**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Qualidade da bebida destilada a partir do mosto combinado de malte de
cevada e caldo de cana-de-açúcar**

Ana Carolina Corrêa

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestra em Ciências. Área de concentração: Ciência e
Tecnologia de Alimentos

**Piracicaba
2015**

Ana Carolina Corrêa
Bacharela e Licenciada em Ciências Biológicas

**Qualidade da bebida destilada a partir de mosto combinado de malte de cevada e caldo
de cana-de-açúcar**

Orientador:
Prof. Dr. **ANDRÉ RICARDO ALCARDE**

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestra em Ciências. Área de concentração: Ciência e
Tecnologia de Alimentos

**Piracicaba
2015**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - DIBD/ESALQ/USP**

Corrêa, Ana Carolina

Qualidade da bebida destilada a partir do mosto combinado de malte de cevada e caldo de cana-de-açúcar / Ana Carolina Corrêa. - - Piracicaba, 2015.
119 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Bebidas destiladas 2. Malte de cevada 3. Cana-de-açúcar 4. Mosto combinado
I. Título

CDD 663.1
C824q

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

Dedico aos meus queridos pais, João e Erika.

AGRADECIMENTOS

À minha família, especialmente aos meus pais, João e Erika, e ao meu irmão, Luiz Gustavo, pelo incentivo, compreensão e apoio incondicional.

Ao meu namorado Caio, pela paciência, compreensão e companheirismo.

Ao professor André Ricardo Alcarde, pela oportunidade, confiança e orientação ao longo deste período.

Aos atuais e ex-alunos do Laboratório de Qualidade Química de Bebidas, Aline, Lethicia, Giovanni, Iara, Cintra, Carol, Danyela, Thaís, Cauré, Luís, Angélica, Flávia, Marina e Nicolás, pela amizade e por terem contribuído, de alguma forma, para a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Urgel de Almeida Lima, pela generosidade e por todos os ensinamentos.

Aos meus amigos, pela força, incentivo e pelos momentos de distração.

Aos colegas alunos da pós-graduação.

Aos funcionários do Setor de Açúcar e Alcool, Rosemary, Silvino, Pedrinho e Benedito por todo auxílio concedido.

Aos membros da banca examinadora pela contribuição.

Aos provadores da análise sensorial da cachaça.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa concedida.

SUMÁRIO

RESUMO	11
ABSTRACT	13
1 INTRODUÇÃO.....	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
2.1 Aguardente de cana e cachaça	19
2.1.1 Processo de produção	21
2.1.1.1 Matéria-prima e preparo do mosto.....	21
2.1.1.2 Fermentação.....	22
2.1.1.3 Destilação.....	23
2.1.1.4 Envelhecimento	25
2.2 Uísque	27
2.2.1 Processo de produção de uísque puro de malte	29
2.2.1.1 Matéria prima e preparo do mosto	29
2.2.1.2 Fermentação.....	31
2.2.1.3 Destilação.....	32
2.2.1.4 Envelhecimento	33
2.3 Congêneres em destilados.....	34
2.3.1 Aldeídos.....	34
2.3.2 Ésteres.....	35
2.3.3 Acidez volátil.....	36
2.3.4 Álcoois superiores	36
2.3.5 Metanol.....	37
2.3.6 Cobre	38
2.3.7 Carbamato de etila.....	39
2.4 Compostos de envelhecimento em destilados	40
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	43
3.1 Preparo do mosto	43
3.1.1 Mosto de caldo de cana-de-açúcar.....	43
3.1.2 Mosto de malte de cevada	43
3.2 Fermentação.....	45
3.3 Destilação.....	45
3.4 Envelhecimento	47
3.5 Análises físico-químicas	47

3.5.1	Grau alcoólico e cobre	48
3.5.2	Análises cromatográficas	48
3.5.2.1	Congêneres voláteis por Cromatografia gasosa (GC-FID)	48
3.5.2.2	Congêneres de maturação por Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).....	49
3.5.2.3	Carbamato de etila por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massa (CG-EM)	50
3.5.3	Cor e fenólicos	52
3.6	Análise sensorial	52
3.6.1	Teste de ordenação-preferência	52
3.6.2	Teste sensorial descritivo	53
3.7	Análise estatística dos resultados	53
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
4.1	Caracterização dos mostos	55
4.2	Caracterização dos vinhos	55
4.3	Caracterização dos destilados.....	56
4.3.1	Flegmas	56
4.3.1.1	Congêneres voláteis.....	58
4.3.1.1.1	Aldeídos.....	58
4.3.1.1.2	Ésteres	58
4.3.1.1.3	Acidez volátil	58
4.3.1.1.4	Álcoois superiores	59
4.3.1.1.5	Coeficiente de congêneres voláteis	59
4.3.1.2	Contaminantes	60
4.3.1.2.1	Metanol.....	60
4.3.1.2.2	Cobre	60
4.3.1.2.3	Carbamato de etila.....	60
4.3.2	Bidestilado (fração “coração” da bidestilação).....	61
4.3.2.1	Congêneres voláteis.....	63
4.3.2.1.1	Aldeídos.....	63
4.3.2.1.2	Ésteres	63
4.3.2.1.3	Acidez volátil	63
4.3.2.1.4	Álcoois superiores	64
4.3.2.1.5	Coeficiente de congêneres voláteis	64
4.3.2.2	Contaminantes	65
4.3.2.2.1	Metanol.....	65
4.3.2.2.2	Cobre	65

4.3.2.2.3	Carbamato de etila	66
4.3.3	Destilados envelhecidos	66
4.3.3.1	Teor alcoólico	69
4.3.3.2	Congêneres voláteis	69
4.3.3.2.1	Aldeídos	69
4.3.3.2.2	Ésteres	70
4.3.3.2.3	Acidez volátil	71
4.3.3.2.4	Álcoois superiores.....	71
4.3.3.2.5	Coeficiente de congêneres voláteis	72
4.3.3.3	Contaminantes	72
4.3.3.3.1	Metanol	72
4.3.3.3.2	Cobre.....	73
4.3.3.3.3	Carbamato de etila	73
4.3.3.4	Intensidade de cor e compostos fenólicos totais	80
4.3.3.5	Congêneres de maturação	81
4.4	Análise sensorial	89
4.4.1	Teste de ordenação pela preferência.....	89
4.4.2	Teste sensorial descritivo.....	91
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	95
	REFERÊNCIAS	97
	APÊNDICES	111
	ANEXOS	117

RESUMO

Qualidade da bebida destilada a partir de mosto combinado de malte de cevada e caldo de cana-de-açúcar

Características sensoriais diferenciadas e qualidade química podem garantir a competitividade de uma bebida destilada. O uísque é uma bebida alcoólica produzida a partir da destilação do mosto fermentado de cereais e que passa por um período de maturação em barris de carvalho. A cachaça, por sua vez, é produzida a partir da destilação do caldo de cana-de-açúcar fermentado. O objetivo deste trabalho foi analisar a qualidade química e sensorial da bebida destilada oriunda das matérias-primas cana-de-açúcar e cevada e produzida mediante técnicas já existentes em processos produtivos de cachaça e uísque. O mosto combinado teve como fonte de açúcares o mosto de caldo de cana e o mosto de malte de cevada, que foram preparados separadamente e depois misturados nas seguintes proporções em porcentagem: 100 (A), 75 (B), 50 (C), 25 (D) e 0 (E) de caldo de cana, complementado com o mosto de malte de cevada. O processo fermentativo foi conduzido a 30°C, mediante adição de leveduras *Saccharomyces cerevisiae*, cepas CA-11 e S-33, inoculando-se 1,5 g/L de cada levedura. As destilações foram realizadas em alambique de cobre, seguindo a metodologia de dupla-destilação utilizada para a produção de *Scotch malt whisky*. As bebidas duplamente destiladas foram acondicionadas em barris de carvalho por 60 dias. Os mostos foram submetidos às análises de pH, Brix, Pol, Açúcares Redutores (AR), Açúcares Redutores Totais (ART) e Acidez Total; e os vinhos foram analisados quanto a Teor Alcoólico, pH, Açúcares Redutores Residuais (ARR) e Acidez Total. Os flegmas, bidestilados e as bebidas envelhecidas foram submetidos a análises de teor alcoólico (densitometria), cobre (colorimetria), congêneres voláteis (CG-FID) e carbamato de etila (CG-EM). As bebidas envelhecidas também foram submetidas a análises de intensidade de cor e compostos fenólicos totais (espectrofotometria) e congêneres de maturação (CLAE). Testes sensoriais foram realizados para verificar a preferência entre as amostras pelos consumidores. Análises estatísticas foram realizadas pelo programa SAS (ANOVA e Testes de Tukey). Foi comprovada a eficiência da técnica de bidestilação na redução de alguns compostos limitados pela legislação. Mostos combinados com maior porcentagem de malte de cevada apresentaram menor formação de carbamato de etila. O envelhecimento aumentou a concentração de carbamato de etila nos destilados A, B e C sendo ao final o único contaminante presente acima dos limites permitidos pela legislação de aguardente de cana. Siringaldeído e ácido gálico foram os congêneres de maturação com as maiores concentrações nos destilados. O destilado do tratamento A apresentou a maior concentração total de compostos de envelhecimento. Na análise sensorial o destilado do tratamento C apresentou a maior preferência pelos provadores. Este estudo comprova que a produção de uma nova bebida a partir da combinação de matérias-primas diferentes pode apresentar resultados satisfatórios. Entretanto, ressalta-se a importância da continuidade desse estudo para afinar a definição da combinação de mostos mais adequada, para assim confirmar a viabilidade e eficiência do processo.

Palavras-chave: Bebidas destiladas; Malte de cevada; Cana-de-açúcar; Mosto combinado

ABSTRACT

Quality of distilled spirit from combined worts of barley malt and sugarcane juice

Differentiated sensory characteristics and chemical quality can ensure the competitiveness of a distilled beverage. Whisky is an alcoholic beverage produced from the distillation of fermented worts of cereals and aged in oak barrels. Cachaça, in turn, is produced from the distillation of fermented sugarcane juice. The objective of this study was to analyze the chemical and sensory quality of distilled spirit derived sugarcane and barley and produced by existing techniques in production processes of cachaça and whisky. The combined wort had as a source of sugars the sugarcane juice and barley malt wort, that were prepared separately and then mixed in the following proportions by percentage: 100 (A) 75 (B), 50 (C), 25 (D) and 0 (E) of sugarcane juice, supplemented with barley malt wort. The fermentation was conducted at 30° C by addition of *Saccharomyces cerevisiae*, CA-11 and S-33 strains, inoculating 1,5 g/L of each yeast. The distillations were performed in copper still, according to double-distillation method used for production of Scotch malt whisky. Double-distilled spirits were stored in oak barrels for 60 days. Worts were submitted to analysis of pH, Brix, Pol, Reducing Sugars (AR), Total Reducing Sugars (ART) and Total Acidity; and the wines were analyzed for Alcohol, pH, Residual Reducing Sugars (ARR) and Total Acidity. Low wines, double-distilled spirits and aged spirits were analyzed for alcohol content (densitometry), copper (colorimetry), volatile congeners (GC-FID) and ethyl carbamate (GC-MS). Aged spirits were also analyzed for color intensity and total phenolic compounds (spectrophotometry) and aged congeners (HPLC). Sensory tests were conducted to verify preference between samples by consumers. Statistical analyzes were performed using SAS (ANOVA and Tukey tests). The efficiency of double-distillation technique in reduce some compounds limited by legislation was confirmed. Worts combined with a higher percentage of barley malt showed lower formation of ethyl carbamate. Aging increased the concentration of ethyl carbamate in spirits A, B and C being at the end the only contaminant found above the limits allowed by the cachaça legislation. Syringaldehyde and gallic acid were the aged congeners with the highest concentrations in the spirits. Spirit A had the highest total concentration of aged congeners. Sensory analysis showed that spirit C was the most preferred by tasters. This study demonstrates that the production of a new beverage from the combination of different raw materials can provide satisfactory results. However, it emphasizes the importance of continuing this study to refine the definition of the most appropriate combination of worts, thus to confirm the feasibility and process efficiency.

Keywords: Distilled spirits; Barley malt; Sugarcane; Combined wort

1 INTRODUÇÃO

O mercado de bebidas é um segmento marcado por intenso crescimento nos últimos anos. Características sensoriais diferenciadas e qualidade química da bebida são parâmetros que, cada vez mais, produtores nacionais prezam para garantir competitividade frente a produtos importados e de qualidade consagrada.

De acordo com a Associação Brasileira de Bebidas - ABRABE (2014), o mercado de bebidas nacional apresenta um faturamento anual de aproximadamente R\$ 8 bilhões, sendo R\$ 2 bilhões correspondentes às receitas da comercialização de bebidas destiladas, gerando cerca de 60 mil empregos diretos e 240 mil indiretos. O aumento do poder aquisitivo da população com o crescimento econômico dos últimos anos favoreceu a procura por produtos mais sofisticados, o que consequentemente resultou no aumento das vendas e consumo de bebidas de maior valor agregado.

Dentre as bebidas, o uísque mostrou o maior aumento no mercado nacional, o que lhe confere alta importância econômica. O Brasil tem papel de destaque no mercado mundial de uísques, pois de acordo com a Scotch Whisky Association – SWA (2014), em 2013 o país foi o 10º maior mercado importador de uísques em termos financeiros e o 5º maior mercado em volume. No ano de 2012 foram vendidos cerca de 24 milhões de litros de uísques no país e o crescimento no mercado dos importados foi cerca de 10% no ano de 2013 (ABRABE, 2014). O Nordeste é a principal região consumidora de uísque do país. Recife, a capital de Pernambuco, está entre as cidades de maior consumo per capita de uísque do mundo (PORTMAN, 2008).

O uísque é uma bebida alcoólica produzida a partir da destilação do mosto fermentado de cereais e que passa por um período de maturação em barris de carvalho. O país de origem, a espécie de cereal empregada, o processo de destilação e a espécie da madeira dos tonéis de maturação são características que determinam os tipos diferentes de uísques. Entre os uísques comercializados no Brasil estão os importados, os engarrafados no país, mas produzidos com malte 100% importado, e uísques nacionais, fabricados com maltes nacionais e importados (ABRABE, 2014).

A cachaça, por sua vez, é a bebida produzida a partir da destilação do caldo de cana-de-açúcar fermentado. É o destilado mais consumido no Brasil, sendo a bebida típica nacional. Estima-se que a capacidade instalada de produção de cachaça do Brasil seja de 1,2 bilhão de litros por ano. No entanto, menos de 1% deste total é exportado (INSTITUTO BRASILEIRO DA CACHAÇA - IBRAC, 2014). Atualmente é o quarto destilado mais

consumido no mundo. Embora seja baixa a quantidade de cachaça exportada em relação à produzida, de acordo com o IBRAC, em 2013 foram exportados 9,21 milhões de litros de cachaça e entre os principais mercados de destino estavam Alemanha, Portugal, Estados Unidos, França e Paraguai. Em 2014 foram exportados 10,18 milhões de litros de cachaça, um aumento de mais de 10% em volume, gerando receita de US\$ 18,33 milhões.

O controle da qualidade e da padronização da cachaça é essencial para que ela esteja dentro dos padrões internacionais e seja aceita pelo mercado externo. O principal entrave à exportação da cachaça é devido à sua má qualidade química e também à deficiência de padronização em toda a cadeia produtiva, envolvendo a produção da cana-de-açúcar, preparo do mosto e do fermento, condições de fermentação e de destilação (alambiques ou colunas) e a sua maturação em tonéis de madeira, que é uma etapa facultativa no processo de produção, porém agregadora de sabor e qualidade ao produto final (MIRANDA et al., 2007). Porém, este cenário tem se alterado pela melhoria da qualidade, confirmado pelo reconhecimento da cachaça como bebida típica e exclusivamente brasileira pelos Estados Unidos, bem como sua comercialização com o nome “cachaça” no país (IBRAC, 2014).

O setor de bebidas especiais (*gourmet*) ganha espaço no mercado a partir do incremento de renda dos consumidores. A cachaça, principalmente a produzida em alambique, passou a ser mais procurada, apreciada e valorizada. Além disso, começam a surgir novos consumidores, aqueles que antes não tomavam cachaça. Nesse contexto, uma nova bebida produzida a partir de matérias-primas combinadas, e que apresente propriedades equivalentes as de uma cachaça e de um uísque de qualidade, pode ter grande aceitação por esses consumidores.

O mercado de bebidas especiais fomenta atividades de elaboração de bebidas inovadoras. Há diversos produtos no mercado nacional que apresentam adição de especiarias ou ingredientes incomuns, em vista a ganhar características sensoriais favoráveis e contemplar o paladar de consumidores, principalmente da classe B e C (INSTITUTO BRASILEIRO DE OPINIÃO PÚBLICA E ESTATÍSTICA - IBOPE, 2013). A inovação é um processo originado em estudos de mercado, ou seja, identificando o agradável ao consumidor para gerar um produto de aceitação (RIPPEL et al., 2010) não se tratando de um processo empírico, mas sim, planejado. Há dois tipos de inovação tecnológica: a inovação que exige sucesso no mercado (inovação de produto) e pode ser entendida como a introdução de um novo produto; e a introdução de uma nova técnica em um processo produtivo (inovação de processo) com mudanças significativas na tecnologia do produto ou na forma de fabricação já existente (KAO, 1995).

A utilização de matérias-primas combinadas para produzir destilados pode contribuir para uma maior complexidade de compostos químicos e melhorar sua qualidade sensorial. A razão para a produção de uma bebida elaborada a partir da mistura de mostos de malte de cevada e caldo de cana-de-açúcar é a pretensão de inovação no setor. Para isso, neste trabalho foi analisada a qualidade química e sensorial da bebida destilada oriunda das matérias-primas cana-de-açúcar e cevada e produzida mediante técnicas já existentes em processos produtivos de cachaça e uísque.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Aguardente de cana e cachaça

A aguardente de cana e a cachaça, bebidas típicas do Brasil, são produzidas a partir da destilação do caldo da cana-de-açúcar fermentado. A aguardente de cana é a bebida com graduação alcoólica de 38 a 54% (v/v) a 20°C, obtida a partir do destilado alcoólico simples de cana-de-açúcar ou pela destilação do mosto fermentado do caldo de cana-de-açúcar. A cachaça é a denominação típica e exclusiva da aguardente de cana, produzida no Brasil, com graduação alcoólica de 38 a 48% (v/v) a 20°C, obtida pela destilação do mosto fermentado do caldo de cana-de-açúcar com características sensoriais peculiares (BRASIL, 2005a).

Atualmente, a cachaça é o 4º destilado mais consumido no mundo e o 1º destilado mais consumido no Brasil (ALCARDE, 2014). Existem aproximadamente 40.000 produtores de cachaça no Brasil, sendo 98% pequenos produtores, gerando 600 mil empregos diretos e indiretos (IBRAC, 2014). Em 2014 a cachaça foi exportada para 66 países e gerou uma receita de US\$ 18,33 milhões, um aumento de mais de 10% em relação a 2013. Os principais países de destino em valor e volume são: Alemanha, Estados Unidos, Portugal, França, Paraguai e Itália (IBRAC, 2014). A maior parte da bebida (70%) provém da produção industrial e 30% da cachaça é fabricada de maneira popularmente denominada “artesanal” (CBRC-Centro Brasileiro de Referencia da cachaça, dados de 2012). No processo de produção industrial, a aguardente de cana ou cachaça é produzida em grande escala utilizando colunas de destilação. A produção “artesanal” é geralmente realizada por pequenos produtores e a bebida é obtida da destilação em alambique. No entanto, a utilização do termo “artesanal” para caracterizar uma cachaça é proibida pela legislação nacional.

A aguardente de cana ou cachaça possui em sua composição, além de etanol e água, alguns compostos voláteis “não álcool”, pequenas quantidades de contaminantes orgânicos como o metanol, carbamato de etila, álcool sec-butílico, álcool n-butílico e contaminantes inorgânicos como o cobre, chumbo e arsênico (MAIA, 1994). Todos esses compostos possuem uma quantidade fixada pela Legislação Nacional de Padrão de Identidade e Qualidade (PIQ) (Tabela 1; Tabela 2). Os padrões estabelecidos com os seus respectivos limites têm a finalidade de modular a influência de cada um desses componentes na proteção à saúde pública e no padrão de qualidade da bebida, não significando, portanto, que a aguardente que ali se enquadre possa ser considerada produto de qualidade sensorial superior (MIRANDA et al., 2008).

Tabela 1 – Composição química e requisitos de qualidade da aguardente de cana-de-açúcar e da cachaça, estabelecidos pela legislação brasileira

COMPONENTE	UNIDADE	LIMITE	
		Mínimo	Máximo
Acidez volátil, em ácido acético	mg / 100 mL álcool anidro	-	150
Ésteres, em acetato de etila	mg / 100 mL álcool anidro	-	200
Aldeídos, em aldeído acético	mg / 100 mL álcool anidro	-	30
Furfural + Hidroximetilfurfural	mg / 100 mL álcool anidro	-	5
Álcoois superiores *	mg / 100 mL álcool anidro	-	360
Coeficiente de congêneres **	mg / 100 mL álcool anidro	200	650

Fonte: Brasil (2005b)

* **Álcoois superiores** = soma dos álcoois isobutílico (2-metil-propanol), isoamílicos (2-metil-1-butanol e 3-metil-1-butanol) e n-propílico (1-propanol)

** **Congêneres** = soma da acidez volátil, aldeídos, ésteres totais, furfural + hidroximetilfurfural e álcoois superiores

Tabela 2 – Composição máxima permitida de contaminantes na aguardente de cana-de-açúcar e da cachaça, estabelecidas pela legislação brasileira

CONTAMINANTE	UNIDADE	LIMITE MÁXIMO
ORGÂNICOS		
Álcool metílico	mg / 100 mL álcool anidro	20
Carbamato de etila *	µg / L da bebida	210
Acroleína (2-propenal)	mg / 100 mL álcool anidro	5
Álcool sec-butílico (2-butanol)	mg / 100 mL álcool anidro	10
Álcool n-butílico (1-butanol)	mg / 100 mL álcool anidro	3
INORGÂNICOS		
Cobre	mg / L da bebida	5
Chumbo	µg / L da bebida	200
Arsênio	µg / L da bebida	100

Fonte: Brasil (2005b)

*de acordo com Instrução Normativa nº 28, de 8 de agosto de 2014

Apesar do grande volume produzido e comercializado, na maioria das vezes o processo de produção da aguardente de cana é realizado de maneira empírica e rudimentar, comprometendo sua qualidade final (BIZELLI; RIBEIRO; NOVAES, 2000). A produção da aguardente de cana e da cachaça envolve as etapas de cultivo da cana, colheita, extração do caldo, preparo do mosto, fermentação, destilação e envelhecimento. O controle de todas essas etapas é fundamental para que sejam cumpridos os parâmetros exigidos pela Legislação (MIRANDA et al., 2007).

A preocupação com a qualidade da cachaça é crescente, principalmente devido ao surgimento de um mercado consumidor mais exigente. (JERONIMO, 2004; DANTAS et al., 2007). O conhecimento da composição físico-química, tanto orgânica (componentes secundários) como inorgânica (metais) da cachaça se faz necessário devido à sua crescente importância econômica e grande aceitação no mercado nacional e internacional (PEREIRA et al., 2003). Logo, as análises físico-químicas tornaram-se ferramentas essenciais para obtenção de informações relevantes que levam à produção de uma cachaça de excelência (CARDELLO; FARIA, 1997; RODRIGUES; OLIVEIRA, 2007; PINHEIRO, 2010; VOLPE; BONA; VITORIO, 2013).

2.1.1 Processo de produção

2.1.1.1 Matéria-prima e preparo do mosto

O processo de produção da aguardente de cana e da cachaça inicia-se com a obtenção da matéria-prima, a cana-de-açúcar. A cana-de-açúcar é, em média, composta de 80% de água e 20% de sólidos solúveis (açúcares e não açúcares orgânicos e inorgânicos). Do total de açúcares presentes, 11 a 18% é sacarose, 0,2 a 1,0 % é glicose e 0,0 a 0,6% é frutose. Os componentes não açúcares orgânicos presentes são proteínas, gorduras e ceras, pectinas, ácidos livres e combinados (málico, succínico, aconítico, oxálico, fumárico, etc.) e matérias corantes (clorofila, antocianina e sacaretina). Os não açúcares inorgânicos são as cinzas (sílica, potássio, fósforo, cálcio, sódio, magnésio, enxofre, ferro, alumínio, cloro, etc), componentes essenciais para a nutrição das leveduras durante a fermentação. (NOGUEIRA; VENTURINI FILHO, 2005). A produtividade da cana, o controle de pragas e doenças, o estado de maturação, a concentração de açúcares, a colheita, o transporte e o tempo até o processamento da cana são fatores que interferem na qualidade final da bebida.

A primeira etapa industrial é a moagem da cana, onde o caldo é extraído separando-se do bagaço. A moagem da cana deve ocorrer logo após a sua colheita ou o mais breve possível para evitar as deteriorações e consequentemente a perda de rendimento e qualidade do produto final (MUTTON; MUTTON, 2010; LIMA, 1999; PEREIRA; ROSA; FARIA, 2006; GALINARO, 2011). Um bom rendimento na extração do caldo é essencial e por isso a moagem é uma das principais etapas do processo de produção de cachaça (NOVAES, 1974). Depois da moagem, o caldo é filtrado utilizando-se uma peneira para a retirada de bagacilhos e outras partículas sólidas presentes e, posteriormente é levado para uma dorna de decantação,

com o objetivo de separar as partículas mais finas e densas de resíduos que se depositam no fundo do recipiente. (NOVAES, 1974; MAIA; CAMPELO, 2005). Após essa etapa é feito o tratamento térmico do caldo, que ajuda na eliminação de microrganismos contaminantes e na retirada de componentes indesejados que podem interferir no rendimento da fermentação (BOSQUEIRO, 2010).

O caldo de cana puro é um excelente meio para o desenvolvimento de microrganismos, em especial as leveduras que realizam fermentação alcoólica (MUTTON; MUTTON, 2010). O preparo do mosto tem por objetivo aumentar o rendimento fermentativo, garantindo boas condições para o metabolismo das leveduras através da adequada quantidade de açúcares fermentescíveis, eliminação de contaminantes iniciais, ajuste de pH e presença de nutrientes indispensáveis para sua sobrevivência. (Valsechi, 1960; NOVAES, 1974; AQUARONE, 1983; SOUZA, 2009). A quantidade de açúcares presentes no mosto pode ser ajustada pela diluição do caldo após o tratamento térmico, tornando-o assim compatível com a linhagem de levedura e com o processo de fermentação a ser utilizado. Outras correções também são feitas para garantir uma boa fermentação: pH do caldo (normalmente variando entre 5,0 e 6,0), corrigido através da adição de ácidos para 4,5 a 5,0; suplementação nitrogenada e/ou de fosfato, magnésio, manganês, cobalto e vitaminas quando necessário; temperatura (ideal em torno de 30° C) (FARIA, 1995; JANZANTTI, 2004).

2.1.1.2 Fermentação

A fermentação alcoólica é um processo biológico no qual açúcares e outros componentes do mosto são transformados em etanol, gás carbônico e outros produtos relacionados à qualidade da cachaça. É a principal etapa do processo de produção da aguardente (YOKOYA, 1995).

Na fermentação alcoólica para produção de aguardente ou cachaça são utilizadas leveduras, geralmente *Saccharomyces cerevisiae*, que metabolizam os açúcares presentes no mosto transformando-os em álcool etílico, gás carbônico e diversos outros compostos denominados compostos secundários (MIRANDA, 2005). As leveduras são microrganismos eucarióticos unicelulares, que se reproduzem de forma assexuada por brotamento, e em poucos casos por fissão binária. São pertencentes ao reino Fungi, porém não formam um grupo taxonômico ou filogenético específico (KURTZMAN; PISKUR, 2006; OLIVEIRA, 2009). Para a utilização na produção de bebidas alcoólicas, as leveduras devem apresentar principalmente alta tolerância ao álcool, bom rendimento fermentativo e capacidade de

fermentar rapidamente o substrato, reduzindo o risco de contaminações (OLIVEIRA, 2001; JANZANTTI, 2004). Além das leveduras, outros microrganismos, geralmente indesejáveis, podem estar presentes durante a fermentação. Esses microrganismos muitas vezes são responsáveis pela redução do rendimento alcoólico e produção de compostos que influenciam negativamente a qualidade do produto (YOKOYA, 1995).

O processo fermentativo é iniciado logo que a levedura entra em contato com o mosto e é dividido em três fases: a preliminar, que é fase de adaptação das leveduras e multiplicação celular; a principal ou tumultuosa, caracterizada pelo intenso desprendimento de gás carbônico e produção de álcool; e a fase complementar ou pós-fermentação, em que ocorre redução acentuada da atividade fermentativa (YOKOYA, 1995).

Após a fermentação, o mosto fermentado é denominado vinho e possui em sua composição produtos gasosos, líquidos e sólidos. A maioria dos compostos é proveniente da atividade das leveduras e de microrganismos contaminantes durante a fermentação. Os compostos gasosos são o ar e o gás carbônico, os líquidos incluem a água e o etanol e, além de ácidos (succínico, acético, láctico, butírico, etc.), glicerina, álcoois superiores (amílico, isoamílico, butílico, isobutílico, propílico e isopropílico), aldeídos, ésteres, entre outros. A maioria desses produtos influencia a qualidade química e sensorial da cachaça (OLIVEIRA, 2001; JANZANTTI, 2004).

2.1.1.3 Destilação

Depois da fermentação, o vinho segue para a destilação. O processo de destilação consiste em aquecer o vinho para separar e concentrar o etanol e outros componentes voláteis provenientes da fermentação. A importância dessa etapa se deve à separação dos compostos voláteis representados por água, etanol, metanol, álcoois superiores, ácido acético, ésteres, aldeídos, gás carbônico, etc. dos componentes não voláteis ou fixos, que são células de leveduras, minerais, alguns ácidos orgânicos e inorgânicos (YOKOYA, 1995).

A destilação de aguardente de cana e cachaça é comumente conduzida em colunas de destilação ou alambiques. Os grandes produtores procedem à destilação utilizando colunas de destilação, que operam de forma contínua, e os pequenos e médios produtores geralmente realizam a destilação em alambiques, de forma descontínua. O cobre é o material mais utilizado para construção de alambiques devido à sua maleabilidade, boa condução térmica, resistência à corrosão e influência positiva na qualidade da bebida (BOZA; HORII, 2000; LÉAUTÉ, 1990).

Durante a destilação o vinho é aquecido e os compostos são separados em frações segundo sua temperatura de ebulição, afinidade com o álcool ou água, e teor alcoólico no vapor durante a destilação (LÉAUTÉ, 1990). Essas frações são divididas em cabeça, coração e cauda. A cabeça é o destilado recolhido nos primeiros instantes da destilação, correspondendo de 1 a 2% do volume total do vinho do alambique e seu teor alcoólico é elevado, geralmente acima de 65% (v/v). O coração, segunda fração, dará origem à aguardente/cachaça e corresponde ao destilado recuperado até que o teor alcoólico na saída do condensador atinja 38 a 40% (v/v). A cauda é a fração final do destilado, também conhecida como “água fraca” e é destilada até que o destilado na saída do condensador apresente-se isento de etanol (MAIA; CAMPELO, 2005; CARDOSO, 2006; ZACARONI, 2009; BOSQUEIRO, 2010). A primeira fração do destilado, a fração cabeça, tem em sua composição metanol e a maioria dos aldeídos e ésteres, que são compostos mais voláteis que o álcool. A fração coração é composta por álcool etílico, álcoois superiores e alguns ácidos voláteis. A fração cauda contém os compostos menos voláteis que o álcool etílico, que são alguns ácidos voláteis (especialmente o ácido acético) e o furfural (YOKOYA, 1995; BOZA; HORII, 2000).

A composição e a qualidade do produto de uma destilação são influenciadas por fatores como: tipo do destilador, sistema de aquecimento, eficiência na separação das diversas frações e condições operacionais (YOKOYA, 1995). Além disso, para um bom desempenho em uma destilação é imprescindível o controle de parâmetros como o tempo de destilação, o volume de destilado obtido e o grau alcoólico das frações cabeça, coração e cauda (MUTTON; MUTTON, 2010).

Durante a destilação ocorrem algumas reações químicas induzidas pelo calor como a hidrólise, esterificação, acetilação, produção de furfural e reações com o cobre. Essas reações promovem a diminuição, aumento ou a formação de novos compostos que podem influenciar as características sensoriais do produto final (GUYMON, 1974; LÉAUTÉ, 1990; ZACARONI, 2009).

Para reduzir ou eliminar compostos secundários com teores limitados pela legislação e melhorar a qualidade sensorial da bebida, a técnica da dupla destilação, também conhecida como bidestilação, é uma alternativa que vem sendo utilizada para a produção de aguardente de cana. Esse processo é usual na produção de outras bebidas destiladas, como o uísque, o conhaque e o rum. A dupla destilação da aguardente foi proposta pela primeira vez por Novaes (1994) e tinha como objetivo obter um destilado mais “leve”, isto é, com menor concentração de compostos secundários (congêneres), para depois ser envelhecido. A técnica

consiste em realizar duas destilações consecutivas, utilizando o mesmo alambique ou alambiques distintos (FORLIN, 2005; ROTA, 2008). Na bidestilação para produção de aguardente, a primeira destilação recupera praticamente todo o álcool etílico do vinho, originando o flegma e a vinhaça. O flegma é o produto principal, uma mistura hidroalcoólica impura, e a vinhaça é o resíduo da destilação do vinho de cana (NOGUEIRA; VENTURINI FILHO, 2005). A vinhaça geralmente é recolhida e posteriormente é aplicada na lavoura, permitindo a reposição de diversos nutrientes e água ao solo. O flegma, que possui teor alcoólico de aproximadamente 28% (v/v), é em seguida destilado novamente sendo separado nas frações: “cabeça”, retirada logo no início da destilação, correspondendo de 1 a 2% do volume útil da caldeira; “coração”, fração mais importante, com teor alcoólico aproximado de 70% (v/v); e “cauda”, fração final do destilado da segunda destilação. A fração “coração” é a que será preparada para o consumo, e como apresenta teor alcoólico superior ao de uma aguardente, deverá ser diluída antes ou depois do seu envelhecimento para só depois ser consumida (NOVAES, 1994).

A bidestilação permite a obtenção de uma aguardente com qualidade superior às provenientes de uma única destilação e com características sensoriais mais agradáveis. Ela melhora a qualidade da aguardente uma vez que reduz sua acidez, o teor de cobre e de ésteres, além de diminuir ou eliminar contaminantes como metanol e carbamato de etila (FORLIN, 2005; ROTA, 2008). Atualmente existem marcas de aguardentes bidestiladas disponíveis no mercado, porém essa técnica ainda é pouco utilizada pelas destilarias brasileiras (NOGUEIRA; VENTURINI FILHO, 2005; ROTA, 2008).

2.1.1.4 Envelhecimento

A aguardente recém-destilada é uma bebida incolor e, independente da maneira como foi conduzida a fermentação ou destilação, ela apresenta características sensoriais agressivas, como o sabor ardente e seco (CARDOSO, 2006). Dessa forma, o processo de envelhecimento se torna fundamental para atenuar essas características e modificar a bebida, de maneira que ela adquira atributos que a definam como aguardente de boa qualidade.

O envelhecimento ou maturação consiste basicamente em armazenar a bebida destilada em barris de madeira por um determinado período de tempo, em um local com condições adequadas. Muitas transformações ocorrem durante esse período, tais como as reações entre compostos secundários e compostos presentes na madeira, catalisadas pelo

oxigênio que entra no tonel através dos poros da madeira (PIGGOTT; SHARP; DUNCAN, 1989; BARBOZA et al., 2010).

A cachaça ou aguardente de cana envelhecida refere-se à bebida que contiver, no mínimo, 50% de aguardente de cana envelhecida em recipiente de madeira apropriado, com capacidade máxima de 700L, por um período não inferior a um ano. Aguardente de cana *premium* é o destilado 100% envelhecido em recipiente de madeira apropriada, com capacidade máxima de 700L, por um período mínimo de um ano. Aguardente de cana extra-premium é aquela 100% envelhecida em recipiente de madeira apropriada, com capacidade máxima de 700L, por um período mínimo de três anos (BRASIL, 2005a).

Diversos tipos de madeira são citados como potenciais para o envelhecimento de bebidas destiladas, tais como acácia, castanheira, eucalipto, cedro, entre outras. Porém, o carvalho é ainda o mais indicado para a fabricação de tonéis, devido à resistência mecânica, porosidade, dureza, proteção à luminosidade, além de conferir características sensoriais peculiares que agregam qualidade à bebida (LES CAHIERS ITINERAIRES D'ITV FRANCE, 2003). O carvalho é utilizado em diferentes países que fabricam destilados, adquirindo supremacia e tradição mundial, pois participa ativamente do *flavor*, graças à extração de moléculas aromáticas. A etapa de envelhecimento de uma bebida em carvalho é muito importante e deve ser cuidadosamente procedida a fim de preservar e/ou melhorar a qualidade da bebida (RAMIREZ-RAMIREZ, 2002).

Durante o envelhecimento de bebidas alcoólicas ocorre o aumento da acidez, da intensidade de cor, das concentrações de compostos fenólicos (taninos), acetato de etila, aldeído acético, acetona, e uma diminuição das concentrações de álcool metílico e álcool etílico (CARDELLO; FARIA, 1997; PUECH, 1983; SOUZA; DEL MASTRO, 2000; MIRANDA et al., 2008). Os principais compostos extraídos da madeira dos barris pelos destilados durante a maturação são os óleos voláteis, substâncias tânicas, açúcares, glicerol e ácidos orgânicos não voláteis. (NISHIMURA; MATSUYAMA, 1989).

O envelhecimento da aguardente de cana não é etapa obrigatória durante o processo de produção e por isso, apesar de modificar sensorialmente e agregar qualidade à bebida, essa prática não é muito adotada, principalmente por pequenos produtores, devido ao tempo e ao custo requerido para o processo (MIRANDA et al., 2008).

2.2 Uísque

O uísque é uma bebida alcoólica produzida a partir da destilação de mosto de cereais fermentado e que passa por um determinado período em maturação em barris de carvalho. Existem diversas maneiras de se produzir uísque, que variam de acordo com a matéria prima utilizada, o processo de produção e a legislação vigente do país de origem. Dessa forma, os diferentes tipos de uísques são classificados de acordo com o país produtor, com o tipo de cereal empregado e com método utilizado para sua produção (DRAGONE et al., 2010).

O uísque, whisky ou whiskey, é definido pela legislação brasileira como bebida com graduação alcoólica de 38 a 54 % em volume, a 20°C, obtida do destilado alcoólico simples de cereais envelhecido, parcial ou totalmente maltados, podendo ser adicionado de álcool etílico potável de origem agrícola, ou de destilado alcoólico simples de cereais, bem como água para redução da graduação alcoólica e caramelo para correção da cor (BRASIL, 2009).

Os diferentes tipos de uísques são classificados, de acordo com a legislação brasileira (Tabela 3), em: uísque malte puro (ou “whisky” puro de malte ou “pure malt whisky”) quando elaborado exclusivamente com destilado alcoólico simples de malte envelhecido, com o coeficiente de congêneres não inferior a 350 mg/100 mL de álcool anidro; uísque cortado (“blended whisky”), obtido pela mistura de, no mínimo, 30% de destilado alcoólico simples de malte envelhecido, com destilados alcoólicos simples de cereais ou álcool etílico potável de origem agrícola, ou ambos, envelhecidos ou não, com o coeficiente de congêneres não inferior a 100 mg/100 mL de álcool anidro; uísque de cereais (“grain whisky”), obtido a partir de cereais, envelhecido por período mínimo de dois anos, com o coeficiente de congêneres não inferior a 100 mg/100 mL de álcool anidro; “bourbon whisky” (“bourbon whiskey”), elaborado com, no mínimo, 50% de destilado alcoólico simples de milho, envelhecido por período mínimo de dois anos, com coeficiente de congêneres não inferior a 150 mg/100 mL de álcool anidro (BRASIL, 2009).

Tabela 3 – Composição química e requisitos de qualidade para uísque estipulados pela legislação brasileira

COMPONENTE	UNIDADE	LIMITE		CLASSIFICAÇÃO
		Mínimo	Máximo	
Graduação alcoólica	% v/v a 20°C	38	54	
Acidez volátil, em ácido acético	mg / 100 mL álcool anidro	-	150	
Ésteres, em acetato de etila	mg / 100 mL álcool anidro	-	150	
Aldeídos, em aldeído acético	mg / 100 mL álcool anidro	-	20	
Furfural + Hidroximetilfurfural	mg / 100 mL álcool anidro	-	5	
Álcoois superiores *	mg / 100 mL álcool anidro	-	300	
		350	-	Uísque malte puro
Coeficiente de congêneres **	mg / 100 mL álcool anidro	100	-	Uísque cortado ou uísque de cereais
		150	-	Bourbon whisky
Cobre	mg/ L da bebida	-	5	

Fonte: Brasil (2011)

* **Álcoois superiores** = soma dos álcoois isobutílico (2-metil-propanol), isoamílicos (2-metil-1-butanol e 3-metil-1-butanol) e n-propílico (1-propanol)

** **Congêneres** = soma da acidez volátil, aldeídos, ésteres totais, furfural + hidroximetilfurfural e álcoois superiores

No mercado brasileiro, dos 38,7 milhões de litros de uísques consumidos, quase 27 milhões são de uísques do tipo “blended whisky” e 2 % dos uísques consumidos são do tipo puro de malte. Porém, nos últimos anos, houve um aumento nas importações de uísques do tipo puro de malte, em decorrência do crescimento do consumo desses destilados (SINGLE MALT BRASIL - SMB, 2012).

Os principais cereais utilizados na produção de uísque são o trigo, o milho, o centeio e a cevada. Todos esses cereais são derivados da família das gramíneas (*Gramineae*) e apresentam uma alta concentração de amidos, polissacarídeos que inicialmente são transformados em açúcares fermentescíveis que posteriormente são convertidos em álcool (DRAGONE et al., 2010).

A cevada (*Hordeum polystichum*) é utilizada principalmente na forma de malte na fabricação de uísques. Além de proporcionar sabores característicos ao destilado, uma das principais funções da maltagem da cevada é liberar enzimas que auxiliam na transformação dos amidos, formando os açúcares fermentáveis (DRAGONE et al., 2010). A maioria dos produtores de uísque utiliza como matéria prima pelo menos uma parcela de cevada maltada como fonte de açúcares fermentáveis e de algumas enzimas (DOLAN, 2003).

Vários países produzem uísques a partir de malte, tais como Austrália, Canadá, República Tcheca, Inglaterra, França, Índia, Japão, Nova Zelândia, Irlanda do Norte, Paquistão, Escócia, Suécia e Turquia. Entretanto, os principais países produtores são Escócia, Irlanda, Índia e Japão (DOLAN, 2003). Todos os uísques puros de malte são produzidos

basicamente pelos mesmos processos, porém muitos locais de produção utilizam alguma técnica diferenciada que determina as características de seu produto final (BROOM, 2011).

O uísque é constituído essencialmente de água, etanol e congêneres. A água é um componente importante e sua composição pode influenciar na qualidade química e sensorial do uísque (WILSON, 2010; JACK, 2012). Ela deve ser livre de contaminações químicas e microbiológicas e não deve conter matéria orgânica em decomposição. Se for utilizada para a diluição do destilado final, sua concentração de cálcio e ferro deve ser mínima, evitando assim o risco de descoloração, turvação ou precipitação no produto. Os congêneres são compostos derivados da matéria-prima utilizada e dos processos de fermentação, destilação e maturação. A qualidade e as características sensoriais dos uísques são influenciadas pelas concentrações desses componentes (DRAGONE et al., 2010).

2.2.1 Processo de produção de uísque puro de malte

2.2.1.1 Matéria prima e preparo do mosto

O primeiro passo da produção de um uísque puro malte é o preparo da matéria prima, ou seja, a transformação da cevada em malte pelo processo de maltagem. A maltagem consiste na germinação artificial da cevada e seu objetivo é aumentar a quantidade de enzimas dos grãos para facilitar a transformação dos amidos em açúcares fermentáveis. Esse acréscimo no conteúdo enzimático aumenta o poder diastático dos grãos da cevada por meio da síntese de amilases, proteases, glucanases e de outras enzimas (DRAGONE et al., 2010).

A transformação da cevada em malte ocorre em três etapas, que são a maceração, a germinação e a secagem. A maceração é a primeira etapa e tem por objetivo umedecer o grão de cevada para dar início à germinação do embrião. Nessa fase os grãos são embebidos em água e mantidos em temperaturas entre 13 a 18 °C durante um tempo médio de 36 a 52 h até atingirem de 44 a 48% de teor de umidade (grau de maceração). Quando a maceração atinge o grau esperado inicia-se a germinação (DRAGONE et al., 2010).

Durante o período de germinação ocorrem as modificações do endosperma e o desenvolvimento de enzimas amilolíticas. Nesta etapa, os grãos ficam expostos a temperaturas entre 18 a 20 °C durante períodos de 3,5 a 6 dias. Os sinais visíveis de que os grãos estão germinando são o aparecimento de um germe branco em uma de suas extremidades e do folículo (acrospira) que cresce por baixo da casca de cevada. Essa etapa é então interrompida pelo processo de secagem, que tem por objetivo obter um produto seco e passível de ser

armazenado, além de impedir um posterior desenvolvimento de atividade biológica (DRAGONE et al., 2010).

Na fase de secagem, os grãos de malte são colocados em secadoras ou estufas onde um fluxo de ar quente passa até que o malte atinja teor de umidade inferior a 5%. Em alguns locais de fabricação de uísque é tradicional o uso da turfa como combustível para a alimentação do fogo no processo de secagem, pois ela é um material vegetal que quando queimado produz um aroma característico de defumado que é absorvido pelo malte (BROOM, 2011). Após secos, os maltes são resfriados pela passagem de ar frio, suas radículas são removidas e então eles são armazenados por algumas semanas e posteriormente despachados para as destilarias (DRAGONE et al., 2010).

A mosturação é o processo de transformação do amido dos maltes em açúcares fermentáveis. Nas destilarias o processo é iniciado com a moagem dos grãos, buscando recuperar de modo eficiente o extrato fermentável contido no malte. A moagem não deve ser muito grosseira, para não ocorrer perda de material, e nem muito fina, para não causar problemas durante a filtração. Depois, o malte moído segue para a tina de mostura onde receberá adição de água quente a diferentes temperaturas para que as enzimas do malte sejam ativadas e catalisem as reações de quebra das macromoléculas (amido, proteínas, etc.). O controle da temperatura da água é fundamental, para viabilizar a conversão do amido e evitar a desnaturação das enzimas (DRAGONE et al., 2010). As temperaturas da água utilizada durante a mosturação, bem como as outras etapas desse processo podem ser diferentes quando comparados os métodos de fabricação de uísque puro de malte de locais distintos.

A forma original dos açúcares presentes em mosto de malte corresponde aos açúcares provenientes também da hidrólise do amido, porém sendo presentes as enzimas α e β -amilase (elevado conteúdo proteico em relação ao xarope), formando maltotriose e maltose (principais açúcares no mosto sem adjuntos), enquanto que menos de 15% dos açúcares fermentescíveis correspondem a glicose, frutose e sacarose. Há também dextrinas não fermentescíveis não degradadas pelas amilases (LEWIS; YOUNG, 2003), como xilose, arabinose, ribose etc. Já no mosto de cana-de-açúcar prevalece a sacarose (14,5 a 24,0%), além dos açúcares redutores, glicose e frutose, representando, respectivamente, 0,2 a 1,0% e 0,0 a 0,5%. Já os não-açúcares, que correspondem a 1- 2,5% do mosto (ALBUQUERQUE, 2011), incluem proteínas, polissacarídeos como pentosanas, hemicelulose e substâncias pécicas (CONN et al., 1980). Comparativamente, mostos preparados a partir de grão apresentam composição protéica muito mais expressiva. Grãos de cevada maltados apresentam proteína total correspondente entre 9 a 13% em maltes *U.S. 1 Pale ale*, *U. S. 2 Pale ale*, *U.K Pale ale*. e

German lager (LEWIS; YOUNG, 2003). Essas proteínas, durante o processo de mosturação, sofrem modificações estruturais devido ao tratamento térmico empregado, convertendo-se em aminoácidos que serão consumidos pelas leveduras durante a fermentação. Vias de metabolismo podem formar quantidades de 2-oxoácidos, que, caso transaminado, gerará um aminoácido, ou, se descarboxilado, gerará uma cetona que poderá ser reduzida a álcool. A via mais representativa é a glicólise, originando o piruvato (um tipo de 2-oxoácido) que pode originar alanina ou ser transformado em acetaldeído e terminado em etanol. A via de formação de outros aminoácidos, que não a alanina, podem ser recorrentes e culminar num 2-oxoácido como penúltimo composto. Outros álcoois são formados durante a fermentação e são denominados álcoois superiores, por apresentarem maior número de carbonos. Estes 2-oxoácidos podem ser formados externamente às células de levedura, durante a transaminação (que é parte da assimilação do aminoácido) (SLAUGHTER, 2003). O termo utilizado para designar esses compostos em bebidas destiladas é “álcool fusel” ou “óleo fusel”. Apesar de a enzima que metaboliza piruvato a etanol utilizar os 2-oxoácidos como substrato, outras vias são tomadas, com diferentes enzimas e diferentes reações envolvidas (DEBOURG, 2000; DICKINSON, 2000).

2.2.1.2 Fermentação

Após a mosturação, o mosto originado é resfriado até 20-25 °C e inoculado com leveduras, dando início à fermentação. No processo de fermentação do mosto para produção de uísque, os açúcares obtidos a partir da hidrólise do amido dos grãos são metabolizados pelas leveduras e convertidos em etanol, dióxido de carbono, subprodutos e material celular (DRAGONE et al., 2010). Entre os subprodutos da fermentação estão compostos tais como outros álcoois, ácidos, ésteres, aldeídos e cetonas. Esses compostos secundários são importantes pelas características sensoriais que atribuem à bebida final (JACK, 2012).

O mosto de malte de cevada possui os nutrientes necessários para que a levedura cresça de forma adequada e a fermentação alcoólica ocorra de forma eficiente. A temperatura da fermentação geralmente é controlada e mantida a 30 °C e as leveduras utilizadas são cepas específicas da espécie *Saccharomyces cerevisiae*. Na fermentação para a produção de uísque puro de malte normalmente são usadas combinações de cepas desenvolvidas especialmente para a produção de uísque e cepas de produção de cerveja, pois de acordo com vários produtores, essa mistura de leveduras (de destilaria e cervejaria) proporciona maiores rendimentos em etanol (DRAGONE et al., 2010).

Durante a fermentação do mosto de malte de cevada podem ser encontradas algumas bactérias lácticas provenientes dos grãos e do próprio ambiente da destilaria. Porém, baixas condições de higiene podem acarretar no aparecimento de uma grande quantidade dessas bactérias no mosto e consequentemente reduzir o rendimento em etanol na fermentação (DRAGONE et al., 2010). Além disso, esses microrganismos podem produzir compostos de sabores indesejáveis (JACK, 2012).

Normalmente o processo fermentativo termina depois de 48 a 72 horas, pois antes desse período a concentração de congêneres ainda é baixa. Entretanto, após esse tempo há um alto risco de proliferação de microrganismos contaminantes (bactérias lácticas, acéticas e leveduras aeróbias) (CAMPBELL, 2003; PIGGOTT; CONNER, 2003; DRAGONE et al., 2010; OLIVEIRA, 2012).

2.2.1.3 Destilação

Finalizada a fermentação, o mosto fermentado, denominado vinho, possui concentração média de 8% v/v de álcool em sua composição e segue para a etapa de destilação (JACK, 2012). Há dois diferentes tipos de destilação utilizados para a produção de uísque: o descontínuo, ou de alambique, que produz um destilado mais saborizado, e o contínuo, que utiliza colunas para produzir destilados levemente saborizados, geralmente utilizados como base para misturas ou formulações de “blended whisky” (PIGGOTT; CONNER, 2003; DRAGONE et al., 2010; OLIVEIRA, 2012). Para a elaboração de uísque puro de malte geralmente é empregada a destilação descontínua feita em alambiques construídos em cobre, um material que além de influenciar no sabor do destilado, é bom condutor de calor, maleável e apresenta alta resistência ao desgaste (DRAGONE et al., 2010).

No método de produção de uísque puro de malte são realizadas duas destilações. A primeira destilação tem por objetivo recuperar todo o etanol do vinho e o líquido recolhido é denominado “*low wines*”, com 21-23% v/v de álcool. Depois de três primeiras destilações é obtido volume suficiente de *low wines* para compor a segunda destilação. Na segunda destilação, o *low wines* é destilado e o líquido é recolhido separando-se em frações “cabeça”, “coração” e “cauda”. A fração “cabeça” corresponde a 2% do volume útil da caldeira, recuperando de 78 a 75° GL, o “coração” ou uísque propriamente dito é recolhido de 75 a 60° GL e a “cauda” é a fração final do destilado, recolhida de 60 até 0° GL. As frações “cabeça” e “cauda” são reaproveitadas nas primeiras destilações do próximo ciclo (PIGGOTT; CONNER, 2003; BOSQUEIRO, 2010). A fração “coração” pode ter acréscimo de água pura

para ajuste do teor alcoólico adequado antes de seguir para a maturação (LIMA, 1983; NICOL, 2003; PIGGOTT; CONNER, 2003; DRAGONE et al., 2010 ; OLIVEIRA, 2012).

2.2.1.4 Envelhecimento

O uísque recém destilado apresenta características sensoriais indesejadas, que são sanadas após sua maturação. Ao contrário da aguardente, que pode ser consumida sem passar pelo período de maturação, o uísque só está pronto para o consumo quando passa pela etapa do envelhecimento em barris de carvalho, por períodos que variam de acordo com o tipo de uísque ou da legislação do país produtor. Os uísques puros de malte escocês, por exemplo, devem ser maturados pelo tempo mínimo de três anos (BOOTH et al., 1989).

A maturação do uísque envolve uma série complexa de reações, incluindo aquelas que ocorrem naturalmente no destilado e aquelas que são influenciadas pelo barril (PERRY, 1986; CLYNE et al., 1993). A composição química da madeira de fabricação do barril exerce importante efeito durante a maturação. As principais espécies de carvalho utilizadas para produção dos barris de maturação de uísques são as de carvalho branco americano e de carvalho europeu. Além da espécie de carvalho utilizada, o pré-tratamento da madeira, o tamanho e número de reutilizações do barril e as condições de armazenamento destes durante a maturação são fatores que também interferem na qualidade química e sensorial do uísque (CLYNE et al., 1993; JACK, 2012).

O tamanho do barril é um parâmetro importante na maturação devido à relação entre a área superficial do barril e o volume de destilado. Em barris pequenos essa relação é maior, o que favorece a extração dos componentes da madeira, porém, aumenta a perda de etanol e água por difusão através da superfície porosa do barril e evaporação na atmosfera. Quanto maior a temperatura do depósito dos barris, maior a velocidade de evaporação, porém a umidade determina se a perda será mais significativa para o etanol ou para a água. Em locais com baixa ou moderada umidade, a concentração de etanol do destilado em maturação tende a aumentar, e em locais de alta umidade, a concentração tende a diminuir (DRAGONE et al., 2010).

Os barris de maturação de uísques puros de malte podem ser usados, consertados e reutilizados por tempo indeterminado até que o recipiente não seja mais considerado seguro ou até que ele perca sua capacidade de proporcionar uma melhora sensorial no produto, durante um determinado período de maturação (DRAGONE et al., 2010). Tradicionalmente, os uísques escoceses eram maturados em barris já utilizados para envelhecimento de xerez,

bebida típica da Espanha. Porém, muitas destilarias escocesas passaram a reutilizar também barris de carvalho americano, que foram anteriormente utilizados para envelhecer uísque Bourbon (NISHIMURA; MATSUYAMA, 1989).

Após o período da maturação, as destilarias selecionam uísques de puro malte de diversos barris diferentes para serem misturados, visando minimizar as variações naturais entre os barris e combinar características que distinguem o produto final. Os destilados são posteriormente filtrados a fim de remover compostos que podem causar turvação, depois são diluídos até o teor alcoólico pretendido para finalmente serem engarrafados (JACK, 2012).

2.3 Congêneres em destilados

A composição de uma bebida alcoólica depende da matéria-prima utilizada, da metodologia e da condução do processo de produção. Na fermentação há formação de dois produtos principais: álcool etílico e dióxido de carbono. Além desses, há formação de produtos secundários da fermentação alcoólica ou congêneres, tais como ácidos carboxílicos, ésteres, aldeídos e álcoois superiores, os quais são responsáveis pelas características sensoriais das bebidas alcoólicas. Durante a produção também há formação de produtos indicados como contaminantes de natureza orgânica, tais como carbamato de etila, acroleína e metanol (CARDOSO, 2006).

A concentração de compostos secundários presentes varia de uma bebida para outra. É comum encontrar cachaças comerciais que ultrapassam os níveis permitidos pela legislação. Portanto, é necessária a realização periódica de análises físico-químicas e controle dos métodos de produção por parte dos produtores durante o processo de fabricação (AQUARONE et al., 1983; PIGGOTT et al., 1989).

A Legislação Brasileira estabelece limites críticos (Padrão de Identidade de Qualidade – PIQ) desses compostos na aguardente de cana-de-açúcar e no uísque. Esses limites devem ser atendidos para a comercialização da bebida buscando, assim, a segurança alimentar e inexistência de perigo químico a um produto comercialmente aceito.

2.3.1 Aldeídos

Os aldeídos são compostos normalmente formados pela ação das leveduras durante estágios preliminares do processo de fermentação alcoólica. Estes se formam pela oxidação parcial dos álcoois primários, como etanol (REAZIN, 1981), e geralmente tendem a

desaparecer ao longo da fermentação pela oxidação a ácido acético. Cerca de 90% dos aldeídos presentes nas bebidas destiladas correspondem ao acetaldeído (aldeído acético) (CARDOSO, 2006).

Aldeídos são compostos voláteis, de odor penetrante e podem interferir no aroma das bebidas alcoólicas (NIKANEN, 1986; YOKOYA, 1995; CARDOSO, 2006). Braga (2006) afirma que aldeídos com até oito átomos de carbono possuem aroma penetrante, geralmente enjoativo, indesejável em bebidas destiladas e os aldeídos que contêm acima de dez átomos de carbono apresentam aroma agradável. Os sintomas de ressaca causados pela ingestão de destilados podem estar relacionados com a presença de aldeídos na bebida e uma intoxicação pode causar sérios problemas relacionados ao sistema nervoso central (CARDOSO, 1998).

Grande parte dos aldeídos pode ser eliminada durante a destilação, quando há a separação de frações, pois estes se concentram na fração cabeça, parte removida do produto final. O excesso de aldeídos em aguardentes pode estar associado à oxidação espontânea ou contaminação por bactérias (YOKOYA, 1995).

O furfural e o hidroximetilfurfural (HMF) são aldeídos que também podem ser encontrados nos destilados, sendo originados durante a destilação pela pirogenação de açúcares residuais e matéria seca (bagacilhos) depositada no fundo dos alambiques (CARDOSO, 2006). A presença de furfural e hidroximetilfurfural pode ser evitada pela destilação do vinho limpo, livre de substâncias orgânicas em suspensão (PEREIRA et al., 2003).

2.3.2 Ésteres

Os ésteres formam o maior grupo de compostos responsáveis pelos aromas das bebidas destiladas. São componentes de grande importância, pois conferem aromas característicos mesmo quando presentes em baixas concentrações nos destilados (NYKÄNEN; NYKÄNEN, 1991). São formados por vias de metabolismo secundário das leveduras durante o processo de fermentação, por vias de reação do acetil-CoA e do etanol (NYKANEN, 1986) ou podem ser formados em menores quantidades no processo de envelhecimento da bebida, quando ocorrem reações de esterificação envolvendo álcoois e ácidos carboxílicos (CARDOSO, 2006).

A formação de ésteres nas bebidas destiladas pode ser influenciada por fatores como o tipo e a quantidade de levedura, a temperatura de fermentação, a aeração e a qualidade do mosto (BERRY, 1995; JANZANTTI, 2004). O éster mais abundante em bebidas alcoólicas

destiladas é o acetato de etila (aproximadamente 80% dos ésteres totais), derivado do ácido e do álcool mais abundante, o ácido acético e o etanol. O acetato de etila pode incorporar aroma frutado e agradável à bebida caso esteja presente em concentrações razoáveis, porém pode tornar a bebida “enjoativa” em quantidades excessivas (MAIA, 1994; CARDOSO, 2006).

2.3.3 Acidez volátil

A acidez volátil em bebidas alcoólicas é expressa em concentração de ácido acético, que é o ácido orgânico predominante, sendo responsável por 50% a 90% do total de ácidos voláteis nos destilados. Esse componente é formado principalmente a partir do etanol por meio de reações oxidativas (MUTTON; MUTTON, 2010; NYKANEN, 1986).

No destilado alcoólico é aceitável que haja acidez moderada, pois o ácido acético pode passar por reação de esterificação junto com etanol e formar ésteres que contribuem para a qualidade do produto na composição aromática (CARDOSO, 2006; MAIA, 1994). De acordo com Miranda et al. (2008), quanto menor a acidez, melhor são as características sensoriais da aguardente e maior sua aceitação pelos consumidores.

Na cachaça, a presença de ácidos em níveis elevados pode estar relacionada a fatores como: má qualidade da matéria prima utilizada, ausência de higienização do local de trabalho, inadequado controle da fermentação, tipo de levedura utilizada, condições de tratamento do caldo e contaminação por bactérias na fermentação (Miranda et al., 2008). A aeração do mosto é um fator que contribui para o aumento da acidez, pois na presença de oxigênio, a levedura pode converter o açúcar em ácido acético e, na ausência do mesmo, a levedura produz apenas pequenas quantidades desse ácido. (FARIA, 1989; CARDOSO, 2001; PEREIRA et al., 2003)

2.3.4 Álcoois superiores

A quantidade de álcoois superiores em bebidas destiladas exerce importante influência nas características sensoriais, desempenhando atuante papel nos aromas (RANKINE, 1967; SUOMALAINEN, 1971). Os álcoois superiores são os álcoois com mais de dois átomos de carbono em sua composição e são provenientes do processo metabólico secundário decorrente do crescimento das leveduras, mediante utilização de aminoácidos como fontes de nutrientes. Álcoois superiores correspondem ao álcool n-propílico (3 carbonos em sua estrutura molecular), álcool iso-butílico (4 carbonos em sua estrutura molecular) e álcool isoamílico (5

carbonos em sua estrutura molecular). O aumento do número de carbonos caracteriza álcoois mais viscosos, e caso haja teores excessivos a bebida pode tornar-se enjoativa (YOKOYA, 1995; LEAUTÉ, 1990).

O teor de álcoois superiores produzido pelas leveduras durante a fermentação varia com as condições de fermentação (temperatura, taxa de inoculação, etc.) e com a cepa utilizada (leveduras de alta ou baixa atividade). Além dos fatores relacionados às leveduras, outros fatores como a composição do meio (concentração de açúcares, concentração e tipo de fonte de nitrogênio), aeração do mosto e pH, e método de destilação (alambique ou coluna de destilação) influenciam na concentração de álcoois superiores (VILELA, 2005; CARDOSO, 2006; LEAUTÉ, 1990).

Quando se procede a destilação em colunas contínuas, os álcoois superiores podem ser parcialmente removidos juntamente com a fração cauda, pois o ponto de ebulição dos mesmos é maior que o do etanol (MAIA, 1994; VIDAL et al., 2013). Segundo Amerine, Berg e Cruess (1972) a importância dos álcoois superiores não é apenas por causa dos seus odores característicos, mas também pela sua capacidade como solvente sobre outras substâncias aromáticas, interferindo assim nos graus de volatilidade destas e no perfil sensorial da bebida.

Álcoois com até cinco átomos de carbono apresentam odores característicos e são responsáveis pelo aroma da bebida, destacando-se os álcoois amílico e propílico e seus respectivos isômeros. Quando possuem mais que cinco átomos de carbono, os álcoois tornam-se mais oleosos e seu aroma modifica-se substancialmente, sendo alguns deles parecidos fortemente com aroma de flores. Esse composto quando presente em excesso diminui a qualidade da aguardente, consequentemente reduzindo seu valor comercial (Maia, 1994).

2.3.5 Metanol

O metanol é um álcool indesejável na aguardente de cana. É uma substância danosa à saúde, pois no organismo é oxidado à forma de ácido fórmico e posteriormente a CO₂, provocando acidose grave (diminuição do pH sanguíneo), afetando o sistema respiratório, podendo resultar em cegueira, coma ou até mesmo em morte (WINDHOLZ, 1976; CARDOSO et al., 1999).

Matérias primas vegetais possuem a pectina em sua composição estrutural, que se trata de um polissacarídeo formado por moléculas de ácido galacturônico, que são degradadas a metanol durante o processo de fermentação (CARDOSO, 2006). A presença de bagacilhos da cana no caldo devido a falhas no processo de prensa ou filtragem pode ocasionar a formação

de grandes quantidades desse contaminante no produto final (WINDHOLZ, 1976; CARDOSO et al., 1999). A intoxicação por metanol tem como principais sintomas distúrbios visuais, cefaleia, vômitos e dores abdominais (CARDOSO, 2006).

2.3.6 Cobre

O cobre é encontrado em bebidas destiladas providas de alambiques confeccionados com este material. Sua concentração tem sido um dos principais entraves na exportação de aguardente e cachaça (NÓBREGA et al., 2011). De acordo com a legislação brasileira, o teor de cobre não deve ultrapassar 5 mg/L, porém, a legislação de alguns países não tolera concentrações de cobre acima de 2 mg/L nas bebidas destiladas (NASCIMENTO et al., 1999; CARDOSO et al., 2003).

A contaminação da bebida por íons de cobre é ocasionada principalmente pela falta de limpeza do aparelho de destilação (DANTAS et al., 2007). O acúmulo de cobre nas frações destiladas ocorre devido à incrustação de metal oxidado – conhecido como “azinhavre” ou carbonato básico de cobre – que é dissolvido e carregado junto aos vapores ácidos durante a destilação (YOKOYA, 1995). O “azinhavre” pode ser formado no interior do alambique, mas se forma principalmente nas partes internas da serpentina da resfriadeira (LUCENA, 1959; BIZELLI et al., 2000).

A assepsia de alambiques de cobre antes e depois de cada destilação, e o preenchimento do equipamento com água quando não estiver em uso são maneiras eficazes para impedir a presença desse contaminante nas bebidas destiladas (NASCIMENTO et al. 1998b; AZEVEDO et al., 2003; MACHADO et al., 2013). Quando a bebida destilada apresenta cobre em sua composição, é possível diminuir sua concentração através da filtragem utilizando carvão ativado ou resinas de troca iônica (CARDOSO, 2001; VOLPE, et al., 2013). Também, para atenuar a contaminação, pode ser feita a bidestilação (BIZELLI et al., 2000; MACHADO et al., 2013).

Apesar dos problemas causados pela contaminação da aguardente por íons de cobre, alguns pesquisadores consideram importante sua presença nos alambiques por servirem como catalisadores da desidrogenação de álcoois e aldeídos e agirem na transformação de compostos sulfurados voláteis no destilado. Os compostos sulfurados, representados principalmente por dimetilsulfeto, possuem odor e sabor desagradáveis, e interferem negativamente nas propriedades sensoriais da bebida (FARIA, 1995). Além disso, o cobre do alambique pode contribuir para a eliminação de odores desagradáveis presentes em

aguardentes e cachaças que foram anteriormente destiladas em alambiques fabricados com outros materiais, como o aço inoxidável (CARDOSO, 2001; DANTAS et al., 2007).

2.3.7 Carbamato de etila

O carbamato de etila, também chamado de uretana, é um composto considerado potencialmente carcinogênico que pode ser encontrado em diferentes bebidas alcoólicas e em alguns alimentos fermentados (OUGH, 1976). É um estér etílico do ácido carbâmico, solúvel em água e etanol, com baixa volatilidade em soluções hidroalcoólicas (ponto de ebulição de 184°C) (LACHENMEIER; FRANK; KUBALLA, 2005).

O Canadá foi o primeiro país com legislação específica para esse composto, que serviu como referencial para os Estados Unidos e a Comunidade Européia, e que estabelece o teor máximo deste contaminante equivalente a 150 µg/L em bebidas destiladas (ANDRADE-SOBRINHO et al., 2002). A detecção e o controle do teor de carbamato de etila em bebidas destiladas são essenciais. Concentrações deste contaminante acima do limite constituem um problema de saúde pública e prejudicam as exportações de bebidas alcoólicas destiladas. (ALCARDE; SOUZA; BORTOLETTO, 2012b).

Entre as diversas vias de formação do carbamato de etila em bebidas podem ser mencionadas: a presença de precursores de uretana, tais com uréia, citrulina e fosfatos de n-carbamila; cepas de levedura e subprodutos do seu metabolismo; parâmetros da fermentação, tais como temperatura, teor alcoólico, acidez, pH; sistema de destilação; e luz e tempo de armazenamento após a destilação (RIFFKIN et al., 1989).

O íon cianeto, formado pela degradação enzimática de glicosídeos cianogênicos presentes na matéria-prima, é considerado o principal precursor do carbamato de etila em bebidas destiladas. O carbamato de etila é formado no processo de oxidação de cianeto a cianato, o qual reage com o etanol (ARESTA; BOSCOLO; FRANCO, 2001). Embora os glicosídeos cianogênicos presentes na cana-de-açúcar permaneçam desconhecidos, sabe-se que esta é uma planta cianogênica (JONES, 1998).

A reação de formação do carbamato de etila pode ser catalisada pelo cobre presente no equipamento de destilação (RIFFKIN et al., 1989; ARESTA; BOSCOLO; FRANCO, 2001; ALCARDE; SOUZA; BORTOLETTO, 2012b), bem como a temperatura pode aumentar o teor desse composto no produto final (STEVENS; OUGH, 1993; ALCARDE; SOUZA; BORTOLETTO, 2012b). Como o ponto de ebulição do carbamato de etila é de 184°C, um processo de destilação bem conduzido pode controlar a quantidade deste contaminante.

Ainda, a bidestilação é um processo que pode reduzir o teor de carbamato de etila em bebidas destiladas (ALCARDE; SOUZA; BORTOLETTO, 2012b).

2.4 Compostos de envelhecimento em destilados

O envelhecimento de destilados em barris de madeira envolve diversas reações que promovem mudanças na composição química da bebida influenciando na sua cor, aroma e sabor, podendo aumentar sua complexidade e melhorar sua qualidade sensorial. As numerosas reações que ocorrem durante esse processo são fundamentadas principalmente pela extração de moléculas da madeira e as interações dessas com o líquido destilado (CONNER et al., 1999).

O principal fator para a caracterização de uma bebida destilada é a maturação, pois aproximadamente 60% dos compostos aromáticos presentes na bebida são oriundos da madeira ou da interação da madeira com o destilado, sendo o restante oriundo da matéria-prima e da fermentação (CONNER; REID; JACK, 2003). O envelhecimento altera a bebida reduzindo significativamente seu sabor alcoólico e agressividade e consequentemente melhorando seu aspecto sensorial (CARDELLO; FARIA, 1999; MIRANDA et al., 2008).

As interações físico-químicas entre a madeira e a bebida durante o envelhecimento são numerosas, ocorrendo diversos fenômenos de migração de constituintes não voláteis e voláteis da madeira. A evolução de componentes fenólicos, a oxidação da bebida, a estabilização da cor, do sabor e o surgimento do caráter amadeirado contribuem para a riqueza e a complexidade do buquê aromático e, consequentemente, resultam em um maior valor agregado às bebidas destiladas (MOSEDALE; PUECH, 1998).

As trocas que ocorrem entre os compostos da madeira e da bebida durante o mecanismo de maturação são basicamente comuns a todas as bebidas destiladas e podem ser especificadas em sete categorias: a extração direta de componentes da madeira, a decomposição de macromoléculas provenientes da estrutura da madeira, a reação dos compostos da madeira com os compostos da bebida recém destilada, as interações que envolvem especificamente os componentes extraídos da madeira, as reações que envolvem somente os compostos do destilado, a evaporação de voláteis através dos poros do barril e a formação de moléculas estáveis (PIGGOTT; CONNER, 2003).

No processo de produção de barris para a maturação de bebidas a queima das aduelas é uma etapa importante, pois resulta na degradação de polímeros presentes na estrutura da madeira, destruição de compostos de aroma resinosos ou desagradáveis e na formação de uma

camada de carvão ativo na superfície interna dos barris. Geralmente, com os mesmos objetivos, também é feita a tosta final da madeira e sua intensidade é regulada por parâmetros de tempo e temperatura da chama no interior do barril (CONNER; REID; JACK, 2003).

Os principais componentes estruturais da madeira são a celulose, a hemicelulose e a lignina. Durante a queima das aduelas ocorre a degradação térmica de polissacarídeos (celulose e hemicelulose) produzindo grandes quantidades de furaldeídos, dos quais predomina o furfural, devido à degradação preferencial da hemicelulose (CONNER; REID; JACK, 2003). Segundo Cardoso (2006), a hemicelulose forma o furfural e o 5-hidroxiacetilfurfural (5-HMF) a partir de suas pentoses e hexoses, respectivamente, assim como outros compostos como 2-hidroxiacetilfurano e isoformol. Furfural e 5-hidroxiacetilfurfural são moléculas importantes na composição dos destilados devido a sua influência sensorial, pois contribuem para cor característica dos destilados envelhecidos e conferem à bebida notas aromáticas agradáveis de madeira queimada e amêndoas. Porém, quando presentes em concentrações elevadas podem representar um defeito e tornar a bebida desagradável (PARAZZI et al., 2008).

A lignina presente na madeira é a principal componente responsável pelas transformações químicas que acontecem nas bebidas destiladas durante o processo de maturação (BORTOLETTO; ALCARDE, 2013). Ela é composta por uma estrutura de dois blocos, o siringil e o guaiacil (MASSON; PUECH; MOUTOUNET, 1996; BORTOLETTO; ALCARDE, 2013), que originam dois diferentes grupos de compostos em bebidas maturadas, sendo o sinapaldeído, o siringaldeído e o ácido sirínico componentes originados do grupo siringil e o coniferaldeído, a vanilina e o ácido vanílico componentes gerados pelo grupo guaiacil. (AYLOTT; MACKENZIE, 2010). A degradação térmica da lignina pela queima de aduelas e tosta dos barris contribui para a extração desses compostos e incorporação desses na bebida (BORTOLETTO; ALCARDE, 2013).

Os principais marcadores de envelhecimento são indicados como aldeídos cinâmicos (coniferaldeído e sinapaldeído), aldeídos benzóicos (vanilina e siringaldeído) e ácidos benzóicos (ácidos vanílico e sirínico) (DIAS; MAIA; NELSON, 1998; AYLOTT; MACKENZIE, 2010). A incorporação desses congêneres pela bebida a partir da lignina pode ocorrer pela simples extração de compostos fenólicos presentes na madeira ou a partir da extração da lignina da madeira mediante ação do etanol, formando um composto etanol-lignina, que posteriormente é degradado em compostos fenólicos simples (PUECH, 1981). Ainda, reações de oxidação e hidrólise das ligações éster da lignina contribuem para a formação de aldeídos, os quais, ao serem oxidados, originam seus ácidos correspondentes. A

porosidade da madeira e a formação do *headscape* entre a bebida e o barril permitem a presença do oxigênio durante a maturação (CONNER; REID; JACK, 2003). Assim, a oxidação do sinapaldeído origina o siringaldeído, o qual, por sua vez, pode ser oxidado a ácido sirínico. A oxidação do coniferaldeído forma a vanilina, a qual pode ser oxidada a ácido vanílico (PUECH; JOURET; GOFFINET, 1985).

Os taninos são compostos fenólicos presentes na madeira, solúveis em água e que conferem a sensação de adstringência na bebida, sendo responsáveis pelo escurecimento da cor do destilado durante o envelhecimento (SINGLETON, 1995). São classificados de acordo com sua estrutura em taninos hidrolisáveis e taninos condensados. Os taninos hidrolisáveis contêm um núcleo central de glicose esterificado com ácido gálico ou elágico, e hidrolisam facilmente com ácidos, bases e enzimas. Taninos condensados são polímeros de catequina ou leucoantocianidina e não são facilmente hidrolisáveis por tratamento ácido (QUEIROZ; MORAIS; NASCIMENTO, 2002; ZACARONI, 2009).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição (LAN) da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz, da Universidade de São Paulo (ESALQ/USP).

3.1 Preparo do mosto

O mosto combinado teve como fonte de açúcares o mosto de caldo de cana-de-açúcar e o mosto de malte de cevada, que foram preparados separadamente e depois misturados nas proporções segundo os tratamentos descritos na Tabela 4. Os tratamentos A e E representam, respectivamente, o padrão cachaça e o padrão uísque.

Tabela 4 – Proporções de combinação dos mostos para fermentação da bebida

Tratamentos	Proporção, em volume, de mosto de caldo de cana (%)	Proporção, em volume, de mosto de malte de cevada (%)
A	100	0
B	75	25
C	50	50
D	25	75
E	0	100

3.1.1 Mosto de caldo de cana-de-açúcar

O mosto de caldo de cana foi obtido a partir da moagem de colmos de cana-de-açúcar da variedade SP 83-2847, cultivados nas dependências do LAN. Após a obtenção do caldo, realizou-se a filtração em algodão para retirar impurezas grosseiras, tais como resíduos de terra e bagacilhos. Em seguida o caldo passou por tratamento térmico, sendo mantido por 10 min em fervura (100°C). O líquido tratado foi filtrado novamente em algodão, ajustado para 18° Brix mediante adição de água destilada e resfriado para o início das fermentações.

3.1.2 Mosto de malte de cevada

Malte do tipo pilsen Agromalte da empresa Cooperativa Agrária Agroindustrial constituiu integralmente o mosto de malte de cevada. O preparo foi realizado na microcervejaria da ESALQ/USP (Figura 1). A brassagem foi realizada na proporção de 40 kg de malte moído para 100 litros de água (Figura 2). A rampa de temperatura da mosturação (Tabela 5) foi: 44°C por 10 min, 55°C por 5 min, 65°C por 10 min, 72°C por 10 min e 78°C para filtração do mosto. Após a filtração o mosto foi submetido à fervura por 60 min para ajuste final a 18° Brix. Após resfriamento o mosto de cevada seguiu para a combinação com mosto de caldo de cana segundo os tratamentos descritos na Tabela 4.

Tabela 5 – Faixas de temperaturas (°C) para ativação enzimática em mosto de malte de cevada

Enzima ativa	Faixa de temperatura (°C)	Atividade da enzima
β -glucanase	35-45	Liquefação do amido gelatinizado
Protease	45-55	Quebra de proteínas insolúveis
Peptidase	45-55	Quebra de proteínas solúveis
Dextrinase	60-65	Quebra de dextrinas (açúcares longos)
β -amilase	60-65	Quebra do amido em maltose
α -amilase	60-72	Quebra do amido em açúcares longos

Fonte: Palmer, 2006

Figura 1 – Microcervejaria da ESALQ/USP

Figura 2 – Tinas de mosturação, filtração e fervura para preparo do mosto de cevada

3.2 Fermentação

O processo fermentativo foi conduzido igualmente em todos os tratamentos. Foram adicionadas cepas de leveduras selecionadas para produção de cachaça (*Saccharomyces cerevisiae*, cepa CA-11) e cepas de leveduras selecionadas para produção de cerveja de alta fermentação (*Saccharomyces cerevisiae*, cepa S-33) em proporções iguais, inoculando-se 1,5g/L, em massa seca, de cada levedura. A fermentação foi conduzida a 30°C em fermentador de 50L, com acompanhamento diário da atenuação do Brix do mosto em fermentação.

3.3 Destilação

Triplicatas de cada tratamento foram destiladas em alambique de cobre de 10L (Figura 3). O mosto fermentado (vinho) foi destilado seguindo a metodologia de dupla-destilação utilizada para a produção de *Scotch malt whisky* (PIGGOTT; CONNER, 2003), que corresponde à realização de duas destilações sucessivas, sendo a primeira (Figura 4) para separar praticamente todo álcool do vinho sem corte de frações, originando o flegma. Como o volume de líquido destilado obtido foi de aproximadamente 1/3 do volume total do vinho colocado no alambique, para completar o volume de 10L para a segunda destilação foi necessária a realização de três destilações do mesmo volume de vinho. Na segunda destilação (Figura 5), o flegma foi destilado e procedeu-se a separação das frações “cabeça” (1,5% do volume útil da caldeira), “coração” (destilado recuperado até 60% de etanol na fração à saída do condensador) e “cauda” (destilado recuperado de 60% até o esgotamento do etanol na fração à saída do condensador). O coração foi a fração componente da bebida para a realização das análises físico-químicas.

Figura 3 – Foto (A) e esquema do alambique (B) que foi utilizado para as destilações

Figura 4 – Representação esquemática do modelo da primeira destilação (dos vinhos)

Figura 5 – Representação esquemática do modelo da segunda destilação (dos flegmas)

3.4 Envelhecimento

As bebidas duplamente destiladas foram padronizadas a 55% de etanol (v/v a 20°C) mediante adição de água destilada e acondicionadas em barris de carvalho de 2,5L por 60 dias. Amostras quinzenais foram obtidas para análises físico-químicas.

3.5 Análises físico-químicas

Os mostos foram submetidos às análises de pH, Brix, Pol, Açúcares Redutores (AR), Açúcares Redutores Totais (ART) e Acidez Total; e os vinhos foram analisados quanto a Teor Alcoólico, pH, Açúcares Redutores Residuais (ARR) e Acidez Total, seguindo metodologias descritas por Caldas (2012).

Os flegmas, a fração “coração” da dupla destilação e as bebidas envelhecidas foram submetidas às análises físico-químicas descritas nos itens 3.5.1 a 3.5.3.

3.5.1 Grau alcoólico e cobre

Os destilados foram analisados quanto ao teor de álcool por densitometria (BRASIL, 2005b), em densímetro digital Anton Paar DMA 4500. A concentração de cobre foi determinada mediante uso do colorímetro Hach Copper Pocket Colorimeter para leitura de amostras de 10 mL adicionadas de reagente CuVer®.

3.5.2 Análises cromatográficas

3.5.2.1 Congêneres voláteis por Cromatografia gasosa (GC-FID)

As amostras foram submetidas às análises de concentração de aldeído acético, acetato de etila, metanol, álcoois superiores (propanol, iso-butanol, n-butanol, sec-butanol, isoamílico) e ácido acético. Os padrões empregados foram acetaldeído, acetato de etila, metanol, n-propanol, isobutanol, n-butanol, isoamílico e ácido acético (Merck – Darmstadt, Germany), e n-butanol (Sigma-Aldrich – St. Louis, USA). Todos de grau cromatográfico com pureza >99%. A água utilizada foi destilada e purificada em sistema Milli-Q (Millipore). A metodologia do padrão interno foi empregada para quantificação dos compostos analíticos. As curvas analíticas foram preparadas contendo 5 pontos, nas seguintes faixas de concentração, em mg /100 mL de álcool anidro: acetaldeído (5 a 25), acetato de etila (5 a 150), metanol (1 a 10), 2-butanol (0,5 a 12,5), 1-propanol (30 a 150), iso-butanol (2 a 20), 1-butanol (0,75 a 3,75), isoamílico (50 a 300) e ácido acético (30 a 300) em meio hidroalcoólico (etanol 40% v/v), procurando-se reproduzir as condições da matriz analisada. Utilizou-se a regressão linear, plotando-se a relação área dos picos dos padrões/área do padrão interno versus concentração. Os coeficientes de correlação foram sempre bem próximos à unidade. As amostras e padrões foram previamente filtrados em filtros Millex – HV (Millipore) com membrana de PVDF (Fluoreto de Polivinilideno) de 13 mm de diâmetro e 0,45 µm de poro e injetados diretamente no cromatógrafo, em triplicata. Cada solução padrão foi inicialmente injetada de forma isolada, para identificação do tempo de retenção de cada composto.

As análises foram realizadas em cromatógrafo a gás Shimadzu modelo QP-2010 PLUS, com coluna Stabilwax-DA (Crossbond Carbowax polyethylene glycol, 30 m x 0,18 mm x 0,18 µm) e detector de ionização de chama (FID= Flame ionization detection). As temperaturas do detector e do injetor foram fixadas em 250 °C e o modo de injeção automática com divisão de fluxo (split) de 1:25 com um volume de injeção de 1,0 µL da

amostra, em triplicata. O fluxo do gás de arraste na coluna (H_2) foi de 1,5 mL min⁻¹ com fluxo total de 42 mL min⁻¹ e pressão de 252,3 KPa. A programação da rampa de temperatura da coluna foi: 40 °C (isoterma de 4 min), aumento até 120 °C a uma taxa de 20 °C min⁻¹ (isoterma de 1 min) e aumento a 30°C min⁻¹ até 180°C (isoterma de 4 min) (BORTOLETTO; ALCARDE, 2013).

3.5.2.2 Congêneres de maturação por Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

Esta metodologia foi utilizada para a análise qualitativa e quantitativa dos congêneres de maturação das bebidas envelhecidas. Os padrões empregados nesta análise foram: ácido gálico, 5-hidroximetilfurfural, furfural, vanilina, ácido vanílico, ácido sirínico, siringaldeído, guaiacol, coniferaldeído, cumarina e sinapaldeído, todos adquiridos da Sigma-Aldrich – St. Louis USA, com pureza >99%. Os solventes empregados para fase móvel da cromatografia líquida e para a dissolução dos padrões analíticos foram metanol, ácido acético e etanol anidro em grau analítico HPLC, obtidos da Merck. A água utilizada como solvente da fase móvel foi proveniente de sistema de ultrapurificação Milli-Q. A metodologia do padrão externo foi empregada para quantificação dos compostos analíticos. Soluções estoque de cada padrão analítico foram preparadas em 40% (v/v) de etanol, segundo as concentrações: 1000 mg.L⁻¹ para ácido gálico, 5-hidroximetilfurfural, vanilina e ácido sirínico; 750 mg.L⁻¹ para coniferaldeído; 500 mg.L⁻¹ para sinapaldeído e 250 mg.L⁻¹ para ácido vanílico, cumarina, guaiacol e siringaldeído. A preparação das curvas analíticas foi feita com a diluição das soluções estoque.

As curvas analíticas foram preparadas contendo pontos concentrações em mg.L⁻¹, sendo que de ácido gálico (0,5 a 10); de 5-hidroximetilfurfural, furfural, ácido sirínico, cumarina e guaiacol (0,5 a 15); de furfural (0,5 a 15); de ácido vanílico (0,5 a 20); de vanilina (0,5 a 12,5); de siringaldeído (0,5 a 20); de coniferaldeído (0,5 a 20); e de sinapaldeído (0,5 a 20). As amostras e padrões foram previamente filtrados em filtros Millex – HV (Millipore) com membrana de PVDF de 13 mm de diâmetro e 0,45 µm de poro e injetados diretamente no cromatógrafo, em triplicata. Cada solução padrão foi inicialmente injetada de forma isolada, para identificação do tempo de retenção de cada composto.

As análises foram realizadas em cromatógrafo Shimadzu, modelo LC-10AD, com duas bombas Shimadzu LC-20AD, degasser DGU-20 A3, detector UV-VIS Shimadzu SPD-20A, processador de dados CBM-20A, sistema de injeção automático SIL-10AF e forno de coluna CTO-20A. O método de cromatografia líquida empregado teve duas fases móveis

compostas de água/ácido acético (98:2) e metanol/água/ácido acético (70:28:2), com fluxo total de 1,25 mL/min em gradiente de eluição (Tabela 6). O volume de injeção foi de 20 µL. Foram utilizadas pré-coluna (Shimadzu VP-ODS, 1,0 cm x 4,6 µm) e coluna de fase reversa C-18, modelo Shim-pack VP-ODS, (25 cm x 4,6 mm x 5,0 µm) termostatizadas a 40°C (BORTOLETTO; ALCARDE, 2013).

Tabela 6 – Condições cromatográficas utilizadas em cromatografia líquida de alta eficiência

Tempo (min)	Solvente A	Solvente B	Fluxo (mL/min)	λ (nm)
0	100	0	1,25	271
6	100	0	1,25	280
25	60	40	1,25	276
34	60	40	1,25	320
37	60	40	1,25	320
40	100	0	1,25	271
45	100	0	1,25	271

Solvente A: água:ácido acético 98:2 (v/v%). Solvente B: metanol:água:ácido acético 70:28:2 (v/v%)

Os parâmetros analíticos das análises cromatográficas foram determinados de acordo com a relação linear simples, descrita pela equação $y = ax + b$. A determinação do limite de detecção (LD), do limite de quantificação (LQ), calculados segundo Lanças (2004) e o cálculo dos coeficientes de regressão das curvas analíticas (a , b e r^2), assim como o tempo de retenção obtido para cada composto, são apresentados na Tabela 7.

3.5.2.3 Carbamato de etila por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massa (CG-EM)

A análise de carbamato de etila foi realizada utilizando um cromatógrafo Shimadzu GC 2010, com detector de massas Shimadzu QP-2010 PLUS tendo como fonte de ionização o impacto eletrônico com energia de ionização de 70 eV. Foi utilizada coluna cromatográfica capilar de fase polar (polietilenoglicol esterificada), HP-FFAP (50m x 0,20mm x 0,33µm de espessura do filme da fase estacionária). As temperaturas do injetor e da interface do detector foram 230 e 220°C, respectivamente. A programação de temperatura para o forno foi: início com 90°C, elevação para 150°C a uma taxa de 10°C min⁻¹, seguido de aquecimento para 230 °C a uma taxa de 30°C min⁻¹ na qual permaneceu por 10 min. O volume injetado foi de 1,0µL no modo “splitless” automático. O gás de arraste foi hélio (5.0) com fluxo de 1,2 mL.min⁻¹. O modo de aquisição foi o SIM, monitorando os íons de m/z 62 para carbamato de etila e m/z 75

para carbamato de metila (CLEGG; FRANK, 1988). A quantificação foi realizada através da comparação dos resultados cromatográficos das amostras com uma curva analítica obtida a partir de uma solução estoque de carbamato de etila.

Tabela 7 – Índice de retenção, (IR), Limite de Detecção (LD), e Limite de Quantificação (LQ) de congêneres voláteis e congêneres de maturação, e coeficientes de correlação (a, b, r^2) das curvas de calibração em solução alcoólica (40% v.v⁻¹)

Congeneres voláteis	IR (min)	LD	LQ	A	b	r^2
		(mg/100mL etanol)	(mg/100mL etanol)			
Acetaldeído	0,29	0,080	0,266	0,8096	-0,0652	0,998
Acetato de etila	1,41	0,044	0,144	0,0372	0,0905	0,994
Propanol	4,43	0,054	0,176	0,2317	0,0099	0,999
Isobutanol	5,22	0,029	0,098	0,0206	0,0037	0,999
Álcool isoamílico	6,72	0,015	0,044	0,1766	0,0145	0,999
Ácido acético	9,15	0,580	1,740	0,6238	0,1111	0,994

Congêneres contaminantes	TR (min)	LR	LQ	A	b	r^2
		(mg/100mL etanol anidro)	(mg/100mL etanol anidro)			
Metanol	1,62	0,159	0,534	0,7847	0,0486	0,965
1-butanol	5,99	0,061	0,200	0,2036	0,1331	0,997
2-butanol	4,02	0,215	0,710	0,2667	0,0024	0,999
Carbamato de etila	10,15	0,180 ^a	0,550 ^a	64,714	1241,67	0,9984

Congêneres de Maturação	TR (min)	LD	LQ	A	b	r^2
		(mg/100mL etanol anidro)	(mg/100mL etanol anidro)			
Ácido gálico	3,98	0,032	0,098	1821,48	55,92	0,991
5-HMF	9,52	0,015	0,049	6071,74	89,23	0,997
Furfural	11,70	0,012	0,041	5780,22	1032,35	0,997
Ácido vanílico	21,62	0,051	0,171	1260,59	258,17	0,998
Ácido sirínico	24,20	0,027	0,090	2429,59	-104,75	0,998
Vanilina	24,68	0,022	0,073	3108,58	-87,67	0,999
Siringaldeído	26,76	0,051	0,171	1080,26	342,27	0,994
Guaiacol	26,91	0,031	0,310	566,552	108,14	0,995
Coniferaldeído	32,39	0,020	0,068	4545,65	148,97	0,998
Cumarina	32,90	0,026	0,260	1813,63	-484,97	0,9991
Sinapaldeído	33,45	0,029	0,098	3218,26	102,24	0,993

^aµg/L

3.5.3 Cor e fenólicos

A intensidade de cor das bebidas foi determinada em espectrofotômetro Spekol 1300 (Analytikjena), mediante leitura de absorbância a 420 nm. Compostos fenólicos totais foram analisados espectrofotometricamente a 765 nm, após reação com o reagente de Folin-Ciocalteau (AMERINE; OUGH, 1980). O ácido gálico foi utilizado como padrão para a construção da curva de calibração em solução de 40% (v/v) de etanol. A concentração de compostos fenólicos totais foi expressa em mg-equivalente em ácido gálico por 100 mL de amostra.

3.6 Análise sensorial

Os testes sensoriais foram realizados ao final do experimento para comparação dos destilados obtidos. As amostras das bebidas envelhecidas foram diluídas com água potável e padronizadas a 40% (v/v) de teor alcoólico.

3.6.1 Teste de ordenação-preferência

Essa análise sensorial foi baseada em teste de ordenação - preferência (INSTITUTO ADOLFO LUTZ - IAL, 2008), onde cinco amostras (uma de cada tratamento) foram apresentadas para que fossem ordenadas de acordo com a preferência do julgador, em relação aos atributos cor, aroma, sabor e impressão global (Apêndice A). Uma equipe formada de 50 pessoas de ambos os sexos e apreciadores de cachaça e uísque, composta por professores, alunos e funcionários do campus da ESALQ foi o painel de provadores. Os testes foram realizados em cabines individuais do Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição – ESALQ/USP.

Para a seleção de provadores, uma ficha de recrutamento foi entregue antes das amostras. Foram dispensados os indivíduos que declararam idade abaixo de 18 anos e acima de 60 anos, peso abaixo de 60kg, portadores de doenças crônicas, gravidez ou em estado de amamentação, que faziam uso de algum medicamento e os que não apreciavam esse tipo de bebida ou que a consumiam em excesso (Apêndice B). Devido ao grande número de amostras (cinco tratamentos) a ordem de apresentação foi feita através de blocos casualizados, onde cada provador recebeu uma sequência de cinco amostras previamente filtradas, sendo 10 ml de cada tratamento em copos apropriados para cachaça, previamente codificados com

números aleatórios de três dígitos. Os resultados foram interpretados por meio da tabela para o Teste de Ordenação de Newell e Mac Farlane, que define o valor das diferenças críticas entre os totais de ordenação ao nível de significância 5%.

O projeto de pesquisa, com o Protocolo n° 141, foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da ESALQ/USP (COET/ 190) – Parecer disponível no anexo A.

3.6.2 Teste sensorial descritivo

Para está análise sensorial foi aplicado o teste descritivo de acordo com a metodologia de Perfil Flash (DAIROU; SIEFFERMANN, 2002), utilizando escala de intensidade não estruturada (Apêndice C). A equipe foi composta por 16 provadores treinados (13 homens e 3 mulheres) e consumidores de cachaça e uísque. Nessa análise foi solicitado aos provadores marcarem na escala a intensidade dos atributos “aroma amadeirado”, “aroma adocicado”, “gosto doce”, “gosto ácido”, “gosto amargo”, “intensidade de retrogosto”, “adstringência” e “aveludado”. Os provadores analisaram as bebidas em três sessões, realizadas em dias diferentes.

3.7 Análise estatística dos resultados

Os resultados foram analisados estatisticamente por análise de variância (ANOVA) e Testes de Tukey, dentro de um delineamento experimental em blocos casualizados, com três repetições (PIMENTEL-GOMES, GARCIA, 2002). Todas as análises estatísticas foram realizadas pelo programa SAS (STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM, 1996).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização dos mostos

O caldo de cana-de-açúcar apresentou pH 5,00 e o mosto de malte de cevada apresentou pH 5,47 (Tabela 8). A acidez total em g H₂SO₄/L foi semelhante no caldo de cana e no mosto de cevada maltada, com 0,90 e 0,87, respectivamente.

O mosto de caldo de cana apresentou concentração de açúcares redutores de 0,97 g/100mL e o mosto de malte, 14,75 g/100mL. As concentrações de açúcares redutores totais (ART) foram 17,36 g/100mL no caldo de cana e 15,25 g/100mL no mosto de cevada maltada.

Tabela 8 – Valores de pH, Brix, Pol, açúcares redutores (AR), açúcares redutores totais (ART) e acidez total nos mostos de caldo de cana-de-açúcar e de malte de cevada

Mostos	pH	Brix	Pol	AR (g/ 100mL)	ART (g/ 100mL)	Acidez total (g H ₂ SO ₄ /L)
Caldo de cana	5,00	18,1	16,37	0,97	17,36	0,90
Malte de cevada	5,47	18,0	-	14,75	15,25	0,87

4.2 Caracterização dos vinhos

Ao final das fermentações, o vinho que apresentou o maior teor alcoólico foi o A, com 10,77 % (v/v), seguido do tratamento B, 9,34 % (v/v) (Tabela 9). O tratamento D foi o que apresentou menor teor alcoólico ao final das fermentações, com 5,85 % (v/v). Os tratamentos C e E obtiveram concentrações alcoólicas próximas, 6,44 e 6,17 % (v/v), respectivamente. Em fermentações para produção de uísque puro de malte, a densidade do meio diminui e a concentração máxima de etanol ao final do processo fica entre 7 e 10% (v/v). O pH do mosto também é reduzido ao final desse processo (5 – 5,5 para 4 – 4,5) em decorrência da produção de ácidos orgânicos, tal como o ácido acético (DRAGONE et al., 2010). Todos os tratamentos apresentaram redução de pH e aumento na acidez total após a fermentação. A maior diminuição no pH ocorreu no tratamento C (pH 3,76), que também apresentou maior aumento na acidez total ao final da fermentação (6,84 g H₂SO₄/L).

Tabela 9 – Teor alcoólico, pH, Açúcares redutores residuais (ARR) e Acidez total nos vinhos dos cinco tratamentos

Vinhos (Tratamentos)	Teor alcoólico % (v/v)	pH	ARR (g/100mL)	Acidez total (g H₂SO₄/L)
A	10,77	4,05	0,12	5,71
B	9,34	4,07	1,19	3,38
C	6,44	3,76	2,27	6,84
D	5,85	3,91	2,13	3,23
E	6,17	4,47	2,92	3,59

4.3 Caracterização dos destilados

4.3.1 Flegmas

Na Tabela 10 apresentam-se as concentrações de etanol, de congêneres voláteis e de contaminantes nos flegmas dos cinco tratamentos e a média geral.

Tabela 10 – Médias comparadas de teor alcoólico (% v/v), congêneres voláteis (mg.100mL⁻¹ AA), metanol (mg.100mL⁻¹ AA), 1-butanol (mg.100mL⁻¹ AA), carbamato de etila (µg.L⁻¹) e cobre (mg.L⁻¹) nos flegmas dos cinco tratamentos oriundos das destilações dos mostos combinados fermentados

Tratamento		A	B	C	D	E	Média
Teor Alcoólico		33,92 ^a ± 1,90	29,19 ^b ± 0,78	23,75 ^c ± 0,15	22,41 ^c ± 0,70	23,71 ^c ± 1,31	26,60
Congêneres Voláteis	Acetaldeído	10,35 ^c ± 1,12	16,70 ^c ± 2,48	29,92 ^b ± 1,36	11,12 ^c ± 1,43	47,21 ^a ± 10,37	23,06
	Acetato de Etila	19,56 ^b ± 5,09	21,41 ^b ± 0,31	20,52 ^b ± 0,85	24,13 ^b ± 1,76	40,33 ^a ± 5,35	25,19
	1-Propanol	13,47 ^c ± 2,25	21,04 ^d ± 0,14	29,24 ^c ± 0,06	49,94 ^b ± 0,37	60,46 ^a ± 1,00	34,83
	Iso-Butanol	61,41 ^c ± 10,73	64,93 ^c ± 0,74	56,12 ^c ± 0,66	108,15 ^a ± 1,38	85,57 ^b ± 1,65	75,24
	Isoamílico	216,74 ^c ± 36,34	262,85 ^b ± 3,03	166,14 ^d ± 1,85	337,81 ^a ± 3,52	272,92 ^b ± 5,16	251,29
	Ácido Acético	27,41 ^c ± 3,61	71,10 ^a ± 2,35	67,54 ^a ± 2,29	54,67 ^b ± 4,40	31,79 ^c ± 3,54	50,50
	Furfural	0,11 ^c ± 0,02	0,35 ^{bc} ± 0,04	1,27 ^a ± 0,19	0,45 ^b ± 0,03	0,33 ^{bc} ± 0,18	0,50
	Álcoois superiores	291,62 ^{cd} ± 49,32	348,82 ^{cd} ± 3,91	251,50 ^d ± 2,26	495,91 ^a ± 5,26	418,95 ^b ± 7,80	361,36
Coefficiente de congêneres		349,05 ^c ± 59,10	458,38 ^b ± 5,46	370,76 ^c ± 3,92	586,28 ^a ± 3,71	538,61 ^a ± 18,38	460,61
Contaminantes	Metanol	1,89 ^c ± 0,43	1,65 ^c ± 0,08	2,56 ^b ± 0,05	3,83 ^a ± 0,07	2,18 ^{bc} ± 0,25	2,42
	1-Butanol	<LD	<LD	<LD	0,60 ^b ± 0,00	0,75 ^a ± 0,01	0,68
	Carbamato de etila	164,69 ^a ± 4,33	165,79 ^a ± 3,71	75,17 ^b ± 0,58	73,40 ^b ± 3,13	39,80 ^b ± 2,89	103,77
	Cobre	5,73 ^c ± 2,92	12,97 ^b ± 2,65	25,25 ^a ± 1,59	10,53 ^{bc} ± 0,51	6,70 ^c ± 0,85	12,24

Médias seguidas por letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

4.3.1.1 Congêneres voláteis

4.3.1.1.1 Aldeídos

Os flegmas dos tratamentos C e E apresentaram quantidade de acetaldeído equivalente a 29,9 mg/100mL AA e 47,2 mg/ 100mL AA, respectivamente (Tabela 10). Os tratamentos A, B e D produziram teores inferiores aos citados acima, atingindo valor máximo de 16,7 mg/100mL AA de acetaldeído para o tratamento B. O flegma do tratamento A (equivalente à aguardente de cana-de-açúcar) apresentou concentração média de 10,4 mg/100mL AA de acetaldeído. Alcarde et al. (2009) e Alcarde, Souza e Belluco (2011) aplicaram a metodologia de destilação de uísque na produção de aguardente de cana e obtiveram flegmas com teor médio de acetaldeído equivalente a 20,6 mg/100mL AA.

4.3.1.1.2 Ésteres

Houve uma tendência de maior teor de acetato de etila nos flegmas oriundos de mostos combinados com maior proporção de malte. Os tratamentos D e E apresentaram concentrações de 24,1 e 40,3 mg/100mL AA respectivamente (Tabela 10). Essas concentrações maiores podem estar relacionadas à maior complexidade do mosto de malte de cevada e à maior quantidade de lipídeos e ácidos graxos presentes nos grãos que passam pelo processo de esterificação (FARIA et al., 2003). Alcarde, Souza e Belluco (2011) em destilação de vinho fermentado de caldo de cana segundo metodologia de destilação de uísque, obtiveram teor médio de acetato de etila de 20,8 mg/100mL AA nos flegmas, não muito inferior ao teor médio de 25,2 mg/100mL AA dos flegmas dos tratamentos deste trabalho.

4.3.1.1.3 Acidez volátil

Os flegmas dos tratamentos A e E apresentaram teor de ácido acético equivalentes a 27,4 e 31,8 mg/100mL AA, respectivamente (Tabela 10), inferiores à média obtida por Alcarde et al. (2009) na destilação de aguardente pela metodologia de destilação de uísque (44,6 mg/100mL AA). Entretanto, os tratamentos B, C e D obtiveram concentrações superiores a essas, com 71,1, 67,5 e 54, 7 mg/100mL AA, respectivamente.

4.3.1.1.4 Álcoois superiores

Observou-se aumento do 1-propanol nos flegmas conforme aumento da proporção de mosto de malte de cevada na composição do mosto combinado. Segundo Äyräpää (1971), esse aumento ocorre devido a maior concentração de fontes nitrogenadas (aminoácidos) oriundas do processo de mosturação. Assim, a concentração de 1-propanol teve mínimo de $13,5 \text{ mg.100mL}^{-1}$ AA para o tratamento A, alcançando $60,5 \text{ mg.100mL}^{-1}$ AA para o tratamento E (Tabela 10). Ainda, de acordo com Äyräpää (1971), o tipo de açúcar presente no mosto também influencia na formação de 1-propanol, de forma que a maior quantidade de maltose proporciona maior quantidade deste álcool superior no fermentado. Para o iso-butanol, os flegmas dos tratamentos D e E apresentaram os maiores teores, 108,2 e 85,6 mg.100mL^{-1} AA, respectivamente (Tabela 10). O álcool isoamílico também apresentou-se em maior concentração nos flegmas dos tratamentos D e E, 337,8 e 272,9 mg.100mL^{-1} AA, respectivamente.

Assim, o teor de álcoois superiores foi maior quanto maior a proporção de mosto de malte de cevada na combinação e alcançou valores máximos de 495,9 e 418,9 mg.100mL^{-1} AA nas combinações dos tratamentos D e E (Tabela 10). Alcarde, Souza e Belluco (2011) em destilação de aguardente seguindo metodologia de destilação de uísque alcançaram níveis de álcoois superiores maiores nos flegmas, atingindo $548,2 \text{ mg.100mL}^{-1}$ AA. Devido à natureza e afinidade dos álcoois superiores ao etanol, a separação destes compostos do líquido em destilação somente é possível quando se utiliza coluna de destilação. A quantidade desses compostos não pode ser efetivamente controlada por separação de frações na destilação em alambiques (ALCARDE et al., 2010).

4.3.1.1.5 Coeficiente de congêneres voláteis

Os flegmas dos tratamentos B, C e D apresentaram coeficiente de congêneres entre 458,4 e 586,28 mg.100mL^{-1} AA (Tabela 10). O tratamento A apresentou coeficiente de congêneres equivalente a 349,0 mg.100mL^{-1} AA. Todos os valores médios observados para coeficientes de congêneres foram inferiores ao valor médio de 630,1 mg.100mL^{-1} AA obtido por Alcarde, Souza e Belluco (2011) no flegma pela destilação de aguardente seguindo metodologia de destilação de uísque. O valor médio do coeficiente de congêneres para todos os tratamentos foi de 460,6 mg.100mL^{-1} AA, inferior ao valor médio obtido por Alcarde et al. (2009), 556,5 mg.100mL^{-1} AA, em flegma na destilação de caldo de cana fermentado.

4.3.1.2 Contaminantes

4.3.1.2.1 Metanol

Em todos os tratamentos o metanol atingiu concentração inferior a 4 mg.100mL⁻¹AA (Tabela 10), indicando que a separação da fração “cabeça” da bidestilação não necessita ser prolongada de forma a eliminar este contaminante para que não seja excessivo (acima de 20 mg.100mL⁻¹ de AA) na bebida final e danoso à saúde humana.

4.3.1.2.2 Cobre

As concentrações de cobre foram relativamente altas nos flegmas (Tabela 10). No entanto, esses destilados não correspondem à bebida final e, mediante a técnica de corte adequado da fração “cauda” na segunda destilação e o processo de maturação, os teores são reduzidos no destilado final, conforme veremos mais adiante. Segundo Boza e Horii (2001), o teor de cobre de um destilado pode estar relacionado à sua acidez, pois o ácido acético solubiliza o cobre metálico oxidado (azinhavre) do alambique e o arrasta ao destilado. O maior arraste de cobre esteve relacionado aos flegmas vindos de mostos combinados de caldo de cana e mosto de malte de cevada, sendo o tratamento C o que apresentou maior teor de cobre, seguido dos tratamentos B e D. Os flegmas dos tratamentos B, C e D foram aqueles que apresentaram a maior acidez.

4.3.1.2.3 Carbamato de etila

Os flegmas provenientes de mostos com maior quantidade de caldo de cana apresentaram mais altos teores de carbamato de etila. Essas altas concentrações podem ser decorrentes da presença de compostos cianogênicos da cana-de-açúcar (ALCARDE et al., 2009). Os tratamentos com predominância de mosto de malte de cevada originaram flegmas com os menores teores de carbamato de etila. O tratamento B apresentou o maior teor desse composto dentre os tratamentos, atingindo 165,8 µg.L⁻¹ e o tratamento E apresentou flegma com o menor teor do contaminante, 39,8 µg.L⁻¹ (Tabela 10).

4.3.2 Bidestilado (fração “coração” da bidestilação)

A partir dos resultados obtidos pelas análises físico-químicas, as comparações foram realizadas com base na composição química da bebida descrita pela legislação brasileira de aguardente de cana-de-açúcar (Tabelas 1 e 2) e de uísque (Tabela 3).

Na Tabela 11 apresentam-se as concentrações de etanol, de congêneres voláteis e de contaminantes nos bidestilados dos cinco tratamentos, a média total e os limites estabelecidos pela legislação vigente.

Tabela 11 – Médias comparadas de teor alcoólico (% v/v), congêneres voláteis (mg.100mL⁻¹ AA), metanol (mg.100mL⁻¹ AA), 1-butanol (mg.100mL⁻¹ AA), carbamato de etila (µg.L⁻¹) e cobre (mg.L⁻¹) nos bdestilados dos cinco tratamentos de mostos combinados fermentados

Tratamento		A	B	C	D	E	Média	Legislação Aguardente	Legislação Uísque
Teor Alcoólico		70,31 ^a ± 0,27	69,43 ^a ± 0,39	65,72 ^c ± 0,68	67,23 ^b ± 0,51	67,00 ^{bc} ± 0,66	67,94	38 – 54*	38 – 54*
Congêneres Voláteis	Acetaldeído	3,17 ^d ± 0,17	7,46 ^c ± 0,21	10,24 ^b ± 1,37	6,67 ^c ± 0,11	22,73 ^a ± 0,97	10,05	máx. 30	máx. 20
	Acetato de Etila	23,52 ^{dc} ± 0,60	24,27 ^c ± 0,57	21,74 ^d ± 0,87	30,42 ^b ± 0,43	50,32 ^a ± 0,81	30,05	máx. 200	máx. 150
	1-Propanol	16,51 ^c ± 0,21	23,82 ^{bc} ± 0,67	34,72 ^{ab} ± 1,35	60,23 ^a ± 0,52	70,55 ^a ± 1,08	41,17		
	Iso-Butanol	84,01 ^c ± 0,12	82,62 ^c ± 0,40	74,64 ^d ± 1,09	156,87 ^a ± 1,06	117,01 ^b ± 0,77	103,03		
	Isoamílico	294,65 ^d ± 1,77	331,45 ^c ± 0,71	224,19 ^e ± 0,54	486,99 ^a ± 1,38	372,20 ^b ± 0,57	341,9		
	Ácido Acético	8,00 ^{bc} ± 0,12	9,51 ^b ± 0,19	22,42 ^a ± 0,96	7,95 ^{bc} ± 1,02	7,76 ^c ± 0,12	11,13	máx. 150	máx. 150
	Furfural	ND	ND	0,36 ^a ± 0,10	0,34 ^a ± 0,04	0,37 ^a ± 0,04	0,36	máx. 5	máx. 5
	Álcoois superiores	395,17 ^d ± 0,46	437,89 ^c ± 0,63	333,55 ^e ± 1,92	704,13 ^a ± 1,26	559,76 ^b ± 1,00	486,1	máx. 360	máx. 300
Contaminantes	Coefficiente de congêneres	429,85 ^d ± 0,86	479,13 ^c ± 0,33	387,94 ^e ± 1,82	749,13 ^a ± 0,59	640,57 ^b ± 1,40	537,32	máx. 650	> 350
	Metanol	ND	ND	2,69 ^b ± 0,26	3,88 ^a ± 0,40	ND	3,29	máx. 20	
	1-Butanol	0,18 ^b ± 0,08	0,40 ^b ± 0,17	0,40 ^b ± 0,09	0,80 ^a ± 0,10	0,98 ^a ± 0,22	0,55	máx. 3	
	Carbamato de etila	34,53 ^a ± 0,31	29,04 ^b ± 0,50	11,56 ^d ± 1,04	13,48 ^c ± 0,72	ND	22,15	máx. 210	
	Cobre	1,10 ^c ± 0,04	2,82 ^b ± 0,37	9,36 ^a ± 0,46	2,68 ^b ± 0,63	1,24 ^c ± 0,17	3,44	máx. 5	máx. 5

Médias seguidas por letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

* de acordo com a legislação, a bebida pode ser elaborada a partir de destilado alcoólico simples, cuja graduação varia entre 54 e 70% (v/v)

4.3.2.1 Congêneres voláteis

4.3.2.1.1 Aldeídos

A separação adequada das frações “cabeça”, “coração” e “cauda” dos flegmas durante a bidestilação foi decisiva para a diminuição do teor de acetaldeído dos bidestilados em todos os tratamentos (Figura 6B), atingindo níveis aceitáveis para a legislação de aguardente de cana ($30 \text{ mg.100mL}^{-1} \text{ AA}$). O bidestilado originado do mosto puro de malte fermentado atingiu $22,7 \text{ mg.100mL}^{-1} \text{ AA}$ e não se enquadrou nos $20 \text{ mg.100mL}^{-1} \text{ AA}$ prescritos pela legislação brasileira para uísque (Tabela 11).

Os bidestilados oriundos dos mostos de misturas de caldo de cana e mosto de cevada maltada podem ser inclusos tanto na legislação de uísque como na legislação de cachaça (Tabela 11), apresentando valor máximo de $10,2 \text{ mg.100mL}^{-1} \text{ AA}$ no tratamento C. Alcarde et al. (2009) obteve valor médio de $9,83 \text{ mg.100mL}^{-1} \text{ AA}$ de acetaldeído para aguardente destilada segundo metodologia de uísque. O bidestilado do tratamento A apresentou o menor teor de acetaldeído ($3,2 \text{ mg.100mL}^{-1} \text{ AA}$).

4.3.2.1.2 Ésteres

Com relação aos teores encontrados nos flegmas, observou-se ligeiro aumento nos teores de acetato de etila para todos os tratamentos, de forma que os tratamentos em cuja composição predominava mosto de malte de cevada finalizaram em bebidas com mais ésteres (Tabela 11). Todos os bidestilados enquadraram-se para as legislações de uísque (máximo $150 \text{ mg.100mL}^{-1} \text{ AA}$) e cachaça (máximo $200 \text{ mg.100mL}^{-1} \text{ AA}$). Observou-se variação de 21,7 a $50,3 \text{ mg.100mL}^{-1} \text{ AA}$ nos bidestilados que continham mosto de malte de cevada na sua elaboração.

4.3.2.1.3 Acidez volátil

O processo de bidestilação mostrou-se uma ferramenta eficiente na redução da acidez volátil dos bidestilados. A técnica de separação em frações é essencial para controlar a quantidade deste ácido, que se concentra principalmente na segunda metade da fração “coração” e ao longo da fração “cauda” durante a obtenção do destilado. Tal fato se deve à

temperatura de ebulição de 118°C do ácido acético e sua maior hidrofilia, o que conduz a um maior arraste junto aos vapores que apresentam menor teor alcoólico (CARDOSO, 2006).

Com relação aos flegmas, houve redução média de 78% nos teores de ácido acético nos bidestilados, as quais apresentaram de 7,8 a 9,5 mg.100mL⁻¹ AA do componente. Os tratamentos com maior proporção de malte na composição originaram bidestilados com os valores mais baixos de acidez (Tabela 11). Redução na acidez volátil pelo processo de bidestilação de aguardente devido ao fracionamento adequado também foi verificado por Cavalcanti (2009) e Alcarde, Souza e Belluco (2011).

4.3.2.1.4 Álcoois superiores

A técnica da bidestilação em alambique não permite controle eficiente do teor de álcoois superiores por fracionamento devido à sua afinidade pelo etanol e, conseqüentemente, o arraste desses compostos juntamente com os vapores ricos em álcool ao longo da destilação. O sistema de destilação em coluna seria uma técnica que permitiria redução do teor dos álcoois 1-propanol, iso-butanol e isoamílico. Assim, na obtenção dos bidestilados, observou-se aumento do teor de álcoois superiores (Tabela 11), principalmente pelo aumento do álcool isoamílico, quando comparado aos respectivos flegmas. O tratamento que continha apenas mosto de malte de cevada (E) apresentou valor médio de álcoois superiores equivalente a 559,8 mg.100mL⁻¹ AA. Com utilização da técnica de destilação de uísque para produção de aguardente de cana-de-açúcar, Alcarde, Souza e Belluco (2011) obtiveram valor médio de 401,9 mg.100mL⁻¹ AA, enquanto no presente estudo o tratamento A (correspondente à aguardente de cana) atingiu 395,2 mg.100mL⁻¹ de AA. O bidestilado do tratamento D apresentou o maior teor de álcoois superiores, atingindo 704,1 mg.100mL⁻¹ AA (Tabela 11). O bidestilado do tratamento C (333,5 mg.100mL⁻¹ AA) foi o único que se enquadraria na legislação brasileira de aguardente (máximo 360 mg.100mL⁻¹ AA).

4.3.2.1.5 Coeficiente de congêneres voláteis

O coeficiente de congêneres dos bidestilados, por compreender a soma de acidez volátil, aldeídos, ésteres totais, furfural e hidroximetilfurfural e álcoois superiores, apresentou aumento em relação aos respectivos flegmas, motivado pelo aumento dos álcoois superiores. No entanto, o bidestilado do tratamento D (coeficiente de congêneres equivalente a 749,1

mg.100mL⁻¹ AA) seria o único que não se enquadraria no intervalo de concentração definido pela legislação brasileira de aguardente (200-650 mg.100mL⁻¹ AA) (Tabela 11).

4.3.2.2 Contaminantes

4.3.2.2.1 Metanol

Os teores de metanol nos bidestilados de cada tratamento foram inferiores ao teor máximo de 20 mg.100mL⁻¹ AA determinado na legislação brasileira. Os bidestilados dos tratamentos A, B e E apresentaram teores não detectáveis de metanol. Os tratamentos C e D não apresentaram redução da concentração de metanol após a bidestilação, mantendo-se com resultados próximos aos dos respectivos flegmas.

4.3.2.2.2 Cobre

Com o emprego da técnica de dupla destilação, observou-se a redução do teor de cobre de todos os tratamentos (Tabela 11). A média de redução foi de 72%, aproximadamente, sendo a maior redução do teor de cobre pertencente ao tratamento E (81%) e a menor redução ao tratamento C (63%).

Os tratamentos A, B, D e E originaram bidestilados com concentração de cobre inferior ao estabelecido pela legislação (Tabela 11) mesmo sem considerar a diluição para atingir a graduação alcoólica exigida pela legislação. No entanto, o tratamento C, cujo flegma foi o que apresentou o maior teor de cobre, 25,2 mg.L⁻¹, foi o que apresentou menor redução do contaminante (63%), originando o bidestilado com a maior concentração do metal (9,4 mg.L⁻¹), o que resultaria, após diluição com água, numa bebida com aproximadamente 5,4 mg.L⁻¹ de cobre. Na destilação de aguardente seguindo metodologia de destilação de uísque, Alcarde et al. (2009) observou-se redução de 2,8 vezes na quantidade de cobre do destilado final em relação ao respectivo flegma. O trabalho de Souza et al. (2009) quantificou teores de minerais em cachaças da região do norte do Rio de Janeiro, dentre eles o cobre, e obteve valores entre 1,71 e 11,94 mg.L⁻¹, média equivalente a 5,34 mg.L⁻¹, acima, portanto, do valor limítrofe superior determinado pela legislação.

4.3.2.2.3 Carbamato de etila

Os teores de carbamato de etila dos bidestilados apresentaram redução em comparação aos flegmas, ratificando a eficiência da dupla destilação como técnica para redução desse composto na bebida. Tal fato pode ser explicado pelo comportamento dos precursores do carbamato de etila durante a bidestilação utilizando metodologia de destilação de uísque. No trabalho de Alcarde, Souza e Bortoletto (2012a) com destilação de aguardente de cana-de-açúcar verificou-se que, diferentemente da formação preferencial do carbamato de etila nas primeiras frações (de maior teor alcoólico) de monodestilado (RIFFKIN et al., 1989), durante a bidestilação o conteúdo de carbamato de etila aumenta nas frações finais (de menor teor alcoólico) do destilado.

Mesmo sem diluição dos bidestilados para adequação do grau alcoólico à legislação de aguardente e/ou uísque, os níveis de carbamato de etila mostraram-se inferiores ao teor limítrofe superior prescrito na legislação ($210 \mu\text{g.L}^{-1}$) e variaram entre 11,6 e $34,5 \mu\text{g.L}^{-1}$. O bidestilado do tratamento E apresentou a maior redução, atingindo quantidade não detectável (abaixo de $1,0 \mu\text{g.L}^{-1}$). Os demais tratamentos apresentaram média de 82% de eliminação do carbamato de etila, utilizando alambique “cabeça fria”. Para mesmo tipo de alambique, porém bidestilando aguardentes com 41% (v/v) de etanol, Alcarde, Souza e Bortoletto (2012b) observaram redução de cerca de 96% do carbamato de etila, contudo o maior teor alcoólico inicial do flegma pode aumentar a eficiência da técnica (GALINARO; FRANCO, 2011). Em trabalho de Silvello, Bortoletto e Alcarde (2014) observou-se redução de carbamato de etila por meio da dupla destilação de aguardente de cana-de-açúcar, passando da concentração de $87,6 \mu\text{g.L}^{-1}$ no monodestilado para $11,4 \mu\text{g.L}^{-1}$ no bidestilado final.

4.3.3 Destilados envelhecidos

Os bidestilados de todos os tratamentos foram diluídos com água destilada até que atingissem 55% de etanol (v/v a 20°C), uma vez que este teor alcoólico é o mais utilizado e tem maior eficiência de extração dos compostos desejáveis da madeira e maior solubilidade destes, obtendo uma bebida de melhor qualidade (SINGLETON; DRAPER, 1961; PUECH, 1984; PUECH, 1987; SINGLETON, 1995; GIMÉNEZ MARTÍNEZ et al., 2001). Em seguida foram acondicionados em barris de carvalho de volume de 2,5L, nos quais permaneceram por 60 dias.

A Tabela 12 apresenta as concentrações de etanol, de congêneres voláteis e de contaminantes nos bidestilados envelhecidos dos cinco tratamentos, a média total e os limites estabelecidos pela legislação vigente.

Tabela 12 – Médias comparadas de teor alcoólico (% v/v), congêneres voláteis (mg.100mL⁻¹ AA), metanol (mg.100mL⁻¹ AA), 1-butanol (mg.100mL⁻¹ AA), carbamato de etila (µg.L⁻¹) e cobre (mg.L⁻¹) nos bidestilados envelhecidos por 2 meses em barris de 2,5L.

Tratamento		A	B	C	D	E	Média	Legislação Aguardente	Legislação Uísque
Teor Alcoólico		53,23 ^a ± 0,59	52,73 ^a ± 1,01	53,05 ^a ± 0,23	53,10 ^a ± 0,11	54,04 ^a ± 0,12	53,23	38 - 54	38 - 54
Congêneres Voláteis	Acetaldeído	04,66 ^d ± 1,89	08,65 ^c ± 0,85	13,01 ^b ± 0,57	05,61 ^d ± 0,32	17,32 ^a ± 1,15	9,85	máx. 30	máx. 20
	Acetato de Etila	28,01 ^d ± 1,42	34,07 ^c ± 1,94	41,19 ^b ± 1,98	37,78 ^{bc} ± 1,04	99,57 ^a ± 0,84	48,13	máx. 200	máx. 150
	1-Propanol	16,77 ^e ± 1,26	24,96 ^d ± 2,12	35,48 ^c ± 1,83	59,54 ^b ± 1,73	73,63 ^a ± 0,77	42,08		
	Iso-Butanol	87,25 ^c ± 2,02	88,35 ^c ± 4,08	77,43 ^d ± 1,28	156,88 ^a ± 1,32	123,47 ^b ± 2,58	106,68		
	Isoamílico	316,67 ^d ± 4,78	362,23 ^c ± 1,56	244,56 ^e ± 1,25	506,70 ^a ± 3,92	404,83 ^b ± 7,90	367		
	Ácido Acético	22,23 ^{cd} ± 0,59	24,24 ^{bc} ± 0,61	39,55 ^a ± 1,64	27,92 ^b ± 3,59	19,12 ^d ± 0,64	26,61	máx. 150	máx. 150
	Furfural	0,28 ^b ± 0,14	0,34 ^b ± 0,10	0,61 ^{ab} ± 0,14	0,50 ^{ab} ± 0,10	0,71 ^a ± 0,14	0,49	máx. 5	máx. 5
	Álcoois superiores	420,69 ^d ± 7,54	475,54 ^c ± 6,95	357,46 ^e ± 2,66	723,13 ^a ± 4,37	601,94 ^b ± 9,99	515,75	máx. 360	máx. 300
	Coefficiente de congêneres	475,87 ^d ± 10,78	542,84 ^c ± 9,99	451,82 ^e ± 3,36	794,94 ^a ± 4,94	738,66 ^b ± 10,25	600,83	máx. 650	> 350
Contaminantes	Metanol	2,29 ^b ± 0,20	2,51 ^b ± 0,19	3,19 ^{ab} ± 0,59	3,88 ^a ± 0,54	0,60 ^c ± 0,12	2,5	máx. 20	
	1-Butanol	0,20 ^b ± 0,06	0,43 ^{bc} ± 0,04	0,41 ^{bc} ± 0,07	0,83 ^{ab} ± 0,11	1,05 ^a ± 0,33	0,59	máx. 3	
	Carbamato de etila	289,84 ^b ± 1,26	309,29 ^a ± 0,46	273,23 ^c ± 1,30	14,87 ^d ± 0,52	ND	221,81	máx. 210	
	Cobre	0,51 ^b ± 0,18	0,66 ^b ± 0,12	2,11 ^a ± 0,20	0,73 ^b ± 0,09	0,62 ^b ± 0,16	0,93	máx. 5	máx. 5

Médias seguidas por letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

4.3.3.1 Teor alcoólico

O período de maturação reduziu as concentrações de etanol de todos os destilados (Figura 6). A redução média na concentração de etanol foi de 3,22% após 60 dias de envelhecimento, com média final de 53,23 % v/v de teor alcoólico (Tabela 12). O destilado do tratamento B apresentou a maior redução da concentração alcoólica (4,13%), enquanto o do tratamento E teve a menor redução (1,75%) durante o período de envelhecimento.

A diminuição do grau alcoólico e do volume de um destilado durante o envelhecimento pode estar relacionada a fatores como temperatura, umidade do ar e aeração do ambiente. Locais de baixa umidade relativa favorecem a perda de água, enquanto locais de alta umidade favorecem a perda de álcool dos destilados através da madeira dos tonéis (NICOL, 2003; MIRANDA et al., 2008).

4.3.3.2 Congêneres voláteis

4.3.3.2.1 Aldeídos

Os destilados dos tratamentos A, B e C apresentaram aumento do teor de acetaldeído depois dos 60 dias de envelhecimento em tonéis de 2,5L, enquanto que a concentração desse mesmo composto diminuiu nos destilados dos outros dois tratamentos, D e E (Figura 6). A concentração de aldeídos, expressa em acetaldeído, para o destilado do tratamento E, logo após a bidestilação, era de 22,7 mg.100mL⁻¹ AA, superior aos 20 mg.100mL⁻¹ AA aceitos para legislação brasileira de uísque. No entanto, após o curto período de envelhecimento, o teor deste composto atingiu 17,3 mg.100mL⁻¹ AA e enquadrou o destilado na legislação em questão (Tabela 12). O destilado do tratamento A já se enquadrava na legislação brasileira de aguardente e o dos tratamentos de mostos que combinam caldo de cana e mosto de malte de cevada atendem o limite de ambas as bebidas destiladas, uísque e cachaça.

A formação do acetaldeído se dá pela oxidação do etanol (REAZIN, 1981), que é o álcool mais abundante nas bebidas destiladas, e sua tendência é transformar-se em ácido acético pelo processo de oxidação ao longo do tempo. Segundo Dias (2009) o extrato de carvalho favorece a oxidação do destilado. No trabalho de Miranda et al. (2008), durante o envelhecimento de aguardente de cana-de-açúcar durante 390 dias em tonéis de carvalho de capacidade de 20L, houve aumento de 125% do teor de acetaldeído. O equilíbrio entre

aldeídos livres, hemi-acetal e acetal sofre influência do pH e do teor de álcool etílico (PIGGOTT; CONNER, 2003), e depende do tempo de envelhecimento para ser atingido.

Em uísques analisados por Oliveira (2012), o teor médio de acetaldeído foi de 3,9 mg.100mL⁻¹ AA, valor inferior ao das bebidas destiladas oriundas de mostos combinados, as quais apresentaram média de 9,9 mg.100mL⁻¹ AA, oscilando entre 17,3 mg.100mL⁻¹ AA (tratamento E) e 5,6 mg.100mL⁻¹ AA (tratamento D). No mercado nacional são encontrados produtos importados com maior teor do composto, como Scotch Blended Whisky que podem alcançar 22 mg/100mL AA segundo Nykänen e Suomalainen (1983), uma vez que a regulamentação européia (EEC Regulation 2870/2000) para este composto permite concentração de 44,6 mg.100mL⁻¹ AA de acetaldeído na bebida.

Segundo Souza et al. (2009), cachaças do norte do Rio de Janeiro apresentaram concentração média de acetaldeído 14,9 mg.100mL⁻¹ AA, valor superior à média obtida nos destilados dos tratamentos do presente estudo.

4.3.3.2.2 Ésteres

O teor de ésteres expressos em acetato de etila aumentou em todos os destilados envelhecidos (Figura 6). Além de serem produzidos pelas leveduras durante a fermentação, os ésteres podem formar-se durante o envelhecimento pelo processo de esterificação de ácidos graxos com o álcool etílico, formando, predominantemente, acetato de etila (FARIA et al., 2003). Os ésteres contribuem para a formação do buquê e estão entre os responsáveis pelo aroma agradável das bebidas envelhecidas (LITCHEV, 1989; ALCARDE; SOUZA; BORTOLETTO, 2014).

O destilado do tratamento E (referente a uísque) teve aumento de 97,9% na concentração de acetato de etila e atingiu 99,6 mg.100mL⁻¹ AA (Tabela 12), valor muito superior ao de 17,4 mg.100mL⁻¹ AA encontrado em uísques importados no trabalho de Oliveira (2012). Os destilados dos tratamentos B, C e D tiveram redução de 40,4%, 89,5% e 24,2% na concentração do éster, respectivamente, e as concentrações ficaram entre 34,1 e 41,2 mg.100mL⁻¹ AA, acima das concentrações entre 10,8 e 27,4 mg.100mL⁻¹ AA do composto encontrados em uísques disponíveis no mercado (OLIVEIRA, 2012). Nascimento (2007), que avaliou quimicamente 10 amostras de uísques importados, observou variação de 14,1 a 86,9 mg.100mL⁻¹ AA de acetato de etila, semelhante a resultados obtidos por Alcarde, Souza e Belluco (2011) para aguardente de cana-de-açúcar.

O destilado do tratamento A (referente a aguardente de cana) apresentou a menor redução de acetato de etila (19,1%) ao final do envelhecimento, equivalente a 28 mg.100mL^{-1} AA, resultado semelhante ao encontrado por Souza et al. (2009) que analisou cachaças da região norte fluminense, e obteve valor médio de $27,4 \text{ mg.100mL}^{-1}$ AA para esse composto.

4.3.3.2.3 Acidez volátil

Todos os destilados envelhecidos apresentaram aumento do teor de ácido acético (Figura 6), seguindo o que foi observado em testes de envelhecimento realizados por Miranda et al. (2008). O envelhecimento aumenta a acidez do destilado devido à incorporação de ácidos orgânicos não voláteis provenientes do substrato da madeira. O acetaldeído é o precursor do ácido acético na reação de oxidação (REAZIN, 1981; LITCHEV, 1989) e há variação destes dois compostos durante o envelhecimento (MUTTON; MUTTON, 2010) até que o equilíbrio químico seja atingido.

Os teores finais de ácido acético obtidos pelas análises das bebidas envelhecidas enquadram-se na legislação de cachaça e uísque e são, para todos os tratamentos, inferiores ao limite máximo de $150 \text{ mg.100mL}^{-1}$ AA (Tabela 12). Quase todos os resultados obtidos para acidez volátil são inferiores também ao teor médio de $28,8 \text{ mg.100mL}^{-1}$ A.A. encontrados em estudos de Oliveira (2012) para uísques comerciais e ao teor médio de $30,9 \text{ mg.100mL}^{-1}$ AA encontrado em aguardentes envelhecidas por 76 dias em trabalho de MIRANDA et al. (2008). Apenas o destilado do tratamento C extrapolou esses resultados, porém foi inferior à concentração de $104,9 \text{ mg.100mL}^{-1}$ AA, encontrada nos estudos de Alcarde et al. (2010) em aguardentes envelhecidas por 390 dias em tonéis de 20L de carvalho.

4.3.3.2.4 Álcoois superiores

Observou-se o aumento do teor de álcoois superiores de todas as bebidas envelhecidas (Figura 6). Os tratamentos originados a partir de mosto combinado apresentaram maior concentração de álcoois superiores que uísques do mercado nacional analisados por Oliveira (2012), que observou valor máximo de $207,3 \text{ mg.100mL}^{-1}$ AA. Ainda, os destilados de todos os tratamentos excederam o limite máximo da legislação de uísque, que tolera até $300 \text{ mg.100mL}^{-1}$ AA de álcoois superiores (Tabela 12). Todas as amostras também apresentaram teores superiores aos obtidos por Miranda et al. (2008), em que aguardentes envelhecidas por

390 dias em tonéis de carvalho de 20L, as quais finalizaram bebidas com teor médio de álcoois superiores equivalente a $354,3 \text{ mg.100mL}^{-1}$ AA.

O teor máximo de álcoois superiores foi observado na bebida envelhecida do tratamento D, atingindo $723,1 \text{ mg.100mL}^{-1}$ AA da soma dos álcoois 1-propanol, iso-butanol e isoamílico. Estudo de Macnamara e Hoffmann (1998) determinou concentração média de álcoois superiores equivalente a $735 \text{ mg.100mL}^{-1}$ AA para uísque puro de malte.

O tratamento C originou bebida envelhecida com $357,5 \text{ mg.100mL}^{-1}$ AA de álcoois superiores, que foi a menor concentração encontrada dentre os tratamentos e a única que se enquadra na legislação de aguardente, cujo limite máximo permitido é de $360 \text{ mg.100mL}^{-1}$ AA.

4.3.3.2.5 Coeficiente de congêneres voláteis

A partir do aumento do teor de aldeídos, álcoois superiores, acidez e ésteres, houve aumento de coeficiente de congêneres, que corresponde à soma dos compostos citados, incluindo também o furfural e o 5-HMF (Figura 6). Os maiores coeficientes de congêneres foram das bebidas envelhecidas originadas a partir dos tratamentos D e E, atingindo 794,9 e $738,7 \text{ mg.100mL}^{-1}$ AA, respectivamente (Tabela 12). No trabalho de Miranda et al. (2008), a aguardente envelhecida em toneis de 20L por 390 dias finalizou com teor médio de coeficiente de congêneres de $486,0 \text{ mg.100mL}^{-1}$ AA, teor próximo do encontrado no destilado do tratamento A (referente à aguardente de cana), de $475,9 \text{ mg.100mL}^{-1}$ AA. O destilado do tratamento C foi o que apresentou a menor concentração, finalizando com $451,8 \text{ mg.100mL}^{-1}$ AA. Apenas os destilados dos tratamentos A, B e C enquadraram-se na legislação de aguardente, que determina concentração do coeficiente de congêneres entre 200 e $650 \text{ mg.100mL}^{-1}$ AA. Já para uísque, todos os tratamentos com mostos combinados estão classificados como uísque puro malte.

4.3.3.3 Contaminantes

4.3.3.3.1 Metanol

Devido a reações químicas do destilado durante o período de 60 dias de envelhecimento, observaram-se mudanças nas concentrações de metanol (Figura 6). Porém,

os teores de metanol dos destilados de todos os tratamentos permaneceram inferiores ao limite máximo de 20 mg.100mL^{-1} AA estabelecido pela legislação (Tabela 12).

O destilado do tratamento C continha $2,7 \text{ mg.100mL}^{-1}$ AA de metanol antes do processo de envelhecimento, e passou a $3,2 \text{ mg.100mL}^{-1}$ AA do contaminante decorridos os 60 dias. Os destilados dos tratamentos A, B e E, no entanto, passaram de teores abaixo do limite de detecção da metodologia utilizada para 2,3, 2,5 e $0,6 \text{ mg.100mL}^{-1}$ AA respectivamente. Tal fato pode ser explicado pelo dinamismo das reações químicas do destilado, as quais continuam durante o período de envelhecimento. Litchev (1989) afirma que o ácido acético e o metanol podem ser formados a partir da degradação da hemicelulose durante a maturação do destilado. O destilado do tratamento D manteve a mesma concentração de metanol que tinha antes do envelhecimento, $3,9 \text{ mg.100mL}^{-1}$ AA, semelhante à concentração média de $3,7 \text{ mg.100mL}^{-1}$ AA obtida por Oliveira (2012) em análise de metanol em uísques importados e nacionais de diferentes classificações.

4.3.3.3.2 Cobre

Decorrido o período de envelhecimento, as bebidas apresentaram teor de cobre inferior ao máximo de $5,0 \text{ mg.L}^{-1}$ permitido pela legislação para uísque e aguardente (Tabela 12, Figura 6). A redução média total da concentração de cobre foi de 73% e as concentrações quantificadas variaram de 0,5 a $2,1 \text{ mg.L}^{-1}$. Estudos de Miranda et al. (2008) apontaram para redução do teor de cobre de 2,4 para $1,9 \text{ mg.L}^{-1}$ no período de 76 dias em barris de carvalho de 20L, representando redução de apenas 20%.

O cobre pode contribuir para o escurecimento da bebida, uma vez que reage com compostos fenólicos durante o envelhecimento. Além disso, esse elemento pode ser adsorvido pela madeira dos tonéis de maturação (SINGLETON, 1995).

4.3.3.3.3 Carbamato de etila

O envelhecimento aumentou significativamente a concentração de carbamato de etila nos destilados dos tratamentos A, B e C (Figura 6). O aumento do teor de carbamato de etila é comum durante o envelhecimento da bebida, como descrito por Alcarde, Souza e Bortoletto (2014) que observaram, durante o período de envelhecimento de 180 dias, aumento de 10 vezes na concentração de carbamato de etila em aguardente de cana-de-açúcar bidestilada

segundo metodologia de produção de uísque citado por Piggot e Conner (2003). No destilado do tratamento E a concentração manteve-se abaixo do limite de detecção.

Apesar da maior parte do carbamato de etila se formar de 24 a 48 horas depois da destilação (RIFFKIN et al., 1989), sua concentração final em destilados depende da concentração inicial do composto após a destilação, mais o carbamato de etila formado a partir de precursores ativos, tais como cianeto de hidrogênio, cianato e complexos de cianeto de cobre. Os componentes extraídos da madeira de carvalho estão envolvidos na conversão do cianeto para cianato pela ação de peróxidos. Em maturação de uísque a concentração de carbamato de etila aumentou rapidamente nos 42 dias de maturação e estabilizou em concentrações em torno de $70 \mu\text{g.L}^{-1}$ até o final de três anos (AYLOTT et al., 1990).

Nos tratamentos que apresentavam mostos com maior proporção de caldo de cana, o teor de carbamato de etila nos destilados foi em média 9 vezes maior após o período de envelhecimento de 60 dias (Tabela 12). O destilado do tratamento C, com mesma proporção entre caldo de cana e mosto de malte de cevada apresentou aumento de, aproximadamente, 23 vezes na concentração de carbamato de etila, o que caracterizou a elevação mais acentuada. No destilado do tratamento D observou-se uma variação ínfima quanto ao teor de carbamato de etila entre a bebida destilada e a bebida envelhecida ($13,5$ para $14,9 \mu\text{g.L}^{-1}$). Desta forma, apenas os tratamentos D e E enquadram-se dentro dos parâmetros da legislação brasileira (máximo permitido de $210 \mu\text{g.L}^{-1}$) quanto ao teor deste contaminante.

Em aguardentes não envelhecidas a concentração máxima de carbamato de etila é atingida até o sétimo dia depois da destilação (GALINARO; FRANCO, 2011). Aguardente envelhecida tendeu a apresentar maior teor de carbamato de etila do que aguardente recentemente destilada (NÓBREGA et al., 2009). Anjos et al. (2011) observaram aumento significativo na concentração de carbamato de etila em aguardente após um período de envelhecimento de 12 meses em barris de carvalho. Acredita-se que a formação de carbamato de etila durante o período de armazenamento de cachaça ocorra gradualmente, como resultado das reações entre o etanol e a uréia formada durante a degradação de precursores de nitrogênio, tais como os aminoácidos arginina, ornitina e citrulina. Além disso, o fosfato de carbamila e o íon cianeto são mencionados como possíveis precursores na formação do carbamato de etila depois do processo de destilação (COOK et al., 1990; LAWRENCE; PAGE; CONACHER, 1990).

A Figura 6 apresenta as concentrações de etanol, de congêneres voláteis e de contaminantes nos flegmas (LW), nos bidestilados (BD) e nos bidestilados envelhecidos (ENV) provenientes dos diferentes tratamentos.

Figura 6 – Teor alcoólico, acetaldeído, acetato de etila, 1-propanol, iso-butanol, isoamílico, ácido acético, álcoois superiores, coeficiente de congêneres, metanol, 2-butanol, carbamato de etila e cobre dos *low wines* (LW), bidestillados (BD) e dos bidestillados envelhecidos (ENV) dos tratamentos A (100% caldo de cana), B (75% caldo de cana), C (50% caldo de cana, 50% malte de cevada), D (75% malte de cevada) e E (100% malte de cevada)

Figura 6 – Teor alcoólico, acetaldeído, acetato de etila, 1-propanol, iso-butanol, isoamílico, ácido acético, álcoois superiores, coeficiente de congêneres, metanol, 2-butanol, carbamato de etila e cobre dos *low wines* (LW), bidestilados (BD) e dos bidestilados envelhecidos (ENV) dos tratamentos A (100% caldo de cana), B (75% caldo de cana), C (50% caldo de cana, 50% malte de cevada), D (75% malte de cevada) e E (100% malte de cevada)

Figura 6 – Teor alcoólico, acetaldeído, acetato de etila, 1-propanol, iso-butanol, isoamílico, ácido acético, álcoois superiores, coeficiente de congêneres, metanol, 2-butanol, carbamato de etila e cobre dos *low wines* (LW), bidestilados (BD) e dos bidestilados envelhecidos (ENV) dos tratamentos A (100% caldo de cana), B (75% caldo de cana), C (50% caldo de cana, 50% malte de cevada), D (75% malte de cevada) e E (100% malte de cevada)

Figura 6 – Teor alcoólico, acetaldeído, acetato de etila, 1-propanol, iso-butanol, isoamílico, ácido acético, álcoois superiores, coeficiente de congêneres, metanol, 2-butanol, carbamato de etila e cobre dos *low wines* (LW), bidestilados (BD) e dos bidestilados envelhecidos (ENV) dos tratamentos A (100% caldo de cana), B (75% caldo de cana), C (50% caldo de cana, 50% malte de cevada), D (75% malte de cevada) e E (100% malte de cevada)

4.3.3.4 Intensidade de cor e compostos fenólicos totais

A Tabela 13 apresenta a intensidade de cor e a concentração de compostos fenólicos totais aos 30 e 60 dias de envelhecimento dos destilados produzidos a partir dos cinco diferentes mostos.

Tabela 13 – Intensidade de cor e concentração de compostos fenólicos totais das bebidas produzidas a partir de diferentes mostos

Tratamentos	Cor (abs. 420 nm)		Compostos fenólicos totais (mg/L)	
	30 dias	60 dias	30 dias	60 dias
A	0,523 ^{ab} ± 0,02	0,636 ^a ± 0,05	3,14 ^a ± 0,25	3,98 ^a ± 0,52
B	0,562 ^a ± 0,02	0,529 ^a ± 0,07	3,52 ^a ± 0,75	3,54 ^a ± 0,97
C	0,583 ^a ± 0,07	0,695 ^a ± 0,13	3,61 ^a ± 0,39	4,38 ^a ± 0,72
D	0,631 ^a ± 0,02	0,587 ^a ± 0,07	4,07 ^a ± 0,50	3,98 ^a ± 0,31
E	0,438 ^b ± 0,05	0,578 ^a ± 0,05	3,33 ^a ± 0,57	5,07 ^a ± 0,43
Média	0,547 ± 0,07	0,605 ± 0,06	3,54 ± 0,35	4,19 ± 0,58

Médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

Após os sessenta dias de envelhecimento em tonéis de carvalho, as bebidas de todos os tratamentos adquiriram forte coloração dourada. Durante o envelhecimento, o escurecimento ou intensificação da cor amarela-alaranjada em bebidas destiladas ocorre devido à extração de compostos, principalmente taninos, e suas reações de oxidação (SINGLETON, 1995; MIRANDA et al., 2008).

A intensidade média da cor dos destilados, determinada pela absorbância a 420nm, apresentou aumento de 10,6% dos trinta aos sessenta dias de envelhecimento. O maior aumento da cor foi de 32% no destilado do tratamento E. No entanto, foi o destilado do tratamento C que encerrou a maturação com a maior intensidade de cor (Tabela 13, Figura 7). Os destilados dos tratamentos B e D apresentaram maior intensidade de cor aos trinta dias e uma diminuição de 6,42% desta aos sessenta dias. Isso pode ter ocorrido devido à estabilidade na extração de compostos, já que, apesar do período de maturação relativamente curto a que foram submetidos os destilados, os tonéis eram pequenos, o que possibilitou uma rápida extração de componentes durante o envelhecimento de todas as bebidas. Tonéis menores resultam em maior velocidade de extração, pois tem maiores relações superfície/volume, porém também tem maiores taxas de evaporação de álcool etílico e água (MIRANDA et al., 2008). No teste Tukey, aos trinta dias de maturação o destilado do tratamento E diferiu sua

coloração dos destilados dos tratamentos B, C e D, mas não diferiu do destilado do tratamento A. Aos 60 dias a coloração dos destilados não diferiu estatisticamente entre si.

Dos trinta aos sessenta dias de envelhecimento a concentração de compostos fenólicos totais aumentou em média 18,4% (Tabela 13, Figura 7). Os destilados dos tratamentos A, B, C e E tiveram um acréscimo em fenólicos, enquanto que o destilado do tratamento D apresentou pequena redução após 60 dias (2%). O destilado do tratamento E apresentou o maior aumento (52%) e também a maior concentração final de fenólicos totais (5,07 mg/L). O destilado do tratamento B teve o menor aumento e a menor concentração ao final do período de envelhecimento (3,54 mg/L). No entanto, a análise estatística não mostrou diferença significativa entre os tratamentos.

Figura 7 – Coloração e concentração de compostos fenólicos totais das bebidas envelhecidas durante 60 dias

4.3.3.5 Congêneres de maturação

A cromatografia líquida (HPLC) permitiu a identificação dos compostos fenólicos de baixo peso molecular que são indicados como congêneres de maturação em bebidas alcoólicas (Tabela 14). Cumarina não foi detectada nos destilados. Todos esses compostos, derivados das macromoléculas da madeira, proporcionam sabor e aroma característicos em bebidas alcoólicas envelhecidas. (BORTOLETTO; ALCARDE, 2013).

Tabela 14 – Congêneres de maturação determinados por cromatografia líquida (CLAE – UV) durante os 60 dias de envelhecimento

Trat.	TE (Dias)	Ácido gálico	5-HMF	Furfural	Ácido vanílico	Ácido siringico	Vanilina	Siringaldeido	Guaiacol	Coniferaldeido	Sinapaldeido	Total*
A	0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	15	1,74 ± 0,04	0,14 ± 0,02	0,16 ± 0,03	1,12 ± 0,03	1,34 ± 0,07	1,40 ± 0,13	2,70 ± 0,06	1,56 ± 0,05	0,39 ± 0,04	1,09 ± 0,11	11,63 ± 0,13
	30	2,00 ± 0,09	0,15 ± 0,02	0,16 ± 0,04	1,43 ± 0,02	2,19 ± 0,06	2,48 ± 0,03	5,15 ± 0,08	1,70 ± 0,06	0,41 ± 0,04	1,09 ± 0,08	16,76 ± 0,12
	45	6,54 ± 0,15	0,49 ± 0,07	0,17 ± 0,02	4,25 ± 0,09	0,25 ± 0,04	2,08 ± 0,03	7,58 ± 0,08	2,60 ± 0,04	1,11 ± 0,06	2,59 ± 0,10	27,66 ± 0,35
	60	5,02 ^a ± 0,10	0,26 ^b ± 0,07	0,19 ^a ± 0,09	3,81 ^a ± 0,09	0,23 ^c ± 0,03	1,50 ^a ± 0,04	8,10 ^a ± 0,32	2,32 ^a ± 0,02	0,57 ^{abc} ± 0,03	2,08 ^a ± 0,1	24,07 ^a ± 0,25
B	0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	15	1,94 ± 0,05	0,23 ± 0,05	0,18 ± 0,02	1,06 ± 0,06	1,28 ± 0,06	1,46 ± 0,03	2,65 ± 0,04	1,06 ± 0,02	0,37 ± 0,05	1,27 ± 0,05	11,51 ± 0,04
	30	2,45 ± 0,04	0,28 ± 0,06	0,17 ± 0,04	1,39 ± 0,03	0,89 ± 0,08	0,24 ± 0,03	4,98 ± 0,10	1,83 ± 0,07	0,47 ± 0,03	1,51 ± 0,07	14,21 ± 0,16
	45	2,86 ± 0,07	0,43 ± 0,09	0,18 ± 0,05	1,99 ± 0,08	1,03 ± 0,04	0,22 ± 0,07	7,06 ± 0,07	2,30 ± 0,05	0,54 ± 0,03	1,33 ± 0,03	17,94 ± 0,08
	60	2,65 ^e ± 0,05	0,30 ^b ± 0,02	0,15 ^a ± 0,02	1,61 ^c ± 0,03	1,00 ^b ± 0,19	0,56 ^b ± 0,02	5,30 ^c ± 0,03	0,37 ^d ± 0,05	0,45 ^c ± 0,03	1,32 ^c ± 0,04	13,70 ^e ± 0,30
C	0	ND	ND	0,07 ± 0,02	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,07 ± 0,02
	15	1,91 ± 0,03	0,59 ± 0,06	0,06 ± 0,02	1,12 ± 0,11	1,33 ± 0,06	1,43 ± 0,07	2,75 ± 0,04	1,08 ± 0,06	0,38 ± 0,03	1,33 ± 0,09	11,97 ± 0,25
	30	2,50 ± 0,14	0,60 ± 0,17	0,16 ± 0,07	1,16 ± 0,04	0,87 ± 0,06	0,48 ± 0,08	4,70 ± 0,07	0,35 ± 0,07	0,50 ± 0,11	1,58 ± 0,07	12,89 ± 0,38
	45	2,80 ± 0,07	0,58 ± 0,17	0,17 ± 0,07	1,58 ± 0,03	1,01 ± 0,02	0,24 ± 0,03	5,56 ± 0,05	1,35 ± 0,10	0,51 ± 0,06	1,76 ± 0,06	15,57 ± 0,18
	60	3,30 ^d ± 0,07	0,57 ^a ± 0,03	0,17 ^a ± 0,03	1,82 ^b ± 0,07	1,14 ^b ± 0,07	0,25 ^c ± 0,03	5,99 ^b ± 0,10	1,16 ^c ± 0,06	0,69 ^a ± 0,09	1,72 ^b ± 0,10	16,81 ^c ± 0,07
D	0	ND	ND	0,06 ± 0,02	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,06 ± 0,02
	15	2,13 ± 0,08	0,44 ± 0,05	0,13 ± 0,02	1,07 ± 0,05	1,33 ± 0,08	1,51 ± 0,04	2,38 ± 0,11	1,11 ± 0,12	0,34 ± 0,03	1,05 ± 0,04	11,49 ± 0,20
	30	3,39 ± 0,04	0,47 ± 0,04	0,17 ± 0,02	0,88 ± 0,02	1,00 ± 0,26	0,50 ± 0,08	3,27 ± 0,02	1,61 ± 0,06	0,46 ± 0,03	1,29 ± 0,07	13,04 ± 0,30
	45	4,42 ± 0,10	0,48 ± 0,04	0,17 ± 0,05	1,40 ± 0,07	1,61 ± 0,08	1,32 ± 0,06	4,84 ± 0,04	1,46 ± 0,03	0,23 ± 0,07	1,35 ± 0,02	17,27 ± 0,30
	60	4,41 ^b ± 0,12	0,57 ^a ± 0,06	0,18 ^a ± 0,06	1,18 ^d ± 0,03	0,96 ^b ± 0,03	0,23 ^c ± 0,05	4,59 ^d ± 0,11	1,68 ^b ± 0,10	0,53 ^{bc} ± 0,04	1,28 ^c ± 0,07	15,62 ^d ± 0,22
E	0	ND	ND	0,06 ± 0,05	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,06 ± 0,05
	15	2,35 ± 0,05	0,53 ± 0,05	0,12 ± 0,03	1,22 ± 0,08	1,68 ± 0,07	1,46 ± 0,07	5,22 ± 0,14	1,13 ± 0,03	0,49 ± 0,10	1,46 ± 0,06	15,65 ± 0,31
	30	2,57 ± 0,04	0,54 ± 0,04	0,14 ± 0,04	1,40 ± 0,06	0,51 ± 0,07	0,92 ± 0,05	5,16 ± 0,03	0,61 ± 0,08	0,51 ± 0,11	1,39 ± 0,06	13,74 ± 0,42
	45	3,13 ± 0,07	0,54 ± 0,05	0,15 ± 0,03	0,97 ± 0,05	1,27 ± 0,05	0,27 ± 0,06	6,85 ± 0,04	0,55 ± 0,06	0,52 ± 0,03	1,40 ± 0,12	15,64 ± 0,10
	60	3,72 ^c ± 0,03	0,58 ^a ± 0,05	0,14 ^a ± 0,04	1,51 ^c ± 0,10	1,45 ^a ± 0,03	0,28 ^c ± 0,02	8,05 ^a ± 0,08	0,42 ^d ± 0,07	0,65 ^{ab} ± 0,04	1,61 ^b ± 0,09	18,40 ^b ± 0,28
Média		3,09	0,44	0,14	1,60	1,12	0,94	5,14	1,31	0,50	1,47	12,63

Médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

TE = Tempo de envelhecimento

O ácido gálico teve concentração média de 3,09 mg/L nos destilados durante o envelhecimento (Tabela 14). O destilado do tratamento A se destacou após 30 dias, apresentando as maiores concentrações desse composto, com 6,54 mg/L aos 45 dias de maturação e 5,02 mg/L aos 60 dias (Figura 7A). A menor quantidade de ácido gálico ao final dos sessenta dias de envelhecimento foi observada no destilado do tratamento B, com 2,65 mg/L. No teste de Tukey, todos os tratamentos diferiram entre si ao final do período de maturação. O ácido gálico é um dos congêneres de maturação que contribuem para a viscosidade e o “corpo” da bebida envelhecida (ALCARDE; SOUZA; BORTOLETTO, 2014). É formado pela hidrólise de taninos que são extraídos dos tonéis de madeira durante o processo de maturação. O ácido gálico não é um composto volátil e por isso não contribui para a caracterização do buquê aromático nas bebidas. Contudo, agrega qualidade visual e de textura nos destilados (CONNER; REID; JACK, 2003).

As concentrações de 5-hidroximetilfurfural e furfural mantiveram-se relativamente baixas em todos os destilados durante o período de envelhecimento (Figura 8B e Figura 8C). Em nenhum dos tratamentos a soma das concentrações desses dois compostos ultrapassou o limite máximo permitido pela legislação brasileira ($5,0 \text{ mg} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$ de álcool anidro) (BRASIL, 2005b). As concentrações médias foram de 0,44 mg/L para 5-hidroximetilfurfural e 0,14 mg/L para furfural. A queima da madeira durante a fabricação dos tonéis é responsável pela degradação de polissacarídeos, em especial a hemicelulose. Através de reações de Maillard e caramelização, as pentoses dão origem ao furfural e as hexoses formam o 5-hidroximetilfurfural. Esses dois compostos são extraídos e incorporados na bebida durante o envelhecimento (JAGANATHAN et al., 1999; ALCARDE; SOUZA; BORTOLETTO, 2014).

O furfural é o único composto que já estava presente antes do envelhecimento no destilado de três dos cinco tratamentos. Furfural e 5-hidroximetilfurfural podem estar presentes na cana queimada ou serem formados durante o processo de destilação como resultado da pirogênese da matéria orgânica precipitada no fundo de alambiques (MASSON et al., 2007; BORTOLETTO; ALCARDE, 2013). Esses dois compostos contribuem para a cor característica dos destilados envelhecidos e em baixas concentrações originam notas aromáticas agradáveis de madeira queimada e amêndoas. Porém, quando presentes em altas concentrações tornam a bebida desagradável sensorialmente (ALCARDE; SOUZA; BORTOLETTO, 2014).

Até os 30 primeiros dias de envelhecimento, o destilado do tratamento A apresentou concentração de ácido vanílico semelhante à de todos os demais tratamentos e abaixo de 2 mg/L (Figura 8D). No entanto, aos 60 dias o destilado do tratamento A apresentou mais que o

dobro da concentração de ácido vanílico do que os outros destilados, 3,81 mg/L. Os outros destilados mantiveram concentrações próximas durante todo o período, entre 1,18 e 1,82. O ácido vanílico pode ter origem no processo de conversão oxidativa da vanilina. Comparando as concentrações de vanilina e de ácido vanílico durante os 60 dias, observa-se que o destilado do tratamento A apresentou a maior concentração de vanilina aos 30 dias de maturação e depois apresentou diminuição desse composto, enquanto que o ácido vanílico teve sua concentração aumentada a partir dos 30 dias de envelhecimento no mesmo tratamento. Deste modo, além da incorporação do ácido vanílico do barril pela bebida, pode ter ocorrido também a oxidação da vanilina dando origem ao ácido vanílico.

A média geral da concentração de ácido sirínico nos destilados durante os 60 dias foi 1,12 mg/L (Tabela 14). O destilado do tratamento A apresentou aumento progressivo da concentração de ácido sirínico até os 30 dias, chegando a 2,19 mg/L, e depois teve redução de 89,5% chegando ao menor valor dentre os destilados ao final do envelhecimento (0,23 mg/L) (Figura 8E). Todos os outros destilados mantiveram valores entre 0,51 e 1,68 mg/L ao longo desse período.

Dentre os marcadores de envelhecimento derivados da lignina, a vanilina é o composto de maior importância sensorial devido ao seu baixo limiar de odor. Em análise de uísques envelhecidos em barris novos de carvalho, Conner, Reid, e Richardson (2001) verificaram que a vanilina excedeu o seu limiar de odor nos primeiros seis meses de maturação (CONNER; REID; JACK, 2003). A concentração de vanilina aumentou linearmente até os 30 dias no destilado do tratamento A, chegando a 2,48 mg/L, e depois reduziu 39,5% aos 60 dias (Figura 8F). Os destilados dos tratamentos B, C e E apresentaram a maior concentração aos 15 dias e depois reduziram e permaneceram com baixas concentrações até o final do período de envelhecimento. O destilado do tratamento D apresentou aumento na concentração após os 30 dias de envelhecimento, mas aos 45 dias diminuiu, atingindo concentração semelhante aos demais tratamentos ao final do envelhecimento.

O siringaldeído foi o composto que se destacou em todos os tratamentos, apresentando as maiores concentrações nos destilados durante o período de maturação. Aos 30 dias todos os destilados já apresentavam concentrações superiores a 3 mg/L para esse composto (Figura 8G). Aos 60 dias de envelhecimento as mais altas concentrações de siringaldeído foram observadas nos destilados dos tratamentos A (8,1 mg/L) e E (8,05 mg/L). O destilado do tratamento D finalizou o período de envelhecimento com a menor concentração de siringaldeído (4,59 mg/L). Bortoletto e Alcarde (2013) estudaram o envelhecimento de

cachaça em barris de diferentes madeiras brasileiras comparando com o carvalho europeu e verificaram que o siringaldeído predominou entre os compostos presentes nas cachaças envelhecidas em barris de carvalho, não sendo representativo em cachaças envelhecidas nos outros tipos de madeira.

A extração e concentração de guaiacol nos destilados não seguiu um padrão definido durante o envelhecimento (Figura 8H), porém, as maiores concentrações durante o período de envelhecimento foram encontradas no tratamento A. Os destilados dos tratamentos B e E apresentaram as menores quantidades desse composto ao final dos 60 dias de envelhecimento, 0,37 e 0,42 mg/L respectivamente.

As concentrações de coniferaldeído nos destilados de todos os tratamentos foram semelhantes, com média de 0,58 mg/L ao final do período de envelhecimento (Tabela 14). No destilado do tratamento A, a concentração de coniferaldeído aumentou 2,7 vezes depois dos 30 dias de envelhecimento e depois dos 45 dias teve diminuição de 1,9 vezes (Figura 8I). Os outros tratamentos apresentaram poucas variações na concentração desse composto durante todo esse período.

Todos os destilados apresentaram concentrações maiores que 1 mg/L de sinapaldeído logo nos primeiros 15 dias de contato com a madeira dos barris (Figura 8J). A partir dos 30 dias os destilados dos tratamentos B, C, D e E obtiveram leve aumento na incorporação desse composto, tendendo à estabilização. O destilado do tratamento A teve sua concentração aumentada até os 45 dias e ao final sofreu redução de aproximadamente 20%, entretanto foi o único que finalizou com concentração superior a 2 mg/L de sinapaldeído.

Figura 8 – Concentração de congêneres de maturação (ácido gálico, 5-hidroximetilfurfural, furfural, ácido vanílico, ácido siríngico, vanilina, siringaldeído, guaiacol, coniferaldeído, sinapaldeído) durante 60 dias de maturação nos tratamentos A, 100% caldo de cana; B, 75% caldo de cana; C, 50% caldo de cana e 50% de malte de cevada; D, 75% malte de cevada; E, 100% de malte de cevada

Figura 8 – Concentração de congêneres de maturação (ácido gálico, 5-hidroximetilfurfural, furfural, ácido vanílico, ácido sirínico, vanilina, siringaldeído, guaiacol, coniferaldeído, sinapaldeído) durante 60 dias de maturação nos tratamentos A, 100% caldo de cana; B, 75% caldo de cana; C, 50% caldo de cana e 50% de malte de cevada; D, 75% malte de cevada; E, 100% de malte de cevada

Já aos 15 dias de envelhecimento os congêneres de maturação foram encontrados em concentrações acima do limite de detecção (LD) nos destilados dos cinco diferentes tratamentos (Tabela 14). Da concentração total dos congêneres de cada tratamento após 60 dias, mais de 50% já havia sido incorporado à bebida nos primeiros 30 dias de contato com a madeira do barril. Esse resultado indica uma rápida extração e formação de congêneres de maturação em razão do tamanho do barril, que proporcionou alta superfície de contato com a bebida. Piggott e Conner (2003) afirmam que tonéis menores fornecem mais altas concentrações de congêneres de maturação em um período de tempo mais curto, mesmo sendo de mesma procedência e produzidos com mesmo tipo de madeira de tonéis de maior volume. Em trabalho de Alcarde, Souza e Bortoletto (2014) aguardentes envelhecidas por 180 dias em barris de carvalho de cinco litros já apresentavam mais de 50% da concentração total de congêneres de maturação após os 10 primeiros dias em que os destilados haviam entrado em contato com a madeira dos barris.

A partir da soma total dos congêneres de maturação (sinapaldeído, siringaldeído, ácido siríngico, coniferaldeído, vanilina, ácido vanílico, guaiacol, ácido gálico, furfural e 5-hidroximetilfurfural) ao final do período de envelhecimento nota-se que, dentre os cinco tratamentos testados, a bebida produzida com caldo de cana em sua totalidade (tratamento A) se destacou, pois apresentou a maior concentração de compostos de maturação (24,1 mg/L). O destilado do tratamento que não tinha nenhuma porcentagem de caldo de cana em sua composição inicial (tratamento E) apresentou a segunda maior somatória total de congêneres (18,4 mg/L), seguido do destilado do tratamento C (16,8 mg/L), composto de 50% de caldo de cana e 50% de mosto de malte de cevada. A menor concentração final foi obtida no destilado do tratamento B, com 13,6 mg/L (Figura 9).

Os compostos da madeira que mais se incorporaram nos destilados dos 5 tratamentos durante o envelhecimento foram o siringaldeído e o ácido gálico. Anjos et al. (2011) em estudo de cachaças envelhecidas em barris de carvalho também observaram que os principais compostos incorporados nos destilados foram o siringaldeído e o ácido gálico. Em trabalho sobre formação de congêneres voláteis e de maturação durante envelhecimento de cachaças em barris de carvalho, Alcarde, Souza e Bortoletto (2014) observaram que o siringaldeído foi o composto predominante. Silva (2006) analisando compostos fenólicos em amostras comerciais de cachaça envelhecida observou que siringaldeído e ácido vanílico foram compostos majoritários. Neste mesmo estudo, em análise de compostos fenólicos em uísques americano e escocês, Silva (2006) observou que em uísque americano o composto com as maiores concentrações foi o siringaldeído, enquanto que em uísque escocês o composto majoritário era o ácido gálico.

Ao final do período de envelhecimento os destilados dos tratamentos B, C, D e E (que continham uma porcentagem de mosto de cevada em sua composição) apresentaram maiores concentrações de ácido siríngico do que o destilado do tratamento A. Por outro lado, o destilado do tratamento A apresentou as maiores concentrações de ácido gálico, vanilina, ácido vanílico, guaiacol e sinapaldeído.

Figura 9 – Concentração de congêneres de maturação (mg/L) nos destilados dos 5 tratamentos aos 60 dias de envelhecimento. Tratamento A, 100% caldo de cana; B, 75% caldo de cana; C, 50% caldo de cana e 50% de malte de cevada; D, 75% malte de cevada; E, 100% malte de cevada

4.4 Análise sensorial

4.4.1 Teste de ordenação pela preferência

A primeira análise sensorial foi realizada através do teste de ordenação pela preferência. Esse teste consiste em ordenar, de acordo com a intensidade de um atributo ou preferência, uma série de três ou mais amostras que são apresentadas simultaneamente (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS - ABNT, 1994). Cada provador examinou cinco amostras codificadas de bebida envelhecida (uma amostra de cada tratamento) e arranhou-as em ordem crescente de preferência de acordo com os atributos cor, aroma, sabor e impressão global. O resultado foi dado pela soma das ordens obtidas pelos julgadores para cada amostra. A análise dos resultados foi feita pelo teste de Friedman utilizando a tabela de Newell e Mac Farlane, que define o valor das diferenças críticas entre os totais de ordenação ao nível de significância 5%. Se a diferença entre as somas das ordens for maior ou igual ao valor tabelado, conclui-se que existe diferença entre as amostras. O teste de ordenação não quantifica o grau da diferença ou preferência entre amostras (IAL, 2008).

Os resultados do teste de ordenação pela preferência das amostras analisadas são mostrados na Tabela 15 e Figura 10.

Tabela 15 – Somatória dos valores obtidos para os atributos cor, aroma, sabor e impressão global para os destilados dos cinco diferentes tratamentos

Tratamentos	Cor	Aroma	Sabor	Impressão Global
A	188 ^a	165 ^{ab}	169 ^a	179 ^a
B	125 ^{bc}	136 ^{ab}	148 ^a	125 ^b
C	202 ^a	177 ^a	156 ^a	187 ^a
D	141 ^b	144 ^{ab}	138 ^a	144 ^{ab}
E	94 ^c	126 ^b	137 ^a	115 ^b

Letras iguais na mesma coluna não diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste de Friedman

Conforme mostrado na Tabela 15, o destilado C obteve a maior soma para os atributos cor, aroma e impressão global. O destilado E obteve as menores somas totais para todos os atributos avaliados.

Com relação à cor os destilados dos tratamentos A e C apresentaram as maiores somas totais, representando maior preferência, mas não diferiram entre si. O destilado do tratamento E obteve a menor soma total e foi semelhante estatisticamente apenas ao destilado B, sendo a amostra menos aceita pelos avaliadores com relação à cor.

Na análise de aroma, o destilado do tratamento C obteve a maior soma, mas não diferiu dos destilados dos tratamentos A, B e D. Porém, como essas últimas também foram semelhantes ao destilado do tratamento E, pode-se inferir que o tratamento C foi o preferido para esse atributo.

O destilado A obteve a maior soma no quesito sabor, porém não houve diferença significativa entre os tratamentos para esse atributo. Pelos resultados estatísticos conclui-se que, para os avaliadores, nenhum tratamento apresentou sabor diferenciado.

No quesito impressão global os destilados dos tratamentos A, C e D não diferiram entre si, porém o destilado D foi estatisticamente semelhante aos tratamentos B e E. Deste modo, os destilados dos tratamentos A e C foram os preferidos para esse atributo.

Os resultados das frequências das ordens para cada tratamento (Figura 10) mostram que o destilado C apresentou maior frequência na primeira posição para todos os atributos avaliados. Porém, para o atributo sabor (Figura 10C), apesar de 15 avaliadores indicarem o destilado C como o mais preferido, somando a maior frequência na primeira posição para esse atributo, outros 14 avaliadores o escolheram como o menos preferido, colocando-o na última posição. O destilado do tratamento A obteve a maior soma total para esse atributo, porém não esteve o maior número de vezes na primeira posição. O destilado do

tratamento E não só teve a menor soma total, como já mencionado, como também obteve a maior frequência na ultima posição para todos os atributos avaliados.

Figura 10 – Frequência das ordens de cada tratamento para os atributos cor, aroma, sabor e impressão global. A, 100% caldo de cana; B, 75% caldo de cana; C, 50% caldo de cana e 50% malte de cevada; D, 75% malte de cevada; E, 100% malte de cevada

4.4.2 Teste sensorial descritivo

A partir dos resultados da avaliação de ordenação-preferência, três destilados foram selecionados para o segundo teste sensorial. Os destilados selecionados foram os dos tratamentos A (100% caldo de cana) e C (50% caldo de cana e 50% malte de cevada), que foram os de maior preferência, e o do tratamento E (100% malte de cevada), que foi o destilado menos preferido pelos provadores. Para estas três amostras foram aplicadas o teste descritivo em Perfil Flash (DAIROU; SIEFFERMANN, 2002). A equipe foi composta por 16 provadores não treinados (13 homens e 3 mulheres) e consumidores de cachaça e uísque. Nessa análise foi solicitado aos provadores marcarem na escala a intensidade dos atributos

“aroma amadeirado”, “aroma adocicado”, “gosto doce”, “gosto ácido”, “gosto amargo”, “intensidade de retrogosto”, “adstringência” e “aveludado” para cada destilado.

A avaliação permitiu diferenciar o perfil sensorial dos destilados para alguns atributos avaliados (Tabela 16, Figura 11). Os atributos “aroma amadeirado” e “gosto amargo” foram os únicos que apresentaram diferenças estatisticamente significativas (Tabela 16). O destilado produzido com as mesmas proporções das duas matérias-primas (tratamento C) apresentou maior intensidade para “aroma amadeirado” e diferiu apenas do destilado do tratamento E, que apresentou a menor percepção para esse atributo. A bebida produzida apenas com mosto de malte de cevada (tratamento E) apresentou maior intensidade de “gosto amargo”, diferindo apenas da do destilado do tratamento C. O destilado A não apresentou diferença significativa dos outros tratamentos para nenhum dos atributos avaliados.

Tabela 16 – Médias dos valores das avaliações dos destilados dos tratamentos A, C e E

Atributos	A (100% cana)	C (50% cana e 50% cevada)	E (100% cevada)
Aroma amadeirado	5,45 ^{ab}	7,02 ^a	4,62 ^b
Aroma adocicado	4,16 ^a	5,36 ^a	4,07 ^a
Gosto doce	4,85 ^a	4,88 ^a	3,46 ^a
Gosto ácido	3,88 ^a	2,44 ^a	3,97 ^a
Gosto amargo	2,67 ^{ab}	2,19 ^b	4,42 ^a
Intensidade do retrogosto	4,80 ^a	3,86 ^a	5,24 ^a
Adstringência	3,24 ^a	2,60 ^a	4,10 ^a
Aveludado	5,39 ^a	5,95 ^a	3,85 ^a

Médias seguidas por letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

O destilado produzido a partir de 50% caldo de cana e 50% malte de cevada (tratamento C) forneceu maior percepção para os atributos “aroma amadeirado”, “aroma adocicado”, “gosto doce” e “aveludado”, que são características sensoriais que favorecem a qualidade da bebida (Figura 11). Em contrapartida, o destilado produzido apenas com mosto de malte de cevada (tratamento E) apresentou maior destaque para os atributos que não beneficiam a qualidade de um destilado, como “gosto ácido”, “gosto amargo” e “adstringência”. A adstringência é a sensação de secura na boca durante a degustação, sendo considerada um atributo prejudicial à qualidade sensorial da bebida (CARDELO; FARIA, 1997). Além disso, o destilado E apresentou maior valor para intensidade de retrogosto, que é caracterizado pelo prolongamento de sensações, neste caso desagradáveis, após a deglutição do destilado. Para destilados envelhecidos, este atributo está ligado à presença de compostos

fenólicos da madeira que são extraídos durante o processo de envelhecimento (AYLOTT; MACKENZIE, 2010). O destilado produzido apenas com caldo de cana (A) não se destacou na avaliação dos atributos e apresentou resultados intermediários nas avaliações dos descritores sensoriais.

Figura 11 – Perfil sensorial dos destilados dos tratamentos A, C e E

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As análises físico-químicas e sensoriais foram eficientes para a caracterização dos destilados produzidos a partir de matérias-primas diferentes e geraram informações importantes para a obtenção de uma nova bebida de qualidade.

Durante o processo de produção das bebidas finais, a aplicação das técnicas de bidestilação e envelhecimento permitiram a obtenção de resultados corroborantes com a literatura. Foi comprovada a eficiência da técnica de bidestilação para reduzir a concentração de alguns compostos a níveis aceitáveis pela legislação. Verificou-se também a dinâmica do processo de envelhecimento da bebida bidestilada, com o efeito da madeira de carvalho na composição de congêneres de maturação presentes no destilado, bem como com alterações tanto para os congêneres voláteis, notável pelo coeficiente de congêneres, quanto para os contaminantes, tais como cobre e carbamato de etila.

A utilização dos mostos combinados e a dupla destilação mostraram que podem ser boas alternativas para obtenção de um destilado com baixa concentração de carbamato de etila. Mostos combinados com maior porcentagem de malte de cevada apresentaram menor formação de carbamato de etila. A bidestilação reduziu a concentração de carbamato de etila em todos os tratamentos. Porém, o envelhecimento aumentou a concentração de carbamato de etila nos destilados A, B e C. Esse foi o único contaminante presente nos destilados envelhecidos que esteve acima dos limites permitidos pela legislação de aguardente de cana. Os destilados dos tratamentos D e E (com mais da metade de mosto de malte de cevada na composição) apresentaram-se abaixo do limite de 210 μL .

Todos os congêneres de maturação estudados foram detectados logo aos 30 dias de envelhecimento dos destilados, independentemente da formulação dos mostos. Da concentração total dos congêneres de maturação ao final do período de envelhecimento, mais da metade já havia sido incorporado ao destilado nos primeiros 30 dias de contato com a madeira do barril. Os compostos da madeira que mais se incorporaram aos destilados durante o envelhecimento foram o siringaldeído e o ácido gálico. O destilado produzido exclusivamente a partir de caldo de cana (Tratamento A) apresentou a maior concentração total de compostos de envelhecimento.

A análise sensorial foi um recurso essencial para avaliar a qualidade dos destilados finais. Além disso, os testes aplicados permitiram apontar efeitos perceptíveis entre os tratamentos. No teste sensorial descritivo, o destilado produzido a partir de proporções iguais das matérias-primas (tratamento C) destacou-se para os parâmetros que favorecem e agregam

qualidade à bebida. O destilado do tratamento produzido apenas com mosto de malte de cevada (tratamento E) apresentou maior intensidade para os atributos que podem estar ligados à rejeição da bebida pelo consumidor. Portanto, conclui-se que a bebida final de maior aceitação sensorial foi a produzida a partir de quantidades iguais de mostos de malte de cevada e caldo de cana-de-açúcar (tratamento C).

De acordo com as análises do perfil químico e sensorial das bebidas pode-se inferir que a combinação de mostos de malte de cevada e caldo de cana-de-açúcar contribuiu para a produção de destilados de melhor qualidade. O presente estudo comprova que o uso de metodologias e técnicas já existentes para a produção de uma nova bebida a partir da combinação de matérias-primas diferentes pode apresentar resultados satisfatórios. Entretanto, ressalta-se a importância da continuidade desse estudo para afinar a definição da combinação de mostos mais adequada, para assim confirmar a viabilidade e eficiência do processo.

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, F.M. **Processo de fabricação do açúcar**. 3. ed. Recife: Ed. Universitária da Universidade Federal de Pernambuco, 2011. 447 p.
- ALCARDE, A.R. **Cachaça: ciência, tecnologia e arte**. São Paulo: Edgard Blücher, 2014. 96 p.
- ALCARDE, A.R.; SOUSA, P.A.; BELLUCO, A.E.S. Chemical profile of sugarcane spirits produced by Double distillation methodologies in rectifying still. **Ciência e Tecnologia Alimentar**, Campinas, v. 31, p. 355-360, 2011.
- ALCARDE, A.R.; SOUZA, L.M.; BORTOLETTO, A.M. Ethyl carbamate kinetics in double distillation of sugar cane spirit. **Journal of the Institute of Brewing**, London, v. 118, n. 1, p. 27–31, 2012a.
- _____. Ethyl carbamate kinetics in double distillation of sugar cane spirit. Part 2: Influence of type of pot still. **Journal of the Institute of Brewing**, London, v. 118, p. 352-355, 2012b.
- _____. Formation of volatile and maturation-related congeners during the aging of sugarcane spirit in oak barrels. **Journal of the Institute of Brewing**, London, v. 120, p. 529-536, 2014.
- ALCARDE, A.R.; SOUZA, P.A.; BOSQUEIRO, A.C.; BELLUCO, A.E.S. Perfil físico-químico de aguardente de cana-de-açúcar produzida por metodologias de dupla destilação em alambique simples. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, Araraquara, v. 20, n. 3, p. 499-506, jul./set. 2009.
- _____. Cinética de volatilização de componentes secundários de aguardente de cana-de-açúcar durante dupla destilação em alambique simples. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 13, n. 4, p. 271-78, 2010.
- AMERINE, M.A.; OUGH, C.S. **Methods for analysis of musts and wines**. New York: John Wiley, 1980. 341 p.
- AMERINE, M.A.; BERG, H.W.; CRUESS, W.V. Brandy production. In: AMERINE, M.A. (Ed.). **Technology of wine making**. 3rd ed. Westport: AVI, 1972. chap. 17, p. 600-644.
- ANDRADE-SOBRINHO, L.G.; BOSCOLO, M.; LIMA-NETO, B.S.; FRANCO, D.W. Carbamato de etila em bebidas alcoólicas (cachaca, tiquira e grapa). **Química Nova**, Rio de Janeiro, v. 25, p. 1074–1077, 2002.
- ANJOS, J.P.; CARDOSO, M.G.; SACZK, A.A.; ZACARONI, L.M.; SANTIAGO, W.D.; DÓREA, H.S.; MACHADO, A.M.R. Identificação do carbamato de etila durante o armazenamento da cachaca em tonel de carvalho (*Quercus* sp) e recipiente de vidro. **Química Nova**, São Paulo, v. 34, p. 874–878, 2011.
- AQUARONE, E.; LIMA, U.A.; BORZANI, W. **Biotechnologia: alimentos e bebidas produzidas por fermentação**. São Paulo: Edgard Blücher, 1983. v. 5, 243 p.

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

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE BEBIDAS. Disponível em: <<http://www.abrabe.org.br/>>. Acesso em: 08 nov. 2014.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS E TÉCNICAS. **NBR 13170**: teste de ordenação em análise sensorial. São Paulo, 1994. 7 p.

AYLOTT, R.I.; MACKENZIE, W.M. Analytical strategies to confirm the generic authenticity of Scotch Whisky. **Journal of the Institute of Brewing**, London, v. 116, n. 3, p. 215–229, 2010.

AYLOTT, R.I.; COCHRANE, G.C.; LEONARD, M.J.; MACDONALD, L.S.; MACKENZIE, W.M.; MCNEISH, A.S.; WALKER, D.A. Ethyl carbamate formation in grain based spirits. Part I: Post-distillation ethyl carbamate formation in maturing grain whisky. **Journal of the Institute of Brewing**, London, v. 96, p. 213–221, 1990.

ÄYRÄPÄÄ, T. Biosynthetic formation of higher alcohols by yeast: dependence on the nitrogenous nutrient level of the medium. **Journal of the Institute of Brewing**, London, v. 77, p. 266–276, 1971.

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 e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 3, p. 618–624, 2003.

BARBOZA, R.A.B.; MENEGHIN, M.C.; SANTOS, V.R.; FONSECA, S.A.; FARIA, J.B. Efeito do envelhecimento na qualidade da cachaça produzida por pequenos produtores. **Revista Ciência em Extensão**, São Paulo, v. 6, n. 2, p. 54, 2010.

BERRY, D.R. Alcoholic beverage fermentations. In: LEA, A.G.H.; PIGGOTT, J.R. (Ed.). **Fermented beverage production**. London: Blackie Academic & Professional, 1995. p. 32–44.

BIZELLI, L.C.; RIBEIRO, C.A.F.; NOVAES, F.V. Dupla destilação da aguardente de cana: teores de acidez total e de cobre. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 57, n. 4, p. 623–627, out./dez. 2000.

BOOTH, M.; SHAW, W.; MORHALO, L. Blending and bottling. In: PIGGOTT, J.R.; SHARP, R.; DUNCAN, R.E.B. (Ed.). **The science and technology of whiskies**. Longman Scientific and Technical, 1989. p. 295–326.

BORTOLETTO, A.M.; ALCARDE, A.R. Congeners in sugar cane spirits aged in casks of different woods. **Food Chemistry**, Reading, v. 139, p. 695–701, 2013.

BOSQUEIRO, A.C. **Composição química da aguardente de cana-de-açúcar ao longo do processo de dupla destilação em alambiques simples**. 2010. 84 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

BOZA, Y.; HORII, J. Influência do grau alcoólico e da acidez do destilado sobre o teor de cobre na aguardente. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, n. 3, p. 279-284, 2000.

_____. Influência do grau alcoólico e da acidez do destilado sobre o teor de cobre na aguardente de cana. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 18, n. 1, p. 85-94, 2001.

BRAGA, B.S. **A influência da temperatura na condução de dois processos fermentativos para produção de cachaça**. 2006. 90 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

BRASIL. Leis, decretos, etc. Instrução Normativa nº 13 de 29 de junho de 2005. **Diário Oficial da União**. Brasília, 30 jun. 2005a. Seção I, p. 3.

_____. Instrução Normativa nº 24 de 8 de setembro de 2005. **Diário Oficial da União**, Brasília, 09 set. 2005b. Seção I, p. 11.

_____. Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009. **Diário Oficial da União**, Brasília, 05 jun. 2009. Seção I, n. 106, p. 20.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº IN nº 15 de 31 de Março de 2011. **Diário Oficial da União**, Brasília, 01 abr. 2011. Seção I, n. 63, p. 4.

BROOM, D. **O atlas mundial do whisky**. Tradução de T. Jeronymo. São Paulo: Ed. Lafonte, 2011. 320 p.

CALDAS, C. **Novo manual para laboratórios sucroalcooleiros**. Piracicaba: Sociedade dos Técnicos Açucareiros e Alcooleiros do Brasil, 2012. 744 p.

CAMPBELL, I. Yeast and fermentation. In: RUSSELL, I. **Whisky: technology, production and marketing**. London: Academic Press, 2003. p. 155–180.

CARDELLO, H.M.A.B.; FARIA, J.B. Modificações físico-químicas e sensoriais de cachaça de cana durante o envelhecimento em tonel de carvalho (*Quercus alba* L.). **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 15, n. 2, p. 87-100, 1997.

CARDOSO, D.R.; LIMA-NETO, B.S.; FRANCO, D.W. Influência do material do destilador na composição química das aguardentes de cana: parte II. **Química Nova**, São Paulo, v. 26, n. 2, p.165-169, mar./abr. 2003.

CARDOSO, M.G. Análises físico-químicas de aguardentes. In: _____. **Produção artesanal de aguardente**. Lavras: UFLA, FAEPE, 1998. p. 107-121.

_____. Análises físico-químicas de aguardente. In: _____. **Produção de aguardente de cana-de-açúcar**. Lavras: UFLA, FAEPE, 2001. p. 152-173.

_____. **Produção de aguardente de cana**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2006.

CARDOSO, M.G.; CAMPOS, G.A.; SILVA, R.A.; SANTOS, C.D.; PINTO, A.P.; SILVA, C.F. Cachaça: qualidade e produção. **Boletim Técnico Série Extensão**, Lavras, v. 8, n. 53, p. 1-26, 1999.

CAVALCANTI, A.F. **Bidestilação em alambiques contendo dispositivos de prata e cobre e sua influência na qualidade da cachaça**. 2009. 95 p. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2009.

CLEGG, B.S.; FRANK, R. Detection and quantitation of trace levels of ethyl carbamate in alcoholic beverages by selected ion monitoring. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 36, n. 3, p. 502-505, 1988.

CLYNE, J.; CONNER, J.M.; PATERSON, A.; PIGGOTT, J.R. The effect of cask charring on Scotch whisky maturation. **International Journal of Food Science and Technology**, Glasgow, v. 28, p. 69–81, 1993.

CONN, E.E.; STUMPF, P.K. **Introdução à bioquímica**. São Paulo: Edgard Blücher, 1980. 525 p.

CONNER, J.; REID, K.; JACK, F. Maturation and blending. In: RUSSELL, I.; STEWART, G.; BAMFORTH, C. **Whisky: technology, production and marketing**. London: Elsevier, 2003. chap. 7, p. 209-240.

CONNER, J.M.; REID, K.; RICHARDSON, G. SPME analysis of flavour components in the headspace of Scotch whisky and their subsequent correlation with sensory perception. In: LELAND, J.; SCHIEBERLE, P.; BUETTNER, A.; ACREE, T. (Ed.). **Gas chromatography – olfactometry: the state of the art**. Washington: American Chemical Society, 2001. p. 113–122.

CONNER, J.M.; PATERSON, A.; BIRKMYRE, L.; PIGGOTT, J.R. Role of organic acids in maturation of distilled spirits in oak casks. **Journal of the Institute of Brewing**, London, v. 105, n. 5, p. 287-291, Sept./Oct. 1999.

COOK, R.; McCAIG, N.; McMILLAN, J.M.B.; LUMSDEN, W.B. Ethyl carbamate formation in grain-based spirits: Part III. The primary source. **Journal of the Institute of Brewing**, London, v. 96, p. 233–244, 1990.

DAIROU, V.; SIEFFERMANN, J.M. A comparison of 14 jams characterized by conventional profile and a quick original method, the flash profile. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 67, p. 826-834, 2002.

DANTAS, H.J.; VILAR, F.A.; SILVA, F.L.H.; SILVA, A.S. Avaliação da influência da velocidade de destilação na análise físico química de aguardente de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 9, n. 2, p. 101-109, 2007.

DEBOURG, A. Yeast flavor metabolites. In: E.B.C SYMPOSIUM YEAST PHYSIOLOGY – A NEW ERA OF OPPORTUNITY, 1999, Nutfield. Nutfield: European Brewery Convention, 1999. p. 60. (Monograph, 28).

DIAS, S.; MAIA, A.; NELSON, D. Efeito de diferentes madeiras sobre a composição da aguardente de cana envelhecida. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 18, n. 3, p. 331-336, 1998.

DIAS, S.M.B.C. Fatores que influenciam no processo de envelhecimento da cachaça. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 30, n. 248, p. 32-40, jan./fev. 2009.

DICKINSON, J.R. The catabolism of branched-chain amino acids to fusel alcohols. In: E.B.C SYMPOSIUM YEAST PHYSIOLOGY – A NEW ERA OF OPPORTUNITY, 1999, Nutfield. Nutfield: European Brewery Convention, 1999. p. 74. (Monograph, 28).

DOLAN, T.C.S. Malt whiskies: raw materials and processing. In: RUSSELL, I.; STEWART, G.; BAMFORTH, C. **Whisky: technology, production and marketing**. London: Elsevier, 2003. chap. 2, p. 27-73.

DRAGONE, G.; FLÓREZ, M.D.G.; GARCÍA, M.A.V.; SILVA, J.B.A. Uísque. In: VENTURINI FILHO, W.G. (Ed.). **Bebidas alcoólicas: ciência e tecnologia**. São Paulo: Edgard Blücher, 2010. cap. 20, p. 385-410.

FARIA, J.B. **A influência do cobre na qualidade das aguardentes da cana (*Saccharum officinarum* L.)**. 1989. 88 p. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1989.

_____. Sobre a produção de aguardente de cana. **O Engarrafador Moderno**, São Paulo, n. 40, p. 9-16, 1995.

FARIA, J.B.; CARDELLO, H.M.A.B.; FRANCO, D.W.; BÔSCOLO, M. **Influência do tipo de madeira e de tonéis para envelhecimento de aguardente de cana em sua aceitabilidade**. Campinas: UNICAMP, Faculdade de Engenharia de Alimentos, 2003. 57p.

FORLIN, F.J. **Maturação de aguardente de cana composta com extrato de madeira de carvalho em embalagem de Polietileno tereftalato (PET)**. 2005. 182 p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

GALINARO, C.A. **Da formação e controle de carbamato de etila em aguardentes**. 2011. 125 p. Tese (Doutorado em Química Analítica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2011.

GALINARO, C.A.; FRANCO, D.W. Formação de carbamato de etila em aguardentes recém-destilladas; proposta para seu controle. **Química Nova**, São Paulo, v. 34, n. 6, p. 996–1000, 2011.

GIMENEZ MARTINEZ, R.; LOPEZ GARCIA DE LA SERRANA, H.; VILLALON MIR, M.; NAVARRO ALARCON, M.; OLALLA HERRERA, M.; CABRERA VIQUE, C.; LOPEZ MARTINEZ, M.C. Study of vanillin syringaldehyde and gallic acid content in oak wood and wine spirits mixtures: influence of heat treatment and chip size. **Journal of Wine Research**, London, v. 12, p. 175-182, 2001.

GUYMON, J.F. Chemical aspects of distilling wines into brandy. **Advances in Chemistry**, Washington, v. 137, p. 232-253, 1974.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo, 2008. 1020 p.

INSTITUTO BRASILEIRO DA CACHAÇA. Disponível em: <<http://www.ibrac.net/>>. Acesso em: 08 nov. 2014.

INSTITUTO BRASILEIRO DE OPINIÃO PÚBLICA E ESTATÍSTICA. **Mercado de bebidas deve movimentar cerca de R\$ 6,8 bilhões em 2013**. Disponível em: <<http://www.ibope.com.br/pt-br/noticias/Paginas/Mercado-de-bebidas-deve-movimentar-cerca-de-6-bilhoes-em-2013.aspx>> Acesso em: 20 mar. 2013.

JACK, F.R. Whiskies: composition, sensory properties and sensory analysis. In: PIGGOTT, J.R. (Ed.) **Alcoholic beverages: sensory evaluation and consumer research**. Cambridge: Woodhead Publ., 2012. chap. 19, p. 379-394.

JAGANATHAN, J.; DUGAR, S.M. Authentication of straight whiskey by determination of the ratio of furfural to 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde. **Journal of AOAC International**, Rockville, v. 82, n. 4, p. 997-1001, 1999.

JANZANTTI, N.S. **Compostos voláteis e qualidade de sabor da cachaça**. 2004. 179 p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

JERONIMO, E.M. **O nitrogênio proteico na fermentação alcoólica e sua influência na qualidade da cachaça**. 2004. 130 p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

JONES, D.A. Why are so many food plants cyanogenic? **Phytochemistry**, Oxford, v. 47, n. 2, p. 155-162, 1998.

KAO, J. Criatividade: arte e disciplina. In: JÚLIO, C.A.; SALIBI NETO, J. (Org.). **Inovação e Mudança: autores e conceitos imprescindíveis**. São Paulo: Publifolha, 2001. p. 139-146. (Coletâneas HSM Management).

KURTZMAN, C.P.; PISKUR, J. Taxonomy and phylogenetic diversity among the yeasts. In: SUNNERHAGEN, P.; PISKUR, J. (Ed.). **Comparative genomics: using fungi as models**. Berlin: Springer Verlag, 2006. v. 15, p. 29-46.

LACHENMEIER, D.W.; FRANK, W.; KUBALLA, T. Application of tandem mass spectrometry combined with gas chromatography to the routine analysis of ethyl carbamate in stone-fruit spirits. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, Chichester, v. 19, n. 2, p. 108-112, 2005.

LANÇAS, F.M. **Validação de métodos cromatográficos**: métodos cromatográficos de análise. São Carlos: Ed. Rima, 2004. 62 p.

LAWRENCE, J.F.; PAGE, B.D.; CONACHER, H.B.S. The formation and determination of ethyl carbamate in alcoholic beverages. **Advances in Environmental Science & Technology**, Washington, v. 23, p. 457-471, 1990.

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

LES CAHIERS ITINÉRAIRES D'ITV FRANCE. France Technologie. 2003. Disponível em: <http://saturne.io.reseauconcept.net/saisie/upload/137029/Itin%C3%A9raires_6.pdf>. Acesso em: 14 abr. 2014.

LEWIS, M.J.; YOUNG, T.W. **Brewing**. 2nd ed. New York; Boston; Dordrecht; London; Moscow. Kluwer Academic; Plenum Publishers, 2003. 398 p.

LITCHEV, V. Influence of oxidation processes on the development of the taste and flavor of wine distillates. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 40, n. 1, p. 31-35, 1989.

LIMA, U.A. Aguardentes. In: AQUARONE, E.; LIMA, U.A.; BORZANI, W. **Alimentos e bebidas produzidas por fermentação**. São Paulo: Edgard Blucher, 1983. cap. 4, p. 79-102. (Série Biotecnologia, 5).

_____. **Aguardente**: fabricação em pequenas destilarias. Piracicaba: FEALQ, 1999. 187 p.

LUCENA, V.G. O problema do cobre nas aguardentes. **Brasil Açucareiro**, Rio de Janeiro, v. 51, p. 14-18, 1959.

MACHADO, A.M.R.; CARDOSO, M.D.C.; SACZK, A.A.; ANJOS, J.C.P.; ZACARONIC, L.M.; DÓREAD, A.S.; NELSON, D.L. Determination of ethyl carbamate in cachaça produced from copper stills by HPLC. **Food Chemistry**, Reading, v. 138, n. 2/3, p. 1233-1238, 2013.

MacNAMARA, K.; HOFFMANN, A. Gas chromatographic technology in analysis of distilled spirits. In: WETZEL, D.; CHARALAMBOUS, G. (Ed.). **Instrumental methods in food and beverage analysis**. Amsterdam: Elsevier Science, 1998. p. 303-346.

MAIA, A.B. Componentes secundários da aguardente. **STAB. Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 12, n. 2, p. 29-39, 1994.

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

MASSON, G.; PUECH, J.L.; MOUTOUNET, M. Composition chimique du bois de tonnellerie. **Bulletin de l'O.I.V.**, Paris, n. 785/786, p. 634-644, 1996.

MASSON, J.; CARDOSO, M.G.; VILELA, F.J.; PIMENTEL, F.A.; MORAIS, A.R.; ANJOS, J.P. Parâmetros físico-químicos e cromatográficos em aguardentes de cana queimada e não queimada. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 6, p. 1805-1810, dez. 2007.

MIRANDA, M.B. **Avaliação físico-química de cachaças comerciais e estudo da influência da irradiação sobre qualidade da bebida em tonéis de carvalho**. 2005. 86 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

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

_____. Perfil físico-químico de aguardente durante envelhecimento em tonéis de carvalho. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, p. 84-89, dez. 2008. Suplemento.

MOSEDALE, J.R.; PUECH, J.L. Wood maturation of distilled beverages. **Trends in Food Science & Technology**, Colney, v. 9, n. 3, p. 95-101, 1998.

MUTTON, M.J.R.; MUTTON, M.A. Aguardente de cana. In: VENTURINI FILHO, W.G. (Ed.). **Bebidas alcoólicas: ciência e tecnologia**. São Paulo: Edgard Blucher, 2010. cap. 12, p. 237-266.

NASCIMENTO, E.S.P. **Ésteres em aguardente de cana: seu perfil**. 2007. 132 p. 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. Influência do material do alambique na composição química das aguardentes de cana-de-açúcar. **Química Nova**, Rio de Janeiro, v. 21, n. 6, p. 735-39, 1998.

NASCIMENTO, R.F.; BEZERRA, C.W.; FURUYA, S.M.B.; SCHULTZ, M.S.; POLASTRO, L.R.; LIMA-NETO, B.S.; FRANCO, D.W. Metal profiles of Brazilian cachacas and other international spirits. **Journal of Food Composition and Analysis**, New York, v. 12, p. 17-25, 1999.

NICOL, D.A. Batch distillation. In: RUSSELL, I.; STEWART, G.; BAMFORTH, C. **Whisky: technology, production and marketing**. London: Elsevier, 2003. chap. 5, p. 155–180.

NISHIMURA, K.; MATSUYAMA, R. Maturation and maturation chemistry. In: PIGGOTT, J.R.S.R.; DUNCAN, R.E.B. **The science and technology of whiskies**. New York: Longman Scientific & Technical, 1989. p. 235-264.

NÓBREGA, I.C.C.; PEREIRA, J.A.P.; PAIVA, J.E.; LACHENMEIER, D.W. Ethyl carbamate in pot still cachaças (Brazilian sugarcane spirits): Influence of distillation and storage conditions. **Food Chemistry**, Reading, v. 117, p. 693–697, 2009.

_____. Ethyl carbamate in cachaça (Brazilian sugarcane spirit): extended survey confirms simple mitigation approaches in pot still distillation. **Food Chemistry**, Reading, v. 127, n. 3, p. 1243–1247, 2011.

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

NOVAES, F.V. **Tecnologia da aguardente**. Piracicaba: CALQ, 1974. 143 p.

_____. **Noções básicas sobre a teoria da destilação**. Piracicaba: ESALQ, Depto. de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, 1994. 22 p.

NYKÄNEN, L. Formation and occurrence off flavor compounds in wine and distilled alcoholic beverages. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 37, p. 89-96, 1986.

NYKÄNEN, L.; NYKÄNEN, I. Distilled beverages. In: MAARSE, H. (Ed). **Volatile compounds in food and beverages**. New York: Marcel Dekker, 1991. p. 548-580.

NYKÄNEN, L.; SUOMALAINEN, H. **Aroma of beer, wine and distilled alcoholic beverages**. Dordrecht: D. Reidel Publ., 1983. 413 p.

OLIVEIRA, B.M. **Comportamento killer em leveduras associadas à fermentação espontânea do mosto da cana-de-açúcar de produtores de cachaça de alambique da Bahia**. 2009.123 p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2009.

OLIVEIRA, E.S. **Características fermentativas, formação de compostos voláteis e qualidade da aguardente de cana obtida por linhagens de leveduras isoladas de destilarias artesanais**. 2001. 135 p. Tese (Doutor em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2001.

OLIVEIRA, S.P.A. **Níveis de congêneres, carbamato de etila e outros contaminantes em runs e uísques de consumo popular no Brasil**. 2012. 87 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2012.

OUGH, C.S. Ethyl carbamate in fermented beverages and foods. I. Naturally occurring ethyl carbamate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 24, n. 2, p. 323–328, 1976.

PALMER, J.J. **How to brew**: everything you need to know how to brew beer right the first time. 3rd ed. Boulder: Brewers Publ., 2006. 347 p.

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 envelhecida em tonéis de carvalho (*Quercus* sp.), **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, p. 193–199, 2008.

PEREIRA, J.A.M.; ROSA, C.A.; FARIA, J.B. **Cachaça de qualidade**. Brasília: LK Editora, 2006. v. 1, 179 p.

PEREIRA, N.E.; CARDOSO, M.G.; AZEVEDO, S.M.; MORAIS, A.R.; FERNANDES, W.; AGUIAR, P.M. Compostos secundários em cachaças produzidas no Estado de Minas Gerais. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 27, n. 5, p. 1068-1075, 2003.

PERRY, D.R. Whisky maturation mechanisms. In: AVIEMORE CONFERENCE ON MALTING, BREWING & DISTILLING, 2., 1986, London. **Proceedings...** London: Institute of Brewing, 1986. p. 409–412.

PIGGOTT, J.R. (Ed.). **The science and technology of whiskies**. New York: Longman Scientific & Technical, 1989. 410 p.

PIGGOTT, J.R.; CONNER, J.M. Whiskies. In: LEA, A.G.H.; PIGGOTT, J.R. (Ed.). **Fermented beverage production**. 2nd ed. New York: Kluwer Academic; Plenum Publ., 2003. chap. 11, p. 239-262.

PIMENTEL-GOMES, F.; GARCIA, C.H. **Estatística aplicada a experimentos agrônômicos e florestais**: exposição com exemplos e orientações para uso de aplicativos. Piracicaba: FEALQ, 2002. 309 p

PINHEIRO, S.H.M. **Avaliação sensorial das bebidas aguardente de cana industrial e cachaça de alambique**. 2010. 129 p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2010.

PORTMAN, K. Hot Scotch. In: _____. **Whisky magazine**: celebrating the whiskies of the world. 2008. Disponível em: <<http://www.whiskymag.com/magazine/issue75/12008915.html>>. Acesso em: 12 mar. 2015.

PUECH, J.L. Extraction and evolution of lignin products in Armagnac matured in oak. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 32, n. 2, p. 111-114, 1981.

_____. Viellissement du cognac. **Sciences des Aliments**, Cachan, v. 4, n. 1, p. 66-80, 1983.

_____. Characteristics of oak wood and biochemical aspects of Armagnac aging. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 35, n. 2, p. 77-81, 1984.

_____. Extraction of phenolic compounds from oak wood in model solutions and evolution of aromatic aldehydes in wines aged in oak barrels. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 38, p. 236-238, 1987.

PUECH, J.L.; JOURET, C.; GOFFINET, B. Evolution of oak wood phenolic compounds during Armagnac aging. **Sciences des Aliments**, Cachan, v. 5, n. 3, p. 379-391, 1985.

QUEIROZ, C.R.A.A.; MORAIS, A.L.; NASCIMENTO, E.A. Caracterização dos taninos da aroeira-preta. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 26, n. 4, p. 485-492, 2002.

RAMIREZ-RAMIREZ, G. **Étude de la sorption des composés d'arôme du vin par le bois de chêne en système modèle d'élevage en fûts**. 2002. 346 p. Tese (Doctorat en Oenologie). Université de Bourgogne, Dijon, 2002.

RANKINE, B.C. Formation of higher alcohols by wine yeasts relationship to taste thresholds. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 18, p. 583-589, 1967.

REAZIN, G.H. Chemical mechanisms in whiskey maturation. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 32, n. 4, p. 283-289, 1981.

RIFFKIN, H.L.; WILSON, R.; HOWIE, D.; MÜLLER, S.B. Ethyl carbamate formation in the production of pot still whisky. **Journal of the Institute of Brewing**, London, v. 95, n. 2, p. 115-119, 1989.

RIPPEL, V.C.L.; COSTAMILAN, A.B.B.; ALVES, L.R.; RIPPEL, R. A inovação na produção de cachaça brasileira - uma forma de qualificar o produto na conquista de novos mercados. In: SEMINÁRIO DO CENTRO DE CIÊNCIAS SOCIAIS APLICADAS DE CASCABEL, 9., 2010, Cascavel. **Anais...**, Cascavel, 2010.

RODRIGUES, L.R.; OLIVEIRA, E.A.A.Q. Expansão da exportação de cachaça brasileira: uma nova oportunidade de negócios internacionais. In: ENCONTRO LATINO AMERICANO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 11.,; ENCONTRO LATINO AMERICANO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UNIVERSIDADE DO VALE DO PARAÍBA, 7., 2007. São José dos Campos. **Anais...** São José dos Campos: Universidade do Vale do Paraíba, 2007. p. 85-93.

ROTA, M.B. **Efeito da bidestilação na qualidade sensorial da cachaça**. 2008. 58 p. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2008.

SCOTCH WHISKY ASSOCIATION. **Statistical report**. 2013. Disponível em: <http://www.scotchwhisky.org.uk/media/69548/2013_stat_report.pdf?Action=download> Acesso em: 23 out. 2014.

SILVA, A.A. **Compostos fenólicos em madeiras brasileiras**. 2006. 129 p. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.

SILVELLO, G.C.; BORTOLETTO, A.M.; ALCARDE, A.R. Effect of juice treatment, urea addition and double distilling on ethyl carbamate formation in sugar cane spirit. In: INVESTIGAÇÃO JOVEM DA UNIVERSIDADE DO PORTO, 7., 2014, Porto. **Livro de resumos Ijup'14...** Porto, 2014. p. 315.

SINGLE MALT BRASIL. **Estratégias de destilarias traz uísque mais nobre e caro ao mercado brasileiro**. 2012. Disponível em: <<http://www.singlemaltbrasil.com.br/whisky/2012/11/estrategia-de-destilarias-traz-uisque-mais-nobre-e-carro-ao-mercado-brasileiro/>> Acesso em: 23 out. 2014.

SINGLETON, V.L. Maturation of wines and spirits: comparisons, facts, and hypothesis. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 46, p. 98-115, 1995.

SINGLETON, V.L.; DRAPER, D.E. Wood chips and wine treatment: the nature of aqueous alcohol extracts. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 12, p. 152-158, 1961.

SLAUGHTER, J.C. The biochemistry and physiology of yeast growth. In: PRIEST, F.G.; CAMPBELL, I. (Ed.). **Brewing microbiology**. 3rd ed. New York: Kluwer Academic; Plenum Publ., 2003. p. 367-392.

SOUZA, L.M.; FERREIRA, K.S.; PASSONI, L.C.; BEVITORI, A.B.; MELO, K.V.; VIANA, A.R. Teores de compostos orgânicos em cachaças produzidas na região norte fluminense. **Química Nova**, Rio de Janeiro, v. 32, n. 9, p. 2304-2309, 2009.

SOUZA, M.D.C.A.; DEL MASTRO, N.L. Irradiation of cane sugar spirit. **Radiation Physics and Chemistry**, London, v. 57, p. 257-259, 2000.

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

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM. **Sas/Qc software**: usage and reference. 2nd ed. Cary, 1996. 2 v.

STEVENS, D.F.; OUGH, C.S. Ethyl carbamate formation: Reaction of urea and citrulline with ethanol in wine under low to normal temperature conditions. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 44, n. 3, p. 309–312, 1993.

SUOMALAINEN, H. Yeast and its effect on the flavor of alcoholic beverages. **Journal of the Institute of Brewing**, London, v.77, p.164-177, 1971.

VALSECHI, O. **Aguardente de cana-de-açúcar**. 4. ed. São Paulo: Livroceres, 1960. 120 p.

VIDAL, E.E.; BILLERBECK, G.B.; SIMÕES, D.A.; SCHULER, A.; FRANÇOIS, J.M.; MORAIS, M.A. Influence of nitrogen supply on the production of higher alcohols/esters and expression of flavour-related genes in cachaça fermentation. **Food Chemistry**, Reading, v. 138, n. 1, p. 701-708, 2013.

VILELA, A.F. **Estudo da adequação de critérios de boas práticas de fabricação na avaliação de fábricas de cachaça de alambique**. 2005. 96 p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2005.

VOLPE, T.C.; BONA, E.; VITORIO, A.C. Avaliação das características físico-químicas da cachaça industrial e artesanal comercializadas no centro norte paranaense. **Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos**, Campo Mourão, v. 4, n. 2, p. 55-65, 2013.

WILSON, C.A.; JACK, F.R.; PRIEST, F.G. The role of water composition on malt spirit quality. In: WORLDWIDE DISTILLED SPIRITS CONFERENCE, 3., 2010, Nottingham. **New horizons**: energy, environment and enlightenment; proceedings... Nottingham University Press, 2010. p. 269-275.

WINDHOLZ, M.; BUDAVARI, S. (Ed.) **The Merck index:** an encyclopedia of chemicals and drugs. 9th ed. Rahway: Merck & Co, 1976. 1835 p.

YOKOYA, F. **Fabricação da aguardente de cana.** Campinas: Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia “André Tosello”, 1995. 92 p. (Série Fermentações Industriais, 2).

ZACARONI, L.M. **Compostos fenólicos e cumarinas:** certificação de um método analítico para caracterização e quantificação em aguardentes de cana envelhecidas em barris de diferentes espécies de madeira. 2009. 138 p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

APÊNDICES

Apêndice A – Modelo de ficha para teste ordenação-preferência
Qualidade da bebida destilada a partir do mosto combinado de malte de cevada e caldo de cana de açúcar

O objetivo deste trabalho é testar combinações de mostos de cevada e de caldo de cana de açúcar na elaboração de uma bebida destilada que apresente complexidade química e sensorial e indique um produto inovador.

Você está recebendo cinco amostras codificadas, avalie cada uma na ordem crescente de sua preferência quanto aos parâmetros: cor, sabor, aroma e impressão global.

COR	_____	_____	_____	_____	_____
SABOR	_____	_____	_____	_____	_____
AROMA	_____	_____	_____	_____	_____
IMPRESSÃO GLOBAL	_____	_____	_____	_____	_____
	(- preferida)			(+ preferida)	

Apêndice B – Modelo de ficha de seleção dos provadores participantes das análises sensoriais

Seleção de provadores para análise sensorial de aceitação de bebida destilada a partir de mosto combinado.

Prezado provador, para que possamos recrutá-lo para a análise sensorial, precisamos que você responda com sinceridade os itens abaixo.

Nome: _____ data __/__/__

1. Você possui idade acima de 18 anos e abaixo de 60 anos? ()sim ()não
2. Você pesa acima de 60kg? ()sim ()não
3. Possui alguma doença crônica, gravidez ou está amamentando? ()sim ()não
4. Você toma algum medicamento? ()sim ()não
5. Você aprecia o produto? ()sim () não
6. Você costuma ingerir bebidas alcoólicas em excesso? ()sim ()não

Obrigada!

Apêndice C – Modelo de ficha do teste sensorial descritivo**AVALIAÇÃO SENSORIAL OLFATIVA E GUSTATIVA****Aroma amadeirado**

nenhum_____ muito

Aroma adocicado (baunilha, caramelo, mel)

nenhum_____ muito

Gosto doce

nenhum_____ muito

Gosto ácido (agressividade em boca, pungência)

nenhum_____ muito

Gosto amargo

nenhum_____ muito

Intensidade do retrogosto (duração do sabor após a deglutição)

nenhuma_____ muito

Adstringência (secagem da boca)

nenhuma_____ muito

Aveludado (agradável, não agressivo, prazeroso)

nenhum_____ muito

ANEXOS

Anexo A - Parecer do comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA "LUIZ DE QUEIROZ"

Av. Pádua Dias, 11 • Caixa Postal 9 • Cep 13418-900 • Piracicaba, SP - Brasil
Fone (19) 3429-4100 • Fax (19) 3422-5925
<http://www.esalq.usp.br>

COET/190
Piracicaba, 29 de maio de 2014

Ilma. Sra.
Mestranda Ana Carolina Corrêa
Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição
ESALQ/USP

Prezada Pesquisadora:

Comunico que o Projeto de Pesquisa, com o Protocolo nº 141, intitulado "QUALIDADE DA BEBIDA DESTILADA A PARTIR DO MOSTO COMBINADO E MALTE DE CEVADA E CALDO DE CANA DE AÇÚCAR", foi aprovado inicialmente pelo Comitê de Ética em Pesquisa da ESALQ, em reunião de 28 de maio de 2014, estando a pesquisadora ciente da necessidade de apresentar relatórios semestrais e relatório final para finalizar o processo.

Atenciosamente,

Prof. Dr. Ernani Porto
Coordenador do CEP/ESALQ