muito variável quantitativamente, porém qualitativamente ela é semelhante em todas as cultivares. Essa composição é influenciada por fatores relacionados à própria planta como estágio de desenvolvimento da cultura, variedade da cana, e também por fatores como manejo agrícola, clima e solo (ANDRADE, 2006).

Marques *et al.* (2001) apresentam algumas características e limites de composição química e tecnológica da cana-de-açúcar (FIGURA 3):

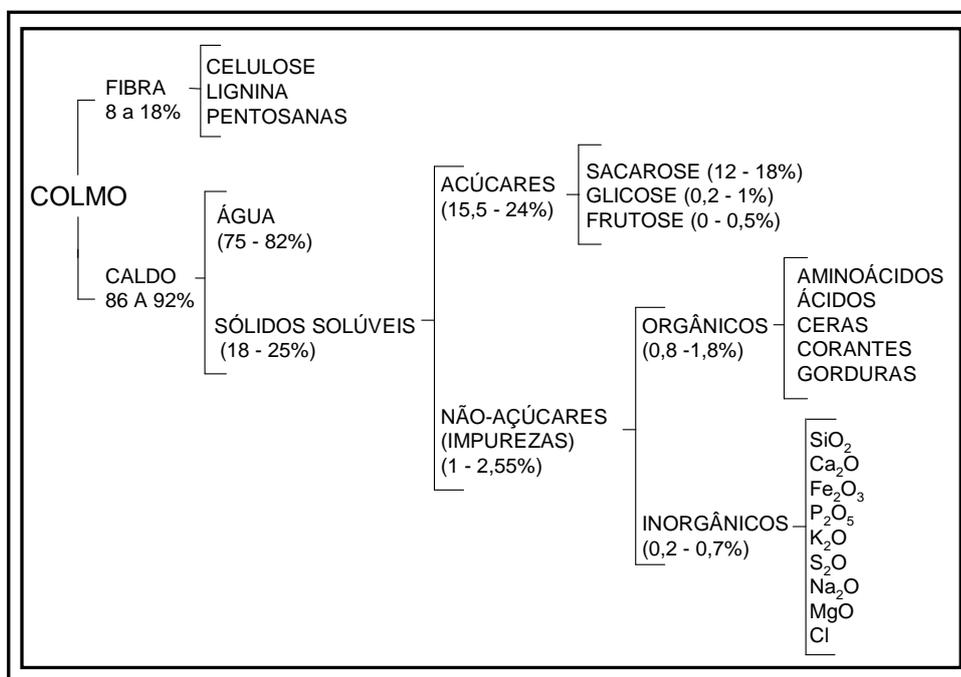


Figura 3: Características da composição química e tecnológica da cana-de-açúcar
Fonte: Marques *et al.* (2001).

Um bom controle de qualidade se inicia com a definição de parâmetros de avaliação da cana-de-açúcar (CALDAS e SANTOS, 2010). Os parâmetros tecnológicos que visam determinar a qualidade da matéria-prima nos laboratórios de usinas e destilarias estão relacionados abaixo, em conformidade com Fernandes (2011):

Pol representa a porcentagem aparente de sacarose contida numa solução de açúcares (por exemplo, caldo de cana), sendo determinado por métodos sacarimétricos (polarímetros ou sacarímetros). Quanto mais elevados os teores da Pol, maior é a maturação da cana.

Brix é o parâmetro mais utilizado na indústria de açúcar e álcool, e expressa a porcentagem (peso/peso) dos sólidos solúveis contidos em uma solução pura de sacarose, ou

seja, mede o teor de sólidos solúveis na solução. Por consenso, admite-se o brix como a porcentagem aparente de sólidos solúveis contidos em uma solução açucarada impura, como por exemplo, o caldo de cana-de-açúcar.

Pureza aparente ou pureza total é a porcentagem de sacarose contida nos sólidos solúveis, sendo denominada pureza total. Quando se utilizam Pol e Brix, diz-se pureza aparente. Quando a cana está madura, a pureza é maior do que quando a cana está verde, justamente porque este parâmetro (pureza) reflete a relação entre o teor de sacarose (quer real, quer aparente) e todos os demais sólidos solúveis.

Fibra é a matéria insolúvel em água contida na cana, sendo que fibra botânica é aquela determinada quando a análise é realizada em colmos limpos e fibra industrial, quando o valor se refere ao resultado da avaliação da matéria-prima.

Açúcares redutores (AR) designam os açúcares (glicose e frutose) que apresentam a propriedade de reduzir o cobre do estado cúprico a cuproso. Os teores de açúcares redutores no caldo são mais elevados quanto menos madura estiver a cana.

Açúcares redutores totais (ART) resultam da somatória dos açúcares redutores presentes nessa forma no caldo da cana e glicose e frutose que se originaram da hidrólise da sacarose. São representados por todos os açúcares do material na forma de açúcar invertido.

Açúcares totais (AT) referem-se à concentração do total de açúcares (sacarose + glicose + frutose) no caldo, expressa em porcentagem.

Açúcares totais recuperáveis (ATR) é um dos parâmetros do sistema de pagamento de cana implantado no Estado de São Paulo e representa a quantidade de açúcares redutores totais recuperada da cana até o xarope.

O percentual de umidade na cana é a quantidade relativa de água contida na cana, definida tecnologicamente como umidade % cana. A soma da fibra (bagaço) + sólidos solúveis (brix) + umidade = 100%

O Conselho dos Produtores de Cana-de-açúcar, Açúcar e Álcool do Estado de São Paulo (CONSECANA-SP) estabelece critérios para as análises dos parâmetros mencionadas acima e remuneração da cana. O sistema atual de pagamento aos produtores de cana prioriza a qualidade da matéria-prima pelo teor de sacarose (CONSECANA, 2006).

Devido a exigências do mercado, o processo produtivo da cachaça tem passado por grandes transformações, com grandes inovações tecnológicas como: utilização de equipamentos de alta precisão nas análises físico-químicas, análise sensorial e seleção de leveduras. Entretanto, o setor carece de informações sobre a qualidade da matéria-prima e a influência desta no produto final. A necessidade de pesquisar as características individuais de

cada cultivar de cana-de-açúcar e a correlação dessas no perfil cromatográfico e sensorial da cachaça de alambique pode ser um dos fatores fundamentais para se conseguir a padronização da bebida, contribuindo para melhorar a qualidade da cachaça.

4.3.1.3 Maturação da cana de açúcar e qualidade da matéria-prima

O processo de maturação é o momento de acumulação máxima de produtos fotoassimilados nos órgãos de reservas da planta, no caso da cana-de-açúcar, sacarose no colmo (DIOLA e SANTOS, 2010).

De acordo com Nogueira e Venturini Filho (2005), durante o seu ciclo, a cana atravessa normalmente dois períodos distintos com relação à formação da sacarose. O período inicial é evidenciado por um intenso crescimento vegetativo, acompanhado simultaneamente, por uma gradual formação de sacarose nos internódios adultos. No segundo, ocorre uma predominante formação de sacarose, motivada pela gradual escassez dos principais fatores responsáveis pelo desenvolvimento vegetativo, umidade e temperatura. Ainda, segundo estes autores, a maturação, como um processo fisiológico, é afetada por vários fatores naturais, como a própria cultivar, condições climáticas, tipo de solo e tratos culturais.

Para Clarke e Legendre (1999), em muitos sistemas de produção agrícola e industrial existe um conflito entre quantidade e qualidade, pois a produtividade tem precedência sobre a qualidade. Neste caso, destacam que a boa qualidade da matéria-prima favorece um processo rápido, com alto rendimento de produto. Porém, cabe lembrar que a situação inversa, quando do uso de matéria-prima de baixa qualidade, não só reduz a velocidade de processamento e a quantidade de produto, mas também afeta sensivelmente sua qualidade.

Altos teores de açúcares redutores indicam cana “verde”, enquanto baixos teores indicam cana “madura”. Em condições ideais o caldo da cana madura e pronta para industrialização deve conter cerca de 82% de água e 18% de sólidos solúveis (Brix), sendo a glicose $\pm 0,4\%$, frutose $\pm 0,2\%$ e sacarose $\pm 14\%$ (VASCONCELOS, 2010).

Segundo Ripoli e Ripoli (2004), o aumento do teor de açúcares redutores na cana-de-açúcar tem sido correlacionado com o aumento da contaminação bacteriana no início da safra, quando a cana não atingiu o ponto de maturação ideal. Os maiores prejuízos causados pela contaminação bacteriana são a degradação da sacarose e a formação dos ácidos láctico e acético que ocasionam a redução dos teores de açúcar e intoxicação das leveduras (OLIVA NETO e YOKOYA, 1994; FREDERICK, 1994).

Os principais fatores que afetam a qualidade da cana-de-açúcar são: a cultivar empregada, o meio ambiente (solo e clima), a presença de pragas e doenças, além do planejamento agrícola, este incluindo a maturação e o manejo da colheita (STUPIELLO, 1992). Clarke e Legendre (1999) acrescentam ainda que a fibra, fatores de estresse, deteriorização, conteúdo de sólidos totais, e de açúcar, geralmente expressos como brix e pol, são fatores que influem no rendimento do processo de produção da cachaça.

O que se pode inferir é que a composição química do caldo da cana-de-açúcar está diretamente relacionada com a época de maturação da cana-de-açúcar, pois esta influencia as características físico-químicas e microbiológicas do caldo, que mais tarde acarretarão em alterações tanto na fase de fermentação quanto na destilação da cachaça. Segundo Mutton (1998), a composição do caldo de cana depende de vários fatores, incluindo as cultivares empregadas, condições ambientais de cultivo, grau de maturação da cana, sistemas de colheita e de extração do caldo; este autor afirma ainda que os componentes açúcares e não-açúcares do caldo influenciam na fermentação por bactérias e leveduras selvagens que ocorrem durante o processo fermentativo.

4.3.1.4. Épocas de colheita

O planejamento de colheita na cultura da cana-de-açúcar se baseia no conceito de que a cana tem uma época, durante o ano, quando ocorre máxima concentração de sacarose nos colmos, em maturação fisiológica completa ou bastante avançada (COPERSUCAR, 1983). Por essa razão, não se recomenda iniciar a colheita para a produção de açúcar, enquanto as canas não atingirem os padrões tecnológicos mínimos para a sua industrialização (COPERSUCAR, 1980).

Segundo Landell e Bressiani (2008), a colheita da cana-de-açúcar na região Centro - Sul do Brasil, atravessa três estações do ano, iniciando-se no outono (abril a junho), passando pelo inverno (julho a setembro), e terminando na primavera (outubro a novembro). Estas três estações têm importante interferência nos parâmetros de qualidade e quantidade de matéria-prima, conforme descrição a seguir:

Safra de outono: matéria-prima de pior qualidade, devido à condição climática predominante no período, alta temperatura e umidade, desfavorável para a maturação.

Safra de inverno: matéria-prima de melhor qualidade, devido às condições climáticas, favoráveis à maturação como baixas temperaturas e período de seca.

Safra de primavera: oscilação da qualidade da matéria-prima, devido à dependência dos fatores climáticos e estágios muito avançados de maturação.

As diferentes épocas de maturação e colheita da cultura da cana-de-açúcar, e as variações de temperatura e precipitação pluviométrica durante o ano, características da região Centro-Sul do Brasil são mostradas na Figura 4.

A cana-de-ano (12 meses), plantada em setembro - outubro, tem seu crescimento máximo de novembro a abril, diminuindo o estágio de crescimento nos meses posteriores devido às condições climáticas desfavoráveis ao crescimento no período de inverno no Centro-Sul, baixas temperaturas e período de seca, podendo essa colheita ocorrer a partir de julho, isto em função do cultivar (RODRIGUES, 1995).

Ainda segundo Rodrigues (1995) a cana de ano e meio (18 meses), plantada de janeiro ao início de abril, apresenta taxa de crescimento mínimo ou mesmo nula ou negativa, de maio a setembro, em função da pequena disponibilidade hídrica no solo ou mesmo déficit hídrico, baixas temperaturas e menores intensidades de radiação solar. Já com o início das precipitações, aumento da intensidade luminosa e também da temperatura, a fase de maior desenvolvimento da cultura acontece de outubro a abril, com o pico do crescimento por volta de dezembro a abril.

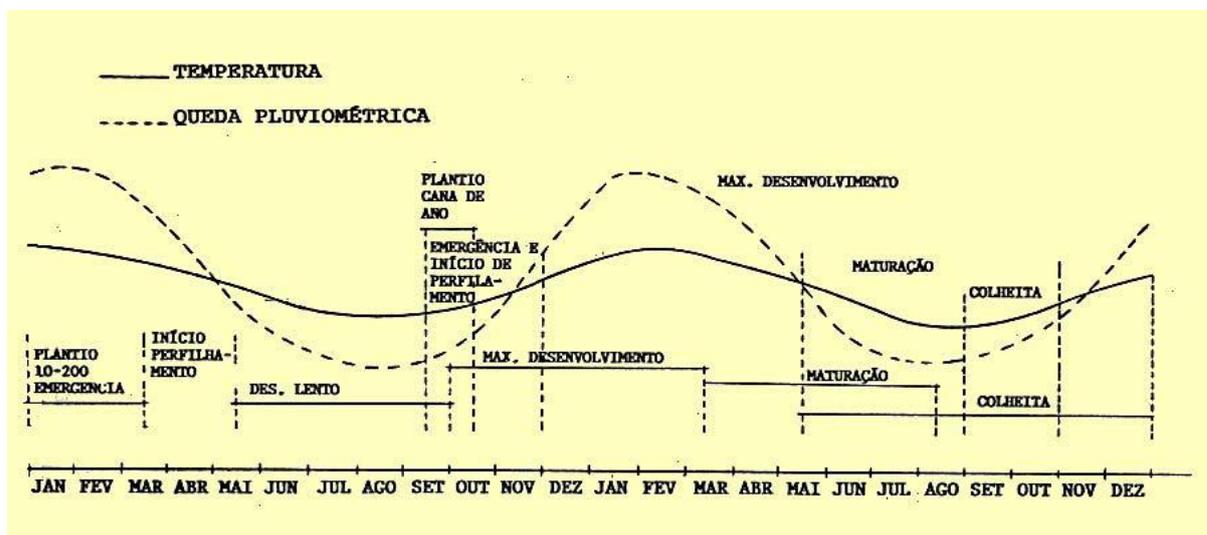


Figura 4: Ciclo da cana-de-açúcar e variações climáticas da região centro sul do Brasil.
Fonte: Casagrande (1991).

4.3.2 Moagem

A moagem de cana consiste basicamente na obtenção de caldo com auxílio de moendas, seguido de filtração e decantação para a retirada de material particulado como impurezas.

Geralmente, para a moagem da cana nas agroindústrias de cachaça de alambique são utilizados engenhos com apenas um terno de moendas desprovidas de reguladores de pressão, rendendo extração em torno de 600L de caldo por tonelada de cana. Antes de ser levado para a próxima etapa (fermentação), o caldo de cana precisa ser diluído com água potável e isenta de cloro, abaixando a concentração de açúcares para 15 ou 16 °Brix, visto que, em concentrações elevadas pode inibir o metabolismo das leveduras em decorrência de variações bruscas de pressão osmótica (MAIA e CAMPELO, 2005).

4.3.3 Fermentação

Durante o processo fermentativo do caldo de cana ocorre a metabolização do açúcar (sacarose) em álcool etílico e CO₂. Esse processo é feito por leveduras através do sistema de batelada alimentada, no qual o mosto é fornecido de forma escalonada, de acordo com o progresso da fermentação (FRANÇA JÚNIOR, 2008; SCHWAN *et al.*, 2006). O mosto é definido como substâncias de origem vegetal ou animal que contém elemento amiláceo ou açucarado, susceptível de transformar-se principalmente em álcool etílico, por fermentação alcoólica (Brasil, 1977).

As leveduras, em condições anaeróbias, metabolizam a glicose pela via Embden-Meyerhoff-Parnas (EMP) (FIGURA 5), produzindo, no final do processo, etanol e CO₂. Cada molécula de glicose metabolizada da origem as duas moléculas de etanol, 2 moléculas de CO₂ e 2 ATP, não requerendo oxigênio na cadeia de transporte de elétrons. O produto final é uma molécula de etanol comoceptor final de elétrons. Dessa maneira, a fermentação de um grama de glicose resulta na formação de 0,511 g de etanol, porém, na prática, essa taxa de conversão nunca excede 90 a 93 %. A diferença é resultante da utilização de açúcares para biossíntese de material celular de reposição e para reações de manutenção das células vivas (YOKOYA, 1995). Além disso, é normal que uma parte dos açúcares seja convertida em outros produtos, em menor quantidade, que por isto são denominados componentes secundários. Estes incluem glicerol, ácidos orgânicos (como succínico, acético, láctico,

butírico, etc.), álcoois superiores (amílico, isoamílico, butílico, isobutílico, propílico e isopropílico), aldeídos, ésteres, entre outros compostos voláteis (JANZANTTI, 2004).

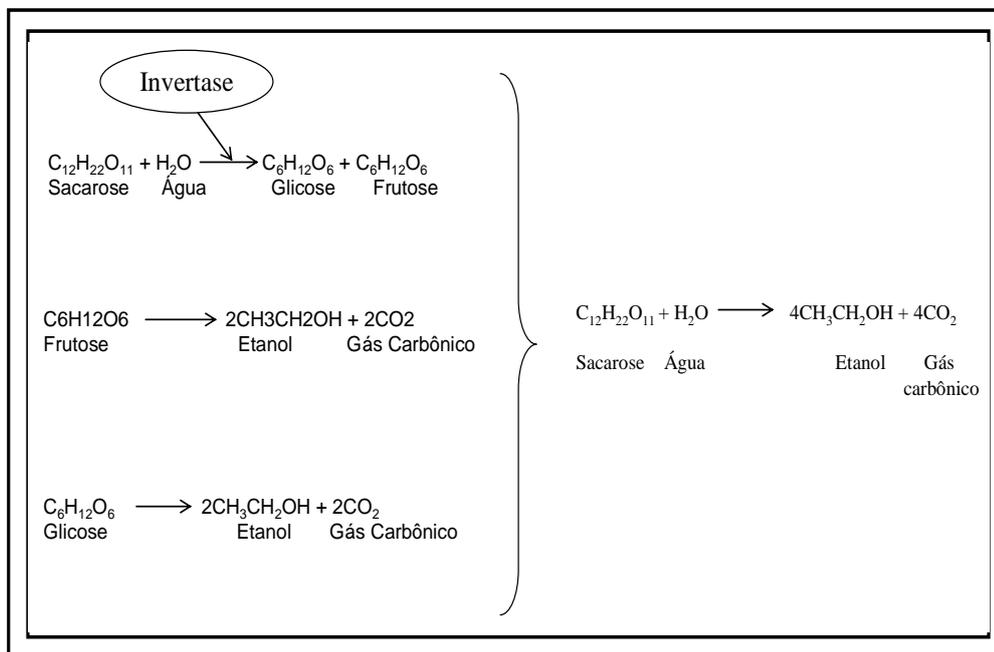


Figura 5: Via Simplificada Embden–Meyerhof–Parnas (EMP pathway)
Fonte: França Junior (2008).

Durante a produção de cachaça, uma comunidade microbiana complexa realiza a fermentação do mosto. A cada adição de caldo de cana e água na dorna são introduzidas novas populações de leveduras e bactérias. Esses microorganismos multiplicam-se e modificam as características do mosto e, assim, podem influenciar a frequência de ocorrência das populações microbianas durante a fermentação (GOMES *et al.*, 2009). Durante o ciclo fermentativo ocorre uma sucessão de espécies de leveduras, culminando a predominância de *Saccharomyces cerevisiae* (GOMES *et al.*, 2007; PATARO *et al.*, 1998; SCHWAN *et al.*, 2001). Espécies de leveduras não *Saccharomyces*, apesar de serem encontradas em contagens populacionais menores, podem contribuir para a composição sensorial da cachaça (GOMES *et al.*, 2009), dentre essas, as principais espécies encontradas são: *Pichia mebranifaciens*, *Kloeckera apis*, *Candida sake*, *Zygosaccharomyces bailii* e *Debaryomyces hansenii* (GOMES *et al.*, 2007; MARINI *et al.*, 2009). Além disso, outras espécies de leveduras não *Saccharomyces* já foram isoladas e identificadas: *Rhodotorula glutinis*, *Candida maltosa*, *Kluyveromyces marxianus*, *Pichia heimii*, *Hanseniaspora uvarum*, *Pichia subpelliculosa* e *Pichia methanolica* (PATARO *et al.*, 1998; PATARO *et al.*, 2000; SCHWAN *et al.*, 2001).

Açúcares desviados para outras rotas metabólicas resultam na formação de diversos compostos como ácidos orgânicos (lático, acético, fórmico, butílico), aldeídos e ésteres.

Estes, além de causarem redução no rendimento alcoólico, provocam alterações nas propriedades sensoriais dos destilados, como a cachaça, com conseqüente depreciação do produto (YOKOYA, 1995). Corroborando com esse autor Lopes (2003) descreve que altas contaminações bacterianas (acima de 10^7 UFC.mL⁻¹) podem provocar floculação e perda do fermento, consumir a sacarose e outros nutrientes do mosto destinados as leveduras, além de outros problemas que, somados, podem levar às perdas de rendimento alcoólico.

Contrastando com esses resultados, Santos (2013), em trabalho sobre fermentação consorciada com bactérias na produção de cachaça, ficou evidenciado que a presença desses microrganismos não acarretou perda de rendimento alcoólico e na taxa de consumo de sólidos solúveis totais. Além disso, as cachaças produzidas com essas bactérias não depreciaram o produto final.

A presença dessas bactérias ocorre em razão da resistência a altas temperaturas e baixos valores de pH presentes no mosto (GOMES *et al.*, 2009; PATARO *et al.*, 2002; SCHWAN *et al.*, 2006). A maior porcentagem de bactérias presentes no mosto fermentado é gram-positiva (SANTOS JUNIOR, 1998). Em um estudo realizado por Schwan *et al.* (2001) o gênero *Lactobacillus* representou 71% do total de bactérias gram-positivas e 24% foram do gênero *Bacillus*. As bactérias produtoras de ácido lático foram o grupo de maior população, entretanto não foram capazes de se multiplicarem durante o processo fermentativo.

Além dos microrganismos contaminantes, outros fatores interferem na fermentação alcoólica, os principais são: aeração, concentração de açúcares, acidez (pH), temperatura e nutrientes (SCHWAN *et al.*, 2006). A fermentação na produção de cachaça é um processo relativamente rápido, se comparado com outras bebidas, como o vinho e a cerveja. A duração média de um processo fermentativo é de 24 horas (PATARO *et al.*, 2002).

Algumas cepas das leveduras *Saccharomyces* são referidas como floculantes porque têm a característica de formarem flocos (aglomerados de células) mediante interações entre os componentes de suas paredes celulares. Dentre as peculiaridades estruturais da parede celular dessas leveduras, destacam-se teores elevados de fosfatos e de carboxilas livres, que propiciam a formação de pontes de cálcio, o cátion divalente Ca^{2+} se associa a terminais aniônicos da parede celular. A floculação das leveduras acontece geralmente após o esgotamento dos açúcares, quando os aglomerados atingem dezenas de células, assim as leveduras sedimentam-se no fundo da dorna (MAIA e CAMPELO, 2005). A floculação é um mecanismo reversível com dependência de íons cálcio (MILL, 1964) e também da movimentação entre as células, visto que é o aumento de colisão entre as células, que pode

facilitar a adesão das mesmas (KIHN *et al.*, 1988; STRATFORD *et al.*, 1988). Esse processo tem duração de 3 a 6 hs (NOGUEIRA e VENTURINI FILHO, 2005).

Em decorrência desse fenômeno, as mesmas leveduras podem ser reutilizadas na próxima fermentação, pois esse mecanismo permite a separação delas do mosto fermentado. Centrífugas também são utilizadas para essa finalidade, no entanto aumenta o custo de produção. Segundo Maia e Campelo (2005) o ciclo completo da fermentação, no qual envolve a fermentação propriamente dita e a sedimentação das leveduras deve ser ajustada para que ocorra em 24 hs. Segundo Santos (2013), fermentações mais lentas acarretam em maiores níveis de contaminação bacteriana e acidez do mosto, além de perda no rendimento alcoólico.

4.3.4 Propagação de leveduras

Para que se tenha garantia de uma fermentação regular e de alto rendimento é necessário introduzir no caldo de cana grande quantidade de leveduras, em especial *Saccharomyces cerevisiae*. Esta quantidade inicial chama-se de pé de cuba, pé de fermentação, lêvedo, fermento ou inóculo (SCHWAN *et al.*, 2006).

Na maioria das destilarias de cachaça de alambique, a multiplicação do inóculo é realizada de forma espontânea através de uma mistura de caldo de cana em baixa concentração (em torno de 5°Brix), fubá de milho, farelo de arroz e caso necessário suco de limão para diminuir o pH do mosto. O caldo de cana é adicionado à mistura diariamente durante cinco a oito dias e no decorrer desse período aumenta-se gradativamente a concentração do mesmo até atingir 15 ou 16°Brix. A partir do segundo dia é necessário fornecer aeração intensa durante todo o período de multiplicação das células. De acordo com Maia e Campelo (2005) é importante não confundir aeração intensa com aeração turbulenta, pois quanto menor for as micro bolhas de ar mais eficiente é aeração. Numa situação ideal, o oxigênio seria todo absorvido no seu trajeto entre o fundo e o topo da dorna de propagação.

A levedura possui dois tipos de metabolismo celular: oxidativo e fermentativo. O primeiro ocorre na presença de oxigênio, no qual a levedura pode apresentar o “efeito Pasteur” oxidando os carboidratos por respiração e estimulando a multiplicação intensa. Já o segundo, metabolismo fermentativo, ocorre na ausência de oxigênio, ocorrendo assim a produção de etanol e CO₂. Este último, formado na reação de transformação da sacarose em álcool etílico, contribui para a manutenção da anaerobiose na dorna de fermentação (SCHWAN e CASTRO 2001; SCHWAN *et al.*, 2006).

Através da multiplicação espontânea ocorre propagação da microbiota oriunda dos substratos adicionados e também dos equipamentos utilizados na moagem da cana. Essa microbiota é constituída de vários microrganismos, sendo alguns responsáveis pela fermentação alcoólica (SCHWAN *et al.*, 2006). Segundo Schwan *et al.* (2001), o volume inicial do pé de cuba, obtido através dessa técnica, quando sedimentado, equivale normalmente a 20% do volume da dorna de fermentação, em geral este inóculo consiste em uma população mista de leveduras e bactérias, em torno de $3,6 \times 10^9$ UFC.mL⁻¹ e $3,6 \times 10^4$ UFC.mL⁻¹, respectivamente.

Durante a multiplicação espontânea são fornecidos todos os nutrientes (proteínas, vitaminas) e condição física (temperatura) propícia para o desenvolvimento de leveduras, porém ocorrem dois inconvenientes. O primeiro deles, é que, aliado às leveduras, o número de microrganismos contaminantes é enorme, podendo assim interferir na qualidade e rendimento da fermentação, bem como na composição dos produtos formados. A outra desvantagem é a mão de obra e o tempo necessário para que o pé-de-cuba obtido tenha quantidade suficiente de leveduras para iniciar a fermentação alcoólica (SCHWAN e CASTRO 2001; SCHWAN *et al.*, 2006).

A utilização de linhagens de leveduras selecionadas de *Saccharomyces cerevisiae*, isoladas nas próprias unidades de produção, é uma alternativa na tentativa de controlar eficientemente o processo fermentativo da cachaça. Segundo Vicente *et al.*, (2006); Oliveira *et al.*, (2008) o procedimento desenvolvido para o isolamento de cepas de leveduras apresentando características para a produção de uma cachaça de qualidade baseia-se nos parâmetros: produção baixa ou nula de H₂S; floculação positiva, alta capacidade fermentativa, tolerância a altas concentrações de etanol e açúcares, altas temperaturas e resistência a drogas.

O laboratório de biologia celular e molecular (LBCM) da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP) desenvolveu uma metodologia para seleção de leveduras bem adaptadas ao processo de produção de cachaça e potencialmente produtoras de maiores níveis de compostos voláteis aromatizantes, importantes para o “bouquet” da bebida.

Essa técnica consiste na preparação do inóculo a partir de uma cultura pura selecionada em laboratório, promovendo sua multiplicação sucessiva em caldo de cana com teores crescentes de Brix. Inocula-se inicialmente uma porção de 100 mL de caldo a 5ºBrix, enriquecido e esterilizado em autoclave. Após crescimento, acrescenta-se caldo a 7º Brix, preparado como o anterior, continuando assim por diante, até atingir um volume suficiente para inocular as dornas de fermentação. O uso de linhagens selecionadas para a produção de cachaça de alambique apresenta diversas vantagens em relação ao uso de fermentação

espontânea. Pode-se citar a minimização das contaminações de microrganismos indesejáveis, redução do tempo de fermentação, rendimento alcoólico elevado, uniformidade do produto final e manutenção da ótima qualidade (SCHWAN e CASTRO 2001; SCHWAN *et al.*, 2006).

PATARO *et al.* (2002), VICENTE *et al.* (2006) e GOMES *et al.* (2007), descrevem que através da utilização de linhagens selecionadas de *Saccharomyces cerevisiae* ocorre redução dos custos de produção; menor tempo de fermentação; maior facilidade na separação das células de levedura do mosto fermentado, no final do processo de fermentação; início mais rápido do processo; fermentação completa do mosto, em decorrência da maior tolerância das linhagens selecionadas às altas concentrações de etanol, à alta pressão osmótica e às altas temperaturas presentes nas dornas de fermentação; produção de baixos níveis de ácido acético; baixos níveis de açúcares residuais; produção de compostos intracelulares que protegem as leveduras dos estresses do processo; menores variações dos sabores da bebida; aumento dos níveis de compostos secundários desejáveis, em especial, os ésteres e alta produtividade em etanol.

4.3.5 Destilação

Posteriormente à fermentação, o mosto fermentado é levado à etapa de destilação. Assim como as outras etapas da produção de cachaça, a destilação é muito importante, uma vez que é responsável pela formação de muitos caracteres sensoriais da bebida (DIAS, 2006). É uma operação que consiste em separar e selecionar os compostos de acordo com as temperaturas de ebulição ou de mudança de fase do componente (SALES, 2001).

As condições sob as quais é efetuada a destilação são de primordial importância para características da bebida, pois além de afetarem as quantidades relativas dos compostos secundários, promovem algumas reações químicas induzidas pelo calor e, dependendo do tipo de reação, os componentes voláteis do mosto fermentado podem aumentar ou diminuir e, ainda, dar origem a novos componentes. Algumas reações são bem conhecidas, como a hidrólise, a esterificação, a acetalização, a produção de furfural e as reações com o cobre (LÉAUTÉ, 1990).

Segundo Brasil (2005) a destilação deve ser conduzida de forma que a cachaça obtida preserve o aroma e sabor dos principais componentes contidos na matéria-prima e congêneres produzidos na fermentação. Ainda de acordo Brasil (2005) é vedada a adição de qualquer substância ou ingrediente após a fermentação no equipamento de destilação que altere as características sensoriais naturais do produto.

De acordo com Yokoya (1995), os aparelhos de destilação usados na obtenção de bebidas destiladas são, na maioria, construídos com cobre, metal bem maleável, bom condutor de calor, resistente ao desgaste físico, apresentando grande influência na formação de sabor e aroma do produto. As reações entre os congêneres e as superfícies de cobre do destilador são especialmente importantes. Essas são capazes de remover ou modificar muitos compostos desagradáveis presentes no processo.

O uso de cobre metálico na fabricação do alambique, aparelho destilador, é importante do ponto de vista de qualidade sensorial do produto, pois o mesmo influi decisivamente no teor de congêneres, em especial o acetaldeído (CARDOSO *et al.*, 2007). O cobre atua como catalisador na produção de acetaldeído em um processo de desidrogenação do etanol, além disso, esse metal participa na reação de oxidação de compostos sulfurados voláteis altamente indesejáveis, devido ao seu odor desagradável, transformando-os em compostos insolúveis, enquanto a crosta cúprica formada na superfície da chapa, exposta aos vapores do destilado, catalisa a esterificação de ácidos orgânicos pelo álcool, bem como a redução e a conseqüente remoção de sulfetos orgânicos e mercaptanas, agregando sabor e aroma característicos à cachaça de alambique (NASCIMENTO *et al.*, 1998; YOKOYA, 1995).

O mosto fermentado ou vinho, de maneira geral, possui composição complexa e variável, contendo substâncias sólidas, líquidas e gasosas (SALES, 2001). As substâncias sólidas são representadas, principalmente, pelas células de leveduras e bactérias (DIAS, 2006) dos produtos gasosos, sendo o CO₂ o principal componente (MAIA, 1994). Já a parte líquida é constituída de água (88 a 93%) e de álcool (7 a 12%). Além desses, em pequenas quantidades, estão presentes os compostos secundários. Estima-se que o mosto fermentado contenha aproximadamente 400 compostos voláteis além da água e o álcool etílico (LIMA, 2001; VALSECHI, 1960 *apud* DIAS 2006).

Durante a destilação, em alambique de cobre, ocorre separação do destilado total em três frações: cabeça, coração e cauda. A cachaça é a fração intermediária, denominada coração (MAIA e CAMPELO, 2005). A separação dessas frações é realizada por meio de cortes, e o critério para os cortes são as temperaturas dos vapores no capitel do alambique para o destilado de cabeça e o teor alcoólico do destilado para encerrar a retirada do destilado de coração (MAIA, 1994). Os cortes dessas frações também podem ser feitos utilizando a porcentagem em volume do destilado total (FRANÇA JUNIOR, 2008).

De maneira geral as frações cabeça, coração e cauda são recolhidas da seguinte forma: 1) cabeça, recolhida nos primeiros minutos da destilação, corresponde aos primeiros

vapores. O teor alcoólico desta fração é alto (geralmente, acima de 65% v/v a 20°C), devido à volatilidade do álcool presente no vinho. A separação dessa fração é efetuada pelo recolhimento de 2,5 a 5% do volume do destilado total, além disso, essa fração contém altos teores de componentes secundários, que se tornam indesejáveis na cachaça (FRANÇA JUNIOR, 2008; MAIA e CAMPELO, 2005); 2) coração, é a segunda fração, correspondendo a 80% do destilado, é a cachaça propriamente dita que é recolhida até que o teor alcoólico atinja de 1,0 a 1,5% v/v a 20°C acima do que é estabelecido para ser engarrafada (FRANÇA JUNIOR, 2008); 3) cauda, também denominada “água fraca”, pode corresponder de 7,5 a 15% do volume do destilado total, tem baixa graduação alcoólica, em torno de 14% v/v a 20°C, por isso é descartada (MAIA, 1994; FRANÇA JUNIOR, 2008).

4.4 Cachaça: aspectos da composição química e requisitos de qualidade

Cachaça é composta principalmente de água e álcool em proporções variáveis e de compostos secundários em quantidades menores, que conferem à bebida suas características peculiares de aroma e sabor. Estes compostos pertencem às seguintes classes: ácidos orgânicos, aldeídos, ésteres, alcoóis superiores, furfural, terpenos, lactonas, furanos, pirazinas, dentre outros (LEHTONEN e JOUNELA-ERIKSSON, 1983; NYKANEN. e NYKANEN, 1983 *apud* SILVA *et al.*, 2009, p. 101).

Já para Siebald *et al.* (2009), a composição química da cachaça pode ser dividida em duas porções: a fração inorgânica e a fração orgânica. A primeira, fração inorgânica é constituída principalmente por íons metálicos, tais como: alumínio, cádmio, cálcio, chumbo, cobalto, cobre, cromo, estanho, ferro, lítio, magnésio, manganês, mercúrio, níquel, potássio, sódio, zinco; e por fração orgânica, aquela que contém: alcoóis, como etanol e metanol; alcoóis superiores, como álcool isoamílico; isobutanol; aldeídos, como formaldeído, acetaldeído; furfural; ácidos carboxílicos, como ácido acético (responsável pelo sabor e o cheiro do vinagre); ésteres, como acetato de etila (cheiro de frutas), caprilato de etila (cheiro de abacaxi); carbamato de etila; cetonas, como acetona; compostos sulfurados (aqueles que contêm enxofre), como dimetilsulfeto. Essas são apenas algumas das muitas espécies químicas encontradas em cachaças. Ainda de acordo Siebald *et al.* (2009), a composição química completa não é conhecida. Deve se considerar também que sua constituição varia de acordo com a região e o procedimento empregado na elaboração da bebida.

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) publicou em 30 de junho de 2005 a Instrução Normativa (IN) n.º 13 de 29 de junho de 2005, que estabeleceu padrões de identidade e qualidade para cachaça e aguardente de cana (TABELA 2).

Tabela 2 - Limites estabelecidos pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento MAPA para os congêneres e contaminantes da aguardente de cana.

COMPOSTO	UNIDADE	MÍNIMO	MÁXIMO
Cobre ^a	mg.L ⁻¹	-	5,00
Chumbo ^a	µg.L ⁻¹	-	200
Arsênio ^a	µg.L ⁻¹	-	100
Carbamato de etilaa	mg.L ⁻¹	-	150
Acroleína ^a	mg.100 mL ⁻¹ A.A.	-	5,00
Álcool metílico ^a	mg.100 mL ⁻¹ A.A.	-	20,0
Álcool sec-butílico (2-butanol) ^a	mg.100 mL ⁻¹ A.A.	-	10,0
Álcool n-butílico (1-butanol) ^a	mg.100 mL ⁻¹ A.A.	-	3,00
Acidez volátil (em ácido acético) ^b	mg.100 mL ⁻¹ A.A.	-	150
Ésteres totais (em acetato de etila) ^b	mg.100 mL ⁻¹ A.A.	-	200
Aldeídos totais (em acetaldeído) ^b	mg.100 mL ⁻¹ A.A.	-	30,0
Soma de furfural e hidroximetilfurfuralb	mg.100 mL ⁻¹ A.A.	-	5,00
Soma dos alcoóis isobutílico (2-metil propanol), isoamílicos (2-metil-1-butanol + 3-metil-1-butanol) e n-propílico (1-propanol) ^b	mg.100 mL ⁻¹ A.A.	-	360
Soma dos congêneres	mg.100 mL ⁻¹ A.A.	200	650

A.A.= Álcool anidro; a = Contaminante; b = Congêneres
 Fonte: Brasil (2005).

A graduação alcoólica para cachaça varia de 38 a 48 % v/v a 20°C, já para a aguardente de cana a variação é de 38 a 54 % v/v a 20°C; além disso, esta pode ser obtida a partir do destilado alcoólico simples de cana-de-açúcar ou pela destilação do mosto

fermentado do caldo de cana. Enquanto a cachaça só pode ser obtida exclusivamente pela destilação do mosto fermentado do caldo de cana. Tanto na aguardente de cana quanto na cachaça pode-se adicionar açúcares até 6 g.L^{-1} , expressos em sacarose (BRASIL, 2005).

De acordo com a Tabela 2, a concentração máxima de alcoóis superiores atualmente permitida é $360 \text{ mg.100 mL}^{-1}$ de álcool anidro (aa), e não mais $300 \text{ mg.100 mL}^{-1}$ aa estabelecidos pela legislação anterior (BRASIL, 1974); além disso, a IN nº. 13 de 29 de junho de 2005 definiu quantidades máximas permitidas de alguns contaminantes, anteriormente não mencionados como, por exemplo, carbamato de etila ($150 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$), acroleína (5 mg.100 mL^{-1} de aa), álcool sec-butílico ($10 \text{ mg.100 mL}^{-1}$ de álcool anidro), álcool n-butílico (3 mg.100 mL^{-1} de álcool anidro), chumbo ($200 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$) e arsênio ($100 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$).

O carbamato de etila é uma uretana, composto considerado carcinogênico. O Canadá foi o primeiro país que estabeleceu uma legislação específica sobre o assunto e devido ao seu pioneirismo, tornou-se um referencial para os Estados Unidos e Comunidade Européia, que também estabeleceram o limite de $150 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$. A detecção e controle do carbamato de etila na cachaça e aguardente de cana torna-se extremamente necessário, pois além dos aspectos ligados à saúde pública, sua presença em concentrações superiores a $150 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ é uma barreira para exportações para Europa e América do Norte (ANDRADE SOBRINHO *et al.*, 2002).

O cobre é um dos metais indesejáveis na cachaça e aguardente, e seu limite permitido permanece em 5 mg.L^{-1} . Sua presença na bebida provém do material tradicionalmente utilizado na construção dos alambiques. A legislação de alguns países do hemisfério norte estabelece um limite inferior a 2 mg.L^{-1} de cobre nos destilados alcoólicos, o que dificulta a exportação (LIMA NETO *et al.*, 1994).

4.4.1 Compostos secundários

Os compostos secundários ou congêneres são substâncias formadas durante a fermentação alcoólica concomitantemente ao álcool etílico e gás carbônico (YOKOYA, 1995). A origem e quantidade desses compostos são determinadas, em diferentes níveis, pelas características da matéria-prima, fermentação, destilação e envelhecimento. Os principais congêneres formados durante a fermentação pertencem às classes funcionais dos ácidos, ésteres, aldeídos e alcoóis, e em proporções menores formam-se também cetonas, compostos fenólicos aminas e mercaptanas (MAIA, 1994).

4.4.1.1 Acidez volátil

A acidez presente na cachaça, bem como todos os congêneres, é de grande importância, constituindo um fator de qualidade, uma vez que, durante sua produção, os ácidos reagem com os alcoóis presentes, aumentando a formação dos ésteres. Estes são alguns dos constituintes responsáveis pelo aroma. O excesso de acidez pode ser atribuído a contaminação da cana ou do próprio mosto fermentativo por bactérias acéticas e outras, fazendo com que o substrato sofra fermentação acética, elevando a acidez e diminuindo o rendimento da produção de etanol. Além disso, a acidez elevada promove sabor indesejado e ligeiramente “agressivo” em cachaça, depreciando a qualidade da bebida (CARDOSO, 2006; CHERUBIN, 1998).

O ácido acético expresso em acidez volátil tem sido quantitativamente o principal componente da fração ácida da cachaça, mas Nykanen e Nykanen (1991) *apud* Barcelos (2006, p. 15) relataram que os principais ácidos presentes em bebidas destiladas são fórmico, acético, propiônico, butírico, hexanóico, decanóico, láurico, mirístico e succínico.

4.4.1.2 Ésteres

Com relação aos ésteres, Nascimento (2007) afirma que sua principal origem, nas bebidas alcoólicas, está no metabolismo secundário intracelular das leveduras durante a fermentação alcoólica. Para Lambrechts e Pretorius (2000), os ésteres encontrados em bebidas alcoólicas são produzidos durante a fermentação como produtos secundários do metabolismo de açúcares e constituem um importante grupo de componentes que afetam o sabor e aroma do produto.

Ainda segundo Lambrechts e Pretorius (2000), os ésteres podem ainda ser classificados quanto à sua estrutura, onde ocorrem:

a) os ésteres de acetato (o grupo ácido é acetato e o grupo alcoólico é etanol ou um complexo alcoólico derivado de metabolismos de aminoácidos) tais como acetato de etila (solvente), acetato de isoamila (banana) e acetato de fenil etila (rosas, mel);

b) os ésteres de etila: (o grupo ácido é um ácido graxo de cadeia média [MCFA – sigla em inglês] e o grupo alcoólico é etanol e inclui hexanoato de etila (maça), octanoato de etila (maça azeda) e decanoato de etila (floral).

Numericamente, os ésteres são o maior grupo de compostos de aroma em bebidas destiladas, sendo oriundos da fermentação, da destilação e do envelhecimento (JANZANTI,

2004). Nascimento (2007), ao estudar a concentração de ésteres em bebidas destiladas, verificou em 136 amostras de aguardente de cana que os principais ésteres encontrados foram: acetato de etila, lactato de etila, decanoato de etila, dodecanoato de etila e octanoato de etila. Os aromas específicos desses ésteres majoritários foram descritos como “abacaxi”, “frutado”, “maçã”, “floral” e damasco, respectivamente.

O éster lactato de etila é de grande importância pelo fato, de ser este, o segundo éster mais abundante em cachaça (NASCIMENTO *et al.*, 2008). A presença de lactato de etila na cachaça está relacionada com a contaminação do mosto por bactérias (*Lactobacillus* spp.) responsáveis pela fermentação láctica, favorecida pelo controle deficiente da fermentação alcoólica. A origem destas bactérias no mosto está associada à própria matéria-prima (cana-de-açúcar, levedura e água) e ao local de produção da bebida (planta). Assim, a presença de lactato de etila constitui por si um indicador da qualidade de fermentação (NASCIMENTO, 2007).

Entretanto em trabalhos de fermentação consorciada entre *Saccharomyces cerevisiae* e bactérias lácticas, Carvalho (2011) e Santos (2013) constataram que somente a presença de bactérias lácticas não garante uma maior produção do lactato de etila, mas sim que a interação entre as cepas desses micro-organismos utilizados é determinante para a maior produção desse éster.

4.4.1.3 Aldeídos

Os aldeídos, principalmente o acetaldeído é um composto resultante da ação de leveduras durante estágios preliminares do processo de fermentação, tendendo a desaparecer no estágio final, desde que não ocorra aeração (MAIA e CAMPELO, 2005). De modo geral ocorre aumento excessivo na formação de aldeídos quando se faz aeração do mosto durante a fermentação, por isso recomenda-se não aerar e sequer remexer o mosto durante essa etapa (SOUZA, 2009). A presença de oxigênio favorece a formação de outros aldeídos, provenientes da oxidação de alcoóis superiores que, por sua vez, são gerados pela degradação parcial de aminoácidos. Durante a destilação, os aldeídos se concentram no destilado de cabeça. Entretanto, o aumento do volume do destilado de cabeça pode acarretar perda de componentes desejáveis, como ésteres, dentre estes, o caprilato de etila, que acompanha os primeiros vapores gerados pelo mosto, quando a temperatura de fervura ainda é menor (MAIA e CAMPELO, 2005).

4.4.1.4 Furfural e hidroximetilfurfural

Já o furfural e hidroximetilfurfural são aldeídos indesejáveis na bebida, pois conferem à cachaça aroma penetrante e enjoativo. Os açúcares residuais e os compostos sulfurados podem sofrer transformações químicas durante o aquecimento do mosto no alambique. A presença desses açúcares, bem como o bagacilho no mosto, poderá formar compostos indesejáveis, catalisados pelo aumento da temperatura e pelo pH ácido do vinho, desidratando os açúcares e hidrolisando celulose, hemicelulose e pectina, como também outros polissacarídeos do bagacilho, seguido da desidratação dos monômeros de pentoses e hexoses, originando furfural e hidroximetilfurfural, respectivamente (MAIA, 1994; MAIA e CAMPELO, 2005).

4.4.1.5 Alcoóis superiores

Os alcoóis superiores são alcoóis com mais de dois átomos na cadeia principal provenientes da oxidação dos aminoácidos durante o processo de fermentação (GALHIANE, 1988; PENTEADO e MASINI, 2009). Os alcoóis com até cinco átomos de carbono apresentam aromas característicos (buquê) tradicionalmente associados com bebidas destiladas. Estes são responsáveis pelo aroma da bebida, destacando-se os alcoóis amílico e propílico, e seus respectivos isômeros. São formados a partir do desvio do metabolismo dos aminoácidos pelas leveduras, ocasião em que o cetoácido envolvido é descarboxilado a aldeído, com posterior redução a álcool superior. Com o aumento do número de carbonos, o aroma modifica-se substancialmente e os alcoóis tornam-se oleosos; alguns deles lembram fortemente aroma de flores. Esse excesso é chamado óleo fúsel, o qual diminui o valor comercial e a qualidade da cachaça. Semelhante ao metanol esses alcoóis também apresentam propriedades biológicas, sendo depressores do sistema nervoso central; entretanto, diferentemente do metanol, eles não provocam acidose nem lesão na retina (MAIA, 1994).

A formação de alcoóis superiores é influenciada pela composição do meio (concentração de açúcar, pH, concentração e tipo de fonte de nitrogênio), pela temperatura, pelo grau de aeração durante a fermentação além da linhagem da levedura. A quantidade de álcoois superiores é maior quando a fermentação for mais demorada, resultante da atividade de fermento mais fraco. Ao contrário dos ésteres, a síntese de álcoois superiores é estimulada por oxigênio e está relacionada linearmente ao crescimento da levedura (GIUDICI *et al.*, 1990).

4.4.2 Contaminantes

Os contaminantes relacionados na IN n°. 13 de 29 de junho de 2005 foram subdivididos em orgânicos e inorgânicos. Os orgânicos são: álcool metílico, carbamato de etila, acroleína, álcool sec-butílico e álcool n-butílico. Já os inorgânicos são: cobre, chumbo e arsênio.

4.4.2.1 Contaminantes orgânicos

4.4.2.1.1 Álcool metílico

O álcool metílico ou metanol é um álcool particularmente indesejável na aguardente, originando-se da degradação da pectina, um polissacarídeo presente na cana-de-açúcar. A molécula de pectina é um composto formado pela associação de centenas de moléculas de ácido galacturônico, que possuem fragmentos de moléculas de metanol, as quais são liberadas durante o processo de fermentação. O metanol é altamente tóxico para o homem. Devido à menor velocidade de oxidação, a intoxicação pode ser precedida por um período latente e assintomático que pode durar de 8 a 36 horas. No organismo, o metanol é oxidado a ácido fórmico e, posteriormente, a CO₂, provocando acidose grave, o que faz com que ocorra a diminuição do pH sanguíneo, afetando o sistema respiratório, podendo levar ao coma e até à morte (CARDOSO, 2001).

4.4.2.1.2 Carbamato de etila

O carbamato de etila (C₂H₅OCONH₃), também conhecido como uretana, é o éster etílico do ácido carbâmico cristalino, incolor inodoro, de sabor salino, refrescante e levemente amargo. Apresenta temperatura de fusão entre 48 e 50°C e temperatura de ebulição entre 182 e 184°C (BUDAVARI, 2001 *apud* MASSON, 2009, p. 30). É muito solúvel em água, alcoóis, éter, cetonas, ésteres e solventes clorados. As bebidas destiladas, exceto o gim e a vodka, apresentam valores de carbamato de etila muito mais altos do que em vinhos e cervejas (MORRISON e BOYD, 1992 *apud* MASSON, 2009, p. 30).

Existem várias vias possíveis para a formação de carbamato de etila nas bebidas alcoólicas, geralmente envolvendo a reação entre etanol e precursores nitrogenados tais como uréia (ZIMMERLI e SCHLATTER, 1991), fosfato de carbamila (LAWRENCE *et al.*, 1990) e

cianeto (COOK *et al.*, 1990). Este último é considerado precursor do carbamato de etila durante e após o processo de destilação (MASSON, 2009). No entanto, os possíveis mecanismos de formação do carbamato de etila ainda não se encontram claramente estabelecidos. A presença deste composto tornou-se hoje preocupação constante para os produtores, pois é um carcinógeno conhecido para animais em testes de laboratório realizados por Iark (1986); Kail (1990); Schlatter e Lutz (1990) e também por Schmahl *et al.* (1997).

4.4.2.1.3 Acroleína

A acroleína é um aldeído (2-propenal), possui gosto amargo, odor penetrante e apimentado, formada pela desidratação do glicerol, produto da fase inicial da fermentação, na presença de ácidos, a quente, quando em contato com as superfícies metálicas da coluna de destilação. Também pode ser formada a partir de lactobacillus que podem converter o glicerol do mosto em β -hidroxipropionaldeído, que é convertido em acroleína pelo aquecimento na destilação. Esse contaminante desaparece após um período de 2 a 3 anos de envelhecimento, dando origem a um componente não agressivo (NYKANEN e NYKANEN, 1991; KORHOLA *et al.*, 1989, *apud* FRANÇA JÚNIOR, 2008).

4.4.2.1.4 Alcoóis n-butílico e sec-butílico

O aumento dos teores dos alcoóis n-butílico (1-butanol) e sec-butílico (2-butanol), são gerados por meio de bactérias, podendo comprometer a qualidade da cachaça. O n-butanol pode ser produzido como co-produto da acetona e do etanol, pela fermentação de certos carboidratos pela bactéria anaeróbica (*Clostridium acetobutylicum*) (MURTAGH, 1999).

4.4.2.1.5 2,3-butanodiona

Em que pese a portaria 59 de 13 de agosto de 2004 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2004) que submeteu à consulta pública proposta de fixação dos limites máximos de 2,3-butanodiona em $2 \text{ mg} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$ de álcool anidro, tal regulamentação não foi contemplada pela Instrução Normativa n° 13 de 29 de junho de 2005, em razão do que tal contaminante ainda não possui índice de regulamentação estabelecido.

De acordo Pretorius (2005), 2,3-butanodiona, vulgarmente designado por “diacetil”, é o principal composto para se definir sabor em produtos lácteos. Extensiva investigação tem

sido dedicada ao tema, alguns dos quais aplicáveis às bactérias de ácido láctico associados à vinificação. Na fermentação do vinho, este é um dos compostos aromáticos mais importantes produzidos por bactérias lácticas *Oenococcus oeni* (SWIEGERS *et al.*, 2005).

As cetonas estão presentes em bebidas alcoólicas em pequenas concentrações, mas elas são conhecidas por serem importante para o sabor e aroma de bebidas diversas (HEATH e REINECCIUS, 1986). A 2,3-butanodiona é a cetona majoritária das bebidas destiladas (MOREIRA *et al.*, 2012).

Este composto é produzido em pequenas quantidades por levedura durante a fermentação. No entanto, as bactérias podem produzir grandes quantidades de 2,3-butanodiona (DUARTE *et al.*, 2011). Leveduras e bactérias contribuem para o teor de 2,3-butanodiona no vinho, embora a concentração deste, produzido pela levedura durante a fermentação alcoólica, é geralmente abaixo do seu limite de detecção (MARTINEAU *et al.*, 1995). Em contraste, as bactérias podem produzir significativa quantidade de diacetil durante a fermentação, sendo este um dos compostos de sabor mais importantes produzido por *Oenococcus oeni* (PRETORIUS, 2005).

Os níveis médios de cetonas na cachaça assemelham-se aqueles encontrados em vinhos (CARDOSO *et al.*, 2003a). Quando presentes numa concentração elevada (superior a 5-7 mg. L⁻¹) no vinho, é considerado de sabor muito indesejável (RANKINE e POCOCK, 1969; DAVIS *et al.*, 1985). De acordo Maarse (1991), é importante notar que o teor de 2,3-butanodiona maior que 4 mg.L⁻¹ pode ser indesejável para o sabor e aroma e também prejudicial à saúde.

4.4.2.2 Contaminantes inorgânicos

4.4.2.2.1 Cobre

A cachaça destilada em alambique de cobre apresenta melhor qualidade sensorial quando comparada à produção em alambique confeccionado com outros materiais, como aço inox, alumínio e porcelana. A utilização de equipamentos de cobre nos alambiques é favorável por reduzir a acidez e os níveis de aldeídos e compostos sulfurosos, os quais conferem à bebida sabor e odores estranhos (CARDOSO, 2003b). No entanto, o cobre pode contaminar o produto quando não houver higienização adequada do alambique (AZEVEDO *et al.*, 2003). A ausência de cobre no destilador e mesmo em colunas de destilação conduz a um

defeito sensorial no produto, o qual apresenta aroma típico de sulfeto (NASCIMENTO *et al.*, 1998).

Estudos têm indicado que o cobre está associado à formação de carbamato de etila em aguardente (MACKENZIE *et al.*, 1990). Segundo Beattie e Polyblanck (1995) *apud* Aresta *et al.* (2001), dois mecanismos químicos foram propostos como os mais prováveis para a formação de carbamato de etila a partir do cianeto. O primeiro é baseado na complexação do cianeto com Cu^{2+} , proveniente do alambique pela corrosão do mesmo, seguido pela oxidação a cianogênio e com subsequente desproporcionamento para o cianato e cianeto. Conforme Aresta *et al.* (2001), o cianato pode reagir com o álcool etílico formando carbamato de etila. Assim sendo, os teores de cobre devem ser minimizados na aguardente de cana para prevenir a formação destas substâncias. Portanto, o cobre é um metal indesejável na cachaça (CARDOSO, 2006), seu excesso causa hemólise, vômito, irritação gastrointestinal, diarreia, convulsão e sérias disfunções hepáticas (SIEBALD *et al.*, 2009).

4.4.2.2 Chumbo (Pb) e Arsênio (As)

O chumbo e o arsênio podem estar presentes na bebida devido a certas embalagens ou oriundos de soldas de ligas metálicas endurecidas. São compostos venenosos e acumulativos (CARDOSO, 2006). Em certos aspectos, as fontes de contaminação por chumbo em cachaça são semelhantes às relatadas para os vinhos, incluindo: material suspenso a partir do solo que se deposita nas plantas (BRUNO, 1993; CANUTO *et al.*, 2004); tonéis de fermentação, onde devem ser considerados o desgaste mecânico, corrosão e superfícies ásperas (cimento, metal); tanques e plásticos contendo estearato de chumbo; encanamentos de chumbo; tintas; rolhas; tampas manufaturadas com ligas contendo chumbo; coadjuvantes utilizados na fermentação (BRUNO, 1993); soldas nos alambiques e em outros equipamentos e utensílios, como os frisos das moendas (CANUTO *et al.*, 2004). Outra possível fonte de contaminação por chumbo é água usada na produção da cachaça (CANUTO *et al.*, 2004).

4.5 Análises instrumentais

A análise instrumental da cachaça é realizada mais usualmente empregando-se técnicas cromatográficas. Essas análises objetivam relacionar a qualidade do produto com a presença ou ausência de certas substâncias, verificar se a bebida atende os padrões

internacionais e moderar a influência de cada um desses componentes na proteção à saúde pública.

Outros trabalhos reportam variações nos métodos de análises cromatográficas para avaliar os perfis de composição de diversas amostras de cachaças. Além disto, a técnica de espectrometria de massas (MS) foi utilizada para a diferenciação entre as diversas madeiras usadas no processo de envelhecimento de amostras de cachaças.

O carbamato de etila, o éster etílico do ácido carbâmico, é um dos principais compostos estudados na cachaça, pois apresenta propriedades carcinogênicas, devendo sua presença em alimentos ser a menor possível (LABANCA *et al.*, 2008). Este composto é encontrado, principalmente, em certas bebidas fermento-destiladas, nas quais se incluem a aguardente de cana e a cachaça. Nestes produtos, o teor desse contaminante tem, freqüentemente, alcançado valores superiores a $150 \mu\text{g.L}^{-1}$, limite estabelecido pela legislação nacional, o qual constitui a barreira técnica de maior relevância na exportação do produto (BRUNO, 2006).

Segundo Labanca *et al.*, (2008), os principais compostos analisados através das cromatografias gasosa (GC) e líquida (HPLC), são aldeídos, cetonas, ácidos carboxílicos e dimetilsulfeto (DMS). Os autores usaram cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas em procedimento otimizado e validado para a determinação de carbamato de etila em aguardente de cana. A metodologia elaborada fez uso da coluna de polietilenoglicol Carbowax 20M (25 m, 0,22 mm e 0,25 μm) e monitoramento de massas no modo *single ion monitoring* SIM ($m/z=62$). Através deste método foi detectado o contaminante em setenta amostras de cachaças brasileiras, em concentrações que variaram de $30 \mu\text{g.L}^{-1}$ a $2600 \mu\text{g.L}^{-1}$.

Utilizando metodologia semelhante, Odello *et al.* (2009) analisaram 37 amostras comerciais de cachaça, com o objetivo de relacionar os parâmetros de dimetilsulfeto e carbamato de etila com os parâmetros de análise sensorial, e concluiu que estes componentes não interferem sensorialmente na qualidade da cachaça.

Para quantificação do carbamato de etila e análise dos congêneres, Bruno (2006) utilizou a cromatografia em fase gasosa com detecção por espectrometria de massas em modo SIM, com coluna de polietilenoglicol e também com detecção por ionização de chama (GC-FID). Os resultados obtidos mostraram que cerca de 40% dos produtos e matérias primas *in natura* apresentaram teores de carbamato de etila acima do limite máximo permitido, com uma média de $155 \mu\text{g.L}^{-1}$ para 30 estabelecimentos produtores de cachaça envolvidos. Os níveis menores foram provenientes de alambiques que destilam em baixas temperaturas e com alta razão de refluxo.

Cardoso *et al.* (2003b) estudaram amostras de cachaças oriundas de destiladores de coluna de alumínio, porcelana, cobre ou aço inox com o objetivo de determinar os seguintes compostos orgânicos: dimetilsulfeto (DMS), aldeídos, acetona, ácidos carboxílicos, alcoóis, ésteres e metanol. A determinação de aldeídos e acetona se deu na forma de suas respectivas 2,4-dinitrofenilhidrazonas em HPLC acoplado com um detector de arranjo de diodos (DAD) a 365 nm e coluna de fase reversa C-18. Os ácidos carboxílicos, alcoóis superiores e ésteres foram determinados diretamente em um GC – FID, separados por uma coluna de polietileno glicol. O dimetilsulfeto foi determinado com o uso de cromatógrafo a gás equipado com detector fotométrico de chama (GC – FPD), com coluna capilar de polidimetilsiloxano. Os autores concluíram que o material que compõe a coluna de destilação, altera as características químicas e sensoriais da cachaça.

Cardoso *et al.* (2003b) desenvolveu uma metodologia para análise de cetonas em matrizes hidroalcolicas. Os autores usaram o 2,4 DNPH como reagentes derivatizantes, e a análise se deu em HPLC – DAD em comprimento de onda igual 365nm, coluna de fase reversa (C – 18) e fase móvel metanol/acetonitrila: água, em gradiente de eluição. O método foi aplicado em diferentes amostras de cachaça e rum, permitindo a identificação e quantificação de acetona, acetofenona, ciclopentanona e 2,3 – butanodiona, com limites de detecção na faixa de 10 µg.L⁻¹.

Em estudo onde se verificou a heterogeneidade de alcoóis secundários em aguardentes brasileiras de diversas origens e processo de fabricação, Penteadó e Massini (2009), utilizaram um cromatógrafo a gás com detector de ionização em chama (GC/FID). De acordo com este estudo, das 33 marcas analisadas, oito delas foram encontradas fora de conformidade com a legislação (BRASIL, 2005). Dentre os alcoóis secundários encontrados nas amostras de cachaças, o álcool isoamílico foi o que predominou com concentrações que variaram entre 355 a 2022 mg.100 mL⁻¹ de álcool anidro, seguido por n-propanol e isobutanol. Os autores concluíram que as aguardentes de diversas origens continuam a manter uma grande heterogeneidade com relação às concentrações de alcoóis secundários, com conseqüente heterogeneidade das características organolépticas.

Souza *et al.* (2007a) criaram uma metodologia para distinguir amostras de cachaças e rum através de infusão direta a espectrometria de massa, com ionização por electrospray no modo de íon negativo, ou seja, ESI(-)-MS. Foram analisadas 8 amostras comerciais de rum, 9 amostras de cachaças envelhecidas em tonéis de amburana, 16 amostras de cachaças envelhecidas em tonéis de jequitibá e 4 amostras de misturas de cachaças de ambas as madeiras de envelhecimento. Os espectros de massa foram adquiridos com espectrofotômetro

de massa Q-TOF e os espectros digitalizados a partir de 50 $<m/z<$ 500. Para testar a relevância da diferenciação estatística por ESI(-)-MS fingerprinting, os dados foram analisados por meio de análises quimiométricas (Análise de Componentes Principais PCA e Análise Hierárquica de Grupos HCA). Através deste estudo, os resultados demonstraram a formação de grupos distintos de amostras: dois grupos de amostras de cachaças envelhecidas em tonéis de amburana e jequitibá, um grupo de amostras de rum comercial. A metodologia também foi capaz de distinguir as amostras de misturas de cachaças em dois grupos bem definidos, essa tendência se verificou em função das proporções usadas para preparar as misturas.

Souza *et al.* (2007b) investigaram a capacidade de infusão direta a espectrometria de massa com ionização por electrospray no modo de íon negativo ESI(-)-MS para discriminar amostras de cachaças envelhecidas em 4 diferentes tipos de madeira: amburana, jequitibá, bálsamo e carvalho. Também investigaram a influência do tempo de envelhecimento sobre as amostras de cachaças armazenadas em tonéis de carvalho. Trinta e quatro amostras de cachaças artesanais brasileiras foram analisadas. Os espectros de massa foram adquiridos com espectrofotômetro de massa Q-TOF. Todas as amostras foram analisadas por ESI(-)-MS em ambos os modos positivo e negativo. Ainda de acordo este estudo, observou-se que a concentração de íons de m/z 301 (forma desprotonada de ácido elágico) aumenta drasticamente nas amostras de cachaças envelhecidas em tonéis de carvalho, à medida que ocorre o envelhecimento, enquanto que a concentração de outros íons diagnósticos permanece aproximadamente a mesma. Ainda segundo estes autores, ao se aplicar a PCA e HCA aos dados de ESI(-)-MS, os resultados mostraram a formação de quatro grupos distintos de amostras de cachaças envelhecidas em diferentes tonéis de madeira. No grupo das amostras de cachaças envelhecidas em tonéis de carvalho, as amostras de cachaças com menor tempo de envelhecimento, mostraram-se divididas em relação às amostras mais envelhecidas, formando um subgrupo distinto.

Souza *et al.* (2009) utilizando cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GC x GC/TOF-MS), investigaram efeitos da bidestilação e o uso filtração em carvão vegetal para a produção de cachaça artesanal, bem como os efeitos de multidestilação dos produtos voláteis em cachaças comerciais. Os resultados deste estudo mostraram que a cachaça bidestilada apresentou uma composição muito diferente de compostos voláteis, em comparação com a bebida proveniente de uma única destilação, comprometendo a qualidade sensorial da cachaça. Verificou-se também que a resina utilizada no processo para remoção do Cu^{+2} não afeta a composição volátil da cachaça, mas presumiu-se que contaminação com ftalato foi

originada a partir do material da resina. Constatou-se ainda que o filtro de carvão vegetal provocou pequenas mudanças na composição volátil da cachaça, mas também foi eficaz na redução da quantidade de compostos de ftalato.

Nascimento *et al.* (1997) em estudo comparativo da concentração de aldeídos, analisaram 56 amostras de cachaças e aguardentes nacionais (artesaniais e industriais) e 19 amostras de destilados internacionais (aguardente, conhaque, tequila, uísque, runs e vodkas). A determinação dos aldeídos se deu na forma de suas respectivas 2,4-dinitrofenilhidrazonas e as análises foram realizadas através das cromatografias gasosa (GC) e líquida (HPLC). Dez aldeídos mais relevantes foram quantificados usando o método do padrão externo, com detecção UV a 365 nm. Os resultados obtidos mostraram que 100% dos destilados nacionais estiveram dentro dos parâmetros exigidos pela regulamentação legal (Brasil, 2005), com variação de aldeídos totais entre 4,25 a 21,9 mg.100 mL⁻¹ de álcool anidro. Nos destilados internacionais, a concentração de aldeídos totais foi significativamente mais elevada, variando de 0,4 a 35 mg. 100 mL⁻¹ de álcool anidro, sendo que duas amostras excederam os limites da legislação brasileira. Segundo Nascimento *et al.* (1997) o elevado teor de aldeídos está relacionado com o tempo de envelhecimento dos destilados, pois a maioria dos uísques, runs, aguardentes e outras bebidas alcoólicas internacionais são geralmente envelhecidas durante um período mais longo do que os destilados nacionais.

De acordo com a revisão bibliográfica apresentada acima, a composição química de amostras de cachaças é bastante variável. O perfil químico é dependente da região de produção, dos processos produtivos envolvidos, dos estágios e condições de envelhecimento. No entanto, na maioria dos trabalhos em que foram avaliados a composição química, bem como as características organolépticas de amostras de cachaças, não foi avaliada a influência da qualidade da matéria prima na composição química das cachaças produzidas. Neste trabalho foram fixadas as variáveis do processo de fermentação e destilação e variados as cultivares e estágios de maturação da matéria-prima para se avaliar a influência da composição tecnológica da cana com a composição química do destilado.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Planejamento experimental.

O planejamento experimental adotado foi o fatorial completo do tipo 5x3, com três replicatas e parcelas subdivididas no tempo. O primeiro fator foi representado por cinco cultivares de cana-de açúcar (RB72454, SP79-1011, SP80-1842, JAVA e RB765418) e o segundo fator por três épocas de corte (junho - início, agosto - meio e outubro - fim de safra). As canas colhidas foram submetidas à análise tecnológica e os caldos produzidos foram submetidos ao processo fermentativo em condições controladas e uso de uma mesma levedura selecionada. Os mostos fermentados foram submetidos às mesmas condições de destilação e a composição de compostos presentes nos destilados foram analisados por cromatografia em fase gasosa com detector por espectrometria de massas.

5.2 Descrição da área de plantio e manejo fitotécnico das cultivares selecionadas de cana-de-açúcar

O plantio das cultivares de cana-de-açúcar que forneceram matéria-prima para a fabricação das cachaças foi realizado no mês de julho de 2009 na Fazenda Santa Isabel, propriedade do INSTITUTO FEDERAL do NORTE de MINAS GERAIS - Campus Salinas.

Considerando as coordenadas extremas, a região localiza-se entre os paralelos 16°18'01,2" e 15°50'59,4" ao Sul da linha do Equador e entre os meridianos 42°37'00,2" e 41°45'13,6" Oeste de Greenwich, conforme a Figura 6.

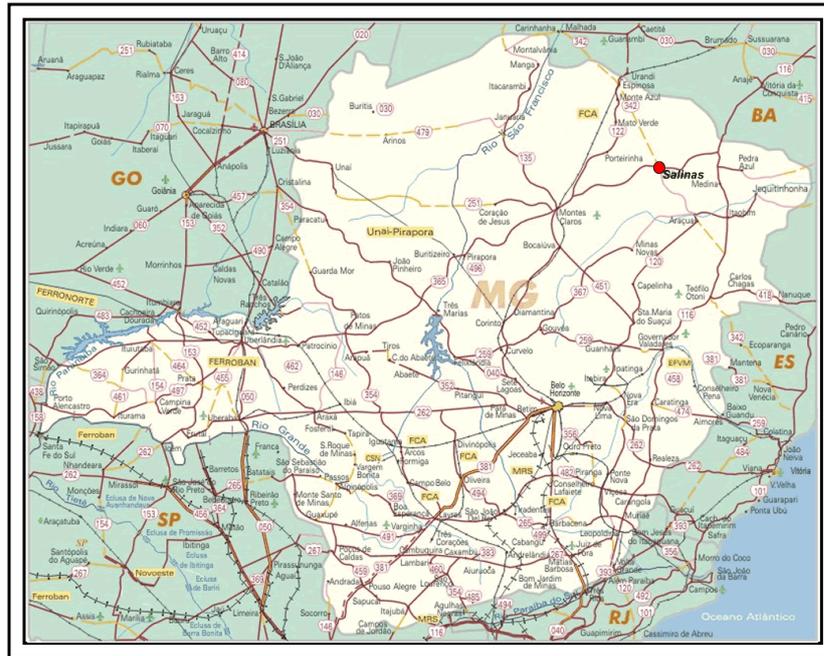


Figura 6: Localização de Salinas no Estado de Minas Gerais.
 Fonte: Santos (2009)

Segundo a classificação de Köppen, o tipo de clima predominante na área em estudo é o Aw, caracterizado pela existência de uma estação seca, bem acentuada no inverno, tendo pelo menos um mês com uma precipitação média inferior a 60 mm, e em que a temperatura média do mês mais frio é superior a 18°C (ANTUNES, 1994).

Os índices pluviométricos (FIGURAS 7a e 7b) da região e as temperaturas médias mensais (FIGURAS 8a e 8b), referentes aos anos de 2009 e 2010, período que compreende plantio e colheita, respectivamente, foram levantados junto ao Instituto Nacional de Meteorologia (INMET).

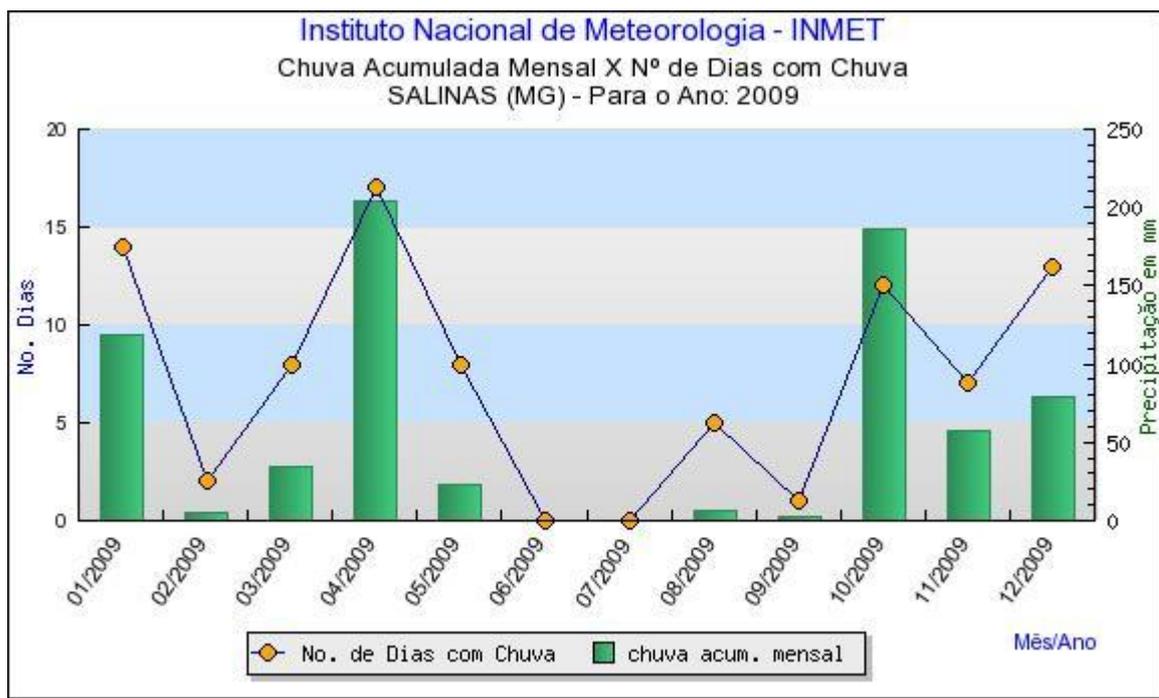


Figura 7a: Chuva acumulada mensal e número de dias com chuva em Salinas – MG no ano de 2009.
 Fonte: INMET (2011).

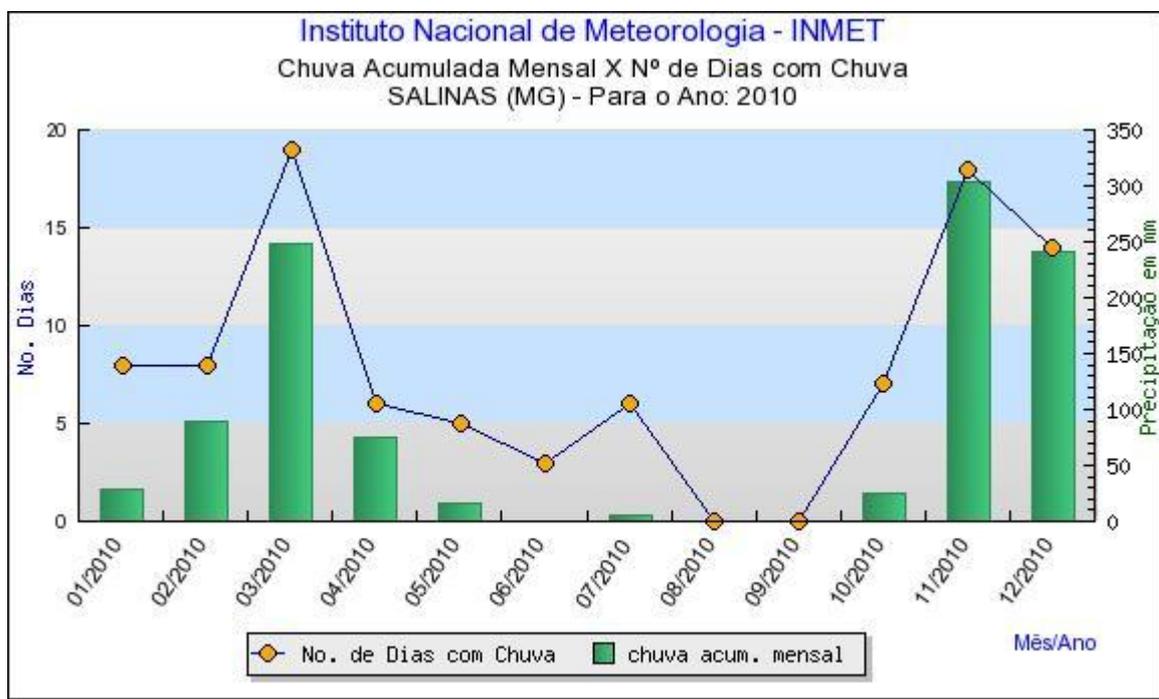


Figura 7b: Chuva acumulada mensal e número de dias com chuva em Salinas – MG no ano de 2010.
 Fonte: INMET (2011).

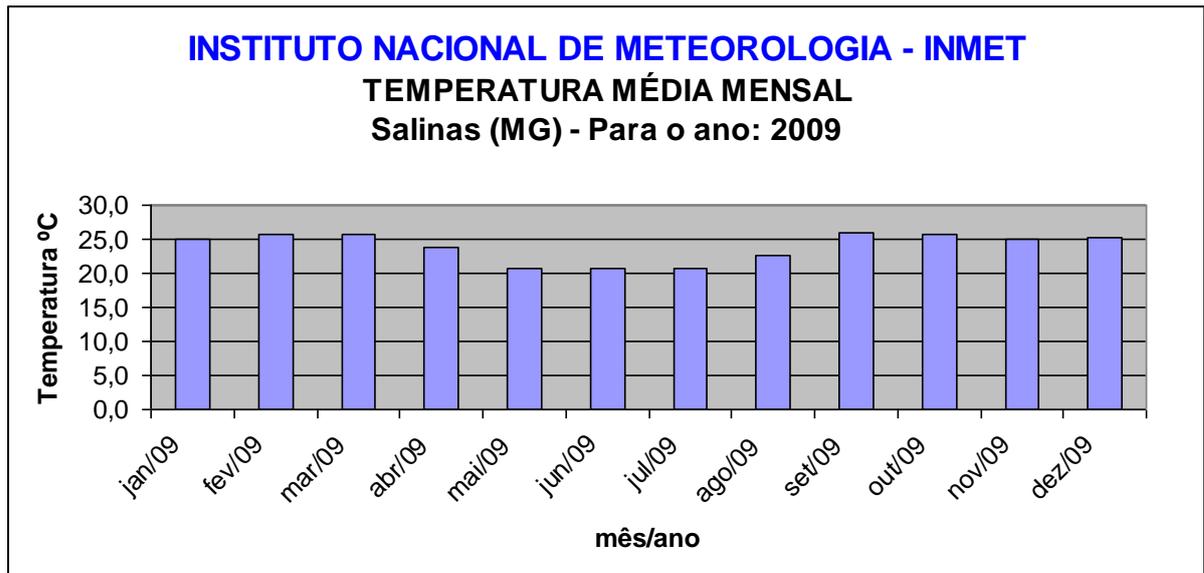


Figura 8a: Temperatura média mensal em Salinas – MG no ano de 2009.
 Fonte: INMET (2011).

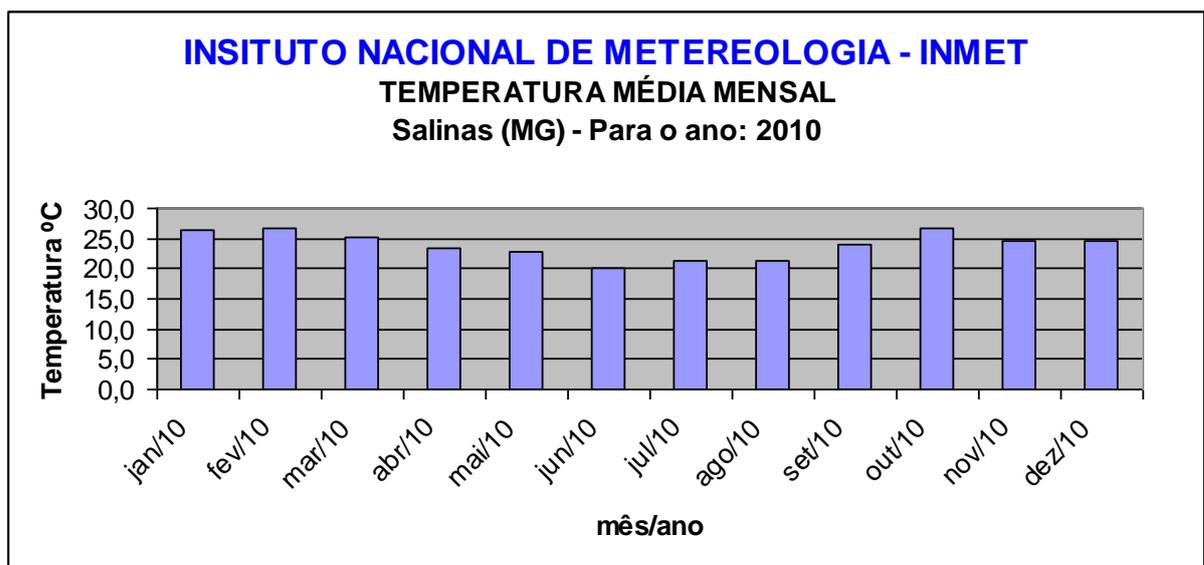


Figura 8b: Temperatura média mensal em Salinas – MG no ano de 2010.
 Fonte: INMET (2011).

Foram plantados cinco talhões de 600 m², um para cada cultivar, equipados com sistema de irrigação por aspersão convencional. Os tratos culturais realizados foram iguais para todas as cultivares.

O solo no qual foram instalados estes talhões, foi caracterizado como latossolo vermelho escuro eutrófico com relevo forte ondulado. As características químicas e físicas deste solo são apresentadas no Anexo I.

A adubação foi realizada de acordo a análise de solo e as exigências da cultura (RIBEIRO *et al.*, 1999). Na adubação de plantio utilizou-se 833 kg de Superfostato

simples/ha. A adubação de cobertura foi realizada aos 58 dias após o plantio, utilizando-se 150 kg de Sulfato de amônio/ha e 140 kg de Cloreto de potássio/ha.

A irrigação foi realizada semanalmente, com lâmina de água determinada pela evapotranspiração potencial obtido pelo método de Thornthwaite (OMETTO, 1981). A evapotranspiração real (ETR), fator que representa a demanda de água de determinada cultura, foi obtida multiplicando o coeficiente de cultura (Kc) da cana-de-açúcar pelo valor de evapotranspiração potencial (ETP). A precipitação pluviométrica (P) e a irrigação (I) representam a reposição de água no solo (TABELA 3). Foram instalados coletores de água em vários pontos da lavoura visando quantificar a lâmina de água que efetivamente foi aplicada. A irrigação foi suspensa a partir do mês de maio de 2010.

Tabela 3 - Valores mensais de precipitação pluviométrica (P), evapotranspiração da cana-de-açúcar (ETR) e Irrigação (Ir) em milímetros.

MÊS	P(mm)	ETR(mm)	Ir (mm)
Julho	0	32,96	32,96
Agosto	6,5	39,55	33,05
Setembro	2,6	91,36	88,76
Outubro	186,5	120,72	0
Novembro	56,9	144,82	87,92
Dezembro	79,5	169,98	90,48
Janeiro	28,3	183,19	154,89
Fevereiro	88,8	159,48	70,68
Março	247,7	159,54	0,00
Abril	75	102,80	27,80
Maiο	16,6	61,32	44,72
Junho	0,7	31,15	0
Julho	6	32,59	0
Total	795,1	1329,46	631,26

5.3 Cultivares de cana-de-açúcar utilizadas

As cultivares de cana-de-açúcar utilizadas foram a SP79-1011, RB72454, SP80-1842 e RB765418, que estão entre aquelas atualmente recomendadas em Minas Gerais para a produção de açúcar e álcool (BARBOSA *et al.*, 2007), e também a cultivar “java” tradicionalmente plantada na região para produção de cachaça de alambique.

Cultivar JAVA

Cultivar mais tradicional da região. De acordo Fernandes (2005), esta cultivar apresentou perfilhamento, peso de colmos, peso de folhas, altura de planta, e produção por área inferior as outras cultivares estudadas (SP79-1011, RB72454, SP80-1842 e RB765418), verificando-se apenas diâmetro de colmo superior às demais.

Cultivar SP79-1011

Média exigência em fertilidade do solo, média produção agrícola, despalha natural, tombamento raro, presença de pêlos, ausência de chochamento e florescimento, maturação média, alto teor de sacarose, colheita de junho/setembro, suscetível à ferrugem, tolerância à estria vermelha e à escaldadura e tolerância intermediária a broca/podridões e ao carvão (MACÊDO *et al.*, 2009).

Cultivar RB72454

Média exigência em fertilidade do solo, alta produção agrícola, boa estabilidade de produção, excepcional longevidade, despalha difícil, raro tombamento, ausência de pêlos, médio chochamento e florescimento, maturação média/tardia, alto teor de sacarose, colheita em condições de sequeiro de setembro/novembro, tolerante à ferrugem, tolerância intermediária ao carvão, à estria vermelha, à escaldadura e a broca/podridões (MACÊDO *et al.*, 2009).

Cultivar SP80-1842

Média exigência em fertilidade do solo e média produção agrícola, rápido desenvolvimento inicial, despalha fácil, ocorre florescimento, presença de pêlos caducos, freqüente tombamento, maturação precoce, alto teor de sacarose, colheita de maio/agosto, tolerante ao carvão, tolerância intermediária à escaldadura e suscetível a broca/podridões, e à ferrugem (MACÊDO *et al.*, 2009).

Cultivar RB765418

Cultivar pouco exigente em fertilidade de solo, maturação precoce, alto teor de sacarose, brotação de soca regular, fechamento regular da entrelinha, florescimento ausente, perfilhamento médio, tombamento frequente, despalha média, presença de joçal, chochamento ausente, baixa sensibilidade a herbicidas, tolerante ao carvão, ferrugem, estrias vermelhas e

escaldadura e susceptibilidade intermediária ao complexo broca/podridão. Apresenta PUI longo e a colheita ocorre entre os meses de abril e novembro (SILVEIRA *et al.*, 2002).

5.4 Épocas de colheita das cultivares de cana-de-açúcar

Foram realizadas três colheitas manuais, sem realização da queima prévia da cana-de-açúcar, em três épocas distintas, de modo a verificar a interferência da época de colheita nos parâmetros de qualidade da matéria-prima. As três épocas foram:

- 1^a época – segunda quinzena de junho;
- 2^a época – segunda quinzena de agosto;
- 3^a época – primeira quinzena de outubro.

5.5 Determinação dos parâmetros químico-tecnológico da cana-de-açúcar

Por ocasião das épocas de colheita das cultivares de cana-de-açúcar, foi retirada uma amostra de cada cultivar, formada por dez colmos seguidos em uma única linha central de cada talhão. Posteriormente, retiraram-se manualmente pontas, folhas verdes e secas, As amostras de cada cultivar de cana foram amarradas, identificadas e imediatamente enviadas para o Centro de Pesquisa e Melhoramento da Cana-de-Açúcar - CECA, da Universidade Federal de Viçosa, localizada no município de Oratórios-MG., onde foram preparadas. As amostras foram pesadas e trituradas em uma trituradeira modelo EN-6500 e em seguida homogeneizadas. Posteriormente, foram retirados 500 g de amostra, prensadas em prensa hidráulica com pressão mínima e constante de 250 kgf/cm² (duzentos e cinquenta quilogramas-força por centímetro quadrado), sobre a amostra durante 1 min (um minuto) extraíndo-se o caldo. Após a extração do caldo, a amostra (bolo úmido) foi retirada da prensa hidráulica e pesada numa balança de precisão. Logo após, a amostra (bolo úmido) foi levada para secar a 105°C em estufa, até peso constante, obtendo-se assim o peso seco da amostra. O caldo obtido foi peneirado para a retirada do bagacilho e outros sólidos em suspensão (CONSECANA, 2006), para em seguida ser acondicionado em frascos de plástico e transportado para o Laboratório da Usina Jatiboca, localizada em Urucânia – MG onde foram realizadas as determinações tecnológicas de: Brix (%) caldo, fibra % cana, pol % caldo, pol % cana, pureza % caldo, açúcares redutores % caldo, açúcares redutores % cana, açúcares redutores totais % caldo, açúcares redutores totais % cana e açúcar total recuperável, (CONSECANA, 2006).

Para as determinações tecnológicas, para cada cultivar, em cada época, foram realizadas três repetições.

5.5.1 Determinação do brix (%) do caldo

A determinação do brix (porcentagem aparente de sólidos solúveis, em peso, contidos no caldo) foi realizada em refratômetro digital, Braseq de leitura automática, com correção automática de temperatura e resolução máxima de 0,1°brix (um décimo de grau brix) e o resultado final foi expresso a 20°C (vinte graus Celsius).

5.5.2 Determinação da fibra da cana-de-açúcar (F)

A fibra é a matéria seca insolúvel em água contida na cana, foi calculada pela equação:

$$F = 0,08 \times \text{PBU} + 0,867, \text{ onde}$$

PBU = peso do bagaço úmido da prensa, em gramas.

5.5.3 Determinação da pol do caldo (S)

A leitura sacarimétrica do caldo foi determinada em sacarímetro digital dmBrasil, automático, com peso normal igual a 26g (vinte e seis gramas), resolução de 0,01°Z (um centésimo de grau de açúcar) e calibrado a 20°C (vinte graus Celsius), em comprimento de onda de 587 e 589,4 nm (quinhentos e oitenta e sete e quinhentos e oitenta e nove e quatro décimos nanômetros), provido de tubo polarimétrico de fluxo contínuo.

A pol do caldo (S) (teor de sacarose aparente por cento, em peso, de caldo) foi calculada pela equação seguinte:

$$S = (1,00621 \times \text{LAI} + 0,05117) \times (0,2605 - 0,0009882 \times \text{B}), \text{ onde:}$$

LAI = leitura sacarimétrica obtida com a mistura clarificante à base de alumino;

B = brix

5.5.4 Cálculo do coeficiente “C”

O coeficiente “C” é utilizado para transformação da pol do caldo extraído (S) em pol do caldo absoluto para as condições de trabalho na prensa para extração do caldo. Este foi determinado pela seguinte fórmula:

$$C = 1,0313 - 0,00575 \times F, \text{ onde:}$$

F = fibra da cana-de-açúcar.

5.5.5 Determinação da pol da cana-de-açúcar (PC)

A pol da cana (PC) foi obtida em função da pol no caldo extraído (S) multiplicado pelo caldo absoluto da cana (100 – F) e pelo coeficiente “C”:

$$PC = S \times (1 - 0,01 \times F) \times C, \text{ onde:}$$

S = Pol do caldo;

F = fibra da cana;

C = coeficiente “C”

5.5.6 Determinação da pureza do caldo (Q)

A pureza do caldo(Q) definida como a porcentagem de pol em relação ao brix, foi determinada pela equação:

$$Q = 100 \times S \div B$$

S = Pol do caldo;

B = brix do caldo.

5.5.7 Determinação dos açúcares redutores do caldo (AR % caldo)

O teor de açúcares redutores (AR) por cento, em peso, de caldo foi determinado pela equação:

$$\text{AR \% CALDO} = 3,641 - 0,0343 \times Q, \text{ onde:}$$

Q = pureza do caldo, expressa em porcentagem.

5.5.8 Determinação dos açúcares redutores da cana (ARC % cana)

A determinação dos açúcares redutores da cana (ARC) foi realizada pela equação:

$$\text{ARC \% CANA} = \text{AR} \times (1 - 0,01 \times F) \times C, \text{ onde:}$$

AR = açúcares redutores do caldo;

F = fibra da cana;

C = coeficiente "C".

5.5.9 Determinação dos açúcares redutores totais % caldo extraído (ART % caldo)

Admitindo que a pol do caldo de cana madura não difere significativamente do teor de sacarose, pôde-se estimar os açúcares redutores totais % caldo (ART) por:

$$\text{ART} = (S \div 0,95) + \text{AR}, \text{ onde:}$$

S = Pol do caldo;

AR = açúcares redutores do caldo.

5.5.10 Determinação dos açúcares redutores totais % na cana de açúcar (ART % cana)

Como realizado para determinação dos açúcares redutores, admitindo-se que a relação teórica entre a pol do caldo absoluto com a pol na cana é a mesma entre os açúcares redutores totais % caldo absoluto e os açúcares redutores totais % cana (ARTC), pôde-se empregar a equação:

$$\text{ARTC} = \text{ART} \times (1 - 0,01 \times F) \times C, \text{ onde:}$$

ART = açúcares redutores totais % caldo extraído;

F = fibra da cana;

C = coeficiente “C”.

5.5.11 Determinação do açúcar total recuperável (ATR)

Conhecendo-se a pol da cana (PC) e os açúcares redutores da cana (ARC), o ATR foi calculado pela equação:

$$\text{ATR} = 9,26288 \times \text{PC} + 8,8 \times \text{ARC}, \text{ onde:}$$

PC = pol da cana;

ARC = açúcares redutores da cana.

5.5.12 Determinação do caldo absoluto % da cana

Massa hipotética que pode ser estimada por:

$$\text{Caldo absoluto \% cana} = 100 - F$$

F = fibra da cana.

5.5.13 Determinação da umidade % da cana

A soma do brix, fibra e umidade, expressos em porcentagem de cana resulta em 100. Assim, conhecendo dois destes parâmetros, pode-se deduzir o terceiro pela equação:

$$\text{Umidade \% cana} = 100 - F - B$$

F = fibra da cana;

B = brix do caldo.

5.6 Fermentação e destilação

A fermentação e a destilação foram realizadas no Laboratório de Microbiologia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Norte de Minas Gerais Campus Salinas.

5.6.1 Linhagem utilizada

O microrganismo utilizado no processo de fermentação foi a linhagem de levedura da espécie *Saccharomyces cerevisiae* LBCM 678, selecionada no Setor Destilados do Instituto Federal do Norte de Minas Gerais (IFNMG) - Campus Salinas.

5.6.2 Manutenção da levedura LBCM 678

A levedura foi mantida em YPD2% (*Yeast Extract Peptone Dextrose* 2%) acrescidos de 30% de glicerol e armazenada em geladeira a cerca 4°C.

5.6.3 Meios de cultivo para fermentação

Meio YPD2%

O meio YP (*Yeast Peptone*) é composto por extrato de levedura 10g/L, peptona 20g/L e 950 mL água destilada. Adicionalmente utilizou-se 50 mL glicose a 40% de tal forma que sua concentração final no meio fique em 2% e um volume total de 1000 mL de meio. Esta fonte de carbono foi autoclavada separadamente e adicionada ao YP já estéril.

Meio YP caldo de cana

O meio YP caldo de cana é composto por caldo de cana recém colhido e diluído para 5°Brix com água destilada, adicionado de extrato de levedura 10%.

Os meios de cultivo (YPD e YP caldo de cana) foram esterilizados em autoclave por 20 minutos a 121°C. Depois de resfriado até 28-30°C os meios foram utilizados.

5.6.4 Preparo do inóculo para fermentação em escala piloto

Inicialmente foi realizado o pré-inóculo da levedura LBCM 678 (100 µl) em 5 mL de meio YPD2% com incubação em estufa a 30°C por 24h. A partir deste pré-inóculo,

erlenmeyers de 125, 500 e 1000 mL contendo YPD2% estéril foram sucessivamente inoculados e incubados a 30°C por 24h sob constante agitação em três dias consecutivos.

A partir do quinto dia, utilizou-se o meio YP caldo de cana, adicionando-se 200 mL do meio aos erlenmeyers contendo 1000 mL do meio YPD2%, sob agitação constante. No sétimo dia, transferiram-se as células, após centrifugação por três minutos a 3.500 RPM, para baldes plásticos contendo 2 litros de meio YP caldo de cana. Um aerador foi acoplado a fim de estimular o metabolismo respiratório. A temperatura de 30°C foi mantida com a ajuda de um aquecedor elétrico. À medida que o °Brix chegava a 0 (zero), o balde era reabastecido com 2 litros de caldo de cana 5°Brix. Este processo foi realizado duas vezes ao dia durante três dias e finalmente foi retirado o sobrenadante e reabastecido novamente com dez litros de caldo 5°Brix.

No décimo primeiro dia, as células foram divididas em dois baldes, repetindo o mesmo processo de reabastecimento durante dois dias. A partir do décimo terceiro dia, dividiu-se o volume de células em três baldes repetindo o mesmo processo de reabastecimento, agora três vezes ao dia até se alcançar 10L de células, volume suficiente para iniciar o processo de fermentação em cinco dornas de 40L.

5.6.5 Fermentação em escala piloto

Três fermentações para cada cultivar de cana-de-açúcar foram conduzidas em três épocas distintas, perfazendo um total de quarenta e cinco fermentações, monitoradas através dos seguintes parâmetros analíticos:

- Concentração de sólidos solúveis totais (°BRIX) a 20°C, medido em refratômetro eletrônico digital portátil DensiMat Gibertini, com compensação automática de temperatura;
- Teor alcoólico (°GL) do vinho, medido através de ebulliômetro, relacionando a quantidade de álcool presente no vinho e sua temperatura de ebulição. A leitura do teor alcoólico, foi feita numa régua previamente calibrada para a pressão atmosférica local, que corresponde diretamente ao teor alcoólico em mL de etanol.100mL⁻¹ de vinho (°GL).

Nesta etapa, procurou-se evitar contaminações do meio e para tal utilizaram-se colmos isentos de impurezas minerais e vegetais. No processo de moagem, a moenda foi higienizada com vapor de caldeira a cada utilização e o caldo foi coado em tecido de nylon

previamente esterilizado em água deionizada fervida. Para diluição do caldo utilizaram-se recipientes higienizados e água deionizada e fervida.

5.6.5.1 Preparo do pé-de-cuba

Após as células terem alcançado o volume de 10L, transferiu-se 2L para cada dorna de fermentação (capacidade efetiva de 30L, em aço inox). Posteriormente, adicionou-se 20L de caldo de cana, parcelado em cinco volumes de 4L e diluídos a 7, 9, 11, 13 e 15°Brix respectivamente, sendo que cada abastecimento foi pré-determinado pela redução do °Brix para 3.

O processo de propagação do fermento, descrito acima, foi realizado utilizando-se o caldo específico de cada cultivar de cana-de-açúcar em cada época de colheita.

5.6.5.2 Condução da fermentação

Logo após o último abastecimento, ocorrido na etapa anterior, retirou-se e descartou-se 10L de caldo a 0 °Brix de cada dorna de fermentação, restando então, 10L no interior da mesma, e formando então o pé-de-cuba. Em seguida foram realizados três abastecimentos de 10L de caldo de cana diluído a 15 °Brix, em cada dorna, sendo que estes ocorriam simultaneamente após o °Brix do abastecimento anterior ter chegado a 3, perfazendo assim um volume de 40L. O término do processo fermentativo foi verificado quando o vinho chegou a 0 °Brix, procedeu-se então a retirada de 30L deste para ser destilado.

A fermentação ocorreu em dornas abertas sem controle de temperatura.

5.6.6 Destilação

Terminado o processo fermentativo, o vinho recolhido foi imediatamente destilado em alambique de cobre com capacidade para 40 litros de mosto fermentado, volume útil, e com sistema de aquecimento em fogo direto pelo uso de GLP. O destilado total foi fracionado em cabeça, coração e cauda, coletados nas respectivas proporções: 5%, 80% e 15%, utilizando a seguinte fórmula:

$$VD = \frac{TAV \times VV}{TAC} \text{ onde:}$$

- VD: Volume total de destilado;
- TAV: Teor alcoólico do vinho;
- VV: Volume do vinho;
- TAC: Teor alcoólico da cachaça.

Após cada alambicagem, procedeu-se a limpeza do alambique com suco de limão e adicionado água (CANTÃO, 2006).

5.7 Análises físico-químicas estabelecidas pela legislação Brasileira

5.7.1 Graduação alcoólica

A graduação alcoólica foi determinada por densitometria e o resultado expresso em porcentagem em volume (% v/v) que também é denominado grau Gay Lussac (°GL). A graduação alcoólica foi obtida a partir de medidas a 20°C, com o auxílio de um densímetro digital DensiMat Gibertini e os resultados foram expressos em % v/v de etanol..

5.7.2 Análise de Cobre por Espectrometria de absorção atômica

Para as determinações das concentrações de cobre nas amostras de cachaça usou-se espectrofotômetro de absorção atômica AA50, foi utilizado o comprimento de onda de 324,7nm e fenda de 0,5nm, gás acetileno/ar e chama oxidante (lâmpada de cátodo oco para Cu com corrente de 4mA e lâmpada de D₂ para correção do *background*). As quantidades de cobre foram determinadas por meio de comparação das leituras observadas nas amostras de cachaça, com valores das leituras referentes a uma curva de analítica construída previamente em solução hidroalcoólica (40% v/v) na (faixa de 0,1 a 10,0 mg/L⁻¹). A quantidade de cobre foi expressa em miligrama de cobre por litro da amostra.

5.8 Análises cromatográficas

As análises de amostras e padrões foram realizadas no Laboratório de Caracterização Molecular/Espectrometria de Massas da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP), utilizando diferentes técnicas e instrumentos.

5.8.1 Análise qualitativa de Compostos Voláteis por GC-MS

5.8.1.1 Materiais

Para a etapa de extração líquido/líquido das substâncias voláteis das amostras de cachaça foi feita em frascos de 40 mL, utilizando-se diclorometano (grau HPLC, J. T. Baker) e cloreto de sódio (Synth P.A. – A.C.S.). A agitação das amostras foi feita através de um agitador tipo vórtex (Velp Scientifica, 2000 RPM).

As análises cromatográficas das substâncias voláteis foram realizadas por um sistema GC-MS QP2010 Plus (Shimadzu, Kyoto, Japão), equipado com fonte de ionização por elétrons (70eV) e analisador de massas tipo quadrupolo. Foi utilizada uma coluna Elite-Wax de polietileno glicol, 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm (PerkinElmer, Shelton, E.U.A.). A aquisição dos cromatogramas e espectros de massas se deu através do *software* GCMS Solution, v.2.50 SU3 (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão).

5.8.1.2 Preparo das Amostras

A metodologia utilizada foi a extração líquido-líquido, a qual foi conduzida adicionando-se ao *vial*, 0,5g de NaCl, 2,0 mL de diclorometano e 8,0 mL de cada amostra. Prosseguiu-se à agitação por vórtex, durante dez minutos, seguido de repouso, a fim de promover a separação entre as duas fases.

Assim que a separação entre as fases foi atingida, com o uso de uma pipeta automática, retirou-se 1,0 mL da fase diclorometano, a qual foi transferida a um *vial* e em seguida para o amostrador automático e análise cromatográfica.

5.8.1.3 Condições Cromatográficas (GC-MS)

As análises cromatográficas dos extratos em diclorometano foram realizadas com a seguinte programação de temperatura do forno da coluna: temperatura inicial de 35°C e rampa de aquecimento de 5°C/min até 220°C e isotérmico a 220°C por 10 min. O volume injetado foi de 0,5 µL, no modo *splitless* por 0,5 min. A velocidade linear do fluxo do gás de arraste (hélio) foi de 1,24 mL.min⁻¹. A temperatura do injetor foi de 240°C, da linha de

transferência foi de 240°C e da fonte de ionização foi de 200°C. O espectrômetro de massas operou no modo *fullscan* (varredura), adquirindo íons de 40m/z a 400m/z.

Antraceno D¹⁰ foi utilizado como “surrogate” para a correção das intensidades e eficiência das extrações, bem como padrão interno (PI) na determinação quantitativa do carbamato de etila.

5.8.2 Análise quantitativa de carbamato de etila por GC-MS

5.8.2.1 Materiais

A etapa de extração líquido/líquido do carbamato de etila das amostras de cachaça foi feita em frascos de 40 mL, utilizando-se diclorometano (grau HPLC, J. T. Baker) e cloreto de sódio (Synth P.A. – A.C.S.). A agitação das amostras foi feita através de um agitador tipo vórtex (Velp Scientifica, 2000 RPM).

As análises cromatográficas do carbamato de etila foi realizada por um sistema GC-MS QP2010 Plus (Shimadzu, Kyoto, Japão), equipado com fonte de ionização por elétrons (70eV) e analisador de massas tipo quadrupolo. Foi utilizada uma coluna DB-Wax polietilenoglicol, 60 m x 0,25 mm x 0,25 µm (Agilent J&W Scientific, U.S.A.). A aquisição dos cromatogramas e espectros de massas se deu através do *software GCMS Solution*, v.2.50 SU3 (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão).

5.8.2.2 Preparo dos padrões e Amostras

Foi preparada a solução do padrão carbamato de etila (99%) (Sigma-Aldrich). A diluição deste padrão foi realizada em solução hidroalcoólica (40% v/v),

Na Tabela 4 está disposta as concentrações do analito utilizadas na curva analítica.

Tabela 4 - Concentração do carbamato de etila utilizado na curva analítica.

Analito	A	B	C	D	E	F
Carbamato de etila	0,08284	0,1036	0,2071	0,4142	0,8284	8,284

Para o padrão interno utilizada na curva analítica (PI) utilizou-se 1000 µL de Antraceno Deuterado em diclorometano a uma concentração de 3 ppb.

Tanto a curva analítica quanto as amostras de cachaças antes de serem injetadas no sistema cromatográfico passaram pela etapa de extração líquido-líquido, a qual foi conduzida adicionando-se 0,5g de NaCl, 1,0 mL de PI (Antraceno deuterado), 1,0 mL de diclorometano e 8,0 mL de amostra a um frasco de vidro de 15 mL com tampa rosqueada e septo de silicone faceado com teflon. Prosseguiu-se à agitação por vórtex, durante dez minutos, seguido de repouso, a fim de promover a separação entre as duas fases.

Assim que a separação entre as fases foi atingida, com o uso de uma pipeta automática, retirou-se 1,0 mL da fase diclorometano, a qual foi transferida a um *vial* de 1,5 mL e em seguida para o amostrador automático e cromatografia.

5.8.2.3 Condições Cromatográficas (GC-MS)

As análises cromatográficas dos extratos em diclorometano foram realizadas com a seguinte programação de temperatura do forno da coluna: temperatura inicial de 50°C e rampa de aquecimento de 5°C.min⁻¹ até 220°C. e isotérmico a 240°C por 5min. O volume injetado foi de 1,0µL, no modo *splitless*. A velocidade linear do fluxo do gás de arraste (hélio) foi de 3,08 mL.min⁻¹. A temperatura do injetor foi de 240°C, da linha de transferência foi de 240°C e da fonte de ionização foi de 200°C. O espectrômetro de massas operou no modo *fullscan* (varredura), adquirindo íons de 40m/z a 400m/z, e *SIM* com monitoramento dos íons 62 e 188m/z.

5.8.3 Análises de Aldeídos e Cetonas por HPLC-DAD-MS

5.8.3.1 Materiais

Os padrões de aldeídos e cetonas (5- metil furfural, propionaldeído, furfuraldeído, benzaldeído, acroleína, isovaleraldeído, 5 – hidroximetilfurfural, formaldeído, 2,3 butanodiona, acetona) foram adquiridos da Sigma-Aldrich. Para derivatização das substâncias, utilizou-se 2,4-dinitrofenilidrazina – 2,4-DNPH (Aldrich) e ácido sulfúrico (P.A. Vetec). Água ultra-pura foi adquirida através de um sistema de troca iônica (TKA Wasseraufbereitungssysteme, Alemanha). Acetonitrila e etanol, ambos de grau *HPLC*, foram adquiridos de Fischer Scientific e J.T. Baker, respectivamente.

5.8.3.2 Preparo de Padrões e Amostras

Para o processo de derivatização de aldeídos e cetonas, pesou-se 0,4g de 2,4-DNPH a qual foi solubilizada em 2 mL de ácido sulfúrico, 3 mL de água ultra-pura e 10 mL de etanol (Solução A). Foi preparada também a solução B a partir de 0,5g ou 1 mL de cada padrão em 20 mL de etanol.

A mistura das soluções A e B levou à formação das hidrazonas correspondentes a cada um dos analitos, na forma de precipitados. Posteriormente, foram submetidas à filtração a vácuo e secagem, com utilização de dissecador, por um período de vinte e quatro horas.

De cada um dos padrões derivatizados, tomou-se 10 mg e dissolveu-se em 10 mL de acetonitrila, diluindo-se prontamente, para a obtenção de soluções de concentração igual a 100 mg/L, as quais foram usadas na determinação do tempo de retenção dos analitos por *HPLC*. A curva de calibração usada na quantificação dos aldeídos e cetonas nas amostras de cachaça foi feita através do preparo dos padrões dos aldeídos e cetonas seguida da derivatização dos mesmos à hidrazonas, obtendo-se soluções de concentrações iguais a 0,5 mg.L⁻¹; 1,0 mg.L⁻¹; 2,5 mg.L⁻¹; 5,0 mg.L⁻¹ e 10,0 mg.L⁻¹.

Para a determinação desses compostos em amostras de cachaça, a uma alíquota de 4,0 mL de cada amostra foi adicionada 1,0 µL de ácido fórmico e 1,0 mL de solução contendo 200mg de 2,4-DNPH em 100 mL de solução hidroalcoólica (40% v/v). Essa mistura permaneceu em repouso por duas horas, depois das quais se retirou uma alíquota de 40 µL, que foi levada para análise por *HPLC*.

5.8.3.3 Condições Cromatográficas (*HPLC-DAD-MS*)

As análises foram realizadas em um sistema *HPLC-DAD-MS* Shimadzu, equipado com duas bombas de alta pressão modelo LC-20AD, um detector de arranjo de diodos (DAD) modelo SPD-M20A, degaseificador modelo DGU-20A3, módulo controlador CBM-20A e autoamostrador SIL-20AC, analisador de massas *ion trap* (IT) - *time of fly* (TOF). As separações foram realizadas empregando-se uma coluna Kinetex 2.6 U PFP, 100A (50 mm x 2,10 mm x 2,6µm), phenomenex. Os solventes utilizados como fase móvel foram: (A) água ultrapura e (B) acetonitrila:metanol (55: 45). O gradiente de eluição empregado foi: 40% B por 13 minutos, aumentando para 75% B até 20 minutos, passando para 100% B em 25 minutos, mantendo por 3 minutos e, retornando a 40% B em 30 minutos com estabilização

por 5 minutos, totalizando 35 minutos de análise. A quantificação foi realizada por padronização externa, e para detecção dos analitos, utilizou-se comprimento de onda igual a 350 nm, fluxo de 0,2 mL min⁻¹ e volume de injeção de 10 µL. As condições do espectrômetro de massas foram: temperatura da CDL de 200°C, volume do gás de nebulização (N₂) de 1,5 L/min, voltagem do detector 1,7 kV, tempo de aquisição de íons de 10 ms e faixa de monitoramento da relação massa/ carga de 80 a 500 Da.

Dos compostos carbonílicos analisados nas amostras de cachaças: 5-hidroxiacetilfurfural, furfuraldeído, 5-metilfurfural, benzaldeído e isovaleraldeído foram detectados pelo espectrômetro de massas e, formaldeído, acroleína, 2,3-butadiona, acetona e propionaldeído pelo detector de arranjo de diodos (DAD e MS).

5.8.4 Análises Cromatográficas (CG-FID)

Os aldeídos totais, ésteres totais, alcoóis superiores e contaminantes como metanol e alcoóis superiores foram determinados diretamente em um cromatógrafo a gás (CG), modelo Varian CP-3380, injeção manual e detectados por ionização de chama (FID), coluna capilar de polietilenoglicol DB-WAX (60 m x 0,25 mm x 0,25 µm) da J&W, Albany, New York. A temperatura foi de 225°C para o injetor e 280°C para o detector. O programa de temperatura da coluna utilizado foi de 50°C (6 min.) subindo até 100°C (6 min.), a uma rampa de 15°C/min., subindo a 240°C (7,7 min.) a 20°C/min. Tempo total 30,03 minutos e tempo morto 3,357 minutos. O volume injetado foi de 2,0 µL, taxa de “split” de 1:25. O gás de arraste usado foi o Hidrogênio com velocidade linear de 0,87 mL.min⁻¹ e os gases para a formação de chama foram o ar sintético e o hidrogênio e nitrogênio para *make up* (99,9995%).

5.8.4.1 Preparo das soluções e confecção da curva analítica

Para o preparo da solução intermediária (SI), a massa de cada padrão foi pesada em balão de 100 mL com cerca de 50 mL de solução hidroalcoólica (40% v/v) e, em seguida, o volume foi completado. Foram utilizados os padrões de metanol, n-propanol, isobutanol, álcool isoamílico, acetato de etila, 2- butanol e 1- butanol. Todos os padrões utilizados foram da marca Sigma-Aldrich.

Para o preparo da solução de padrão interno (SPI) 2,5%,v/v, 25,0 µL de 1- pentanol foi adicionado em 975 µL de solução hidroalcoólica (40%,v/v).

Para a quantificação das amostras a curva analítica foi construída com soluções-padrão em cinco faixas de concentração adicionando-se 20 µL de solução de padrão interno (PI) a uma concentração final de 0,5%,v/v.

5.8.4.2 Preparo das amostras de cachaça para injeção

Foi preparada uma solução A contendo 25µL de N-Pentanol e 975µL de uma solução hidroalcoólica 40% (Etanol/água). Posteriormente 20µL da solução A foram acrescidos a 975µL de amostra de cachaça e em seguida injetadas no CG-FID.

5.9 Análise quimiométrica

PCA – “análise dos componentes principais” (BEEBE *et al.*, 1998) é uma manipulação matemática da matriz de dados originais, onde o objetivo é a representação da variância presente nas muitas variáveis usando um pequeno número de “fatores”. A análise de PCA é baseada na correlação entre as variáveis. A PCA mapeia as amostras através de seus valores e as variáveis pelos respectivos pesos em um novo espaço definido pela componente principal. As componentes principais são simples combinações lineares das variáveis originais. O gráfico de valores (“scores”) das amostras permite identificá-las, checando se são similares ou não, típicas ou atípicas. As variáveis mais importantes são identificadas pelos maiores pesos (“loadings”). Um ponto importante é que o máximo de variância em um conjunto de dados pode ser explicado por um reduzido número de variáveis. A componente principal é definida na direção de máxima variância no conjunto de dados e descreve o espalhamento máximo dos pontos de dados, e as variáveis subsequentes são ortogonais, ou seja, não correlacionadas uma com a outra, e maximizam a variância restante. A extensão com que cada variável medida contribui para a PC (principal componente) depende de sua orientação relativa no espaço da PC e do eixo das variáveis. A contribuição de cada eixo para a PC é o cosseno do ângulo entre o eixo das variáveis e o eixo da PC, estes valores variam de -1 a 1 e são denominados de “loadings”. Assim, uma vez removida a redundância, apenas os primeiros componentes principais são requeridos para descrever a maioria das informações contidas no conjunto de dados original (CARDOSO *et al.*, 2003b).

Para uma melhor interpretação dos resultados obtidos para os diversos compostos analisados nas amostras de cachaça de diferentes cultivares de cana-de-açúcar, colhidas em três épocas de maturação, foi efetuado tratamento quimiométrico (análise multivariada)

utilizando análise de componentes principais (PCA) com o auxílio do “software” estatístico MINITAB[®], versão 14 para Windows (Minitab Inc: State College, Pensilvânia).

As análises de variância foram realizadas utilizando o “software” estatístico GraphPad Prism[®], versão 5.0 para Windows (San Diego, Califórnia – USA). A normalidade dos dados foi verificada através do teste de Kolmogorov Smirnov. Os dados paramétricos foram avaliados utilizando o teste da TABELA ANOVA seguido pelo pós-teste de Tukey. Os dados não paramétricos foram auferidos pelo teste de Friedman com pós-teste de Duns. A significância estatística foi de 95% ($P < 0,05$).

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Determinação dos parâmetros da composição tecnológica da cana-de-açúcar

Os parâmetros da composição tecnológica das cinco cultivares de cana-de-açúcar (RB72454, SP79-1011, SP80-1842, JAVA e RB765418) analisados nas três épocas de colheita (junho, agosto e outubro) e apresentados na Tabela 5, foram: peso do bagaço úmido, brix, leitura sacarimétrica, pol do caldo, pureza, açúcares redutores do caldo, fibra, pol da cana, açúcares redutores da cana, açúcares redutores totais, açúcares redutores totais da cana, Açúcar total recuperado, caldo absoluto e umidade.

Tabela 5 Valores médios (três repetições) e desvio padrão da composição tecnológica das cultivares de cana-de-açúcar colhidas em junho, agosto e outubro.

ÉPOCA	CULTIVAR	PESO DO BAGAÇO ÚMIDO g		BRIX %	LEITURA SACARIMÉTRICA °S		POL CALDO %		PUREZA %		AÇÚCARES REDUTORES DO CALDO %		FIBRA %		
JUN	RB765418	145,82	± 2,87	17,50	± 0,35	59,30	± 1,54	14,53	± 0,35	82,99	± 0,77	0,79	± 0,02	12,54	± 0,23
JUN	SP79-1011	123,34	± 7,60	16,93	± 1,45	55,77	± 8,28	13,68	± 1,94	80,57	± 4,38	0,88	± 0,15	10,75	± 0,61
JUN	JAVA	119,57	± 7,14	18,13	± 1,15	59,39	± 7,18	14,50	± 1,69	79,80	± 4,25	0,91	± 0,15	10,44	± 0,57
JUN	SP80-1842	146,94	± 6,66	20,80	± 0,82	75,03	± 3,66	18,13	± 0,82	87,13	± 0,63	0,65	± 0,02	12,63	± 0,53
JUN	RB72454	113,95	± 8,65	17,67	± 0,58	57,27	± 3,22	14,02	± 0,76	79,31	± 1,72	0,92	± 0,06	9,99	± 0,69
AGO	JAVA	123,33	± 4,16	23,27	± 0,31	83,67	± 1,12	20,01	± 0,24	85,99	± 0,46	0,69	± 0,02	10,75	± 0,33
AGO	SP79-1011	122,67	± 6,43	22,50	± 0,10	82,50	± 0,70	19,79	± 0,16	87,96	± 0,32	0,62	± 0,02	10,69	± 0,51
AGO	RB765418	132,00	± 7,21	21,67	± 0,40	77,09	± 1,73	18,56	± 0,38	85,65	± 0,18	0,70	± 0,01	11,44	± 0,58
AGO	RB72454	116,67	± 1,15	22,33	± 0,25	79,40	± 0,54	19,06	± 0,12	85,35	± 0,68	0,71	± 0,02	10,21	± 0,09
AGO	SP80-1842	141,33	± 6,43	24,73	± 0,31	93,63	± 0,87	22,25	± 0,19	89,97	± 1,00	0,56	± 0,04	12,19	± 0,51
OUT	JAVA	124,24	± 8,39	25,67	± 0,29	97,52	± 1,19	23,08	± 0,25	89,94	± 0,20	0,56	± 0,01	10,82	± 0,67
OUT	SP79-1011	125,97	± 4,59	22,67	± 0,29	82,41	± 1,84	19,76	± 0,42	87,16	± 1,15	0,65	± 0,04	10,95	± 0,37
OUT	RB72454	112,98	± 2,52	23,30	± 0,10	84,26	± 1,08	20,15	± 0,27	86,47	± 1,45	0,67	± 0,05	9,91	± 0,20
OUT	RB765418	141,36	± 1,65	22,33	± 0,06	83,12	± 0,26	19,95	± 0,06	89,34	± 0,20	0,58	± 0,01	12,19	± 0,13
OUT	SP80-1842	133,08	± 2,91	23,80	± 0,17	90,09	± 0,57	21,50	± 0,12	90,31	± 0,21	0,54	± 0,01	11,52	± 0,23

Tabela 5 Continuação...

ÉPOCA	CULTIVAR	POL DA CANA		AÇÚCARES REDUTORES DA CANA			AÇÚCARES REDUTORES TOTAIS DO CALDO			AÇÚCARES REDUTORES TOTAIS DA CANA			AÇÚCAR TOTAL RECUPERADO		CALDO ABSOLUTO		UMIDADE	
		%		%			%			Kg/t cana		%		%				
JUN	RB765418	12,18	± 0,33	0,67	± 0,02	16,08	± 0,36	13,49	± 0,33	118,72	± 2,92	87,46	± 2,92	69,97	± 0,40			
JUN	SP79-1011	11,85	± 1,74	0,76	± 0,13	15,28	± 1,90	13,23	± 1,71	116,42	± 14,99	89,25	± 14,99	72,33	± 1,32			
JUN	JAVA	12,62	± 1,46	0,78	± 0,13	16,17	± 1,63	14,06	± 1,41	123,77	± 12,39	89,56	± 12,39	71,43	± 1,33			
JUN	SP80-1842	15,18	± 0,64	0,54	± 0,02	19,73	± 0,85	16,52	± 0,66	145,42	± 5,79	87,37	± 5,79	66,57	± 1,12			
JUN	RB72454	12,29	± 0,76	0,81	± 0,05	15,67	± 0,74	13,75	± 0,75	120,94	± 6,65	90,01	± 6,65	72,33	± 0,57			
AGO	JAVA	17,31	± 0,31	0,60	± 0,02	21,75	± 0,26	18,82	± 0,33	165,65	± 2,90	89,25	± 2,90	66,00	± 0,17			
AGO	SP79-1011	17,15	± 0,29	0,54	± 0,01	21,46	± 0,16	18,59	± 0,30	163,56	± 2,60	89,31	± 2,60	66,80	± 0,44			
AGO	RB765418	15,87	± 0,27	0,60	± 0,01	20,24	± 0,39	17,30	± 0,28	152,28	± 2,44	88,56	± 2,44	66,90	± 0,87			
AGO	RB72454	16,64	± 0,08	0,62	± 0,02	20,78	± 0,13	18,15	± 0,08	159,67	± 0,74	89,79	± 0,74	67,43	± 0,31			
AGO	SP80-1842	18,78	± 0,32	0,47	± 0,03	23,98	± 0,20	20,24	± 0,35	178,12	± 3,02	87,81	± 3,02	63,07	± 0,31			
OUT	JAVA	19,96	± 0,45	0,48	± 0,01	24,86	± 0,27	21,48	± 0,47	189,06	± 4,20	89,18	± 4,20	63,53	± 0,40			
OUT	SP79-1011	17,04	± 0,44	0,56	± 0,03	21,45	± 0,41	18,49	± 0,43	162,75	± 3,81	89,05	± 3,81	66,40	± 0,44			
OUT	RB72454	17,68	± 0,29	0,59	± 0,04	21,88	± 0,23	19,21	± 0,26	169,00	± 2,33	90,09	± 2,33	66,80	± 0,26			
OUT	RB765418	16,84	± 0,06	0,49	± 0,01	21,58	± 0,06	18,21	± 0,07	160,29	± 0,59	87,81	± 0,59	65,50	± 0,10			
OUT	SP80-1842	18,35	± 0,03	0,47	± 0,01	23,17	± 0,13	19,78	± 0,03	174,08	± 0,28	88,48	± 0,28	64,70	± 0,44			

6.1.1 Análise de componentes principais (PCA – *Principal Components Analysis*)

Usando análise multivariada por meio de ferramenta estatística de análise de componentes principais (PCA) da matriz de correlação (normalizados) dos valores resultantes da composição tecnológica das cinco cultivares (RB72454, SP79-1011, SP80-1842, JAVA e RB765418) de cana-de-açúcar referentes ao brix % do caldo; pureza aparente %; fibra %; pol (sacarose) % da cana; açúcares redutores % da cana; açúcares redutores % totais da cana; açúcar total recuperado e umidade, realizadas em três épocas de colheita (junho, agosto e outubro), observou-se que as amostras de cana colhidas em junho possuem características tecnológicas próprias em relação às outras épocas, formando assim um grupo discriminado apresentado na Figura 9.

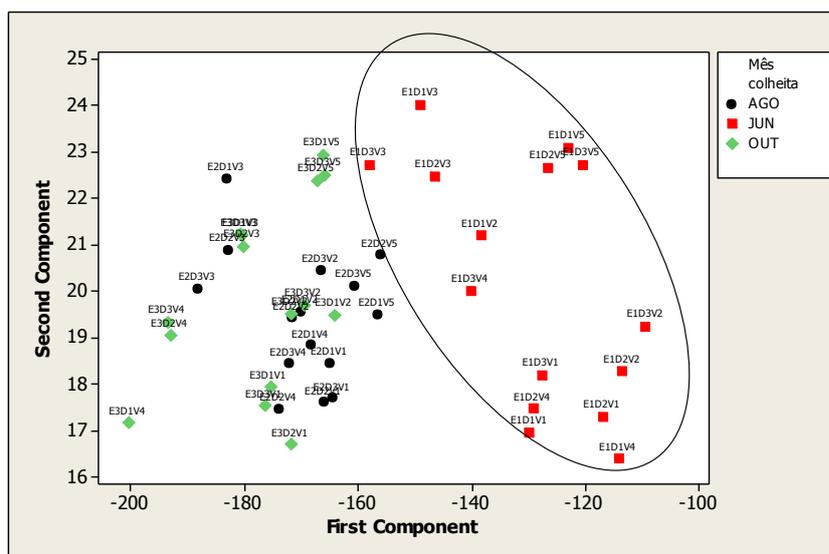


Figura 9: Gráfico de PCA scores para análise tecnológica de amostras de matéria-prima de diferentes cultivares de cana-de-açúcar, colhidas em três épocas de maturação.

O gráfico de *Loading* (FIGURA 10) indica que a maioria dos parâmetros tecnológicos analisados na matéria-prima, representa características que permitem a distinção entre as três épocas de colheita. Nota-se ainda a presença de um *outlier* correspondente a amostra da cultivar Java na terceira época de colheita. Tal fato pode ser explicado por esta cultivar estar em estágio de maturação ultrapassado, já que, como se sabe, nestas condições a presença no caldo de outras substâncias opticamente ativas, além obviamente da sacarose, pode ser traduzida como porcentagem de sacarose aparente (CALDAS e SANTOS, 2010), superestimando o valor do ATR.

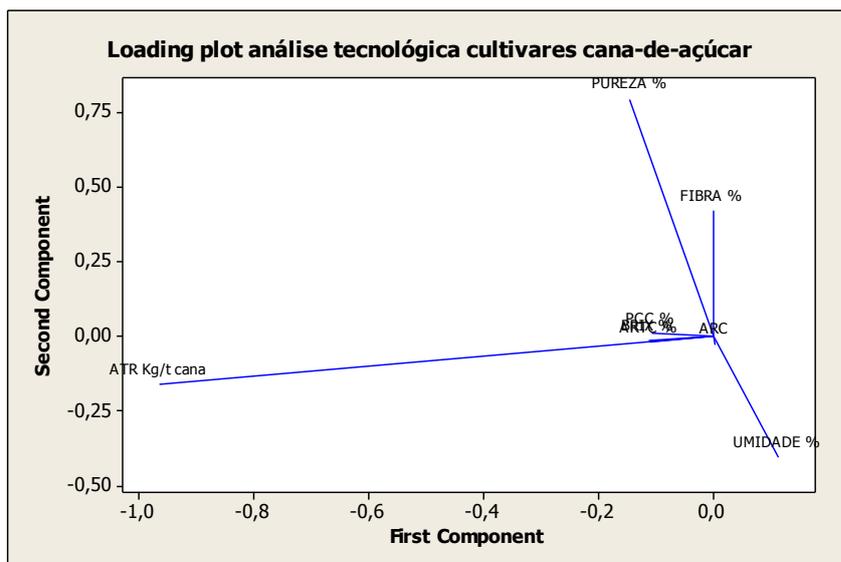


Figura 10: Gráfico de PCA *loadings* para os discriminadores da composição tecnológica das diferentes cultivares de cana-de-açúcar, colhidas em três épocas de maturação.

Pela sobreposição dos gráficos de *Scores e Loadings*, verificou-se que a variável ATR é determinante no posicionamento das amostras de cana produzidas na primeira e terceira épocas de colheita. Além disto, observou-se que os parâmetros % de pureza, umidade e ARC determinaram as características das amostras de cana colhidas na primeira época, indicando um estágio de maturação inferior em relação às outras épocas.

6.1.2 Avaliação dos parâmetros tecnológicos da cana-de-açúcar em três épocas de colheita

Os resultados apresentados foram realizados através de análises de variância, seguidos de pós-teste para o desdobramento da interação época de colheita x parâmetro de qualidade da cana-de-açúcar.

O Brix do caldo, a pol, a pureza aparente e os açúcares redutores são indicadores essenciais para se definir a qualidade da cana-de-açúcar como matéria-prima industrial (DELGADO *et al.*, 1994; RIPOLI e RIPOLI, 2004). Na Figura 11, verificou-se que a concentração mediana do Brix do caldo, das cinco cultivares de cana-de-açúcar variou em função das épocas de colheita, sendo que a primeira época apresentou valores significativamente inferiores a segunda e terceira época.

Anjos (2001) analisando a variação do brix do caldo de cana-de-açúcar, na região de Perdões-MG, em três épocas de colheita das cultivares SP80-142 (maio, junho e julho) e RB72454 (outubro, novembro e dezembro), verificou que não houve diferença significativa

dos valores médios de brix % do caldo entre as épocas de colheita das cultivares, as quais apresentaram 17,7%, 20,0%, 21,83% e 21,2%, 19,6%, 18,8% respectivamente.

Mutton *et al.* (2003), ao estudar a influência da matéria-prima sobre a composição e qualidade da aguardente em duas unidades produtoras na região fisiográfica de Ribeirão Preto no período de agosto a novembro, verificou que os valores de brix % do caldo não diferiram em ambas as unidades produtoras neste período e os valores médios observados foram: 17,24% e 18,32%.

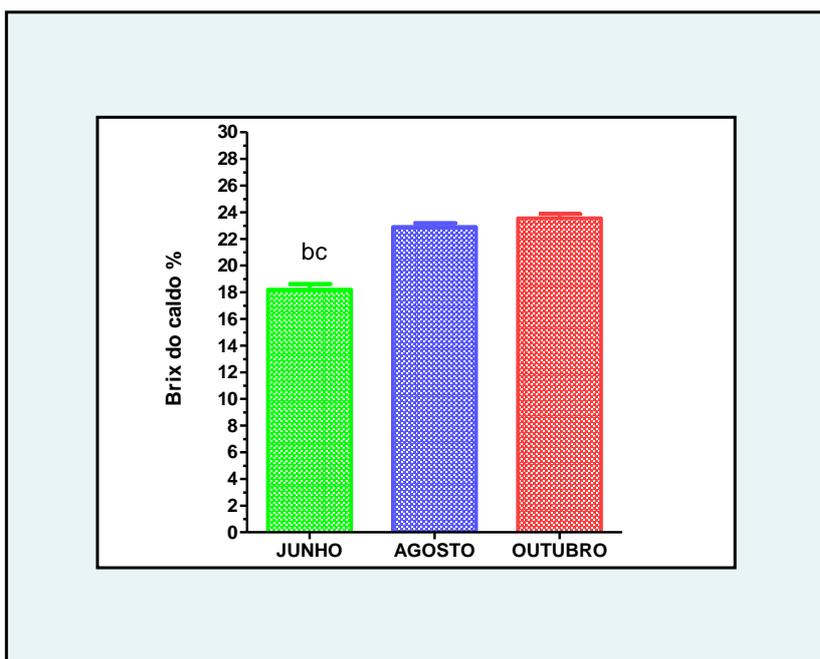


Figura 11: "Valor médio \pm erro padrão das concentrações do Brix do caldo % da cana, colhida em diferentes épocas de maturação. As letras b,c representam diferenças estatísticas entre junho e demais épocas ($p < 0,0001$). ANOVA seguida por pós-teste de Turkey".

A sacarose é o principal açúcar encontrado na cana, sendo que sua concentração (pol) em canas maduras varia de 15 a 18 %, enquanto glicose e frutose têm concentrações geralmente baixas, menores que 0,5%. Isso faz com que o valor da pol aproxime-se bastante do teor real de sacarose, sendo normalmente aceito como tal (CALDAS, 2005; FERNANDES, 2011). Neste trabalho, os resultados das concentrações medianas da pol da cana das cinco cultivares de cana-de-açúcar variaram em função das três épocas de colheita. Percebeu-se que a primeira época apresentou valor da mediana significativamente inferior à segunda e terceira época (FIGURA 12).

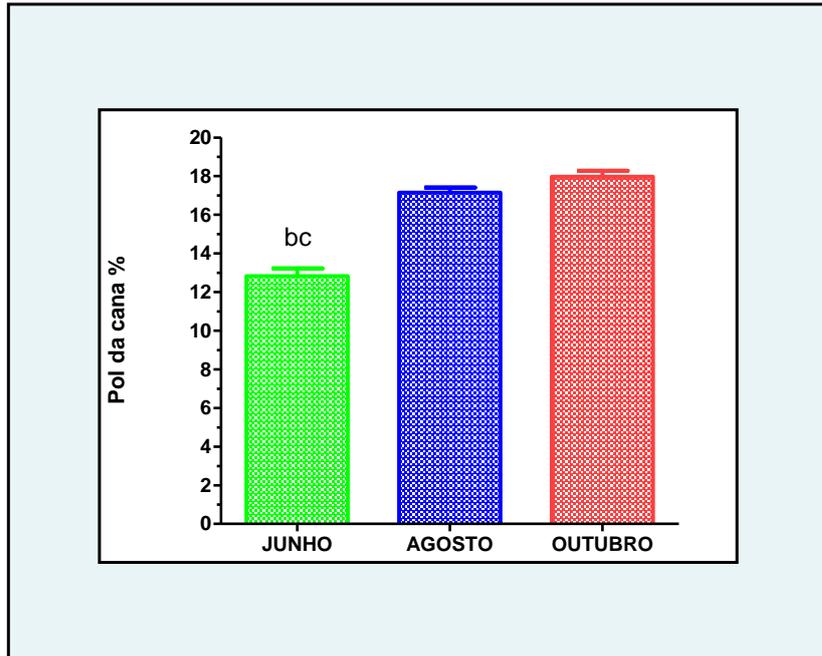


Figura 12: "Valor médio \pm erro padrão das concentrações do pol da cana %, colhida em diferentes épocas de maturação. As letras b,c representam diferenças estatísticas entre junho e demais épocas ($p < 0,0001$). ANOVA seguida por pós-teste de Turkey".

Enquanto em períodos de crescimento vegetativo a pureza aparente é baixa, devido particularmente à formação e consumo de açúcares para o crescimento, em períodos de maturação o acúmulo de sacarose vai elevando a pureza devido ao aumento dos açúcares em relação aos sólidos solúveis totais (STUPIELLO, 2000). Através deste estudo, identificou-se diferença significativa das concentrações dos valores da mediana da pureza aparente % da primeira época de colheita em relação a segunda e terceira épocas (FIGURA 13).

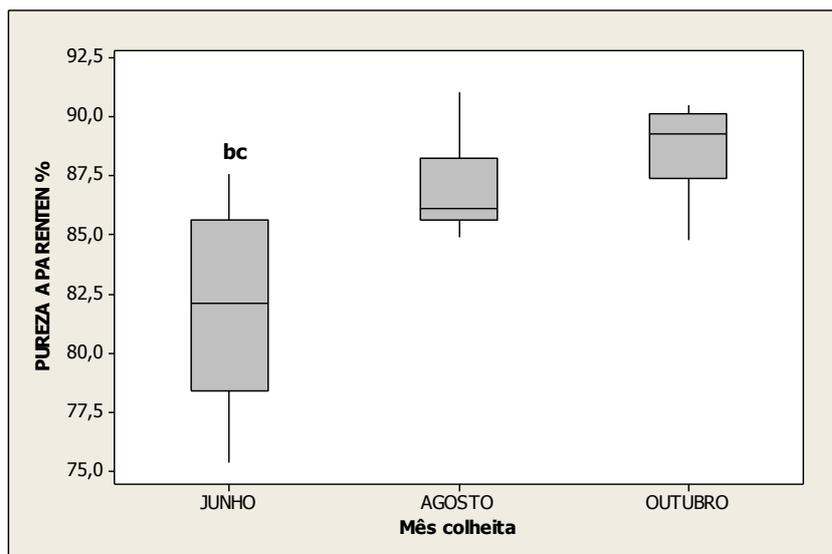


Figura 13: "Valor mediano e percentis 25 e 75% das concentrações de pureza aparente % da cana, colhida em diferentes épocas de maturação. As letras bc representam diferenças estatísticas entre junho e demais épocas ($p < 0,0001$). Friedman seguido por pós-teste de Dunns”.

Altos teores de açúcares redutores indicam cana “verde”, enquanto baixos teores indicam cana “madura.” (VASCONCELOS, 2010). Para cana madura, os teores de açúcares redutores são geralmente baixos, menor do que 0,5%, comparado ao teor da pol que pode estar acima de 16%, na média da safra (FERNANDES, 2011).

Dentre os parâmetros químico-tecnológicos determinados na matéria-prima, observou-se na Figura 14 que as maiores concentrações medianas de açúcares redutores das cinco cultivares de cana-de-açúcar, nas três épocas de colheita, concentraram-se na primeira, o qual foi significativamente maior em relação à terceira época. Segundo Ripoli e Ripoli (2004), o aumento do teor de açúcares redutores na cana-de-açúcar tem sido correlacionado com a contaminação bacteriana no início da safra, quando a cana não atingiu o ponto de maturação ideal. Das atividades destas bactérias resultam metabólitos importantes para o processamento da matéria-prima, como ácido acético e lático (STUPIELLO, 2005).

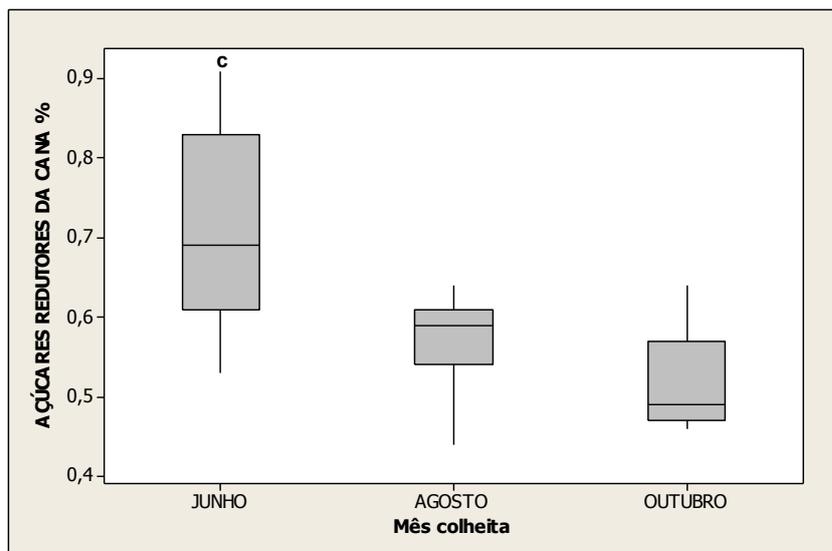


Figura 14: "Valor mediano e percentis 25 e 75% das concentrações de açúcares redutores da cana %, colhida em diferentes épocas de maturação. A letra c representa diferença estatística entre junho e outubro ($p < 0,0001$). Friedman seguido por pós-teste de Dunns".

Verificou-se através das concentrações medianas (FIGURAS 11, 12, 13 e 14), que a medida que o processo natural de maturação se processou durante as três épocas de colheita, houve um incremento significativo na qualidade da matéria-prima, em consequência do aumento do brix do caldo %, pol da cana %, pureza aparente % e redução nos teores de açúcares redutores da cana %.

6.1.3 Avaliação dos parâmetros tecnológicos da cana-de-açúcar de cada cultivar nas três épocas de colheita

Os resultados apresentados foram realizados através de análises de variância, seguidos de pós-teste para o desdobramento da interação de cada cultivar x época de colheita x indicador de qualidade da cana-de-açúcar.

Landel e Bressiani (2008) estudaram o comportamento da qualidade da matéria-prima em função da época de colheita na região Centro-Sul do Brasil, que pode ter áreas colhidas de abril a novembro e identificaram que este longo período interfere nos parâmetros de qualidade da matéria-prima. Ainda de acordo com Landel e Bressiani (2008), no período de abril a junho tem-se a colheita de matéria-prima de pior qualidade, devido às condições desfavoráveis para a maturação, predominante no período. O inverso acontece no período de julho a setembro e nos meses de outubro a novembro, em que a qualidade da matéria-prima oscila em função dos fatores climáticos.

Neste trabalho, verificou-se que a composição química e tecnológica da matéria-prima melhorou a partir da primeira época em todas as cultivares, pois as reações fisiológicas em interação com as condições ambientais elevaram os valores das concentrações medianas do Brix do caldo %, pol da cana %, e pureza aparente %, enquanto os valores das medianas referentes a açúcares redutores foram maiores na primeira época (FIGURAS 15, 16,17 e 18).

As cultivares JAVA, RB72452 e RB765418 apresentaram diferença significativa dos valores de medianas do brix do caldo % e pol do caldo % entre a primeira e a terceira época (FIGURAS 15 e 16), fato que se repetiu para os valores de medianas da pureza aparente % e açúcares redutores % para as cultivares JAVA e RB765418 (FIGURAS 17 e 18).

A cultivar SP79-1011 não apresentou diferença significativa entre as épocas, enquanto a cultivar SP80-1842 mostrou-se significativamente diferente entre a primeira e segunda época com relação aos valores das medianas do brix do caldo % e pol da cana % (FIGURAS 15 e 16).

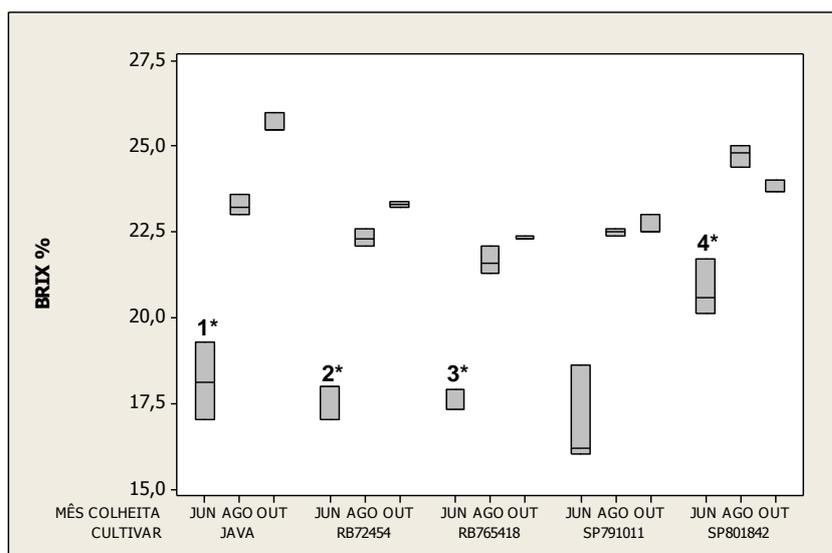


Figura 15: "Valor mediano e percentis 25 e 75% das concentrações de brix do caldo % de cada cultivar de cana-de-açúcar, colhida em diferentes épocas de maturação. 1*, 2* e 3* representa diferença estatística entre junho e outubro nas cultivares JAVA, RB72454 e RB765418 respectivamente. O 4* representa diferença estatística entre junho e agosto na cultivar SP80-1842 ($p < 0,0001$). Friedman seguido por pós-teste de Dunns".

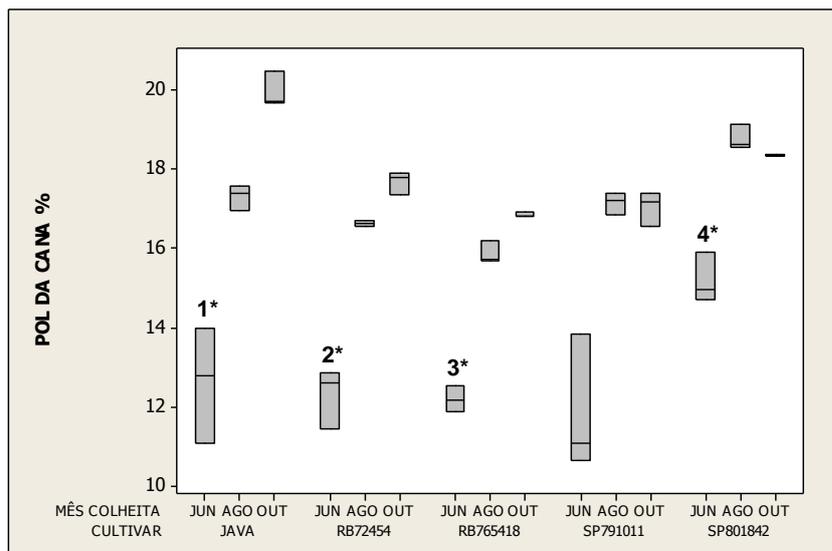


Figura 16: "Valor mediano e percentis 25 e 75% das concentrações de pol da cana % de cada cultivar de cana-de-açúcar, colhida em diferentes épocas de maturação. 1*, 2* e 3* representa diferença estatística entre junho e outubro nas cultivares JAVA, RB72454 e RB765418 respectivamente. O 4* representa diferença estatística entre junho e agosto na cultivar SP80-1842 ($p < 0,0001$). Friedman seguido por pós-teste de Dunns".

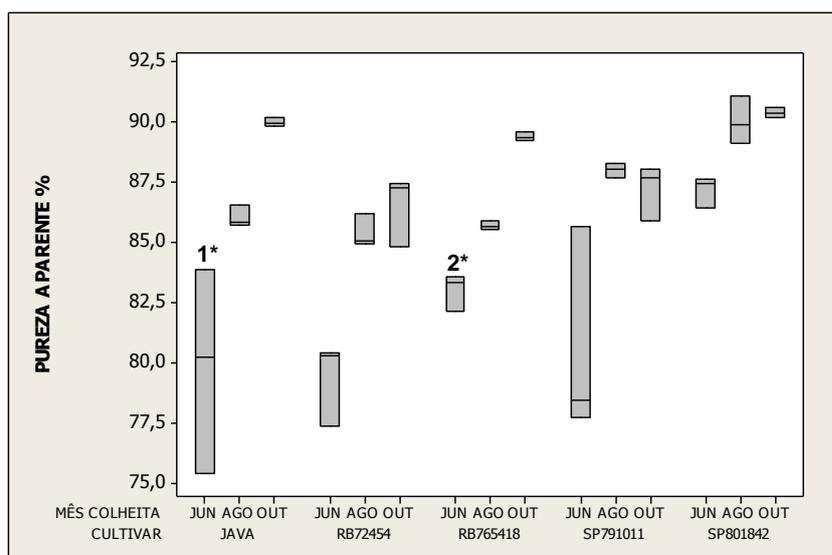


Figura 17: "Valor mediano e percentis 25 e 75% das concentrações de pureza aparente % de cada cultivar de cana-de-açúcar, colhida em diferentes épocas de maturação. 1* e 2* representa diferença estatística entre junho e outubro nas cultivares JAVA e RB765418 respectivamente ($p < 0,0001$). Friedman seguido por pós-teste de Dunns".

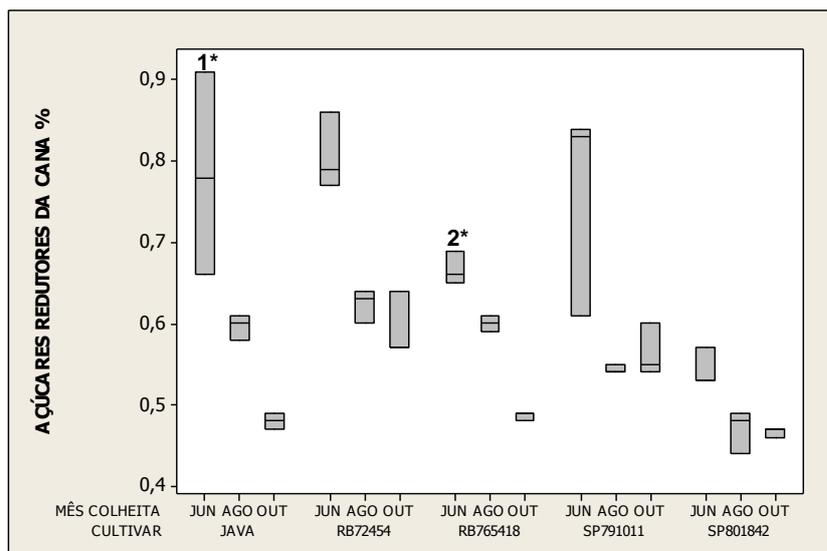


Figura 18: "Valor mediano e percentis 25 e 75 das concentrações de açúcares redutores % de cada cultivar de cana-de-açúcar, colhida em diferentes épocas de maturação. 1* e 2* representa diferença estatística entre junho e outubro nas cultivares JAVA e RB765418 respectivamente ($p < 0,0001$). Friedman seguido por pós-teste de Dunns".

6.1.4 Avaliação quantitativa dos parâmetros tecnológicos de cada cultivar de cana-de-açúcar por época de colheita

Os valores médios da composição tecnológica das cinco cultivares de cana-de-açúcar em cada época de colheita com os resultados das análises de variância, seguidos de pós-testes são apresentados na Tabela 6.

A composição tecnológica da cana pode variar ao longo da safra. As cultivares de cana-de-açúcar, em relação aos diferentes comportamentos de maturação, são agrupadas em: precoces quando apresentam um teor de Pol acima de 13% no início de maio, médias quando atingem a maturação em julho e tardias quando o pico de maturação ocorre em agosto/setembro (HORII, 2004).

Segundo Colete e Stupiello (2006), o uso da irrigação suplementar possibilitou mais recentemente uma nova modalidade de plantio que vem sendo consolidado, o plantio de inverno, abrangendo os meses de junho, julho, agosto e primeira quinzena de setembro. Nesta modalidade colhe-se a cana-de-ano. Observou-se neste estudo, que as cultivares não expressaram diferenças significativas entre si, quanto ao grau de maturação para esta modalidade de plantio, dentro de cada época de colheita e todas apresentaram nível de maturação significativamente maior na segunda e terceira épocas. Todavia, foram detectadas diferenças significativas no brix do caldo % e na pol da cana % entre as cultivares SP80-1842

e RB765418, ambas de maturação precoce, e entre as cultivares JAVA e RB765418, em análises realizadas em agosto e outubro respectivamente.

Vale ressaltar que a cultivar SP80-1842 obteve a maior concentração de pol na colheita de junho, confirmando o seu caráter de precocidade, enquanto a RB765418 também precoce, não atingiu o valor da pol esperado. A cultivar JAVA de comportamento de maturação indeterminado, aumentou o seu grau de maturação no decorrer das épocas de colheita.

Tabela 6 - Valores médios e desvio padrão de parâmetros tecnológicos analisados em cultivares de cana-de-açúcar nos meses de junho, agosto e outubro.

PARÂMETROS TECNOLÓGICOS*	CULTIVARES					MÉDIA DA ÉPOCA
	RB72454	SP79-1011	SP80-1842	JAVA	RB765418	
JUNHO						
Brix do caldo %	17,66 ± 0,57 ^a	16,93 ± 1,44 ^a	20,80 ± 0,81 ^a	18,13 ± 1,15 ^a	17,5 ± 0,34 ^a	18,20 ± 1,61 ^A
Pol da cana %	12,29 ± 0,76 ^a	11,85 ± 1,73 ^a	15,18 ± 0,63 ^a	12,61 ± 1,45 ^a	12,18 ± 0,33 ^a	12,82 ± 1,56 ^A
Pureza aparente %	79,30 ± 1,72 ^a	80,56 ± 4,38 ^a	87,12 ± 0,62 ^a	79,79 ± 4,24 ^a	82,98 ± 0,77 ^a	81,96 ± 3,84 ^A
Açúcares redutores %	0,80 ± 0,04 ^a	0,76 ± 0,13 ^a	0,54 ± 0,02 ^a	0,78 ± 0,12 ^a	0,66 ± 0,02 ^a	0,71 ± 0,12 ^{AB}
AGOSTO						
Brix do caldo %	22,33 ± 0,25 ^a	22,5 ± 0,10 ^a	24,73 ± 0,30 ^{ab}	23,26 ± 0,30 ^a	21,66 ± 0,40 ^{ac}	22,89 ± 1,11 ^B
Pol da cana %	16,64 ± 0,07 ^a	17,14 ± 0,28 ^a	18,78 ± 0,31 ^{ab}	17,31 ± 0,30 ^a	15,87 ± 0,26 ^{ac}	17,14 ± 1,01 ^B
Pureza aparente %	85,35 ± 0,68 ^a	87,96 ± 0,32 ^a	89,97 ± 0,99 ^a	85,99 ± 0,45 ^a	85,65 ± 0,17 ^a	86,99 ± 1,88 ^B
Açúcares redutores %	0,62 ± 0,02 ^a	0,54 ± 0,00 ^a	0,47 ± 0,02 ^a	0,59 ± 0,01 ^a	0,60 ± 0,01 ^a	0,56 ± 0,05 ^A
OUTUBRO						
Brix do caldo %	23,30 ± 0,10 ^a	22,66 ± 0,28 ^a	23,8 ± 0,17 ^a	25,66 ± ,28 ^{ab}	22,33 ± 0,05 ^{ac}	23,55 ± 1,22 ^B
Pol da cana %	17,68 ± 0,29 ^a	17,03 ± 0,43 ^a	18,35 ± 0,02 ^a	19,95 ± 0,44 ^{ab}	16,84 ± 0,05 ^{ac}	17,97 ± 1,19 ^B
Pureza aparente %	86,47 ± 1,45 ^a	87,15 ± 1,14 ^a	90,31 ± 0,20 ^a	89,94 ± 0,19 ^a	89,34 ± 0,20 ^a	88,64 ± 1,74 ^B
Açúcares redutores %	0,59 ± 0,04 ^a	0,56 ± 0,03 ^a	0,46 ± 0,00 ^a	0,48 ± 0,01 ^a	0,48 ± 0,00 ^a	0,51 ± 0,05 ^{AC}

*Média de três repetições. Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si na linha e maiúscula na coluna, dentro de um mesmo parâmetro, ao nível de 5% pelo teste de Friedman seguido por pós-teste de Dunns.

Fernandes (2005), ao avaliar os parâmetros de produtividade dessas cinco cultivares no mesmo local e época de plantio, utilizou irrigação suplementar e verificou que a produção total por hectare aos 387 dias após o plantio foi de 191,2; 213,17; 218,41; 151,78 e 218,41ton.ha⁻¹ das cultivares RB72454, SP79-1011, SP80-1842, JAVA e RB76541, respectivamente. Com base em Fernandes (2005) e neste estudo pode-se atestar que a época de plantio e as cultivares testadas devem ser utilizados como referência para a produção de cachaça de alambique para esta região, pois a matéria-prima colhida no mesmo período do plantio do ano seguinte, nos meses de agosto e outubro, apresentou valores % de brix, pol da cana, pureza aparente e açúcares redutores da cana, que podem ser considerados como indicadores para se definir a qualidade ideal da cana-de-açúcar, para a produção de cachaça de alambique com melhores características químicas e sensoriais.

6.2 Parâmetros físico-químicos

6.2.1 Análise qualitativa de Compostos Voláteis por GC-MS

A Figura 19 mostra um cromatograma específico de uma amostra da fração extraída em diclorometano de cachaça, evidenciando a presença de alcoóis, ésteres, e ácidos carboxílicos, para um tempo de corrida cromatográfico de 45 min.

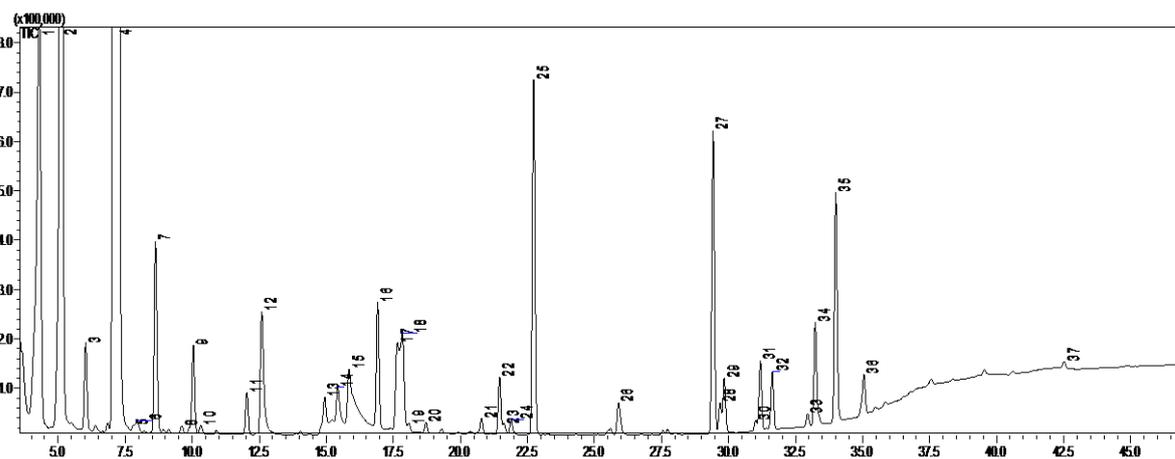


Figura 19: Cromatograma obtido por GC-MS correspondente à amostra de cachaça analisada no modo *fullscan*. Dentre os compostos voláteis identificados nos 37 picos cromatográficos relacionados, destacam-se os picos: (2) álcool isobutílico, (3) álcool butílico, (4) álcool isoamílico, (9) lactato de etila, (12) ácido acético (25) álcool fenil etílico

Para termos uma avaliação mais abrangente das determinações de substâncias voláteis nas amostras de cachaças, tais como influência ou interação, foi empregada a análise de componentes principais (PCA). Nessa projeção bidimensional (FIGURA 20) os resultados

indicam que os compostos voláteis determinados, conduzem a resultados exploratórios consistentes para a separação entre os grupos de cachaças produzidas em três épocas de maturação da cana-de-açúcar.

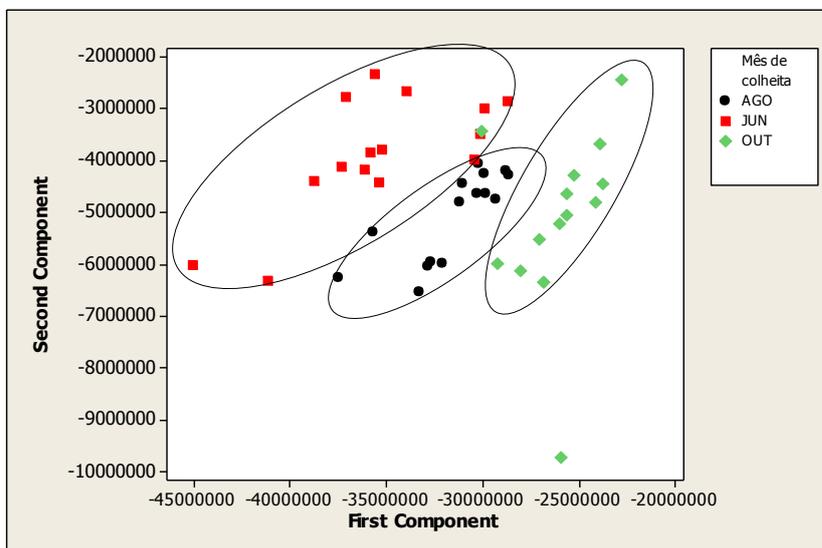


Figura 20: Gráfico de PCA scores para análise de compostos voláteis nas amostras de cachaças produzidas com diferentes cultivares de cana-de-açúcar, colhidas em três épocas de maturação.

A análise estatística das características físico-químicas mais relevantes obtidas nas amostras de cachaça em todas as épocas de colheita das cultivares de cana-de-açúcar foi realizada para obter uma relação entre os parâmetros estudados, conforme apresentado na Figura 21. Através da segunda componente (PC2), verificou-se que o álcool isoamílico (*outliers*) é o principal responsável pela distinção entre a primeira e as demais épocas. No caso da primeira componente (PC1), o álcool isobutílico e o álcool fenilethyl também influenciaram de forma acentuada na diferenciação de parte das amostras referentes à primeira época.

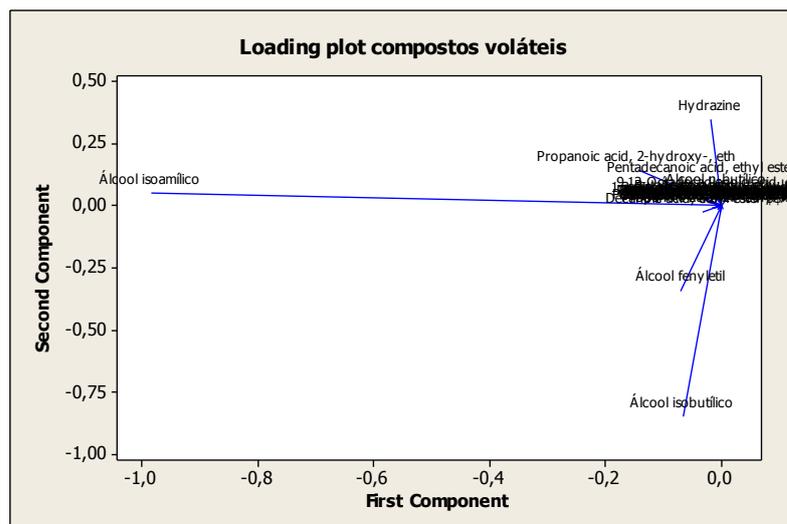


Figura 21: Gráfico de PCA *loadings* para os discriminadores químicos determinados nas análises de compostos voláteis de amostras de cachaças produzidas com diferentes cultivares de cana-de-açúcar, colhidas em três épocas de maturação.

Pela sobreposição dos gráficos de *Scores e Loadings*, observou-se que o álcool isoamílico apresentou-se como composto importante para separação das amostras de cachaça, caracterizando o grupo referente às cachaças produzidas na primeira época de colheita. O álcool fenyletil e o álcool isobutílico contribuíram para caracterizar o grupo de amostras de cachaças referentes à terceira época.

Independente da influência do material destilador, tais como cobre, aço inox, alumínio ou porcelana na composição química das aguardentes de cana, Cardoso *et al.* (2003b) identificaram presença do álcool isoamílico como predominante seguido do álcool isobutílico entre os alcoóis secundários.

Os resultados das análises de variância das amostras de cachaça, seguidos de pós-teste para o desdobramento da interação época de colheita x compostos discriminantes, são apresentados nas Figuras 22, 23, e 24. O álcool isobutílico (2-metil propanol) apresentou maior valor de área de pico cromatográfico na segunda época de colheita, sendo este resultado significativamente diferente em relação à primeira época (FIGURA 22), o mesmo não se repetiu com o álcool isoamílico (3 metil-1-butanol) que teve seu maior valor de área de pico cromatográfico na primeira época de colheita e diferiu significativamente das demais. Esta diferença também foi verificada entre a segunda e terceira épocas de colheita (FIGURA 23).

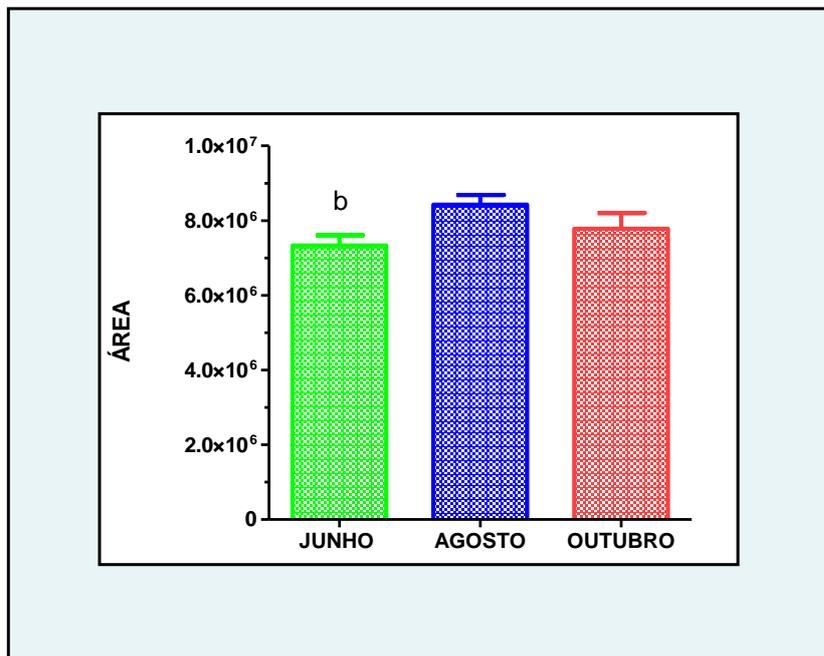


Figura 22: "Valor médio ± erro padrão das áreas dos picos cromatográficos referentes aos teores de álcool isobutílico presente nas amostras de cachaças produzidas com diferentes cultivares de cana-de-açúcar colhidas em três épocas de maturação. A letra b representa diferença estatística entre junho e agosto ($p < 0,0001$). ANOVA seguida por pós-teste de Turkey".

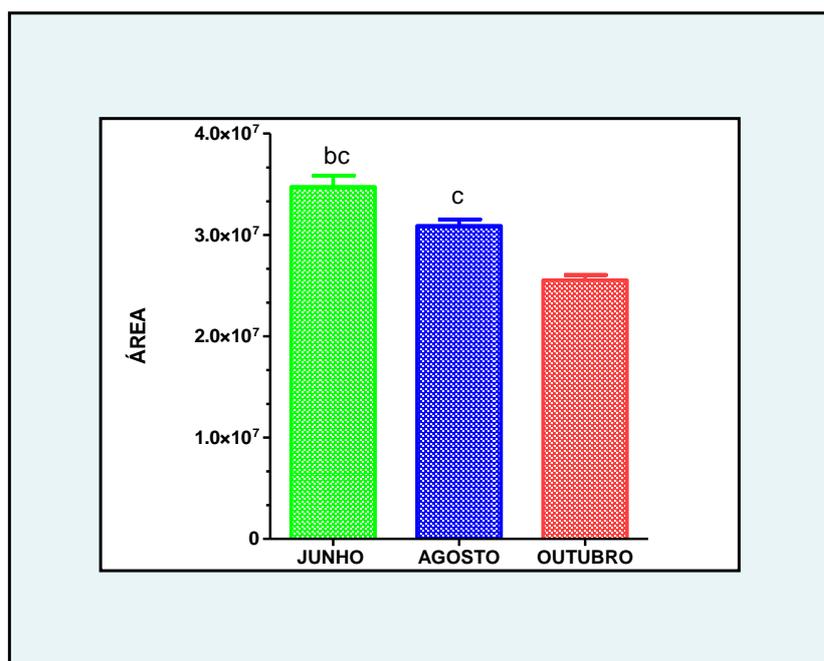


Figura 23: "Valor médio ± erro padrão das áreas dos picos cromatográficos referentes aos teores de álcool isoamílico presente nas amostras de cachaças produzidas com diferentes cultivares de cana-de-açúcar colhidas em três épocas de maturação. As letras bc representam a diferença estatística entre junho e demais épocas e a letra c a diferença estatística entre agosto e outubro ($p < 0,0001$). ANOVA seguida por pós-teste de Turkey".

O álcool fenyletil é um composto que tem a sua origem ainda pouco estudada na cachaça de alambique. A presença deste composto apresentou pouca variação no valor de área

dos picos cromatográficos nas três épocas de colheita, não diferindo estatisticamente entre si, (FIGURA 24).

Saerens *et al.* (2008) estudaram a influência da densidade do mosto e da temperatura de fermentação de cerveja na produção de alcoóis superiores de maior concentração (Isoamílico, álcool fenyletil, n-propílico e isobutílico), e o nível de expressão de 10 genes envolvidos na produção destes compostos. Os resultados mostraram que o aumento da temperatura da fermentação aumentou em 12% as concentrações em etanol, 5,1% v/v de álcool fenyletil e que a síntese deste composto é extremamente sensível a mudanças de temperatura de fermentação.

De todos os metabólitos secundários, os alcoóis superiores são geralmente produzidos pela levedura de mais alta concentração no mosto fermentativo. Aqueles de absoluta importância para o aroma da cerveja são: propanol (solvent-like), isobutanol (álcool), álcool isoamílico (frutado, doce) e 2-fenil etanol (rosa, floral) (QUAIN e DUFFIELD, 1985).

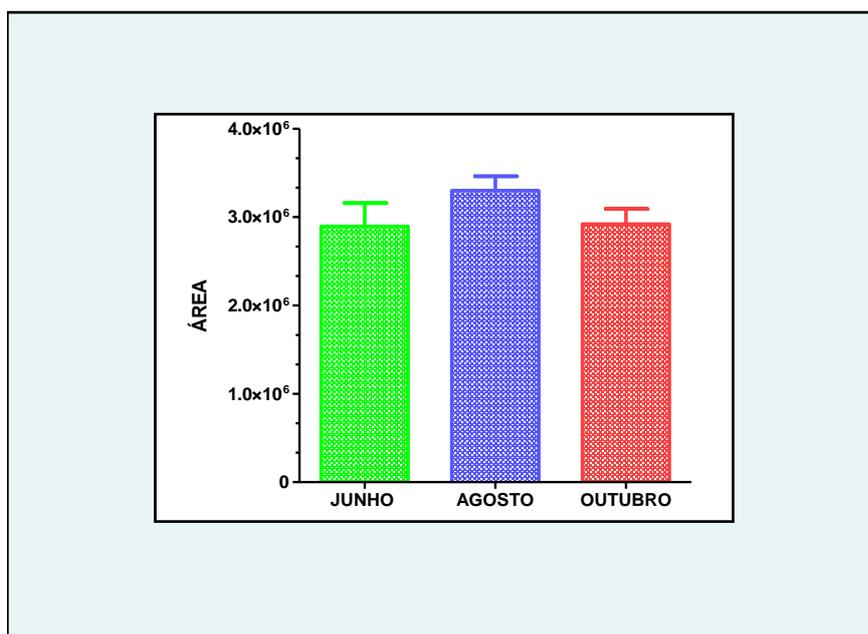


Figura 24: "Valor médio \pm erro padrão das áreas dos picos cromatográficos referentes aos teores de álcool phenethyl presente nas amostras de cachaças produzidas com diferentes cultivares de cana-de-açúcar colhidas em três épocas de maturação. Não houve diferença estatística entre as épocas de colheita ($p > 0,005$). ANOVA seguida por pós-teste de Turkey".

Dentre os compostos voláteis identificados nas amostras de cachaças avaliadas, destacaram-se o lactato de etila e o álcool fenyletil, além dos compostos com referência estabelecidos pela legislação brasileira (BRASIL, 2005): álcool isobutílico, álcool butílico, álcool isoamílico e ácido acético.

O álcool n-butílico (1-butanol) é gerado por meio de bactérias que podem comprometer a qualidade da cachaça (FRANÇA JÚNIOR, 2008). A literatura tem mostrado que concentrações elevadas de açúcares redutores em cana-de-açúcar imatura ou “verde” são precursores de contaminação bacteriana na fermentação do mosto. Neste estudo, verificou-se, que assim como os açúcares redutores da cana-de-açúcar, os valores da mediana das áreas dos picos cromatográficos do álcool n-butílico encontrados nas amostras de cachaças produzidas no mês de junho, foram estatisticamente maiores em relação às outras épocas (FIGURA 25).

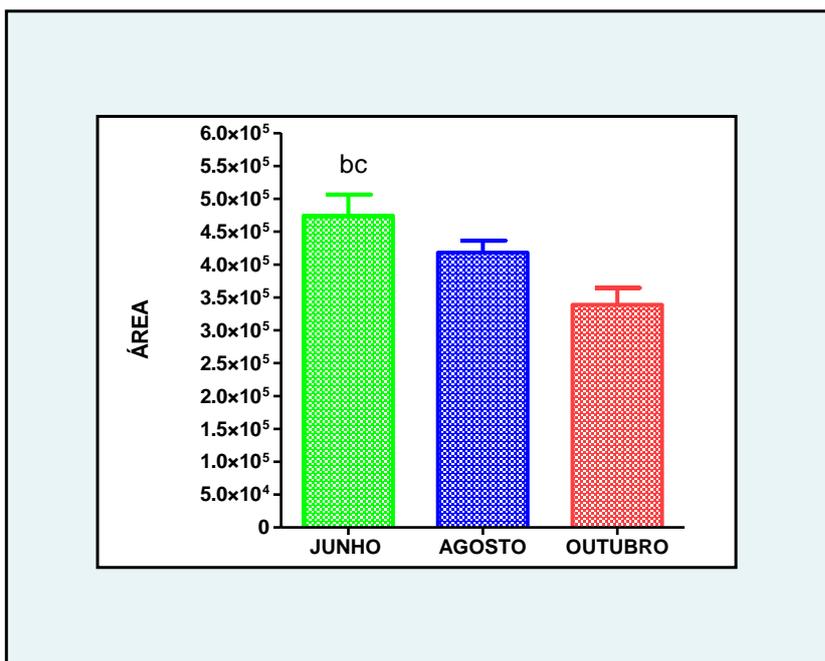


Figura 25: "Valor médio \pm erro padrão das áreas dos picos cromatográficos referentes aos teores de álcool n-butílico presente nas amostras de cachaças produzidas com diferentes cultivares de cana-de-açúcar colhidas em três épocas de maturação. As letras bc representam a diferença estatística entre junho e demais épocas ($p < 0,0001$). ANOVA seguida por pós-teste de Turkey".

Os resultados das análises de variância, seguidos de pós-teste para as amostras de cachaças produzidas por cada cultivar de cana-de-açúcar nos meses de junho, agosto e outubro, apresentaram comportamento semelhante ao da produção de álcool n-butílico em cada época, que pode ser observado quando comparamos os valores das medianas das áreas dos picos cromatográficos referentes a este composto na Figura 26. Observou-se ainda que as amostras de cachaças oriundas das cultivares RB72454 e RB765418 apresentaram valores das medianas deste composto significativamente superiores na primeira época em relação a terceira época.

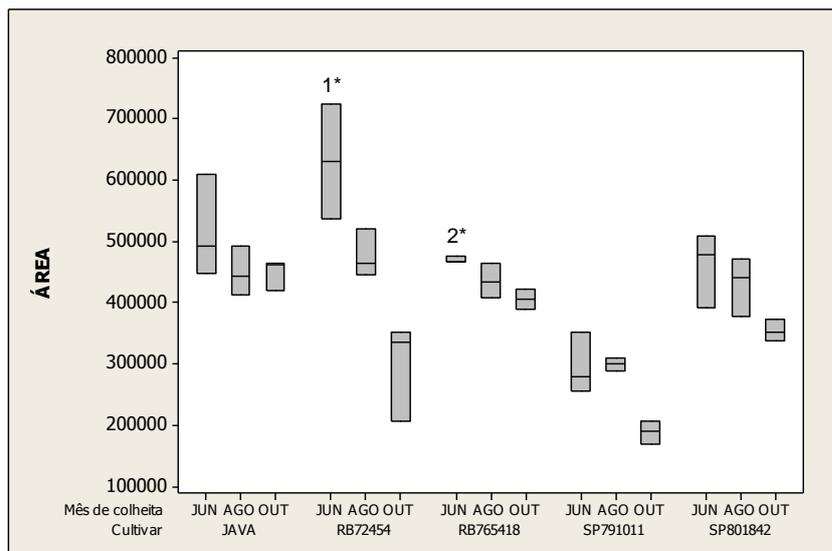


Figura 26: "Valor mediano e percentis 25 e 75% das áreas dos picos cromatográficos referentes aos teores de álcool n-butílico presente nas amostras de cachaças de cada cultivar de cana-de-açúcar, colhida em diferentes épocas de maturação. 1* e 2* representa diferença estatística entre junho e outubro nas cultivares RB72454 e RB765418 respectivamente ($p < 0,0001$). Friedman seguido por pós-teste de Dunns".

O acetato de etila é o principal éster presente nas bebidas destiladas, seguido pelo lactato de etila. A presença do lactato de etila está relacionada com a contaminação do mosto por bactérias (*Lactobacillus spp*) responsáveis pela fermentação láctica (NASCIMENTO, 2007). Em todas as amostras de cachaças analisadas neste trabalho, foi detectada a presença do éster lactato de etila. Na Figura 27, observou-se que os valores das medianas das áreas dos picos cromatográficos das amostras de cachaças por época de colheita deste éster foi maior na primeira época e que esta diferiu estatisticamente da terceira época.

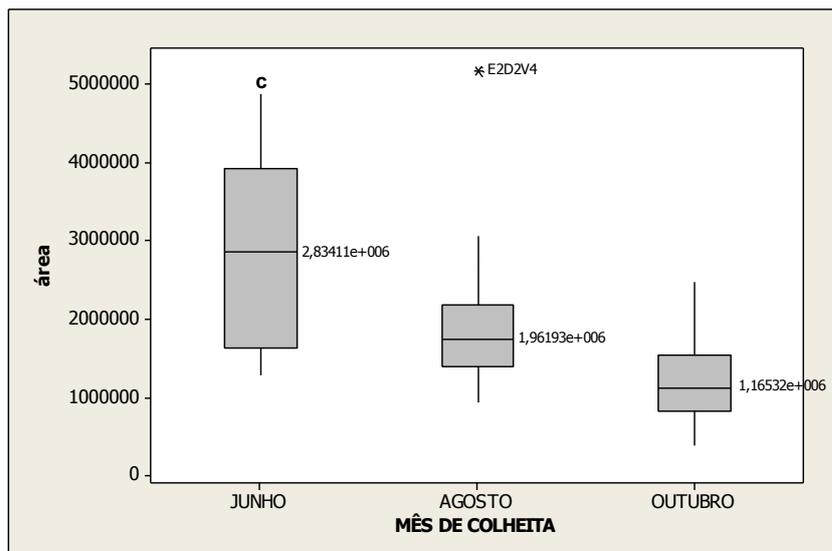


Figura 27: “Valor mediano e percentis 25 e 75% das áreas dos picos cromatográficos referentes aos teores de lactato de etila presente nas amostras de cachaças produzidas com diferentes cultivares de cana-de-açúcar colhidas em três épocas de maturação. A letra c representa a diferença estatística entre junho e outubro ($p < 0,0001$). Friedman seguido por pós-teste de Dunns”.

Verificou-se também que o lactato de etila apresentou maiores valores das medianas das áreas dos picos cromatográficos nas análises de cachaças produzidas por cada cultivar de cana-de-açúcar no mês de junho (FIGURA 28).

Nascimento (2007), avaliando a concentração de ésteres em 136 amostras de aguardentes, observou que o acetato de etila representou 59,3% da concentração total de ésteres e que o lactato de etila 36,2 %, sendo o segundo éster mais abundante.

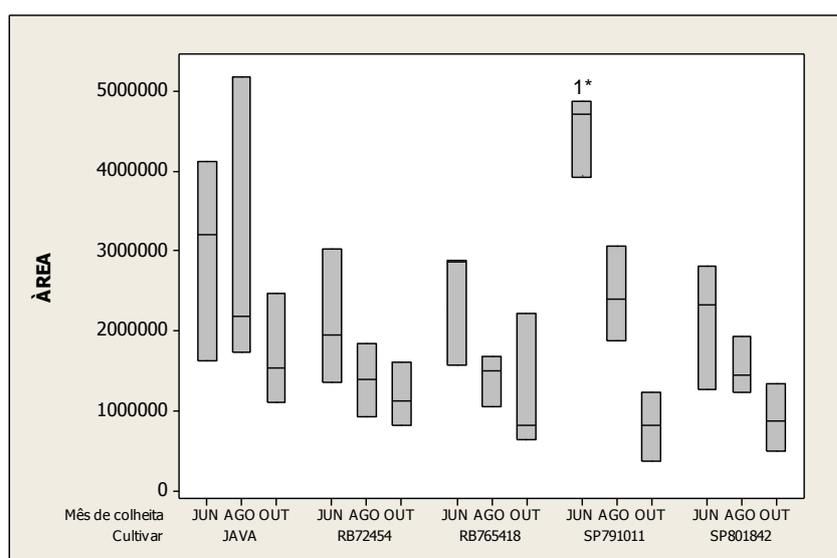


Figura 28: "Valor mediano e percentis 25 e 75% das áreas dos picos cromatográficos referentes aos teores de lactato de etila presente nas amostras de cachaças de cada cultivar de cana-de-açúcar, colhida em diferentes épocas de maturação. 1* representa diferença estatística entre junho e outubro na cultivar SP79-1011 ($p < 0,0001$). Friedman seguido por pós-teste de Dunns”.

O excesso de acidez pode ser atribuído à contaminação da cana ou do próprio mosto fermentativo por bactérias acéticas e outras, fazendo com que o substrato sofra fermentação acética, elevando a acidez e diminuindo o rendimento da produção de etanol (CARDOSO, 2006).

A baixa qualidade da cana-de-açúcar pelo fato de apresentar altas concentrações de açúcares redutores, baixa sacarose e baixa pureza, decorrente do índice de maturação da matéria-prima, são fatores que interferem na contaminação bacteriana da cana. Geralmente associados à contaminação do mosto por micro-organismos, estão os ácidos acético e láctico (SCHWAN *et al.*, 2001; CARVALHO-NETTO *et al.*, 2008). Destaque deve ser dado para a produção de ácidos orgânicos como láctico, acético e fórmico, pois, dentre outros efeitos causados por estes, Felipe (2010) cita a inibição do crescimento da levedura e a interferência na energia de manutenção celular na absorção de nutrientes aliados aos efeitos causados pelo pH do meio, como a inibição das enzimas e morte celular em condição de forte acidez. Observou-se na Figura 29, que os valores das medianas das áreas dos picos cromatográficos do ácido acético nas cachaças produzidas nas três épocas de colheita, foram significativamente maiores quando a matéria-prima foi colhida no mês de junho, comparado aos meses de agosto e outubro. Identificou-se ainda que os altos teores de açúcares redutores da matéria-prima ocorreram também nesta mesma época.

O ácido acético é resultante da contaminação bacteriana do mosto (STUPIELLO, 2005). A acidez volátil expresso em ácido acético é um dos principais parâmetros para se definir o perfil sensorial da cachaça, conforme estudo recente publicado sobre análise sensorial em cachaças (ODELLO *et al.*, 2009).

Silva *et al.* (2006), em trabalho avaliativo da qualidade sensorial de cachaças, utilizando-se de diferentes linhagens de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* isoladas de fermentações em fábricas de cachaças de alambique de Minas Gerais, verificou que a cachaça produzida com a linhagem floculante (UFMGA 1240) obteve as menores médias em todos os atributos, provavelmente devido ao alto teor de ácido acético.

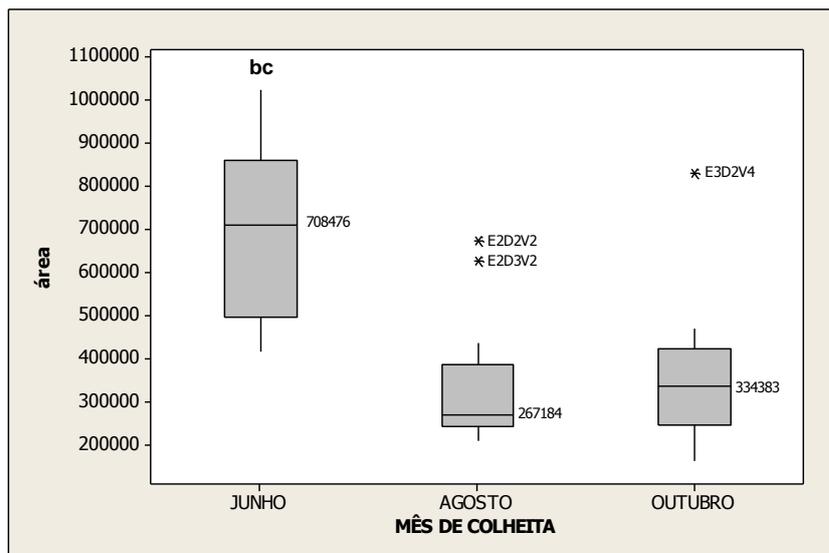


Figura 29: "Valor mediano e percentis 25 e 75% das áreas dos picos cromatográficos referentes aos teores de ácido acético presente nas amostras de cachaças produzidas com diferentes cultivares de cana-de-açúcar colhidas em três épocas de maturação. As letras b,c representam diferenças estatísticas entre junho e demais épocas ($p < 0,0001$). Friedman seguido por pós-teste de Dunns".

Ao compararmos os valores das áreas dos picos cromatográficos das amostras cachaças produzidas por cada cultivar de cana-de-açúcar nas épocas de colheita estudadas, verificou-se através dos resultados das análises de variância seguidos de pós testes, que a produção de ácido acético foi maior no mês de junho (FIGURA 30). A amostra de cachaça da cultivar SP791011 de maturação média apresentou maior valor de mediana deste composto na primeira época em relação às outras cultivares, apresentou ainda valores de mediana de Brix do caldo %, Pol da cana %, Pureza aparente % e açúcares redutores % que a caracteriza como matéria-prima de pior qualidade tecnológica, nesta mesma época, entre as cultivares.

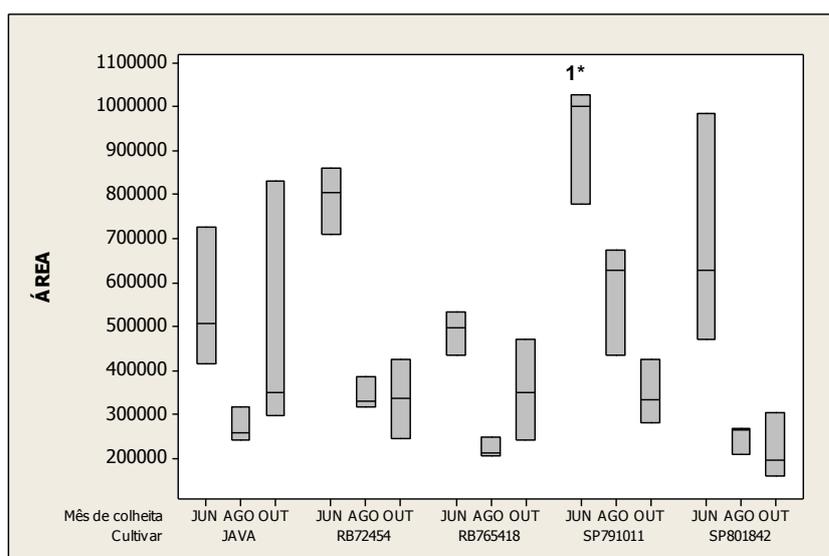


Figura 30: "Valor mediano e percentis 25 e 75% das áreas dos picos cromatográficos referentes aos teores de ácido acético presente nas amostras de cachaças de cada cultivar de cana-de-açúcar, colhida em diferentes épocas de maturação. 1* representa diferença estatística entre junho e outubro na cultivar SP791011 ($p < 0,0001$). Friedman seguido por pós-teste de Dunns".

6.2.2 Análise quantitativa dos parâmetros físico-químicos

Os valores médios das análises físico-químicas das amostras de cachaças, avaliadas nas três épocas de maturação das cinco cultivares de cana-de-açúcar com os resultados das análises de variância seguidos de pós testes são apresentados na Tabela 7.

A análise de componentes principais, assim como utilizada anteriormente, buscou verificar a formação de agrupamentos das amostras. A matriz de dados foi constituída pelos resultados das concentrações dos compostos voláteis analisados (TABELA 7), resultantes das cachaças produzidas a partir de cinco cultivares de cana-de-açúcar, em três diferentes épocas de colheita. Esta análise não indicou a existência de grupos distintos, pois não houve a formação de agrupamentos para a época de plantio nem para as cultivares (FIGURA 31).

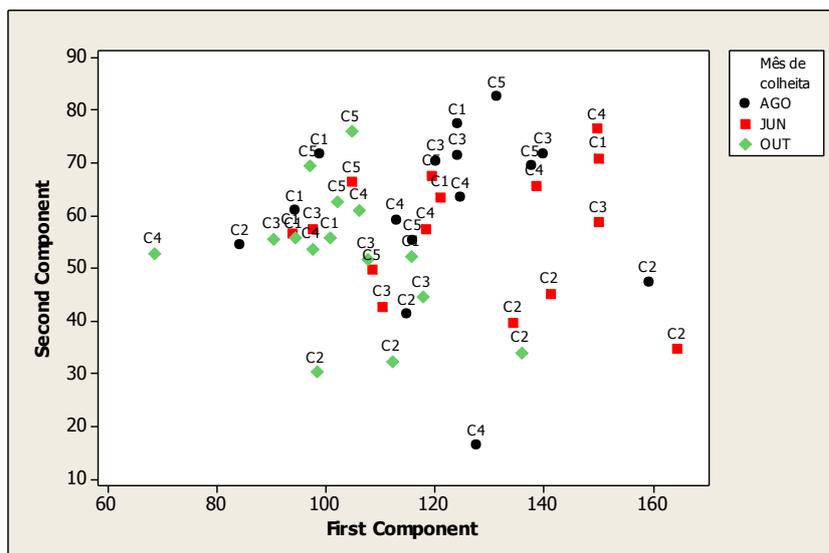


Figura 31: Gráfico de PCA *scores* para análise de compostos voláteis nas amostras de cachaças produzidas com diferentes cultivares de cana-de-açúcar, colhidas em três épocas de maturação.

Tabela 7 - Valores médios e desvio padrão de análises físico-química em amostras de cachaças produzidas a partir de cultivares de cana-de-açúcar nos meses de junho, agosto e outubro.

DETERMINAÇÕES ^{1*}	CULTIVARES					MÉDIA DA ÉPOCA
	RB72454	SP79-1011	SP80-1842	JAVA	RB765418	
JUNHO						
Graduação alcoólica ^{2*}	43,30 ± 0,36 ^a	44,17 ± 0,77 ^a	43,07 ± 0,20 ^a	44,53 ± 2,05 ^a	43,90 ± 0,72 ^a	43,79 ± 1,05 ^A
Acetaldeído ^{3*}	18,52 ± 5,26 ^a	19,40 ± 3,23 ^a	26,66 ± 4,63 ^a	24,09 ± 5,76 ^a	13,11 ± 4,8 ^a	20,36 ± 6,35 ^A
Acetato de etila ^{3*}	7,13 ± 0,90 ^a	8,56 ± 1,83 ^a	7,62 ± 1,92 ^a	6,40 ± 1,94 ^a	4,73 ± 0,55 ^a	6,89 ± 1,86 ^A
Soma furf. e hidroximetilf. ^{3*}	ND	ND	ND	ND	ND	
Álcoll n-Propílico ^{3*}	49,88 ± 2,47 ^a	22,19 ± 6,70 ^a	41,09 ± 7,48 ^a	51,93 ± 8,69 ^a	47,68 ± 9,54 ^a	42,56 ± 12,82 ^A
Álcoll isobutílico ^{3*}	33,30 ± 10,06 ^a	36,42 ± 2,73 ^a	37,17 ± 6,23 ^a	37,26 ± 4,39 ^a	33,87 ± 8,42 ^a	35,61 ± 6,08 ^A
Álcoll isoamílico ^{3*}	124,72 ± 27,7 ^a	145,91 ± 14,72 ^a	119,82 ± 26,82 ^a	138,30 ± 16,44 ^a	113,75 ± 6,93 ^a	128,51 ± 20,98 ^A
2,3- Butanodiona ^{3*}	1,03 ± 0,10 ^a	0,87 ± 0,05 ^a	0,92 ± 0,09 ^a	0,80 ± 0,17 ^a	1,32 ± 0,09 ^a	0,99 ± 0,21 ^{AB}
Metanol ^{3*}	4,23 ± 1,46 ^a	3,96 ± 1,37 ^a	4,90 ± 1,09 ^a	4,09 ± 1,25 ^a	4,70 ± 2,93 ^a	4,38 ± 1,53 ^A
Álcool séc-butílico ^{3*}	ND	ND	ND	ND	ND	
Álcool n-butílico ^{3*}	1,22 ± 0,11 ^a	0,65 ± 0,16 ^a	1,00 ± 0,10 ^a	1,21 ± 0,17 ^a	1,06 ± 0,18 ^a	1,03 ± 0,25 ^A
Acroleína ^{3*}	ND	ND	ND	ND	ND	
Carbamato de etila µg/L	ND	ND	ND	ND	ND	
Cobre mg.L ⁻¹	2,76 ± 0,79 ^a	2,66 ± 0,05 ^a	3,60 ± 2,33 ^a	2,60 ± 1,24 ^a	3,36 ± 1,72 ^a	3,01 ± 1,30 ^A
AGOSTO						
Graduação alcoólica ^{2*}	42,23 ± 2,28 ^a	43,70 ± 0,36 ^a	43,47 ± 0,05 ^a	44,20 ± 0,26 ^a	44,00 ± 0,85 ^a	43,52 ± 1,17 ^A
Acetaldeído ^{3*}	12,20 ± 4,42 ^a	16,50 ± 5,63 ^a	11,04 ± 2,02 ^a	18,65 ± 9,80 ^a	20,20 ± 4,76 ^a	15,72 ± 6,20 ^A
Acetato de etila ^{3*}	5,07 ± 0,94 ^a	4,89 ± 1,14 ^a	6,41 ± 1,04 ^a	4,73 ± 1,06 ^a	6,71 ± 0,40 ^a	5,57 ± 1,17 ^{AB}
Soma furf. e hidroximetilf. ^{3*}	ND	ND	ND	ND	ND	
Álcoll n-Propílico ^{3*}	56,82 ± 6,79 ^a	33,30 ± 9,28 ^a	54,01 ± 0,85 ^a	31,70 ± 26,01 ^a	54,30 ± 12,49 ^a	46,03 ± 16,43 ^A
Álcoll isobutílico ^{3*}	39,93 ± 4,59 ^a	37,16 ± 9,20 ^a	51,59 ± 5,89 ^a	44,53 ± 3,59 ^a	44,42 ± 11,36 ^a	43,53 ± 8,13 ^B
Álcoll isoamílico ^{3*}	108,82 ± 16,43 ^a	119,75 ± 35,79 ^a	129,23 ± 9,45 ^a	120,37 ± 6,16 ^a	130,23 ± 10,77 ^a	121,68 ± 17,91 ^A

1*Média de três repetições. 2* % v/v a 20 °C. 3* mg.100 mL⁻¹ A.A. Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si na linha e maiúscula na coluna, dentro de um mesmo parâmetro, ao nível de 5% pelo teste de Friedman seguido por pós-teste de Dunns. ND = Não detectável pelo método.

Tabela 7: Continuação...

DETERMINAÇÕES ^{1*}	CULTIVARES					MÉDIA DA ÉPOCA
	RB72454	SP79-1011	SP80-1842	JAVA	RB765418	
AGOSTO						
2,3- Butanodiona ^{3*}	1,10 ± 0,26 ^a	1,10 ± 0,22 ^a	1,02 ± 0,27 ^a	1,11 ± 0,07 ^a	1,19 ± 0,28 ^a	1,26 ± 0,15 ^{AC}
Metanol ^{3*}	4,77 ± 1,35 ^a	4,79 ± 2,54 ^a	4,25 ± 0,55 ^a	4,44 ± 2,01 ^a	6,00 ± 1,88 ^a	4,85 ± 1,64 ^A
Álcool séc-butílico ^{3*}	ND	ND	ND	ND	ND	
Álcool n-butílico ^{3*}	1,0 ± 0,14 ^a	0,73 ± 0,04 ^{ab}	1,0 ± 0,05 ^a	1,00 ± 0,15 ^a	1,18 ± 0,11 ^{ac}	1,01 ± 0,17 ^A
Acroleína ^{3*}	ND	ND	ND	ND	ND	
Carbamato de etila µg/L	ND	ND	ND	ND	ND	
Cobre mg.L ⁻¹	2,56 ± 0,68 ^a	3,46 ± 0,98 ^a	2,67 ± 1,15 ^a	3,06 ± 0,62 ^a	2,71 ± 0,71 ^a	2,89 ± 0,80 ^A
OUTUBRO						
Gradação alcoólica ^{2*}	42,73 ± 2,03 ^a	43,67 ± 0,51 ^a	43,63 ± 0,20 ^a	43,73 ± 0,23 ^a	43,50 ± 0,34 ^a	43,45 ± 0,89 ^A
Acetaldeído ^{3*}	23,46 ± 3,02 ^a	28,30 ± 10,03 ^a	21,64 ± 15,03 ^a	23,00 ± 14,52 ^a	16,70 ± 5,34 ^a	22,62 ± 9,84 ^A
Acetato de etila ^{3*}	4,47 ± 0,50 ^a	5,50 ± 2,49 ^a	4,27 ± 1,25 ^a	4,64 ± 1,66 ^a	4,18 ± 1,26 ^a	4,62 ± 1,42 ^B
Soma furf. e hidroximetilf. ^{3*}	ND	ND	ND	ND	ND	
Álcoll n-Propílico ^{3*}	43,97 ± 3,66 ^a	20,48 ± 3,11 ^{ab}	39,20 ± 4,54 ^a	47,23 ± 2,12 ^a	57,81 ± 7,86 ^{ac}	41,74 ± 13,30 ^A
Álcoll isobutílico ^{3*}	41,78 ± 5,71 ^a	44,90 ± 6,37 ^a	43,52 ± 5,07 ^a	38,17 ± 12,19 ^a	40,64 ± 2,22 ^a	41,81 ± 6,47 ^B
Álcoll isoamílico ^{3*}	103,60 ± 9,77 ^a	111,54 ± 18,32 ^a	104,40 ± 11,86 ^a	91,46 ± 17,88 ^a	103,79 ± 4,23 ^a	102,96 ± 13,22 ^B
2,3- Butanodiona ^{3*}	1,14 ± 0,07 ^a	1,01 ± 0,25 ^a	1,09 ± 0,08 ^a	1,05 ± 0,15 ^a	1,06 ± 0,14 ^a	1,07 ± 0,13 ^A
Metanol ^{3*}	5,57 ± 2,72 ^a	6,14 ± 3,05 ^a	3,54 ± 0,26 ^a	7,39 ± 4,46 ^a	3,61 ± 1,65 ^a	5,25 ± 2,83 ^A
Álcool séc-butílico ^{3*}	ND	ND	ND	ND	ND	
Álcool n-butílico ^{3*}	0,87 ± 0,03 ^a	0,53 ± 0,02 ^{ab}	0,91 ± 0,12 ^a	1,06 ± 0,10 ^a	1,15 ± 0,05 ^{ac}	0,91 ± 0,22 ^A
Acroleína ^{3*}	ND	ND	ND	ND	ND	
Carbamato de etila µg/L	ND	ND	ND	ND	ND	
Cobre mg.L ⁻¹	3,22 ± 1,02 ^a	3,41 ± 1,24 ^a	3,27 ± 1,22 ^a	3,32 ± 0,46 ^a	3,20 ± 1,68 ^a	3,29 ± 1,01 ^A

1* Média de três repetições. 2* % v/v a 20 °C. 3* mg.100 mL⁻¹. A.A. Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si na linha e maiúscula na coluna, dentro de um mesmo parâmetro, ao nível de 5% pelo teste de Friedman seguido por pós-teste de Dunns. ND = Não detectável pelo método.

6.2.2.1 Graduação alcoólica

Todas as amostras podem ser denominadas cachaças, pois os resultados do teor alcoólico foi 100% de acordo com os limites mínimos e máximos (38 a 48 % v/v), exigidos pela Instrução Normativa do Ministério da Agricultura e Abastecimento (BRASIL, 2005), cujo valor deve constar no rótulo do produto. Através dos resultados percebeu-se que não ocorreu nenhuma diferença estatística significativa entre as amostras de cachaças dentro das épocas ou entre os valores médios do grau alcoólico por época. Verificou-se apenas pequenas variações no componente grau alcoólico das amostras de cachaças de 41,8 a 43,96 % v/v a 20°C.

Miranda *et al.* (2007) ao analisar 94 amostras de cachaças e aguardentes, afirmou que estas variações podem indicar também imprecisão dos equipamentos utilizados na sua determinação além de possíveis erros no ponto da destilação ou na diluição das bebidas.

Odello *et al.* (2009), realizou avaliação sensorial e hedônica em 36 amostras de cachaças comerciais não adoçadas e constatou uma correlação negativa com a acidez e sabor de álcool, fatores estes que diminuem a preferência deste produto. Neste sentido, Chaves (1998) considera o grau alcoólico característica muito importante para a bebida, por ser parâmetro necessário, que caracteriza a marca do produto.

6.2.2.2 Análise quantitativa de carbamato de etila por GC-MS

A Figura 32 apresenta o cromatograma de uma das amostras de cachaças analisadas no modo *fullscan* e *SIM*.

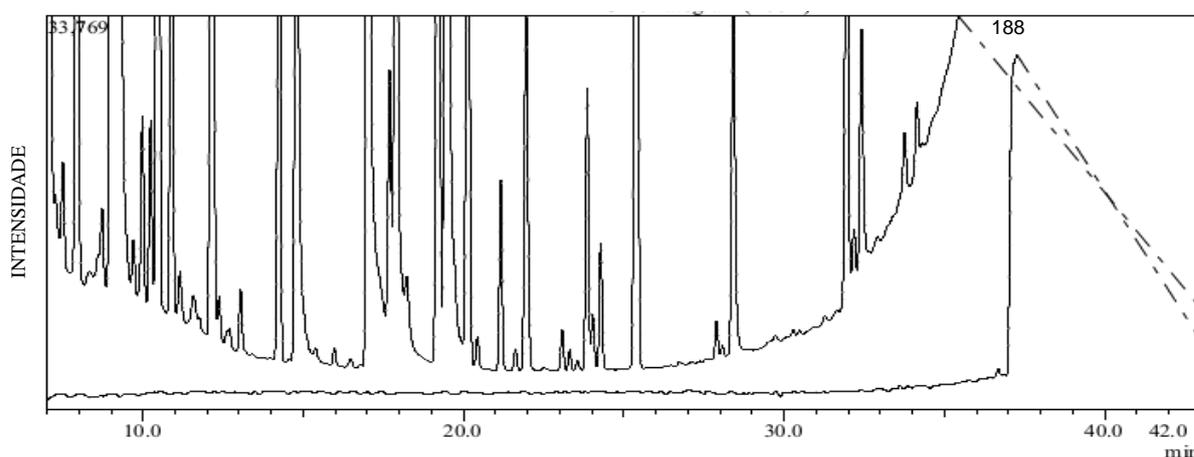


Figura 32: Cromatograma obtido por CG-MS para análise de carbamato de etila. Ion 188 monitorado no modo SIM para o padrão interno.

Carbamato de etila

Nas amostras de cachaças analisadas, não foi detectado a presença deste composto contaminante. Para este parâmetro todas as amostras atendem as especificações de qualidade estabelecida pela legislação o qual o limite máximo permitido pela Instrução Normativa 13 de 29 de junho de 2005 é de $150 \mu\text{g.L}^{-1}$.

Serafin *et al.* (2012), ao analisar a concentração de carbamato de etila para as três frações de cachaça de alambique, verificou que a soma das concentrações deste composto nas frações (cabeça, coração e cauda) tendem a apresentar menores concentrações de carbamato com relação ao produto de colunas, devido ao processo de corte.

Masson (2009), em estudo com cachaças produzidas em alambiques de pequeno e médio porte do Norte e Sul de Minas Gerais, afirmou que os valores de carbamato de etila encontrados nesta bebida não se correlacionam com a graduação alcoólica, acidez e cobre nas amostras analisadas.

6.2.2.3 Análises de aldeídos e cetonas por *HPLC-DAD-MS*

Entre os aldeídos e cetonas analisados apenas o analito 2,3 butanodiona foi encontrado nas amostras de cachaça, o qual foi quantificado no sistema *HPLC-DAD*. (FIGURA 33).

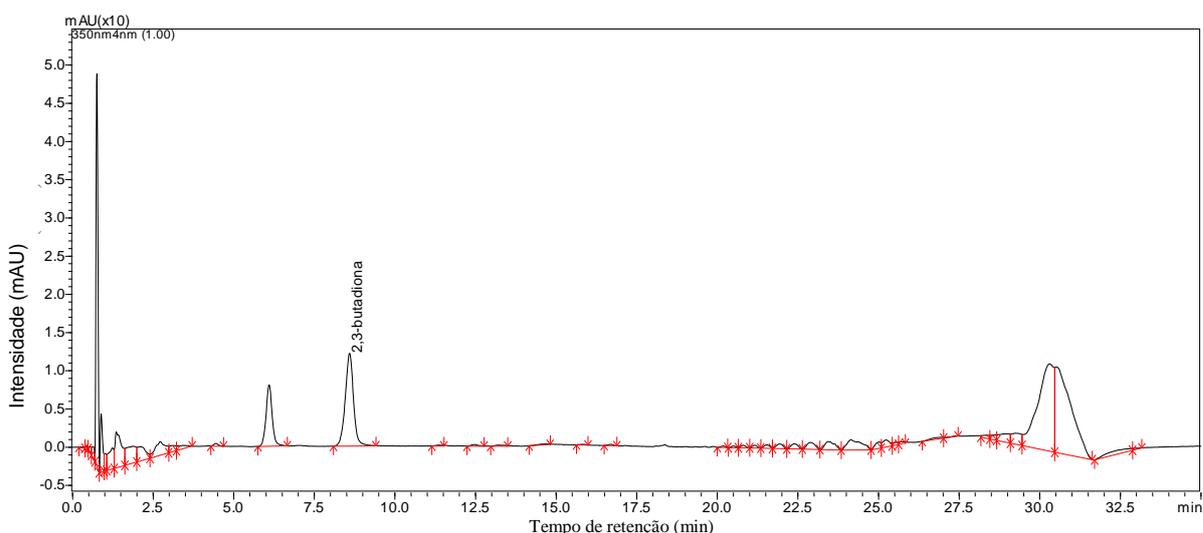


Figura 33: Cromatograma obtido por *HPLC-DAD* correspondente à amostra de cachaça analisada em 360nm, no qual se identifica o pico correspondente ao 2,3 butanodiona.

2,3-butanodiona

Os valores médios de 2,3-butanodiona obtidos nas cachaças analisadas neste estudo estiveram dentro dos parâmetros que seriam objeto de regulamentação legal (BRASIL, 2004), ou seja, abaixo de $2 \text{ mg} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$ álcool anidro. Os resultados deste composto encontrados neste trabalho mostraram que a concentração não variou estatisticamente para as amostras de cachaças produzidas a partir das cultivares de cana-de-açúcar dentro de cada época, entretanto a média total da primeira época variou significativamente em relação à segunda época.

Duarte *et al.* (2011) verificou que este composto é produzido em pequenas quantidades por levedura durante a fermentação, no entanto, as bactérias podem produzir grandes quantidades de 2,3-butanodiona. Leveduras e bactérias contribuem para o teor de 2,3-butanodiona no vinho, embora a concentração deste, produzido pela levedura durante a fermentação alcoólica é geralmente abaixo do seu limite de detecção (MARTINEAU *et al.*, 1995). Em contraste, as bactérias podem produzir significativa quantidade de 2,3-butanodiona durante a fermentação, sendo este um dos compostos de sabor mais importantes produzido por *Oenococcus oeni* (PRETORIUS, 2005).

Serafim *et al.* (2012) avaliou a concentração de 2,3-butanodiona na composição química das três frações de destilados (cabeça, coração e cauda) em alambique e coluna obtidos de um mesmo vinho e confirmou através de tratamento quimiométrico que os resultados analíticos das três frações são quimicamente distintos entre si e o correspondente destilado do mesmo vinho destilado em coluna.

Cardoso *et al.* (2003a) constataram a presença deste composto ao analisar 34 amostras cachaças brasileiras, cujas concentrações variaram de 0,23 a $9,77 \text{ mg} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$ de álcool anidro.

Acroleína

Para fixar característica de qualidade da cachaça, o Ministério da Agricultura, Pecuária e abastecimento (BRASIL, 2005), determinou que o limite máximo deste contaminante orgânico nesta bebida deve ser de $5 \text{ mg} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$ álcool anidro. Nas 45 amostras de cachaças analisadas não foi detectado a presença deste composto, atendendo assim a legislação vigente.

Masson (2009) avaliou 71 amostras de aguardentes de cana procedentes de alambiques de pequeno e médio porte das regiões norte e sul de Minas Gerais. Os teores de

acroleína variaram de 0 a 21,97 mg.100 mL⁻¹ de álcool anidro. Entretanto, não ocorreu diferença significativa ao nível de 5% de significância entre as amostras do Norte com as do Sul de Minas Gerais. Das 33 amostras do Norte de Minas e das 38 amostras do Sul de Minas, 12,12% e 7,89%, respectivamente, estavam acima do limite de 5 mg.100 mL⁻¹ de álcool anidro estabelecido pela Legislação Brasileira (BRASIL, 2005).

Furfural e hidroximetilfurfural

Nas amostras de cachaças analisadas, não foram detectadas presença de furfural e hidroximetilfurfural o qual tem o limite máximo permitido pela Instrução Normativa 13 de 29 de junho de 2005 estabelecido em 5 mg.100 mL⁻¹ de álcool anidro, portanto, todas as amostras analisadas atendem as especificações de qualidade estabelecida pela legislação.

Masson (2005) ao estudar a concentração de furfural em aguardentes de cana com e sem queima prévia do palhiço da cana-de-açúcar, verificou que a queima influenciou significativamente ($P < 0,01$) na concentração do furfural quando utilizado o mesmo processo de produção da aguardente. Ainda segundo Masson (2005), na queima do palhiço da cana-de-açúcar, a exsudação do açúcar torna-se um excelente aderente ao colmo de resíduos da combustão, de partículas sólidas de solo, minerais e outros. Ao ser processada a cana, esses resíduos são transferidos para o caldo e, em suspensão, vão para as dornas e posteriormente para o alambique, cuja matéria orgânica é transformada em furfural, chegando ao produto final. Infere-se, portanto, que a queima do palhiço da cana-de-açúcar propicia um aumento na formação de furfural.

A queima do palhiço da cana-de-açúcar e a presença de açúcares residuais foram constatadas por vários autores como fatores que podem levar à formação de furfural. A desidratação parcial de pentoses leva a formação de furfural (5-hidroximetil-2-furfuraldeído) (NOVAES, 1974). Yokoya (1995) ressalta que este composto pode estar presente em maior concentração no caldo de cana, quando a colheita da cana-de-açúcar for precedida da queima do palhiço e também pode ser formado pela pirogênese de matéria orgânica depositada no fundo dos alambiques. Vargas (1995) atesta que o aquecimento dos alambiques com fogo direto pode causar também a formação de furfural.

6.2.2.4 Análises cromatográficas (CG-FID)

A Figura 34 apresenta o cromatograma dos ésteres totais, acetaldeído, alcoóis superiores e contaminantes de uma das amostras de cachaça analisadas

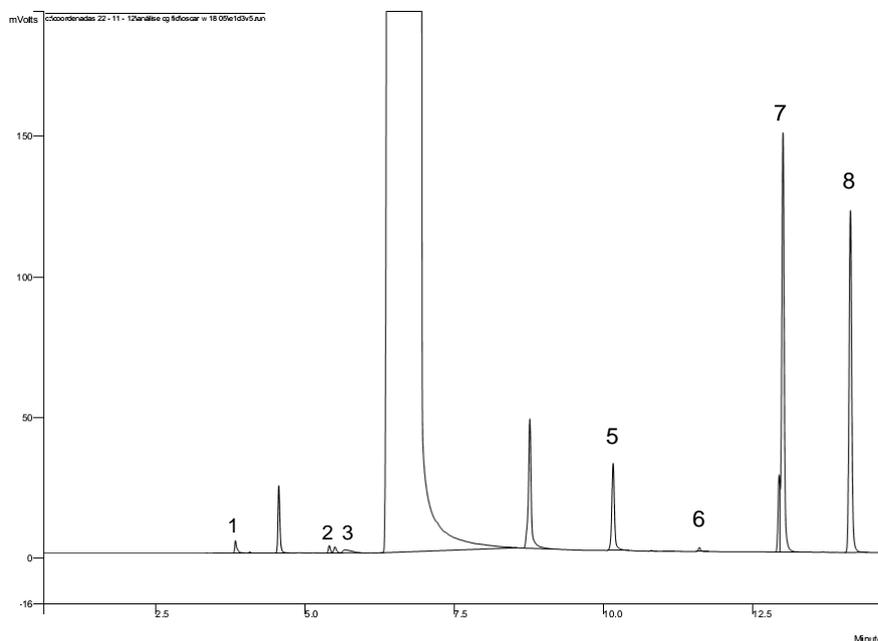


Figura 34: Cromatograma obtido de um GC-FID. Picos cromatográficos apresentados na seguinte ordem: 1-acetaldeído, 2-acetato de etila, 3-metanol, 4-n-propanol, 5-isobutanol, 6-n-butanol, 7-isoamílico e 8-n-pentanol.

Acetato de etila

De acordo com a Tabela 7 todas as amostras de cachaças encontraram-se dentro do limite máximo de $200 \text{ mg} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$ álcool anidro, embora se observasse que as médias para todas as amostras de cachaças em todo período analisado, apesar de estarem condizentes com a legislação brasileira, apresentaram valores médios muito baixos, variando de 4,27 a 8,56 $\text{mg} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$ álcool anidro, isto se explica pelo fato de todas as cachaças avaliadas serem recém destiladas e a concentração deste composto tender a aumentar durante o envelhecimento (NASCIMENTO, 2007). Vale ressaltar que a presença de ésteres etílicos em bebidas destiladas está relacionada ao processo de fermentação, em decorrência do metabolismo secundário dos açúcares e não ao envelhecimento (LAMBRECHTS e PRETORIUS, 2000; NÓBREGA, 2003; NYKÄNEN e NYKÄNEN, 1991).

Para Simpson (1971), o baixo valor de ésteres presentes nas amostras de cachaça, pode se tratar de produtos com pouca intensidade aromática, entretanto a presença deste em grande quantidade torna a cachaça com sabor indesejado e enjoativo.

Os resultados encontrados neste trabalho para acetato de etila mostraram que a concentração deste composto não variou estatisticamente para as amostras de cachaças produzidas a partir das cinco cultivares de cana-de-açúcar dentro de cada época, entretanto a média total da primeira época variou significativamente em relação à terceira época, este fato se justifica devido ao maior tempo de envelhecimento das cachaças da primeira época.

O acetato de etila é o composto majoritário deste grupo, correspondendo a 80% do conteúdo total de ésteres da aguardente (CARDELLO e FARIA, 1998). Este éster é característico da fração cabeça do destilado, e participa de forma negativa sobre a qualidade final (LAFON *et al.*, 1973). Por isso, teores baixos destes compostos são sempre desejáveis em bebidas alcoólicas.

Acetaldeído

Os valores médios, por época, de acetaldeído obtidos nas cachaças analisadas no presente trabalho, para o teor de aldeídos, bem como os índices médios individuais por cultivar em cada época estiveram dentro dos parâmetros exigidos pela regulamentação legal (BRASIL, 2005), cujo valor máximo é de 30 mg.100 mL⁻¹ álcool anidro. Observou-se uma variação de resultados em função da média da época, com menor valor deste composto na segunda época (15,72 mg.100 mL⁻¹ álcool anidro) e maior valor na terceira época (22,62 mg.100 mL⁻¹ álcool anidro), não sendo pois, significativo sob o parâmetro estatístico ($p > 0,05$).

O principal aldeído associado à fermentação alcoólica é o acetaldeído, e o seu teor pode ser minimizado evitando a aeração no final da fermentação (MAIA, 1994). O acetaldeído representa cerca de 90% do total de aldeídos em bebidas não envelhecidas (NYKANEN e NYKANEN, 1991).

Parazzi *et al.* (2008), em estudo comparativo do armazenamento da cachaça em madeira ou vidro verificaram que os teores de aldeídos totais expressos em acetaldeído tiveram pequenas variações, em função do tempo para as amostras armazenadas em madeira. O aumento médio foi de 1,73 mg.100 mL⁻¹ álcool anidro. A partir dos 24 meses observaram-se pequenas variações nas concentrações dessa substância. Nos recipientes de vidro a variação não foi significativa. O valor máximo obtido foi de 9,36 mg.100 mL⁻¹ álcool anidro para aguardente armazenada nos barris, portanto valor inferior ao preconizado pela legislação.

Vilela (2005) verificou em 25 amostras de cachaças analisadas que o teor médio de acetaldeído foi de 13,9 mg.100 mL⁻¹ álcool anidro. O teor de acetaldeído de apenas uma

amostra de cachaça foi muito elevado (57,6 mg.100 mL⁻¹ álcool anidro). As amostras restantes apresentaram valores dentro da legislação. O elevado teor de aldeídos em cachaça, sob sua ótica, pode estar relacionado com a separação incorreta das frações de cabeça na destilação. Para Serafim 2012, os aldeídos são compostos responsáveis pela definição e conseqüente separação do grupo de compostos referentes à fração de cabeça, pois este composto apresenta maior solubilidade em etanol.

Targino (2009), estudou a “Influência da cultivar de cana-de-açúcar e do tipo de fermento na qualidade da cachaça de alambique” e verificou a incidência de um terço de um total de 18 experimentos de valores de aldeídos acima do permitido pela legislação, atribuindo estes resultados a uma possível indicação de oxidação espontânea.

Silva *et al.* (2009) observou em nove amostras de cachaças produzidas em laboratório e duas comerciais, que dentre todos os compostos voláteis analisados o acetaldeído foi o parâmetro que apresentou o maior índice de não conformidade em relação a legislação nacional. Aproximadamente 64% das amostras superaram o valor máximo legal. Uma amostra elaborada com fermento selecionado apresentou a maior concentração deste composto (178,6 mg.100 mL⁻¹ álcool anidro).

Alcoóis superiores

A legislação estabelece que a soma dos alcoóis superiores não possa ser superior a 360 mg.100 mL⁻¹ álcool anidro (BRASIL, 2005). Diante das amostras de cachaças analisadas das cinco cultivares nas três épocas, todas estavam dentro do especificado pela legislação, com variação entre 141,53 a 253,78 mg.100 mL⁻¹ álcool anidro (Anexo II).

Os alcoóis predominantes nas amostras analisadas foram: n-propílico, isobutílico e isoamílico. Os valores médios destes, nas amostras de cachaças produzidas a partir das cinco cultivares de cana-de-açúcar dentro de cada época não variaram estatisticamente. Entretanto, constatou-se que as médias totais dos valores por época do álcool isobutílico, diferiu significativamente da primeira em relação à segunda e terceira época e o álcool isoamílico diferiu significativamente entre a primeira e terceira época, e entre a segunda e terceira época.

Em relação aos três alcoóis superiores estudados, o álcool isoamílico apresentou níveis de concentração mais elevados variando de 71,43 a 162,36 mg.100 mL⁻¹ em álcool anidro (Anexo II). Penteado e Masini (2009), ao analisar níveis de concentração de alcoóis em aguardentes de diferentes origens no comércio, verificaram a predominância do álcool isoamílico, porém as concentrações deste variou de 355 a 2022 mg.100 mL⁻¹ em álcool

anidro. Segundo Giudici *et al.* (1990), ao estudarem a capacidade de produção de alcoóis superiores em 100 linhagens *S. cerevisiae*, detectaram diferenças significativas na produção destes nas linhagens testadas e asseguraram que se trata de uma característica individual de cada linhagem.

De acordo Parazzi *et al.* (2008), ao estudar o armazenamento da cachaça em barris e recipientes de vidro, verificaram que à medida que ocorreu o envelhecimento os teores de alcoóis superiores tiveram um acréscimo médio de 18,3 mg.100 mL⁻¹ em álcool anidro para aguardentes de barris, enquanto que houve uma redução de 2,2 mg.100 mL⁻¹ em álcool anidro para os recipientes de vidro. Estes fatos mostraram que os teores dos compostos que compõem os alcoóis superiores, praticamente não se alteram durante o envelhecimento da cachaça.

Segundo Vilela (2005), a formação de alcoóis superiores durante a fermentação é influenciada por vários fatores tais como pH, temperatura, aeração do mosto, composição do meio (concentração de açúcares, concentração e tipo de fonte de nitrogênio), a linhagem de levedura. O mesmo autor relata ainda que a prática de se adicionar fubá e/ou farinha de soja como suplementos nutricionais na preparação do inóculo (ou pé-de-cuba) ou mesmo na fermentação, pode ser uma das possíveis causas do alto teor de alcoóis superiores encontradas nas cachaças mineiras. Entretanto, uma das maneiras mais simples de se garantir que o teor de alcoóis superiores nas cachaças não ultrapasse o limite legal é efetuando a separação adequada das frações de cabeça, coração e cauda. A determinação do momento de corte das frações, seja pelo volume, pela graduação alcoólica ou temperatura dos vapores, é um importante controle para a qualidade da bebida sendo um quesito de boas práticas de fabricação ou mesmo um ponto crítico de controle.

Alcoóis contaminantes

Para valores de álcool metílico, nota-se que as concentrações deste contaminante não diferiram estatisticamente entre as cultivares de cana-de-açúcar dentro de cada época. Verificou-se também que as médias dos valores por época não diferiram e que as concentrações médias encontradas em todas as amostras de cachaças atendem as exigências da legislação atual, a qual estabelece como valor máximo 20 mg.100 mL⁻¹ álcool anidro (BRASIL, 2005). Os valores encontrados para este álcool variaram entre 3,54 e 7,39 mg 100 mL⁻¹ de álcool anidro, na terceira época (TABELA 7).

Os teores médios de álcool n-butílico obtidos nas amostras de cachaça não ultrapassaram o limite permitido pela legislação, que é de 3 mg.100 mL⁻¹ de álcool anidro (BRASIL, 2005). Os resultados das concentrações médias das amostras de cachaças das cultivares RB791011 e RB765418 diferiram estatisticamente, ambas na segunda e terceira época. Os valores máximos e mínimos encontrados neste estudo para este álcool foram: 0,53 e 1,22 mg.100 mL⁻¹ de álcool anidro, ambos na terceira e primeira época respectivamente (TABELA 7).

Não foi detectada a presença de álcool sec-butílico nas amostras de cachaças analisadas, o qual tem o limite máximo permitido pela Instrução Normativa 13 de 29 de junho de 2005 estabelecido em 10 mg.100 mL⁻¹ de álcool anidro, portanto, todas as amostras analisadas atendem as especificações de qualidade estabelecida pela legislação.

Ao avaliar a presença de álcool metílico em amostras de aguardentes produzidas a partir de diferentes cultivares de cana-de-açúcar e destiladas em épocas distintas, Anjos (2001) verificou que a maior concentração encontrada foi 0,042 mg.100 mL⁻¹ álcool anidro, para uma amostra de aguardente da cultivar RB72454, cuja colheita se deu no mês de novembro.

Indesejável na cachaça o metanol é um composto que se origina da degradação da pectina que fica acumulada sobre as paredes da panela e da coluna de destilação de alambiques mal higienizados (MAIA et al., 1995). O baixo teor de metanol encontrado em amostras de cachaças demonstra que os produtores estão adotando a prática de separação do bagacilho por meio de peneiras ou decantadores, além de fazerem a limpeza adequada dos destiladores e também uma correta separação da fração de cabeça que contém a maior parte do metanol. Um baixo teor de metanol demonstra também cuidado no armazenamento da cachaça em recipientes adequados, sem resíduo de metanol (VILELA, 2005).

Ao estudar as concentrações de álcool metílico e n-butílico em cachaças armazenadas em barris e recipientes de vidro por um período de 36 meses, Parazi *et al.* (2008) verificaram que os teores destes compostos não ultrapassaram os limites permitidos pela legislação. As concentrações destes alcoóis não apresentaram diferenças estatísticas quanto aos tratamentos utilizados (madeira e vidro). As variações médias de metanol foram de 0,14 e 0,42 mg.100 mL⁻¹ de álcool anidro, para recipientes de vidro e madeira respectivamente. A concentração de n-butílico nas amostras de aguardente foi em média igual a 1,05 mg.100 mL⁻¹ de álcool anidro, para ambos os tratamentos.

Penteado e Masini (2009) ao analisarem a concentração do álcool sec-butílico em 33 amostras de aguardentes de diferentes regiões do país, verificaram que uma amostra de Belo

Horizonte apresentou concentração elevada de 408 mg 100 mL⁻¹ de álcool anidro. Em três amostras pertencentes ao grupo de aguardentes industriais também se determinaram concentrações acima da legislação, 110, 111 e 115 mg.100 mL⁻¹ de álcool anidro. No grupo de amostras artesanais, bem como nas aguardentes de Salinas, MG, as concentrações estiveram dentro da faixa de valores permitidos pela legislação. Uma alternativa para as aguardentes que apresentam altas concentrações de contaminantes e que estão fora dos padrões da legislação vem a ser a mistura com outros lotes que apresentam níveis mais baixos desses contaminantes (CARDOSO *et al.*, 2003b).

6.2.2.5 Análise de Cobre por espectrometria de absorção atômica

Ao analisar os valores apresentados através das análises das cachaças das cinco cultivares de cana-de-açúcar dentro de cada época e as médias totais dos valores por época, verificou-se que não houve efeito significativo para este composto nas amostras, entretanto foi observado um aumento na concentração média dos valores deste composto na terceira época de colheita.

Quanto aos valores médios para as concentrações de cobre presentes neste trabalho, verificou-se entre as 45 amostras de cachaças analisadas (ANEXO II) que apenas três (cultivar SP80-1842 e RB765418 na primeira época e cultivar RB765418 na terceira época) apresentaram valores superiores as exigências dispostas pela Legislação (BRASIL, 2005). Não podendo inferir, portanto, que seja influência da cultivar ou da época de maturação, pois os valores médios das três repetições nas amostras de cachaças analisadas por cultivar e épocas mencionados acima, foram: 3,60, 3,36 e 3,20 mg.L⁻¹.

Anjos (2001) analisou a presença deste elemento em aguardentes produzidas com cultivares de cana-de-açúcar de ciclo precoce, médio e tardio em três épocas de colheita, e não constatou diferença significativa para os valores médios de cobre nas amostras, dentro de cada época, que variaram de 1,04 a 11,95 mg.L⁻¹ de álcool anidro.

Vilela (2005) avaliou 25 cachaças oriundas de: Salinas M.G. (10), Betim M.G. (7), Arcos M.G. (2) e Vassouras R.J. (6), dentre essas, cinco tiveram teor de cobre superior ao estabelecido pela legislação. Todas as cachaças reprovadas neste parâmetro eram clandestinas. Relacionando o conteúdo de cobre à região apenas as cachaças das regiões de Vassouras e da região de Betim foram reprovadas. Os valores neste estudo variaram de 0,1 a 13,2 mg.L⁻¹ de álcool anidro.

7. CONCLUSÕES

A composição tecnológica das cultivares de cana-de-açúcar, RB72454, SP79-1011, SP80-1842, JAVA e RB765418, não expressaram diferenças significativas quanto ao grau de maturação dentro de cada época de colheita, junho, agosto e outubro, porém todas apresentaram nível de maturação significativamente diferente entre as épocas, para os parâmetros de maturação analisados (Brix do caldo, pol da cana, pureza aparente e açúcares redutores da cana) na segunda e terceira época de colheita.

Os resultados da avaliação multivariada utilizando análise de componente principal (PCA) dos valores resultantes da composição tecnológica das cinco cultivares de cana-de-açúcar indicaram que as amostras de canas colhidas em junho possuíam características tecnológicas próprias em relação às outras épocas, formando assim um grupo discriminado, porém não ocorreu esta separação entre as cultivares.

Os resultados qualitativos das análises físico-químicas por cromatografia gasosa de compostos voláteis das amostras de cachaças apontaram que o tipo de cultivar não interferiu na formação de compostos presentes na cachaça, o que não ocorreu ao avaliar os mesmos compostos por época de colheita, principalmente no que se refere à produção de ácido acético, lactato de etila e álcool n-butílico. Tais substâncias apresentaram um perfil qualitativo significativamente maior na primeira época em relação às outras épocas. Estes resultados submetidos ao teste estatístico de PCA identificaram que estes compostos analisados, conduziram a resultados exploratórios consistentes para a separação entre os grupos de cachaças, produzidas em três épocas de maturação da cana-de-açúcar.

Os compostos analisados quantitativamente, nas amostras, não apresentaram diferenças significativas para as cachaças produzidas a partir de cultivares dentro das épocas de colheita. As concentrações destes estiveram de acordo com as normas especificadas pela legislação vigente (BRASIL, 2005). A análise de componentes principais para estes compostos nas amostras de cachaça não indicou a existência de grupos distintos, pois não houve a formação de agrupamentos para a época de colheita nem para as cultivares.

A cana-de-açúcar na modalidade de plantio de inverno, abrangendo os meses de junho, julho e agosto com irrigação suplementar, mostrou-se uma excelente opção, principalmente para regiões com restrição hídrica, onde a irrigação suplementar se torna imprescindível para este cultivo.

Através deste estudo, pode-se atestar que a época de colheita da cana-de-açúcar é determinante para se obter matéria-prima de qualidade e que esta interfere na formação de

ácidos durante o processo fermentativo. Confirma-se, portanto que a época de colheita é um importante parâmetro para a melhoria das qualidades química desta bebida.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, L.A.B. de; ANJOS, I.A. dos; FIGUEIREDO, P.A.M. de; QUINTELA, A.C.R. Utilização de variedades selecionadas de cana-de-açúcar na produção de cachaça de alambique. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 23, n. 217, p.33-36, 2002.

ANDRADE, L.A.B de. Cultura da Cana-de-açúcar. In: CARDOSO, M. das G. (Ed.). **Produção de Aguardente de Cana**. 2º ed. Lavras: UFLA, 2006. 445p, cap. 1, p. 25-67.

ANDRADE-SOBRINHO, L.G.; BOSCOLO, M.; LIMA-NETO, B.S.; FRANCO, D.W. Carbamato de etila em bebidas alcoólicas (cachaça, tiquira, uísque e grapa). **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 6 B, p. 1074-1077, 2002.

ANJOS, I.A. **Produtividade agrícola, rendimento e qualidade da aguardente artesanal de diferentes variedades de cana-de-açúcar**. 2001. 102 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2001.

ANTUNES, F.Z. Caracterização Climática. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 17, n. 181, p. 15 -19, 1994.

ARESTA, M.; BOSCOLO, M.; FRANCO, D.W. Copper (II) catalysis in cyanide conversion into ethyl carbamate in spirits and relevant reactions. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 6, n. 49, p. 2819-2824, 2001.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE BEBIDAS (ABRABE). A Cachaça, São Paulo, 2008. Disponível em <<http://www.abrabe.org.br/cachaca>>. Acesso em 25 mar. 2011.

ASSOCIAÇÃO DOS PRODUTORES ARTESANAIS DE CACHAÇA DE SALINAS (APACS). **Projeto XII festival mundial da cachaça de Salinas/MG 12 a 14 julho / 2013**. Salinas: APACS, 2013.

AZEVEDO, S. M.; CARDOSO, M. G.; PEREIRA, N. E.; RIBEIRO, C. F. S.; SILVA, V. F.; AGUIAR, F. C. Levantamento da contaminação por cobre nas aguardentes de cana-de-açúcar produzidas em Minas Gerais. **Ciência Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 3, p. 618-624, 2003.

BARBOSA, M.H.P.; SILVEIRA, L.C.I. Melhoramento Genético e Recomendação de Cultivares. In: SANTOS, F.; BORÉM, A.; CALDAS, C. **Cana-de-açúcar Bioenergia, Açúcar e Alcool – Tecnologias e Perspectivas**. Viçosa: Suprema 2010. 557 p. cap. 11, p. 313-331.

BARBOSA, M.H.P.; SILVEIRA, L. C. I.; MACÊDO, G. A. R., PAES, J. M.V. Variedades melhoradas de cana-de-açúcar para Minas Gerais. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 28, n. 239, p. 20 – 24, 2007.

BARBOZA, R.A.B.; MENEGHIN, M. C.; SANTOS, V. R. dos; FONSECA, S. A.; FARIA, J. B. Efeito do envelhecimento na qualidade da cachaça produzida por pequenos produtores. **Rev. Ciênc. Ext.** v.6, n.2, p.46-56, 2010

BARCELOS, L.V.F. **Teores de carbamato de etila e outros congêneres em diferentes aguardentes produzidas em Minas Gerais**. 2006. 63 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e

Tecnologia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2006.

BEATTIE, J.K.; POLYBLANK, G.A. Copper-catalysed oxidation of cyanide by peroxide in alkaline aqueous solution. **Aust. J. Chem.** 1995, 48, 861-868. *apud* ARESTA, M.; BOSCOLO, M.; FRANCO, D.W. Copper (II) catalysis in cyanide conversion into ethyl carbamate in spirits and relevant reactions. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 6, n. 49, p. 2819-2824, 2001.

BEEBE, K.R.; PELL, R.J.; SEASHOLTZ, M.B.; **Chemometrics: a Practical Guide**, Wiley: New York, 1998.

BRASIL. Presidência da República. Portaria n. 371 de 18 de setembro de 1974. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Poder Executivo, Brasília, 19 de setembro de 1974.

_____. Ministério da Agricultura. Decreto nº 2314 de 04 de setembro de 1997. Dispõe sobre o registro, classificação, padronização produção e fiscalização de bebidas. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 05 de setembro de 1997.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 13 de 29 de junho de 2005. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Poder Executivo, Brasília, DF, n. 124, Seção 1, p. 3, 30 jun. 2005.

_____. Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior. Secretaria de Comércio Exterior. **Exportação brasileira: cachaça e caninha (rum e tafia), período de 01/2011 a 12/2011**. Brasília, 2013. Disponível em: <<http://aliceweb.desenvolvimento.gov.br/>>. Acesso em: 18 abril 2013.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Portaria n. 59 de 13 de agosto de 2004**. Submeter à consulta pública por um prazo 60 (sessenta) dias, a contar da data da publicação desta Portaria, o Projeto de Instrução Normativa que aprova o regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para aguardente de cana e para cachaça.

BRUNO, S.N.F. **Determinação de As e Pb em Vinhos por Espectrometria de Absorção atômica no Forno de Grafite**. 1993. 63 f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica). Faculdade de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1993.

BRUNO, S.N.F. **Adequação dos processos de destilação e de troca iônica na redução dos teores de carbamato de etila em cachaças produzidas no estado do rio de janeiro**. 2006. 221 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2006.

BUDAVARI, S. **Merck index**. 13 ed. Rhaway: Merck, 2001 *apud* MASSON, J. **Determinação dos teores de carbamato de etila e acroleína em aguardentes de cana produzidas em Minas Gerais**. 2009. 95 f. Tese (Doutorado em ciências dos alimentos), Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2009.

CALDAS, C. **Teoria básica das análises sucroalcooleiras**. Maceió: Central Analítica. 2005. 172 p.

CALDAS, C.; SANTOS, F. Controle da Qualidade nas Indústrias de Açúcar e Álcool. In: SANTOS, F. *et al*, (Ed.). **Cana-de-açúcar: Biotecnologia, Açúcar e álcool – tecnologias e Perspectivas**. Viçosa: Suprema, 2010. 577 p. cap. 13, p. 357-368.

CANUTO, M.H., SIEBALD, H.; FRANCO, M. B.; BORBA, J.B.S. **Determination of aluminum, cadmium and lead in brazilian sugar cane spirit, cachaça, by electrothermal atomic absorption spectrometry, using matrix matching calibration**. *At. Spectr. USA*. v. 25, n. 3, p. 140-144, 2004.

CANTÃO, F.O. de. **Análises físico-químicas e avaliação da presença do cobre em aguardentes de cana por aluminossilicatos**. 2006. Dissertação (Mestrado em Agroquímica e Agrobioquímica). Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2006.

CARDELLO, H.M.A.B; FARIA, J.B. Análise descritiva quantitativa da aguardente de cana durante o envelhecimento em tonel de carvalho (*Quercus alba L.*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.18, n. 2, p.169-175, 1998.

CARDOSO, D.R.; BUCHVISER, S.F.; FRANCO, D.W. O cobre em aguardentes: verdades e mitos. **Tecnobebida**, São Paulo, 01 mar. 2007, p. 30-33.

CARDOSO, D.R.; LIMA NETO, B.S.; FRANCO, D.W.; NASCIMENTO, R.F. Influência do material do alambique na composição química das aguardentes de cana-de-açúcar parte II. **Química Nova**, São Paulo, v. 26, n. 2, p. 165-169, 2003 b.

CARDOSO, R.D.; BETTIN, M.S.; RECHE, V.R.; LIMA-NETO, S.B.; FRANCO, W.D. HPLC–DAD analysis of ketones as their 2,4-dinitrophenylhydrazones in Brazilian sugar-canespirits and rum. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.16, p. 563–573, 2003a.

CARDOSO, M.G. das. Análises físico-químicas de aguardente. In: CARDOSO, M. G. das. (Ed.). **Produção de Aguardente de Cana**. 2º ed. Lavras: UFLA, 2006. 445 p. cap. 5, p. 203-232.

CARDOSO, M.G. das. Análises físico-químicas de aguardente. In: CARDOSO, M. G. das. (Ed.). **Produção de aguardente de cana-de-açúcar**. Lavras: UFLA, 2001. 264 p. cap. 5, p. 152-173.

CARVALHO-NETTO, O.V.; ROSA, D.D.; CAMARGO, L.E.A. Identification of contaminant bacteria in cachaça yeast by 16s rdna gene sequencing. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 65. n 5. p. 508-505. 2008.

CARVALHO, B.T. **Fermentação consorciada leveduras/bactérias lácticas aplicada à produção de cachaça como possibilidade de melhoria do padrão de qualidade**. 2011. Dissertação de Mestrado. (Mestrado em ciências biológicas), Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, MG, 2011.

CASAGRANDE, A. **Tópicos de morfologia e fisiologia da cana-de-açúcar**. Jaboticabal: Funeb, 1991. 157p.

CHAVES, J.B.P. “**Chachaça – produto artesanal de qualidade**”. Viçosa: CPT, 1998. 81p. (Manual Técnico)

CHERUBIN, R.A. **Efeitos da adição de benzoato de sódio na fermentação alcoólica para produção de aguardente de cana-de-açúcar (*Saccharum spp*)**. 1998. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1998.

CLARKE, M.A.; LEGENDRE, B.R. Qualidade da cana-de-açúcar: impactos no rendimento do açúcar e fatores de qualidade. **STAB**, v.17, n.6, 1999.

COLETI, J.T.; STUPIELO, J.J. Plantio da cana-de-açúcar. In: SEGATO, V.S.; PINTO, A.de S.; JENDIROBA, E.; NÓBREGA, J.C.M. de (Orgs.). **Atualização em produção de cana-de-açúcar**. Piracicaba: Printed in Brazil, 2006. 414 p., cap. 10, p. 139-153.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **Acompanhamento da Safra Brasileira 2010/2011, Terceiro Levantamento, Janeiro/2011**. Brasília: CONAB, 2011.

CONSELHO DOS PRODUTORES DE CANA-DE-AÇÚCAR, AÇÚCAR E ÁLCOOL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CONSECANA-SP). **Manual de Instruções**. Piracicaba: CONSECANA, 2006. 112 p.

COOK, R; MCCAIG, N.; MCMILLAN, J. M. B.; LUMSDEN, W. B. Ethyl carbamate formation in grain-based spirits: part III: the primary source. **Journal Institute Brewing**, London, v. 26, p. 233-244, 1990.

COOPERATIVA CENTRAL DOS PRODUTORES DE AÇÚCAR E ÁLCOOL DO ESTADO DE SÃO PAULO. (COPERSUCAR). **Amostragem e análise da cana-de-açúcar**. São Paulo, 1980. 37 p.

_____. **Variedades SP: recomendações e manejo**. In: REUNIÃO TÉCNICA COPERSUCAR: Variedades de cana-de-açúcar e suas implicações na lavoura canavieira. São Paulo, 1983. p. 44-56.

DAVIS, C.R.; WIBOWO, D.; ESCHENBRUCH, R.; LEE, T.H.; FLEET, G.H. Practical implications of malolactic fermentation: A review. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 36, p. 290–301, 1985.

DELGADO, A.A.; MARQUES, T. A.; BARRICHELO, L.E.G.; MENCK, P.C.M.; PAIVA, L.A. A Composição da Variedade de Cana-de-açúcar IAC 64-257. **STAB**, Piracicaba, v.13, n. 2, p 23 -27,1994.

DIAS, S.M.B.C. O processo da destilação. In: CARDOSO, M.G. das. (Ed.). **Produção de aguardente de cana**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2006. 445 p., cap. 4, p. 132-202.

DIOLA, V.; SANTOS, F. Fisiologia. In: SANTOS, F.; BORÉM, A.; CALDAS, C. (Eds.). **Cana-de-açúcar Bioenergia, Açúcar e Álcool – Tecnologias e Perspectivas**. Viçosa: Suprema, 2010. 557 p., cap. 2, p. 25-49.

DUARTE, F.W.; SOUSA, F.V.M.; DIAS, R.D.; SCHWUAN, R.F. Effect of Co-Inoculation of *Saccharomyces cerevisiae* and *Lactobacillus fermentum* on the Quality of the Distilled Sugar Cane everage Cachaça. **Journal of Food Science**, v. 76, p.1307- 1318, 2011.

FELIPE, M.G.A.A. Qualidade da Matéria-prima na produção de etanol de cana-de-açúcar. In: CORTEZ, L.A.B. **Bioetanol de cana-de-açúcar: P&D para produtividade e sustentabilidade**. São Paulo: Blucher. 2010. 992 p. Parte 5, p 553 – 559.

FERNANDES, A.C. **Cálculos na Agroindústria da Cana-de-açúcar**. 3º ed. Piracicaba: STAB, 2011.416p.

FERNANDES, O.W.B. **Avaliação de Variedades de Cana-de-Açúcar para a Produção de Cachaça Artesanal e a Interferência dos Resultados no Comportamento do Produtor na Região de Salinas-MG: uma Contribuição Extensionista**. 2005. 77 f. Dissertação (Mestrado em Educação Agrícola) – Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2005.

FIGUEIREDO, I.C.; MACIEL, B.F.; MARQUES, M.O. A qualidade da cana-de-açúcar como matéria-prima para produção de álcool. **Nucleus**, edição especial, p. 82-91, 2008.

FRANÇA JUNIOR, A. **Influência do fracionamento no destilado para a otimização da produção da cachaça de alambique: uma prática pedagógica no processo produtivo**. 2008. 106 f. Dissertação (Mestrado em Educação Agrícola) - Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2008.

FREDERICK, M.K.B. **Estudo genético, fisiológico e molecular de *Lactobacillus fermentum* envolvidos na floculação de leveduras**. Campinas, 1994. 56p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP, 1994.

GALHIANE, M.S. **Análise de aroma em bebidas por cromatografia gasosa de alta resolução**. 1998. 99 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1998.

GOMES, F.C.O.; BADOTTI, F.; SILVA, P.A.B.; CAMPOS, C.R.A. Produção de cachaça de alambique utilizando linhagens selecionadas *Saccharomyces cerevisiae*. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 30, n. 248, p. 25-31, 2009.

GOMES, F.C.O.; SILVA, C.L.; MARINI, M.M.; OLIVEIRA, E.S.; ROSA, C.A. Use of selected indigenous *Saccharomyces cerevisiae* strains for the production of the traditional cachaça in Brazil. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 103, n. 6, p. 2438-2447, dec. 2007.

GONÇALVES, M.F.; VIDAL, M.F.; FIGUEIREDO JUNIOR, C.A. **Cachaça e rapadura na área de jurisdição do BNB: produção, tecnologia e mercado**. Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil, 2008. 155 p.

GIUDICI, P.; ROMANO, P.; ZAMBONELLI, C. A biometric study of higher alcohol production in *Saccharomyces cerevisiae*. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 36, p. 61-64, 1990.

HEATH, H.B.; REINECCIUS, G. **Flavor chemistry and technology**. Westport, CT, NY: AVI Pub. Co, 1986.

HORII, J. A qualidade da matéria-prima, na visão agrícola. **Visão Agrícola**, Piracicaba, v. 1, n 1, p. 91-93, 2004.

IARC, International Agency for Research on Câncer Research. Monographs on the evaluation carcinogenic risk of chemicals to man. Geneve, **World Health Organization International Agency for Research on câncer**, 1986. v.41, p.222.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA - INMET. **Observações metereológicas**. Brasília, 2011. Disponível em: <
<http://www.inmet.gov.br/html/observacoes.php?lnk=Gráficos>>. Acesso em: 23 março 2011.

INSTITUTO BRASILEIRO DA CACHAÇA – IBRAC. **EUA reconhece cachaça como produto brasileiro**. Brasília 2012. Disponível em: <
<http://www.ibrac.net/index.php/noticias/183-eua-reconhece-cachaca-como-produto-brasileiro>>. Acesso em: 24 julho 2013.

JANZANTTI, N.S. **Compostos voláteis e qualidade de sabor da cachaça**. 2004. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos). Universidade Estadual de Campinas. Campinas – SP, 2004.

KAIL, K. Effects of nutrition on the induction, prevention and management of neoplasia. **Journal Naturopathic Med.**, v.1, n.1, p.1-19, 1990.

KIHN, J.C.; MASY, C.L.; MESDAGH, M.M. Yeast flocculation: factors affeting the measurement of flocculence. **Can. J. Microbiol.**, v.34, p.779-781, 1988.

KORHOLA, M.; HARJU, K.; LEHTONEN, M. Fermentation. In: PIGGOT, J.R.; SHARP, R.; DUNCAN, R.E.B. The science and technology of whiskies. London: Longman Scientific Technical, 1989. chap. 4, p.89-117. *apud* FRANÇA JUNIOR, Adalcino. **Influência do fracionamento no destilado para a otimização da produção da cachaça de alambique: uma prática pedagógica no processo produtivo**. 2008. 106 f. Dissertação (Mestrado em Educação Agrícola) - Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2008.

LABANCA, R.A.; GLÓRIA, M.B.A.; AFONSO, R.J.C.F. Determinação de carbamato de etila em aguardentes de cana por GC-EM. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 7, p. 1860-1864, 2008.

LAFON, J.; COUILLAUD, P.; GAY – BELLE, F. **Le Cognac as distillation**. Paris, Editions J. B. Baillièrre. 1973. 285 p.

LAMBRECHTS, M.G.; PRETORIUS, I.S. Yeast and its Importance to Wine Aroma - A Review. **S.Afri.J.Enol.Vitic**, v.21, p.97- 129. 2000.

LANDELL, M.G. de A.; XAVIER, M.A.; ANJOS, I.A.; VASCONCELOS, A.C.M. Desenvolvimento e critérios de manejo de variedades. In: RIPOLI, T. C. C. *et al.*, **Plantio de Cana-de-açúcar: Estado da Arte**. Piracicaba: T.C.C. Ripoli, 2006. 216 p., cap. 8, p. 163-172.

LANDELL, M.G.A. de.; BRESSIANI, J.A. Melhoramento genético, caracterização e manejo varietal. In: MIRANDA, L.L.D.; VASCONCELOS, A.C.M.; LANDELL, M.G.A.de. (ed.). **Cana-de-açúcar**. Campinas: Instituto Agrônômico, 2008. 882 p. cap. 5, p. 101-155.

LAWRENCE, J.F.; PAGE, B.D.; CONACHER, H.B.S. **Advice Environment Science Technology**, v. 23, p. 457, 1990.

LÉAUTÉ, R. Distillation in alembic. **American Journal of Enology and Viticulture**. Davis, v. 41, n. 1, p. 90-103, 1990.

LEHTONEN, M.; JOUNELA-ERIKSSON, P. Volatile and non-volatile compounds in the favor of alcoholic beverages. In: PIGGOTT, J. R. **Flavor of distilled beverages: Origin and Development**. Flórida: Verlag Chemie International Inc., 1983. p. 64-78. *apud* SILVA, P. H. A. *et al.*, Avaliação cromatográfica de compostos voláteis de cachaças produzidas com leveduras de diferentes procedências. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 1, p. 100 – 106, jan./mar. 2009.

LIMA, U.A. Aguardentes. In: AQUARONE, E.; LIMA, U. A.; BORZANI, W. (Ed.). **Alimentos e bebidas produzidos por fermentação**. São Paulo: Edgar Blucher, 2001. p. 79-107. (série biotecnologia industrial).

LIMA NETO, B.S.; BEZERRA, C.W.B.; POLASTRO, R.L.; CAMPOS, P.; NASCIMENTO, R.F.; FRANCO, D.W. O cobre em aguardentes brasileiras: sua quantificação e controle. **Química Nova**, São Paulo, v. 17, n. 3, p. 220-223, mai./jun. 1994.

LOPES, M. H. **Serviço brasileiro de respostas técnicas**. Rio de Janeiro: REDTETEC, 2003

MAARSE, H. **Volatile compounds in food and beverages**. New York: Marcel- Dekker. 1991. 764 p.

MACEDO, G.A.R.; SILVEIRA, L.C.I.; ANDRADE, L.A.B.; COSTA, E.L.; OLIVEIRA, S.G.; MATTER, U.F. Variedades de cana-de-açúcar para a produção de cachaça de alambique. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 30, n. 248, p. 20 -24, 2009.

MACKENZIE, W.M.; CLYNE, A.H.; MCDONALD, L.S. Ethyl carbamate formation in grain based spirits. Part II. The identification and determination of cyanide related species involved in ethyl carbamate formation in Scotch whisky. **J. Inst. Brew.** 1990, 96, 223-232.

MAIA, A.B.R.A. de. Componentes secundários da aguardente. **STAB - Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 12, n. 6, p. 29-34, 1994.

MAIA, A.B.R.A. de.; CAMPELO, E.A.P.. **Tecnologia da cachaça de alambique**. Belo Horizonte: SEBRAE-MG / SINDBEBIDAS, 2005. 129 p.

MAIA, A. B.; RIBEIRO, J. C. G.; SILVEIRA, L. C. I. 1º **Curso AMPAQ de produção artesanal de aguardente de qualidade**. Belo Horizonte: AMPAQ, 1995 106 p.

MARINI, M.M.; GOMES, F.C. O.; SILVA, C.L.C.; CADETE, R.M.; BADOTT, F.; OLIVEIRA, E.S.; CARDOSO, C.R.; ROSA, C.A. The use of selected starter *Saccharomyces cerevisiae* strains to produce traditional and industrial cachaça: a comparative study. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Oxford, v. 25, n. 2, p. 235-242, feb. 2009.

MARQUES, M.O.; MARQUES, T.A.; TASSO J.R., **Tecnologia do açúcar: produção e industrialização da cana-de-açúcar**. Jaboticabal: FUNEP, 2001. 166p.

MARTINEAU, B., ACREE, T.E.; HENICK-KLING, T. Effect of wine type on the detection threshold for diacetyl. **Food Research International**, v. 28, p. 139–143, 1995.

MASSON, J. **Parâmetros físico-químicos e cromatográficos em aguardentes de cana queimada e não queimada**. 2005. 69 f. Dissertação (Mestrado em ciências dos alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.

MASSON, J. **Determinação dos teores de carbamato de etila e acroleína em aguardentes de cana produzidas em Minas Gerais**. 2009. 95 f. Tese (Doutorado em ciências dos alimentos) – Faculdade de Ciências de Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

MILL, P.J. The nature of interactions between flocculent cells in the flocculation of *Saccharomyces cerevisiae*. **J.Gen. Microbiol.**, v.35, p.61-68, 1964.

MIRANDA, M.B. de; MARTINS, N.G.S.; BELLUCO, A.E.S.; HORII, J.; ALCARDE, A.R. Qualidade química de cachaças e de aguardentes brasileiras. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** Campinas ,v. 27, n. 4, p. 897 - 901, 2007.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). **Cana-de-açúcar**. Disponível em: < <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/cana-de-acucar>>. Acesso em 9 de março de 2013.

MOREIRA, R.F.A.; NETTO, C.C.; MARIA, C.A.B. A fração volátil das aguardentes de cana produzidas no Brasil. **Química Nova**, Rio de Janeiro, v.35, n.9, p. 1819-1826, 2012.

MORRISON, R.T.; BOYD, R.N. **Química orgânica**. 6 ed. Lisboa: PHB, 1992. 1325 p. *apud* MASSON, J. **Determinação dos teores de carbamato de etila e acroleína em aguardentes de cana produzidas em Minas Gerais**. 2009. 95 f. Tese (Doutorado em ciências dos alimentos) – Faculdade de Ciências de Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

MURTAGH, J.E. Feedstocks, fermentation and distillation for production of heavy and light rums. In: THE ALCOHOL TEXTBOOK:.. 3rd ed., Alltech Inc.,Cap. 16, 1999. Disponível em: <<http://distillers.tastylime.net/library/Listings2.htm>>. Acesso em 31dez. 2012.

MUTTON, M.J.R. **Avaliação da fermentação etanólica do caldo de cana-de-açúcar (*Saccharum spp*) tratadas com maturadores químicos**. 1998. 178 f. Tese de Livre Docência. - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, Brasil, 1998.

MUTTON, M.J.R.; MATINEZ, J.V.B.; MUTTON, M. A. Influência da Matéria-prima e do Processamento Sobre a Composição e Qualidade da Aguardente Produzida em Escala Industrial. In: Simpósio Nacional de Fermentações – SINAFERM, XIV, 2003, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: Simpósio Nacional de Fermentações, 2003. Disponível em: < http://www.enq.ufsc.br/eventos/sinaferm/trabalhos_completos/t264.doc >. Acesso em: 03 jan. 2012.

MURTAGH, J.E. Feedstocks, fermentation and distillation for production of heavy and light rums. In: **THE ALCOHOL TEXTBOOK**:. 3rd ed., Alltech Inc., Cap. 16, 1999.

NASCIMENTO, E.S.P. do. **Ésteres em aguardente de cana: seu perfil**. 2007. 132 f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2007.

NASCIMENTO, R.F.; CARDOSO, D. R.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D.W.; FARIA, J. B. Influência do Material do Alambique na Composição Química das Aguardentes de Cana-de-açúcar. **Química Nova**, São Paulo, v. 21, n. 6, p. 735-739, 1998.

NASCIMENTO, R.F.; MARQUES, J.C.; LIMA NETO, B.S.; KEUKELEIRE, D. de; Franco, D. W. Qualitative and quantitative high-performance liquid chromatographic analysis of aldehydes in Brazilian sugar cane spirits and other distilled alcoholic beverages. **Journal of Chromatography A**, p. 13-23, 1997.

NASCIMENTO, E.S.P.; CARDOSO, D.R.; FRANCO, D.W.J. Quantitative Ester Analysis in Cachac, a and Distilled Spirits by Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS). **Agric. Food Chem**, v. 35, p. 5488-5493, 2008.

NÓBREGA, I.C.D.C. Análise dos compostos voláteis da aguardente de cana por concentração dinâmica do "headspace" e cromatografia gasosa-espectrometria de massas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.23, p.210- 216. 2003.

NOGUEIRA, A.M.P.; VENTURINI FILHO, W.G. **Aguardente de cana**. Botucatu: UNESP-Faculdade de Ciências Agrônômicas, 2005. 71 p.

NOVAES, F.V. Primeiro curso de extensão em aguardente de cana. Piracicaba: ESALQ, 1974.

NYKANEN, L; NYKANEN, I. Distilled beverages. In: MAARSE, H. (Ed.). **Volatile compounds in food and beverages**. New York: Marcel Dekker, Inc., 1991. p. 547-580.

NYKANEN, L.; NYKANEN, I. Rum favor. In: PIGGOTT, J.R. **Rum Flavor of distilled beverages: Origin and Development**. Flórida: Verlag Chemie International, Inc., 1983. p. 49-63. *apud* SILVA, P.H.A. *et al.*, Avaliação cromatográfica de compostos voláteis de cachaças produzidas com leveduras de diferentes procedências. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 1, p. 100-106, jan./mar. 2009.

NYKANEN, L.; NYKANEN, I. Distilled beverages. In: MAARSE, H. (Ed.). **Volatile compounds in food and beverages**. New York: M. Dekker, 1991. p. 548-580. *apud* BARCELOS, L. V. F. **Teores de carbamato de etila e outros congêneres em diferentes aguardentes produzidas em Minas Gerais**. 2006. 63 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e

Tecnologia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2006.

ODELLO, L.; BRACESCHI, L.O.; PAOLO, G.; SEIXAS, F.R.F., SILVA, A.A., GALINARO, C. A.; FRANCO, D. W. Avaliação sensorial de cachaça. **Química Nova**, v. 32, n. 7, p. 1839-1844, 2009.

OLIVA-NETO, P.; YOKOYA, F. Evaluation of bacterial contamination in a fedbatch alcoholic fermentation process. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v.10, n.6, p.697-699, 1994.

OLIVEIRA V.A.; VICENTE M.A.; FIETTO L.G. *et al.* Biochemical and molecular characterization of *Saccharomyces cerevisiae* strains obtained from sugar-cane juice fermentations and their impact in cachaça production. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 74 p.693-701, 2008.

OMETTO, J.C. **Bioclimatologia Vegetal**. São Paulo, Agronômica Ceres. 1981. 425p.

QUAIN, D.E.; DUFFIELD, M.L. A metabolic function for higher alcohol production by yeast. **J Inst Brew**, v. 91, p. 123–123, 1985.

PARAZZI, C.; ARTHUR, C.M.; LOPES, J.J.C.; BORGES, M.T.M.R.; Avaliação e caracterização dos principais compostos químicos da aguardente de cana-de-açúcar envelhecidas em tonéis de carvalho. **Cienc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 28, n.1, p. 193 – 199, 2008.

PATARO, C.; SANTOS, A.; CORREA, S.R.; MORAES, P.B.; LINARDI, V.R.; ROSA, C.A. Physiological characterization of yeast isolated from artisanal fermentation in an aguardente distillery. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v. 29, n. 2, p. 104-108, 1998.

PATARO, C.; GUERRA, J.B.; PEIXOTO, P.M.L.; HAGLER, M.L.C.; LINARDI, V.R.; ROSA, C.A. Yeast communities and genetic polymorphism of *Saccharomyces cerevisiae* strains associated with artisanal fermentation in Brazil. **Journal Applied Microbiology**, Washington, v. 89, p. 24-31, 2000.

PATARO, C.; GOMES, F.C.O.; ARAÚJO, R.A.C.; ROSA, C.A. Utilização de leveduras selecionadas na fabricação de cachaça de alambique. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 23, n. 217, p. 37-43, 2002.

PENTEADO, J.C.P.; MASINI, J.C. Heterogeneidade de alcoóis secundários em aguardentes brasileiras de diversas origens e processos de fabricação. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 5, p. 1212-1215, 2009.

PRETORIUS, I.S. Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavour. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v.11, p. 139–173, 2005.

RANKINE, B.C.; POCOCK, K.F. Influence of yeast strain on binding of sulphur dioxide in wines, and on its formation during fermentation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 20, p. 104–109, 1969.

RIBEIRO, A.C.; GUIMARÃES, P.T.G.; ALVAREZ, V.H. **Recomendação para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais 5ª aproximação**. Viçosa: UFV, 1999. 359 p.

RIPOLI, T.C.C.; RIPOLI, M.L.C. **Biomassa de cana-de-açúcar: colheita, energia e ambiente**. Piracicaba: Livrocere, 2004. 302p.

RORIGUES, J.D. **Fisiologia da cana-de-açúcar**. Botucatu: Universidade Estadual Paulista, 1995. 99p.

SAERENS, S.M.G.; VERBELEN, P.J.; VANBENEDEN, N.; THEVELEIN, J.M.; DELVAUX, F.R. Monitoring the influence of high-gravity brewing and fermentation temperature on flavour formation by analysis of gene expression levels in brewing yeast. **Appl Microbiol Biotechnol**, v 80, p. 1039–1051, 2008.

SALES, A.C. Registro de estabelecimento, equipamentos para produção e controle de operação da fábrica de aguardente. In: CARDOSO, M.G. das. (Ed.). **Produção de aguardente de cana-de-açúcar**. Lavras: UFLA, 2001. 264 p., cap. 2, p. 51-112.

SANTOS. I.T. dos. **Indicação de procedência cachaça de salinas: Delimitação territorial**. Salinas, 2009. 21p.

SANTOS JUNIOR, J.J. Identificação de bactérias presentes na fermentação alcoólica para produção de aguardente. In: Congresso Latino Americano de Microbiologia e Higiene de Alimentos, 5, Simpósio Brasileiro de Microbiologia de Alimentos, 6, 1998, Águas de Lindóia.. **Anais...** Águas de Lindóia, 1998.

SANTOS, T. M. **Avaliação da influência de bactérias lácticas isoladas da região de salinas/MG, em fermentações consorciadas com leveduras selecionadas, na composição físico-química e sensorial de cachaças**. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, MG, 2013.

SCHLATTER, J.; LUTZ, W.K. **The carcinogenic potential of ethyl carbamate (urethane): risk assessment at human dietary exposure levels**. *Food Chem. Toxicol.*, v.28, p.205-211, 1990.

SCHMAHL, D.; PORT, R.; WAHRENDORF, J. A dose-response study on urethane carcinogenesis in rats and mice. **International Journal Cancer**, Geneve, v.19, n.1, p.77-80, 1997.

SCHWAN, R.F.; CARVALHO, F.P.; DIAS, D.R.; CASTRO, H.A. Fermentação. In: CARDOSO, M. G. das. (Ed.). **Produção de aguardente de cana**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2006. 445 p., cap. 3, p. 101-135.

SCHWAN, R.F.; CASTRO, H.A. de. Fermentação. In: CARDOSO, M.G. das. (Ed.). **Produção de aguardente de cana-de-açúcar**. Lavras: UFLA, 2001. 264 p, cap. 3, p. 113-127.

SCHWAN, R.F.; MEDONÇA, A.; SILVA, J.J.; RODRIGUES, V.; WHEALS, A.E. Microbiology and physiology of cachaça (aguardente) fermentations. **Antonie Van Leeuwenhoek**, Holanda, v. 79, n. 1, p. 89-96, jan. 2001.

SERAFIM, F.A.T.; SILVA, A.A.; GALINARO, C.A.; FRANCO, D.W. Comparação do perfil químico entre cachaças de um mesmo vinho destiladas em alambiques e em colunas. **Química Nova**, São Carlos, v. 35, n. 7, p. 1412-1416, 2012.

SIEBALD, H.G.L.; CANUTO, M.H.; SILVA, J.B.B. Alguns aspectos toxicológicos da cachaça. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 30, n. 248, p. 55-59, 2009.

SILVA, C.L.C.; ROSA, C.A.; MAIA, A.B.R.A. de. Qualidade química e sensorial de cachaças produzidas com quatro linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* (floculantes, não produtoras de H₂S e de referência). **B. CEPPA**, Curitiba v. 24, n. 2, p. 405-422, 2006.

SILVA, P.H.A.; SANTOS, J.O. de; ARAÚJO, L.D.; FARIA, F.C.; PEREIRA, A.F.; OLIVEIRA, V.A.; VICENTE, M.A. de; BRANDÃO, R.L.. Avaliação cromatográfica de compostos voláteis de cachaças produzidas com leveduras de diferentes procedências. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 1, p. 100-106, 2009.

SILVEIRA, D; REETZ, E.R.; SANTOS, C.; CORREA, S.; CARVALHO, C.; BELING, R.R. **Anuário brasileiro da cana-de-açúcar 2008**. Santa Cruz do Sul: Gazeta Santa Cruz, 2008. 128 p.

SILVEIRA, D; REETZ, E.R.; SANTOS, C.; CORREA, S.; CARVALHO, C.; BELING, R.R. **Anuário Brasileiro da cana-de-açúcar 2010**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2010. 136 p.

SILVEIRA, L. C. I. da; BARBOSA, M. H.P.; OLIVEIRA, M. W. de. Manejo de variedades de cana-de-açúcar predominantes nas principais regiões produtoras de cachaça em Minas Gerais. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 23, n. 217, p. 25-32, 2002.

SIMPSON, A.C. Manufacture of brandy. **Process Biochemistry**, Oxford, v.6, n.2, p.25-27, 1971.

SOUZA P.P de; SIEBALD, H.S.L.; AUGUSTI, D.V.; NETO, W.B.; AMORIM, V.; CATHARINO, R.; EBERLIN, M.N.; AUGUSTI, R. Differentiation of rum and Brazilian artisan cachaca via electrospray ionization mass spectrometry fingerprinting **J. Agric. Food Chem**, Campinas, v. 42, p. 1294 – 2102. 2007a.

SOUZA P.P de; SIEBALD, H.S.L.; AUGUSTI, D.V.; NETO, W.B.; AMORIM, V.; CATHARINO, R.; EBERLIN, M.N.; AUGUSTI, R. Electrospray Ionization Mass Spectrometry Fingerprinting of Brazilian Artisan Cachacüa Aged in Different Wood Casks. **J. Agric. Food Chem**, Campinas, v. 55, n. 6, p. 2094 - 1299, 2007b.

SOUZA P.P de; CARDEAL, Z.L.; AUGUSTI, R.; MORRISON, P.; MARRIO, P.J. Determination of volatile compounds in Brazilian distilled cachac, a by using comprehensive two-dimensional gas chromatography and effects of production pathways. **J Journal of Chromatography A**, p. 2881 – 2890. 2009.

SOUZA, P. de A. **Produção de aguardente de cana-de-açúcar por dupla destilação em alambique retificador**. 2009. 97 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

STRATFORD, M.; COLEMAN, H.P.; KEENAN, M.H.J. Yeast flocculation: a dynamic equilibrium. *Yeast*, v.4, p.199-208, 1988.

STUPIELLO, J.P. Produção de aguardente: Qualidade da matéria-prima. In: MUTTON, M.J.R.; MUTTON, M.A. **Aguardente de cana: produção e qualidade**. Jaboticabal: FUNEP, 1992, p.93 – 132.

STUPIELLO, J.P. Conversando com a cana - pureza da cana e seu impacto no processamento. **STAB**, v. 18, n. 3, p.12, 2000.

STUPIELLO, J.P. Conversando com a cana – Manitol: Indicador que antecipa problemas de processos. **STAB**, v. 24, n. 1, p.23, 2005.

SWIEGERS. J.H.; BARTOWSKY. E.J.; HENSCHKE. P.A.; PRETORIUS, I.S. Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavour. **Aust J Grape Wine Res**, v. 11, p.139–73, 2005.

TARGINO, B.N. **Influência da variedade de cana-de-açúcar e do tipo de fermento na qualidade da cachaça de alambique**. 2009. 80f. Dissertação (Mestrado em Ciência e tecnologia dos alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2009.

VALSECHI, O. Aguardente de cana-de-açúcar. Piracicaba: ESALQ, 1960, 90 p. *apud* DIAS, Sílvia Maria Borim Cêdo. O processo da destilação. In: CARDOSO, M.G. das. (Ed.). **Produção de aguardente de cana**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2006. 445 p., cap. 4, p. 132-202.

VARGAS, E.A. **Qualidade da aguardente de cana produzida, engarrafada e/ou comercializada em Minas Gerais**. 1995. 81f. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos) - Faculdade de Farmácia da UFMG, Belo Horizonte, MG. 1995.

VASCONCELOS, J.N. Fermentação Etanólica. In: SANTOS, F.; BORÉM, A.; CALDAS, C. (Ed.). **Cana-de-açúcar Bioenergia, Açúcar e Álcool – Tecnologias e Perspectivas**. Viçosa: Suprema, 2010. 557 p., cap. 15, p. 401-403.

VICENTE, M. A.; FIETTO, L. G.; CASTRO, I. M.; SANTOS, A.N.G.; COUTRIM, M.X.; BRANDÃO, R.L. Isolation of *Saccharomyces cerevisiae* strains producing higher levels of flavoring compounds for production of “cachaça” the Brazilian sugarcane spirit. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 108, p. 51-59, 2006.

VIDAL, M.F. de; SANTOS, J.A.N. dos; SANTOS, M.A. dos. SETOR SUCROALCOOLEIRO NO NORDESTE BRASILEIRO: ESTRUTURAÇÃO DA CADEIAPRODUTIVA, PRODUÇÃO E MERCADO. **Sociedade Brasileira de Economia e Sociologia Rural**. Fortaleza, p. 1-18, 2006.

VILELA, A.F. **Estudo da adequação de critérios de boas práticas de fabricação na avaliação de fábricas de cachaça de alambique**. 2005. 95 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Farmácia da UFMG, Belo Horizonte, 2005.

YOKOYA, F. **Fabricação de Aguardente de Cana**. Campinas: Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia André Tosello, 1995. 87 p. (Série Fermentações Industriais).

ZIMMERLI, B.; SCHLATTER, J. Ethyl carbamate: analytical methodology, occurrence, biological activity and risk assessment. **Mutat. Res**, Amsterdam, n.259, p.325-350, 1991.

9. ANEXOS

9.1 ANEXO I: Resultado de análise química e física de solo

REMETENTE: Escola Agrotécnica Federal de Salinas

ENDEREÇO: Fazenda Santa Isabel. Instituto Federal do Norte de Minas Gerais – Campus Salinas

MUNICÍPIO: Salinas

CULTURA: Cana-de-açúcar

DATA: 07.04.09

RESULTADOS ANALÍTICOS – SOLOS

Prot	Identif.	Composição Química																					
		pH ¹	MO ² dag/k	P ³ ...mg/dm ³	K ³	Na ³	Ca ⁴	Mg ⁴	Al ⁴	H+Al ⁵	SB	t	T	V	m	B ⁶	Cu ³	Fe ³	Mn ³	Zn ³	S ⁷	Prem ⁸ mg/L	CE dS/m
1433	1.00-20	5,7	2,1	2,5	174	0,1	2,6	1,8	0,0	2,1	4,9	4,9	7,0	70	0	0,5	4,7	16,9	160,6	24,5		32,1	0,3
1434	1.20-40	5,7	0,9	1,7	120	0,1	2,1	1,4	0,0	1,7	3,9	3,9	5,6	70	0	0,4	9,2	16,5	116,1	49,7		24,3	0,3

1/pH em água; 2/Colorimetria; 3/Extrator: Mehlich-1; 4/Extrator: KCl 1 mol/L; 5/pH SMP; 6/Extrator: BaCl₂; 7/Extrator: Ca(H₂PO₄)₂, 500 mg/L de P em HOAc 2mol/L; 8/Solução equilíbrio de P; SB, Soma de bases; t, CTC efetiva; T, CTC a pH 7; V, Saturação por bases; m, Saturação por alumínio; P-rem, Fósforo remanescente; CE, Condutividade elétrica. dag/kg = %; mg/dm³ = ppm; cmolc/dm³ = meq/100 cm³

..Comp Física..		
Areia	Silte	Argila
.....dag/kg.....		
22	49	29
19	53	28

Análises realizadas pelo Laboratório de Solos da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – EPAMIG – Unidade Regional Epamig Norte de Minas – URENM - Rodov. MGT 122 KM 155 - C. P. 12 –TELEFAX 038 3834- 1760 –E-mail: labsolo@epamig.br 39527-000 –Nova Porteirinha-MG - Site: www.epamig.br

9.2 ANEXO II: Resultado da composição química de amostras de cachaças

ÉPOC ^a	VARIED ^b	REP ^c	G.A. ^d	G.A.R. ^e	Cob ^f	Acet ^g	Acet. de Etil. ^h	Met ⁱ	Álc n- Prop ^j	Álc Isob ^k	Álc n- but ^l	Álc Iso ^m	S. alco sup ⁿ
JUN	RB72454	1	43,20	43,00	3,57	13,27	8,02	5,54	51,48	44,28	1,18	152,57	248,32
JUN	RB72454	2	43,00	43,30	1,99	23,80	6,22	4,53	51,15	31,11	1,36	124,45	206,71
JUN	RB72454	3	43,70	43,40	2,73	18,51	7,15	2,65	47,03	24,52	1,14	97,16	168,71
JUN	SP79-1011	1	43,30	43,30	2,73	23,01	10,67	2,77	14,99	39,50	0,52	162,36	216,85
JUN	SP79-1011	2	44,40	44,30	2,64	18,47	7,68	5,47	28,26	35,51	0,84	141,37	205,14
JUN	SP79-1011	3	44,80	44,00	2,63	16,74	7,33	3,66	23,32	34,26	0,60	134,00	191,59
JUN	SP80-1842	1	42,90	41,90	6,08	27,18	8,41	3,79	42,25	44,09	0,97	150,29	236,63
JUN	SP80-1842	2	43,30	43,20	3,29	31,02	9,04	4,96	33,10	35,49	0,92	109,41	178,00
JUN	SP80-1842	3	43,00	42,40	1,45	21,80	5,44	5,98	47,94	31,96	1,12	99,78	179,68
JUN	JAVA	1	43,50	43,30	4,01	22,79	6,71	4,78	50,19	40,60	1,11	140,55	231,34
JUN	JAVA	2	46,90	46,30	2,13	19,10	4,33	4,87	44,24	32,29	1,11	120,86	197,38
JUN	JAVA	3	43,20	42,30	1,67	30,41	8,19	2,66	61,37	38,92	1,42	153,50	253,78
JUN	RB765418	1	43,30	43,50	5,35	14,96	5,13	3,06	36,88	30,03	0,90	110,28	177,18
JUN	RB765418	2	43,70	43,20	2,53	7,59	4,10	2,95	51,26	43,53	1,02	121,75	216,54
JUN	RB765418	3	44,70	44,30	2,21	16,79	4,99	8,09	54,93	28,06	1,27	109,25	192,23
AGO	RB72454	1	43,50	43,20	3,35	8,28	4,82	6,03	58,51	42,21	1,16	101,83	202,55
AGO	RB72454	2	39,60	38,90	2,17	11,33	4,28	4,94	49,34	34,65	0,88	97,05	181,04
AGO	RB72454	3	43,60	43,30	2,17	17,00	6,11	3,34	62,62	42,94	1,09	127,60	233,15
AGO	SP79-1011	1	43,80	43,70	4,31	20,75	6,10	7,51	27,78	47,74	0,73	157,69	233,21
AGO	SP79-1011	2	44,00	43,60	2,38	10,11	3,82	4,41	44,02	30,91	0,79	86,59	161,52
AGO	SP79-1011	3	43,30	43,30	3,70	18,66	4,75	2,46	28,11	32,85	0,71	114,99	175,95
AGO	SP80-1842	1	43,50	43,10	4,00	13,19	5,67	3,62	53,09	57,49	1,10	140,01	250,58
AGO	SP80-1842	2	43,50	43,20	1,85	10,78	7,60	4,65	54,79	51,59	1,06	125,34	231,72
AGO	SP80-1842	3	43,40	43,40	2,18	9,16	5,96	4,49	54,16	45,70	1,00	122,35	222,20
AGO	JAVA	1	44,00	43,30	3,38	24,76	5,44	6,60	1,68	47,54	1,08	121,25	170,48
AGO	JAVA	2	44,10	43,80	3,46	7,35	3,51	2,60	46,00	45,51	0,82	126,05	217,56

AGO	JAVA	3	44,50	44,30	2,34	23,85	5,25	4,14	47,43	40,56	1,10	113,82	201,82
AGO	RB765418	1	43,10	42,90	3,30	14,72	6,38	5,14	51,74	51,99	1,11	138,47	242,19
AGO	RB765418	2	44,10	44,10	2,91	23,23	6,61	4,70	43,30	31,36	1,13	118,05	192,71
AGO	RB765418	3	44,80	44,10	1,92	22,67	7,16	8,16	67,88	49,93	1,32	134,17	251,98
OUT	RB72454	1	40,40	40,00	4,19	24,85	4,18	3,24	40,01	47,35	0,86	114,42	201,77
OUT	RB72454	2	44,10	43,80	3,33	20,00	4,20	4,92	44,70	42,06	0,92	100,97	187,74
OUT	RB72454	3	43,70	44,00	2,15	25,55	5,06	8,57	47,23	35,94	0,85	95,41	178,57
OUT	SP79-1011	1	43,10	42,80	4,19	23,58	4,83	2,80	17,94	52,22	0,56	131,18	201,35
OUT	SP79-1011	2	43,80	43,70	4,08	21,51	3,41	6,85	19,56	41,94	0,51	94,91	156,41
OUT	SP79-1011	3	44,10	43,80	1,98	39,83	8,27	8,79	23,95	40,56	0,54	108,55	173,06
OUT	SP80-1842	1	43,70	43,30	3,41	16,32	4,50	3,56	38,71	46,85	0,83	106,53	192,08
OUT	SP80-1842	2	43,80	43,60	4,42	10,01	2,92	3,28	43,98	37,68	0,85	91,63	173,29
OUT	SP80-1842	3	43,40	43,30	1,98	38,61	5,40	3,81	34,94	46,04	1,05	115,07	196,04
OUT	JAVA	1	44,00	43,60	2,99	20,23	5,60	7,57	49,19	49,27	1,09	105,83	204,30
OUT	JAVA	2	43,60	42,80	3,12	38,71	5,61	11,76	47,53	40,14	1,15	97,12	184,79
OUT	JAVA	3	43,60	43,30	3,85	10,07	2,72	2,84	44,98	25,12	0,95	71,43	141,53
OUT	RB765418	1	43,30	43,20	5,06	11,76	3,58	2,72	49,69	43,19	1,12	103,44	196,32
OUT	RB765418	2	43,30	43,30	2,78	15,97	3,33	2,59	58,37	39,11	1,22	99,75	197,23
OUT	RB765418	3	43,90	43,70	1,78	22,38	5,63	5,51	65,39	39,63	1,12	108,19	213,20

a/Época de colheita; b/cultivar de cana-de-açúcar; c/Repetição; d/Graduação alcoólica % v/v a 20°C; e/Grau alcoólico real % v/v a 20°C; f/Cobre mg.L⁻¹ g/Acetaldeído mg.100 mL⁻¹ A.A.; h/Acetato de etila mg.100 mL⁻¹ A.A.; i/Metanol mg.100 mL⁻¹ A.A.; j/Álcoll n-Propílico mg.100 mL⁻¹ A.A.; k/Álcoll isobutílico mg.100 mL⁻¹ A.A.; l/Álcool n-butílico mg.100 mL⁻¹ A.A.; m/ Álcoll isoamílico mg.100 mL⁻¹ A.A.; n/Soma alcoóis superiores mg.100 mL⁻¹ A.A.