

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

Composição química e características sensoriais de cachaças monodestiladas
produzidas com leveduras selecionadas e fermento natural

Ana Carolina Corrêa

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

Piracicaba
2020

Ana Carolina Corrêa
Mestra em Ciência e Tecnologia de Alimentos

Composição química e características sensoriais de cachaças monodestiladas produzidas com leveduras selecionadas e fermento natural

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

Tese apresentada para obtenção do título de Doutora em Ciências. Área de concentração: Ciência em Tecnologia de Alimentos

Piracicaba
2020

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

Corrêa, Ana Carolina

Composição química e características sensoriais de cachaças monodestiladas produzidas com leveduras selecionadas e fermento natural / Ana Carolina Corrêa. - - Piracicaba, 2020.

193 p.

Tese (Doutorado) - USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Cachaça 2. Fermentação alcoólica 3. Composição química 4. Qualidade sensorial I. Título

DEDICATÓRIA

Dedico aos produtores de cachaça, aos apreciadores e a todos que trabalham para o progresso do nosso destilado.

AGRADECIMENTOS

À minha família, especialmente aos meus pais, João e Erika, e ao meu irmão Gustavo e minha cunhada Nayara, pelo incentivo, compreensão e por me ampararem a todo e qualquer momento.

Ao meu namorado Denis por todo apoio nos últimos meses.

Ao meu orientador, Prof. Dr. André, pela oportunidade e confiança depositada todos esses anos, e que foram essenciais para meu desenvolvimento pessoal e acadêmico.

Aos velhos e queridos amigos de trabalho Aline, Giovanni, Lethicia e Mariana pela amizade, pelos momentos de descontração, pelos ensinamentos, pela força e parceria durante todos esses anos.

Aos parceiros, alunos e ex-alunos do Laboratório de Tecnologia e Qualidade de Bebidas, Alice, Nicolas, Amanda, Bianca, Karine, Maitê, Marcelo, Giulia, Paulo, Aline Nasc., Thiago e Zoé pela amizade e por terem contribuído, de alguma forma, para a realização desse trabalho.

Às amigas da pós-graduação Luisa, Marcelle e Mariane pela companhia, troca de conhecimentos e pelas gargalhadas dos almoços, cafés e happy hours.

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

A todos os meus amigos pela força, incentivo e momentos de descontração.

Aos funcionários do departamento Pedrinho, Rose, Silvino, Dito e Joana pela simpatia e por todo auxílio concedido.

Aos professores das disciplinas da pós-graduação por todo conhecimento compartilhado.

Aos membros da banca examinadora pela disponibilidade e contribuições.

Aos produtores que responderam à pesquisa e aos avaliadores que participaram da análise sensorial.

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

“A ciência nunca resolve um problema sem criar pelo menos outros dez.”

(George Bernard Shaw)

SUMÁRIO

RESUMO	10
ABSTRACT	11
LISTA DE FIGURAS	12
LISTA DE TABELAS	15
1. INTRODUÇÃO	17
1.1. Definições de Aguardente de cana e cachaça	20
1.2. Processo de produção	22
1.2.1. Cana-de-açúcar	23
1.2.2. Preparo do mosto	24
1.2.3. Fermentação	26
1.2.3.1. Fermento Natural	28
1.2.3.2. Fermento Selecionado	29
1.2.4. Destilação	30
1.2.5. Armazenamento ou Envelhecimento	32
1.2.6. Filtração, Padronização e Engarrafamento	34
1.3. Congêneres em Cachaças	34
1.3.1. Acidez Volátil	35
1.3.2. Ésteres	36
1.3.3. Aldeídos	37
1.3.4. Álcoois superiores	38
1.3.5. Metanol	39
1.3.6. Cobre, Arsênio e Chumbo	39
1.3.7. Carbamato de etila	40
1.4. Aspectos Sensoriais da Cachaça	41
REFERÊNCIAS	42
2. PERFIL QUÍMICO DE DESTILADOS PRODUZIDOS A PARTIR DE LEVEDURAS SELECIONADAS E FERMENTO NATURAL	53
RESUMO	53
ABSTRACT	53
2.1. Introdução	54
2.2. Material e métodos	56
2.2.1. Local	56
2.2.2. Preparo dos mostos	56
2.2.3. Fermentação	56
2.2.3.1. Fermento Selecionado	56
2.2.3.2. Fermento Natural	57
2.2.3.3. Condução e monitoramento do processo fermentativo	58
2.2.4. Destilação	58
2.2.5. Análises químicas	59
2.2.5.1. Grau alcoólico	59
2.2.5.2. Análises Cromatográficas	60
2.2.5.2.1. Congêneres voláteis por Cromatografia gasosa (GC-DIC)	60

2.2.5.2.2. Carbamato de etila por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massa CG-EM	60
2.2.6. Análises de dados	62
2.3. Resultados e Discussão.....	62
2.3.1. Caracterização do caldo de cana-de-açúcar.....	62
2.3.2. Caracterização dos vinhos	63
2.3.3. Viabilidade celular e população de leveduras	64
2.3.4. Compostos Voláteis.....	65
2.3.4.1. Teor Alcoólico.....	68
2.3.4.2. Aldeídos.....	70
2.3.4.3. Acetato de Etila	72
2.3.4.4. Álcoois Superiores.....	73
2.3.4.5. Ácido Acético	77
2.3.4.6. Coeficiente de Congêneres	78
2.3.4.7. Metanol.....	79
2.3.4.8. Carbamato de Etila	80
2.4. Considerações finais	81
Referências	82
3. EFEITO DO TRATAMENTO TÉRMICO DO CALDO DE CANA-DE-AÇÚCAR NA QUALIDADE QUÍMICA DE CACHAÇAS PRODUZIDAS COM DIFERENTES FERMENTOS	87
RESUMO	87
ABSTRACT	87
3.1. Introdução.....	88
3.2. Material e métodos	89
3.2.1. Local	89
3.2.2. Preparo dos mostos.....	90
3.2.3. Fermentação.....	90
3.2.3.1. Fermento Selecionado	90
3.2.3.2. Fermento Natural.....	91
3.2.3.3. Condução e monitoramento do processo fermentativo	92
3.2.4. Destilação	92
3.2.5. Análises químicas	93
3.2.5.1. Grau alcoólico e cobre.....	93
3.2.5.2. Análises Cromatográficas.....	94
3.2.5.2.1. Congêneres voláteis por Cromatografia gasosa (GC-DIC)	94
3.2.5.2.2. Carbamato de etila por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massa CG-EM	94
3.2.6. Análises de dados	96
3.2.6.1. Análise univariada	96
3.2.6.2. Análise multivariada.....	96
3.3. Resultados e Discussão.....	97
3.3.1. Caracterização dos mostos.....	97
3.3.2. Caracterização dos vinhos	97
3.3.3. Compostos Voláteis e Não Voláteis	98
3.3.3.1. Teor Alcoólico.....	100
3.3.3.2. Aldeídos.....	100
3.3.3.3. Ésteres.....	102

3.3.3.4. Acidez Volátil	104
3.3.3.5. Álcoois Superiores	105
3.3.3.6. Coeficiente de Congêneres.....	108
3.3.3.7. Metanol	110
3.3.3.8. Cobre.....	111
3.3.3.9. Carbamato de Etila.....	112
3.3.4. Análise multivariada	113
3.4. Considerações finais	119
Referências.....	119
4. PARÂMETROS DA FERMENTAÇÃO E DESTILAÇÃO COMO INFLUÊNCIA NA QUALIDADE DA CACHAÇA.....	125
RESUMO	125
ABSTRACT.....	125
4.1. Introdução	126
4.2. Material e métodos.....	128
4.2.1. Questionário para produtores	128
4.2.2. Análises químicas das amostras de cachaças fornecidas pelos produtores.....	128
4.2.2.1. Grau alcoólico e cobre	128
4.2.2.2. Análises Cromatográficas	129
4.2.2.2.1. Congêneres voláteis por Cromatografia gasosa (GC-DIC).....	129
4.2.2.2.2. Carbamato de etila por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massa CG-EM.....	129
4.3. Resultados e discussão	131
4.3.1. Respostas dos produtores	131
4.3.2. Análises Químicas.....	140
4.4. Considerações finais	144
Referências.....	144
5. CARACTERÍSTICAS SENSORIAIS DE CACHAÇAS PRODUZIDAS A PARTIR DE FERMENTOS SELECIONADOS E NATURAL	149
RESUMO	149
ABSTRACT.....	149
5.1. Introdução	150
5.2. Material e métodos.....	152
5.2.1. Local.....	152
5.2.2. Preparo dos mostos	152
5.2.3. Fermentação	152
5.2.3.1. Fermento Seleccionado.....	152
5.2.3.2. Fermento Natural	153
5.2.3.3. Condução e monitoramento do processo fermentativo.....	154
5.2.4. Destilação.....	154
5.2.5. Análises químicas	155
5.2.5.1. Grau alcoólico	155
5.2.5.2. Análises Cromatográficas	155
5.2.5.2.1. Congêneres voláteis por Cromatografia gasosa (GC-DIC).....	155
5.2.5.2.2. Carbamato de etila por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massa CG-EM.....	156

5.2.6. Análises sensoriais.....	157
5.2.6.1. Avaliadores.....	157
5.2.6.2. Napping - Ultraflash Profiling (UFP).....	158
5.2.6.3. Local.....	158
5.2.6.4. Preparo das amostras.....	159
5.2.7. Análise estatística dos dados.....	159
5.3. Resultados e discussão.....	160
5.3.1. Análises Químicas.....	160
5.3.2. Avaliação Sensorial.....	162
5.4. Considerações finais.....	167
REFERÊNCIAS.....	168
APÊNDICES.....	173
ANEXOS.....	187

RESUMO

Composição química e características sensoriais de cachaças monodestiladas produzidas com leveduras selecionadas e fermento natural

A preocupação com a qualidade química e sensorial da cachaça é crescente, principalmente devido ao surgimento de um mercado consumidor mais exigente, mas também pela sua atual importância econômica e grande aceitação no mercado nacional e internacional. Todas as etapas de fabricação da cachaça influenciam nas suas características e a fermentação alcoólica é uma das principais e afeta diretamente a sua qualidade. O objetivo deste estudo foi avaliar a influência de leveduras selecionadas e fermento natural na qualidade química e sensorial de cachaças monodestiladas. Cachaças foram produzidas pela fermentação de caldo de cana-de-açúcar utilizando leveduras *Saccharomyces cerevisiae* cepa CA-11 e cepa CanaMax (CX) e fermento natural (FN). Os vinhos foram destilados separando-se as frações “cabeça”, “coração” (cachaça) e “cauda” e a composição química das frações foi analisada. O fermento influencia na composição dos destilados e o correto corte das frações na destilação minimiza as diferenças e é decisivo no controle e qualidade das cachaças produzidas. O FN é um inóculo arriscado para produção de cachaça, pois apresentou álcoois superiores e carbamato de etila (CE) em concentrações não permitidas pela legislação. Foi analisada a contribuição do tratamento térmico do caldo de cana-de-açúcar na qualidade química das cachaças produzidas com os três tipos de fermento. O uso da CA-11 e FN em caldos com e sem tratamento resultou em cachaças com concentrações de álcoois superiores acima do limite permitido. CX atendeu os limites legais para composição volátil. Todas as cachaças excederam o limite para a concentração de cobre. O tratamento preveniu a formação do CE independentemente do fermento e FN em caldo não tratado promoveu excesso do contaminante. A análise multivariada mostrou que as variâncias estão mais relacionadas ao tipo de levedura utilizada do que com o tratamento do caldo. Foi realizado um levantamento de dados, a nível nacional, a partir de um questionário para produtores de cachaça, com alguns parâmetros das etapas de fermentação e destilação e os resultados foram relacionados com a qualidade química dos produtos fornecidos por eles. Os produtores que participaram da pesquisa e que exportam cachaça confirmam que as bebidas atendem aos padrões estabelecidos pela legislação, independentemente do tipo de fermento utilizado ou dos parâmetros do processo. Nas análises das cachaças fornecidas observou-se que a formação de alguns componentes é influenciada pelo tipo de fermento. Porém foi demonstrado que a aplicação em conjunto das Boas Práticas de Fabricação (BPFs), o uso de equipamentos adequados e a correta execução do processo de produção é que garantem a boa qualidade das cachaças. Análises sensoriais foram realizadas para determinar o perfil sensorial e identificar as possíveis diferenças entre cachaças brancas obtidas a partir dos diferentes fermentos. Além das cachaças produzidas também foi analisada uma amostra comercial para comparação com os demais tratamentos. A equipe de avaliadores levantou atributos coerentes e já utilizados para a caracterização de cachaças brancas. Os avaliadores não foram capazes de distinguir as amostras repetidas e não conseguiram identificar os possíveis parâmetros relacionados às diferenças sensoriais entre todas as cachaças estudadas.

Palavras-chave: Cachaça, Fermentação alcoólica, Composição química, Qualidade sensorial

ABSTRACT

Chemical composition and sensory characteristics of monodistilled cachaça produced with selected and natural yeast

The concern with chemical and sensory quality of cachaça is growing, mainly due to the emergence of a more demanding consumer market, but also due to its current economic importance and great acceptance in the national and international market. All the cachaça manufacturing stages influence its characteristics and alcoholic fermentation is one of the main ones and directly affects its quality. The aim of this study was to evaluate the influence of selected and natural yeast on the chemical and sensory quality of monodistilled cachaça. Cachaças were produced by fermentation of sugarcane juice using yeast *Saccharomyces cerevisiae* strain CA-11 and strain CanaMax (CX) and natural yeast (FN). The wines were distilled by separating the “head”, “heart” (cachaça) and “tail” fractions and the chemical composition of the fractions was analyzed. Yeast influences the composition of the distillates and the correct cut of the fractions in the distillation minimizes differences and is decisive in the control and quality of the cachaça produced. FN is a risky inoculum for the production of cachaça, because it showed higher alcohols and ethyl carbamate (EC) in concentrations not permitted by law. The contribution of thermal treatment of sugarcane juice to the chemical quality of cachaças produced with the three types of yeast was analyzed. The use of CA-11 and FN in worts with and without treatment resulted in cachaças with higher alcohol concentrations above the permitted limit. CX met the legal limits for volatile composition. All cachaças exceeded the limit for copper concentration. The treatment prevented the formation of the EC independently of the yeast and FN in untreated wort promoted excess of the contaminant. Multivariate analysis showed that the variances are more related to the type of yeast used than with the treatment of wort. A data survey was carried out, at national level, from a questionnaire for cachaça producers, with some parameters of fermentation and distillation stages and results were related to chemical quality of products supplied by them. The producers who participated in the research and who export cachaça confirm that the drinks meet the standards established by legislation, regardless of the type of yeast used or the process parameters. In the analysis of the cachaças provided, it was observed that the formation of some components is influenced by the type of yeast. However, it was demonstrated that the combined application of Good Manufacturing Practices, the use of appropriate equipment and the correct execution of the production process are what guarantee the good quality of cachaças. Sensory analyzes were performed to determine the sensory profile and to identify the possible differences between cachaças obtained from the different yeasts. In addition to the cachaças produced, a commercial sample was also analyzed for comparison with the other treatments. The panel raised consistent and already used attributes for the characterization of white cachaças. The assessors were unable to distinguish repeated samples and were unable to identify possible parameters related to the sensory differences between all the studied cachaças.

Keywords: Cachaça, Alcoholic fermentation, Chemical composition, Sensory quality

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fluxograma da produção de cachaça.....	23
Figura 2 - Representação esquemática do modelo da destilação de vinhos para cachaça monodestilada	31
Figura 3 - Pé-de-cuba do fermento natural, cepa canamax e cepa CA-11, respectivamente.	57
Figura 4 - Etapas de preparo do fermento natural. Preparo da mistura (A), pasta pronta (B), saco de pano com a pasta colocado dentro do becker (C), primeira adição de caldo de cana (D), caldo de cana após 72 h (E), massa de leveduras formada no 9º dia de preparo (F), massa de leveduras algumas horas depois da adição de novo caldo (G), caldo de cana fermentando (H).	58
Figura 5 - Foto (A) e esquema do alambique (B) que foi utilizado para as destilações	59
Figura 6 - Teor alcoólico (% v/v) das frações coletadas durante as destilações	68
Figura 7 - Teor alcoólico (% v/v) nas frações “cabeça”, “coração” e “cauda” da destilação de vinhos fermentados por CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural).....	69
Figura 8 - Volume total (L) das frações “coração” obtidas a partir da destilação dos vinhos fermentados por CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural). Letras iguais indicam que não há diferença significativa entre os volumes totais dos tratamentos	70
Figura 9 - Concentrações de acetaldeído (mg / 100 mL AA) nas frações “cabeça”, “coração” e “cauda” da destilação de vinhos fermentados por CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural).....	71
Figura 10 - Concentrações de furfural (mg / 100 mL AA) nas frações “cabeça”, “coração” e “cauda” da destilação de vinhos fermentados por CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural).....	72
Figura 11 - Concentrações de acetato de etila (mg / 100 mL AA) nas frações “cabeça”, “coração” e “cauda” da destilação de vinhos fermentados por CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural).....	73
Figura 12 - Concentrações de 1-propanol (mg / 100 mL AA) nas frações “cabeça”, “coração” e “cauda” da destilação de vinhos fermentados por CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural).....	74
Figura 13 - Concentrações de isobutanol (mg / 100 mL AA) nas frações “cabeça”, “coração” e “cauda” da destilação de vinhos fermentados por CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural).....	75
Figura 14 - Concentrações de isoamílico (mg / 100 mL AA) nas frações “cabeça”, “coração” e “cauda” da destilação de vinhos fermentados por CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural).....	76
Figura 15 - Soma das concentrações dos álcoois 1-propanol, isoamílico e isobutanol (mg / 100 mL AA) nas frações “cabeça”, “coração” e “cauda” da destilação de vinhos fermentados por CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural).....	76
Figura 16 - Concentrações de ácido acético (mg / 100 mL AA nas frações “cabeça”, “coração” e “cauda” da destilação de vinhos fermentados por CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural).....	78
Figura 17 - Coeficiente de congêneres (mg / 100 mL AA) nas frações “cabeça”, “coração” e “cauda” da destilação de vinhos fermentados por CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural).....	79
Figura 18 - Concentrações de metanol (mg / 100 mL AA) nas frações “cabeça”, “coração” e “cauda” da destilação de vinhos fermentados por CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural).....	80
Figura 19 - Concentrações de carbamato de etila (µg / L) nas frações “cabeça”, “coração” e “cauda” da destilação de vinhos fermentados por CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural).....	81
Figura 20 - Pé-de-cuba do fermento natural, cepa CanaMax e cepa CA-11, respectivamente.	90
Figura 21 - Etapas de preparo do fermento natural. Preparo da mistura (A), pasta pronta (B), saco de pano com a pasta colocado dentro do becker (C), primeira adição de caldo de cana (D), caldo de cana após 72 h (E), massa de leveduras formada no 9º dia de preparo (F), massa de leveduras algumas horas depois da adição de novo caldo (G), caldo de cana fermentando (H).	92
Figura 22 - Foto (A) e esquema do alambique (B) que foi utilizado para as destilações	93
Figura 23 - Teor alcoólico (% v/v) das cachaças produzidas a partir de mosto tratado (T) e não tratado (NT) fermentados com as leveduras CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural). Letras maiúsculas iguais em	

colunas de um mesmo fermento indicam que não há diferença significativa entre caldos T e NT. Letras minúsculas iguais em colunas de mesma cor indicam que não há diferença significativa entre os teores alcoólicos dos diferentes fermentos..... 100

Figura 24 - Concentrações de acetaldeído (mg / 100 mL AA) nas cachaças produzidas a partir de mosto tratado (T) e não tratado (NT) fermentados com as leveduras CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural). Letras maiúsculas iguais em colunas de um mesmo fermento indicam que não há diferença significativa entre caldos T e NT. Letras minúsculas iguais em colunas de mesma cor indicam que não há diferença significativa entre as concentrações de acetaldeído dos diferentes fermentos 101

Figura 25 - Concentrações de furfural (mg / 100 mL AA) nas cachaças produzidas a partir de mosto tratado (T) e não tratado (NT) fermentados com as leveduras CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural). Letras maiúsculas iguais em colunas de um mesmo fermento indicam que não há diferença significativa entre caldos T e NT. Letras minúsculas iguais em colunas de mesma cor indicam que não há diferença significativa entre as concentrações de furfural dos diferentes fermentos 102

Figura 26 - Concentrações de acetato de etila (mg / 100 mL AA) nas cachaças produzidas a partir de mosto tratado (T) e não tratado (NT) fermentados com as leveduras CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural). Letras maiúsculas iguais em colunas de um mesmo fermento indicam que não há diferença significativa entre caldos T e NT. Letras minúsculas iguais em colunas de mesma cor indicam que não há diferença significativa entre as concentrações de acetato de etila dos diferentes fermentos..... 103

Figura 27 - Concentrações de ácido acético (mg / 100 mL AA) nas cachaças produzidas a partir de mosto tratado (T) e não tratado (NT) fermentados com as leveduras CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural). Letras maiúsculas iguais em colunas de um mesmo fermento indicam que não há diferença significativa entre caldos T e NT. Letras minúsculas iguais em colunas de mesma cor indicam que não há diferença significativa entre as concentrações de ácido acético dos diferentes fermentos..... 105

Figura 28 - Concentrações de 1-propanol (mg / 100 mL AA) nas cachaças produzidas a partir de mosto tratado (T) e não tratado (NT) fermentados com as leveduras CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural). Letras maiúsculas iguais em colunas de um mesmo fermento indicam que não há diferença significativa entre caldos T e NT. Letras minúsculas iguais em colunas de mesma cor indicam que não há diferença significativa entre as concentrações de 1-propanol dos diferentes fermentos 107

Figura 29 - Concentrações de iso-butanol (mg / 100 mL AA) nas cachaças produzidas a partir de mosto tratado (T) e não tratado (NT) fermentados com as leveduras CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural). Letras maiúsculas iguais em colunas de um mesmo fermento indicam que não há diferença significativa entre caldos T e NT. Letras minúsculas iguais em colunas de mesma cor indicam que não há diferença significativa entre as concentrações de iso-butanol dos diferentes fermentos..... 107

Figura 30 - Concentrações de isoamílico (mg / 100 mL AA) nas cachaças produzidas a partir de mosto tratado (T) e não tratado (NT) fermentados com as leveduras CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural). Letras maiúsculas iguais em colunas de um mesmo fermento indicam que não há diferença significativa entre caldos T e NT. Letras minúsculas iguais em colunas de mesma cor indicam que não há diferença significativa entre as concentrações de iso-amílico dos diferentes fermentos..... 108

Figura 31 - Soma das concentrações de álcoois superiores (mg / 100 mL AA) das cachaças produzidas a partir de mosto tratado (T) e não tratado (NT) fermentados com as leveduras CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural). Letras maiúsculas iguais em colunas de um mesmo fermento indicam que não há diferença significativa entre caldos T e NT. Letras minúsculas iguais em colunas de mesma cor indicam que não há diferença significativa entre a soma das concentrações de álcoois superiores dos diferentes fermentos 108

Figura 32 - Coeficiente de congêneres (mg / 100 mL AA) das cachaças produzidas a partir de mosto tratado (T) e não tratado (NT) fermentados com as leveduras CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural). Letras maiúsculas iguais em colunas de um mesmo fermento indicam que não há diferença significativa entre caldos T e NT. Letras minúsculas iguais em colunas de mesma cor indicam que não há diferença significativa entre os coeficientes de congêneres dos diferentes fermentos 110

Figura 33 - Concentrações de metanol (mg / 100 mL AA) nas cachaças produzidas a partir de mosto tratado (T) e não tratado (NT) fermentados com as leveduras CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural). Letras maiúsculas iguais em colunas de um mesmo fermento indicam que não há diferença significativa entre caldos T e NT. Letras minúsculas iguais em colunas de mesma cor indicam que não há diferença significativa entre as concentrações de metanol dos diferentes fermentos..... 111

Figura 34 - Concentrações de cobre (mg / L) nas cachaças produzidas a partir de mosto tratado (T) e não tratado (NT) fermentados com as leveduras CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural). Letras maiúsculas iguais

em colunas de um mesmo fermento indicam que não há diferença significativa entre caldos T e NT. Letras minúsculas iguais em colunas de mesma cor indicam que não há diferença significativa entre as concentrações de cobre dos diferentes fermentos	112
Figura 35 - Concentrações de carbamato de etila ($\mu\text{g} / \text{L}$) nas cachaças produzidas a partir de mosto tratado (T) e não tratado (NT) fermentados com as leveduras CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural)	113
Figura 36 - Representação dos grupos de variáveis nas duas primeiras dimensões geradas na AFM, com tratamento térmico e tipos de cepas representados como variáveis suplementares.	114
Figura 37 - Representação das cachaças produzidas a partir de caldos tratados (T) e não tratados (NT) e fermentadas com as leveduras CanaMax (CX), CA-11 (CA11) e fermento natural (FN) nas duas primeiras dimensões geradas na AFM, com tratamento térmico e tipos de cepas representados como variáveis suplementares.	115
Figura 38 - Contribuição das variáveis ativas nas dimensões 1 e 2 da AFM. CE = Carbamato de etila	115
Figura 39 - Representação dos grupos de variáveis na primeira e terceira dimensão geradas na AFM, com tratamento térmico e tipos de cepas representados como variáveis suplementares.	117
Figura 40 - Representação das cachaças produzidas a partir de caldos tratados (T) e não tratados (NT) e fermentadas com as leveduras CanaMax (CX), CA-11 (CA11) e Fermento natural (FN) na primeira e terceira dimensão geradas na AFM, com tratamento térmico e tipos de cepas representados como variáveis suplementares.	118
Figura 41 - Contribuição das variáveis ativas nas dimensões 1 e 3 da AFM. CE = Carbamato de etila	118
Figura 42 - Quantidade de respostas (%) nas cinco regiões brasileiras	132
Figura 43 - Volume de produção anual (L) dos produtores	133
Figura 44 - Tipos de cachaças comercializadas por produtores (%).....	134
Figura 45 - Países e volume de exportação (%).....	135
Figura 46 - Quantidade de produtores (%) que utilizam cada tipo de fermento	137
Figura 47 - Tipos e materiais dos aparelhos destiladores utilizados pelos produtores.....	139
Figura 48 - Métodos de destilação empregado pelos produtores	140
Figura 49 - Pé-de-cuba do fermento natural, cepa CanaMax e cepa CA-11, respectivamente	153
Figura 50 - Etapas de preparo do fermento natural. Preparo da mistura (A), pasta pronta (B), saco de pano com a pasta colocado dentro do becker (C), primeira adição de caldo de cana (D), caldo de cana após 72 h (E), massa de leveduras formada no 9º dia de preparo (F), massa de leveduras algumas horas depois da adição de novo caldo (G), caldo de cana fermentando (H).....	154
Figura 51 - Foto (A) e esquema do alambique (B) que foi utilizado para as destilações.....	155
Figura 52 - Representação gráfica por análise fatorial múltipla do posicionamento realizado pelos avaliadores nas dimensões 1 e 2. CX = CanaMax; CA-11 e RepCA11 = CA-11; FN = fermento natural; COM = cachaça comercial.	164
Figura 53 - Representação gráfica por Análise Fatorial Múltipla dos atributos sensoriais levantados pelos avaliadores na primeira e segunda dimensões	165
Figura 54 - Representação gráfica por análise fatorial múltipla do posicionamento realizado pelos avaliadores, nas dimensões 2 e 3. CX = CanaMax; CA-11 e RepCA11 = CA-11; FN = fermento natural; COM = cachaça comercial.	166
Figura 55 - Representação gráfica por Análise Fatorial Múltipla dos atributos sensoriais levantados pelos avaliadores na segunda e terceira dimensões	166

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição química e requisitos de qualidade da aguardente de cana-de-açúcar e da cachaça, estabelecidos pela legislação brasileira	21
Tabela 2. Composição máxima permitida de contaminantes na aguardente de cana-de-açúcar e da cachaça, estabelecidas pela legislação brasileira.....	21
Tabela 3. Índice de retenção, (IR), Limite de Detecção (LD), e Limite de Quantificação (LQ) de congêneres voláteis e contaminantes, e coeficientes de correlação (a, b, r ²) das curvas de calibração em solução alcoólica (40 % v / v)	62
Tabela 4. 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	63
Tabela 5. Teor alcoólico, pH, Açúcares redutores residuais (ARR) e Acidez total nos vinhos das fermentações com as leveduras CanaMax (CX), CA-11, fermento natural (FN)	63
Tabela 6. Viabilidade celular (%) dos fermentos no início, durante e no final da fermentação	65
Tabela 7. População de leveduras no início da fermentação, durante e ao final do processo.....	65
Tabela 8. Médias comparadas de teor alcoólico (% v/v), congêneres voláteis (mg / 100 mL AA), metanol (mg / 100 mL AA), 1-butanol (mg / 100 mL AA) e carbamato de etila (µg / L) nas frações “Cabeça”, “Coração” e “Cauda” da destilação dos mostos fermentados pelas leveduras CanaMax (CX), CA-11 e Fermento natural (FN)	67
Tabela 9. Índice de retenção, (IR), Limite de Detecção (LD), e Limite de Quantificação (LQ) de congêneres voláteis e contaminantes, e coeficientes de correlação (a, b, r ²) das curvas de calibração em solução alcoólica (40 % v / v)	96
Tabela 10. Valores de pH, Brix, Pol, açúcares redutores (AR), açúcares redutores totais (ART) e acidez total nos mostos de caldo de cana-de-açúcar tratados (T) e não tratados (NT).....	97
Tabela 11. Teor alcoólico, pH, Açúcares redutores residuais (ARR) e Acidez total nos vinhos provenientes da fermentação de caldos tratados e não tratados e fermentados pelas leveduras CanaMax (CX), CA-11 e fermento natural (FN)	98
Tabela 12. Médias comparadas de teor alcoólico (% v/v), congêneres voláteis (mg / 100 mL AA), metanol (mg / 100 mL AA), 1-butanol e 2-butanol (mg / 100 mL AA), cobre (mg / L) e carbamato de etila (µg.L ⁻¹) nas cachaças produzidas a partir de caldo tratado (T) e não tratado (NT) e fermentados pelas leveduras CanaMax (CX), CA-11 e fermento natural (FN)	99
Tabela 13. Índice de retenção, (IR), Limite de Detecção (LD), e Limite de Quantificação (LQ) de congêneres voláteis e contaminantes, e coeficientes de correlação (a, b, r ²) das curvas de calibração em solução alcoólica (40 % v / v)	131
Tabela 14. Respostas dos cinco produtores de cachaças fornecidas para as análises químicas	141
Tabela 15. Teor alcoólico (% v / v), congêneres voláteis (mg / 100 mL AA), metanol (mg / 100 mL AA), 1-butanol (mg / 100 mL AA) e 2-butanol, carbamato de etila (µg / L) e cobre (mg / L) nas cinco amostras de cachaças.....	142
Tabela 16. Índice de retenção, (IR), Limite de Detecção (LD), e Limite de Quantificação (LQ) de congêneres voláteis e contaminantes, e coeficientes de correlação (a, b, r ²) das curvas de calibração em solução alcoólica (40 % v / v)	157
Tabela 17. Amostras de cachaça para avaliação sensorial: CanaMax (CX), CA-11, Fermento natural (FN) e marca comercial (COM).....	159
Tabela 18. Teor alcoólico (% v/v), congêneres voláteis (mg / 100mL AA), metanol (mg / 100 mL AA), 1-butanol (mg / 100 mL AA) e 2-butanol e carbamato de etila (µg / L) nas quatro amostras de cachaças. CX = CanaMax; FN = Fermento natural; COM = Cachaça comercial	161
Tabela 19. Atributos sensoriais levantados pela equipe de avaliadores.	163

1. INTRODUÇÃO

A cachaça é atualmente o 4º destilado mais consumido no mundo e o 1º destilado mais consumido no Brasil (ALCARDE, 2014). 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). Sua produção está distribuída por todo país. Um levantamento realizado em 2018 totalizou em 951 estabelecimentos produtores registrados e 3.648 cachaças registradas atualmente. O número de produtores de cachaça e de aguardentes registrados totaliza 21,96 % do total de 6.362 estabelecimentos produtores de bebidas registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 2019). Em algumas regiões a produção é mais representativa, evidenciando sua grande importância econômica e cultural nestes locais (BRASIL, 2019).

As expressões “cachaça”, “Brasil” e “cachaça do Brasil” foram definidas como indicações geográficas no Decreto nº 4.062, de 21 de dezembro de 2001. De acordo com esse Decreto, a palavra “cachaça” é de origem e uso exclusivamente brasileiro e constitui indicação geográfica para os efeitos, no comércio internacional. Em 2012, a cachaça foi reconhecida e considerada pelos Estados Unidos como produto exclusivamente brasileiro no mercado norte-americano e em 2018, em um acordo entre Brasil e México houve o reconhecimento mútuo da cachaça e da tequila, como indicações geográficas e produtos distintivos de cada país, respectivamente (BRASIL, 2019).

A preocupação com a qualidade da cachaça é crescente, principalmente devido ao surgimento de um mercado consumidor mais exigente, mas também pela sua atual importância econômica e grande aceitação no mercado nacional e internacional. Atualmente os cinco principais estados produtores do destilado são São Paulo, Pernambuco, Ceará, Minas Gerais e Paraíba e os principais consumidores são os estados de São Paulo, Pernambuco, Rio de Janeiro, Ceará, Bahia e Minas Gerais (INSTITUTO BRASILEIRO DA CACHAÇA - IBRAC, 2019).

Estima-se que a capacidade instalada de produção de cachaça do Brasil seja de 1,2 bilhão de litros por ano. Porém, a produção anual é menor que 800 milhões de litros e aproximadamente 1 % desse total é exportado. Embora seja baixa a quantidade de cachaça exportada em relação à produzida, de acordo com dados do IBRAC (2019), atualmente existe mais de 50 empresas exportadoras de cachaça e no ano de 2018 esse destilado foi exportado para 77 países. Em 2018, os principais estados exportadores em volume e valor foram São Paulo, Pernambuco, Rio de Janeiro, Paraná e Ceará. De 2015 a 2018 houve um aumento de 7,7 % em

volume exportado e os principais mercados de destino em volume atualmente são Paraguai, Alemanha, Estados Unidos, França e Portugal. Em 2017 foram exportados 8,75 milhões de litros de cachaça. Em 2018 houve uma redução de 3,8 % em volume e 1,24 % em valor exportado, gerando receita de US\$ 15,61 milhões. No mesmo ano, os principais países importadores em valor foram Estados Unidos, Alemanha, Paraguai, Portugal e Itália (IBRAC, 2019).

A fermentação alcoólica é a principal etapa para produção da cachaça e afeta diretamente a qualidade do produto final. É realizada por leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*), que metabolizam os açúcares presentes no mosto transformando-os em álcool etílico, gás carbônico e diversos outros compostos denominados compostos secundários ou congêneres (MIRANDA, 2005). Esses são os 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, 2013). A concentração de compostos secundários presentes varia de uma bebida para outra. A Legislação Brasileira estabelece limites críticos (Padrão de Identidade de Qualidade – PIQ) desses compostos na aguardente de cana-de-açúcar (MIRANDA et al., 2008). Porém, é comum encontrar cachaças comerciais que ultrapassam esses níveis de concentração de compostos permitidos.

A maioria dos pequenos produtores utiliza a fermentação natural (espontânea) como alternativa para a produção de aguardente. A fermentação natural é conduzida por microbiota mista de leveduras, provenientes da cana-de-açúcar, dos equipamentos e da mescla conhecida como “fermento caipira” (SOUZA et al., 2012). O fermento caipira pode ser originado de uma mistura de caldo de cana, milho moído, arroz, fécula e cítricos que fermenta espontaneamente para depois ser adicionada ao mosto (VICENTE et al., 2006). Os microrganismos responsáveis por esse tipo de fermentação, as leveduras autóctones, incluem espécies *Saccharomyces* e não-*Saccharomyces*. Essas leveduras são frequentemente chamadas de “nativas”, “indígenas”, “selvagens” (VARELA et al., 2009) ou “naturais”, e sua diversidade durante as fermentações pode dificultar a padronização da aguardente entre as safras. Além disso, esse tipo de fermentação pode resultar em características indesejadas e influenciar negativamente a qualidade da cachaça (ALCARDE; MONTEIRO; BELLUCO, 2012).

Alguns trabalhos têm sido realizados buscando isolar e selecionar leveduras com características favoráveis para realizar o processo fermentativo para produção de etanol combustível e também aguardente (BASSO et al., 2008; CAMPOS et al., 2010; SCHWAN et al., 2001). 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). Inóculos comerciais, previamente selecionados, podem apresentar todas essas características e permitem controlar o processo de fermentação e diminuir as variações na microbiota do meio. A utilização de leveduras selecionadas para a produção de aguardente pode contribuir para a melhora da qualidade da bebida e para a padronização da produção (GOMES et al., 2009; SILVA et al., 2009).

A boa qualidade da cachaça é evidenciada pela composição química, atendendo todos os parâmetros estabelecidos pela legislação e não apresentando riscos à saúde, mas também deve estar atrelada à qualidade sensorial, devendo ser agradável ao consumidor. A análise sensorial é capaz de detectar características que não podem ser determinadas por procedimentos analíticos (MUÑOZ et al., 1992).

O aprimoramento tecnológico e o controle de qualidade no processo de produção da cachaça somente é possível mediante conhecimento das características químicas e sensoriais da bebida final (ALCARDE; SOUZA; BELLUCO, 2010). A identificação de componentes que influenciam os atributos sensoriais é fundamental para a garantia da qualidade do destilado (ODELLO et al., 2009). Todas as etapas de fabricação da cachaça influenciam no perfil sensorial final. Portanto, o controle das características do destilado é crucial para que o produto atenda às expectativas dos consumidores e tenha boa aceitação no mercado.

Em aguardentes, a análise sensorial tem sido utilizada para determinação de características sensoriais (JANZANTI, 2004; MAÇATELLI, 2006), análise de aceitação de cachaças envelhecidas e não envelhecidas (CARDELLO; FARIA, 2000) e análise descritiva quantitativa (MARCELLINI, 2000). Alguns trabalhos recentes buscaram relacionar a influência do tipo de fermento utilizado com a qualidade química e sensorial de aguardentes. Em trabalho de Alcarde, Monteiro e Belluco (2012), aguardentes bidestiladas produzidas a partir de diferentes cepas de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* (CA-11, Y-904, BG-1, PE-2, SA-1 e CAT-1) apresentaram composições químicas distintas. Além disso, a cepa CA-11 foi a que produziu aguardente com a melhor composição química relacionada à qualidade sensorial. Gabriel et al. (2012) compararam a qualidade físico-química e o efeito do envelhecimento de cachaças produzidas a partir de fermentação natural e fermento comercial e observaram que há uma forte interação entre fermento e envelhecimento, sugerindo que substâncias produzidas por microrganismos a partir de inóculos diferentes reagem diferentemente com compostos da madeira dos barris, influenciando a qualidade sensorial das bebidas. Ainda, verificaram que a bebida envelhecida produzida com fermento comercial teve menor aceitação do que a produzida a partir da fermentação natural.

Os compostos formados pelo metabolismo da levedura durante a fermentação resultam em características complexas, favoráveis ou desfavoráveis, e definem o perfil sensorial do destilado final. Deste modo, o conhecimento da composição química e das características sensoriais de cachaças, produzidas a partir de fermentos diferentes, é essencial na determinação das melhores alternativas para a obtenção de um produto de boa qualidade.

O objetivo geral deste estudo foi avaliar a influência de leveduras selecionadas e fermento natural na qualidade química e sensorial de cachaças monodestiladas. O capítulo 2 caracteriza a qualidade química das frações “cabeça”, “coração” (cachaça) e “cauda” separadas durante a destilação dos vinhos fermentados com leveduras selecionadas comerciais e fermento natural. O capítulo 3 analisa a contribuição do tratamento térmico do caldo de cana-de-açúcar na qualidade química das cachaças produzidas com as leveduras selecionadas e fermento natural. O capítulo 4 teve por objetivo realizar um levantamento de dados a nível nacional sobre produção de cachaça e analisar e comparar os resultados obtidos com as características químicas de cachaças comerciais produzidas a partir de diferentes fermentos. No capítulo 5 foram analisadas as características sensoriais das cachaças para a melhor compreensão dos atributos que indicam diferenças relacionadas ao tipo de fermento utilizado.

1.1. Definições de Aguardente de cana e cachaça

A Instrução Normativa N° 13 de 29 de junho de 2005, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), define e fixa os Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) para Aguardente de Cana e Cachaça:

- Aguardente de Cana é a bebida com graduação alcoólica de 38 % vol (trinta e oito por cento em volume) a 54 % vol (cinquenta e quatro por cento em volume) a 20 °C (vinte graus Celsius), obtida do destilado alcoólico simples de cana-de-açúcar ou pela destilação do mosto fermentado do caldo de cana-de-açúcar, podendo ser adicionada de açúcares até 6 g / L (seis gramas por litro), expressos em sacarose.

- Cachaça é a denominação típica e exclusiva da Aguardente de Cana produzida no Brasil, com graduação alcoólica de 38 % vol (trinta e oito por cento em volume) a 48 % vol (quarenta e oito por cento em volume) a 20 °C (vinte graus Celsius), obtida pela destilação do mosto fermentado do caldo de cana-de-açúcar com características sensoriais peculiares, podendo ser adicionada de açúcares até 6 g / L (seis gramas por litro), expressos em sacarose (BRASIL, 2005a).

A aguardente de cana ou cachaça possui outros compostos além de etanol e água. Esse compostos são responsáveis pelas características sensoriais ou pelas características indesejáveis na bebida, sendo alguns 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 arsênio. 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.

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
Coefficiente de congêneres **	mg / 100 mL álcool anidro	200	650

Fonte: Brasil (2005a)

* 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

CONTAMINANTES	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 (2005a)

*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 a qualidade final (BIZELLI; RIBEIRO; NOVAES, 2000). O conhecimento da composição tanto orgânica (componentes secundários) como inorgânica (metais) da cachaça se faz necessário devido a 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 boa qualidade (CARDELLO; FARIA, 1997; RODRIGUES; OLIVEIRA, 2007; PINHEIRO, 2010; VOLPE; BONA; VITORIO, 2013).

1.2. Processo de produção

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 (Figura 1). O controle e as boas práticas de fabricação (BPF) são essenciais para a produção de uma bebida que atenda os limites estabelecidos pela legislação.

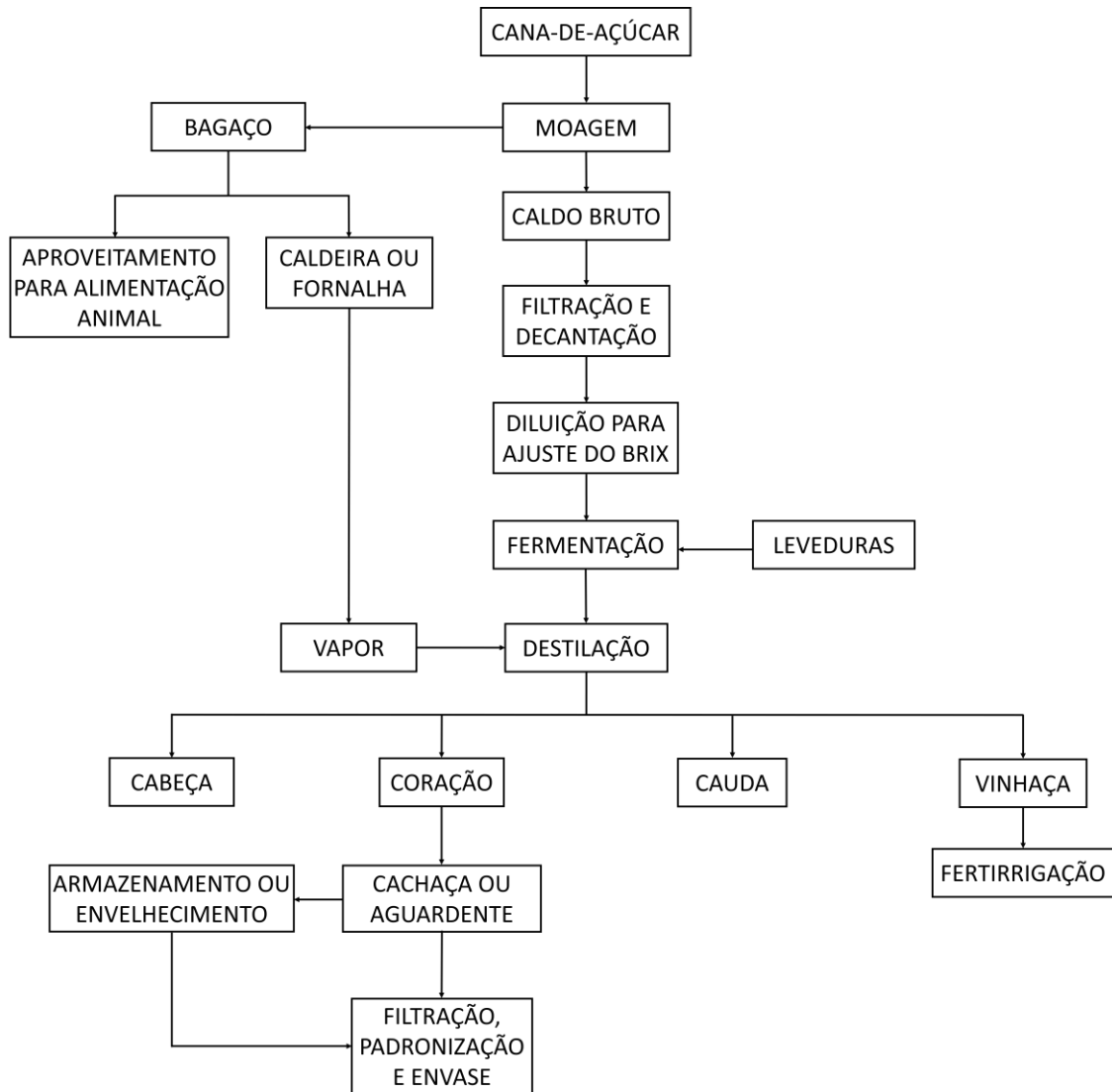


Figura 1. Fluxograma da produção de cachaça

1.2.1. Cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar, uma planta tropical originária de Nova Guiné (Oceania) é a matéria-prima para a produção de cachaça. As variedades de cana-de-açúcar utilizadas na fabricação de destilados são híbridos interespecíficos desenvolvidos principalmente a partir das espécies *Saccharum officinarum*, *Saccharum spontaneum* e *Saccharum robustum*. As plantações de cana-de-açúcar para a produção de cachaça ocupam cerca de 125.000 hectares de território nacional e a produção anual da planta é de aproximadamente 10 milhões de toneladas (SOUZA et al., 2013; BORTOLETTO; SILVELLO; ALCARDE, 2018).

Existem muitas variedades de cana-de-açúcar disponíveis no Brasil. A composição química da cana-de-açúcar é variável quantitativamente e depende do solo, clima, adubação, variedade, estágio de desenvolvimento da cultura e muitos outros fatores. Qualitativamente, essa planta tem composição química semelhante em todas as variedades (CARDOSO, 2013). Ela é 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 cana-de-açúcar também contém fibras (celulose, lignina, pentosana e goma de cana) e o teor destas é de 7 a 17 %, sendo que para a produção de cachaça o ideal para moagem é um teor igual ou menor que 11 % (CARDOSO, 2013).

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 cana considerada madura possui Brix (% de sólidos solúveis) maior ou igual a 18 %. Quando maduros, os colmos são cortados, sendo o corte realizado bem rente ao solo, é feito o desponte (corte da região apical imatura do colmo) e a despalha lateral. (CARDOSO, 2013). A moagem da cana deve ocorrer logo após a colheita ou o mais breve possível para evitar as deteriorações e, conseqüentemente, a perda de rendimento e qualidade do produto final (LIMA, 1999; PEREIRA; ROSA; FARIA, 2006; MUTTON; MUTTON, 2010; GALINARO, 2011).

1.2.2. Preparo do mosto

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 (VASECHI, 1960; NOVAES, 1974; AQUARONE, 1983; SOUZA, 2009). Depois de colhida, a cana-de-açúcar é transportada até o local da moagem onde o caldo é extraído separando-se do bagaço. Após esse processo, o líquido deve ser filtrado utilizando-se peneira para a retirada de bagacilhos e outras partículas sólidas presentes e,

posteriormente, é levado para a dorna de decantação que separa as partículas mais finas e densas de resíduos que se depositam no fundo do recipiente (MAIA; CAMPELO, 2005).

O caldo de cana-de-açúcar é um meio ótimo para o desenvolvimento de diversos microrganismos, principalmente para leveduras que realizam a fermentação alcoólica (MUTTON; MUTTON, 2010). Além das leveduras, microrganismos indesejáveis podem se desenvolver no meio, ocasionando redução da viabilidade celular das leveduras, consumo de açúcares e nutrientes, formação e liberação de metabólitos tóxicos podendo comprometer o desenvolvimento do processo fermentativo e a qualidade do destilado final (SOUZA; MUTTON, 2004; BASSO et al., 2008; DUARTE et al., 2011; OLIVEIRA FILHO et al., 2016; ALVES et al., 2018). Por isso, é muito importante controlar a quantidade e a diversidade dos microrganismos presentes no mosto.

O tratamento térmico é um método que tem por objetivo a inativação enzimática e a redução da população microbiana dos alimentos (BARUFFALDI; OLIVEIRA, 1998; ALVES et al., 2018). A técnica do tratamento térmico do caldo de cana-de-açúcar é uma alternativa para a eliminação de microrganismos contaminantes e retirada de componentes indesejados que podem interferir no rendimento da fermentação alcoólica (BOSQUEIRO, 2010). O tratamento térmico ideal consiste em aquecer o caldo de cana-de-açúcar a temperaturas entre 70 °C a 100 °C, seguida de rápido resfriamento. Esse tipo de tratamento favorece a prevalência, durante os ciclos do fermento, da cepa de levedura selecionada e inoculada inicialmente (BORTOLETTO; SILVELLO; ALCARDE, 2018).

A concentração de sólidos solúveis do caldo de cana geralmente tem entre 18 a 24 °Brix. A quantidade de açúcares é ajustada diluindo-se o caldo com a adição de água. A água utilizada para diluição pode influenciar nas características do produto final e por isso deve ser de boa qualidade, inodora, insípida, incolor, sem presença de minerais em excesso e inócua. A adequação do °Brix é importante pois concentrações de açúcares muito elevadas resultam em teor alcoólico elevado prejudicando a atividade fermentativa. Além disso, alto °Brix pode levar a fermentações lentas e incompletas (ALCARDE, 2014).

Outras correções também podem ser feitas no caldo para garantir uma boa fermentação: pH (normalmente variando entre 5,0 a 5,5), 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; controle de temperatura (ideal em torno de 30 °C) (FARIA, 1995; JANZANTTI, 2004).

1.2.3. Fermentação

A fermentação alcoólica é a principal etapa do processo de produção da cachaça (YOKOYA, 1995). É um processo biológico realizado por leveduras, as quais metabolizam os açúcares presentes no mosto transformando-os em etanol, gás carbônico e outros compostos, denominados compostos secundários, que serão responsáveis pela maioria das características da bebida final. As leveduras são microrganismos eucarióticos unicelulares, desprovidos de clorofila, 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).

A qualidade da bebida depende dos tipos de microrganismos presentes durante o processo de fermentação. O caldo de cana-de-açúcar contém uma população microbiana natural, constituída normalmente por leveduras, que são as responsáveis por transformar o açúcar presente em etanol, e bactérias (SCHWAN; CASTRO, 2001). Dentre as leveduras para a produção de cachaça, a *Saccharomyces cerevisiae* é a encontrada em maior abundância nas fermentações e se destaca pelo alto desempenho na transformação do açúcar em etanol, além de tolerar altas concentrações alcoólicas (SCHWAN; CASTRO, 2001). Dentre as características desejáveis nas leveduras para utilização na produção de cachaça estão: início rápido da fermentação; boa taxa de fermentação, baixa necessidade de vitaminas, ácidos graxos e oxigênio; tolerância a alta concentração de etanol; tolerância a alta pressão osmótica; resistência a altas temperaturas; fermentação completa do caldo; não produz espuma em excesso; produz compostos aromáticos; alto rendimento alcoólico (CARDOSO, 2013). Além das leveduras, outros microrganismos, geralmente indesejáveis, podem estar presentes durante a fermentação. Esses muitas vezes são responsáveis pela redução do rendimento alcoólico e produção de compostos que influenciam negativamente a qualidade do produto (YOKOYA, 1995).

As leveduras realizam a fermentação alcoólica quando falta oxigênio no meio ou quando este apresenta elevadas concentrações de açúcares. O objetivo do processo fermentativo é gerar energia para realização das etapas fisiológicas e biossintéticas para a manutenção da vida, crescimento e multiplicação das leveduras. Na fermentação alcoólica ocorre a oxidação anaeróbica da glicose. Primeiramente, dez reações catalisadas por diferentes enzimas, através da via glicolítica, convertem a glicose em duas moléculas de piruvato. Quando em condições anaeróbicas, a enzima piruvato descarboxilase transforma as duas moléculas de piruvato em duas moléculas de acetaldeído e duas moléculas de gás carbônico (CARDOSO, 2013). A enzima álcool desidrogenase reduz as duas moléculas de acetaldeído a duas moléculas de etanol. Além desses, outros compostos são produzidos durante a fermentação alcoólica, como o glicerol, álcoois

superiores, ácidos orgânicos, acetoína, etc. (LIMA, 2001) e a concentração desses coprodutos formados pode diminuir o rendimento em etanol (REED; NAGODAWITHANA, 1991). Nessas condições as leveduras também formam materiais responsáveis pela produção de biomassa e produtos essenciais para sua sobrevivência (LIMA, 2001).

A fermentação do caldo de cana-de-açúcar para produção de cachaça inicia-se com a introdução do “inóculo” ou “pé-de-cuba”, que é a quantidade inicial de leveduras que vão se multiplicar e transformar os açúcares do mosto. O pé-de-cuba pode ser preparado seguindo métodos regionais, a partir de leveduras selvagens (fermento caipira ou natural), ou utilizando isolados de leveduras selecionados e fermentos comerciais (SCHWAN; CASTRO, 2001). 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).

É importante a observação de alguns parâmetros de controle durante todo o processo de fermentação, tais como: concentração de açúcares no mosto; temperatura do mosto em fermentação; tempo de fermentação, aspecto da espuma formada; acidez e pH; presença de açúcares residuais; e rendimento alcoólico (MUTTON; MUTTON, 2010). A temperatura é um fator importante na fermentação e as leveduras trabalham melhor entre 28 a 32 °C (CARDOSO, 2013). Temperaturas acima de 32 °C interferem negativamente no desenvolvimento das leveduras e podem promover a proliferação de bactérias que produzem compostos indesejáveis no produto final. Além disso, a temperatura influencia no tempo de fermentação. Normalmente, a duração total de uma fermentação é de 24 a 36 horas. Temperaturas muito baixas diminuem a velocidade da fermentação, prolongando o final do processo.

Após a fermentação, o mosto fermentado é denominado vinho e possui na composição produtos gasosos, líquidos e sólidos. A maioria dos compostos é proveniente da atividade das leveduras e de microrganismos contaminantes durante a fermentação. O composto gasoso é o gás carbônico, os sólidos incluem células de leveduras e bactérias, terra, areia, açúcares residuais, bagacilhos e sais minerais. Os líquidos são a água e o etanol, além de ácidos orgânicos (ácido acético, láctico e succínico) e inorgânicos (ácido sulfúrico), glicerol, álcoois superiores (isoamílico, butílicos e propílicos), aldeídos, ésteres, metanol e outras substâncias intermediárias da via metabólica fermentativa (ALCARDE, 2014). A maioria desses produtos influencia a qualidade química e sensorial da cachaça (OLIVEIRA, 2001; JANZANTTI, 2004).

1.2.3.1. Fermento Natural

A maioria dos produtores de cachaça faz a propagação do fermento de maneira empírica, preparando o chamado “fermento caipira”, ou seja, estimulando a multiplicação dos microrganismos presentes naturalmente no ambiente (cana, solo, ar, equipamentos) (CARDOSO, 2013). Há diversas receitas para a preparação desse tipo de fermento, que incluem a mistura de ingredientes tais como farelo de arroz, fubá de milho, bolacha e caldo de limão ou laranja azeda. Essas misturas fornecem todos os nutrientes essenciais ao desenvolvimento das leveduras. As desvantagens na utilização desse método são o alto risco de proliferação de microrganismos contaminantes durante a fermentação e o maior tempo necessário para a obtenção de uma quantidade suficiente de leveduras para serem adicionadas ao mosto que será fermentado.

A microbiota natural do caldo de cana-de-açúcar é composta por populações de leveduras e bactérias que interagem durante o processo fermentativo (CARDOSO, 2013). As leveduras que estão presentes no caldo de cana são principalmente as do gênero *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces*, *Kloeckera*, *Pichia*, *Debaryomyces*, *Kluyveromyces* e também diversas espécies de *Candida* (MORAIS et al., 1997; PATARO et al., 2000; SCHWAN; CASTRO, 2001; CARDOSO, 2013). A *Saccharomyces cerevisiae* predomina nas fermentações de caldo de cana e é a principal responsável pelo processo fermentativo (SCHWAN & CASTRO, 2001) devido, principalmente, a sua tolerância às altas concentrações de etanol (LEÃO; VAN UDEN, 1982; 1985). Schwan & Castro (2001) observaram uma sucessão diária das outras espécies de leveduras presentes no caldo de cana. Eles notaram que as espécies *Kluyveromyces marxianus*, *Pichia heimi* e *Hanseniaspora uvarum* foram encontradas somente no início da fermentação, *Pichia subpelliculosa* e *Debaryomyces hansenii* apareceram durante a metade da fermentação até o final, e *Pichia methanolica* apareceu após o término da fermentação. Além disso, os autores observaram que durante quatro meses, apesar de a cada batelada um caldo novo ser adicionado, as populações em termos de espécies se mantiveram constantes. De acordo com Vila Nova et al., (2009), a sucessão das leveduras na produção de cachaça está diretamente relacionada ao método de condução do processo e à tecnologia empregada.

O fermento natural pode ser preparado de diversas formas, variando na concentração de ingredientes utilizados. Uma receita sugerida por Valsechi (1960) consiste em adicionar em um saco de aniagem: 2 a 3 Kg de farelo de arroz; 2 a 3 Kg de fubá de milho; ½ Kg de bolacha e caldo de limão ou laranja azeda em quantidade suficiente para formar uma pasta. Essa “massa” é deixada em repouso de 12 a 24 horas até que na superfície apareçam rachaduras. Adiciona-se o caldo de cana diluído (1:1) até cobrir todo o material e depois a mistura é tapada com um pano e deixada em repouso por mais 24 horas. Quando o material apresentar efervescência, adiciona-se

uma quantidade duas a cinco vezes maior de caldo diluído. Deixa-se mais 24 horas em repouso e faz-se mais uma adição de caldo. Esse processo se repete até que o pé-de-cuba corresponda a 0,2% do volume do mosto que será fermentado (CARDOSO, 2013).

O uso de fermento natural pode resultar em oscilações na qualidade da bebida durante a safra devido a diversidade de microrganismos no processo fermentativo. Os métodos da propagação pela fermentação espontânea aumentam a chance de proliferação de microrganismos indesejáveis, podendo resultar na produção de compostos que contaminam o meio interferindo na qualidade do produto final. A contaminação por bactérias é a principal causa de baixo rendimento fermentativo por *Saccharomyces cerevisiae*. A população de bactérias encontradas no mosto é diversa e sua prevalência e multiplicação é decorrente das condições de condução do processo, por exemplo, altas temperaturas e baixos valores de pH durante a fermentação aumentam o número desses microrganismos (ALCARDE, 2014).

1.2.3.2. Fermento Selecionado

Para diminuir as oscilações na qualidade da bebida durante as safras, uma alternativa dos produtores é a utilização de linhagens selecionadas de *Saccharomyces cerevisiae*, que foram isoladas de fermentações de mostos para produção de cachaças (CAMPOS et al., 2010; DUARTE et al., 2011; PATARO et al., 2002; CARDOSO, 2013). Leveduras selecionadas tem a capacidade de dominar a fermentação e garantir a padronização da qualidade da cachaça (CARDOSO, 2013).

O preparo do pé-de-cuba utilizando culturas de leveduras puras selecionadas em laboratório é uma alternativa para a minimização de contaminações indesejáveis durante a fermentação (SCHWAN & CASTRO, 2001). Além disso, outras vantagens no uso desse tipo de fermento é a rapidez no início do processo, alto rendimento alcoólico, redução do tempo e uniformidade da fermentação, diminuição de riscos de contaminação, diminuição da competição por nutrientes essenciais, baixos níveis de açúcares residuais e melhora da qualidade do produto final (FLEET et al., 1984; SANNI; LONNER, 1993).

Existem duas principais leveduras selecionadas para produção de cachaça, que são comercializadas na forma seca ativa (CARDOSO, 2013). A LNF CA-11 é uma cepa selecionada pela Universidade Federal de Lavras (Minas Gerais). Esta cepa de *Saccharomyces cerevisiae* foi escolhida entre mais de 1800 cepas diferentes de leveduras selvagens devido ao seu desempenho no processo fermentativo para produção de cachaça. Dentre as características dessa levedura pode-se citar: maior velocidade da fermentação; tolerância a altas concentrações de etanol; maior rendimento fermentativo, quando comparada com outras leveduras selvagens e outras

disponíveis no mercado; resistência a contaminantes que podem estar presentes na cana; produz menores concentrações de ácidos e aldeídos; produz álcoois superiores que são responsáveis por alguns atributos sensoriais frutados na cachaça (ALVES, 2019).

Outra levedura *Saccharomyces cerevisiae* selecionada no Brasil para uso em fermentação de Cachaça é a cepa UFMG 1007, que desde 2011 é comercializada com o nome CanaMax. Esta cepa foi isolada e selecionada em testes realizados pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). As características dessa cepa são: tolerância a altas concentrações de etanol; capacidade de fermentar em temperaturas inconstantes e adversas de até 40 °C (porém o recomendado é o controle da temperatura entre 28 °C a 32 °C); alta resistência a contaminantes; predominância por vários ciclos fermentativos; tempo de propagação reduzido (24 a 30 horas); rapidez na floculação (LALLEMAND BIOFUELS & DISTILLED SPIRITS, 2019).

1.2.4. Destilação

A destilação é uma técnica utilizada para separar componentes de uma mistura de líquidos (CARDOSO, 2013). Quando a fermentação chega ao fim, o vinho deve seguir para a destilação imediatamente. A destilação tem por objetivo separar do vinho o etanol e outros componentes voláteis provenientes da fermentação. O método consiste no aquecimento, em sistema fechado, do líquido fermentado e posterior coleta seletiva de vapores condensados por resfriamento (ALCARDE, 2014).

Para produção de cachaça é importante a otimização do processo de destilação pois este é decisivo na caracterização e qualidade do produto final. A destilação da cachaça pode ser conduzida em colunas de destilação ou alambiques. Na destilação em colunas o processo pode ocorrer continuamente durante toda a safra e em alambiques o procedimento é feito de forma descontínua. Cachaças são geralmente produzidas em alambiques, a partir de uma única destilação. 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).

A importância da destilação 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, bactérias, açúcares residuais, bagacilho, terra, areia, resíduos de corrosão e sais minerais (ALCARDE, 2014; YOKOYA, 1995). O vinho, produto da fermentação, possui em sua composição volátil aproximadamente 90% a 92% de água, 7% a 9% de etanol e de 1% a 2% de compostos secundários (ALCARDE, 2014).

Na monodestilação para produção de cachaça, o vinho é aquecido e os compostos são separados de acordo com as temperaturas de ebulição de cada substância no estado puro, pela solubilidade preferencial no etanol do vapor e pela afinidade com a água ou álcool etílico (LÉAUTÉ, 1990). Dessa forma, o destilado é separado em frações denominadas “cabeça”, “coração” e “cauda” (Figura 2). 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), resultando num destilado com aproximadamente 42% a 48% (v/v) de etanol. 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; ZACARONI, 2009; BOSQUEIRO, 2010; CARDOSO, 2013).

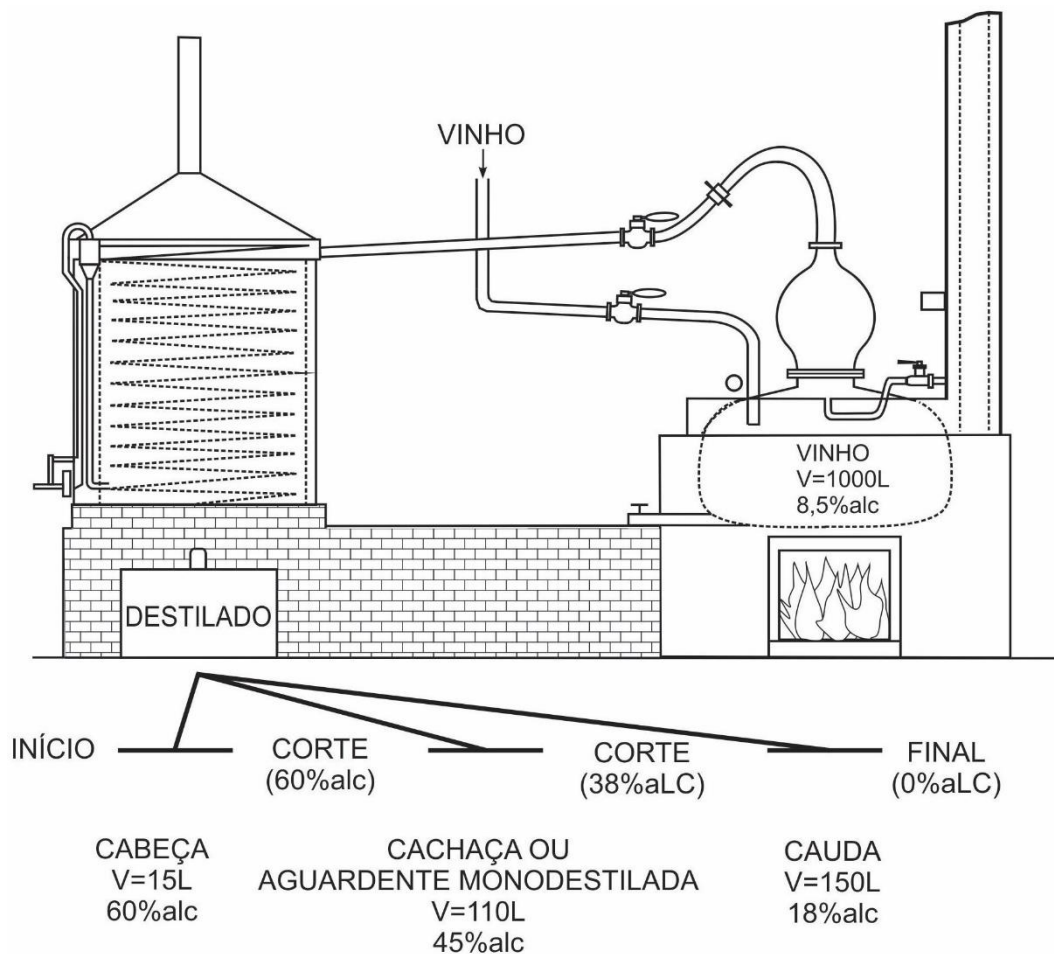


Figura 2. Representação esquemática do modelo da destilação de vinhos para cachaça monodestilada

A separação adequada das frações durante a destilação garante a boa qualidade do produto final. A fração “cabeça” concentrará os compostos mais voláteis que o etanol, como metanol e a maioria dos aldeídos e ésteres. A fração “coração” é a cachaça propriamente dita e contém a maior concentração de álcool etílico, além de álcoois superiores e ácidos carboxílicos (principalmente ácido acético). A última fração, a “cauda”, concentra os compostos com as maiores temperaturas de ebulição, como os ácidos carboxílicos (sobretudo o ácido acético, mas também ácido láctico, butírico e outros) e o furfural (YOKOYA, 1995; BOZA; HORII, 2000; ALCARDE, 2014). A vinhaça é o resíduo que permanece no alambique após a destilação do vinho fermentado, deve apresentar teor alcoólico baixo ou praticamente nulo e pode ser utilizada para fertirrigação (LIMA, 2001). As frações “cabeça” e “cauda” devem ser descartadas do processo pois geralmente contêm compostos indesejáveis à bebida. Porém, podem ser aproveitadas para a produção de etanol carburante, quando destiladas em alambique provido de coluna concentradora (ALCARDE, 2014).

O controle de parâmetros como tempo e temperatura de destilação, grau alcoólico das frações “cabeça”, “coração” e “cauda” e volume final de destilado são garantia de bons resultados no processo (MUTTON; MUTTON, 2010). Além disso, o tipo e a configuração do destilador, o sistema de aquecimento, a separação correta das frações e as condições operacionais são fatores que interferem na composição e qualidade da cachaça (YOKOYA, 1995). Algumas reações químicas ocorrem durante a destilação, 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).

1.2.5. Armazenamento ou Envelhecimento

A cachaça recém destilada é um líquido que não apresenta cor, mas apresenta aromas e sabores que podem não ser agradáveis para todos os consumidores, sendo descrita como bebida agressiva, de sabor ardente e seco (CARDOSO, 2013). O envelhecimento é um método que pode atenuar essas características da cachaça, modificando a composição da bebida e tornando-a mais agradável ao paladar.

O envelhecimento da cachaça consiste em repousar a bebida em recipientes de madeira, em um local com condições adequadas, por um determinado período de tempo. A Instrução Normativa N° 13 de 29 de junho de 2005, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), define os padrões de envelhecimento da cachaça:

- **Cachaça Envelhecida** é a bebida que contém, no mínimo, 50% (cinquenta por cento) de Cachaça ou Aguardente de Cana envelhecidas em recipiente de madeira apropriado, com capacidade máxima de 700 (setecentos) litros, por um período não inferior a 1 (um)ano.

- **Cachaça Premium** é a bebida que contém 100% (cem por cento) de Cachaça ou Aguardente de Cana envelhecidas em recipiente de madeira apropriado, com capacidade máxima de 700 (setecentos) litros, por um período não inferior a 1 (um) ano.

- **Cachaça Extra Premium** é a bebida envelhecida por um período não inferior a 3 (três) anos (BRASIL, 2005a).

Durante o período em que a cachaça permanece armazenada ocorrem muitas transformações na sua composição, ocasionadas pelas reações entre compostos da bebida, da madeira do recipiente e do oxigênio que entra no tonel através dos poros da madeira (PIGGOTT; SHARP; DUNCAN, 1989; BARBOZA et al., 2010). O envelhecimento do destilado promove o aumento da intensidade de cor, da acidez, do compostos acetato de etila, aldeído acético, acetona, concentrações de compostos fenólicos (taninos) e ocorre a diminuição da concentração de álcool metílico e etílico (CARDELLO; FARIA, 1997; PUECH, 1981; 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 Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento não estabelece madeiras específicas para o envelhecimento da cachaça (MAPA, 2005). No Brasil, há aproximadamente 25 tipos de madeiras brasileiras nativas que são utilizadas para o armazenamento e envelhecimento de aguardentes de cana e cachaças, tais como Amendoim (*Pterogyne nitens* Tul.) Cerejeira [*Amburana cearensis* (Fr. Allem.) AC Smith], Cabreúva (*Myrocarpus frondosus* Allemão), Jequitibá [*Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze], Araruva (*Centrolobium tomentosum* Guillem. Ex. Benth.), Grápia [*Apuleia leiocarpa* (Vogel) JF Macbr.], entre outras (BORTOLETTO; ALCARDE, 2013). A madeira carvalho é utilizada em diversos países para envelhecimento de destilados e é também muito utilizada e indicada para envelhecimento de cachaça devido às características sensoriais que agrega à bebida.

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

No presente trabalho a etapa de envelhecimento não será realizada pois o objetivo é avaliar a influência do tipo de fermento nas características químicas e sensoriais de cachaças brancas.

1.2.6. Filtração, Padronização e Engarrafamento

A filtração tem por objetivo a eliminação de possíveis impurezas, consideradas contaminantes físicos, e consiste na passagem da bebida por filtros ou membranas. São vários os tipos de filtros que podem ser utilizados, tais como algodão, celulose, resinas neutras, filtros domésticos, etc. É importante que a filtração proporcione maior limpidez, transparência e brilho, mas sem influenciar nas características sensoriais da bebida (MUTTON; MUTTON, 2010). Filtros de carvão ativado e resinas de troca iônica podem ser empregados, caso seja necessária a correção de algum defeito que não possa ser corrigido pelos métodos citados anteriormente. O carvão ativado tem alta capacidade adsortiva e por isso seu uso tem como desvantagem a interferência nas propriedades químicas e conseqüentemente a descaracterização sensorial da cachaça. Na filtração utilizando resinas de troca iônica é possível diminuir as concentrações de cobre sem influenciar nas características sensoriais devido à elevada especificidade de troca (RIBEIRO, 2002).

Antes do envase pode ser feita a padronização da graduação alcoólica da bebida adicionando-se água de boa qualidade. A água deve obedecer às normas e padrões aprovados em legislação específica e para isso precisa ser filtrada utilizando filtros específicos para minerais e metais pesados, para evitar a turbidez no produto após o engarrafamento. (BORTOLETTO; SILVELLO; ALCARDE, 2018)

O engarrafamento é a etapa final e, de acordo com a legislação brasileira, o processo deve ser automatizado e realizado em uma sala específica e separada da planta de processamento (ANVISA, 1993; MAPA, 2005). Consiste em acondicionar a bebida em embalagens de volumes variáveis, normalmente de vidro. Esse procedimento é seguido do fechamento da embalagem com a tampa e a rotulagem, onde estarão descritas as informações principais e obrigatórias da cachaça (MUTTON; MUTTON, 2010).

1.3. Congêneres em Cachaças

Os componentes voláteis da cachaça estão diretamente relacionados às características sensoriais e qualidade da bebida. Todas as etapas de produção influenciam a composição da

fração volátil do destilado. O etanol e a água são os principais componentes da cachaça, porém pouco influenciam no aroma e sabor da bebida. São os compostos secundários ou congêneres, formados em quantidades não tão relevantes, que vão determinar a percepção sensorial do produto final. Esses componentes são ácidos carboxílicos, ésteres, aldeídos e álcoois superiores. Também são formados alguns compostos indicados como contaminantes na bebida, tais como metanol, carbamato de etila e acroleína (CARDOSO, 2013).

O MAPA estabelece limites críticos (Padrão de Identidade e Qualidade – PIQ) de congêneres e contaminantes para a aguardente de cana-de-açúcar e cachaça, na Instrução Normativa N° 13 de 29 de junho de 2005. Esses limites devem ser atendidos para a comercialização da bebida buscando, assim, a segurança de consumo e inexistência de perigo químico a um produto comercialmente aceito.

A composição química varia de uma cachaça para outra. Cachaças com concentrações de compostos secundários acima do limite estabelecido pela Legislação Brasileira são comumente encontradas. Logo, o controle dos métodos de produção e a realização periódica de análises químicas são indispensáveis para a garantia da boa qualidade da bebida (AQUARONE et al., 1983; PIGGOTT et al., 1989).

1.3.1. Acidez Volátil

Os ácidos carboxílicos são formados durante a fermentação alcoólica pelas leveduras e bactérias provenientes de contaminação. Na cachaça a acidez volátil é expressa em concentração de ácido acético, que é o ácido orgânico predominante, correspondendo de 50 a 90% do total de ácidos voláteis. (MUTTON; MUTTON, 2010; NYKANEN, 1986). O ácido acético é formado pela oxidação do acetaldeído, mesmo quando há o controle total da fermentação. Além desse, também são formados durante a fermentação o ácido láctico, butírico, fórmico, propiônico e outros, que estarão presentes no meio em menores quantidades (CARDOSO, 2013).

A acidez é um fator importante para a cachaça, uma vez que os ácidos orgânicos voláteis reagem com os álcoois presentes formando ésteres que contribuem para bons atributos sensoriais na bebida (MAIA, 1994; CARDOSO, 2013). O limite de acidez volátil, expresso em ácido acético, estabelecido pela legislação brasileira para aguardente e cachaça é de 150 mg/ 100 mL de álcool anidro (BRASIL, 2005a). Quanto menor a acidez, mais agradável é a cachaça e maior é a sua aceitação pelos consumidores (MIRANDA et al., 2008). Quando em excesso, a acidez afeta a qualidade sensorial devido ao sabor indesejado e “agressivo” na bebida.

A elevada acidez na cachaça 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 acéticas decorrente de um tempo excessivo entre o processo de fermentação e destilação (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).

1.3.2. Ésteres

Os ésteres formam o grupo mais numeroso de compostos aromáticos nas cachaças e podem ser originados na fermentação e destilação. São componentes de grande importância, apresentam limiares de odor relativamente baixos e por isso, mesmo quando presentes em pequenas concentrações, conferem aromas característicos e agradáveis para a bebida. (NYKÄNEN; NYKÄNEN, 1991; ALCARDE, 2014). Os ésteres são formados durante o processo fermentativo, por vias do metabolismo secundário intracelular das leveduras, na reação do acetil-CoA e do etanol (NYKANEN, 1986). Na destilação em alambique os ésteres de cadeia curta são formados nas reações de esterificação, que são catalisadas pelo cobre presente no meio (ALCARDE, 2014).

A formação de ésteres nas bebidas destiladas pode ser influenciada por fatores como o tipo e a quantidade de levedura, o tempo e temperatura de fermentação, a aeração, agitação e a qualidade do mosto (BERRY, 1995; JANZANTTI, 2004). O limite de concentração de ésteres aceito pela legislação brasileira da aguardente e cachaça é de 200 mg/ 100 mL de álcool anidro, expressos em acetato de etila (BRASIL, 2005a).

O acetato de etila é o principal éster formado, é derivado do ácido e do álcool mais abundante, ácido acético e etanol, e corresponde a aproximadamente 80% dos ésteres totais. Em baixas concentrações, o acetato de etila proporciona aroma agradável de frutas, porém, quando em quantidades excessivas, pode tornar a bebida enjoativa (MAIA, 1994; CARDOSO, 2013). O lactato de etila é o segundo éster mais abundante nas aguardentes, é derivado do ácido láctico, e também contribui positivamente para o sabor e o aroma das bebidas alcoólicas (ALCARDE, 2014).

Ésteres que apresentam álcool com baixo peso molecular possuem aroma mais acentuado. Cada éster tem um aroma característico. Acetatos de etila e butila apresentam aroma

frutado, acetato de isoamila e butirato de amila denotam aroma de banana, acetatos de álcoois maiores têm aroma cítrico, porém são menos pungentes do que os ésteres com álcoois menores (NÓBREGA, 2003).

1.3.3. Aldeídos

Aldeídos podem ser formados durante os estágios preliminares da fermentação alcoólica, pela ação das leveduras. São originados por reações de oxidação de aminoácidos, álcoois e ácidos graxos (ALCARDE, 2014). A maioria dos aldeídos é indesejável do ponto de vista toxicológico, são compostos muito voláteis, de odor intenso e podem afetar negativamente o aroma das bebidas destiladas (NIKANEN, 1986; YOKOYA, 1995; CARDOSO, 2013).

Na cachaça os principais aldeídos presentes são acetaldeído, formaldeído e a acroléina (propenaldeído ou 2-propenal). A legislação brasileira estabelece o limite de 30 mg/ 100 mL de álcool anidro de aldeídos, expresso em acetaldeído (aldeído acético). Cerca de 90% dos aldeídos presentes nas bebidas destiladas correspondem ao acetaldeído (CARDOSO, 2013). O acetaldeído é originado principalmente nas primeiras horas da fermentação pela oxidação do etanol e tende a desaparecer durante o processo, desde que o mosto sofra aeração (ALCARDE, 2014).

Concentrações altas de aldeídos podem estar relacionadas à oxidação espontânea ou contaminação por bactérias. É possível eliminar a maior parte dos aldeídos durante a destilação quando é feita a separação correta das frações “cabeça”, “coração” e “cauda”. A maior concentração de aldeídos estará presente na fração “cabeça”, parte removida do produto final (YOKOYA, 1995).

Os sintomas de ressaca causados pela ingestão de bebidas alcoólicas podem estar relacionados à presença dos aldeídos, por isso o controle químico é importante. Além disso, a intoxicação pode causar sérios problemas relacionados ao sistema nervoso central (CARDOSO, 1998).

A acroléina é considerada um contaminante na cachaça e é originada pela desidratação do glicerol durante a fermentação (ALCARDE, 2014). Outros aldeídos também encontrados em cachaças são o furfural e o hidroximetilfurfural (HMF), formados durante a destilação pela pirogenação dos açúcares residuais e bagacilhos presentes no vinho e depositados no fundo dos alambiques (CARDOSO, 2013). Para evitar a formação de furfural e HMF, os vinhos que serão destilados devem ser limpos e livres de materiais em suspensão (PEREIRA et al., 2003).

1.3.4. Álcoois superiores

Os álcoois superiores são álcoois com mais de dois átomos de carbono na composição e são o grupo mais abundante dos compostos secundários presentes nas cachaças. São também conhecidos como “óleo fusel” e os principais são o álcool isoamílico (3-metilbutanol-1), n-propanol (1-propanol) e isobutanol (2-metilpropanol-1) (YOKOYA, 1995; LEAUTÉ, 1990). Álcool isoamílico é o composto formado em maior quantidade, podendo representar de 40 a 70% da concentração de álcoois superiores (CARDOSO, 2013)

Álcoois superiores são formados no processo de fermentação, durante a degradação dos aminoácidos pelas leveduras. Os precursores dos álcoois isoamílico e isobutanol são os aminoácidos leucina e valina, respectivamente. O n-propanol é formado a partir da degradação da treonina (ALCARDE, 2014). A quantidade de álcoois superiores na aguardente é influenciada pela natureza e composição do mosto (concentração de nutrientes, quantidade de açúcares, pH), tipo de cepa de levedura, condições da fermentação (temperatura, quantidade inoculada, aeração, etc.) e método de destilação (alambique ou coluna) (VILELA, 2005; CARDOSO, 2013; LEAUTÉ, 1990; LIMA, 1999).

Aguardentes de cana produzidas a partir da destilação em alambique apresentam maiores concentrações de álcoois superiores do que as produzidas por colunas de destilação. Durante a destilação em colunas, os vapores alcoólicos atingem altas concentrações de etanol permitindo a separação dos álcoois superiores, que tendem a se acumularem na fração líquida da matriz líquido-vapor sendo removidos juntamente com a fração “cauda” (ALCARDE, 2014).

A concentração de álcoois superiores em destilados influencia nas características sensoriais, principalmente nos aromas da bebida (RANKINE, 1967; SUOMALAINEN, 1971). Álcoois com até cinco átomos de carbono são os responsáveis por apresentar os aromas característicos (buquê) da bebida. Quanto maior o número de carbonos, maior será a viscosidade do álcool e seu aroma também será diferenciado. Alguns álcoois possuem aromas que lembram o aroma de flores. Teores excessivos desses álcoois podem tornar a bebida enjoativa, afetar a qualidade e reduzir o valor comercial (YOKOYA, 1995; MAIA, 1994; LEAUTÉ, 1990). Boza e Horii (1999), afirmam que os álcoois superiores, além de conferir características sensoriais às bebidas, também são importantes solventes sobre outras substâncias aromáticas, interferindo nos graus de volatibilidade das mesmas e no perfil sensorial da bebida.

Os álcoois superiores apresentam propriedades semelhantes ao metanol e etanol no organismo humano, sendo depressores do sistema nervoso central. Porém, não provocam acidose e nem lesão na retina (MAIA et al., 1994; CARDOSO, 2013)

O n-butanol (1-butanol) e o sec-butanol (2-butanol) são álcoois superiores classificados como contaminantes pois sua toxicidade é relativamente alta, quando comparada ao etanol. Portanto, a legislação brasileira estabeleceu que a quantificação desses dois álcoois deve ser feita separadamente e também estabeleceu limites de concentração desses contaminantes na bebida (BRASIL, 2005a).

1.3.5. Metanol

O metanol é um álcool considerado contaminante na aguardente de cana. Sua formação ocorre pela degradação da pectina, presente nas fibras da cana-de-açúcar, quando bagacilhos estão presentes no mosto em fermentação sob condições ácidas (ALCARDE, 2014). A pectina é um polissacarídeo presente na composição estrutural das matérias primas vegetais, formado por moléculas de ácido galacturônico que são degradadas e liberam metanol durante o processo de fermentação (CARDOSO, 2013). A presença de bagacilhos da cana no caldo, devido a falhas no processo de prensa ou filtragem, pode acarretar na formação de quantidades significativas de metanol na cachaça (WINDHOLZ, 1976; CARDOSO et al., 1999).

Essa substância é danosa à saúde, pois no organismo o metanol é oxidado à ácido fórmico e depois a CO_2 , causando uma acidose grave (diminuição do pH sanguíneo), afetando o sistema respiratório, podendo levar à morte (MAIA et al., 1994). A intoxicação por metanol tem como principais sintomas distúrbios visuais, cefaleia, vômitos e dores abdominais (CARDOSO, 2013). Além disso, a ingestão de pequenas doses por longo período de tempo pode causar cegueira e até mesmo a morte (WINDHOLZ, 1976; CARDOSO et al., 1999).

1.3.6. Cobre, Arsênio e Chumbo

A cachaça pode sofrer contaminação por metais pesados (cobre, arsênio e chumbo) quando estes estiverem presentes nos equipamentos, ferramentas e água usada para filtração e padronização. Em indústrias de alimentos todos os equipamentos devem ser fabricados com aço inoxidável para garantir a segurança e evitar contaminantes metálicos (ANVISA, 2003). O monitoramento e análise da água deve ser feito a cada seis meses e é obrigatória a utilização de filtros específicos para metais pesados (BORTOLETTO; SILVELLO; ALCARDE, 2018).

O cobre é encontrado em bebidas destiladas providas de alambiques confeccionados com este material. A preferência por este metal na fabricação de alambiques é devida às suas características de maleabilidade, resistência e transmissão de calor. Além disso, o material é um

importante catalisador de reações de oxidação de compostos sulfurados aromáticos, tais como dimetilsulfeto e mercaptanas, a sulfetos e sulfatos durante a destilação. Esses compostos sulfurados aromáticos são formados pela degradação de aminoácidos e quando presentes, são os responsáveis por alguns aromas desagradáveis na cachaça. No entanto, por serem muito voláteis, esses componentes se perdem durante um curto período de armazenamento da cachaça recém-destilada (ALCARDE, 2014).

A legislação brasileira estabelece o limite de 5 mg/L de cobre nas cachaças e aguardentes brasileiras. Porém, alguns países toleram uma concentração de cobre não superior a 2 mg/L nas bebidas destiladas (NASCIMENTO et al., 1999; CARDOSO et al., 2003). Por isso, a concentração deste metal tem sido um dos principais entraves na exportação de aguardente e cachaça (NÓBREGA et al., 2011).

A contaminação da bebida por íons de cobre é ocasionada pelos vapores ácidos que promovem a dissolução do “azinhavre”, que se encontra incrustado nas partes internas do alambique e principalmente na serpentina do condensador. O azinhavre, ou carbonato básico de cobre, é formado pela oxidação do cobre metálico na presença de água e CO₂ (ALCARDE, 2014). Para evitar a formação de azinhavre e conseqüentemente o acúmulo de cobre na bebida, é importante fazer a assepsia do alambiques antes e depois de cada destilação, além de preencher e manter o equipamento com água quando não estiver em uso (NASCIMENTO et al. 1998; AZEVEDO et al., 2003; MACHADO et al., 2013). A assepsia do alambique de cobre pode ser feita por meio da destilação de solução ácida de ácido acético a 2% e posterior destilação de água para a limpeza (ALCARDE, 2014).

É possível eliminar o cobre presente na bebida destilada realizando a filtração 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). No entanto, os dois métodos diminuem a concentração de congêneres e podem modificar o perfil sensorial da bebida.

1.3.7. Carbamato de etila

Carbamato de etila, uretana ou etiluretana é considerado um contaminante potencialmente carcinogênico encontrado em diferentes bebidas alcoólicas e em alguns alimentos fermentados (OUGH, 1976). É o éster do ácido carbâmico, é solúvel em água e álcool e possui baixa volatilidade em soluções hidroalcoólicas (temperatura de ebulição entre 182 – 184 °C) (LACHENMEIER; FRANK; KUBALLA, 2005).

Existem diferentes vias de formação do carbamato de etila em bebidas, e os precursores são a ureia, cianeto, citrulina e N-carbamil fosfato. A ureia presente no mosto reage com o etanol formando a uretana (carbamato de etila). A ureia pode estar presente no mosto, ser indevidamente adicionada ou pode ser formada por degradação da arginina pelas leveduras.

A principal via de formação de carbamato de etila em aguardentes é pelo íon cianeto, originado da degradação enzimática de glicosídeos cianogênicos presentes na cana-de-açúcar. O cianeto pode ser oxidado a cianato e este pode reagir com o etanol, na presença do íon cobre presente no equipamento destilador, formando o carbamato de etila (ARESTA; BOSCOLO; FRANCO, 2001).

O Canadá foi o primeiro país a estabelecer um limite (1986) de concentração de carbamato de etila em bebidas alcoólicas como medida de proteção a saúde humana. A partir daí, diversos países adotaram uma legislação específica para controlar a presença desse contaminante em destilados. O limite de concentração de carbamato de etila permitido no Canadá, Estados Unidos e Comunidade Europeia é equivalente a 150 µg/L. (ANDRADE-SOBRINHO et al., 2002). No Brasil, a máxima concentração permitida é de 210 µg/L (BRASIL, 2014). A detecção e o controle do teor de carbamato de etila em bebidas destiladas são essenciais. Concentrações deste contaminante acima do limite constituem problema de saúde pública e prejudicam as exportações de bebidas alcoólicas destiladas (ALCARDE; SOUZA; BORTOLETTO, 2012).

1.4. Aspectos Sensoriais da Cachaça

A análise sensorial de cachaças é um conjunto de métodos importantes para definir a qualidade, pois identifica as características que não são possíveis de ser detectadas por procedimentos analíticos. É uma ciência utilizada para medir, evocar, analisar e interpretar respostas que são percebidas pelos órgãos dos sentidos humanos (visão, olfato, tato, gustação e audição) frente a características de um produto (INSTITUTE OF FOOD TECHNOLOGISTS, 1971). É um instrumento importante para o controle de qualidade dos alimentos pois é capaz identificar, através da aceitação ou caracterização de um produto, se o processo de fabricação foi realizado adequadamente. Além do controle de garantia da qualidade, a análise sensorial é aplicada em estudos para identificação das preferências dos consumidores, desenvolvimento de novos produtos, aceitação de produtos, reformulação de produtos já disponíveis no mercado, determinação de similaridades entre produtos que tiveram alguma modificação na formulação ou produtos concorrentes no mercado (CARDOSO, 2013).

A cachaça apresenta características sensoriais complexas tanto quanto o rum, o whisky e o cognac. Embora os parâmetros sensoriais sejam importantes indicadores de qualidade da cachaça, esses não são descritos pela legislação brasileira (BORTOLETTO; ALCARDE, 2015). Os atributos sensoriais da cachaça são influenciados pela qualidade química. O efeito sensorial das moléculas químicas é observado na intensidade de cor, corpo, aroma e sabor. A cor está relacionada com o envelhecimento da cachaça em diferentes madeiras, tempo de envelhecimento e reutilização de barris. Outro efeito é o corpo, viscosidade ou textura, um atributo importante que está relacionado à concentração de ésteres, compostos fenólicos, açúcar e glicerol, derivado das madeiras dos barris de maturação. A complexidade do bouquet aromático, o sabor e aroma agradáveis são essenciais para satisfazer o consumidor. Os aromas estão relacionados aos compostos voláteis provenientes da cana-de-açúcar, das leveduras e condições de fermentação, dos métodos de destilação e do envelhecimento (BORTOLETTO; ALCARDE, 2013).

A análise sensorial é a resposta humana resultante dos estímulos de um ou mais órgãos do sentido. Por isso é uma análise subjetiva e pode sofrer influência de fatores externos, tais como o local da análise, apresentação da amostra, estado emocional e saúde do julgador, etc. Porém, quando as metodologias são realizadas de maneira correta, produzem bons resultados (CHAVES; SPROESSER, 1993).

REFERÊNCIAS

- Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). 1993. Portaria nº 1428, de 26 de novembro de 1993. Regulamento Técnico para Inspeção Sanitária de Alimentos. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/388704/Portaria_MS_n_1428_de_26_de_novembro_de_1993.pdf/6ae6ce0f-82fe-4e28-b0e1-bf32c9a239e0> (Acesso: 2 Nov 2019)
- Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). 2003. Resolução RDC nº 275, de 21 de outubro de 2002. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RDC_275_2002_COMP.pdf/fce9dac0-ae57-4de2-8cf9-e286a383f254> (Acesso: 2 Nov 2019)
- ALCARDE, A. R. **Cachaça: ciência, tecnologia e arte**. São Paulo: Edgard Blücher, 2014. 96 p.
- ALCARDE, A. R.; MONTEIRO, B. M. S.; BELLUCO, A. E. S. Composição química de aguardentes de cana-de-açúcar fermentadas por diferentes cepas de levedura *Saccharomyces cerevisiae*. **Química Nova** (Impresso), v. 35, p. 1612-1618, 2012.

- ALCARDE, A. R.; SOUZA, L. M.; BORTOLETTO, A. M. 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, 2012.
- ALCARDE, A. R.; SOUZA, P. A.; BELLUCO, A. E. S. Aspectos da composição química e aceitação sensorial da aguardente de cana-de-açúcar envelhecida em tonéis de diferentes madeiras. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, n. 1S, p. 226-232, 2010.
- ALVES, M. C. Pesquisa e novos negócios na redescoberta desse aguardente secular. **Ciência e Cultura**. São Paulo, v. 66, n. 2, p. 60-61, jun. 2014. Disponível em: <http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0009-67252014000200022&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 26 ago. 2019.
- ALVES, T. M.; FARIAS, F. C.; ALCARDE, A. R.; OLIVEIRA FILHO, J. H. Influence of the heat treatment of sugarcane juice on the fermentative process and chemical composition of cane spirit. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 21, e2017126, 2018.
- ANDRADE-SOBRINHO, L. G.; BOSCOLO, M.; LIMA-NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Carbamato de etila em bebidas alcoólicas (cachaça, tiquira e grapa). **Química Nova**, Rio de Janeiro, v. 25, p. 1074–1077, 2002.
- AQUARONE, E.; LIMA, U. A.; BORZANI, W. **Biotecnologia: 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.
- 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.
- BARUFFALDI, R.; OLIVEIRA, M. N. Conservação de alimentos por tratamento térmico. In: BARUFFALDI, R.; DE OLIVEIRA, M. N. **Fundamentos de tecnologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1998. cap. 3, p. 27-61.
- BASSO, L. C.; AMORIM, H. V.; OLIVEIRA, A. J.; LOPES, M. L. Yeast selection for fuel ethanol production in Brazil. **FEMS Yeast Research**, v. 8, n. 7, p. 1155-1163, 2008.

- 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.
- BORTOLETTO, A. M.; ALCARDE, A. R. Assessment of chemical quality of Brazilian sugar cane spirits and cachaças. **Food Control**, v. 54, p. 1-6, 2015.
- BORTOLETTO, A. M.; SILVELLO, G. C.; ALCARDE, A. R. Good Manufacturing Practices, Hazard Analysis and Critical Control Point plan proposal for distilleries of cachaça. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 75, n. 5, p. 432-443, set. 2018.
- 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. E. A. G.; HORII, J. A destilação na obtenção de aguardente de cana-de-açúcar. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v. 33, n. 1, p. 98-105, jan./jun. 1999.
- BOZA, Y. E. A. G.; 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.
- 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.
- _____. Instrução normativa nº 28, de 8 de agosto de 2014. Altera o subitem 5.1.2. do Anexo da Instrução Normativa nº 13, de 29 de junho de 2005. **Diário Oficial da União**, Brasília, 11 ago. 2014, Seção I, Brasília, 2014.

- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **A cachaça no Brasil: dados de registro de cachaças e aguardentes**. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/AECE, 2019. 27 p.
- CAMPOS, C. R.; SILVA, C. F.; DIAS, D. R.; BASSO, L. C.; AMORIM, H. V.; SCHWAN, R. F. Features of *Saccharomyces cerevisiae* as a culture starter for the production of the distilled sugar cane beverage cachaça in Brazil. **Journal of Applied Microbiology**, v. 108, n. 6, p. 1871-1879, 2010.
- 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.
- CARDELLO, H. M. A. B.; FARIA, J. B. Análise da aceitação de aguardentes da cana por testes afetivos e mapa de preferência interno. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, p. 32-36, 2000.
- CARDOSO, M. G. Análises físico-químicas de aguardentes. In: _____. **Produção artesanal de aguardente**. Lavras: UFLA, FAEPE, 1998. p. 107-121.
- 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.
- 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.
- _____. 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**. 3.ed. Lavras: UFLA, 2013. 340 p.
- CHAVES, J. B. P.; SPROESSER, R. L. **Práticas de laboratório de análise sensorial de alimentos e bebidas**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 81p., 1993.
- DUARTE, W. F.; SOUSA, M. F. S.; DIAS, D. R.; SCHWAN, R. F. Effect of Co-Inoculation of *Saccharomyces cerevisiae* and *Lactobacillus fermentum* on the Distilled Sugar Cane Beverage Cachaça. **Journal of Food Science**, v.76, n.9, p. 307-318, 2011.
- 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.
- FARIA, J. B. Sobre a produção de aguardente de cana. **O Engarrafador Moderno**, São Paulo, n. 40, p. 9-16, 1995.

- FLEET, G. H. et al. Evolution of yeasts and lactic acid bacteria during fermentation and storage of bordeaux wines. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 48, n. 5, p. 1034-1038, 1984.
- GABRIEL, A. V. M. D.; VERRUMA-BERNARDI, M. R.; MARGARIDO, L. A. C.; BORGES, M. T. M. R.; NASSU, R. T.; LAVORENTI, N. A.; CECCATO-ANTONINI, S. R. Effect of the spontaneous fermentation and the ageing on the chemo-sensory quality of Brazilian organic cachaça. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 42, n. 5, p. 918-925, 2012.
- 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.
- GOMES, F. D. C. O.; ARAÚJO, R. A. D. C.; CISALPINO, P. S.; MOREIRA, E. S. A.; ZANI, C. L.; ROSA, C. A. Comparison between two selected *Saccharomyces cerevisiae* strains as fermentation starters in the production of traditional cachaça. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 52, p. 449-455, 2009.
- GUYMON, J. F. Chemical aspects of distilling wines into brandy. **Advances in Chemistry**, Washington, v. 137, p. 232-253, 1974.
- INSTITUTO BRASILEIRO DA CACHAÇA. Disponível em: <<http://www.ibrac.net/>>. Acesso em: 01 jul. 2019.
- INSTITUTE OF FOOD TECHNOLOGISTS. Sensory evaluation guide for testing food and beverage products. Sensory evaluation Division-Institute of Food Technologist. **Food Technologist**, 35(11):50-59, 1981.
- 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.
- 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.
- LALLEMAND BIOFUELS & DISTILLED SPIRITS. CanaMax, 2019. Disponível em: <https://www.lallemantbds.com/wp-content/uploads/2015/07/POR_TDS_-CanaMax-CS5.pdf>. Acesso em: 26 de ago. de 2019.

- LÉAUTÉ, R. Distillation in alambic. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 41, n. 1, p. 90-103, 1990.
- LEÃO, C.; VAN UDEN, N. Effects of etanol and other alkanols on the glucose-transport system of *Saccharomyces cerevisiae*. **Biotechnology & Bioenginner**, v. 24, n. 11, p. 2601-2604, 1982.
- LEÃO, C.; VAN UDEN, N. Effects of etanol and other alkanols on the temperature relatins of glucose transport and fermentation in *Saccharomyces cerevisiae*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 22, n. p. 359-363, 1985.
- LIMA, U. A. Aguardentes: In: AQUARONE, E.; LIMA, U. A.; BORZANI, W. (Ed). **Alimentos e bebidas produzidos por fermentação**. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. P. 79-107. (Série Biotecnologia Industrial).
- LIMA, U. A. **Aguardente: fabricação em pequenas destilarias**. Piracicaba: FEALQ, 1999. 187 p.
- 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.
- MAÇATELLI, M. **Determinação do perfil sensorial de marcas comerciais de cachaça**. Dissertação (Mestradoem Alimentos e Nutrição). UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JÚLIO DE MESQUITA FILHO. FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS Campus Araraquara. Araraquara-SP 2006. 126p
- 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.
- MARCELLINI, P. S. **Análise descritiva quantitativa de aguardente de cana (*Saccharum spp*) comerciais e destilados em alambiques de cobre e aço inoxidável**. 2000. 77 p. Tese (Mestre em Alimentos e Nutrição) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade Estadual de São Paulo. Araraquara. 2000.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). 2005. Regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para aguardente de cana e para cachaça, p. 3. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/servlet/VisualizarAnexo?id=14175>>. Acesso em 10 out 2019.

- MINAS GERAIS. Lei n. 13.949, de 11 de julho de 2001. Estabelece o padrão de identidade e as características da cachaça de Minas e dá outras providências. Disponível em: <<http://www.almg.gov.br>>. Acesso em: 10 out 2019.
- MIRANDA, M. B.; MARTINS, N. G. S.; BELLUCO, A. E. S.; HORII, J.; ALCARDE, A. R. 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.
- 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.
- MORAIS, P. B.; ROSA, C. A.; LINARDI, V. R.; PATARO, C.; MAIA, A. B. R. A. Characterization and succession of yeast populations associated with spontaneous fermentations during the production of Brazilian sugar-cane aguardente. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 13, p. 241-243, 1997.
- 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, 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.
- 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 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.
- NÓBREGA, I. C. C. Análise dos compostos voláteis da aguardente de cana por concentração dinâmica do “headspace” e cromatografia gasosa-espectrometria de massas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 1, p. 193-199, 2008.

- 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.
- NYKÄNEN, L. Formation and occurrence of 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.
- ODELLO, L.; BRACESCHI, G. P.; SEIXAS, F. R. F.; DA SILVA, A. A.; GALINARO, C. A.; FRANCO, D. W. Avaliação Sensorial de Cachaça. **Química Nova**, v. 32, p. 1839-1844, 2009.
- OLIVEIRA, E. S. **Efeito da adição de suplementos nutricionais na fermentação alcoólica de melão de cana-de-açúcar em diferentes temperaturas**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa. 1988.
- 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, 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 FILHO, J. H.; BORTOLETTO, A. M.; ALCARDE, A. R. Qualidade pós-colheita de colmos de cana armazenados e seus reflexos na produção de cachaça. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 19, n. 1, p. 1-9, 2016.
- 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.
- PATARO, C.; GUERRA, J. B.; PETRILLO-PEIXOTO, M. L., MENDONÇA-HAGLER, L. C., LINARDI, V. R., ROSA, C. A. Yeast communities and genetic polymorphism of *Saccharomyces cerevisiae* strains associated with artisanal fermentation in Brazil. **Journal of Applied Microbiology**, v. 89, n. 1, p. 24-31, 2000.

- PATARO, C.; GOMES, F. C. O.; ARAÚJO, R. A. C.; ROSA, C. A.; SCHWAN, R. F.; CAMPOS, C. R.; CLARET, A. S.; CASTRO, H. A. Utilização de leveduras selecionadas na fabricação de cachaça de alambique. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 23, n. 217, p. 37-43, 2002.
- 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.
- PEREIRA, J. A. M.; ROSA, C. A.; FARIA, J. B. **Cachaça de qualidade**. Brasília: LK Editora, 2006. v. 1, 179 p.
- PIGGOTT, J. R. (Ed.). **The science and technology of whiskies**. New York: Longman Scientific & Technical, 1989. 410 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.
- PUECH, J. L. Extraction and evolution of lignin products in Armagnac natured in oak. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 32, n. 2, p. 111-114, 1981.
- 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.
- REED, G.; NAGODAWITHANA, T.W. Yeast Technology. New York: 2 ed. **Van Nostrand Reinhold Book**. 1991. 378 p.
- RIBEIRO, J. C. G. M. **Fabricação da cachaça artesanal mineira**. 2. ed. Belo Horizonte: O Lutador, 2002.
- 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.
- SANNI, A. I.; LONNER, C. Identification of yeasts isolated from Nigerian traditional alcoholic beverages. **Food Microbiology**, London, v. 10, p. 517-523, 1993.
- SCHWAN, R. F.; CASTRO, H. A. Fermentação. In: CARDOSO, M. C. (Ed.). **Produção de Aguardente de cana-de-açúcar**. Lavras: Editora UFLA, 2001. cap. 3, p. 113-125.
- SCHWAN, R. F.; MENDONÇA, A. T.; SILVA JÚNIOR, J. J.; RODRIGUES, V.; WHEALS, A. E. Microbiology and physiology of cachaça (aguardente) fermentations. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 79, 89-96, 2001.

- SILVA, C. L.; VIANNA, C. R.; CADETE, R. M.; SANTOS, R. O.; GOMES, F. C.; OLIVEIRA, E. S.; ROSA, C. A. Selection, growth, and chemo-sensory evaluation of flocculent starter culture strains of *Saccharomyces cerevisiae* in the large-scale production of traditional Brazilian cachaca. **International Journal of Food Microbiology**, v. 131, n. 2-3, p. 203-10, 2009.
- SOUZA A. P. G.; VICENTE M. A.; KLEIN R. C.; FIETTO, L. G.; COUTRIM, M. X.; AFONSO, R. J. C. F.; ARAÚJO, L. D.; ALVES, P. H.; BOUILLET, L. E. M.; CASTRO, I. M.; BRANDÃO, R. L. Strategies to select yeast starters cultures for production of flavor compounds in cachaça fermentations. **Antonie Van Leeuwenhoek** v. 101, n. 2, p. 379–392, 2012.
- 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.
- SOUZA, L. M.; ALCARDE, A. R.; LIMA, F. V. BORTOLETTO, A. M. **Produção de Cachaça de Qualidade**. Casa do Produtor Rural/ESALQ/USP, Piracicaba, SP, Brasil, 2013.
- 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, M. A. C.; MUTTON, M. J. R. Floculação de leveduras por *Lactobacillus fermentum* em processos industriais de fermentação alcoólica avaliada por técnica fotométrica. *Ciência e Agrotecnologia*. Lavras, v. 28, n. 4, p. 893-898, 2004.
- 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: Livrocere, 1960. 120 p.
- VARELA, C.; SIEBERT, T.; COZZOLINO, D.; ROSE, L.; MCLEAN, H.; HENSCHKE, P. A. Discovering a chemical basis for differentiating wines made by fermentation with 'wild' indigenous and inoculated yeasts: role of yeast volatile compounds. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, 15:238–248, 2009.
- VICENTE, M. A.; FIETTO, L. G.; CASTRO, I. M.; SANTOS, A. N.; COUNTRYM, M. X.; BRANDÃO, R. L. Isolation of *Saccharomyces cerevisiae* strains producing higher levels of flavoring compounds for production of “cachaça” the Brazilian sugarcane spirit. **International Journal of Food Microbiology**, v. 108, n. 1, p. 51-59, 2006.
- VILA NOVA, M. X.; SCHULER, A. R., BRASILEIRO, B. T.; MORAIS JUNIOR, M. A. Yeast species involved in artisanal cachaça fermentation in three stills with different technological levels in Pernambuco, Brazil, **Food Microbiology**, n. 26, n. 5, p. 460-466. 2009

- 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.
- 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.

2. PERFIL QUÍMICO DE DESTILADOS PRODUZIDOS A PARTIR DE LEVEDURAS SELECIONADAS E FERMENTO NATURAL

RESUMO

O objetivo deste capítulo foi avaliar a influência do uso de leveduras selecionadas e fermento natural na formação e concentração de congêneres e contaminantes nas frações voláteis separadas durante a destilação. Caldo proveniente da moagem de colmos de cana-de-açúcar foi filtrado e ajustado a 18 °Brix. As fermentações foram conduzidas utilizando leveduras *Saccharomyces cerevisiae* selecionadas, cepa CA-11 e cepa CanaMax, e fermento natural. Os vinhos foram destilados em alambique de cobre separando-se as frações “cabeça”, “coração” (cachaça) e “cauda”. Os mostos foram submetidos às análises de pH, Brix, Pol, Açúcares Redutores, Açúcares Redutores Totais e Acidez Total; e os vinhos foram analisados quanto a Teor Alcoólico, pH, Açúcares Redutores Residuais e Acidez Total. Os fermentos foram analisados quanto a viabilidade de células, pelo método da coloração com eritrosina, e população de leveduras com a contagens das células no início da fermentação, durante (12 horas após o início) e no final do processo. Nas frações destiladas foram analisados o teor alcoólico, por densimetria, as concentrações de congêneres e de carbamato de etila foram analisadas por cromatografia gasosa (CG-DIC e CG-EM, respectivamente). As análises estatísticas foram realizadas pelo programa SAS por ANOVA com Teste de Tukey. O tipo de fermento influencia na composição química dos destilados. A aplicação da metodologia da monodestilação, com o correto corte das frações “cabeça”, “coração” e “cauda” minimiza as diferenças e é decisiva para o controle e qualidade da composição química das cachaças produzidas. Os álcoois superiores 1-propanol e isoamílico, o ácido acético e o contaminante carbamato de etila foram os compostos que apresentaram diferenças significativas entre os fermentos nas frações “coração”. O fermento natural demonstrou ser um tipo de inóculo arriscado para produção de cachaça, pois além de apresentar álcoois superiores em concentrações não permitidas, também apresentou alta formação de carbamato de etila, que se concentrou na fração “coração” ou cachaça propriamente dita.

Palavras chave: Composição química; Cachaça; Levedura comercial; Fermento natural

ABSTRACT

The aim of this chapter was to evaluate the influence of the use of selected yeasts and natural yeast on the formation and concentration of congeners and contaminants in the volatile fractions separated during distillation. Juice extracted from sugarcane stalks was filtered and adjusted to 18 ° Brix. Fermentations were conducted using selected *Saccharomyces cerevisiae* yeasts, strain CA-11 and strain CanaMax, and natural yeast. The wines were distilled in a copper pot still, separating the “head”, “heart” (cachaça) and “tail” fractions. The sugarcane juice was analyzed for pH, Brix, Pol, Reducing Sugars, Total Reducing Sugars and Total Acidity; and

wines were analyzed for alcohol content, pH, residual reducing sugars and total acidity. Yeasts were analyzed for cell viability, using the erythrosine staining method, and yeast population with cell counts at the beginning of the fermentation, during (12 hours after the start) and at the end of the process. In all the distilled fractions, the alcohol content was analyzed by densimetry, and the concentrations of congeners and ethyl carbamate by gas chromatography (GC-FID and GC-MS, respectively). Statistical analyzes were performed using the SAS program by ANOVA with Tukey's test. The type of yeast influences the chemical composition of the distillates. The application of the monodistillation methodology, with the correct cut of the "head", "heart" and "tail" fractions minimizes the differences and is decisive for the control and quality of the chemical composition of the cachaças produced. The higher alcohols 1-propanol and isoamyl, the acetic acid and the contaminant ethyl carbamate were the compounds that showed significant differences between the yeasts in the "heart" fractions. Natural yeast proved to be a risky type of inoculum for the production of cachaça, because in addition to having higher alcohols in concentrations that are not allowed, it also had a high formation of ethyl carbamate, which was concentrated in the fraction "heart" or cachaça itself.

Keywords: Chemical composition; Cachaça; Commercial yeast; Natural yeast

2.1. Introdução

Cachaça é o destilado típico brasileiro, produzido a partir do caldo de cana-de-açúcar fermentado. É a segunda bebida alcoólica mais consumida em território nacional e sua produção está presente em todas regiões do Brasil (BRASIL, 2019).

O processo de produção da cachaça consiste basicamente na extração e preparo do caldo da cana-de-açúcar, fermentação alcoólica e destilação. Os métodos de fabricação são os mais diversos e são caracterizados por empresas familiares, com pequena produção, até destilarias médias e de grande porte. Não existe um padrão de fabricação e nem um controle oficial dos processos de produção, e por isso as cachaças possuem características químicas e sensoriais muito diversificadas (LIMA, 1999; MUTTON; MUTTON, 2010).

Os componentes voláteis da cachaça estão diretamente relacionados às características sensoriais e qualidade da bebida. Todas as etapas de produção influenciam a composição da fração volátil do destilado. A variedade da cana utilizada, o tipo de fermento utilizado, a configuração do aparelho destilador e o método de destilação são algumas das variáveis que diversificam as características da cachaça. Além disso, a qualidade será definida pelos procedimentos operacionais e o controle de todo o processo pelo produtor.

A fermentação alcoólica é o processo de transformação dos açúcares presentes no caldo de cana-de-açúcar em álcool etílico, CO₂, outros compostos que são denominados congêneres e

alguns contaminantes. É a principal etapa na fabricação da cachaça e seu controle é essencial para garantir a qualidade da bebida.

Grande parte dos produtores faz a propagação do fermento de maneira empírica, preparando o fermento “caipira”, ou seja, estimulando a multiplicação dos microrganismos presentes no meio (cana, solo, ar, equipamentos) (CARDOSO, 2013). Os métodos da propagação pela fermentação espontânea aumentam a chance de proliferação de microrganismos indesejáveis, podendo resultar na produção de compostos que contaminam o meio interferindo na qualidade do produto final.

Atualmente existem leveduras comerciais que foram selecionadas especificamente para a produção de cachaça. Uma levedura selecionada disponível no Brasil em sua forma desidratada ativa é a *Saccharomyces cerevisiae* UFLA CA 11 (CA-11), que proporciona maior estabilidade no padrão de qualidade durante e entre as safras e, de acordo com Cardoso (2013), o uso dessa cepa por alguns produtores tem resultado em melhorias significativas no rendimento e qualidade da cachaça.

Outra levedura *Saccharomyces cerevisiae* selecionada no Brasil para uso em fermentação de Cachaça é a cepa UFMG 1007, que desde 2011 é comercializada com o nome CanaMax. Esta cepa foi isolada e selecionada em testes realizados pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e algumas de suas características são a tolerância a altas concentrações de etanol e temperatura, alta resistência a contaminantes e predominância por vários ciclos fermentativos (LALLEMAND BIOFUELS & DISTILLED SPIRITS, 2019).

O etanol e a água são os principais componentes da cachaça, porém pouco influenciam no aroma e sabor da bebida. São os compostos secundários, formados em quantidades não tão relevantes, que vão determinar a percepção sensorial do produto final. Os grupos de compostos mais representativos nas características sensoriais são os álcoois, ésteres, ácidos, aldeídos, cetonas, acetais, compostos sulfurados e fenólicos (ALCARDE, 2014).

No Brasil há especificações para a composição química da cachaça, estabelecidas pela legislação nacional, sob a responsabilidade do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Esses limites críticos devem ser controlados no produto final para garantir a segurança e qualidade da bebida. O controle da qualidade e da padronização da cachaça também é essencial para que esteja dentro dos padrões internacionais e seja aceita pelo mercado externo. O principal entrave à exportação da cachaça é devido à má qualidade e também à deficiência de padronização em toda a cadeia produtiva (MIRANDA et al., 2007).

O possível risco químico é uma das preocupações relacionadas ao consumo de cachaça. A maioria dos componentes que oferecem riscos à saúde tem origem durante a fermentação e

destilação e sua remoção é difícil e muitas vezes até impossível após essas etapas (BORTOLETTO; ALCARDE; SILVELLO, 2018). É importante evitar a formação dessas substâncias perigosas a partir da aplicação de técnicas adequadas de produção e do controle de todo o processo.

O objetivo deste capítulo foi avaliar a influência do uso de leveduras selecionadas e fermento natural na formação e concentração de congêneres e contaminantes nas frações voláteis separadas durante a destilação.

2.2. Material e métodos

2.2.1. Local

O projeto 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).

2.2.2. Preparo dos mostos

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 foi realizada uma filtração em algodão hidrófilo para retirar impurezas grosseiras, tais como resíduos de terra e bagacilhos. Em seguida o caldo foi ajustado para 18 °Brix mediante adição de água destilada para o início das fermentações.

2.2.3. Fermentação

2.2.3.1. Fermento Selecionado

Foram adicionadas as cepas de leveduras selecionadas, inoculando-se 3g/L, em massa seca, para cada tratamento. Os fermentos selecionados que foram utilizados são leveduras *Saccharomyces cerevisiae*, cepa CA-11 (LNF, Bento Gonçalves/RS) e cepa CanaMax (CX) (Lallemand Brasil). Os fermentos foram previamente hidratados com água a 40 °C para reativação das células (Figura 3).



Figura 3. Pé-de-cuba do fermento natural, cepa CanaMax e cepa CA-11, respectivamente.

2.2.3.2. Fermento Natural

Para a fermentação natural (FN) foi preparado o fermento “caipira” adaptando os métodos descritos por Lima (1999). A Figura 4 apresenta as etapas de preparo do fermento natural. Uma mistura foi preparada com os seguintes ingredientes e quantidades: 4 g de farelo de arroz, 4 g de fubá comum, 4 g de sulfato de amônio, 0,4 g de superfosfato (fertilizante químico) e 10 mL de caldo de limão. Uma pasta foi preparada com todos esses ingredientes e esta foi colocada em um saco limpo de algodão, cuja boca foi amarrada. O saco foi colocado dentro de um becker de 4 L e adicionou-se 1 litro de caldo de cana diluído a 7 °Brix com água destilada. A mistura foi mantida em estufa a 28 °C, com aeração diária de 10 minutos utilizando Bomba de ar para aquário Big Air A320, com vazão de 3,5 L/ minuto por saída. Foi adicionado 1 L de caldo fresco a 7 °Brix a cada 24 horas durante três dias. Após 72 horas, o saco de algodão foi removido do recipiente e o líquido permaneceu com aeração diária de 10 minutos, mas sem adição de novo caldo, durante quatro dias. Após esse período, foi retirado todo o líquido sobrenadante e adicionado 1 L litro de caldo a 8 °Brix e, a cada 24 horas, durante 9 dias, o processo se repetiu aumentando-se 1 °Brix de cada caldo adicionado. Metade do líquido sobrenadante foi retirado a cada 3 dias e no 9º dia observou-se um volume significativo de massa de leveduras decantadas. O processo total de preparo do pé-de-cuba teve duração de 16 dias. A proporção de massa úmida de leveduras utilizadas na fermentação foi três vezes o peso da massa seca das leveduras selecionadas (9 g / L).

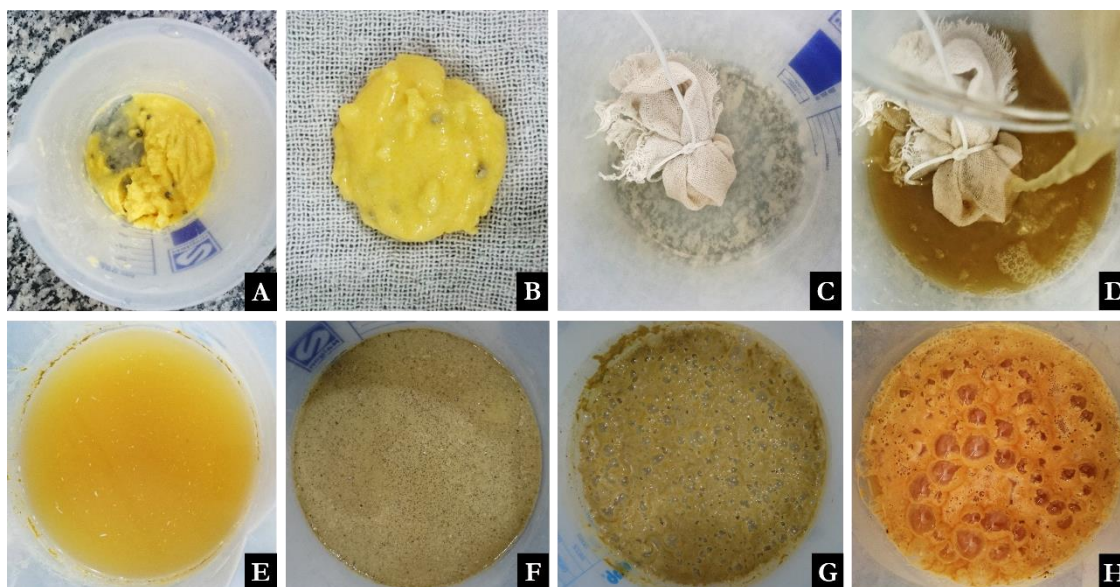


Figura 4. Etapas de preparo do fermento natural. Preparo da mistura (A), pasta pronta (B), saco de pano com a pasta colocado dentro do becker (C), primeira adição de caldo de cana (D), caldo de cana após 72 h (E), massa de leveduras formada no 9º dia de preparo (F), massa de leveduras algumas horas depois da adição de novo caldo (G), caldo de cana fermentando (H).

2.2.3.3. Condução e monitoramento do processo fermentativo

O processo fermentativo foi conduzido igualmente em todos os tratamentos. As fermentações foram realizadas em fermentador de 40L, com monitoramento de temperatura (mantida entre 28 °C a 32 °C), tempo (24 a 72 horas) e acompanhamento diário da atenuação do Brix do mosto em fermentação.

Os fermentos foram analisados quanto a viabilidade de células, pelo método da coloração com eritrosina, e a contagem de leveduras foi determinada de acordo com procedimentos descritos por Caldas (1998). As contagens das células foram realizadas no início da fermentação, durante (12 horas após o início) e no final do processo.

2.2.4. Destilação

Os mostos fermentados (vinhos) foram destilados em alambique de cobre de 10L (Figura 5A e 5B) seguindo a metodologia descrita por Alcarde (2014), procedendo-se a separação das frações “cabeça” (2 % do volume útil da caldeira), “coração” (destilado recuperado até 38 % de etanol na fração à saída do condensador) e “cauda” (destilado recuperado de 38 % até o esgotamento do etanol na fração à saída do condensador). O tempo das destilações foi

cronometrado e as frações “coração” e “cauda” foram recolhidas em volumes de 300 mL para análises de teor alcoólico.

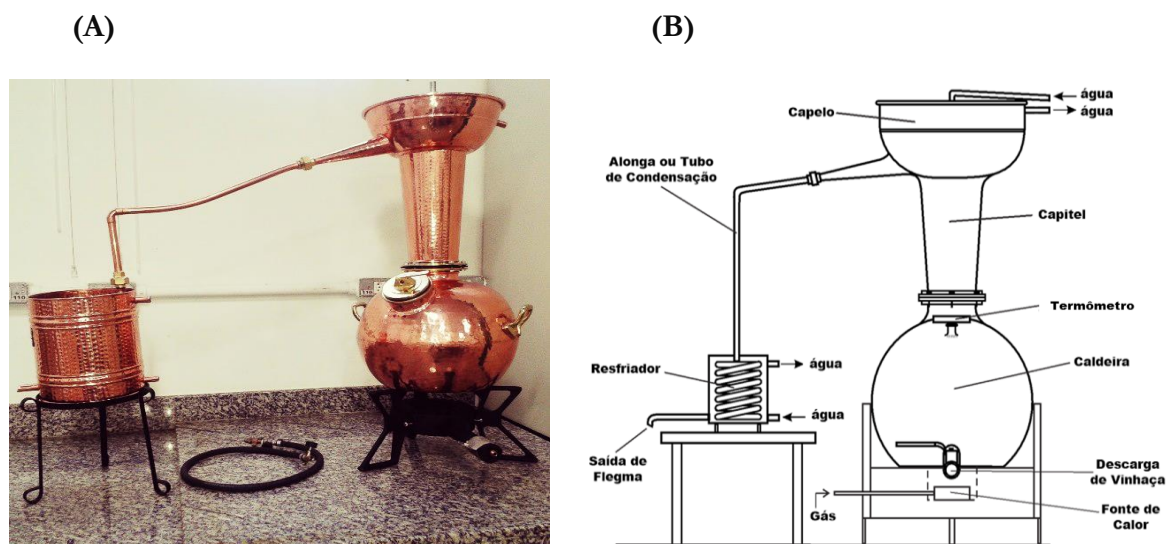


Figura 5. Foto (A) e esquema do alambique (B) que foi utilizado para as destilações

2.2.5. Análises químicas

Os mostos foram submetidos às análises de pH, Brix, Pol (% em massa de sacarose aparente), Açúcares Redutores (AR), Açúcares Redutores Totais (ART) e Acidez Total; e os vinhos foram analisados quanto a Teor Alcoólico, por densitometria em densímetro digital Anton Paar 4500 após destilação das amostras por arraste de vapor em destilador Tecnal TE-012, pH, Açúcares Redutores Residuais (ARR) e Acidez Total, seguindo metodologias descritas por Caldas (2012).

As frações “cabeça”, “coração” e “cauda” foram submetidas às análises químicas descritas nos itens 2.2.5.1 a 2.2.5.2.

2.2.5.1. Grau alcoólico

Os destilados foram analisados quanto ao teor de álcool por densimetria (BRASIL, 2005b), em densímetro digital Anton Paar DMA 4500.

2.2.5.2. Análises Cromatográficas

2.2.5.2.1. Congêneres voláteis por Cromatografia gasosa (GC-DIC)

Os padrões empregados foram: acetaldeído, acetato de etila, metanol, n-propanol, isobutanol, n-butanol, álcool iso-amílico 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), álcool iso-amílico (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 manual 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 (H₂) foi de 1,5 mL / min com fluxo total de 42 mL / min 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 (isoterma de 1 min) e aumento a 30°C / min até 180 °C (isoterma de 4 min) (BORTOLETTO; ALCARDE, 2013).

2.2.5.2.2. 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 esterificado), HP-FFAP (50 m x 0,20 mm x 0,33 μ m 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, seguido de aquecimento para 230 °C a uma taxa de 30 °C / min na qual permanecerá por 10 min. O volume injetado foi de 1,0 μ L no modo “splitless” automático. O gás de arraste foi o hélio (5.0) com fluxo de 1,2 mL / min. 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.

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) 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 3.

Tabela 3. Índice de retenção, (IR), Limite de Detecção (LD), e Limite de Quantificação (LQ) de congêneres voláteis e contaminantes, e coeficientes de correlação (a, b, r²) das curvas de calibração em solução alcoólica (40 % v / v)

Congêneres voláteis	IR (min)	LD (mg / 100 mL etanol anidro)	LQ (mg / 100 mL etanol anidro)	A	B	r ²
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 (mg / 100 mL etanol anidro)	LQ (mg / 100mL etanol anidro)	A	B	r ²
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

^aµg / L

2.2.6. Análises de dados

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).

2.3. Resultados e Discussão

2.3.1. Caracterização do caldo de cana-de-açúcar

A Tabela 4 apresenta os valores de pH, ° Brix, Pol (% em massa de sacarose aparente), açúcares redutores (AR), açúcares redutores totais (ART) e acidez total no caldo de cana-de-açúcar utilizado para todas as fermentações.

Tabela 4. 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

pH	Brix	Pol	AR (g/ 100mL)	ART (g/ 100mL)	Acidez total (g H ₂ SO ₄ /L)
5,03 ± 0,02	18,5 ± 0,96	15,75 ± 0,94	1,23 ± 0,21	17,99 ± 1,3	1,46 ± 0,13

O caldo de cana-de-açúcar apresentou pH 5 e está entre 4,5 a 5,5, valores que de acordo com Bortoletto, Silvello e Alcarde (2018) são ótimos para a fermentação alcoólica. Valores abaixo dessa faixa não são desejáveis para o processo. Schwan & Castro (2001) afirmam que durante a fermentação o pH com valores próximos a 4 e a temperatura acima de 32 °C podem aumentar as chances de contaminações por bactérias que vão interferir na eficiência do processo. A acidez total do caldo em g H₂SO₄ / L foi de 1,46, a Pol foi de 15,75, o mosto de caldo de cana apresentou concentração de açúcares redutores de 1,23 g / 100mL e concentrações de açúcares redutores totais (ART) de 17,99 g / 100 mL.

O Brix do caldo antes da diluição foi de 18,5, valor próximo ao requerido para o início das fermentações. Alcarde (2014) afirma que para o início da fermentação alcoólica o caldo deve apresentar de 16 a 18 °Brix, pois concentrações acima podem resultar em fermentações lentas e incompletas, reduzindo o rendimento e a qualidade da bebida final, e concentrações abaixo podem ser mais favoráveis a contaminações, além de necessitarem de maior consumo de energia durante a destilação e gerarem maior volume de vinhaça.

2.3.2. Caracterização dos vinhos

A Tabela 5 apresenta os valores de teor alcoólico, pH, açúcares redutores residuais (ARR) e acidez total nos vinhos obtidos nas fermentações com as leveduras CanaMax (CX), CA-11 e fermento natural (FN).

Tabela 5. Teor alcoólico, pH, Açúcares redutores residuais (ARR) e Acidez total nos vinhos das fermentações com as leveduras CanaMax (CX), CA-11, fermento natural (FN)

Vinhos (Tratamentos)	Teor alcoólico % (v/v)	pH	ARR (g/100mL)	Acidez total (g H ₂ SO ₄ /L)
CX	10,13 ^a ± 0,14	3,77 ^a ± 0,08	0,29 ^a ± 0,4	4,59 ^b ± 0,54
CA-11	9,41 ^a ± 0,2	3,53 ^{ab} ± 0,11	0,78 ^a ± 0,08	5,05 ^b ± 0,24
FN	9,55 ^a ± 0,29	3,3 ^b ± 0,08	1,08 ^a ± 1,53	7,19 ^a ± 0,68

Médias seguidas por letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

O vinho é constituído de aproximadamente 88% a 93% de água, 5% a 9% de etanol (LIMA, 2001) e outros compostos como álcoois superiores, ésteres, ácidos e aldeídos que serão

importantes nas características sensoriais do destilado. O vinho fermentado com a CX foi o que apresentou a maior concentração alcoólica (10,13 % v/v), porém não diferiu significativamente dos outros tratamentos. O vinho da FN apresentou o pH mais ácido, de 3,3, e acidez total mais elevada (7,2 g H₂SO₄/L) do que os outros fermentos, diferindo do vinho da CX. De acordo com Dragone et al. (2010) o pH reduzido ao final da fermentação é decorrente da produção de ácidos orgânicos, tal como o ácido acético. A concentração de açúcares redutores residuais não apresentou diferenças entre os tratamentos e foi em média 0,72, indicando que do total de açúcares redutores presentes no caldo inicial, aproximadamente 96 % foram consumidos pelas leveduras.

2.3.3. Viabilidade celular e população de leveduras

A viabilidade celular aumentou durante o processo fermentativo (Tabela 6). No início da fermentação a viabilidade foi significativamente diferente nos três fermentos. A cepa CA-11 foi a que apresentou a maior viabilidade celular inicial, com 88,72% e o fermento CanaMax teve a menor viabilidade, com 67,65%. Durante a fermentação não houve diferença significativa entre os três fermentos e todos os tratamentos estavam com viabilidade entre 80 % e 90 %, o que de acordo com Amorim, Basso e Alves (1996) é importante para uma boa condução do processo fermentativo. Todos os tratamentos finalizaram com maior viabilidade, porém sem diferenciarem-se estatisticamente, e o maior aumento da viabilidade no final da fermentação foi de 18% na CanaMax, apesar de apresentar a menor porcentagem de células viáveis ao final do processo. A viabilidade celular é de extrema importância para o desenvolvimento do processo fermentativo e a tolerância ao principal produto da fermentação (álcool etílico) é determinante na sua produtividade (ALVES, 1994). Ribeiro et al. (2017) testando a influência da levedura CA-11 e fermento natural (FN) na fermentação para produção de cachaças, observaram maior viabilidade celular da levedura CA-11 no início (80,75 %, CA11; 72,46 %, FN) e final (82,15%, CA-11; 74,69 %, FN) do processo fermentativo, porém a viabilidade celular obtida por eles foi menor do que a obtida no presente trabalho, utilizando os mesmos fermentos. A cepa CA-11 apresentou viabilidade 5 % maior do que o fermento natural ao final da fermentação, porém os dois fermentos não diferiram entre si. De acordo com Ribeiro et al. (2017), quanto maior a viabilidade, mais rápida é a fermentação, maior é o número de ciclos realizado por um mesmo pé-de-cuba, menores são os riscos de contaminações e conseqüentemente mais eficiente é o processo.

Tabela 6. Viabilidade celular (%) dos fermentos no início, durante e no final da fermentação

Viabilidade	CanaMax	CA-11	Fermento natural
Inicial	67,65 ^c ± 1,27	88,72 ^a ± 1,17	78,13 ^b ± 3,37
Durante	84,49 ^a ± 5,05	89,94 ^a ± 1,31	89,7 ^a ± 7,78
Final	79,83 ^a ± 3,36	92,15 ^a ± 1,99	87,76 ^a ± 5,81

Médias seguidas por letras iguais na mesma linha indicam que não há diferença significativa pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

A população de leveduras apresentou diferença significativa entre os fermentos apenas durante a fermentação (Tabela 7). O fermento natural apresentou a maior concentração de leveduras, mas não foi estatisticamente diferente da cepa CanaMax. A cepa CA-11 apresentou a menor população de leveduras quando comparada ao fermento natural, mas não apresentou diferença significativa da cepa CanaMax. Comparando a concentração inicial e final de leveduras de um mesmo fermento, houve aumento da população das duas cepas comerciais e do fermento natural durante o processo fermentativo.

Tabela 7. População de leveduras no início da fermentação, durante e ao final do processo

Nº Células	CanaMax	CA-11	Fermento natural
Inicial	2,03E+09 ^a ± 4,43E+08	1,94E+09 ^a ± 2,66E+08	1,57E+09 ^a ± 5,98E+08
Durante	9,7E+07 ^{ab} ± 1,5E+07	4,1E+07 ^b ± 1,6E+07	1,4E+08 ^a ± 2,7E+07
Final	2,4E+09 ^a ± 3,8E+08	2,37E+09 ^a ± 5,16E+08	2,7E+09 ^a ± 8,78E+08

Médias seguidas por letras iguais na mesma linha indicam que não há diferença significativa pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

2.3.4. Compostos Voláteis

As análises de concentração de componentes voláteis foram feitas nas três frações dos destilados originados dos diferentes fermentos. Foi possível observar o correto corte das frações “cabeça”, “coração” e “cauda” e o comportamento dos congêneres voláteis durante a destilação. A Tabela 8 apresenta a comparação do perfil quantitativo para os compostos químicos analisados nas três frações dos destilados dos mostos fermentados pelas leveduras CanaMax, CA-11 e fermento natural.

De acordo com Cleto e Mutton (1995), as diferentes leveduras dão origem aos mesmos componentes secundários, mas não nas mesmas concentrações. As análises de componentes secundários mostraram que os compostos apresentaram cinética de volatilização característica, seguindo os resultados de (ALCARDE; SOUZA; BELLUCO, 2010). As maiores concentrações de acetaldeído e acetato de etila saíram na fração “cabeça”, as mais altas concentrações de ácido acético e furfural aparecem na fração “cauda” e os álcoois superiores são destilados durante todo

o processo e aparecem em mais altas concentrações na fração “cabeça”. Os compostos contaminantes também foram detectados em algumas frações. O composto 1-butanol foi detectado apenas na fração “cabeça” de todas as cachaças e o 2-butanol não foi detectado em nenhuma amostra. O carbamato de etila foi detectado em todas as frações, mas em maiores concentrações na fração “coração”.

Tabela 8. Médias comparadas de teor alcoólico (% v/v), congêneres voláteis (mg / 100 mL AA), metanol (mg / 100 mL AA), 1-butanol (mg / 100 mL AA) e carbamato de etila (μg / L) nas frações “Cabeça”, “Coração” e “Cauda” da destilação dos mostos fermentados pelas leveduras CanaMax (CX), CA-11 e Fermento natural (FN)

		Cabeça		Coração		Cauda		Conc. Total	
		Concentração	% do total	Concentração	% do total	Concentração	% do total		
Teor alcoólico	CX	43,30 ^a ± 1,27	-	45,76 ^a ± 2,12	-	17,69 ^a ± 0,38	-	-	
	CA-11	41,53 ^a ± 9,21	-	45,90 ^a ± 0,06	-	17,03 ^a ± 0,84	-	-	
	FN	40,10 ^a ± 9,00	-	47,33 ^a ± 0,78	-	24,33 ^a ± 8,35	-	-	
Congêneres Voláteis	Acetaldeído	CX	33,86 ^a ± 0,81	69,6	11,76 ^a ± 1,69	24,2	3,02 ^a ± 2,14	6,2	48,64
		CA-11	27,04 ^a ± 7,27	67,7	11,15 ^a ± 0,5	27,9	1,74 ^a ± 2,46	4,3	39,93
		FN	40,58 ^a ± 5,63	70,2	13,35 ^a ± 1,91	23,1	3,89 ^a ± 2,98	6,7	57,82
	Acetato de Etila	CX	64,70 ^a ± 16,47	83,2	13,09 ^a ± 3,64	16,8	ND	0	77,78
		CA-11	103,19 ^a ± 58,58	79,4	26,78 ^a ± 5,8	20,6	ND	0	129,97
		FN	109,22 ^a ± 21,64	80,6	26,21 ^a ± 12,65	19,4	ND	0	135,43
	1-propanol	CX	24,00 ^a ± 2,66	48,9	20,94 ^b ± 1,86	42,6	4,18 ^a ± 2,89	8,5	49,11
		CA-11	28,50 ^a ± 8,74	45,4	30,31 ^a ± 4,36	48,2	4,02 ^a ± 1,92	6,4	62,83
		FN	18,57 ^a ± 5,04	52,2	16,13 ^b ± 0,7	45,3	0,87 ^a ± 0,64	2,4	35,57
	Iso-butanol	CX	64,24 ^a ± 5,02	62,2	38,18 ^a ± 4,03	36,9	0,92 ^a ± 0,96	0,9	103,35
		CA-11	89,99 ^a ± 35,24	55,5	70,58 ^a ± 16,69	43,5	1,72 ^a ± 2,09	1,1	162,29
		FN	89,16 ^a ± 20,96	60,4	56,65 ^a ± 7,79	38,4	1,84 ^a ± 1,71	1,2	147,64
	Isoamilico	CX	323,47 ^a ± 17,37	60,8	191,08 ^c ± 9,4	35,9	17,41 ^a ± 4,77	3,3	531,96
		CA-11	392,47 ^a ± 116,46	54,3	308,19 ^b ± 35,28	42,6	22,10 ^a ± 7,98	3,1	722,75
		FN	670,82 ^a ± 163,82	58,7	433,49 ^a ± 50,7	37,9	38,71 ^a ± 12,62	3,4	1143,03
	Ácido acético	CX	40,19 ^a ± 11,15	13,1	61,66 ^a ± 11,9	20,1	204,74 ^a ± 99,60	66,8	306,59
		CA-11	53,19 ^a ± 27,72	24,3	29,84 ^b ± 5,79	13,6	136,08 ^a ± 50,82	62,1	219,11
		FN	58,42 ^a ± 23,50	28,2	39,58 ^{ab} ± 2,6	19,1	109,39 ^a ± 24,11	52,7	207,39
	Furfural	CX	1,03 ^a ± 0,31	5,2	2,86 ^a ± 0,54	14,4	16,03 ^a ± 4,48	80,5	19,92
		CA-11	3,54 ^a ± 2,26	18,8	2,04 ^a ± 0,77	10,8	13,29 ^{ab} ± 2,70	70,4	18,88
		FN	3,43 ^a ± 2,43	30,0	1,34 ^a ± 0,41	11,7	6,67 ^b ± 0,23	58,3	11,44
	Álcoois superiores	CX	411,81 ^a ± 23,28	60,2	250,2 ^b ± 15,16	36,6	22,51 ^a ± 8,09	3,3	684,43
		CA-11	510,96 ^a ± 160,25	53,9	409,08 ^a ± 55,13	43,2	27,84 ^a ± 11,63	2,9	947,88
		FN	778,55 ^a ± 189,44	58,7	506,27 ^a ± 57,99	38,2	41,41 ^a ± 14,31	3,1	1326,24
Coeficiente de Congêneres	CX	551,49 ^a ± 47,88	48,5	339,57 ^b ± 26,31	29,9	246,30 ^a ± 100,87	21,7	1137,36	
	CA-11	597,92 ^a ± 210,70	51,5	478,90 ^{ab} ± 66,11	35,3	178,95 ^a ± 48,78	13,2	1355,77	
	FN	990,21 ^a ± 188,83	57,0	586,75 ^a ± 70,30	33,8	161,36 ^a ± 34,28	9,3	1738,32	
Contaminantes	Metanol	CX	0,20 ^a ± 0,28	6,1	0,63 ^a ± 0,46	19,9	2,35 ^a ± 0,86	73,9	3,18
		CA-11	0,78 ^a ± 0,58	27,0	0,31 ^a ± 0,44	10,9	1,78 ^a ± 0,45	62,1	2,87
		FN	1,10 ^a ± 0,12	20,1	1,2 ^a ± 0,28	21,9	3,18 ^a ± 0,76	58,1	5,47
	1-butanol	CX	0,14 ^a ± 0,1	100,0	ND	0,0	ND	0,0	0,14
		CA-11	0,08 ^a ± 0,11	100,0	ND	0,0	ND	0,0	0,08
		FN	0,78 ^a ± 0,94	100,0	ND	0,0	ND	0,0	0,78
	Carbamato de etila	CX	8,17 ^a ± 11,56	7,13	90,09 ^a ± 125,1	78,59	16,36 ^a ± 23,14	14,27	114,64
		CA-11	59,36 ^a ± 83,94	45,48	69,61 ^a ± 92,45	53,33	1,56 ^a ± 2,2	1,2	130,53
		FN	292,16 ^a ± 207,15	23,83	847,78 ^a ± 496,25	69,16	85,86 ^a ± 47,1	7	1225,8

ND = não detectado

Médias seguidas por letras iguais na mesma coluna, para cada composto, indicam que não há diferença estatística entre os fermentos pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

2.3.4.1. Teor Alcoólico

O objetivo da separação de frações durante a destilação é concentrar o álcool etílico e diminuir as concentrações de compostos secundários na fração “coração”, que é a cachaça propriamente dita, garantindo sua qualidade química e seu enquadramento dentro dos parâmetros permitidos pela legislação.

A Figura 6 apresenta as médias de teor alcoólico em cada amostra de 300 mL retirada ao longo do período de destilação dos vinhos produzidos a partir dos três fermentos. A destilação iniciou, em média, a partir dos 33 minutos (CanaMax), 35 minutos (CA-11) e 37 minutos (fermento natural). As frações “coração” foram recolhidas dos 38 aos 64 minutos de destilação. As frações “cauda” foram recolhidas a partir dos 39 minutos e o máximo tempo de destilação foi 118 minutos. A partir da média das concentrações alcoólicas das amostras recolhidas durante o período, pode-se afirmar que as destilações foram padronizadas e conseqüentemente as bebidas obtidas apresentaram teores alcoólicos semelhantes.

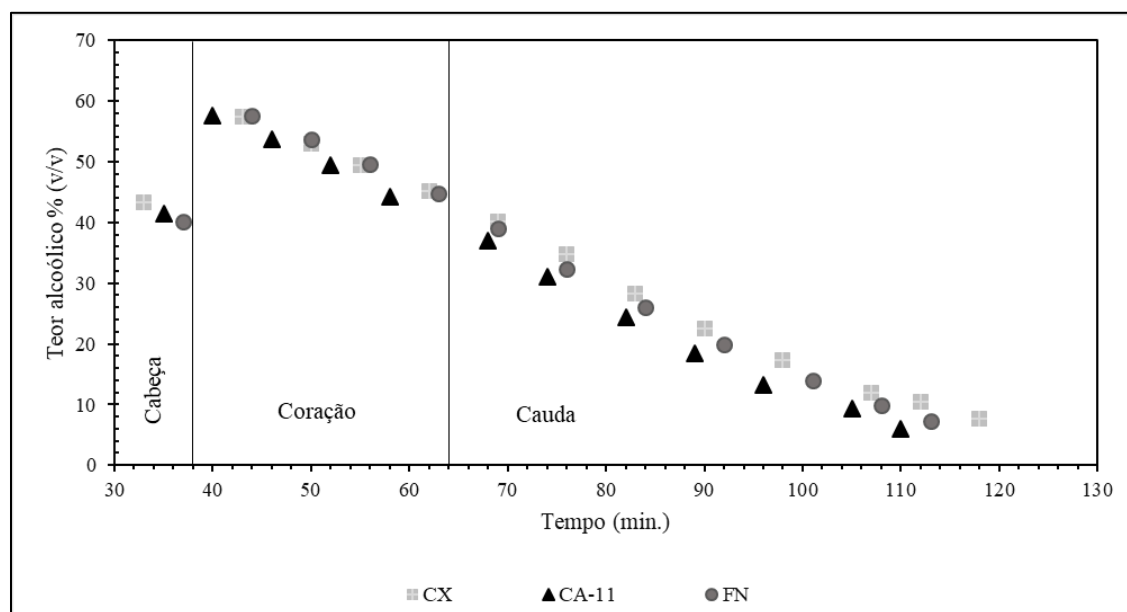


Figura 6. Teor alcoólico (% v/v) das frações coletadas durante as destilações

As frações “cabeça” apresentaram teor alcoólico abaixo da média normal (60 % v/v) para essa fração (Tabela 8; Figuras 6 e 7) em cachaças monodestiladas, indicando que havia um restante de fração “cauda” ou água, presente na serpentina do condensador, proveniente de uma destilação anterior. O arraste considerável de resíduos líquidos de destilações anteriores é decorrente do tamanho do alambique (10 L) e por isso a proporção de fração “cabeça” retirada em todas as destilações foi de 2 % do volume total do alambique (200 mL).

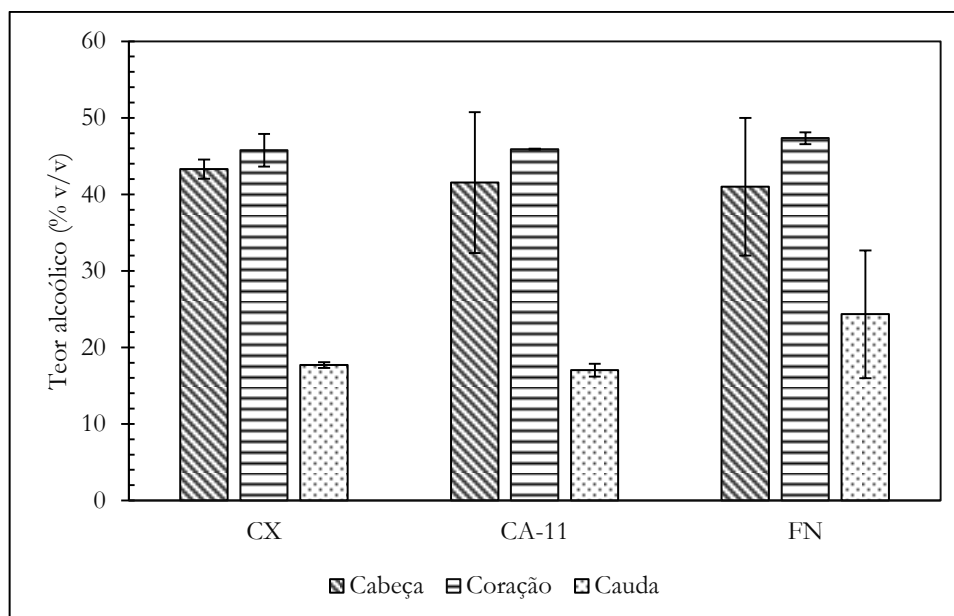


Figura 7. Teor alcoólico (% v/v) nas frações “cabeça”, “coração” e “cauda” da destilação de vinhos fermentados por CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural)

O corte da fração “coração” (cachaça propriamente dita) foi realizado corretamente nas destilações dos vinhos produzidos a partir da fermentação dos três diferentes fermentos e todos os destilados obtidos estão dentro do padrão estabelecido pela legislação brasileira para serem denominados Cachaça (Tabela 8; Figura 7). Essa afirmação é confirmada pelo teor alcoólico obtido nas frações “coração” (cachaça) dos destilados, pois não houveram diferenças significativas para os três fermentos testados e a média foi de 46,3 % (v / v) de graduação alcoólica. Também, o volume total de líquido obtido dessa fração foi em média 1,3 L, que representa 13% do volume total do vinho inicial, e não apresentou diferença estatística significativa entre as três cachaças produzidas (Figura 8).

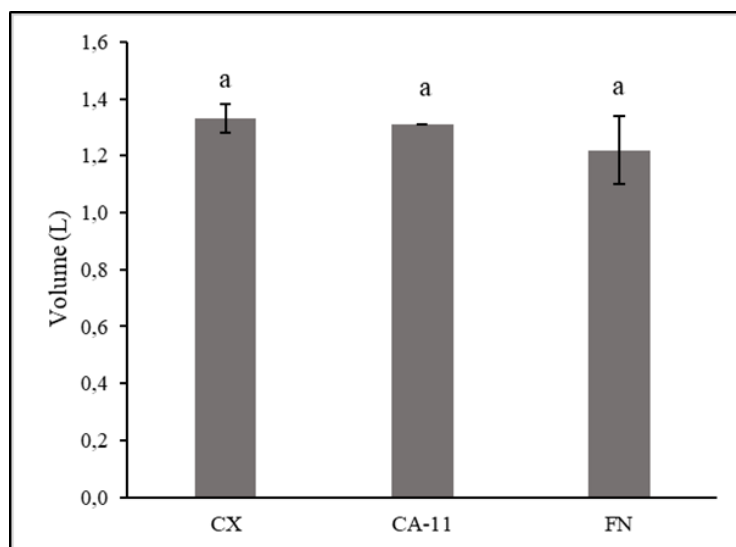


Figura 8. Volume total (L) das frações “coração” obtidas a partir da destilação dos vinhos fermentados por CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural). Letras iguais indicam que não há diferença significativa entre os volumes totais dos tratamentos

2.3.4.2. Aldeídos

O principal aldeído formado durante a produção de cachaça é o acetaldeído, que é produzido principalmente por leveduras e bactérias acéticas e por isso o controle correto da fermentação evita sua formação e a correta separação das frações durante a destilação elimina grande parte dos aldeídos presentes no vinho, pois estes se concentram na fração “cabeça” (DATO; PIZAURO JÚNIOR; MUTTON, 2005). Em concentrações moderadas, o acetaldeído pode contribuir para boas características sensoriais na cachaça não envelhecida, como aroma herbáceo e frutado (AMORIM; SCHWAN; DUARTE, 2016; SERAFIM et al., 2013; PORTUGAL et al., 2017) e concentrações muito altas desse composto podem resultar em aroma irritante, além de sua ingestão estar associada a indesejadas reações adversas nos seres humanos (LACHENMEIER & SOHNIUS, 2008)

Todas as destilações apresentaram mais de 60 % da concentração total de acetaldeído destilado na fração “cabeça”, sendo as frações provenientes da destilação do vinho do fermento natural as que apresentaram as maiores concentrações desse composto (Tabela 8; Figura 9). Nas frações “coração” (cachaça) foi arrastado, em média, 25 % do volume total de acetaldeído destilado e a maior concentração foi na cachaça do fermento natural, com 13,35 mg / 100 mL AA, valor abaixo dos limites estabelecidos pela legislação (30 mg / 100 mL AA). As frações “cauda” apresentaram menos de 10% do total de acetaldeído proveniente da destilação.

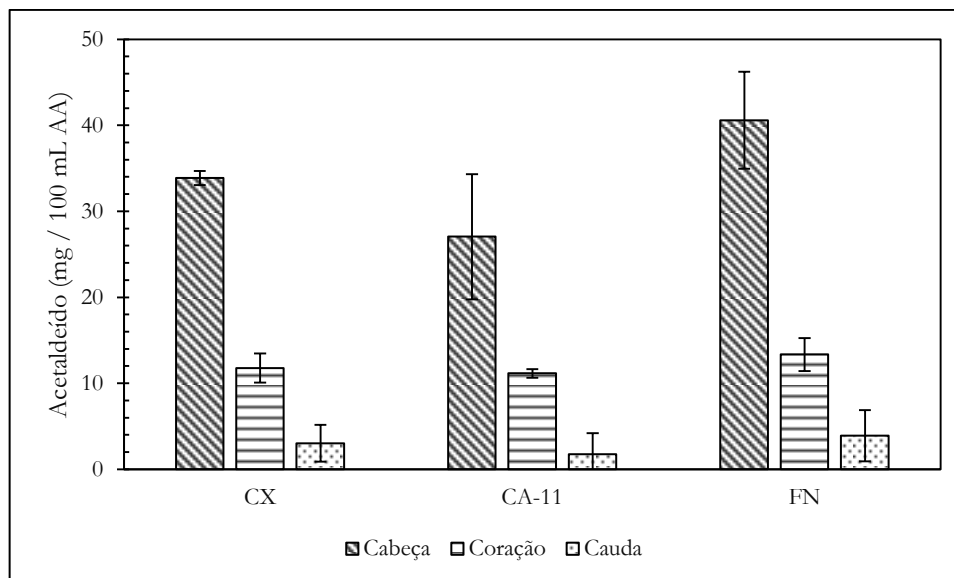


Figura 9. Concentrações de acetaldeído (mg / 100 mL AA) nas frações “cabeça”, “coração” e “cauda” da destilação de vinhos fermentados por CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural)

O furfural e o 5-hidroximetilfurfural (5-HMF) são aldeídos que podem ser formados em diferentes etapas do processo de produção da cachaça e são resultantes da decomposição química de carboidratos. Durante a destilação são originados por pirogenação de matéria orgânica, quando há resíduos de açúcar ou leveduras no vinho (MASSON et al., 2007). Geralmente estão presentes na cachaça, porém em grandes quantidades podem afetar a qualidade, conferindo sabor ardente à bebida (BORTOLETTO; SILVELLO; ALCARDE, 2018; PORTUGAL et al., 2017; SOUZA et al., 2009).

No presente estudo as concentrações de furfural nas frações “coração” foram relativamente baixas, com média de 2 mg / 100 mL AA, sendo a maior parte removida nas frações “cauda” (Tabela 8; Figura 10). Houve diferenças significativas nas frações “cauda”, com concentrações 2,4 vezes maiores nas frações da CX, diferenciando-se da FN. No geral, a destilação do vinho produzido a partir do fermento natural foi a que gerou menores concentrações desse composto.

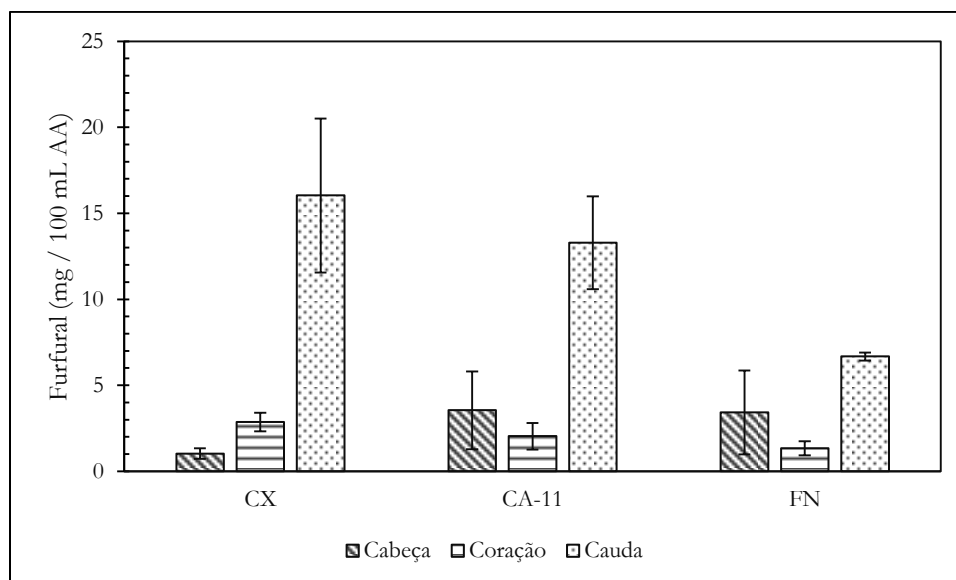


Figura 10. Concentrações de furfural (mg / 100 mL AA) nas frações “cabeça”, “coração” e “cauda” da destilação de vinhos fermentados por CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural)

2.3.4.3. Acetato de Etila

A concentração de ésteres totais em cachaça é expressa em acetato de etila, que corresponde a 80% dos ésteres totais e tem origem durante a fermentação, na esterificação do etanol com o ácido acético (BORTOLETTO; SILVELLO; ALCARDE, 2018; PORTUGAL et al., 2017; LITCHEV, 1989). Durante a destilação a maior parte dos ésteres é concentrada na fração “cabeça” e, no presente trabalho uma média de 81% da concentração total de ésteres foi coletada na fração “cabeça”, nas destilações dos vinhos produzidos pelos três fermentos (Tabela 8; Figura 11).

Nenhuma das frações destiladas diferiu nas concentrações de acetato de etila, independentemente do tipo de fermento utilizado. As frações “coração” apresentaram baixas concentrações desse composto (média de 22 mg / 100 mL AA), quando comparadas com a concentração máxima permitida pela legislação (200 mg / 100 mL AA). Além disso, mesmo com a soma das concentrações das três frações dos diferentes fermentos, nenhuma apresentou quantidades de acetato de etila acima desse limite. Testando a influência de leveduras autóctones e fermentos comerciais no perfil químico de cachaça, Portugal et al. (2017) obtiveram concentrações de acetato de etila entre 14 e 20 mg / 100 mL AA, valores próximos aos obtidos no presente estudo utilizando fermento selecionado e natural. Pereira et al. (2003) verificou que o teor de ésteres de 45 cachaças, produzidas no estado de Minas Gerais, variou de 13,79 a 161 mg / 100 mL AA. De 268 cachaças comerciais analisadas por Bortoletto e Alcarde (2015), apenas 1,5% apresentou concentração de ésteres acima do limite máximo legal permitido e, a maioria das

amostras analisadas (95,9%) tinham menos que 100 mg / 100 mL AA de ésteres, o que corresponde a metade do máximo limite estabelecido pela lei brasileira. Em 95% das cachaças analisadas por Boscolo et al. (2000), a concentração de ésteres não ultrapassava o limite máximo estabelecido. Souza et al. (2009) concluiu que nenhuma das 30 cachaças analisadas estava em não conformidade para concentrações de aldeídos e ésteres. Bogusz et al. (2006) analisou 27 amostras de cachaça do noroeste do Rio Grande do Sul e verificou que todas estavam dentro dos limites máximos permitidos para aldeídos e ésteres. Apesar disso, em 94 cachaças analisadas por Miranda et al. (2007), provenientes de diferentes regiões do Brasil, 16 excediam o limite para aldeídos e 6 apresentaram ésteres acima do máximo permitido.

Baixas concentrações de acetato de etila contribuem para os aromas adocicados e frutados na bebida (AMORIM et al., 2016). Concentrações superiores a 150-200 mg / L contribuem para aromas indesejáveis de solvente (PORTUGAL et al., 2017; ERTEN; TANGULER, 2010). Acetato de etila não foi detectado nas frações “cauda”.

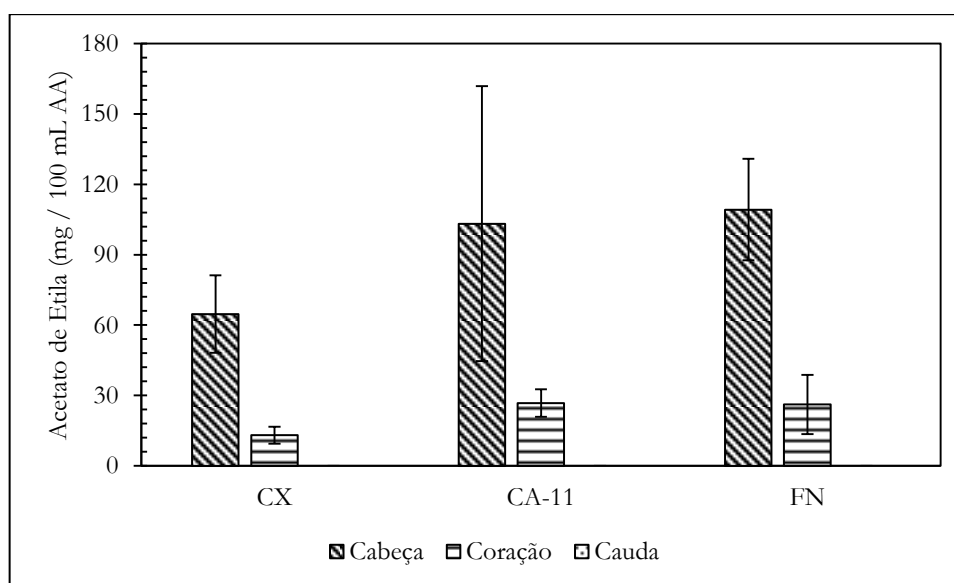


Figura 11. Concentrações de acetato de etila (mg / 100 mL AA) nas frações “cabeça”, “coração” e “cauda” da destilação de vinhos fermentados por CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural)

2.3.4.4. Álcoois Superiores

Quantitativamente, o maior grupo de compostos voláteis em bebidas destiladas é o dos álcoois superiores, que é formado pela degradação de aminoácidos pelas leveduras durante a fermentação (GONÇALVES et al., 2016). A presença dos álcoois superiores é importante para o perfil sensorial da cachaça, podendo exercer um efeito positivo na qualidade da bebida (LACHENMEIER; HAUPT; SCHULZ, 2008; SERAFIM et al., 2013; PORTUGAL et al., 2017;

BORTOLETTO; SILVELLO; ALCARDE, 2018). Esse grupo compreende os álcoois 1-propanol, iso-butanol e o isoamílico e foram coletados durante toda a destilação, porém resultaram em maiores concentrações, para todos os destilados, nas frações “cabeça”, seguida do “coração” e concentrações muito baixas na “cauda” (Tabela 8).

As maiores concentrações totais de 1-propanol e iso-butanol foram nas destilações a partir de vinho da CA-11 (Tabela 8; Figuras 12 e 13). Concentrações de 1-propanol acima de 55-65 mg / 100 mL AA podem prejudicar o perfil sensorial da cachaça (FLEET, 1993; PORTUGAL et al., 2016), porém mesmo somando as três frações, a concentração total desse composto não ultrapassou esse valor.

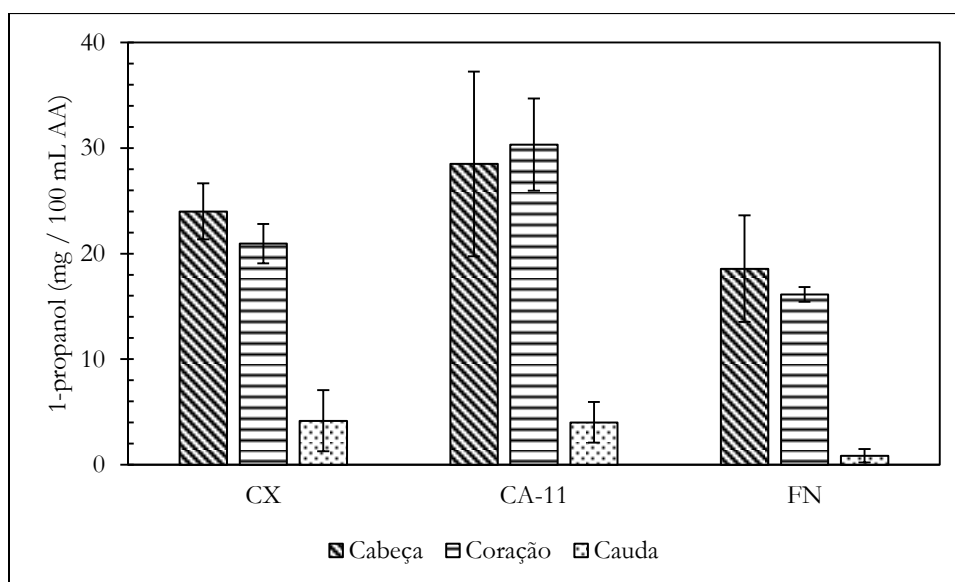


Figura 12. Concentrações de 1-propanol (mg / 100 mL AA) nas frações “cabeça”, “coração” e “cauda” da destilação de vinhos fermentados por CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural)

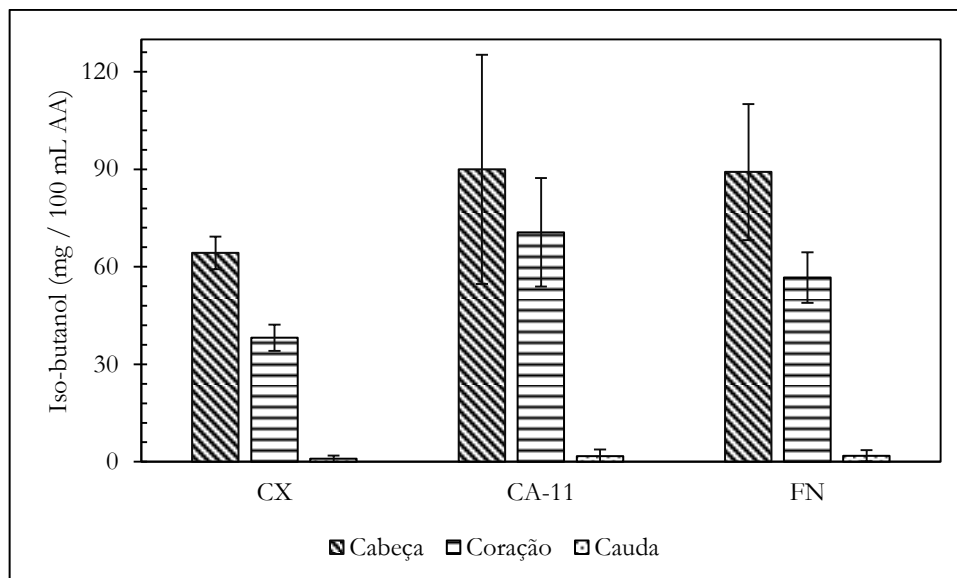


Figura 13. Concentrações de isobutanol (mg / 100 mL AA) nas frações “cabeça”, “coração” e “cauda” da destilação de vinhos fermentados por CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural)

A destilação 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 monodestilados, observou-se um alto teor de álcoois superiores (Tabela 8), principalmente álcool isoamílico.

A maior concentração total de álcool isoamílico foi obtida no vinho proveniente da FN (Tabela 8; Figura 14). O álcool isoamílico apresentou as maiores concentrações em todos os destilados e é o álcool superior formado em maior quantidade durante a fermentação, podendo representar 40 % a 70 % da fração total desse grupo (PENTEADO; MASINI, 2009; GONÇALVES et al., 2016). Além disso, é um dos principais compostos aromáticos, é o precursor do acetato de isoamila e ambos são responsáveis por notas aromáticas “frutadas” e “adocicadas” na bebida (PROCOPIO; QIAN; BECKER, 2011; VICENTE et al., 2006; PORTUGAL et al., 2016).

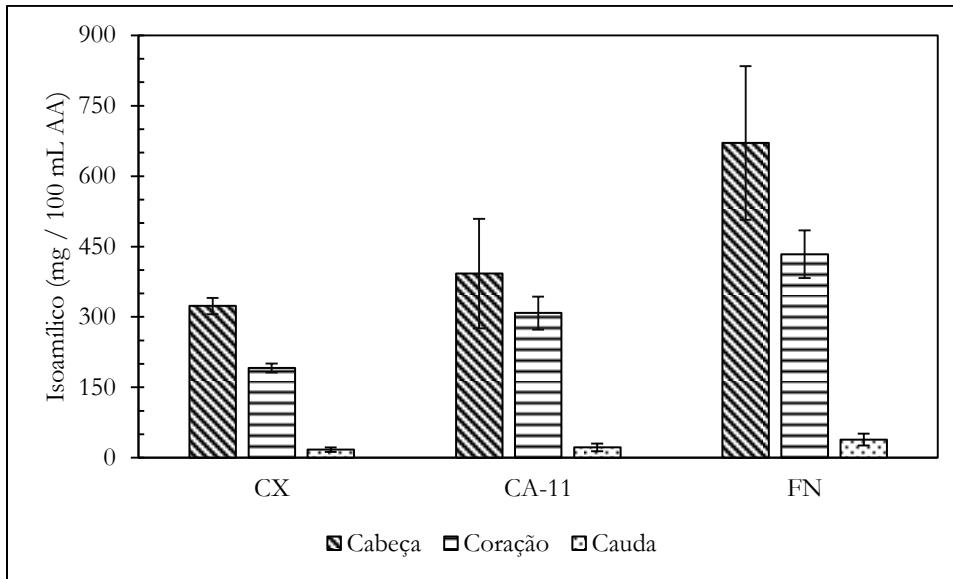


Figura 14. Concentrações de isoamílico (mg / 100 mL AA) nas frações “cabeça”, “coração” e “cauda” da destilação de vinhos fermentados por CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural)

As frações “coração” apresentaram diferenças significativas para as concentrações de 1-propanol e isoamílico, sendo a levedura CA-11 a maior produtora de 1-propanol e o FN o maior produtor de álcool isoamílico.

Na soma dos álcoois superiores, o único destilado de “coração” que não ultrapassou o limite estabelecido pela legislação nacional foi o CX. As cachaças CA-11 e FN diferiram estatisticamente da CX, pois apresentaram álcoois superiores com concentrações 1,6 e 2 vezes maiores, respectivamente (Tabela 8; Figura 15).

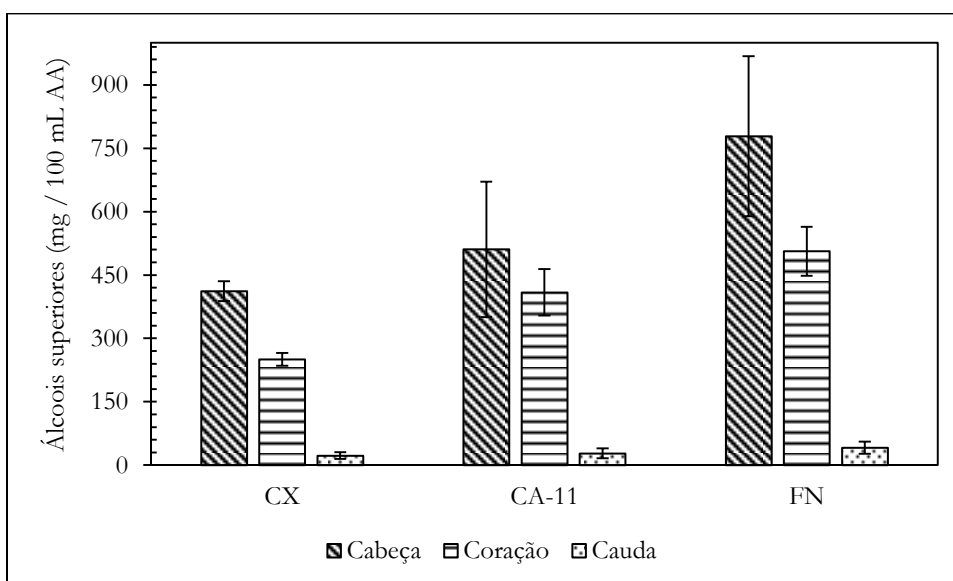


Figura 15. Soma das concentrações dos álcoois 1-propanol, isoamílico e isobutanol (mg / 100 mL AA) nas frações “cabeça”, “coração” e “cauda” da destilação de vinhos fermentados por CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural)

O álcool butílico (n-butanol) e o álcool sec-butílico (2-butanol) também são álcoois superiores, porém são considerados contaminantes em destilados e exercem importante papel na sanidade do produto quando é analisado do ponto de vista da segurança alimentar em perigos químicos (BORTOLETTO; ALCARDE, 2015). São originados pelas bactérias após a fermentação, principalmente quando o vinho demora a ser destilado (BORTOLETTO; SILVELLO; ALCARDE, 2018). Bortoletto & Alcarde (2015) verificaram a presença de 2-butanol e 1-butanol em concentrações excedentes em 12,5% e 7,7% das cachaças comerciais analisadas, respectivamente. Pereira et al. (2003) concluiu que 12,2% e 7,7% de cachaças comerciais analisadas apresentaram concentrações de 2-butanol e 1-butanol, respectivamente, acima do limite estabelecido pela lei brasileira. O composto 1-butanol foi detectado em concentrações menores que 1 mg / 100 mL AA apenas nas frações “cabeça” dos destilados dos três fermentos (Tabela 8). O 2-butanol não foi detectado em nenhuma amostra.

2.3.4.5. Ácido Acético

A acidez é uma das principais causas de rejeição da cachaça pelos consumidores e é responsável pela sensação de pungência quando a bebida é ingerida (ODELLO et al., 2009). A acidez volátil é expressa em ácido acético, que é originado pela contaminação por bactérias lácticas ou acéticas durante ou após a fermentação (BORTOLETTO; ALCARDE, 2015). Quando presente no vinho, o controle da concentração de ácido acético na cachaça pode ser feito durante a destilação, pois este componente se concentra na última fração destilada.

O correto corte da fração “cauda” foi essencial na prevenção de altas concentrações de ácido acético nas cachaças produzidas, pois essa fração concentrou em média 60,5 % desse composto (Tabela 8; Figura 16). A fração “coração” proveniente do vinho de CX foi a que apresentou a maior acidez volátil, diferindo significativamente da CA-11, mas não diferiu da FN. Porém, mesmo apresentando as maiores concentrações de ácido acético, a CX ficou longe de ultrapassar o limite estabelecido pela legislação brasileira (150 mg / 100 mL AA).

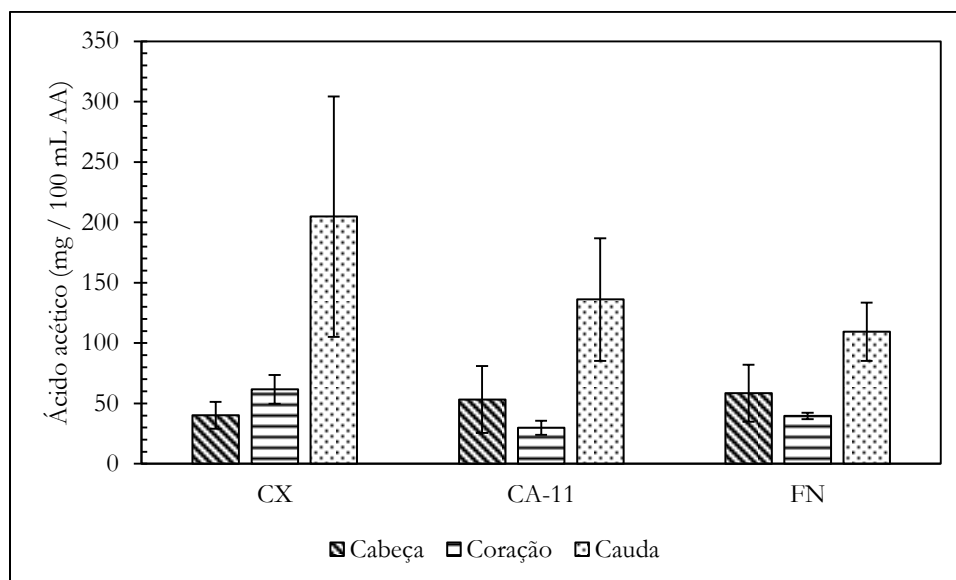


Figura 16. Concentrações de ácido acético (mg / 100 mL AA nas frações “cabeça”, “coração” e “cauda” da destilação de vinhos fermentados por CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural)

2.3.4.6. Coeficiente de Congêneres

Coeficiente de congêneres é a soma das concentrações de ácidos voláteis, aldeídos, ésteres, furfural e hidroximetilfurfural e álcoois superiores. O maior coeficiente na fração “coração” foi para a amostra produzida a partir do destilado fermentado com FN, diferindo estatisticamente da CX, mas não ultrapassando o limite de 650 mg.100mL⁻¹ AA estabelecido pela legislação brasileira (Tabela 8; Figura 17).

O coeficiente de congêneres decresceu da fração “cabeça” para a “cauda” e na soma total das três frações o maior valor foi apresentado pelo destilado fermentado por FN. Metade dos congêneres arrastados durante toda a destilação ficaram concentrados na fração “cabeça” e a fração “coração” ou cachaça concentra em média 33 % dos coeficientes de congêneres do total dos destilados.

O fermento natural apresentou a maior concentração de compostos voláteis, enquanto o fermento selecionado CanaMax produziu menor concentração total desses componentes. A menor concentração de compostos secundários na cachaça produzida a partir da cepa CanaMax pode estar relacionada a sua menor viabilidade durante todo o processo, quando comparada com a viabilidade dos outros fermentos. Porém, a menor formação de congêneres também pode ser uma característica dessa cepa de levedura.

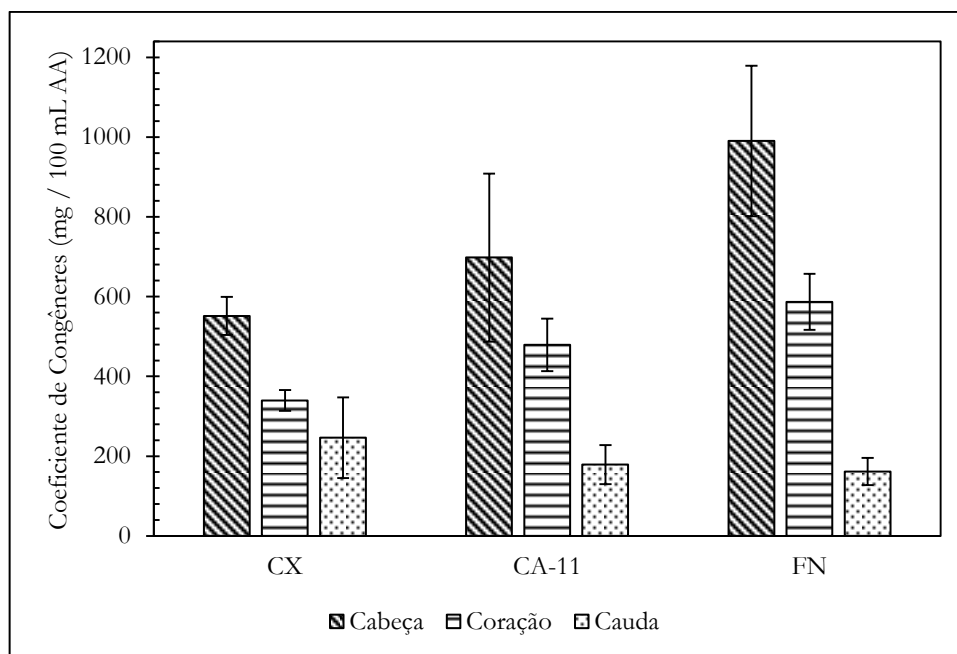


Figura 17. Coeficiente de congêneres (mg / 100 mL AA) nas frações “cabeça”, “coração” e “cauda” da destilação de vinhos fermentados por CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural)

2.3.4.7. Metanol

O metanol é considerado um contaminante em bebidas e por isso sua presença é indesejável em destilados. Ele é originado pela ação de enzimas pécnicas das leveduras, no ácido galacturônico das partículas de bagaço de cana-de-açúcar presentes no mosto durante a fermentação (MOREIRA et al., 2012). Um caldo limpo e livre de bagacilhos evita a formação desse composto, porém quando formado pode ser eliminado na destilação com o corte da fração “cabeça”.

No presente trabalho, esse composto não apresentou as maiores concentrações na primeira fração e a possível causa foi devido ao arraste de resíduos de vinhaça e água, presentes na serpentina do condensador e provenientes de destilações anteriores, que diluíram a fração “cabeça” diminuindo as concentrações dos componentes mais voláteis (Tabela 8; Figura 18). Também, sua concentração total foi muito baixa, comparada ao limite estabelecido pela legislação (20 mg / 100 mL AA).

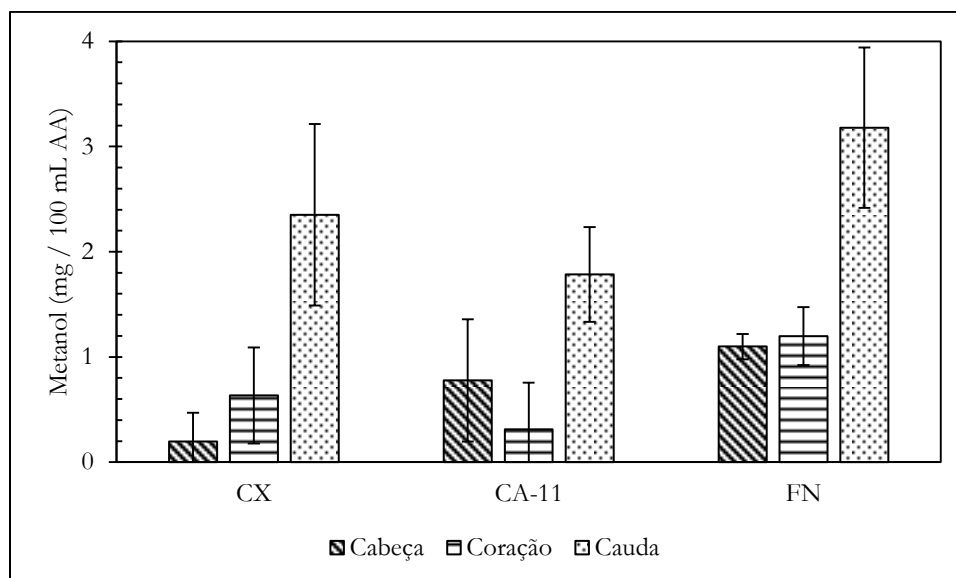


Figura 18. Concentrações de metanol (mg / 100 mL AA) nas frações “cabeça”, “coração” e “cauda” da destilação de vinhos fermentados por CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural)

2.3.4.8. Carbamato de Etila

O carbamato de etila é considerado o principal contaminante nas bebidas destiladas devido ao seu potencial carcinogênico (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY - EFSA, 2007). No presente trabalho, esse foi o único composto que não seguiu um padrão de concentração nas frações destiladas. Serafim (2015) verificou que durante a destilação a concentração de carbamato de etila decresce da fração “cabeça” até a “cauda”, o que não ocorreu nas frações coletadas na destilação dos vinhos dos diferentes fermentos. Andrade Sobrinho et al. (2009) afirmam que é esperado maior concentração na fração “cabeça” da destilação, pois nessa fração contém alta quantidade de cianeto, que reagindo com o etanol forma o carbamato de etila e este é mais solúvel ao etanol do que a água, sendo arrastado junto com a fração mais volátil na destilação.

As maiores concentrações desse contaminante ocorreram nas frações do destilado do fermento natural, com quantidade muito superior ao limite permitido de 210 $\mu\text{g} / \text{L}$ na fração “coração”, sendo até 12,2 vezes maior do que as produzidas pelos outros fermentos (Tabela 8; Figura 19). A formação de carbamato de etila se dá a partir de seus precursores, como uréia, citrulina, cianeto e N-carbamil fosfato, que são produzidos durante a fermentação e depois são arrastados na destilação (RIACHI; SANTOS; MOREIRA; MARIA, 2014; PORTUGAL et al., 2017). Outros fatores que podem influenciar na formação desse contaminante são as cepas de leveduras e os subprodutos de seu metabolismo (ZIMMERLI; SCHLATTER, 1991; BORTOLETTO; SILVELLO; ALCARDE, 2018) como temperatura, teor alcoólico, acidez, pH

e também os métodos de destilação, período de exposição à luz e armazenamento após a destilação (GALINARO; FRANCO, 2011; LIMA et al., 2012; RIACHI et al., 2014). Nos destilados FN, a formação de carbamato de etila pode ter ocorrido por influência das cepas presentes no meio. Na soma das concentrações das três frações o destilado que apresentou a menor concentração do contaminante foi o da CanaMax (114,64 $\mu\text{g} / \text{L}$), com 13,9 % menos do que o da CA-11 (130,53 $\mu\text{g} / \text{L}$). No estudo de Portugal et al. (2017), carbamato de etila foi detectado nas fermentações realizadas por leveduras selvagens (fermento natural), com concentrações de 82 a 108 $\mu\text{g} / \text{L}$, e nas amostras destiladas de vinhos fermentados com leveduras CA-11 e CanaMax não houve formação do contaminante. Os resultados indicaram que o uso de cepas selecionadas reduz o risco da presença de concentrações não seguras desse composto, quando as frações são corretamente separadas durante a destilação. Borges et al. (2014) também obtiveram resultados que indicam que as cepas selecionadas são promissoras na menor formação de carbamato de etila.

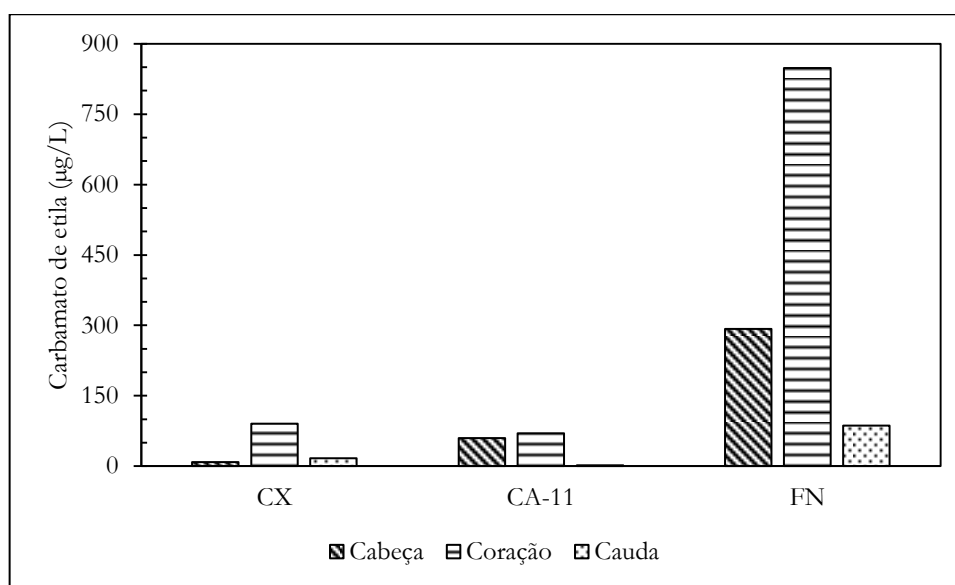


Figura 19. Concentrações de carbamato de etila ($\mu\text{g} / \text{L}$) nas frações “cabeça”, “coração” e “cauda” da destilação de vinhos fermentados por CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural)

2.4. Considerações finais

O tipo de fermento influencia na composição química dos destilados. A aplicação da metodologia da monodestilação, com o correto corte das frações “cabeça”, “coração” e “cauda” minimiza as diferenças e é decisiva para o controle e qualidade da composição química das cachaças produzidas. Os álcoois superiores 1-propanol e isoamílico, o ácido acético e o contaminante carbamato de etila foram os compostos que apresentaram diferenças significativas

entre os fermentos nas frações “coração”. O fermento natural demonstrou ser um tipo de inóculo arriscado para produção de cachaça, pois além de apresentar álcoois superiores em concentrações não permitidas, também apresentou alta formação de carbamato de etila, que se concentrou na fração “coração” ou cachaça propriamente dita.

Referências

- ALCARDE, A. R. **Cachaça: ciência, tecnologia e arte**. São Paulo: Edgard Blücher, 2014. 96 p.
- ALCARDE, A. R.; SOUZA, P. A.; BELLUCO, A. E. S. Volatilization kinetics of secondary compounds from sugarcane spirits during double distillation in rectifying still. **Scientia Agricola**, Piracicaba, 67:280–286, 2010.
- ALVES, M. C. Pesquisa e novos negócios na redescoberta desse aguardente secular. **Ciência e Cultura**. São Paulo, v. 66, n. 2, p. 60-61, jun. 2014. Disponível em: <http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0009-67252014000200022&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 26 ago. 2019.
- ALVES, D.M.G. **Fatores que afetam a produção de ácidos orgânicos bem como outros parâmetros da fermentação alcoólica**. 1994. 128f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz da Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1994.
- AMORIM, H. V.; BASSO, L. C.; ALVES, D. M. G. Processos de produção de álcool. Piracicaba: **Centro de Biotecnologia Agrícola**, 1996. 103 p.
- AMORIM, J. C., SCHWAN, R. F., & DUARTE, W. F. Sugar cane spirit (cachaça): Effects of mixed inoculum of yeasts on the sensory and chemical characteristics. **Food Research International**, 85, 76–83, 2016.
- ANDRADE SOBRINHO, L. G.; CAPPELINI, L. T. D.; SILVA, A. J. K. A.; GALINARO, C. A.; BUCHVISER, S. F.; CARDOSO, D. R.; FRANCO, D. W. Teores de carbamato de etila em aguardentes de cana e mandioca: parte II. *Química Nova*, v. 32, n. 1, p. 116-119, 2009.
- BOGUSZ JUNIOR, S.; KETZER, D. C. M. GUBERT, R.; ANDRADES, L.; GOBO, A. B. Composição química da cachaça produzida na região noroeste do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 26, 793-798, 2006.
- BORGES, G. B. V.; GOMES, F. C. O.; BADOTTI, F.; SILVA, A. L. D.; MACHADO, A. M. R. Selected *Saccharomyces cerevisiae* yeast strains and accurate separation of distillate fractions reduce the ethyl carbamate levels in alembic cachaças. **Food Control**, v. 37, p. 380-384, 2014.
- 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.

- BORTOLETTO, A. M.; ALCARDE, A. R. Assessment of chemical quality of Brazilian sugar cane spirits and cachaças. **Food Control**, v. 54, p. 1-6, 2015.
- BORTOLETTO, A. M.; SILVELLO, G. C.; ALCARDE, A. R. Good Manufacturing Practices, Hazard Analysis and Critical Control Point plan proposal for distilleries of cachaça. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 75, n. 5, p. 432-443, set. 2018.
- BOSCOLO, M.; BEZERRA, C. W. B.; CARDOSO, D. R.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Identification and dosage by HRGC of minor alcohols and esters in Brazilian sugar-cane spirit. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 11, 86-90, 2000.
- 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.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **A cachaça no Brasil: dados de registro de cachaças e aguardentes**. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/AECE, 2019. 27 p.
- CALDAS, C. **Novo manual para laboratórios sucroalcooleiros**. Piracicaba: Sociedade dos Técnicos Açucareiros e Alcooleiros do Brasil, 2012. 744 p.
- CALDAS, C. **Manual de análises selecionadas para indústrias sucroalcooleiras**. Maceió: Sindicato da Indústria do Açúcar e do Alcool no Estado de Alagoas, 1998. 422p.
- CARDOSO, M. G. **Produção de aguardente de cana**. 3. ed. Lavras: UFLA, 2013. 340 p.
- 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.
- CLETO, F. V. G.; MUTTON, M. J. R. Influência de dois tipos de leveduras, do tratamento ácido e da adição do fubá de milho sobre o desenvolvimento do processo fermentativo e qualidade final do destilado. **STAB Açúcar, Alcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 13 n. 3, p. 28-30, 1995.
- DATO, M. C. F.; PIZAURO JÚNIOR, J. M.; MUTTON, M. J. R. Analysis of the secondary compounds produced by *Saccharomyces cerevisiae* and wild yeast strains during the production of “cachaça”. **Brazilian Journal of Microbiology**, 36, 70–74, 2005.
- 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.

- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA). Ethyl carbamate and hydrocyanic acid in food and beverages. The EFSA Journal 551: 1-44. Disponível em: http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/scientific_output/files/main_documents/551.pdf, 2007. (Acesso em 04/11/2019)
- ERTEN, H.; TANGULER, H. Influence of *Williopsis saturnus* yeasts in combination with *Saccharomyces cerevisiae* on wine fermentation. **Letters in Applied Microbiology**, 50(5), 474–479, 2010.
- FLEET G. H. **Wine microbiology and biotechnology**. Harwood Academic Publishers, Chur, 1993.
- GALINARO, C. A.; FRANCO, D. W. Formação de carbamato de etila em aguardentes recém-destilladas; proposta para seu controle. **Química Nova**, 34: 996-1000, 2011.
- GONÇALVES, R. C. F.; TEODORO, M. M. G.; MACHADO, A. M. R.; GOMES, F. C. O.; BADOTTI, F.; CARDOSO, M. G. Compostos voláteis em cachaças de alambique produzidas por leveduras selecionadas e por fermentação espontânea. *Magistra*, Cruz das Almas, v. 28, n. 3-4, p. 285-293, jul. / dez. 2016.
- LACHENMEIER, D. W.; SOHNIUS, E. M. The role of acetaldehyde outside ethanol metabolism in the carcinogenicity of alcoholic beverages: Evidence from a large chemical survey. **Food and Chemical Toxicology**, 46(8), 2903–2911, 2008.
- LACHENMEIER, D. W., HAUPT, S., SCHULZ, K. Defining maximum levels of higher alcohols in alcoholic beverages and surrogate alcohol products. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, 50(3), 313–321, 2008.
- LIMA, U. A. Aguardente: fabricação em pequenas destilarias. Piracicaba: FEALQ, 1999. 187 p.
- LIMA, U. A.; TEIXEIRA, C. G.; BERTOZZI, J. C.; SERAFIM, F. A. T.; ALCARDE, A. R. Influence of fast and slow distillation on ethyl carbamate content and on coefficient of non-alcohol components in Brazilian sugarcane spirits. **Journal of the Institute of Brewing** 118: 305-308, 2012.
- 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.
- MASSON, J.; CARDOSO, M. D. G.; VILELA, F. J.; PIMENTEL, F. A.; MORAIS, A. R. D.; ANJOS, J. P. D. Parâmetros físico-químicos e cromatográficos em aguardentes de cana queimada e não queimada. **Ciência e Agrotecnologia**, 31(6), 1805–1810, 2007.
- MOREIRA, R. F. A.; NETTO, C. C.; MARIA, C. A. B. A fração volátil das aguardentes de cana produzidas no Brasil. **Química Nova**, 35: 1819-1826, 2012.

- 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.
- ODELLO, L.; BRACESCHI, G. P.; SEIXAS, F. R. F.; DA SILVA, A. A.; GALINARO, C. A.; FRANCO, D. W. Avaliação Sensorial de Cachaça. **Química Nova**, v. 32, p. 1839-1844, 2009.
- PENTEADO, J. C. P.; MASINI, J. C. Heterogeneidade de álcoois secundários em aguardentes brasileiras de diversas origens e processos de fabricação. **Química Nova**, 32 (5), 1212-1215, 2009.
- 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.
- PIMENTEL-GOMES, F.; GARCIA, C.H. **Estatística aplicada a experimentos agronômicos e florestais: exposição com exemplos e orientações para uso de aplicativos**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 309 p
- PORTUGAL, C. B.; SILVA, A. P.; BORTOLETTO, A. M.; ALCARDE, A. R. How native yeasts may influence the chemical profile of the Brazilian spirit, cachaça? **Food Research International**, Barking, Elsevier BV, v. 91, p. 18-25, 2017.
- PORTUGAL, C. B.; ALCARDE, A. R.; BORTOLETTO, A. M.; SILVA, A. P. The role of spontaneous fermentation for the production of cachaça: a study of case. **European Food Research and Technology**, Wageningen, 2016.
- PROCOPIO, S.; QIAN, F.; BECKER, T. Function and regulation of yeast genes involved in higher alcohol and ester metabolism during beverage fermentation. **European Food Research and Technology**, 233(5): 721–729, 2011.
- RIACHI, L. G.; SANTOS, A.; MOREIRA, R. F. A.; MARIA, C. A. B. A review of ethyl carbamate and polycyclic aromatic hydrocarbon contamination risk in cachaça and other Brazilian sugarcane spirits. **Food Chemistry**, 149,159–169, 2014.
- RIBEIRO, M. L. D.; FERREIRA, O. E.; TEIXEIRA, V.; MUTTON, M. A.; MUTTON, M. J. R. Tratamento físico-químico do caldo de cana produz cachaça de qualidade. **Revista Ciência Agronômica**, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, v. 48, n. 3, p. 458-463, jul-set, 2017.
- SERAFIM, F. A. T. **Contribuição para a tipificação da aguardente de cana de açúcar utilizando análise química**. 2015. 155 p. Tese (Doutorado em Química Analítica e Inorgânica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2015.

- SERAFIM, F. A. T.; SEIXAS, F. R. F.; DA SILVA, A. A.; GALINARO, C. A.; NASCIMENTO, E. S. P.; BUCHVISER, S. F.; ODELLO, L.; FRANCO, D. W. Correlation between chemical composition and sensory properties of Brazilian sugarcane spirits (cachaças). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 24, n. 6, 973–982, jun. 2013.
- 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.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM - **SAS. Sas/Qc software**: usage and reference. 2 ed. Cary, 1996. (2 v).
- SCHWAN, R. F.; CASTRO, H. A. Fermentação. In: CARDOSO, M. C. (Ed.). **Produção de Aguardente de cana-de-açúcar**. Lavras: Editora UFPA, 2001. cap. 3, p. 113-125.
- VICENTE, M. A.; FIETTO, L. G.; CASTRO, I. M.; SANTOS, A. N. G.; COUTRIM, M. X.; BRANDÃO, R. L. Isolation of *Saccharomyces cerevisiae* strains producing higher levels of flavoring compounds for production of “cachaça” the Brazilian sugarcane spirit. **International Journal of Food Microbiology**, 108(1): 51–59, 2006.
- ZIMMERLI, B.; SCHLATTER, J. Ethyl carbamate: analytical methodology, occurrence, formation, biological activity and risk assessment. **Mutation Research/Genetic Toxicology** 259: 325-350, 1991.

3. EFEITO DO TRATAMENTO TÉRMICO DO CALDO DE CANA-DE-AÇÚCAR NA QUALIDADE QUÍMICA DE CACHAÇAS PRODUZIDAS COM DIFERENTES FERMENTOS

RESUMO

O objetivo deste capítulo foi avaliar o efeito do tratamento térmico do mosto de caldo de cana-de-açúcar fermentado por leveduras selecionadas comerciais e fermento natural na composição química de cachaças monodestiladas. Caldos de cana foram preparados separadamente: um foi apenas filtrado e o outro foi tratado (fervura a 100°C por 10 min) e ajustados para 18° Brix. As fermentações foram conduzidas utilizando leveduras *Saccharomyces cerevisiae* selecionadas, cepa CA-11 e cepa CanaMax, e fermento natural. Os vinhos foram destilados em alambique de cobre separando-se as frações “cabeça”, “coração” (cachaça) e “cauda”. Os mostos foram submetidos às análises de pH, Brix, Pol, Açúcares Redutores, Açúcares Redutores Totais e Acidez Total; e os vinhos foram analisados quanto a Teor Alcoólico, pH, Açúcares Redutores Residuais e Acidez Total. As cachaças foram analisadas quanto a concentração alcoólica, por densimetria, concentração de cobre, mediante uso do colorímetro, e quanto as concentrações de congêneres voláteis e de carbamato de etila por cromatografia gasosa (CG-DIC e CG-EM, respectivamente). As análises estatísticas foram realizadas pelo programa SAS por ANOVA com Teste de Tukey e Teste T. As cachaças produzidas a partir de caldo não tratado e leveduras selecionadas CanaMax e CA-11 diferiram nas concentrações de álcoois superiores, ácido acético e coeficiente de congêneres. O uso de CA-11 e fermento natural em caldos com e sem tratamento resultou em concentrações de álcoois superiores acima do limite permitido pela legislação. O uso da cepa CanaMax atendeu os limites legais quanto à composição volátil. Todas as cachaças excederam o limite estabelecido pela lei brasileira para a concentração de cobre. O tratamento térmico do caldo preveniu a formação de carbamato de etila independentemente do fermento utilizado. O fermento natural em caldo não tratado promoveu excesso do contaminante. A análise multivariada mostrou que as variâncias estão mais relacionadas ao tipo de levedura utilizada para a produção de cachaça do que com o tipo de tratamento prévio do caldo de cana-de-açúcar.

Palavras-chave: Tratamento térmico; Cachaça; Leveduras; Qualidade Química

ABSTRACT

The aim of this chapter was to evaluate the effect of thermal treatment of sugarcane juice fermented by commercial selected yeasts and natural yeast on the chemical composition of monodistilled cachaça. Sugarcane juice was prepared separately: one was just filtered and the other was treated (boiling at 100 °C for 10 min) and adjusted to 18 °Brix. Fermentations were conducted using selected *Saccharomyces cerevisiae* yeasts, strain CA-11 and strain CanaMax, and natural yeast. The

wines were distilled in a copper pot still, separating the “head”, “heart” (cachaça) and “tail” fractions. The sugarcane juice was analyzed for pH, Brix, Pol, Reducing Sugars, Total Reducing Sugars and Total Acidity; and wines were analyzed for alcohol content, pH, residual reducing sugars and total acidity. The cachaças were analyzed for alcoholic concentration, by densimetry, copper concentration, using the colorimeter, and for the concentrations of volatile congeners and ethyl carbamate by gas chromatography (GC-FID and GC-MS, respectively). Statistical analyzes were performed by the SAS program by ANOVA with Tukey's Test and T Test. The cachaças produced from untreated sugarcane juice and selected yeasts CanaMax and CA-11 differed in the concentrations of higher alcohols, acetic acid and congener coefficient. The use of CA-11 and natural yeast in sugarcane juice with and without treatment resulted in higher alcohol concentrations above the limit permitted by law. The use of the CanaMax strain met the legal limits for volatile composition. All cachaças exceeded the limit established by Brazilian law for the concentration of copper. The heat treatment of the sugarcane juice prevented the formation of ethyl carbamate regardless of the yeast used. The natural yeast in untreated sugarcane juice promoted excess of the contaminant. The multivariate analysis showed that the variances are more related to the type of yeast used for the production of cachaça than to the type of pretreatment of the sugarcane juice.

Keywords: Thermal treatment; Cachaça; Yeasts; Chemical Quality

3.1. Introdução

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). É a bebida destilada típica e mais consumida do Brasil, e está entre os 4 destilados mais consumidos no mundo (ALCARDE, 2014).

O setor da cachaça busca atender a crescente exigência do mercado consumidor e, para tanto, procura alcançar a elitização do produto, investindo na produção e na qualidade (CARDOSO, 2013). O conhecimento técnico-científico de todas as etapas de fabricação de aguardente é essencial para o cumprimento dos requisitos mínimos de segurança alimentar e qualidade da bebida.

Todas as etapas de produção influenciam na qualidade da cachaça e a fermentação é um dos pontos críticos do processo, pois nela se originam diversos compostos formadores de aroma e sabor que vão caracterizar o produto final. A fermentação alcoólica é realizada por leveduras, microrganismos unicelulares, e é o processo no qual os açúcares são transformados em etanol, gás carbônico e uma minoria de outros componentes secundários, sendo a principal etapa da produção de cachaça.

Atualmente existem algumas leveduras selecionadas especificamente para a fermentação alcoólica para a produção de aguardente de cana e cachaça. Porém, a produção do inóculo a partir de fermento natural (Caipira) é ainda realizada em grande parte das destilarias pois acredita-se que esse tipo de fermento resulta em características sensoriais positivas no destilado final (GOMES et al., 2009; BORTOLETTO; SILVELLO; ALCARDE, 2018). Para produção do pé-de-cuba “Caipira” são utilizados os microrganismos presentes no ambiente e equipamentos utilizados na moagem da cana-de-açúcar. O problema no uso desse fermento é que além das leveduras que serão responsáveis pela fermentação alcoólica, também estão presentes no meio alguns microrganismos indesejáveis, como bactérias que vão interferir de maneira negativa no processo (CARDOSO, 2013).

O tratamento térmico é um método que tem por objetivo a inativação enzimática e a redução da população microbiana dos alimentos (BARUFFALDI; OLIVEIRA, 1998; ALVES et al., 2018). A técnica do tratamento térmico do caldo de cana-de-açúcar é uma alternativa para a eliminação de microrganismos contaminantes e retirada de componentes indesejados que podem interferir no rendimento da fermentação alcoólica (BOSQUEIRO, 2010). O tratamento térmico ideal consiste em aquecer o caldo de cana-de-açúcar a temperaturas entre 70 °C e 100 °C, seguida de rápido resfriamento. Esse tipo de tratamento favorece a prevalência, durante os ciclos do fermento, da cepa de levedura selecionada e inoculada (BORTOLETTO; SILVELLO; ALCARDE, 2018).

Alves et al. (2018) testaram a influência do tratamento térmico do caldo de cana no processo fermentativo de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* selecionadas e a composição química das cachaças produzidas a partir da destilação desses vinhos e verificaram que houve redução da população de leveduras e bactérias no caldo tratado e não houve influência considerável na composição química da bebida final.

O objetivo deste capítulo foi avaliar o efeito do tratamento térmico do mosto de caldo de cana-de-açúcar fermentado por leveduras selecionadas comerciais e fermento natural na composição química de cachaças monodestiladas.

3.2. Material e métodos

3.2.1. Local

O projeto 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).

3.2.2. Preparo dos mostos

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 foi realizada a filtração em algodão hidrófilo para retirar impurezas grosseiras, tais como resíduos de terra e bagacilhos. Em seguida os caldos foram separados e metade do volume passou por tratamento térmico, sendo mantido por 10 min em fervura (100°C). Depois do tratamento térmico, o caldo foi novamente filtrado em algodão hidrófilo para a remoção dos resíduos formados (borra) e depois foi resfriado. Finalmente, os caldos, tratado e não tratado, foram ajustados para 18° Brix mediante adição de água destilada para o início das fermentações.

3.2.3. Fermentação

3.2.3.1. Fermento Selecionado

Foram adicionadas as cepas de leveduras selecionadas, inoculando-se 3g/L, em massa seca, para cada tratamento. Os fermentos selecionados que foram utilizados são leveduras *Saccharomyces cerevisiae*, cepa CA-11 (LNF, Bento Gonçalves/RS) e cepa CanaMax (CX) (Lallemand Brasil). Os fermentos foram previamente hidratados com água a 40 °C para reativação das células (Figura 20).



Figura 20. Pé-de-cuba do fermento natural, cepa CanaMax e cepa CA-11, respectivamente.

3.2.3.2. Fermento Natural

Para a fermentação natural (FN) foi preparado o fermento “caipira” adaptando os métodos descritos por Lima (1999). A Figura 21 apresenta as etapas de preparo do fermento natural. Uma mistura foi preparada com os seguintes ingredientes e quantidades: 4 g de farelo de arroz, 4 g de fubá comum, 4 g de sulfato de amônio, 0,4 g de superfosfato (fertilizante químico) e 10 mL de caldo de limão. Uma pasta foi preparada com todos esses ingredientes e esta foi colocada em um saco limpo de algodão, cuja boca foi amarrada. O saco foi colocado dentro de um becker de 4 L e adicionou-se 1 litro de caldo de cana diluído a 7 °Brix com água destilada. A mistura foi mantida em estufa a 28 °C, com aeração diária de 10 minutos utilizando Bomba de ar para aquário Big Air A320, com vazão de 3,5 L/ minuto por saída. Foi adicionado 1 L de caldo fresco a 7 °Brix a cada 24 horas durante três dias. Após 72 horas, o saco de algodão foi removido do recipiente e o líquido permaneceu com aeração diária de 10 minutos, mas sem adição de novo caldo, durante quatro dias. Após esse período, foi retirado todo o líquido sobrenadante e adicionado 1 L litro de caldo a 8 °Brix e, a cada 24 horas, durante 9 dias, o processo se repetiu aumentando-se 1 °Brix de cada caldo adicionado. Metade do líquido sobrenadante foi retirado a cada 3 dias e no 9º dia observou-se um volume significativo de massa de leveduras decantadas. O processo total de preparo do pé-de-cuba teve duração de 16 dias. A proporção de massa úmida de leveduras utilizadas na fermentação foi três vezes o peso da massa seca das leveduras selecionadas (9 g / L).

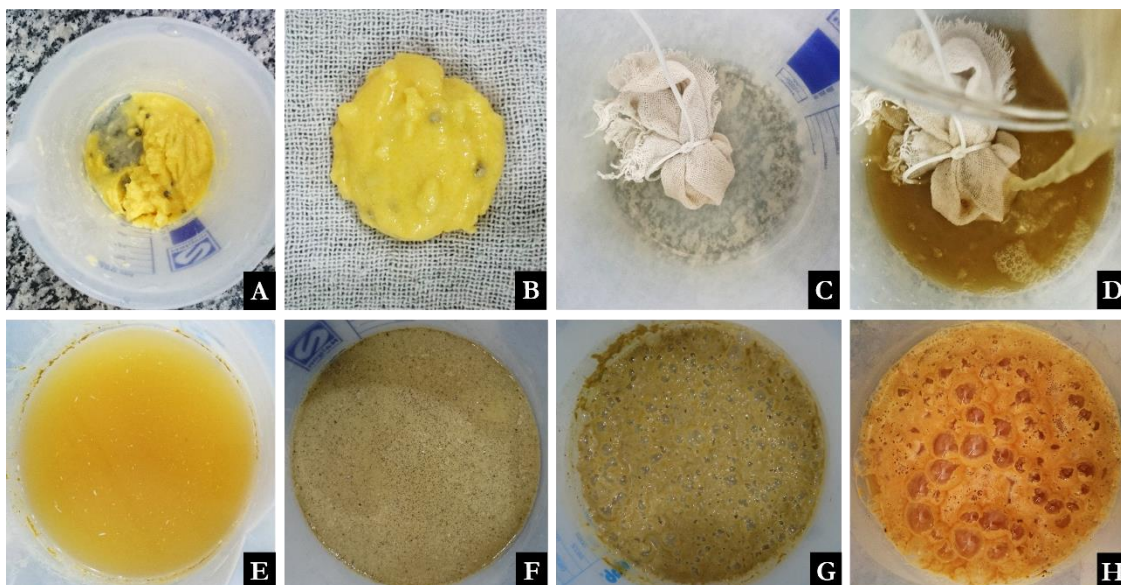


Figura 21. Etapas de preparo do fermento natural. Preparo da mistura (A), pasta pronta (B), saco de pano com a pasta colocado dentro do becker (C), primeira adição de caldo de cana (D), caldo de cana após 72 h (E), massa de leveduras formada no 9º dia de preparo (F), massa de leveduras algumas horas depois da adição de novo caldo (G), caldo de cana fermentando (H).

3.2.3.3.

3.2.3.4. Condução e monitoramento do processo fermentativo

O processo fermentativo foi conduzido igualmente em todos os tratamentos. As fermentações foram realizadas em fermentador de 40L, com monitoramento de temperatura (mantida entre 28 °C a 32 °C), tempo (24 a 72 horas) e acompanhamento diário da atenuação do Brix do mosto em fermentação.

3.2.4. Destilação

Os mostos fermentados (vinhos) foram destilados em alambique de cobre de 10L (Figura 22A e 22B) seguindo a metodologia descrita por Alcarde (2014), procedendo-se a separação das frações “cabeça” (2 % do volume útil da caldeira), “coração” (destilado recuperado até 38 % de etanol na fração à saída do condensador) e “cauda” (destilado recuperado de 38 % até o esgotamento do etanol na fração à saída do condensador). O tempo das destilações foi cronometrado e as frações “coração” e “cauda” foram recolhidas em volumes de 300 mL para análises de teor alcoólico.

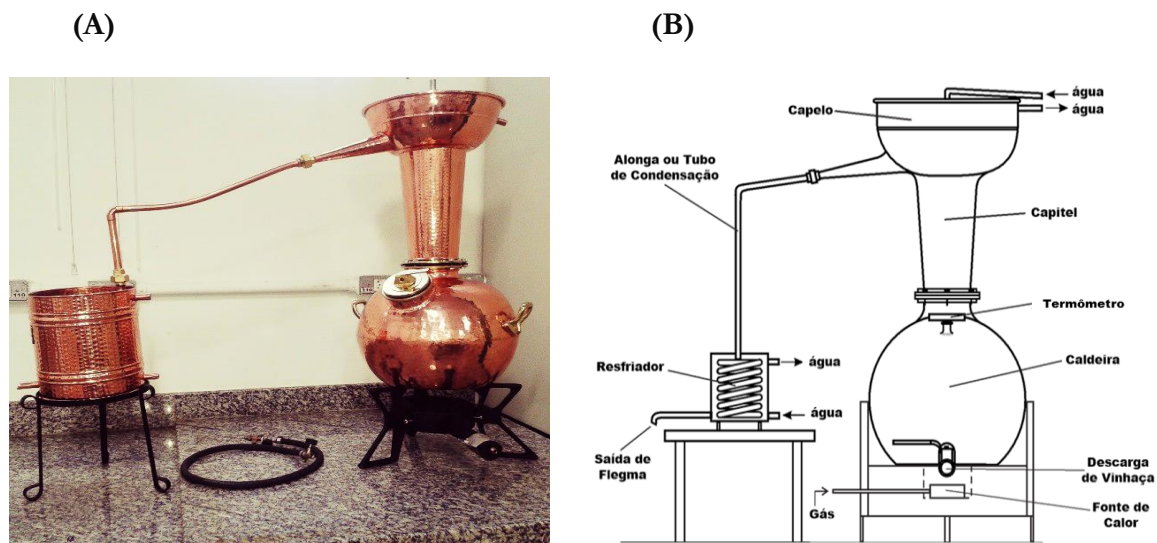


Figura 22. Foto (A) e esquema do alambique (B) que foi utilizado para as destilações

3.2.5. Análises químicas

Os mostos foram submetidos às análises de pH, Brix, Pol (% em massa de sacarose aparente), Açúcares Redutores (AR), Açúcares Redutores Totais (ART) e Acidez Total; e os vinhos foram analisados quanto a Teor Alcoólico, por densimetria em densímetro digital Anton Paar 4500 após destilação das amostras por arraste de vapor em destilador Tecnal TE-012, pH, Açúcares Redutores Residuais (ARR) e Acidez Total, seguindo metodologias descritas por Caldas (2012).

As frações “cabeça”, “coração” e “cauda” foram submetidas às análises químicas descritas nos itens 3.2.5.1 a 3.2.5.2.

3.2.5.1. Grau alcoólico e cobre

Os destilados foram analisados quanto ao teor de álcool por densimetria (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®.

3.2.5.2. Análises Cromatográficas

3.2.5.2.1. Congêneres voláteis por Cromatografia gasosa (GC-DIC)

Os padrões empregados foram: acetaldeído, acetato de etila, metanol, n-propanol, isobutanol, n-butanol, álcool iso-amílico 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), álcool iso-amílico (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 manual 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 (H₂) foi de 1,5 mL / min com fluxo total de 42 mL / min 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 (isoterma de 1 min) e aumento a 30°C / min até 180 °C (isoterma de 4 min) (BORTOLETTO; ALCARDE, 2013).

3.2.5.2.2. 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 esterificado), HP-FFAP (50 m x 0,20 mm x 0,33 μ m 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, seguido de aquecimento para 230 °C a uma taxa de 30 °C / min na qual permanecerá por 10 min. O volume injetado foi de 1,0 μ L no modo “splitless” automático. O gás de arraste foi o hélio (5.0) com fluxo de 1,2 mL / min. 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.

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) 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 9.

Tabela 9. Índice de retenção, (IR), Limite de Detecção (LD), e Limite de Quantificação (LQ) de congêneres voláteis e contaminantes, e coeficientes de correlação (a, b, r²) das curvas de calibração em solução alcoólica (40 % v / v)

Congêneres voláteis	IR (min)	LD (mg / 100 mL etanol anidro)	LQ (mg / 100 mL etanol anidro)	A	B	r ²
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 (mg / 100 mL etanol anidro)	LQ (mg / 100mL etanol anidro)	A	B	r ²
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

^aµg / L

3.2.6. Análises de dados

3.2.6.1. Análise univariada

Para as comparações dos resultados dos caldos tratados e não tratados foi feito teste de igualdade de duas médias (PROC TTEST). Para a comparação entre os fermentos, 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).

3.2.6.2. Análise multivariada

Os dados de análises químicas foram submetidos ao método multivariado denominado Análise Fatorial Múltipla - AFM, uma vez que os dados representam grupos de variáveis de diferentes grandezas e unidades. Foram selecionados 5 grupos de variáveis ativas para compor os

fatores relacionados aos parâmetros químicos, além de dois grupos de variáveis qualitativas suplementares indicando tratamento do caldo e cepa de levedura empregada. Os grupos de variáveis ativas correspondem ao teor alcoólico (etanol), coeficiente de congêneres (acetaldeído, acetato de etila, álcoois superiores 1-propanol, isobutanol e isoamílico, ácido acético e furfural), metanol, cobre e carbamato de etila.

Todos os dados foram analisados no software RStudio (R versão 3.4.3), utilizando os pacotes Rcmdr, FactoMineR e factoextra (LÊ; JOSSE; HUSSON, 2008).

3.3. Resultados e Discussão

3.3.1. Caracterização dos mostos

A Tabela 10 apresenta os valores de pH, ° Brix, Pol (% em massa de sacarose aparente), açúcares redutores (AR), açúcares redutores totais (ART) e acidez total nos mostos com e sem prévio tratamento térmico e que foram utilizados para todas as fermentações.

Tabela 10. Valores de pH, Brix, Pol, açúcares redutores (AR), açúcares redutores totais (ART) e acidez total nos mostos de caldo de cana-de-açúcar tratados (T) e não tratados (NT)

Mostos	pH	Brix	Pol	AR (g/ 100mL)	ART (g/ 100mL)	Acidez total (g H ₂ SO ₄ /L)
T	5,02 ^a ± 0,01	19,8 ^a ± 0,49	17,29 ^a ± 0,11	0,87 ^b ± 0,01	19,15 ^a ± 1,21	1,11 ^b ± 0,07
NT	5,03 ^a ± 0,02	18,5 ^a ± 0,96	15,75 ^b ± 0,94	1,23 ^a ± 0,21	17,99 ^a ± 1,3	1,46 ^a ± 0,13

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

Na análise dos mostos não houveram diferenças entre os tratamentos para pH, Brix e ART. Diferenças significativas foram observadas para a concentração de Pol, AR e Acidez total. O mosto não tratado apresentou valor 1,6 % maior de Pol, concentração 29,3 % maior de açúcares redutores e acidez total 31,5 % do que o mosto que passou pelo tratamento térmico. As menores concentrações de Pol, AR e Acidez total no caldo que passou pelo tratamento térmico podem ser consequência da eliminação de impurezas presentes no caldo de cana-de-açúcar.

3.3.2. Caracterização dos vinhos

A Tabela 11 apresenta os resultados das concentrações alcoólicas, pH, açúcares residuais totais (ARR) e acidez total nos vinhos tratados e não tratados e fermentados com as leveduras CanaMax (CX), CA-11 e fermento natural (FN).

Tabela 11. Teor alcoólico, pH, Açúcares redutores residuais (ARR) e Acidez total nos vinhos provenientes da fermentação de caldos tratados e não tratados e fermentados pelas leveduras CanaMax (CX), CA-11 e fermento natural (FN)

		CX	CA-11	FN
Teor alcoólico % (v/v)	T	10,3 ^{Aa} ± 0,41	9,85 ^{Aa} ± 0,18	10,07 ^{Aa} ± 0,31
	NT	10,13 ^{Aa} ± 0,14	9,41 ^{Aa} ± 0,2	9,55 ^{Aa} ± 0,29
pH	T	3,58 ^{Aa} ± 0,22	3,24 ^{Bab} ± 0,04	3,14 ^{Bb} ± 0,04
	NT	3,77 ^{Aa} ± 0,08	3,53 ^{Aab} ± 0,11	3,3 ^{Ab} ± 0,08
ARR (g/100mL)	T	0,62 ^{Ab} ± 0,12	1,01 ^{Aa} ± 0,05	0,77 ^{Bab} ± 0,15
	NT	0,29 ^{Aa} ± 0,4	0,78 ^{Ba} ± 0,08	1,08 ^{Aa} ± 1,53
Acidez total (g H ₂ SO ₄ /L)	T	4,08 ^{Ab} ± 0,08	4,74 ^{Ab} ± 0,12	6,47 ^{Aa} ± 0,36
	NT	4,59 ^{Ab} ± 0,54	5,05 ^{Ab} ± 0,24	7,19 ^{Aa} ± 0,68

Médias seguidas por letras maiúsculas iguais na mesma coluna, para cada composto, indicam que não há diferença significativa para o teste de igualdade de médias (Teste T) ao nível de 5% de significância.

Médias seguidas por letras iguais na mesma linha indicam que não há diferença significativa pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Ao final das fermentações os vinhos apresentaram média de 10 % (v/v) de teor alcoólico. Não houveram diferenças significativas entre os tratamentos, térmico e tipo de levedura, para concentração alcoólica. Todos os tratamentos apresentaram redução do pH e aumento da acidez total após o processo fermentativo. Para o pH, as diferenças significativas foram nas fermentações com a CA-11 e o fermento natural, com menor pH nos vinhos provenientes de caldos tratados. Entre os fermentos o menor pH foi nas cachaças produzidas a partir do fermento natural, diferindo do fermento CX, mas não do CA-11. Os vinhos resultantes da fermentação com FN também apresentaram os maiores valores de acidez total para mostos T e NT, diferindo dos vinhos da CX e CA-11.

3.3.3. Compostos Voláteis e Não Voláteis

Na Tabela 12 apresentam-se as médias e desvios das concentrações de álcool etílico, congêneres voláteis e contaminantes nas cachaças produzidas a partir de caldo tratado (T) e não tratado (NT) e fermentados com as leveduras CanaMax, CA-11 e fermento natural.

O tratamento térmico do caldo influenciou a composição química das cachaças produzidas a partir de fermentação por cepa CA-11 e CanaMax. O caldo tratado diminuiu as concentrações dos congêneres acetaldeído, acetato de etila, 1-propanol, isoamílico e ácido acético em cachaças produzidas com fermento CA-11. Cachaças produzidas a partir da fermentação com cepa CanaMax apresentaram menor concentração de 1-propanol quando o caldo de cana foi tratado.

Tabela 12. Médias comparadas de teor alcoólico (% v/v), congêneres voláteis (mg / 100 mL AA), metanol (mg / 100 mL AA), 1-butanol e 2-butanol (mg / 100 mL AA), cobre (mg / L) e carbamato de etila ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) nas cachaças produzidas a partir de caldo tratado (T) e não tratado (NT) e fermentados pelas leveduras CanaMax (CX), CA-11 e fermento natural (FN)

		CX	CA11	FN
Teor alcoólico	T	47,56 ^{Aa} ± 0,95	46,66 ^{Aa} ± 2,52	47,3 ^{Aa} ± 0,2
	NT	45,76 ^{Aa} ± 2,12	45,90 ^{Aa} ± 0,06	47,33 ^{Aa} ± 0,78
Acetaldeído	T	13,39 ^{Aa} ± 3,77	7,46 ^{Ba} ± 3,52	10,95 ^{Aa} ± 2,25
	NT	11,76 ^{Aa} ± 1,69	11,15 ^{Aa} ± 0,5	13,35 ^{Aa} ± 1,91
Acetato de Etila	T	11,48 ^{Aa} ± 1,53	4,16 ^{Bb} ± 0,82	5,56 ^{Ab} ± 2,38
	NT	13,09 ^{Aa} ± 3,64	26,78 ^{Aa} ± 5,8	26,21 ^{Aa} ± 12,65
1-propanol	T	9,67 ^{Ba} ± 1,73	12,54 ^{Ba} ± 3,2	10,49 ^{Aa} ± 1,38
	NT	20,94 ^{Ab} ± 1,86	30,31 ^{Aa} ± 4,36	16,13 ^{Ab} ± 0,7
Iso-butanol	T	27,78 ^{Ab} ± 5,22	39,41 ^{Aab} ± 10,54	61,10 ^{Aa} ± 5,54
	NT	38,18 ^{Aa} ± 4,03	70,58 ^{Aa} ± 16,69	56,65 ^{Aa} ± 7,79
Isoamilico	T	172,27 ^{Aa} ± 32,48	218,24 ^{Ba} ± 27,47	299,87 ^{Aa} ± 58,70
	NT	191,08 ^{Ac} ± 9,4	308,19 ^{Ab} ± 35,28	433,49 ^{Aa} ± 50,7
Ácido acético	T	43,12 ^{Aa} ± 1,64	17,70 ^{Bb} ± 2,18	46,53 ^{Aa} ± 4,87
	NT	61,66 ^{Aa} ± 11,9	29,84 ^{Ab} ± 5,79	39,58 ^{Aab} ± 2,6
Furfural	T	3,41 ^{Aa} ± 1,84	1,74 ^{Aa} ± 1,46	1,29 ^{Aa} ± 0,42
	NT	2,86 ^{Aa} ± 0,54	2,04 ^{Aa} ± 0,77	1,34 ^{Aa} ± 0,41
Álcoois Superiores	T	209,71 ^{Aa} ± 37,42	270,19 ^{Aa} ± 41,01	371,46 ^{Aa} ± 57,76
	NT	250,2 ^{Ab} ± 15,16	409,08 ^{Aa} ± 55,13	506,27 ^{Aa} ± 57,99
Coefficiente de Congêneres	T	281,12 ^{Ab} ± 44,38	301,24 ^{Aab} ± 41,5	435,79 ^{Aa} ± 62,81
	NT	339,57 ^{Ab} ± 26,31	478,90 ^{Aab} ± 66,11	586,75 ^{Aa} ± 70,3
Metanol	T	0,53 ^{Aa} ± 0,43	0,47 ^{Aa} ± 0,67	1,23 ^{Aa} ± 0,14
	NT	0,63 ^{Aa} ± 0,46	0,31 ^{Aa} ± 0,44	1,20 ^{Aa} ± 0,28
1-butanol	T	ND	ND	ND
	NT	ND	ND	ND
2-butanol	T	ND	ND	ND
	NT	ND	ND	ND
Cobre	T	23,19 ^{Aa} ± 6,49	16,37 ^{Aa} ± 3,38	22,98 ^{Aa} ± 3,84
	NT	18,7 ^{Aa} ± 8,37	11,97 ^{Aa} ± 3,74	17,3 ^{Aa} ± 7,85
Carbamato de etila	T	ND	ND	ND
	NT	90,09 ^a ± 125,1	69,61 ^a ± 92,45	847,78 ^a ± 496,25

ND = não detectado

Médias seguidas por letras maiúsculas iguais na mesma coluna, para um mesmo composto, indicam que não há diferença significativa, pelo teste T, entre caldos T e NT

Médias seguidas por letras minúsculas iguais na mesma linha indicam que não há diferença significativa, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, entre os fermentos

3.3.3.1. Teor Alcoólico

A destilação dos vinhos fermentados com as cepas comerciais CA-11 e CanaMax e o fermento natural resultou em destilados com teor alcoólico médio de 47,17 % v/v no destilado originado do caldo tratado (T) e 46,33 % v/v nos destilados provenientes de caldos não tratados (NT) (Tabela 12, Figura 23). Não houve nenhuma diferença significativa no teor alcoólico entre as bebidas e os valores dos desvios médios são baixos, o que indica um correto corte de frações em todas as destilações. Essas concentrações alcoólicas são menores que 48% v/v, portanto, todos os destilados enquadram-se na legislação e podem ser denominados “cachaça”.

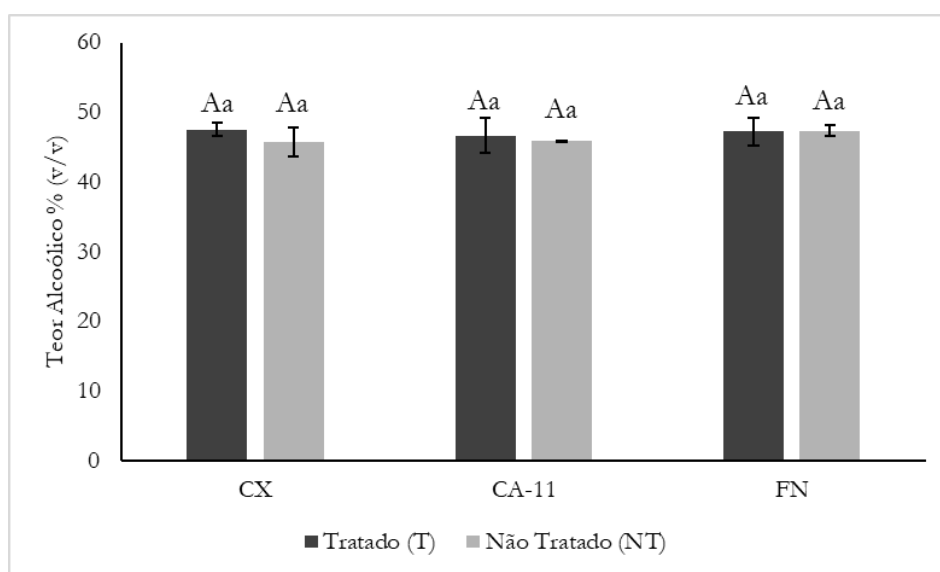


Figura 23. Teor alcoólico (% v/v) das cachaças produzidas a partir de mosto tratado (T) e não tratado (NT) fermentados com as leveduras CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural). Letras maiúsculas iguais em colunas de um mesmo fermento indicam que não há diferença significativa entre caldos T e NT. Letras minúsculas iguais em colunas de mesma cor indicam que não há diferença significativa entre os teores alcoólicos dos diferentes fermentos

3.3.3.2. Aldeídos

O acetaldeído é o principal aldeído formado durante a fermentação alcoólica e pode praticamente desaparecer até o final do processo por meio da oxidação a ácido acético (BATISTA, 2008; TARGINO, 2009). Em geral, aldeídos com até oito átomos de carbono possuem aromas penetrantes e enjoativos e, por isso altas quantidades não são desejáveis nas bebidas alcoólicas (MAIA, 1994). A concentração de acetaldeído diferiu entre as cachaças produzidas a partir dos caldos T e NT fermentados com a levedura comercial CA-11, onde o caldo NT resultou em cachaça com concentração 49,5 % maior desse composto (Tabela 12; Figura 24). As médias obtidas são inferiores aos resultados de Duarte et al. (2011), que produziu

cachaça a partir de leveduras CA-11 e apresentou concentração de 13,13 mg / 100 mL de álcool anidro (AA) de acetaldeído.

Não houve diferença significativa entre os fermentos nas concentrações do acetaldeído e nenhuma cachaça apresentou concentrações acima do limite de 30 mg / 100 mL de álcool anidro, estabelecido pela legislação brasileira (BRASIL, 2005a). Todas as cachaças produzidas apresentaram médias de concentração de acetaldeído inferiores às obtidas por Pereira et al. (2003) (13,59 mg / 100 mL AA), mas dentro da média das concentrações obtidas por Oliveira et al. (2005) (7,4 a 18,2 mg / 100mL AA), em análises de cachaças comerciais. Bortoletto e Alcarde (2015) analisaram 268 cachaças comerciais e verificaram que 6,3% não estavam em conformidade com a lei para a concentração permitida de aldeídos. Ainda, 5,2% das amostras tinham concentrações entre 30 e 40 mg de acetaldeído / 100 mL de álcool anidro, valores mais altos do que o presente estudo e muito próximos do máximo permitido pela lei brasileira.

Em análise de 22 amostras de cachaças produzidas no sul do estado de Minas Gerais, apenas 2 apresentaram quantidade de aldeídos acima do limite permitido (VILELA et al., 2007). Entretanto, no estudo de Caruso, Nagato e Alaburda (2008), com 60 amostras de cachaças coletadas na cidade de São Paulo, 52% tinham concentrações de acetaldeído excedendo o limite máximo legal.

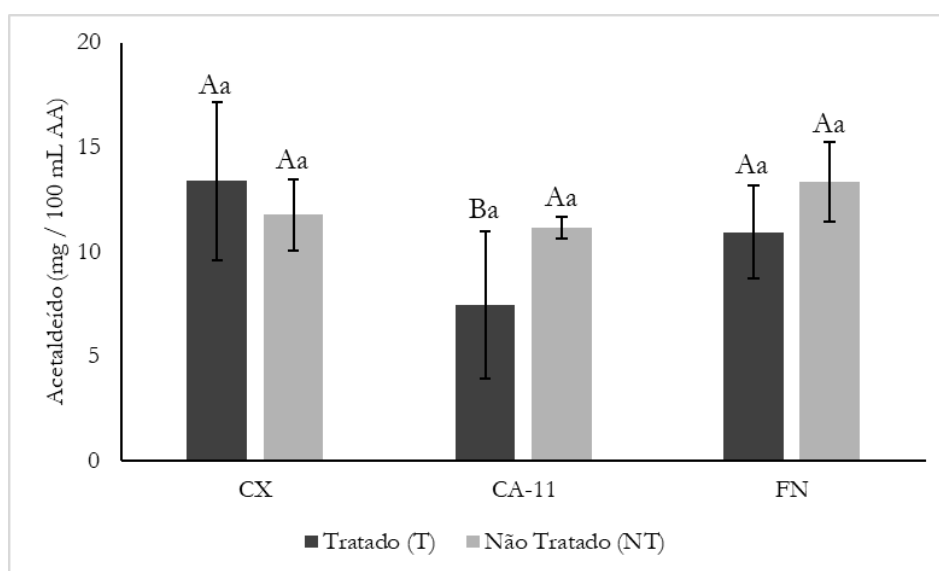


Figura 24. Concentrações de acetaldeído (mg / 100 mL AA) nas cachaças produzidas a partir de mosto tratado (T) e não tratado (NT) fermentados com as leveduras CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural). Letras maiúsculas iguais em colunas de um mesmo fermento indicam que não há diferença significativa entre caldos T e NT. Letras minúsculas iguais em colunas de mesma cor indicam que não há diferença significativa entre as concentrações de acetaldeído dos diferentes fermentos

Furfural e 5-hidroximetilfurfural são aldeídos 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). Nenhuma das cachaças produzidas, a partir de caldos T e NT e os três fermentos, apresentou diferenças significativas na concentração desses aldeídos (Tabela 12; Figura 25). Também, nenhum dos tratamentos apresentou concentrações acima do limite permitido pela legislação brasileira (5 mg / 100 mL AA) e as médias gerais foram de 3,14 mg / 100 mL AA, 1,89 mg / 100 mL AA e 1,32 mg / 100 mL AA para as cachaças produzidas a partir dos fermentos CanaMax, CA-11 e natural, respectivamente. A presença de altas concentrações de furfural e hidroximetilfurfural pode ser evitada pela destilação do vinho limpo, livre de substâncias orgânicas em suspensão (PEREIRA et al., 2003). Todos os caldos foram filtrados em algodão logo após a moagem da cana, o que impediu a presença de concentrações significativas desses compostos. Bortoletto e Alcarde (2015) verificaram que 2,1 % de 268 cachaças comerciais excediam o limite máximo legal permitido para furfural e 5-HMF. No estudo de Souza et al. (2009) 30 % das cachaças comerciais analisadas estavam em não conformidade para esses dois compostos.

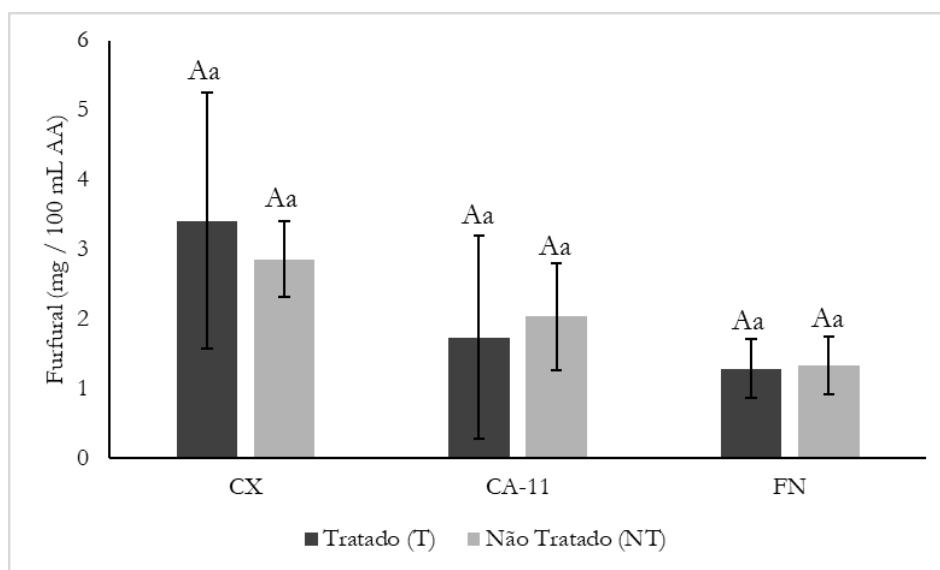


Figura 25. Concentrações de furfural (mg / 100 mL AA) nas cachaças produzidas a partir de mosto tratado (T) e não tratado (NT) fermentados com as leveduras CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural). Letras maiúsculas iguais em colunas de um mesmo fermento indicam que não há diferença significativa entre caldos T e NT. Letras minúsculas iguais em colunas de mesma cor indicam que não há diferença significativa entre concentrações de furfural dos diferentes fermentos

3.3.3.3. Ésteres

O acetato de etila é o principal éster formado na produção de cachaça durante o processo fermentativo e é responsável pelo aroma agradável de frutas, porém se torna enjoativo e desagradável quando em excesso. A formação desse composto pode ser favorecida pela

diminuição da temperatura do mosto durante a fermentação e por isso o aquecimento do caldo de cana ou adição de água aquecida para diluição do mesmo antes da fermentação pode evitar a formação desse congênere (PEREIRA et al., 2003).

A concentração de acetato de etila diferiu significativamente em caldos T e NT, sendo em geral maior em caldos que não passaram por tratamento térmico (Tabela 12; Figura 26). Cachaça produzida com caldo NT e fermentado com a levedura CA-11 apresentou concentração 6,7 vezes maior (26,78 mg / 100 mL AA) do que a produzida a partir do mesmo fermento em caldo tratado. Houveram diferenças significativas entre os fermentos em caldos T. A levedura comercial CanaMax apresentou a maior concentração de acetato de etila (11,48 mg / 100 mL AA) e diferiu dos fermentos CA-11 e natural, apresentando concentração 2 vezes maior do que a dos dois fermentos.

Todas as cachaças apresentaram concentrações muito abaixo dos limites permitidos pela legislação brasileira (200 mg / 100 mL AA). Testando a influência de diferentes cepas de leveduras *Saccharomyces* e não *Saccharomyces* na composição da cachaça, Oliveira et al. (2005) também obteve concentrações baixas que foram de 9,4 a 36,5 mg / 100 mL AA de acetato de etila. De acordo com Maia et al. (1991), para o controle das concentrações de ésteres é necessário escolher as leveduras, substratos adequados e controlar o tempo de fermentação.

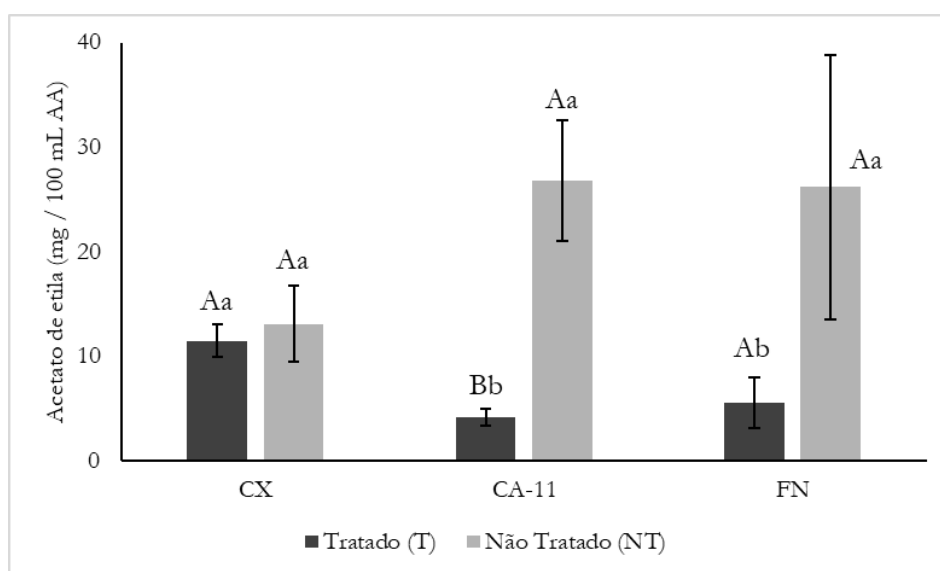


Figura 26. Concentrações de acetato de etila (mg / 100 mL AA) nas cachaças produzidas a partir de mosto tratado (T) e não tratado (NT) fermentados com as leveduras CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural). Letras maiúsculas iguais em colunas de um mesmo fermento indicam que não há diferença significativa entre caldos T e NT. Letras minúsculas iguais em colunas de mesma cor indicam que não há diferença significativa entre as concentrações de acetato de etila dos diferentes fermentos

3.3.3.4. Acidez Volátil

A concentração de ácido acético diferiu nas cachaças produzidas por caldos T e NT quando fermentados com a cepa CA-11 (Tabela 12; Figura 27). A concentração desse ácido foi maior com o uso da cepa CA-11 em caldo NT (29,84 mg / 100 mL AA).

Diferenças significativas também foram observadas entre o uso dos três fermentos. A maior concentração de ácido acético ocorreu na cachaça produzida a partir da cepa CanaMax em caldo NT (61,66 mg / 100 mL AA), diferindo da cachaça produzida a partir da cepa CA-11, mas não da cachaça produzida a partir de fermento natural. Ainda, a bebida produzida a partir do fermento natural não diferiu da produzida a partir da cepa CA-11. Em caldos T, a concentração de ácido acético foi menor na cachaça produzida a partir da CA-11, que apresentou quantidades 2,4 e 2,6 vezes menores do que nas bebidas produzidas a partir de fermentação com CanaMax e fermento natural, respectivamente.

Todas as cachaças do presente estudo, independentemente do tratamento, apresentaram concentrações muito abaixo do limite legal de 150 mg / 100mL AA estabelecido pela legislação brasileira. Na análise de 45 cachaças monodestiladas, Pereira et al. (2003) obteve média de 49,49 mg.100mL⁻¹ AA de ácido acético e três amostras apresentaram acidez volátil acima do máximo permitido. Volpe et al. (2013), em análise de 3 cachaças comerciais do centro norte paraense, obteve média de 118,7 mg.100mL⁻¹ AA de ácido acético, mais que o dobro das concentrações obtidas no presente estudo. Oliveira et al. (2005), testando a influência de cepas de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* e não *Saccharomyces* na composição e qualidade sensorial de cachaças monodestiladas, obteve de 28,4 a 121,4 mg.100mL⁻¹ AA de ácidos voláteis. Duarte et al. (2011), em análise de cachaças monodestiladas obtidas pela fermentação de leveduras CA-11, constataram acidez volátil de 28,72 mg.100mL⁻¹ AA, valor próximo ao obtido nesse estudo em cachaça produzida a partir de caldo NT, utilizando a mesma cepa de levedura.

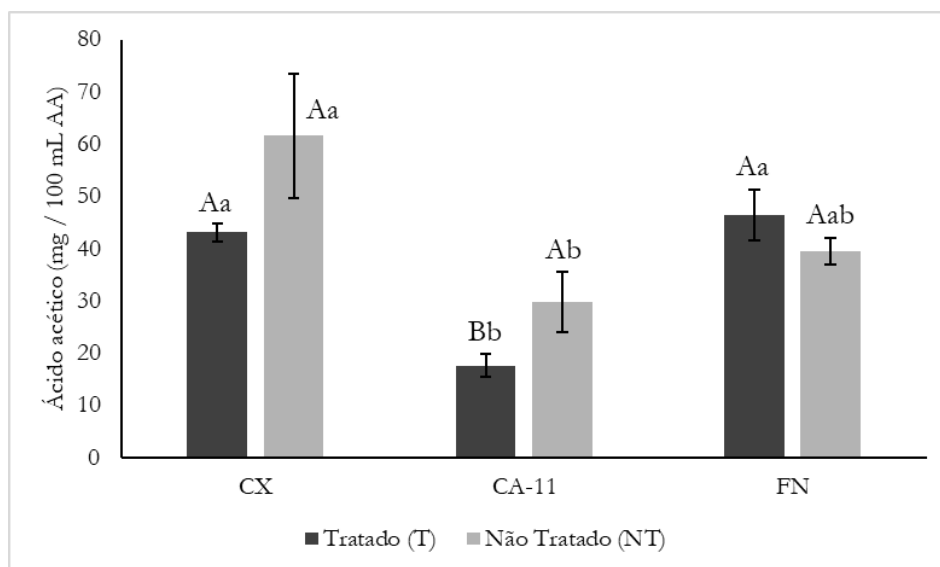


Figura 27. Concentrações de ácido acético (mg / 100 mL AA) nas cachaças produzidas a partir de mosto tratado (T) e não tratado (NT) fermentados com as leveduras CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural). Letras maiúsculas iguais em colunas de um mesmo fermento indicam que não há diferença significativa entre caldos T e NT. Letras minúsculas iguais em colunas de mesma cor indicam que não há diferença significativa entre as concentrações de ácido acético dos diferentes fermentos

3.3.3.5. Álcoois Superiores

Álcoois superiores correspondem ao álcool n-propílico ou 1-propanol (3 carbonos em sua estrutura molecular), álcool iso-butílico (4 carbonos em sua estrutura molecular) e álcool isoamílico (5 carbonos em sua estrutura molecular) (YOKOYA, 1995).

A concentração de 1-propanol diferiu significativamente entre os caldos T e NT, fermentados com as duas leveduras comerciais (CanaMax e CA-11), apresentando as maiores concentrações para os dois fermentos nas cachaças produzidas a partir de caldos que não passaram por tratamento térmico (Tabela 12; Figura 28). Entre os fermentos utilizados, as cachaças diferiram entre si apenas a partir de fermentações em caldos NT, sendo o destilado produzido com a cepa CA-11 o que apresentou a maior concentração desse álcool.

O iso-butanol não diferiu entre caldos T e NT, mas suas concentrações apresentaram diferenças entre cachaças produzidas com os três fermentos em caldo T (Tabela 12; Figura 29). O fermento natural produziu cachaça com a maior quantidade desse álcool, porém diferiu apenas da cachaça do fermento CanaMax.

Cachaças produzidas a partir de caldos T e NT, fermentados com leveduras CA-11, diferiram entre si nas concentrações de álcool isoamílico (Tabela 12; Figura 30), com as maiores concentrações em destilados produzidos com caldos NT. As cachaças também diferiram entre si a partir dos três diferentes fermentos em caldo NT, sendo a maior concentração na cachaça

produzida com fermento natural e a menor concentração na cachaça originada a partir da fermentação com CanaMax.

Em geral, caldos T e NT não apresentaram diferenças significativas quanto as concentrações totais de álcoois superiores (Tabela 12; Figura 31). Entre os três tipos de fermentos em caldos T não houveram diferenças significativas nos destilados produzidos. Em caldos NT, a cachaça produzida a partir da CanaMax apresentou as menores concentrações e diferiu da CA-11 e fermento natural. A legislação nacional estabelece concentração limite de 350 mg / 100 mL AA para a soma de álcoois superiores. As cachaças produzidas a partir de fermento natural e a cachaça produzida a partir de caldo NT e fermentado com CA-11 excederam o a concentração máxima legal.

Duarte et al. (2011), em análise de cachaças monodestiladas produzidas a partir da fermentação com cepa CA-11, obteve 231,52 mg.100mL⁻¹ AA de álcoois superiores, valor duas vezes menor do que o alcançado no presente estudo utilizando a mesma cepa de levedura em caldo NT. Pereira et al. (2003) obteve média de 222,35 mg.100mL⁻¹ AA na soma de álcoois superiores de 45 amostras de cachaças mineiras, valor abaixo dos obtidos nas cachaças do presente estudo, produzidas a partir de caldo NT e leveduras CA-11 e CanaMax (409,08 e 250,2 mg.100mL⁻¹ AA, respectivamente).

Outros álcoois superiores produzidos e que são considerados contaminantes são o 1-butanol e 2-butanol, que são formados principalmente devido a contaminação por bactérias durante o processo de produção (SOUZA et al., 2013). Esses compostos não foram detectados em nenhuma das cachaças produzidas, independentemente do tratamento térmico e tipo de fermento.

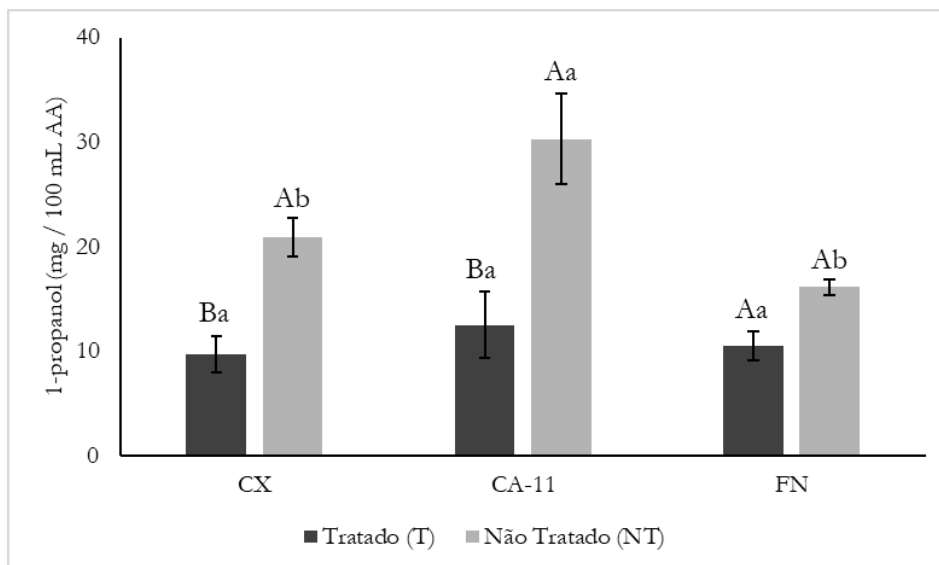


Figura 28. Concentrações de 1-propanol (mg / 100 mL AA) nas cachaças produzidas a partir de mosto tratado (T) e não tratado (NT) fermentados com as leveduras CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural). Letras maiúsculas iguais em colunas de um mesmo fermento indicam que não há diferença significativa entre caldos T e NT. Letras minúsculas iguais em colunas de mesma cor indicam que não há diferença significativa entre as concentrações de 1-propanol dos diferentes fermentos

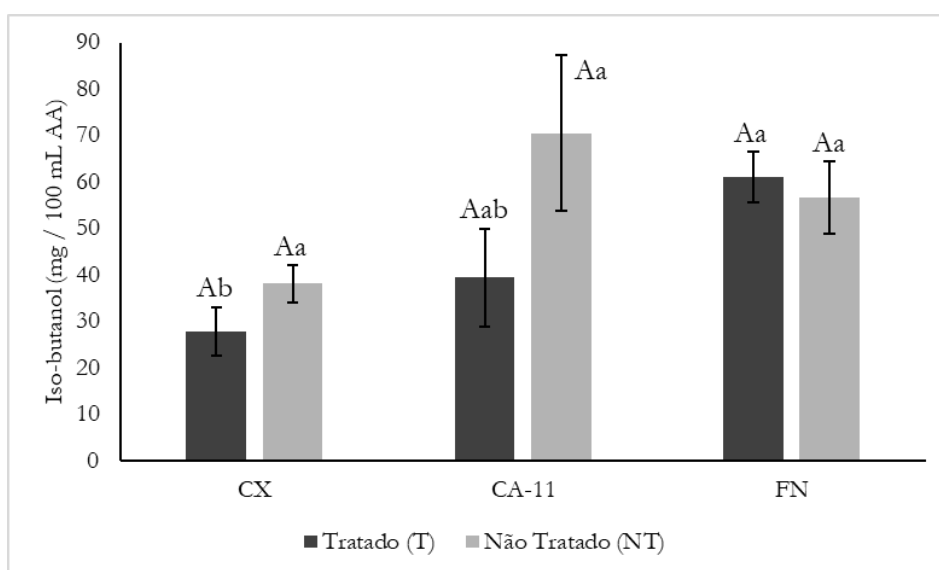


Figura 29. Concentrações de iso-butanol (mg / 100 mL AA) nas cachaças produzidas a partir de mosto tratado (T) e não tratado (NT) fermentados com as leveduras CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural). Letras maiúsculas iguais em colunas de um mesmo fermento indicam que não há diferença significativa entre caldos T e NT. Letras minúsculas iguais em colunas de mesma cor indicam que não há diferença significativa entre as concentrações de iso-butanol dos diferentes fermentos

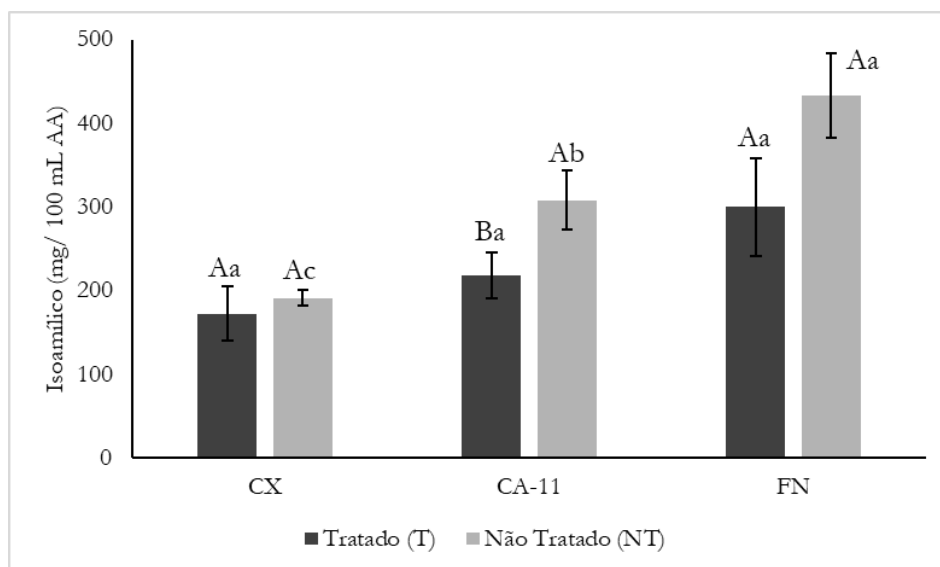


Figura 30. Concentrações de isoamílico (mg / 100 mL AA) nas cachaças produzidas a partir de mosto tratado (T) e não tratado (NT) fermentados com as leveduras CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural). Letras maiúsculas iguais em colunas de um mesmo fermento indicam que não há diferença significativa entre caldos T e NT. Letras minúsculas iguais em colunas de mesma cor indicam que não há diferença significativa entre as concentrações de isoamílico dos diferentes fermentos

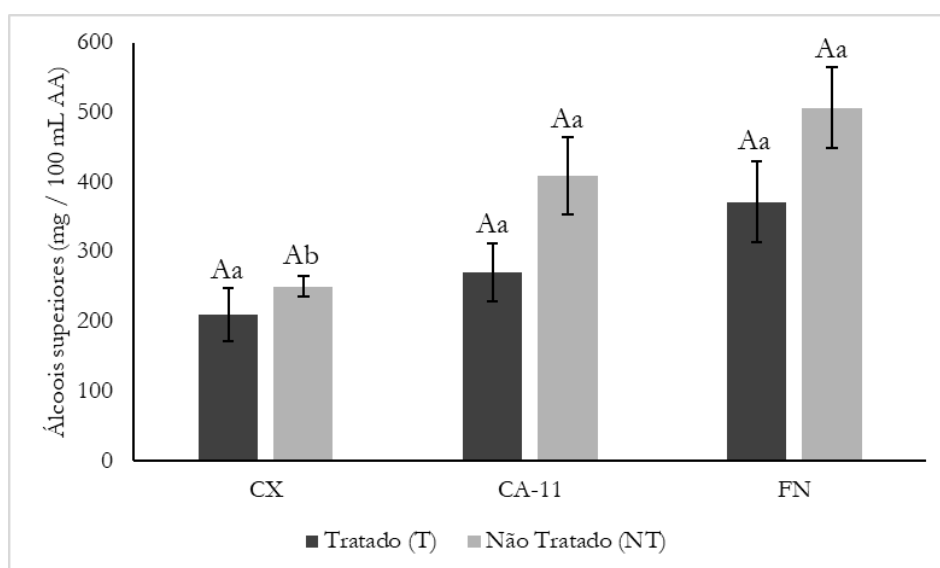


Figura 31. Soma das concentrações de álcoois superiores (mg / 100 mL AA) das cachaças produzidas a partir de mosto tratado (T) e não tratado (NT) fermentados com as leveduras CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural). Letras maiúsculas iguais em colunas de um mesmo fermento indicam que não há diferença significativa entre caldos T e NT. Letras minúsculas iguais em colunas de mesma cor indicam que não há diferença significativa entre a soma das concentrações de álcoois superiores dos diferentes fermentos

3.3.3.6. Coeficiente de Congêneres

Compreende-se por coeficiente de congêneres voláteis a soma de acidez volátil, aldeídos, ésteres totais, furfural e hidroximetilfurfural e álcoois superiores. Os álcoois, ácidos e ésteres formam, quantitativa e qualitativamente, os maiores grupos presentes na fração volátil das

bebidas alcoólicas. Os compostos carbonílicos (ex. aldeídos e cetonas), acetais, compostos sulfurados e fenóis são minoritários, mas podem ter grande importância para o aroma e sabor desses produtos (BORTOLETTO & ALCARDE, 2015). Nenhuma das cachaças do presente estudo apresentou coeficiente de congêneres fora dos limites estabelecidos pela legislação (mínimo de 200 mg.100mL⁻¹ AA e máximo de 650 mg.100mL⁻¹ AA) (Tabela 12; Figura 32). Observa-se que as cachaças diferiram quanto ao coeficiente de congêneres dependendo do tipo de fermento utilizado no processo. Em caldos T e NT os maiores valores de coeficiente de congêneres foram nas bebidas produzidas a partir de fermento natural, diferindo apenas das cachaças produzidas a partir do fermento CanaMax. Cachaças produzidas a partir de fermento natural em caldos T e NT apresentaram somas de coeficientes de congêneres 55 % e 72,8 %, respectivamente, maiores do que as cachaças produzidas a partir de CanaMax.

Em análise de cachaças monodestiladas obtidas pela fermentação por leveduras CA-11, Duarte et al. (2011) obtiveram 330,09 mg / 100 mL AA de teor de congêneres, concentração 9,6 % maior e 31,1 % menor do que as obtidas nas cachaças produzidas no presente estudo, a partir da mesma levedura em caldos T e NT, respectivamente. No trabalho de Ribeiro et al. (2017), que avaliaram a influência do tratamento do caldo (clarificado com hidróxido de cálcio) e do tipo de fermento (CA-11 e fermento natural) sobre a qualidade da cachaça, o uso da levedura CA-11 resultou em cachaças com menor coeficiente de congêneres, aldeídos totais, ésteres totais, acidez volátil e álcoois superiores do que as cachaças produzidas a partir de fermento natural, apesar de todas as cachaças estarem dentro dos limites estabelecidos pela legislação nacional para a concentração desses compostos.

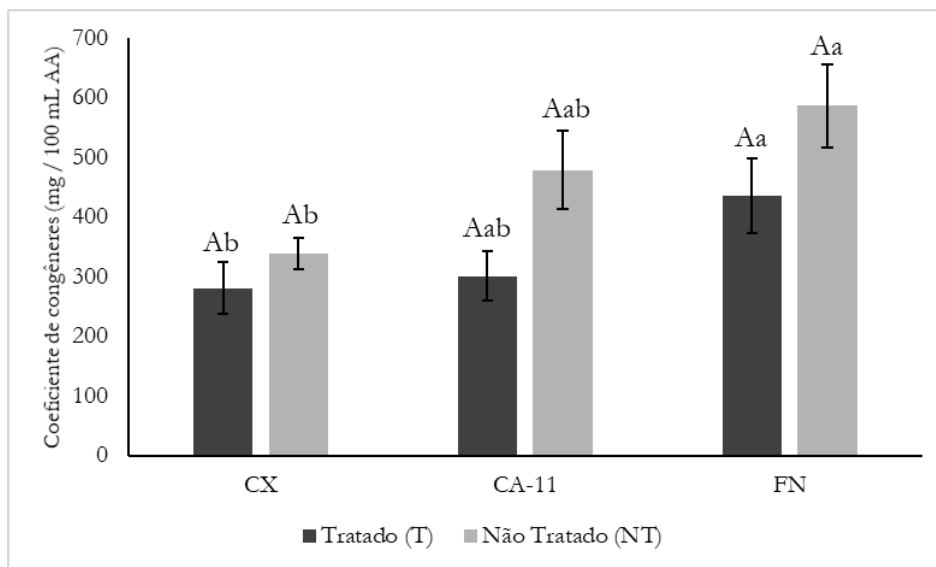


Figura 32. Coeficiente de congêneres (mg / 100 mL AA) das cachaças produzidas a partir de mosto tratado (T) e não tratado (NT) fermentados com as leveduras CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural). Letras maiúsculas iguais em colunas de um mesmo fermento indicam que não há diferença significativa entre caldos T e NT. Letras minúsculas iguais em colunas de mesma cor indicam que não há diferença significativa entre os coeficientes de congêneres dos diferentes fermentos

3.3.3.7. Metanol

O metanol é um contaminante orgânico em cachaças e não é proveniente das atividades metabólicas das leveduras. Esse composto é formado a partir da pectina, um precursor presente nos bagacilhos da cana, e altas concentrações desse contaminante indicam falhas no processo de filtragem do caldo depois da moagem ou incorreto corte da fração “cabeça” durante a destilação. No organismo, o metanol pode provocar uma acidose grave (diminuição do pH sanguíneo) devido a sua oxidação a ácido fórmico e posteriormente a CO_2 , afetando o sistema respiratório, podendo levar à cegueira, ao coma e até mesmo à morte (SILVA et al., 2009; CARDOSO et al. 1999; WINDHOLZ, 1976).

As concentrações de metanol foram relativamente baixas em todas as cachaças produzidas e nenhuma delas diferiu na quantidade desse composto, independentemente do tratamento do caldo e tipo de fermento (Tabela 12; Figura 33). A máxima concentração de metanol foi de 1,23 mg / 100 mL AA na cachaça produzida a partir de caldo tratado e fermento natural, e é muito inferior ao limite permitido pela legislação brasileira (20 mg / 100 mL AA). Os baixos valores obtidos no presente trabalho confirmam que os caldos T e NT foram filtrados corretamente, estavam limpos e livres de bagacilhos. Além disso, essas concentrações foram muito inferiores às obtidas em outros estudos. Duarte et al. (2011) analisou cachaças monodestiladas obtidas pela fermentação de leveduras CA-11 e observou concentração de 5

mg.100mL⁻¹ AA de metanol. Bortoletto e Alcarde (2015) verificaram que 2,6% das 268 amostras de cachaça comerciais analisadas apresentaram quantidade de metanol excedendo o máximo legal permitido. Boscolo et al. (2000) e Souza et al. (2009) concluíram que o teor médio de metanol encontrado em cachaças comerciais foi de 5,7 mg/ 100 mL álcool anidro, muito inferiores ao limite máximo permitido pela legislação (20 mg/ 100 mL álcool anidro).

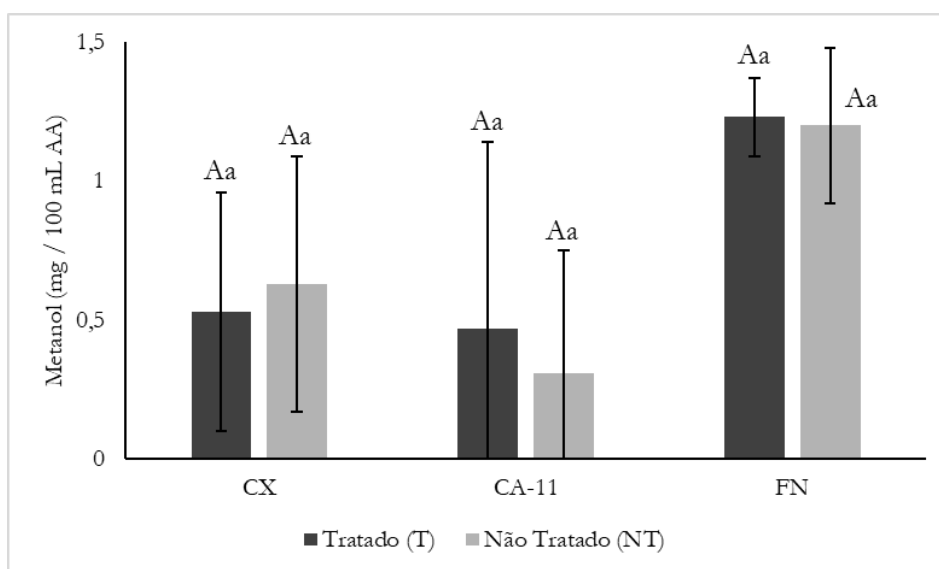


Figura 33. Concentrações de metanol (mg / 100 mL AA) nas cachaças produzidas a partir de mosto tratado (T) e não tratado (NT) fermentados com as leveduras CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural). Letras maiúsculas iguais em colunas de um mesmo fermento indicam que não há diferença significativa entre caldos T e NT. Letras minúsculas iguais em colunas de mesma cor indicam que não há diferença significativa entre as concentrações de metanol dos diferentes fermentos

3.3.3.8. Cobre

O cobre é considerado um contaminante nas bebidas alcoólicas, mas é o material mais utilizado pelas indústrias fabricantes de aparelhos destiladores (CARDOSO et al., 2003). A presença do cobre nos alambiques é importante para a qualidade sensorial do destilado final, pois esse metal promove a complexação do dimetilsulfeto (DMS) (TOLEDO; FARIA, 2004) um composto que, quando presente, pode conferir aromas desagradáveis à bebida. A contaminação da cachaça com o cobre ocorre durante o processo de destilação, com a dissolução e arraste do azinhavre formado nas paredes internas do equipamento.

Todas as amostras apresentaram concentrações de cobre acima do limite de 5 mg / L permitido pela legislação brasileira (Tabela 12; Figura 34). As cachaças produzidas a partir de caldo de cana tratado (T) apresentaram as maiores concentrações do contaminante, chegando a ultrapassar até 4,6 vezes o limite permitido, porém não diferenciaram estatisticamente das NT.

Também não houve diferenças significativas entre os fermentos utilizados, apesar da cachaça produzida com CA-11 apresentar as menores concentrações do contaminante. Altas concentrações de ácidos promovem maior arraste do contaminante durante a destilação.

Apesar da prévia assepsia do alambique antes de cada bateria de destilações, com destilação de solução de ácido acético (2 %) para a remoção do azinhavre formado, seguida da destilação com água, como recomenda Bortoletto, Silvello e Alcarde (2018), o arraste de cobre foi inevitável devido a presença do componente em todo o aparelho destilador e a impossibilidade da permanência da água no equipamento enquanto não estava sendo utilizado. Esse problema poderia ser solucionado com a troca da serpentina do condensador, que é de cobre, por uma serpentina de aço inoxidável.

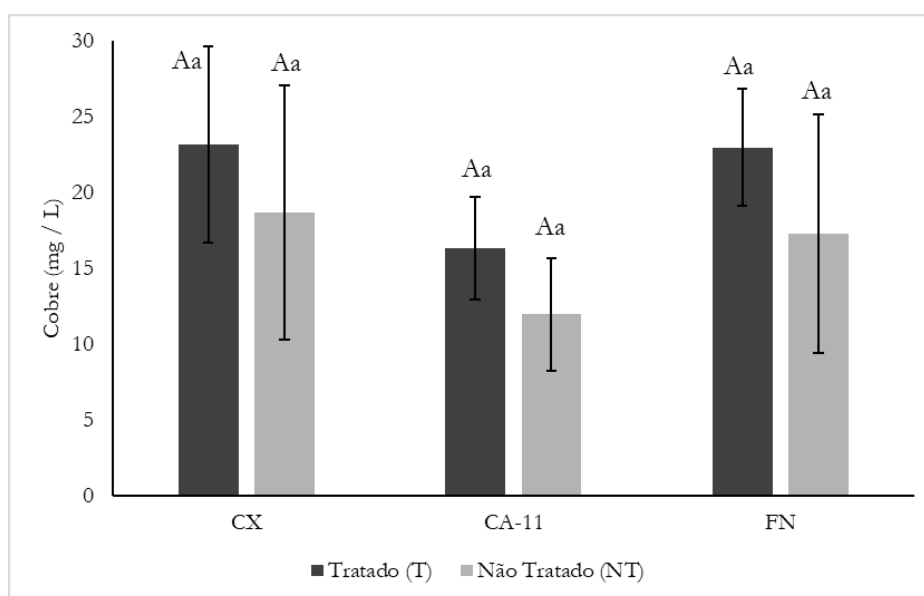


Figura 34. Concentrações de cobre (mg / L) nas cachaças produzidas a partir de mosto tratado (T) e não tratado (NT) fermentados com as leveduras CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural). Letras maiúsculas iguais em colunas de um mesmo fermento indicam que não há diferença significativa entre caldos T e NT. Letras minúsculas iguais em colunas de mesma cor indicam que não há diferença significativa entre as concentrações de cobre dos diferentes fermentos

3.3.3.9. Carbamato de Etila

O carbamato de etila (CE) é um contaminante encontrado em bebidas alcoólicas. Há diversas vias de formação desse componente durante a produção da cachaça. De acordo com Borges et al. (2014), o cianeto é o principal precursor na formação de carbamato de etila em fermentação de caldo de cana-de-açúcar. Aresta, Boscolo e Franco (2001) afirmam que o cobre é um catalizador na formação do CE, por meio da complexação com o cianeto, seguido pela

oxidação a cianogênio e finalmente a formação do cianato, que pode reagir com o etanol e formar CE.

O tratamento térmico eliminou, do caldo de cana-de-açúcar, os possíveis precursores do carbamato de etila, prevenindo sua formação e presença na bebida destilada, independentemente do fermento utilizado (Tabela 12; Figura 35). Elevadas concentrações do contaminante foram observadas nos caldos que não sofreram tratamento térmico. A cachaça produzida a partir de fermento natural apresentou concentrações até 9 vezes superiores às cachaças fermentadas com cepas selecionadas. O fermento natural promoveu concentrações do contaminante 4 vezes acima do limite crítico de 210 $\mu\text{g/L}$ determinado pela legislação (BRASIL, 2014).

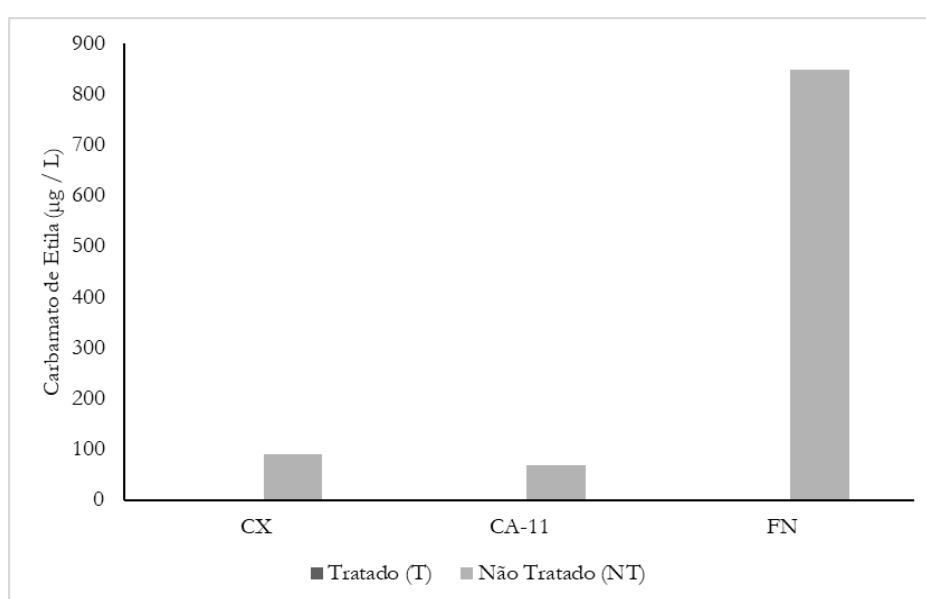


Figura 35. Concentrações de carbamato de etila ($\mu\text{g/L}$) nas cachaças produzidas a partir de mosto tratado (T) e não tratado (NT) fermentados com as leveduras CX (CanaMax), CA-11 e FN (fermento natural)

3.3.4. Análise multivariada

A análise multivariada do tipo Análise Fatorial Múltipla (AFM) foi aplicada sobre os dados de análises físico-químicas e cromatográficas visando o entendimento do papel dos conjuntos de variáveis para a contribuição com a variância existente entre as amostras. A AFM foi escolhida pois existem grupos de variáveis medidas segundo diferentes metodologias: cromatografia (GC-DIC e GC-EM), densimetria digital e colorimetria, e desta forma é possível realizar uma padronização do peso dos grupos de variáveis para caracterização multidimensional das amostras de cachaças brancas.

Após realização da AFM, foram definidas dimensões multivariadas, das quais as três primeiras contêm informações que explicam 70,4 % da variância total entre as amostras. A

primeira dimensão contém informação de 33,3 %, a segunda contém 23,1 % e a terceira 14 % da variância entre as amostras segundo os parâmetros estudados nas amostras de cachaças brancas.

O primeiro plano multidimensional foi explorado segundo a representação dos grupos de variáveis abordados na AFM (Figura 36), representação das amostras (Figura 37) e a contribuição de cada uma das variáveis ativas (Figura 38).

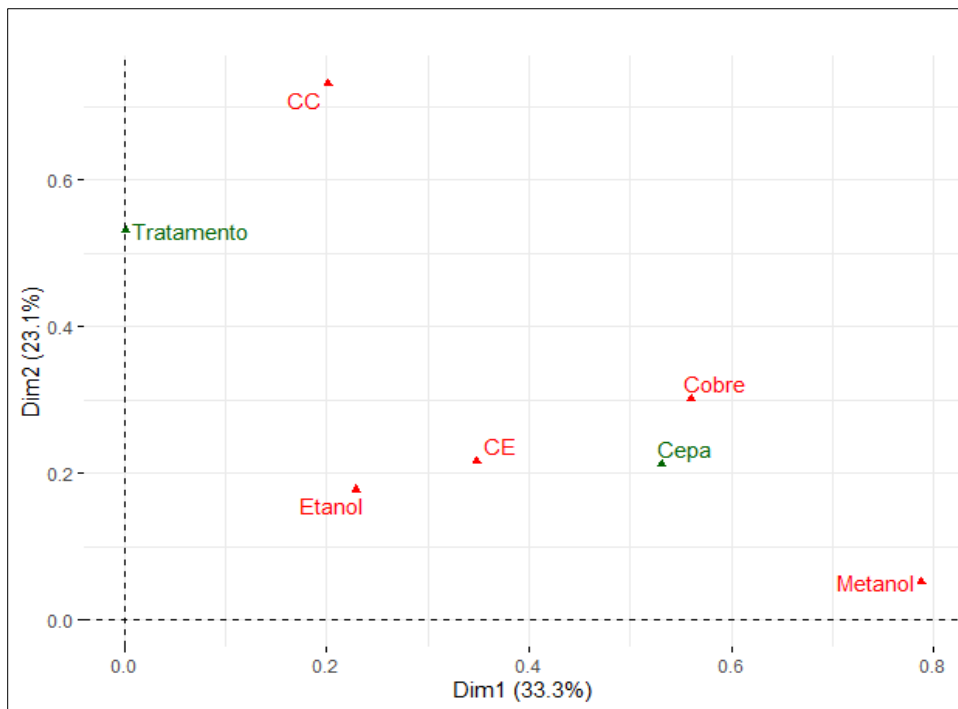


Figura 36. Representação dos grupos de variáveis nas duas primeiras dimensões geradas na AFM, com tratamento térmico e tipos de cepas representados como variáveis suplementares.

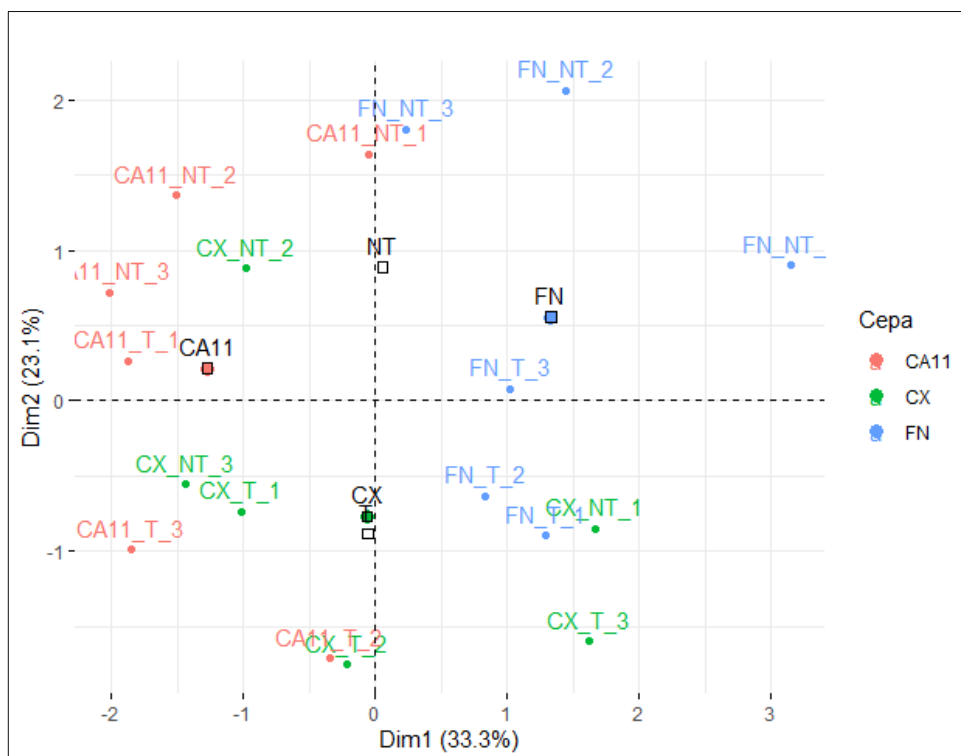


Figura 37. Representação das cachças produzidas a partir de caldos tratados (T) e não tratados (NT) e fermentadas com as leveduras CanaMax (CX), CA-11 (CA11) e fermento natural (FN) nas duas primeiras dimensões geradas na AFM, com tratamento térmico e tipos de cepas representados como variáveis suplementares.

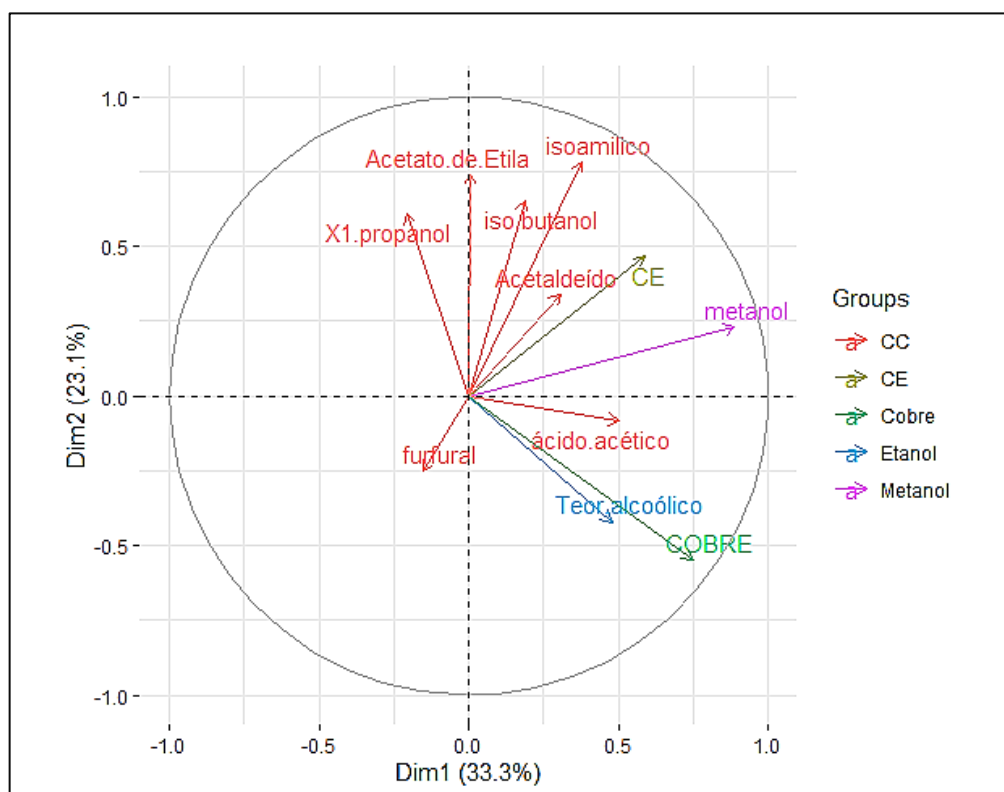


Figura 38. Contribuição das variáveis ativas nas dimensões 1 e 2 da AFM. CE = Carbamato de etila

Foi possível observar que as variáveis mais bem representadas no eixo horizontal, correspondente à primeira dimensão fatorial (33,3 % da variância total), são as concentrações dos contaminantes metanol, cobre e carbamato de etila (CE). A projeção da variável suplementar que representa os tipos de fermentos sobre o eixo horizontal (“Cepa” na Figura 36) indica que a variabilidade concentrada na primeira dimensão pode estar relacionada aos tipos de leveduras que fermentaram o vinho dando origem às cachaças, e que as mesmas podem estar relacionadas à composição química representada pelos parâmetros acima listados.

Ao ser analisada a segunda dimensão (23,1 % da variância total entre as amostras), representada pelo eixo vertical, pode-se observar a variável coeficiente de congêneres (CC) bem relacionada a esta. A variável suplementar representada pelo tratamento do caldo (Tratamento) está bastante relacionada também à segunda dimensão da AFM, o que indica que a variabilidade quanto ao coeficiente de congêneres está mais relacionada ao tratamento térmico do caldo. É possível confirmar esta relação observando a Tabela 12, que mostra as diferenças entre os caldos tratado e não tratado, obtidas pelo teste T, nas concentrações dos compostos acetaldeído, acetato de etila, álcoois 1-propanol e isoamílico e ácido acético.

Na Figura 37, estão representadas as amostras projetadas sobre as duas primeiras dimensões geradas pela AFM. É possível observar que a variável suplementar relativa ao caldo não tratado (NT) apresenta valor maior do que o caldo tratado (T) no eixo vertical, que representa a dimensão 2. O coeficiente de congêneres foi maior nas cachaças produzidas a partir de caldos não tratados (Tabela 12), principalmente produzidos a partir da fermentação com CA-11 e FN, o que justifica a distribuição da maior parte das amostras provenientes de caldos NT e os dois fermentos apresentando altos valores no eixo vertical.

O eixo horizontal, que representa a primeira dimensão, mostra as variáveis suplementares e a distribuição das amostras de cachaças dos diferentes fermentos sob o aspecto multidimensional de análises químicas. É possível observar a proximidade multivariada um pouco maior entre as amostras CA-11 e CX, enquanto a FN encontra-se mais distante. A distância das amostras CA-11 e CX da FN pode ser interpretada pela maior concentração dos contaminantes metanol e carbamato de etila nas cachaças produzidas a partir de FN.

No gráfico de contribuição das variáveis nas dimensões 1 e 2 (Figura 38), observa-se que quanto mais próxima a variável está da circunferência do círculo de correlação, mais significativa é sua contribuição e representação no Componente Principal. Neste sentido, os elementos que mais contribuem para explicar as variâncias dos dados são o álcool isoamílico, cobre, metanol, acetato de etila e carbamato de etila, que estão mais relacionados ao tipo de Cepa.

Com o objetivo de avaliar a terceira dimensão gerada pela AFM, foi também realizada a representação dos grupos de variáveis abordados na AFM (Figura 39), a representação das amostras (Figura 40) e a contribuição de cada uma das variáveis ativas na primeira e terceira dimensões (14 % da variância total entre as amostras) (Figura 41).

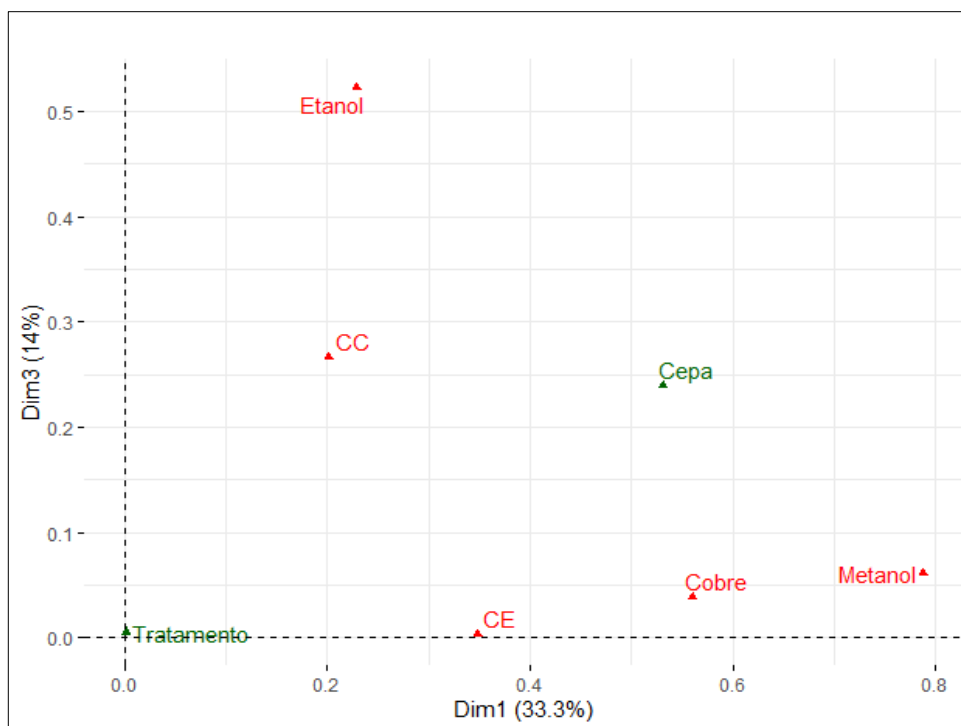


Figura 39. Representação dos grupos de variáveis na primeira e terceira dimensão geradas na AFM, com tratamento térmico e tipos de cepas representados como variáveis suplementares.

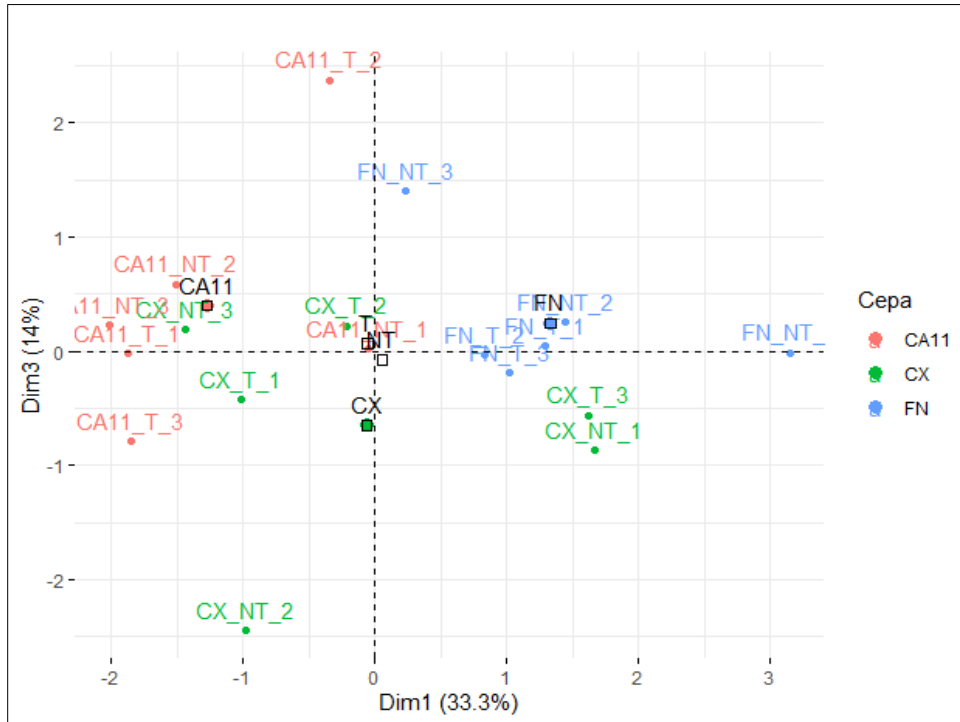


Figura 40. Representação das cachacas produzidas a partir de caldos tratados (T) e não tratados (NT) e fermentadas com as leveduras CanaMax (CX), CA-11 (CA11) e Fermento natural (FN) na primeira e terceira dimensão geradas na AFM, com tratamento térmico e tipos de cepas representados como variáveis suplementares.

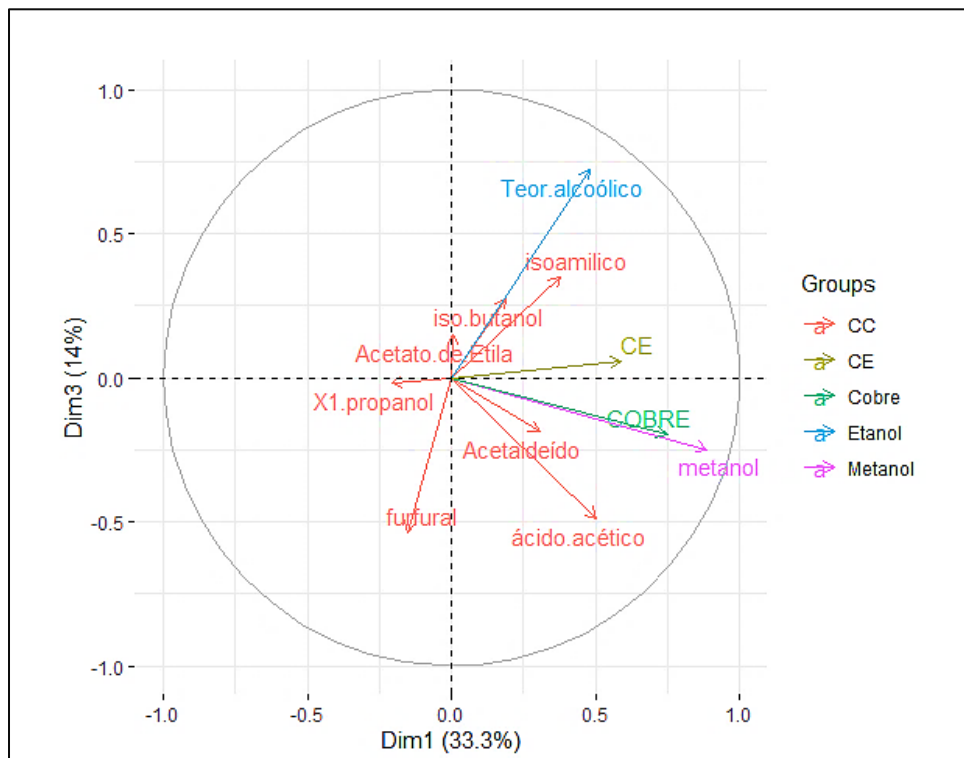


Figura 41. Contribuição das variáveis ativas nas dimensões 1 e 3 da AFM. CE = Carbamato de etila

Neste novo plano gerado pela AFM, é possível observar que a variável suplementar “Tratamento” não está relacionada à dimensão 1 e dimensão 3 e a variável suplementar “Cepa” está representada nas dimensões 1 e 3 e, além de estar relacionada aos contaminantes, também está relacionada ao coeficiente de congêneres (Figura 39).

Na representação das amostras (Figura 40) sobre a primeira e terceira dimensões geradas pela AFM observa-se que as variáveis suplementares relativas ao tratamento térmico se apresentam muito próximas ao valor 0 para os dois eixos, indicando que o caldos tratados (T) ou não tratados (NT) não têm relação e não explicam as variações entre as amostras. Além disso, há maior proximidade entre amostras de cachaças produzidas com a mesma cepa para a CA-11 e FN, e pouca proximidade nas amostras produzidas com a CX.

No gráfico de contribuição das variáveis nas dimensões 1 e 3 (Figura 41), os elementos que mais contribuem para explicar as variâncias dos dados são o teor alcoólico, cobre, metanol e ácido acético, que estão novamente mais relacionados a variável suplementar “Cepa”, indicando que a concentração de cada um desses compostos na bebida depende do tipo de levedura utilizada no processo fermentativo.

3.4. Considerações finais

As cachaças produzidas a partir de caldo não tratado (NT) e leveduras selecionadas CanaMax e CA-11 diferiram nas concentrações de álcoois superiores, ácido acético e coeficiente de congêneres. O uso de CA-11 e fermento natural em caldos com e sem tratamento resultou em concentrações de álcoois superiores acima do limite permitido pela legislação. O uso da cepa CanaMax atendeu os limites legais quanto à composição volátil. Todas as cachaças excederam o limite estabelecido pela lei brasileira para a concentração de cobre. O tratamento térmico do caldo preveniu a formação do CE independentemente do fermento utilizado. O fermento natural em caldo não tratado promoveu excesso do contaminante. A análise multivariada mostrou que as variâncias estão mais relacionadas ao tipo de levedura utilizada para a produção de cachaça do que com o tipo de tratamento prévio do caldo de cana-de-açúcar.

Referências

ALCARDE, A. R. **Cachaça: ciência, tecnologia e arte**. São Paulo: Edgard Blücher, 2014. 96 p.

- ALVES, M. C. Pesquisa e novos negócios na redescoberta desse aguardente secular. **Ciência e Cultura**. São Paulo, v. 66, n. 2, p. 60-61, jun. 2014. Disponível em: <http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0009-67252014000200022&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 26 ago. 2019.
- ALVES, T. M.; FARIAS, F. C.; ALCARDE, A. R.; OLIVEIRA FILHO, J. H. Influence of the heat treatment of sugarcane juice on the fermentative process and chemical composition of cane spirit. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 21, e2017126, 2018.
- 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.
- BARUFFALDI, R.; OLIVEIRA, M. N. Conservação de alimentos por tratamento térmico. In: BARUFFALDI, R.; DE OLIVEIRA, M. N. Fundamentos de tecnologia de alimentos. São Paulo: Atheneu, 1998. cap. 3, p. 27-61.
- BATISTA, F. R. M. Estudo do processo de destilação alcoólica contínua: Simulação de plantas industriais de produção de álcool hidratado, álcool neutro e cachaça. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. Campinas - SP. 2008.
- BOGUSZ JUNIOR, S.; KETZER, D. C. M. GUBERT, R.; ANDRADES, L.; GOBO, A. B. Composição química da cachaça produzida na região noroeste do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 26, 793-798, 2006.
- BORTOLETTO, A. M.; SILVELLO, G. C.; ALCARDE, A. R. Good Manufacturing Practices, Hazard Analysis and Critical Control Point plan proposal for distilleries of cachaça. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 75, n. 5, p. 432-443, set. 2018.
- BORTOLETTO, A. M.; ALCARDE, A. R. Assessment of chemical quality of Brazilian sugar cane spirits and cachaças. **Food Control**, v. 54, p. 1-6, 2015.
- 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.
- BOSCOLO, M.; BEZERRA, C. W. B.; CARDOSO, D. R.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Identification and dosage by HRGC of minor alcohols and esters in Brazilian sugar-cane spirit. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 11, 86-90, 2000.
- 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.

- 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.
- _____. Instrução normativa nº 28, de 8 de agosto de 2014. Altera o subitem 5.1.2. do Anexo da Instrução Normativa nº 13, de 29 de junho de 2005. **Diário Oficial da União**, Brasília, 11 ago. 2014, Seção I, Brasília, 2014.
- CALDAS, C. **Novo manual para laboratórios sucroalcooleiros**. Piracicaba: Sociedade dos Técnicos Açucareiros e Alcooleiros do Brasil, 2012. 744 p.
- CALDAS, C. **Manual de análises selecionadas para indústrias sucroalcooleiras**. Maceió: Sindicato da Indústria do Açúcar e do Alcool no Estado de Alagoas, 1998. 422p.
- CARDOSO, M. G. **Produção de aguardente de cana**. 3. ed. Lavras: UFLA, 2013. 340 p.
- CARDOSO, M. G.; CAMPOS, G. A.; SILVA, R. A.; SANTOS, C. D.; PINTO, A. P. S.; SILVA, C. F. Cachaça: Qualidade e Produção. Lavras: [s.n], 1999. (Boletim Técnico Série Extensão, v. VIII, n. 53, p. 1-26).
- CARDOSO, D. R.; LIMA-NETO, B. S.; FRANCO, D. W.; NASCIMENTO, R. F. 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. 2003.
- CARUSO, M. S. F.; NAGATO, L. A. F; ALABURDA, J. Avaliação do teor alcoólico e componentes secundários de cachaças. Revista do Instituto Adolfo Lutz, 67, 28-33, 2008.
- 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.
- DUARTE, W. F.; SOUSA, M. F. S.; DIAS, D. R.; SCHWAN, R. F. Effect of Co-Inoculation of *Saccharomyces cerevisiae* and *Lactobacillus fermentum* on the Distilled Sugar Cane Beverage Cachaça. Journal of Food Science, v.76, n.9, p. 1307-1318, 2011.
- GOMES, F.C.O.; ARAÚJO, R.A.C.; CISALPINO, P.S.; MOREIRA, E.S.A.; ZANI, C.L.; ROSA, C.A. Comparison between two selected *Saccharomyces cerevisiae* strains as fermentation starters in the production of traditional cachaça. Brazilian Archives of Biology and Technology 52: 449-455, 2009.
- LALLEMAND BIOFUELS & DISTILLED SPIRITS. CanaMax, 2019. Disponível em: <https://www.lallemdbds.com/wp-content/uploads/2015/07/POR_TDS_-CanaMax-CS5.pdf>. Acesso em: 26 de ago. de 2019.

- LÊ, S.; JOSSE, J.; HUSSON, F. FactoMineR: An R Package for Multivariate Analysis. **Journal of Statistical Software**. v. 25. 2008.
- LIMA, U. A. Aguardente: fabricação em pequenas destilarias. Piracicaba: FEALQ, 1999. 187 p.
- 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. et al. Fermentação alcoólica semi-continua destinada à produção de aguardente. *Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 25, p. 33-36, 1991.
- 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.
- OLIVEIRA, E. S.; CARDELLO, H. M. A. B.; JERONIMO, E. M.; SOUZA, E. L. R.; SERRA, G. E. The influence of diferente yeasts on the fermentation, composition and sensory quality of cachaça. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, v. 21, n. 5, p. 707-715, 2005.
- 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.
- PIMENTEL-GOMES, F.; GARCIA, C.H. Estatística aplicada a experimentos agronômicos e florestais: exposição com exemplos e orientações para uso de aplicativos. Piracicaba: FEALQ, 2002. 309 p.
- RIBEIRO, M. L. D.; FERREIRA, O. E.; TEIXEIRA, V.; MUTTON, M. A.; MUTTON, M. J. R. Tratamento físico-químico do caldo de cana produz cachaça de qualidade. *Revista Ciência Agronômica*, Fortaleza, v. 48, n. 3, p. 458-463, July 2017.
- SILVA, P. H. A.; SANTOS, J. O.; ARAÚJO, L. D.; FARIA, F. C.; PEREIRA, A. F.; OLIVEIRA, V. A.; VICENTE, M. A.; BRANDÃO, R. L. Avaliação cromatográfica de compostos voláteis de cachaças produzidas com leveduras de diferentes procedências. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 29, n. 1, p. 100-106, Mar. 2009.
- 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, L. M.; ALCARDE, A. R.; LIMA, F. V. BORTOLETTO, A. M. *Produção de Cachaça de Qualidade*, Piracicaba: ESALQ, 2013.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM - **SAS. Sas/Qc software**: usage and reference. 2 ed. Cary, 1996. (2 v)

- TARGINO, B. N. Influência da variedade de cana-de-açúcar e do tipo de fermento na qualidade da cachaça de alambique Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, 2009.
- TOLEDO, J. F. A.; FARIA, J. B. Teores de dimetil sulfeto estimados pelo método Níquel-Raney e aceitabilidade de amostras de cachaça. *Alimentos e Nutrição*, v. 15, n. 1, p. 51-54, 2004.
- VILELA, F. J.; CARDOSO, M. G., MASSON, J.; ANJOS, J. P. Determinação das composições físico-químicas de cachaças do sul de Minas Gerais e de suas misturas. *Ciência e Agrotecnologia*, 31, 1089-1094, 2007.
- 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.
- YOKOYA, F. Fabricação da aguardente de cana. Campinas: Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia “André Tosello”, 1995. 92 p. (Série Fermentações Industriais, 2).

4. PARÂMETROS DA FERMENTAÇÃO E DESTILAÇÃO COMO INFLUÊNCIA NA QUALIDADE DA CACHAÇA

RESUMO

O objetivo deste capítulo foi apresentar um levantamento de dados, a nível nacional, de alguns parâmetros das etapas de fermentação e destilação da produção de cachaças e aguardentes de cana-de-açúcar e relacionar esses parâmetros com a qualidade química dos produtos finais. Foi realizada uma pesquisa quantitativa durante o período de 31 de julho a 9 de agosto de 2019. O aplicativo utilizado para o levantamento de dados online foi o Google Forms. O questionário foi elaborado exclusivamente para produtores de cachaças e divulgado por meio de e-mail, Whatsapp e redes sociais. As questões foram escolhidas com base em informações relevantes sobre o processo de produção, em determinados pontos críticos de controle. Foi garantido o sigilo de dados confidenciais ou que, de algum modo, pudessem provocar constrangimentos ou prejuízos ao voluntário. Dos 42 produtores que responderam o questionário, 5 forneceram amostras de cachaças para a realização das análises químicas. Os destilados foram analisados quanto ao teor de álcool, por densimetria, concentração de cobre, mediante uso do colorímetro, e congêneres voláteis e carbamato de etila por cromatografia gasosa (GC-DIC e GC-EM respectivamente). A pesquisa com produtores levantou dados importantes sobre a produção de cachaça. Os produtores que participaram da pesquisa e que exportam cachaça confirmam que as bebidas atendem aos padrões estabelecidos pela legislação, independentemente do tipo de fermento utilizado ou dos parâmetros do processo, já que para sair do país a cachaça necessita de um laudo técnico que atenda as exigências locais de cada país importador. Nas análises das cachaças fornecidas foi possível observar que a formação de alguns componentes, como os álcoois superiores, é influenciada pelo tipo de fermento. Porém, foi demonstrado que não é só o tipo de fermento ou algum parâmetro específico estabelecido que vai garantir a boa qualidade final da bebida. De acordo com os resultados obtidos no presente trabalho, a aplicação em conjunto das Boas Práticas de Fabricação (BPFs), o uso de equipamentos adequados e a correta execução do processo de produção é que garantem a boa qualidade das cachaças.

Palavras-chave: Cachaça; Produtores; Levantamento de dados; Qualidade

ABSTRACT

The aim of this chapter was to present a data survey, at national level, of some parameters of the fermentation and distillation stages of the production of cachaças and sugarcane spirits and to relate these parameters to the chemical quality of the final products. A quantitative survey was carried out from July 31 to August 9, 2019. The application used for online data collection was Google Forms. The

questionnaire was developed exclusively for cachaça producers and disseminated through e-mail, Whatsapp and social networks. The questions were chosen based on relevant information about the production process, at certain critical control points. The confidentiality of confidential data or that, in some way, could cause constraints or losses to the volunteer were guaranteed. Of the 42 producers who answered the questionnaire, 5 provided samples of cachaça for chemical analysis. The distillates were analyzed for alcohol content, by densimetry, copper concentration, using a colorimeter, and volatile congeners and ethyl carbamate by gas chromatography (GC-DIC and GC-EM respectively). The research with producers raised important data on the production of cachaça. Producers who participated in the survey and who export cachaça confirm that the spirits meet the standards established by law, regardless of the type of yeast used or the process parameters, since to leave the country, cachaça needs a technical report that meets the requirements each importing country. In the analysis of the cachaças supplied, it was possible to observe that the formation of some components, such as higher alcohols, is influenced by the type of yeast. However, it has been shown that it is not just the type of yeast or some specific parameter established that will guarantee the good final quality of the spirit. According to the results obtained in the present work, the joint application of Good Manufacturing Practices (GMP), the use of appropriate equipment and the correct execution of the production process are what guarantee the good quality of cachaças.

Keywords: Cachaça; Producers; Data survey; Quality

4.1. Introdução

A cachaça é o destilado típico brasileiro, produzido a partir do caldo de cana-de-açúcar fermentado. Sua produção está distribuída por todo país, sendo mais representativa principalmente em algumas regiões onde esta atividade tem grande importância econômica e cultural (BRASIL, 2019). Atualmente os cinco principais estados produtores do destilado são São Paulo, Pernambuco, Ceará, Minas Gerais e Paraíba e os principais consumidores são os estados de São Paulo, Pernambuco, Rio de Janeiro, Ceará, Bahia e Minas Gerais (INSTITUTO BRASILEIRO DA CACHAÇA - IBRAC, 2019).

Um levantamento realizado em 2018 totalizou em 951 estabelecimentos produtores registrados e 3.648 cachaças registradas atualmente. O número de produtores de cachaça e de aguardentes registrados totaliza 21,96% do total de 6.362 estabelecimentos produtores de bebidas registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 2019). Apenas o Estado de Roraima não possui estabelecimento registrado no MAPA para produção de cachaça ou aguardente.

Estudos mostram que 90% da produção de aguardente de cana-de-açúcar é legalizada, porém é estimado que a porcentagem de produtores informais, em sua maioria micro e pequenos, chega a 85%. De acordo com o censo do IBGE de 2016, existem atualmente 11.024 produtores

de aguardentes no país. Estima-se, fazendo a somatória de associações regionais, que o número de estabelecimentos chega a aproximadamente 15 mil. (IBRAC, 2019).

A aguardente de cana ou cachaça possui outros compostos além de etanol e água, e esses são responsáveis pelas características sensoriais ou pelas características indesejáveis na bebida. Os compostos formados durante a fabricação da cachaça possuem uma quantidade fixada pela Legislação Nacional de Padrão de Identidade e Qualidade (PIQ). 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.

O controle de qualidade da cachaça é essencial para a determinação da composição quanto aos padrões legais (BRASIL, 2005a) e para aceitação no mercado externo. Todas as etapas do processo de produção influenciam na qualidade da cachaça, e a fermentação alcoólica e a destilação são as principais. A fermentação é a principal fase do processo, pois nela se originam diversos compostos formadores de aroma e sabor que vão caracterizar o produto final. Outro ponto crítico do processo é a destilação, pois a configuração do equipamento destilador e o método de destilação resultam em características que definem o perfil sensorial da bebida.

Existem alguns procedimentos básicos de segurança que são necessários para garantir a qualidade da cachaça e também para atender aos limites críticos estabelecidos pela Legislação Brasileira para esta bebida (BORTOLETTO; SILVELLO; ALCARDE, 2018). As Boas Práticas de Fabricação (BPF) são um conjunto de procedimentos detalhados, aplicados em todas as etapas de produção dos alimentos e bebidas e que, quando seguidos corretamente, garantem e controlam a qualidade do produto final. Dentre os procedimentos estão os processos para controle da higiene pessoal e ambiental, controle da água, pragas, lixo, instalações físicas e maquinário. A aplicação das BPFs na produção de cachaça tem por finalidade garantir a qualidade do produto final.

No Brasil não há uma padronização nos métodos de produção. São diversas receitas para o preparo do pé-de-cuba, utilização de diferentes fermentos, não há um único tipo de equipamento destilador e o envelhecimento da bebida pode ser realizado em diferentes tipos de madeiras e tamanhos de barril. Essa falta de standardização conseqüentemente leva aos diferentes tipos de cachaça no mercado (CARDOSO, 2013).

Pesquisas com produtores sobre as etapas do processo de produção, como parâmetros da fermentação e destilação, envelhecimento, o uso das boas práticas de fabricação e dados de destino final de mercado ainda são escassos. Essas informações são importantes para auxiliar na

caracterização dos produtos disponíveis no mercado e aprimorar o processo de produção, padronização e, dessa forma melhorar a qualidade do destilado. Portanto, o objetivo deste capítulo foi apresentar um levantamento de dados, a nível nacional, de alguns parâmetros das etapas de fermentação e destilação da produção de cachaças e aguardentes de cana-de-açúcar e relacionar esses parâmetros com a qualidade química dos produtos finais.

4.2. Material e métodos

4.2.1. Questionário para produtores

Uma pesquisa quantitativa foi realizada durante o período de 31 de julho a 9 de agosto de 2019. O aplicativo utilizado para o levantamento de dados online foi o Google Forms. O questionário (APÊNDICE A) foi elaborado exclusivamente para produtores de cachaças e divulgado por meio de e-mail, whatsapp e redes sociais. As questões foram escolhidas com base em informações relevantes sobre o processo de produção, em determinados pontos críticos de controle. O número de questões foi limitado a 23 devido ao possível desinteresse por parte dos produtores em responde-las, caso o questionário fosse muito longo. Foi garantido o sigilo de dados confidenciais ou que, de algum modo, pudessem provocar constrangimentos ou prejuízos ao voluntário.

4.2.2. Análises químicas das amostras de cachaças fornecidas pelos produtores

Dos 42 produtores que responderam o questionário, 5 forneceram amostras de cachaças para a realização das seguintes análises químicas.

4.2.2.1. Grau alcoólico e cobre

Os destilados foram analisados quanto ao teor de álcool por densimetria (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®.

4.2.2.2. Análises Cromatográficas

4.2.2.2.1. Congêneres voláteis por Cromatografia gasosa (GC-DIC)

Os padrões empregados foram: acetaldeído, acetato de etila, metanol, n-propanol, isobutanol, n-butanol, álcool iso-amílico 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), álcool iso-amílico (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 manual 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 (H₂) foi de 1,5 mL / min com fluxo total de 42 mL / min 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 (isoterma de 1 min) e aumento a 30°C / min até 180 °C (isoterma de 4 min) (BORTOLETTO; ALCARDE, 2013).

4.2.2.2.2. 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 esterificado), HP-FFAP (50 m x 0,20 mm x 0,33 μ m 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, seguido de aquecimento para 230 °C a uma taxa de 30 °C / min na qual permanecerá por 10 min. O volume injetado foi de 1,0 μ L no modo “splitless” automático. O gás de arraste foi o hélio (5.0) com fluxo de 1,2 mL / min. 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.

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) 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 13.

Tabela 13. Índice de retenção, (IR), Limite de Detecção (LD), e Limite de Quantificação (LQ) de congêneres voláteis e contaminantes, e coeficientes de correlação (a, b, r²) das curvas de calibração em solução alcoólica (40 % v / v)

Congêneres voláteis	IR (min)	LD (mg / 100	LQ (mg / 100	A	B	r ²
		mL etanol anidro)	mL etanol anidro)			
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 (mg / 100	LQ (mg /	A	B	r ²
		mL etanol anidro)	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

^aµg / L

4.3. Resultados e discussão

4.3.1. Respostas dos produtores

O questionário foi importante no levantamento de dados sobre a produção de cachaça no Brasil. As respostas completas dos produtores são apresentadas em uma tabela no Apêndice B. As questões 1 e 2 tratam de dados da empresa e não serão citadas no presente trabalho. Foi garantido o sigilo de dados confidenciais ou que, de algum modo, pudessem provocar constrangimentos ou prejuízos aos produtores.

A pesquisa foi respondida por 42 produtores de 14 estados (Figura 42): São Paulo (15), Minas Gerais (7), Espírito Santo (3), Paraíba (3), Goiás (2), Bahia (2), Rio de Janeiro (2), Paraná (2), Pernambuco (1), Alagoas (1), Mato Grosso (1), Santa Catarina (1), Acre (1) e Maranhão (1). Nem todas as perguntas tinham caráter obrigatório, portanto algumas não foram respondidas por todos os produtores.

A região Sudeste teve o maior número de participações de produtores (64 %), com os estados de São Paulo e Minas Gerais representando 35,7 % e 16,7 %, respectivamente, do total de respostas. A região Sudeste concentra 70 % da produção nacional de cachaça (total de 671 estabelecimentos produtores registrados). O estado com a maior produção é Minas Gerais, com 421 estabelecimentos registrados. São Paulo é o segundo maior estado produtor, seguido de Espírito Santo e Rio de Janeiro (BRASIL, 2019). A região Nordeste teve o segundo maior número de respostas no presente trabalho (19 %) e é a segunda maior região produtora de cachaça, correspondendo a 14,5 % do volume total produzido e com 138 estabelecimentos registrados. A região Sul possui 99 estabelecimentos registrados e representa 10,4 % do volume total de cachaça produzido, seguida da região Centro-Oeste, com 3,5 % de representatividade na produção (33 estabelecimentos registrados), e da região Norte, com apenas 10 produtores e 1,05% de representatividade no volume total produzido (BRASIL, 2019).

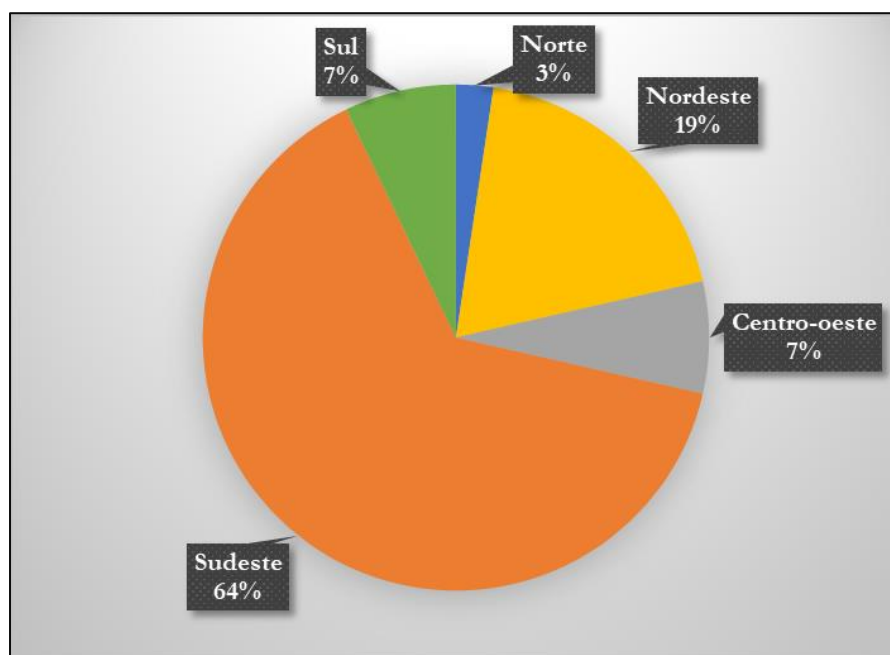


Figura 42. Quantidade de respostas (%) nas cinco regiões brasileiras

O volume anual de produção de cachaça dos estabelecimentos de produtores que responderam a pesquisa varia de 100 até 2.000.000 de litros (Figura 43). Mais da metade dos produtores que participaram da pesquisa (58,6 %) tem volume de produção anual acima de 23.000 L. Apenas um produtor não respondeu essa questão.

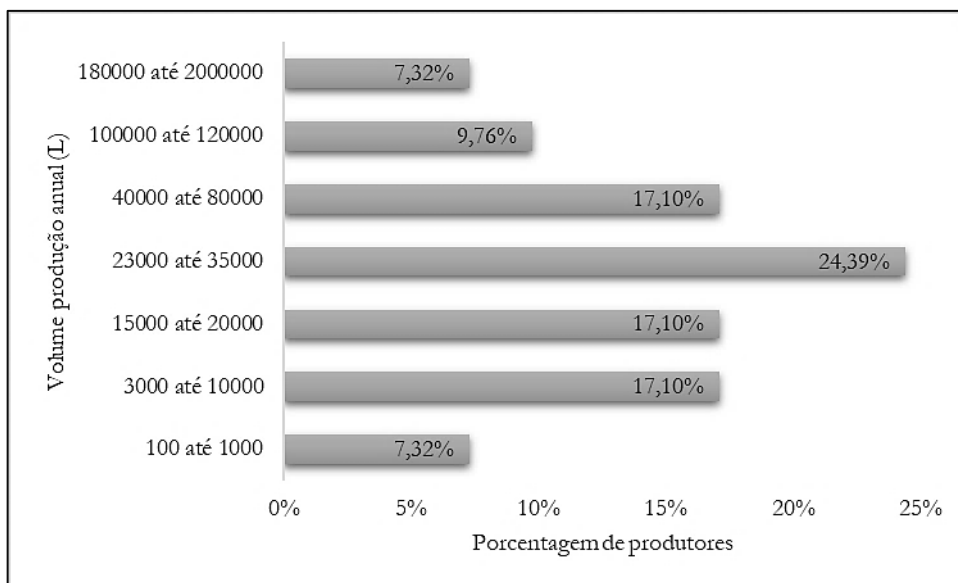


Figura 43. Volume de produção anual (L) dos produtores

Dos tipos de cachaças comercializadas, mais de um terço dos produtores (38%) comercializam os três tipos, branca (armazenada em inox), armazenada (armazenada em barris de madeira) e envelhecida (Figura 44). De acordo com a legislação brasileira, cachaça envelhecida é a bebida que contiver, no mínimo, 50 % da bebida envelhecida em recipiente de madeira apropriado, com capacidade máxima de 700 L, por um período não inferior a um ano (BRASIL, 2005a). No questionário não foi pedido a classificação da cachaça envelhecida que é comercializada (Envelhecida, Premium ou Extra premium). Do total de produtores, 28,6 % comercializam apenas brancas e armazenadas, 14,3 % apenas brancas e envelhecidas e o restante opta por comercializar armazenadas e envelhecidas (11,9 %) ou apenas armazenadas (4,8 %) e um produtor, que produz também para exportação, comercializa apenas cachaça branca.

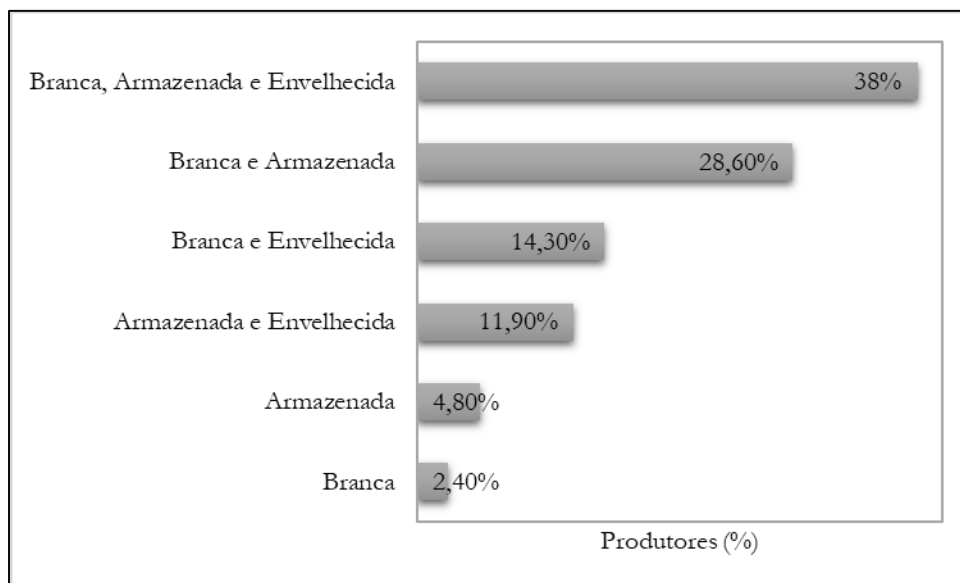


Figura 44. Tipos de cachaças comercializadas por produtores (%)

Nas questões sobre exportação, 35,7 % dos produtores responderam que exportam a cachaça, principalmente para países da Europa (Alemanha, Portugal, Luxemburgo, Inglaterra, França, Itália, Holanda, Bélgica, Escócia e Áustria), Ásia (China, Japão e Taiwan) e EUA (Figura 45). Os países mais citados como destino foram Alemanha e EUA. Outros países citados como importadores de cachaça foram Peru, Bolívia e Austrália.

De acordo com dados do IBRAC (2019), atualmente existe mais de 50 empresas exportadoras de cachaça e no ano de 2018 esse destilado foi exportado para 77 países. Em 2018, os principais estados exportadores em volume e valor foram São Paulo, Pernambuco, Rio de Janeiro, Paraná e Ceará. Na presente pesquisa, um terço dos produtores que responderam o questionário e exportam são do estado de São Paulo, três produtores são de Minas Gerais e os sete restantes são de estados diferentes (AC, PR, PE, AL, ES, BA, RJ). De 2015 a 2018 houve um aumento de 7,7% em volume exportado e os principais mercados de destino em volume atualmente são Paraguai, Alemanha, Estados Unidos, França e Portugal. Em 2017 foram exportados 8,75 milhões de litros de cachaça. Em 2018 houve uma redução de 3,8% em volume e 1,24% em valor exportado, gerando receita de US\$ 15,61 milhões. No mesmo ano, os principais países importadores em valor foram Estados Unidos, Alemanha, Paraguai, Portugal e Itália (IBRAC, 2019).

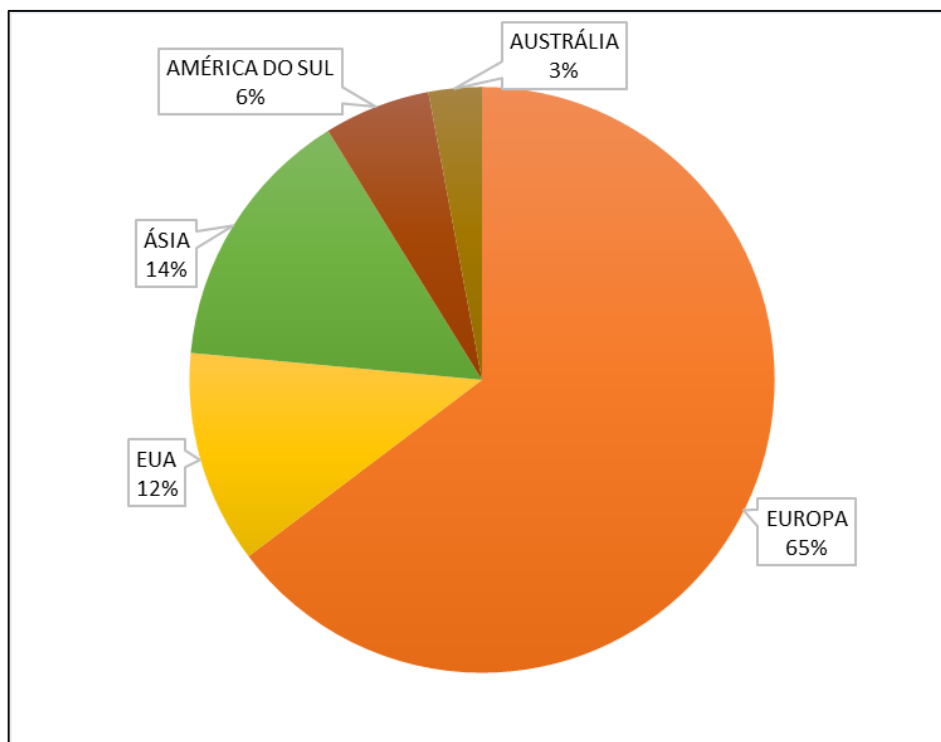


Figura 45. Países e volume de exportação (%)

Nas questões sobre as práticas de produção, a primeira delas foi a aplicação do tratamento térmico como método de preparo do caldo de cana-de-açúcar antes da fermentação. O tratamento térmico é um método que tem por objetivo a inativação enzimática e a redução da população microbiana dos alimentos (BARUFFALDI; OLIVEIRA, 1998; ALVES et al., 2018). A técnica do tratamento térmico do caldo de cana-de-açúcar é uma alternativa para a eliminação de microrganismos contaminantes e retirada de componentes indesejados que podem interferir no rendimento da fermentação alcoólica (BOSQUEIRO, 2010). Além do controle microbiológico, o tratamento do caldo elimina impurezas que podem influenciar nas características químicas e sensoriais da cachaça. Todos os produtores responderam essa questão e a maioria (88,1 %) não faz tratamento térmico do caldo de cana.

O caldo de cana extraído na moagem tem uma concentração de açúcar que varia entre 18 °Brix a 22 °Brix, portanto geralmente é necessária uma diluição do caldo com água potável (BORTOLETTO; SILVELLO; ALCARDE, 2018). Sobre a quantidade de açúcares no caldo de cana, 73,8 % dos produtores ajustam entre 15 a 16 °Brix para o início das fermentações. As outras respostas (26,2 %) variaram de 12 a 14 °Brix e de 17 a 25 °Brix. Apenas um produtor não respondeu essa questão. De acordo com Alcarde (2014), para o início da fermentação alcoólica o mosto ideal deve apresentar de 16 a 18 °Brix, pois concentrações acima podem resultar em fermentações lentas e incompletas, reduzindo o rendimento e a qualidade da bebida final, e

concentrações abaixo podem ser mais favoráveis a contaminações, além de necessitarem de maior consumo de energia durante a destilação e gerarem maior volume de vinhaça.

O uso de dornas e equipamentos de destilação adequados, além de novas tecnologias para a seleção de cepas de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* para fermentação podem contribuir para a melhora da qualidade da cachaça (GOMES et al., 2007; BORGES et al., 2014). Quanto ao uso das dornas, a pergunta foi sobre o tipo de material utilizado e 36 produtores responderam que utilizam dornas de aço inox, um material resistente a corrosão e de fácil higienização. Dornas de outros materiais, como polipropileno, aço carbono e plástico PEAD também foram citadas.

A Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) é um sistema que identifica riscos e estabelece medidas específicas para seu controle, com foco na prevenção de perigos, buscando garantir a segurança de produtos e processos (BORTOLETTO; SILVELLO; ALCARDE, 2018). A fermentação alcoólica é a principal etapa do processo de produção de cachaça e é considerada um Ponto Crítico de Controle (PCC) porque a composição do mosto de caldo de cana e os microrganismos que atuam nessa etapa influenciam a qualidade final da bebida (GOMES et al., 2009).

Existem leveduras selecionadas para produção de cachaça e que são comercializadas, no entanto, é comum os produtores ainda prepararem o pé-de-cuba a partir de leveduras selvagens. Os principais fermentos utilizados na preparação do pé de cuba (volume inicial da massa de fermento adicionado ao mosto) são o natural, “caipira” ou selvagem, o prensado (leveduras de panificação) e, por fim, as leveduras selecionadas (CARDOSO, 2013).

Sobre o tipo de fermento utilizado no processo (Figura 46), 45,2 % dos produtores optam pelo fermento selecionado, 42,9 % preparam o pé-de-cuba a partir do fermento “Caipira” e 11,9 % fazem a mistura dos dois (Selecionado + Caipira). Dos produtores que responderam o questionário e que empregam fermento selecionado ou misto, 53,8 % utilizam a cepa CA-11, comercializada pela LNF. Essa cepa foi selecionada pela Universidade Federal de Lavras (Minas Gerais) devido ao seu desempenho no processo fermentativo para produção de cachaça (ALVES, 2019). Ela é comercializada em sua forma desidratada ativa e proporciona maior estabilidade no padrão de qualidade durante e entre as safras e, de acordo com (CARDOSO, 2013), o uso dessa cepa por alguns produtores tem resultado em melhorias significativas no rendimento e qualidade da cachaça. Outros fermentos selecionados citados foram “fermento prensado” e Fleischmann, que são fermentos utilizados em panificação, e “selecionado do próprio canavial”, sendo este um inóculo que provavelmente foi isolado do próprio ambiente do produtor.

O fermento “Caipira” é originado da microbiota já existente no ambiente (caldo de cana, dornas e equipamentos) e são diversas as receitas para o desenvolvimento desse tipo de

fermento, incluindo a adição de substratos ao caldo de cana-de-açúcar como complementos nutricionais para o meio, tais como milho moído, pó de soja e farelo de arroz (PATARO et al., 2000). As receitas foram variadas para os produtores que responderam o questionário e que optam por este tipo de fermento e os substratos citados foram: fubá de milho, farelo de arroz, milho torrado e moído, extrato de soja, bolacha maisena, caldo de limão, quirela de milho e massa de mandioca. Quatro produtores utilizam apenas caldo puro diluído para o desenvolvimento do fermento “caipira” e vão aumentando o ° Brix progressivamente, e apenas um respondeu que realiza a aeração do líquido durante o processo. Dois produtores responderam que preparam o fermento “caipira” adicionando substratos junto com fermento prensado ou fermento de cerveja, o que neste caso é classificado como fermento misto. As respostas para o tempo de preparo do pé-de-cuba “caipira” foram variadas, levando de 3 até 30 dias para a propagação do fermento. Por fim, cinco produtores afirmaram utilizar o fermento misto, que é a mistura de leveduras selecionadas com o fermento natural.

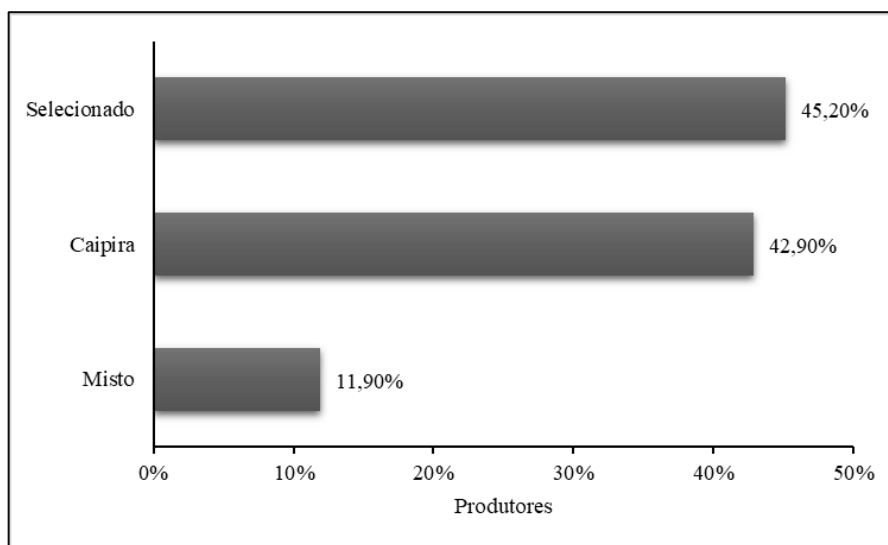


Figura 46. Quantidade de produtores (%) que utilizam cada tipo de fermento

Durante a fermentação alcoólica algumas correções podem ser feitas no mosto para garantir a eficiência do processo: pH do caldo (normalmente variando entre 5,0 a 5,5), 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; controle de temperatura (ideal em torno de 30° C) (FARIA, 1995; JANZANTTI, 2004). Do total de produtores que responderam o questionário, 14,29 % afirmaram que adicionam alguma substância durante a fermentação, sendo que cinco adicionam algum tipo de nutriente e um produtor adiciona antiespumante. Das respostas, 64,3 % dos produtores controlam a temperatura durante o processo fermentativo,

variando de 22 °C a 38 °C. Porém, a maioria mantém a temperatura entre 28 e 32 °C. Durante a fermentação, o pH com valores próximos a 4 e a temperatura acima de 32 °C podem aumentar as chances de contaminações por bactérias que vão interferir na eficiência do processo (SCHWAN; CASTRO, 2001).

O reciclo do fermento é um método comumente utilizado na condução da fermentação para produção de aguardentes de cana e cachaça e consiste em utilizar as células de leveduras decantadas no vinho fermentado anteriormente. No reciclo, o fermento decantado ocupa de 17 % a 20 % do volume útil da dorna de fermentação e permanece como inóculo para a próxima fermentação (BORTOLETTO; SILVELLO; ALCARDE, 2018). A maioria dos produtores (88,1 %) faz o reciclo do fermento, sendo o reuso feito de acordo com a necessidade de cada destilaria durante a safra e variando de dois reciclos até uma safra inteira. Os fatores citados que podem resultar no descarte do fermento são contaminação por outros microrganismos, morte devido às oscilações de temperatura e declínio da atividade.

Metade dos produtores (50 %) que responderam o questionário realizam algum tipo de análise do mosto durante a fermentação, sendo as análises de acidez (42,9 %), pH (33,3 %), controle de ° Brix (28,6 %) e análise visual (19 %) as mais aplicadas no processo. Outras análises citadas foram: controle de temperatura (4,8 %), teor alcoólico (4,8 %), açúcares redutores totais (4,8 %) e análise sensorial (9,5 %).

O tempo de fermentação variou de 12 até 48 horas, mas a maior parte dos produtores (57,1 %) finaliza a fermentação entre 12 h e 24 h, 40,5 % dos produtores entre 24 h e 36 h e 2,4 % entre 36 a 48 horas. A maior parte das respostas está de acordo com Gomes et al. (2002), que afirma que o processo fermentativo tem duração de 24 a 36 horas, mas em média, é de 24 horas (CARDOSO, 2013)

A destilação é outra etapa importante na fabricação de cachaça e, se realizada utilizando equipamentos adequados e correta metodologia, garantem a boa qualidade do produto final. A destilação da cachaça pode ser conduzida em colunas de destilação, em que o processo pode ocorrer continuamente durante toda a safra, ou alambiques, em procedimento feito de forma descontínua.

Na pergunta sobre o tipo de equipamento e material do aparelho destilador, 90 % dos produtores afirmaram que utilizam alambique de cobre, 14,3 % utilizam alambique ou coluna de aço inox com alguma parte do equipamento em cobre, e apenas um produtor faz a destilação em alambique construído inteiramente com aço inox (Figura 47). Dois produtores afirmaram que utilizam alambique de três corpos, de cobre, para a produção de cachaça. A preferência pelo cobre na fabricação de alambiques é devido às suas características de maleabilidade, resistência,

transmissão de calor e também devido à sua importância como catalisador de reações durante a destilação (ALCARDE, 2014).

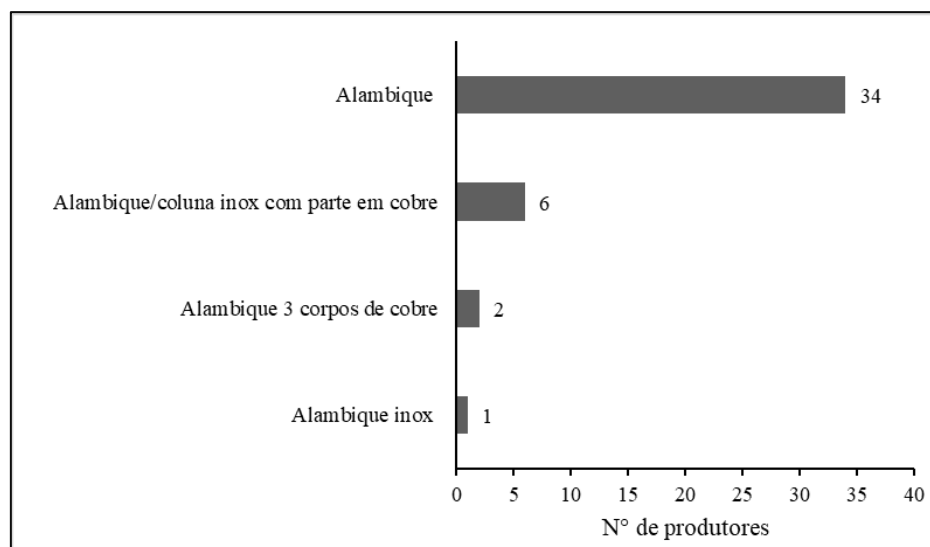


Figura 47. Tipos e materiais dos aparelhos destiladores utilizados pelos produtores

As aguardentes de cana e cachaças podem ser produzidas por monodestilação, bidestilação e multidestilação. Na monodestilação é feita uma única destilação e o líquido destilado é separado em frações denominadas cabeça, coração e cauda. A técnica da dupla destilação, também conhecida como bidestilação, consiste em realizar duas destilações consecutivas, sendo que na primeira é recuperado praticamente todo o álcool etílico do vinho (flegma), e na segunda é separada as frações cabeça, coração e cauda (NOGUEIRA; VENTURINI FILHO, 2005). O objetivo da bidestilação é obter um destilado com menor concentração de compostos secundários para depois ser envelhecido (NOVAES et al., 1974). A multidestilação consiste da destilação em colunas, de forma contínua. Do tipo de destilação empregado por cada produtor, 97,6 % fazem a monodestilação, 9,5 % fazem a bidestilação e 4,8 % (dois produtores) optam pela multidestilação, sendo que um deles produz apenas cachaça multidestilada (Figura 48).

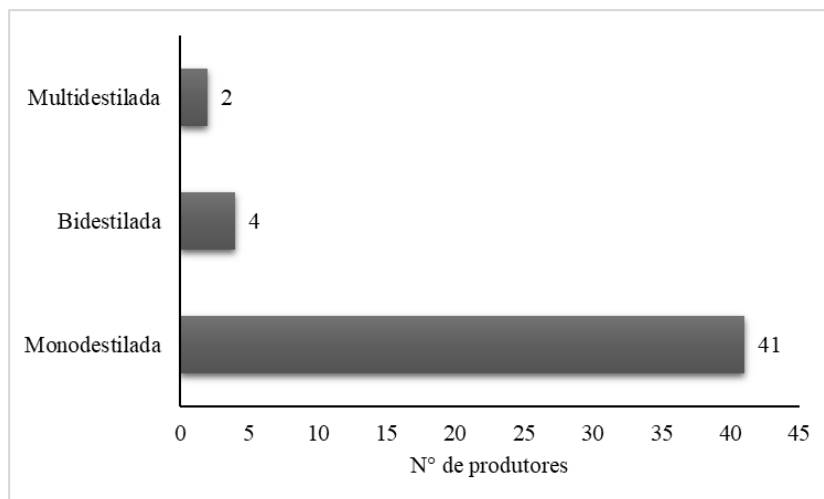


Figura 48. Métodos de destilação empregado pelos produtores

4.3.2. Análises Químicas

Do total de quarenta e dois produtores que participaram da pesquisa, cinco forneceram amostras de cachaças brancas para análises químicas, sendo quatro produtores do estado de São Paulo e um produtor do estado do Paraná. As cinco cachaças fornecidas são marcas também exportadas.

A Tabela 14 apresenta as principais respostas dos cinco produtores. Todos os produtores comercializam cachaças brancas e envelhecidas e dois deles comercializam, também, as cachaças armazenadas. Nenhum produtor faz tratamento térmico do caldo de cana-de-açúcar antes da fermentação. Duas marcas utilizam fermento comercial selecionado, cepa CA-11, duas utilizam fermento “Caipira” e uma inicia o processo fermentativo com fermento Fleischmann.

Durante o processo fermentativo, nenhum dos produtores adiciona substâncias e apenas um não faz reciclo do fermento. O controle de temperatura é realizado apenas nas fermentações com fermento “Caipira” e Fleischmann. O mínimo e máximo tempo de fermentação é de 18 h e 36 h, respectivamente, e todos os produtores utilizam destilador de cobre, sendo quatro alambiques e um de coluna de cobre. As cinco marcas de cachaças são produzidas a partir da monodestilação e apenas uma das cachaças também é produzida a partir de bidestilação.

Tabela 14. Respostas dos cinco produtores de cachaças fornecidas para as análises químicas

Cachaças					
	1	2	3	4	5
Produção anual em litros	15000	20000	35000	7000	50000
Tipos de Cachaça que comercializa	Branca e Envelhecida	Branca e Envelhecida	Branca, Armazenada e Envelhecida	Branca e Envelhecida	Branca, Armazenada e Envelhecida
Tratamento térmico do caldo	Não	Não	Não	Não	Não
° Brix do caldo para fermentação	15	15	15	16	12
Tipo de fermento utilizado	CA-11	CA-11	Caípira	Caípira	Fleischmann
Reciclo de fermento	Sim	Sim	Sim	Não	Sim
Controle de temperatura na fermentação	Não	Não	Sim	Sim	Sim
Temperatura da fermentação	-	-	28 a 35° C	28° C	Início a 30° C
Análise do mosto durante a fermentação	Sim	Sim	Não	Não	Sim
Tipo de análise durante a fermentação	Análise visual e sensorial	pH	-	-	Brix e temperatura
Tempo médio (horas) da fermentação	36 h	18 h	18 a 24h	24 a 30 h	30 h
Tipo e material do aparelho destilador?	Alambique/ cobre	Alambique/ cobre	Alambique/ cobre	Alambique/ cobre	Coluna de cobre
Tipo de destilação	Monodestilação Bidestilação	Monodestilação	Monodestilação	Monodestilação	Monodestilação

Os equipamentos, tipo de fermento e metodologia empregada no processo de fabricação podem influenciar a composição volátil da bebida final. A Tabela 15 apresenta as concentrações de etanol, de congêneres voláteis e de contaminantes nas cinco amostras de cachaças fornecidas pelos produtores.

Tabela 15. Teor alcoólico (% v / v), congêneres voláteis (mg / 100 mL AA), metanol (mg / 100 mL AA), 1-butanol (mg / 100 mL AA) e 2-butanol, carbamato de etila ($\mu\text{g} / \text{L}$) e cobre (mg / L) nas cinco amostras de cachaças

Cachaças	1	2	3	4	5	Média	Referência (IN 13)
Teor alcoólico	37,92	46,78	51,34	35,26	44,56	43,172	38-48
Acetaldeído	6,62	10,15	5,69	7,91	10,77	8,228	0-30
Acetato de Etila	12,26	7,35	19,38	26,69	19,05	16,946	0-200
1-propanol	63,71	77,98	108,57	195,15	10,5	91,182	-
Iso-butanol	66,8	35,06	17,72	33,41	24,17	35,432	-
Isoamilico	189	202,46	116,52	128,47	155,88	158,466	-
Ácido acético	21,87	17,15	55,65	92,26	60,23	49,432	0-150
Furfural	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0-5
Álcoois Superiores	319,51	315,5	242,81	357,03	190,55	285,08	0-360
Coefficiente de Congêneres	360,27	350,16	323,53	484,83	280,6	359,878	200-650
Metanol	6,14	4,57	1,13	2,92	3,32	3,616	0-20
1 - butanol	ND	0,34	0,41	0,6	ND	0,27	0-3
2 - butanol	ND	ND	2,96	6,32	ND	4,64	0-10
Cobre	2,68	0,08	3,79	0,67	10,28	3,5	0-5
Carbamato de etila	26,64	ND	7,61	ND	ND	6,85	0-210

ND = não detectado

De acordo com a Legislação Brasileira, Aguardente de Cana deve ter graduação alcoólica de 38 % (v/v) a 54 % (v/v) e Cachaça deve ter graduação alcoólica de 38 % (v/v) a 48 % (v/v) (BRASIL, 2005a). Duas cachaças (cachaças 1 e 4) apresentaram teor alcoólico abaixo do limite mínimo estabelecido para serem denominadas aguardentes de cana ou cachaças e, portanto, essas amostras não poderiam ser comercializadas.

Nas concentrações de congêneres voláteis, o composto acetaldeído apresentou, no geral, concentrações baixas, com máxima, nas cachaças 2 e 5, próxima a 1/3 do limite permitido pela legislação. Os compostos acetato de etila e ácido acético apresentaram maiores quantidades nas marcas de cachaças produzidas a partir da fermentação com fermento “Caipira” (cachaças 3 e 4) e fermento selecionado Fleischmann. O acetato de etila corresponde a 80% dos ésteres totais formados durante a produção dos destilados, é formado a partir do ácido acético e do etanol, e é responsável pelo aroma agradável de frutas na bebida, quando em baixas concentrações (MAIA, 1994; CARDOSO, 2013). Altas concentrações desses ésteres são indesejáveis em bebidas destiladas, uma vez que, em excesso, esses componentes tornam a bebida enjoativa e contribuem de maneira negativa para sua qualidade (BOGUSZ JUNIOR et al., 2006; SILVA et al., 2009). A concentração de acetato de etila foi até duas vezes maior nas cachaças 3, 4 e 5, porém ficou muito abaixo do limite crítico para esse composto.

O ácido acético é o componente responsável pela acidez volátil da bebida, pois é o ácido orgânico predominante (MUTTON; MUTTON, 2010), sendo originado pela oxidação do acetaldeído. A cachaça 4, que utiliza fermento “caipira” apresentou concentração até 5 vezes maior de ácido acético, quando comparada com as cachaças 1 e 2, produzidas a partir de fermento CA-11, mas também não ultrapassou os limites legais. Altas concentrações de ácido acético geralmente são decorrentes de contaminação por bactérias durante ou após a fermentação e, na bebida causam sensação de pungência podendo resultar na rejeição sensorial (Odello et al., 2009). Durante a destilação, o corte correto das frações é um método de controle das concentrações desses dois compostos, acetato de etila e ácido acético, já que se concentram nas frações “cabeça” e “cauda”, respectivamente.

No presente trabalho também é possível observar a influência do tipo de fermento na formação dos álcoois superiores. Na soma das concentrações dos álcoois superiores 1-propanol, isobutílico e isoamílico, a cachaça que apresentou a menor quantidade (190, 55 mg / 100 mL AA) foi a produzida a partir da destilação do vinho fermentado com o Fleischmann (cachaça 5). Os produtores que utilizam fermento “caipira” foram os que apresentaram cachaças com as maiores concentrações de 1-propanol e os que utilizam fermento CA-11 produzem cachaças com maiores quantidades de álcool isoamílico.

Apenas a cachaça 5 apresentou concentração de cobre acima do limite permitido pela legislação (10,28 mg / L). Pereira et al. (2003) concluíram que 26,2% das cachaças analisadas apresentaram concentrações de cobre acima de 5 mg/L, limite estabelecido pela legislação brasileira. Miranda et al. (2007) analisaram 94 marcas de cachaças e verificaram que 15% apresentaram teor de cobre acima do limite estabelecido, valor inferior aos 32% encontrados por Vargas e Gloria (1995), indicando que houve, ao longo dos anos, uma maior preocupação dos produtores em reduzir a contaminação por esse composto. 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, média equivalente a 5,34 mg / L, acima, portanto, do valor limítrofe superior determinado pela legislação.

As cachaças 1 e 2 apresentaram as maiores concentrações do contaminante metanol, porém são concentrações consideradas baixas (6,14 e 4,57 mg / 100 mL AA) quando comparadas ao limite crítico de 20 mg / 100 mL AA. As amostras 3 e 4 foram as únicas que apresentaram concentrações detectáveis do contaminante 2-butanol. O carbamato de etila foi detectado apenas em duas amostras de cachaças (1 e 3), porém em concentrações muito abaixo dos 210 µg / L limitados pela legislação.

4.4. Considerações finais

A pesquisa com produtores levantou dados importantes sobre a produção de cachaça. Os produtores que participaram da pesquisa e que exportam cachaça confirmam que as bebidas atendem aos padrões estabelecidos pela legislação, independentemente do tipo de fermento utilizado ou dos parâmetros do processo, já que para sair do país a cachaça necessita de um laudo técnico que atenda as exigências locais de cada país importador. Nas análises das cachaças fornecidas foi possível observar que a formação de alguns componentes, como os álcoois superiores, é influenciada pelo tipo de fermento. Porém, foi demonstrado que não é só o tipo de fermento ou algum parâmetro específico estabelecido que vai garantir a boa qualidade final da bebida. De acordo com os resultados obtidos no presente trabalho, a aplicação em conjunto das Boas Práticas de Fabricação (BPFs), o uso de equipamentos adequados e a correta execução do processo de produção é que garantem a boa qualidade das cachaças.

Referências

- ALCARDE, A. R. **Cachaça: ciência, tecnologia e arte**. São Paulo: Edgard Blücher, 2014. 96 p.
- ALVES, T. M.; FARIAS, F. C.; ALCARDE, A. R.; OLIVEIRA FILHO, J. H. Influence of the heat treatment of sugarcane juice on the fermentative process and chemical composition of cane spirit. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 21, e2017126, 2018.
- ALVES, M. C. Pesquisa e novos negócios na redescoberta desse aguardente secular. *Ciência e Cultura*. São Paulo, v. 66, n. 2, p. 60-61, jun. 2014. Disponível em: <http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0009-67252014000200022&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 26 ago. 2019.
- BARUFFALDI, R.; OLIVEIRA, M. N. Conservação de alimentos por tratamento térmico. In: BARUFFALDI, R.; DE OLIVEIRA, M. N. **Fundamentos de tecnologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1998. cap. 3, p. 27-61.
- 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.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **A cachaça no Brasil: dados de registro de cachaças e aguardentes**. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/AECE, 2019. 27 p.

- BOGUSZ JUNIOR, S.; KETZER, D. C. M. GUBERT, R.; ANDRADES, L.; GOBO, A. B. Composição química da cachaça produzida na região noroeste do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 26, 793-798, 2006.
- BORGES, G. B. V.; GOMES, F. C. O.; BADOTTI, F.; SILVA, A. L. D.; MACHADO, A. M. R. Selected *Saccharomyces cerevisiae* yeast strains and accurate separation of distillate fractions reduce the ethyl carbamate levels in alembic cachaças. **Food Control**, v. 37, p. 380-384, 2014.
- BORTOLETTO, A. M.; SILVELLO, G. C.; ALCARDE, A. R. Good Manufacturing Practices, Hazard Analysis and Critical Control Point plan proposal for distilleries of cachaça. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 75, n. 5, p. 432-443, set. 2018.
- 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.
- CARDOSO, M. G. **Produção de aguardente de cana**. 3. ed. Lavras: UFLA, 2013. 340 p.
- 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.
- FARIA, J.B. Sobre a produção de aguardente de cana. **O Engarrafador Moderno**, São Paulo, n. 40, p. 9-16, 1995.
- GOMES, F. C. O.; PATARO, C.; GUERRA, J. B.; NEVES, M. J.; CORRÊA, S.R.; MOREIRA, E. S.; ROSA, C. A. Physiological diversity and trehalose accumulation in *Schizosaccharomyces pombe* strains isolated from spontaneous fermentations during the production of the artisanal Brazilian cachaça. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 48, n. 5, p. 399-406, 2002.
- GOMES, F. C. O.; SILVA, C. L. C.; MARINI, M. M.; OLIVEIRA, E. S.; ROSA, C. A. Use of selected indigenous *Saccharomyces cerevisiae* strains for the production of the traditional cachaça in Brazil. **Journal of Applied Microbiology**, 103, 2438-2447, 2007.
- GOMES, F. C. O.; ARAÚJO, R. A. C.; CISALPINO, P. S.; MOREIRA, E. S. A.; ZANI, C. L.; ROSA, C. A. Comparison between two selected *Saccharomyces cerevisiae* strains as fermentation starters in the production of traditional cachaça. **Brazilian Archives of Biology and Technology** 52: 449-455, 2009.
- INSTITUTO BRASILEIRO DA CACHAÇA. Disponível em: <<http://www.ibrac.net/>>. Acesso em: 01 jul. 2019.

- 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.
- MAIA, A. B. Componentes secundários da aguardente. **STAB**. Açúcar, Álcool e Subprodutos, Piracicaba, v. 12, n. 2, p. 29-39, 1994.
- MINAS GERAIS (Estado). Lei nº 13.949, de 11 de julho de 2001. **Estabelece o padrão de identidade e as características da cachaça de Minas e dá outras providências**. Disponível em: <http://www.almg.gov.br>. Acesso em: 28 ago 2019.
- 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.
- 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.
- NOGUEIRA, A.M.P.; VENTURINI FILHO, W.G. **Aguardente de cana**. Botucatu: UNESP, Faculdade de Ciências Agronômicas, 2005. 71 p.
- NOVAES, F. V.; OLIVEIRA, E. R.; STUPIELO, J. P. I curso de extensão em tecnologia de aguardente de cana (apontamentos). Piracicaba: Departamento de tecnologia rural/ ESALQ / USP, 1974. 104 p.
- ODELLO, L.; BRACESCHI, G. P.; SEIXAS, F. R. F.; DA SILVA, A. A.; GALINARO, C. A.; FRANCO, D. W. Avaliação Sensorial de Cachaça. **Química Nova**, v. 32, p. 1839-1844, 2009.
- PATARO, C.; GUERRA, J. B.; PETRILLO-PEIXOTO M. L.; MENDONÇA-HAGLER, L. C.; LINARDI, V. R.; ROSA C. A. Yeast communities and genetic polymorphism of *Saccharomyces cerevisiae* strains associated with artisanal fermentation in Brazil. **Journal of Applied Microbiology**, 89, 24-31, 2000.
- 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.
- RIO DE JANEIRO (Estado). Lei nº 6.291, de 06 de julho de 2012. Considera a cachaça como patrimônio histórico cultural do Estado do Rio de Janeiro. Disponível em: <https://www.jusbrasil.com.br/topicos/26421414/artigo-1-da-lei-n-6291-de-06-de-julho-de-2012-do-rio-de-janeiro>. Acesso em: 28 ago 2019.
- SCHWAN, R. F.; CASTRO, H. A. Fermentação. In: CARDOSO, M. C. (Ed.). **Produção de Aguardente de cana-de-açúcar**. Lavras: Editora UFLA, 2001. cap. 3, p. 113-125.

- SILVA, P. H. A.; SANTOS, J. O.; ARAÚJO, L. D.; FARIA, F. C.; PEREIRA, A. F.; OLIVEIRA, V. A.; VICENTE, M. A.; BRANDÃO, R. L. Avaliação cromatográfica de compostos voláteis de cachaças produzidas com leveduras de diferentes procedências. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 29, n. 1, p. 100-106, Mar. 2009.
- 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.
- VARGAS, E. A.; GLÓRIA, M. B. Qualidade da cachaça de cana (*Saccharum officinarum*, L.) produzida, comercializada e /ou engarrafada no Estado de Minas Gerais. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 15, 43-46, 1995.

5. CARACTERÍSTICAS SENSORIAIS DE CACHAÇAS PRODUZIDAS A PARTIR DE FERMENTOS SELECIONADOS E NATURAL

RESUMO

O objetivo deste capítulo foi determinar o perfil sensorial das cachaças brancas obtidas a partir da destilação de vinhos fermentados com leveduras selecionadas e fermento natural e identificar as possíveis diferenças sensoriais existentes entre elas. Caldo proveniente da moagem de colmos de cana-de-açúcar foi filtrado e ajustado a 18 °Brix. As fermentações foram conduzidas utilizando leveduras *Saccharomyces cerevisiae* selecionadas, cepa CA-11 e cepa CanaMax, e fermento natural. Os vinhos foram destilados em alambique de cobre separando-se as frações “cabeça”, “coração” (cachaça) e “cauda”. Os vinhos foram destilados em alambique de cobre separando-se as frações “cabeça”, “coração” (cachaça) e “cauda”. As cachaças foram analisadas quanto a concentração alcoólica, por densimetria, e quanto as concentrações de congêneres voláteis e de carbamato de etila por cromatografia gasosa (CG-DIC e CG-EM, respectivamente). Análises sensoriais foram realizadas por Napping e Ultraflash Profiling (UFP), que são métodos sensoriais rápidos. Além das cachaças produzidas também foi analisada uma amostra padrão comercial (standard) para comparação com os demais tratamentos com o objetivo de verificar as relações ou diferenças entre os destilados. No uso da metodologia Ultraflash Profiling a equipe de avaliadores levantou atributos coerentes e já utilizados para a caracterização de amostras de cachaças brancas. A metodologia napping revelou que a equipe não foi capaz de distinguir as amostras repetidas e não conseguiu identificar os possíveis parâmetros relacionados às diferenças sensoriais entre todas as cachaças estudadas. Houve a percepção sensorial das características do álcool etílico, pelos avaliadores, em todas as amostras analisadas.

Palavras-chave: Sensorial; Cachaça; Fermentação; Comparação

ABSTRACT

The aim of this chapter was to determine the sensory profile of cachaças obtained from the distillation of fermented wines by selected yeasts and natural yeast and to identify possible sensory differences between them. Juice extracted from sugarcane stalks was filtered and adjusted to 18 ° Brix. Fermentations were conducted using selected *Saccharomyces cerevisiae* yeasts, strain CA-11 and strain CanaMax, and natural yeast. The wines were distilled in a copper pot still, separating the “head”, “heart” (cachaça) and “tail” fractions. The cachaças were analyzed for alcoholic concentration, by densimetry, and for the concentrations of volatile congeners and ethyl carbamate by gas chromatography (GC-FID and GC-MS, respectively). Sensory analyzes were performed by Napping and Ultraflash Profiling (UFP), which are fast sensory methods. In addition to the cachaças produced, a commercial standard sample (standard) was also analyzed for comparison with the other treatments in order to verify the relationships or differences between the

distillates. Using the Ultraflash Profiling methodology, the team of evaluators raised consistent and already used attributes for the characterization of white cachaça samples. The napping methodology revealed that the team was not able to distinguish the repeated samples and was unable to identify the possible parameters related to sensory differences between all the studied cachaças. There was a sensory perception of the characteristics of ethyl alcohol, by the evaluators, in all samples analyzed.

Keywords: Sensory; Sugarcane liquor; Fermentation; Comparison

5.1. Introdução

A cachaça é uma das bebidas mais consumidas no Brasil e está entre os destilados mais consumidos no mundo. Ela é comercializada em todo o território nacional e deve ser obrigatoriamente fabricada a partir da destilação do caldo de cana-de-açúcar fermentado. Características sensoriais diferenciadas e qualidade química são parâmetros que, cada vez mais, os produtores de cachaça prezam para garantir competitividade frente a produtos importados e de qualidade reconhecida.

O mercado de bebidas alcoólicas tem crescido nos últimos anos, junto com o aumento da procura por bebidas consagradas e de melhor qualidade. A análise química é de grande importância para a caracterização e garantia da qualidade em cachaças. Porém, apenas a análise sensorial é capaz de identificar a aceitação do produto no mercado. Cachaças muitas vezes apresentam boa qualidade química, mas não agradam sensorialmente (SOUZA; HENRIQUE; CLERICI, 2013). A análise sensorial é um complemento da análise química, pois pode justificar e atestar a qualidade de um produto, uma vez que permite identificar aspectos não capazes de serem detectados por outros procedimentos.

A Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) permite traçar o perfil sensorial de cachaças, pois descreve e quantifica os diversos atributos sensoriais (STONE; SIDEL, 2004). Essa metodologia de análise sensorial já foi utilizada em muitos trabalhos para descrever aguardentes de cana e cachaças (FURTADO, 1995; CARDELLO; FARIA, 1998; MARCELLINI, 2000; YOKOTA, 2002; JANZANTTI, 2004; MORAES, 2004; YOKOTA, 2005; SOUZA, 2006; MAÇATELLI, 2006; ODELLO et al., 2009; MAGNANI, 2009; PINHEIRO, 2010; ARAÚJO, 2010; ROTA, 2012; ROTA; PIGGOTT; FARIA, 2013), porém é uma análise trabalhosa e que demanda muito tempo, pois é dividida em várias etapas: recrutamento dos avaliadores, pré-seleção dos avaliadores, levantamento dos termos descritores, treinamento e seleção dos avaliadores e avaliação das amostras.

Nos últimos anos foram desenvolvidas novas metodologias de análise sensorial. Para avaliação de amostras complexas, métodos sensoriais rápidos têm sido aplicados a fim de correlacionar os diferentes painéis sensoriais (especialistas e consumidores) (RISVIK et al., 1994) e de descobrir os atributos que são constantemente citados para um produto, mas que não são facilmente mensuráveis em uma análise descritiva convencional, devido à falta de consenso sobre suas definições (ALBERT et al., 2011). O *Napping* é uma das metodologias de fácil aplicação utilizadas atualmente para a análise de vários produtos alimentícios, inclusive em bebidas alcoólicas fermentadas, como a cerveja (REINBACH et al., 2014) e o vinho (PERRIN; PAGÈS, 2009), e bebidas destiladas, como o *Brandy* (LOUW et al., 2015). O *Ultra Flash Profile* (UFP) é outro método sensorial que, de acordo com Perrin et al (2008), pode ser incorporado ao *Napping* e obtem informações descritivas sobre o produto. Essas metodologias podem substituir a metodologia descritiva quantitativa (ADQ) como alternativa para redução de tempo e, de acordo com Oliver et al. (2018) elas podem ser aplicadas tanto para equipes treinadas quanto para consumidores.

É importante analisar a qualidade sensorial das cachaças recém-destiladas. Quando em contato com a madeira durante o envelhecimento o destilado adquire características que podem mascarar sua identidade inicial e então se torna difícil identificar os atributos sensoriais que são anteriores a essa etapa de produção. Estudar a composição sensorial de cachaças brancas é importante para melhorar a qualidade tanto das cachaças não envelhecidas como das envelhecidas.

Além da influência da aplicação correta das Boas Práticas de Fabricação (BPFs) na qualidade da cachaça, estudos tentam explicar a existência da diferença sensorial entre cachaças produzidas a partir de diferentes tipos de fermentos. Compostos voláteis como os álcoois superiores, ésteres, ácidos orgânicos e os aldeídos exercem um papel importante no perfil sensorial típico de cachaças e a presença desses pode ser determinada pelo tipo de cepa de levedura atuante durante o processo da fermentação alcoólica (ALCARDE; MONTEIRO; BELLUCO, 2012; ALCARDE; SOUZA; BORTOLETTO, 2012; SOUZA et al., 2012; PORTUGAL,). Serafim & Franco (2015) também afirmam que o perfil químico da cachaça independe do método de destilação e está diretamente relacionado às características da fermentação.

Compreender como os diferentes microorganismos influenciam a composição química e sensorial das bebidas destiladas é fundamental para a condução do processo de produção, bem como para o monitoramento e controle das características que definirão a qualidade do produto final. O objetivo deste capítulo foi determinar o perfil sensorial das cachaças brancas obtidas a

partir da destilação de vinhos fermentados com leveduras selecionadas e fermento natural e identificar as possíveis diferenças sensoriais existentes entre elas.

5.2. Material e métodos

5.2.1. Local

O projeto 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).

5.2.2. Preparo dos mostos

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 foi realizada a filtração em algodão hidrófilo para retirar impurezas grosseiras, tais como resíduos de terra e bagacilhos. Em seguida o caldo foi ajustado para 18° Brix mediante adição de água destilada para o início das fermentações.

5.2.3. Fermentação

5.2.3.1. Fermento Selecionado

Foram adicionadas as cepas de leveduras selecionadas, inoculando-se 3g/L, em massa seca, para cada tratamento. Os fermentos selecionados que foram utilizados são leveduras *Saccharomyces cerevisiae*, cepa CA-11 (LNF, Bento Gonçalves/RS) e cepa CanaMax (CX) (Lallemand Brasil). Os fermentos foram previamente hidratados com água a 40 °C para reativação das células (Figura 49).



Figura 49. Pé-de-cuba do fermento natural, cepa CanaMax e cepa CA-11, respectivamente.

5.2.3.2. Fermento Natural

Para a fermentação natural (FN) foi preparado o fermento “caipira” adaptando os métodos descritos por Lima (1999). A Figura 50 apresenta as etapas de preparo do fermento natural. Uma mistura foi preparada com os seguintes ingredientes e quantidades: 4 g de farelo de arroz, 4 g de fubá comum, 4 g de sulfato de amônio, 0,4 g de superfosfato (fertilizante químico) e 10 mL de caldo de limão. Uma pasta foi preparada com todos esses ingredientes e esta foi colocada em um saco limpo de algodão, cuja boca foi amarrada. O saco foi colocado dentro de um becker de 4 L e adicionou-se 1 litro de caldo de cana diluído a 7 °Brix com água destilada. A mistura foi mantida em estufa a 28 °C, com aeração diária de 10 minutos utilizando Bomba de ar para aquário Big Air A320, com vazão de 3,5 L/ minuto por saída. Foi adicionado 1 L de caldo fresco a 7 °Brix a cada 24 horas durante três dias. Após 72 horas, o saco de algodão foi removido do recipiente e o líquido permaneceu com aeração diária de 10 minutos, mas sem adição de novo caldo, durante quatro dias. Após esse período, foi retirado todo o líquido sobrenadante e adicionado 1 L litro de caldo a 8 °Brix e, a cada 24 horas, durante 9 dias, o processo se repetiu aumentando-se 1 °Brix de cada caldo adicionado. Metade do líquido sobrenadante foi retirado a cada 3 dias e no 9º dia observou-se um volume significativo de massa de leveduras decantadas. O processo total de preparo do pé-de-cuba teve duração de 16 dias. A proporção de massa úmida de leveduras utilizadas na fermentação foi três vezes o peso da massa seca das leveduras selecionadas (9 g / L).

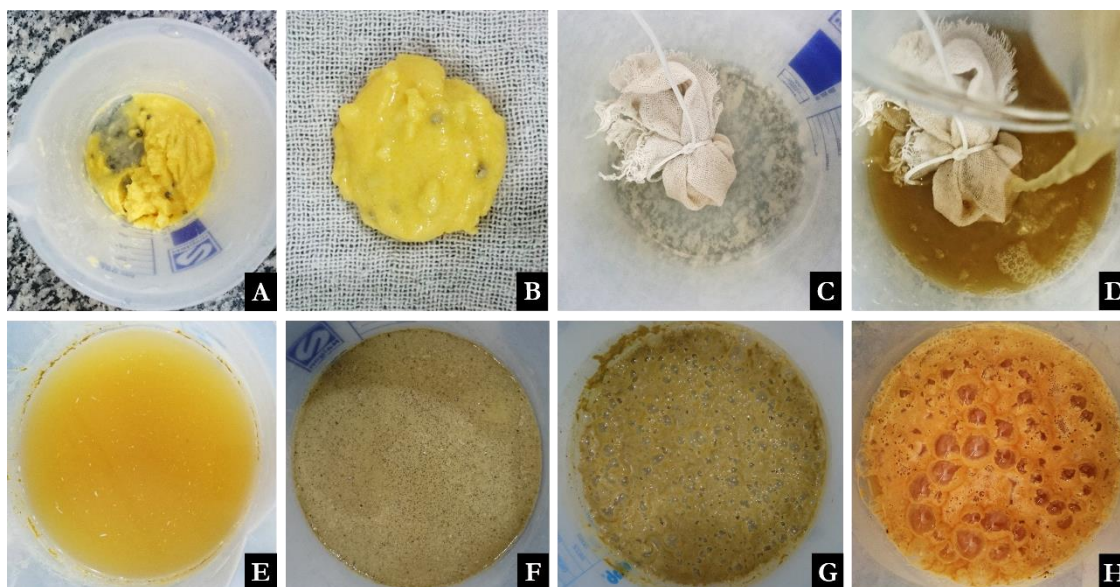


Figura 50. Etapas de preparo do fermento natural. Preparo da mistura (A), pasta pronta (B), saco de pano com a pasta colocado dentro do becker (C), primeira adição de caldo de cana (D), caldo de cana após 72 h (E), massa de leveduras formada no 9º dia de preparo (F), massa de leveduras algumas horas depois da adição de novo caldo (G), caldo de cana fermentando (H).

5.2.3.3. Condução e monitoramento do processo fermentativo

O processo fermentativo foi conduzido igualmente em todos os tratamentos. As fermentações foram realizadas em fermentador de 40L, com monitoramento de temperatura (mantida entre 28 °C a 32 °C), tempo (24 a 72 horas) e acompanhamento diário da atenuação do Brix do mosto em fermentação.

5.2.4. Destilação

Os mostos fermentados (vinhos) foram destilados em alambique de cobre de 10L (Figura 51A e 51B) seguindo a metodologia descrita por Alcarde (2014), procedendo-se a separação das frações “cabeça” (2 % do volume útil da caldeira), “coração” (destilado recuperado até 38 % de etanol na fração à saída do condensador) e “cauda” (destilado recuperado de 38 % até o esgotamento do etanol na fração à saída do condensador). O tempo das destilações foi cronometrado e as frações “coração” e “cauda” foram recolhidas em volumes de 300 mL para análises de teor alcoólico.

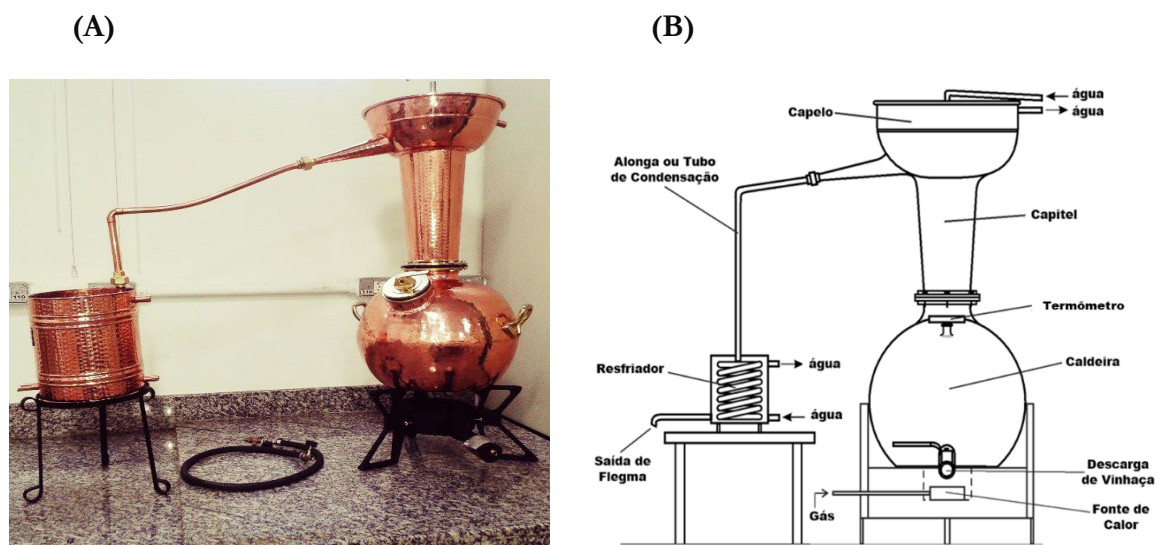


Figura 51. Foto (A) e esquema do alambique (B) que foi utilizado para as destilações

5.2.5. Análises químicas

As cachaças foram submetidas às análises químicas descritas nos itens 5.2.5.1 a 5.2.5.2, para caracterização quanto aos parâmetros especificados pela legislação brasileira (BRASIL, 2005a).

5.2.5.1. Grau alcoólico

Os destilados foram analisados quanto ao teor de álcool por densimetria (BRASIL, 2005b), em densímetro digital Anton Paar DMA 4500.

5.2.5.2. Análises Cromatográficas

5.2.5.2.1. Congêneres voláteis por Cromatografia gasosa (GC-DIC)

Os padrões empregados foram: acetaldeído, acetato de etila, metanol, n-propanol, isobutanol, n-butanol, álcool iso-amílico 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), álcool iso-amílico (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 manual 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 (H₂) foi de 1,5 mL / min com fluxo total de 42 mL / min 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 (isoterma de 1 min) e aumento a 30°C / min até 180 °C (isoterma de 4 min) (BORTOLETTO; ALCARDE, 2013).

5.2.5.2.2. 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 esterificado), HP-FFAP (50 m x 0,20 mm x 0,33 µm 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, seguido de aquecimento para 230 °C a uma taxa de 30 °C / min na qual permanecerá por 10 min. O volume injetado foi de 1,0 µL no modo “splitless” automático. O gás de arraste foi o hélio (5.0) com fluxo de 1,2 mL / min. 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.

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) 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 16.

Tabela 16. Índice de retenção, (IR), Limite de Detecção (LD), e Limite de Quantificação (LQ) de congêneres voláteis e contaminantes, e coeficientes de correlação (a, b, r^2) das curvas de calibração em solução alcoólica (40 % v / v)

Congêneres voláteis	IR (min)	LD (mg / 100	LQ (mg /100	A	B	r^2
		mL etanol anidro)	mL etanol anidro)			
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 (mg / 100	LQ (mg /	A	B	r^2
		mL etanol anidro)	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

^aµg / L

5.2.6. Análises sensoriais

5.2.6.1. Avaliadores

Foram recrutados 38 avaliadores saudáveis (23 homens e 14 mulheres) e o critério de inclusão utilizado foi consumidor e apreciador habituado com o consumo de destilados e que também tivesse participado de algum dos Treinamentos em “Qualidade Sensorial da Cachaça”,

com carga horária de 16 horas e dividida em dois dias de curso, oferecidos pela equipe do Laboratório de Tecnologia e Qualidade de Bebidas (LTQB) da ESALQ / USP. O critério de exclusão foi idade abaixo de 18 anos ou acima de 60 anos, peso menor que 60 kg, portadores de doenças crônicas, gravidez ou estado de amamentação, uso de algum medicamento, pessoas que não gostassem do produto ou que o consumissem em excesso. Seguindo o protocolo de avaliação, foram entregues três fichas aos avaliadores, uma para inclusão de dados pessoais (ANEXO A), como nome, idade, gênero e frequência de consumo da cachaça e outras duas com instruções de como deveria ser realizada a análise (ANEXOS B e C), além de um termo de consentimento – TCLE (ANEXO D), preparado especialmente para este teste, em atendimento às exigências da Comissão de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da ESALQ/USP. O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da ESALQ/USP (CAAE 65866117.5.0000.5395) (ANEXO E).

5.2.6.2. Napping - Ultraflash Profiling (UFP)

O mapeamento projetivo ou *Napping* é uma técnica rápida de análise sensorial onde as amostras apresentadas devem ser agrupadas por indivíduos em um espaço bidimensional de acordo com as similaridades e diferenças encontradas. Quando aplicado em combinação com o UFP, é solicitada à equipe a descrição das amostras. Esta etapa de verbalização auxilia a melhor compreender as dimensões (O’SULLIVAN, 2017). A interpretação dos mapas gerados, possibilitam capturar diferenças sensoriais entre os produtos, especialmente bebidas alcoólicas. Para isso, os membros da equipe não necessitam ser treinados (MONTELEONE, 2012).

A primeira etapa das avaliações foi a aplicação da metodologia *Napping*, introduzida por Pagès (2003), em que os avaliadores posicionaram, em uma folha retangular A3, as amostras de acordo com similaridades e diferenças, aproximando-as quando fossem semelhantes e distanciando-as quando fossem diferentes, de acordo com a impressão sensorial geral dos atributos (*global Napping*). Depois de posicionadas, os avaliadores fizeram uma análise qualitativa das cachaças, seguindo a metodologia *Ultraflash Profiling* (UFP) descrita por Perrin et al. (2008), listando todos os atributos identificados em cada uma das amostras.

5.2.6.3. Local

As análises foram procedidas em uma sessão de avaliação das amostras em sala de análise sensorial com cabines individuais e luz branca, longe de ruídos e odores, em horários que

compreendessem uma hora antes ou duas horas após o almoço, seguindo procedimentos da ISO 8589 (ISO, 2007). As análises foram realizadas no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição – ESALQ/USP.

5.2.6.4. Preparo das amostras

Para condução dos testes sensoriais, foram selecionadas as amostras de cachaça brancas produzidas com os três fermentos (CanaMax, CA-11 e Fermento natural) e também foi inserida uma amostra padrão comercial (*standard*) para comparação com os demais tratamentos com o objetivo de verificar as relações ou diferenças entre os destilados. O critério de escolha da cachaça comercial foi o tipo de fermento utilizado para sua fabricação, neste caso, fermento “Caipira” (natural). Além disso, uma das amostras, a CA-11, foi apresentada em duplicata para verificação da capacidade dos consumidores na identificação das amostras repetidas.

As amostras de cachaças foram devidamente padronizadas a 40 % (v / v) de etanol com água destilada, devido à maioria das cachaças serem comercializadas com essa concentração alcoólica. Cada amostra foi previamente codificada com números aleatórios de 3 dígitos (Tabela 17) e apresentada aos avaliadores em ordem aleatória, seguindo o delineamento Quadrado Latino de Williams (1949). Os avaliadores foram orientados a prová-las da esquerda para a direita. Cada avaliador degustou 5 amostras durante a sessão, em volume de 10 mL por tratamento. As amostras foram servidas em taças ISO 3591 (ISO, 1977) (taça transparente, lisa e composta por cristal com, no máximo, 9 % de chumbo, abertura de 4,6 cm, parte mais convexa com 6,5 cm e altura de 15 cm), para a realização da primeira etapa da análise sensorial (*Napping*) e para a segunda etapa (*Ultraflash Profiling*).

Tabela 17. Amostras de cachaça para avaliação sensorial: CanaMax (CX), CA-11, Fermento natural (FN) e marca comercial (COM)

Amostras	Código
CX	358
CA-11	429, 607
FN	173
COM	265

5.2.7. Análise estatística dos dados

Os resultados foram analisados mediante análise fatorial múltipla (AFM) (PAGÈS, 2005). Considerando-se as coordenadas x e y do mapa sensorial de cada avaliador como variáveis

ativas, foram plotadas elipses de confiança por *bootstrapping* paramétrico para avaliar a estabilidade das configurações das amostras (DEHLHOLM et al., 2012) utilizando o *script* fornecido por Dehlholm, Brockhoff e Bredie (2012). Juntamente à tabela de dados de coordenadas, foi inserida uma tabela de contingência, ou seja, uma tabela cujas colunas correspondem aos atributos citados pelos avaliadores para cada amostra, e o valor de cada um corresponde ao número de vezes que um dado atributo foi citado para uma dada amostra, o que corresponde a dados de frequência (DEHLHOLM et al., 2012). A tabela de contingência foi criada sobre os atributos cuja frequência mínima foram 3 % em relação à totalidade de atributos empregados na caracterização das amostras e que foram citados por, no mínimo, dois avaliadores durante a sessão. Para a criação da tabela de contingência os atributos citados pelos avaliadores foram analisados e agrupados de acordo com a “Roda Sensorial da Cachaça”, desenvolvida por BORTOLETTO (2016), e a categorização foi realizada por triangulação de investigador (DENZIN, 1978).

Para a análise de dados foi utilizado o software RStudio (R versão 3.4.3) e os pacotes FactoMineR (LÊ; JOSSE; HUSSON, 2008), SensoMineR (LÊ; HUSSON, 2008) e Rcmdr (FOX, 2017).

5.3. Resultados e discussão

5.3.1. Análises Químicas

As análises químicas das cachaças foram realizadas para caracterização quanto aos parâmetros especificados pela legislação brasileira, para efeito comparativo entre as bebidas produzidas e a amostra comercial, e também para verificação da influência da composição química nas características sensoriais. Na Tabela 18 apresentam-se os valores das concentrações de álcool etílico, congêneres voláteis e contaminantes nas cachaças analisadas.

Tabela 18. Teor alcoólico (% v/v), congêneres voláteis (mg / 100mL AA), metanol (mg / 100 mL AA), 1-butanol (mg / 100 mL AA) e 2-butanol e carbamato de etila (μg / L) nas quatro amostras de cachaças. CX = CanaMax; FN = Fermento natural; COM = Cachaça comercial

	CX	CA-11	FN	COM
Teor alcoólico	45,76	45,9	47,33	42,38
Acetaldeído	11,76	11,15	13,35	7,15
Acetato de Etila	13,09	26,78	26,21	45,89
1-propanol	20,94	30,31	16,13	43,49
Iso-butanol	38,18	70,58	56,65	20,75
Isoamílico	191,08	308,19	433,49	181,99
Ácido acético	61,66	29,84	39,58	89,59
Furfural	2,86	2,04	1,34	5,65
Álcoois Superiores	250,2	409,08	506,27	246,23
Coefficiente de Congêneres	339,57	478,9	586,75	394,51
Metanol	0,63	0,31	1,2	2,31
1-butanol	ND	ND	ND	0,53
2-butanol	ND	ND	ND	ND
Carbamato de etila	90,09	69,62	847,78	311,64

Na análise de teor alcoólico, a cachaça comercial (COM) apresentou o menor valor (42,38 % v/v), porém esse resultado não teve influência na posterior análise sensorial, pois todas as cachaças foram padronizadas a 40 % (v/v).

As concentrações dos álcoois superiores iso-butanol e isoamílico foram menores na COM e ficaram mais próximas das concentrações da cachaça CX. Os álcoois isoamílico e iso-butanol apresentaram as maiores concentrações nas cachaças CA-11 e FN e quando somados juntamente com o 1-propanol, excederam o limite estabelecido para a concentração de álcoois superiores. Quando em altas concentrações, esses dois compostos tem como característica sensorial, de acordo com BURDOCK (2002), o odor pungente e sabor repulsivo, sendo o iso-butanol menos acentuado que o isoamílico.

A concentração de acetaldeído foi a menor na cachaça COM, sendo pouco mais da metade da quantidade da amostra FN, que foi a bebida que apresentou a maior concentração desse composto. O acetaldeído tem um limiar de detecção muito baixo (27 a 380 ppb), possui odor pungente, sabor picante e sua presença tende a ser considerada um defeito em cachaças (ARAÚJO, 2010; JANZANTTI, 2004).

A amostra COM apresentou a maior concentração de acetato de etila, sendo esta três vezes maior do que a concentração na amostra CX, porém muito abaixo do limite de 200 mg / 100 mL de álcool anidro estabelecido pela legislação. A cachaça comercial também apresentou a maior concentração de ácido acético, composto indesejável na cachaça pois agrega aroma e sabor característicos de vinagre, e também altas concentrações do composto furfural e do contaminante

carbamato de etila (CE), ultrapassando os limites críticos estabelecidos pela legislação brasileira (BRASIL, 2005a; BRASIL, 2014) para esse dois compostos. A amostra produzida com FN também apresentou valores muito acima do limite permitido para o CE. A cachaça produzida a partir da fermentação com levedura CanaMax (CX) foi a que apresentou o menor coeficiente de congêneres (soma da acidez volátil, aldeídos, ésteres totais, furfural e álcoois superiores).

5.3.2. Avaliação Sensorial

Avaliações sensoriais foram realizadas para a determinação das principais características de qualidade relacionadas ao perfil químico e para verificação de possíveis diferenças sensoriais existentes entre as cachaças brancas obtidas a partir da destilação de vinhos fermentados com diferentes leveduras.

Duas amostras de cachaças, a produzida a partir de fermento natural (FN) e a de cachaça comercial (COM), apresentaram concentrações do contaminante carbamato de etila acima do limite de 210 $\mu\text{g} / \text{L}$ estabelecido pela legislação brasileira (Tabela 18). Porém, as concentrações de CE presentes nos 10 mL ingeridos de cada amostra durante a análise sensorial não ultrapassaram esse valor máximo permitido. Além disso, o carbamato de etila não apresenta influência sensorial nas bebidas. Odello et al., (2009) analisaram 20 cachaças comerciais (8 não envelhecidas e 12 envelhecidas) e desenvolveram um gerador hedônico a partir de testes descritivos quantitativos e qualitativos por um painel de especialistas treinados e testes de preferência global por consumidores. O gerador hedônico indicou que não houve correlação entre os teores de carbamato de etila, cobre e ferro com o nível hedônico das cachaças.

A anterior participação dos avaliadores nos cursos do LTQB auxiliou no levantamento de atributos durante a análise sensorial utilizando a metodologia *Ultraflash Profiling*. Foram obtidos mais de 100 termos pela equipe de avaliadores. Esses termos foram analisados e agrupados de acordo com a roda sensorial da cachaça, desenvolvida por BORTOLETTO (2016), em 20 termos finais (Tabela 19). Seguindo o que se recomenda em Symoneaux, Galmarini, & Mehinagic (2012), foram considerados para o restante das análises somente os atributos que aparecem nas descrições de pelo menos 3% dos provadores. Estes termos foram agrupados em 14 atributos. Os atributos selecionados foram: adocicado, floral, cana, frutado, herbáceo, aveludado, neutro, especiarias, alcoólico, picante, ácido, defeito, amargor.

Tabela 19. Atributos sensoriais levantados pela equipe de avaliadores.

Atributos sensoriais	Exemplos dos termos semelhantes que foram agrupados
Adocicado	Adocicado, aroma adocicado, doçura, melaço, doce, mascavo, aroma de doce de banana, rapadura, aroma de mel, amêndoas, aroma de coco, aroma de baunilha, sabor adocicado, sabor doce, gosto doce, dulçor, retrogosto adocicado, final doce
Floral	Floral, aroma floral, sabor floral, aroma de flores, rosas
Cana	Aroma de cana, cana-de-açúcar, aroma mais forte de cana, sabor cana-de-açúcar
Frutado	Aroma frutado, frutado, paladar frutado, aroma fruta madura, aroma frutas secas, compota de frutas, aroma de banana, cítrico, aroma de frutas cítricas
Herbáceo	Vegetal, aroma herbáceo, herbáceo, aroma de grama, aroma de plantas, madeira leve, amadeirado
Aveludado	Aveludada, sensação aveludada, sabor aveludado, paladar macio, macia
Neutro	Aroma neutro, retrogosto neutro, neutro, sabor neutro, pouco sabor, pouco persistente, aroma não marcante, características não marcantes
Especiarias	Canela, cravo, especiarias, aroma de anis, aroma de ervas, ervas, aroma leve especiarias, aroma condimento, anis, sabor de anis, cheiro verde
Alcoólico	Alcoólico, aroma alcoólico, sabor alcoólico, paladar final alcoólico, retrogosto de álcool, álcool
Picante	Picante, sabor picante, aroma picante, percepção de picância na língua, apimentado, leve pimenta preta, pimenta, aroma pimenta
Ácido	Sabor ácido, gosto ácido, paladar ácido, aroma ácido, acidez, ácida, aroma acético, acético, vinagre
Defeito	Aroma de cana estragada, cana queimada, azeitona, sulfuroso, milho, aroma metálico, aroma de plástico, aroma de borracha, vinhaça, aroma animalesco, aroma de impurezas, metálico, aguada, aroma de borracha queimada, produto de limpeza, aroma de sabão, aroma de repelente, aroma de cobre, químico, aroma químico, fenólico, cheiro industrial, esbranquiçada/ turva, fermento de pão, fermento, residual de fermento, acetona, aroma de acetona, sabor medicinal, medicinal, palha, defumado, álcool superior
Amargor	Amargo, sabor amargo

Os termos descritivos utilizados por esta equipe estão coerentes com alguns termos levantados, em estudos já publicados, a partir de análises sensoriais de cachaças recém-distiladas. Souza, Henrique e Clerici (2013) testaram sensorialmente 12 cachaças da região sudeste e constataram aroma “alcoólico” com leve percepção do sabor “adocicado”, “alcoólico” e “herbáceo” em todas as amostras. Duas das amostras testadas por eles apresentaram “sabor picante” e “retrogosto” e outras apresentaram atributos como “sabor seco”, “adstringente”, “ácido”, “suave”, “acentuado” e “encorpado”. Furtado (1995) utilizou a análise descritiva quantitativa (ADQ) para traçar o perfil sensorial de aguardentes recém-distiladas e os termos atribuídos durante suas análises foram, para aromas, “álcool”, “melado de cana”, “melaço de cana

fermentado”, “madeira”, “erva”, “frutas”, “compostos orgânicos”, “perfume” e, para sabores, “álcool”, “amargo”, “doce”, “madeira”, “erva”, “adstringente” e “encorpado”. Lima (1999) afirma que logo após a destilação, independentemente dos cuidados no processo e da configuração do aparelho, o líquido alcoólico apresenta sabor “picante”, “ardente”, “áspero”, “seco” e com aromas penetrantes, agradáveis ou não, variando em aromas fortemente alcoólicos e outros aromas característicos dos componentes secundários.

A Figura 52 apresenta o agrupamento das amostras, baseado nas similaridades e diferenças, e a Figura 53 apresenta o gráfico dos termos descritivos levantados pelos avaliadores, na primeira e segunda dimensão. O gráfico da análise multivariada explica 66,6 % da variância das 5 amostras de cachaça e as elipses possuem 95% de confiança.

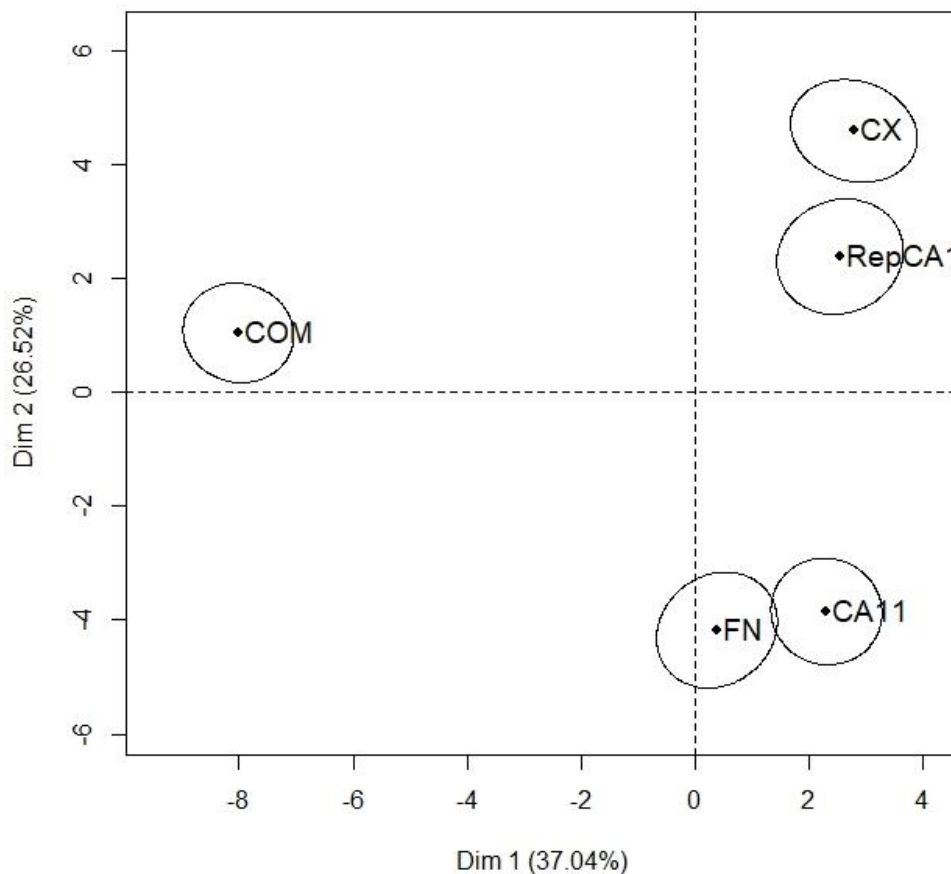


Figura 52. Representação gráfica por análise fatorial múltipla do posicionamento realizado pelos avaliadores nas dimensões 1 e 2. CX = CanaMax; CA-11 e RepCA11 = CA-11; FN = fermento natural; COM = cachaça comercial.

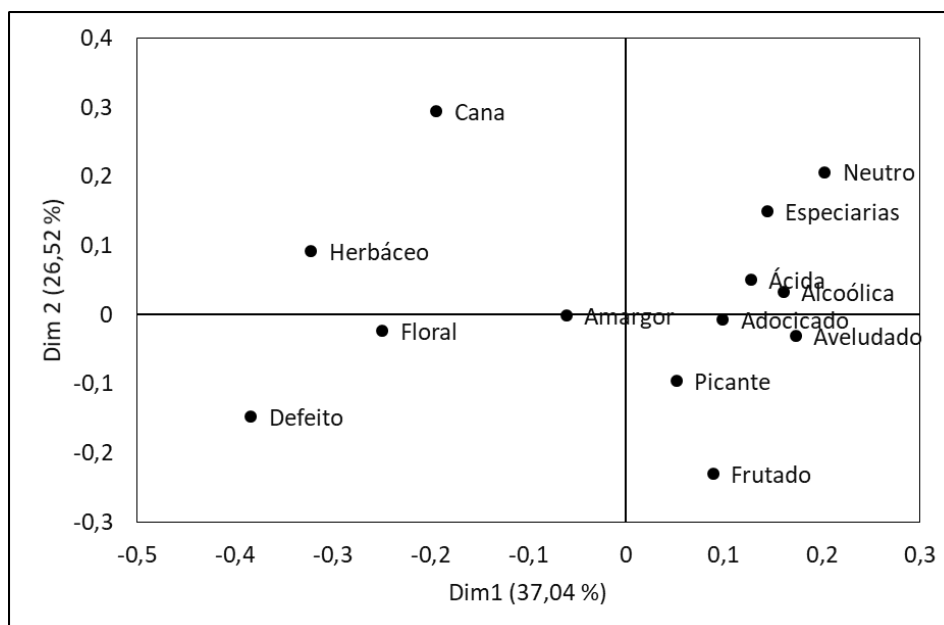


Figura 53. Representação gráfica por Análise Fatorial Múltipla dos atributos sensoriais levantados pelos avaliadores na primeira e segunda dimensões

Analisando as dimensões 1 e 2 (Figura 52) observa-se que as amostras de cachaças produzidas no presente trabalho encontram-se em lado oposto ao da cachaça comercial analisada, ou seja, foram consideradas diferentes pelos avaliadores, indicando que a CX, CA-11 e FN apresentam alguma semelhança entre si e evidenciando que há diferenças sensoriais perceptíveis quando comparadas com a cachaça COM. Observa-se também que os avaliadores não conseguiram identificar a amostra repetida entre as 5 testadas. A amostra CA-11 foi agrupada mais próxima da amostra FN, enquanto a repetição RepCA11 foi agrupada mais próxima da amostra CX. O fato de todas as bebidas estudadas serem parecidas (cachaças brancas monodestiladas) provavelmente fez com que a equipe não avaliasse consensualmente as duas amostras da mesma cachaça (CA-11 e RepCA11). Nas duas primeiras dimensões (Figura 53) as características atribuídas à cachaça comercial foram “herbáceo”, “floral” e “defeito”; as amostras de CA-11 foram caracterizadas como “frutado”, “picante”, “alcoólica”, “ácida” e “especiarias”; a FN foi caracterizada como “frutado e “picante”; e a CX como “neutro” e “especiarias”.

A Figura 54 apresenta o agrupamento das amostras nas dimensões 2 e 3 e a Figura 55 apresenta o gráfico dos atributos levantados pelos provadores. O gráfico da análise multivariada explica 47,1 % da variância das 5 amostras de cachaça.

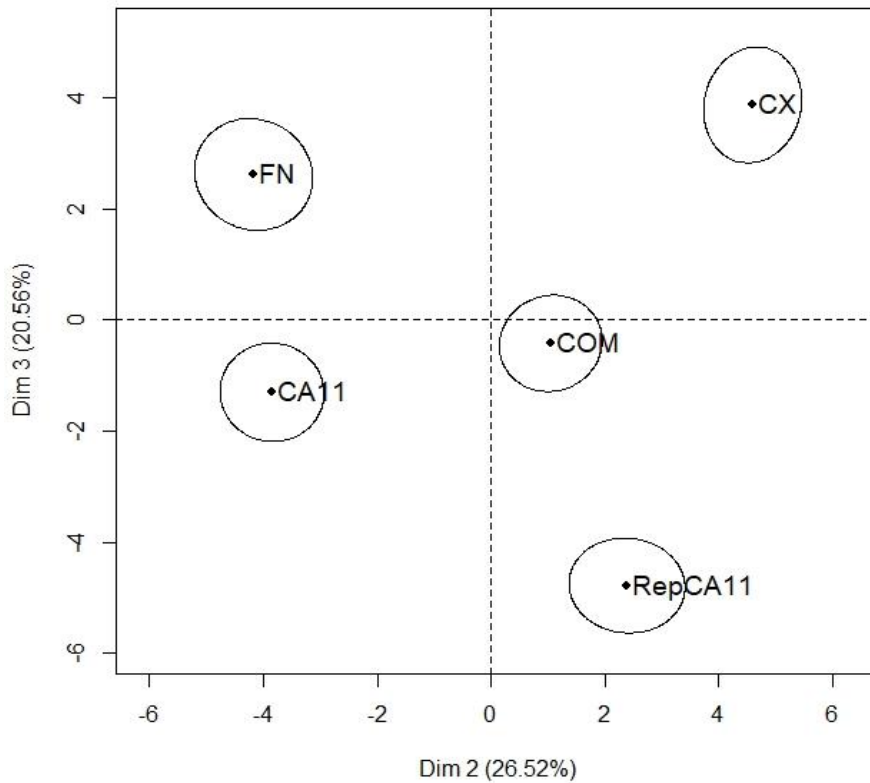


Figura 54. Representação gráfica por análise fatorial múltipla do posicionamento realizado pelos avaliadores, nas dimensões 2 e 3. CX = CanaMax; CA-11 e RepCA11 = CA-11; FN = fermento natural; COM = cachaça comercial.

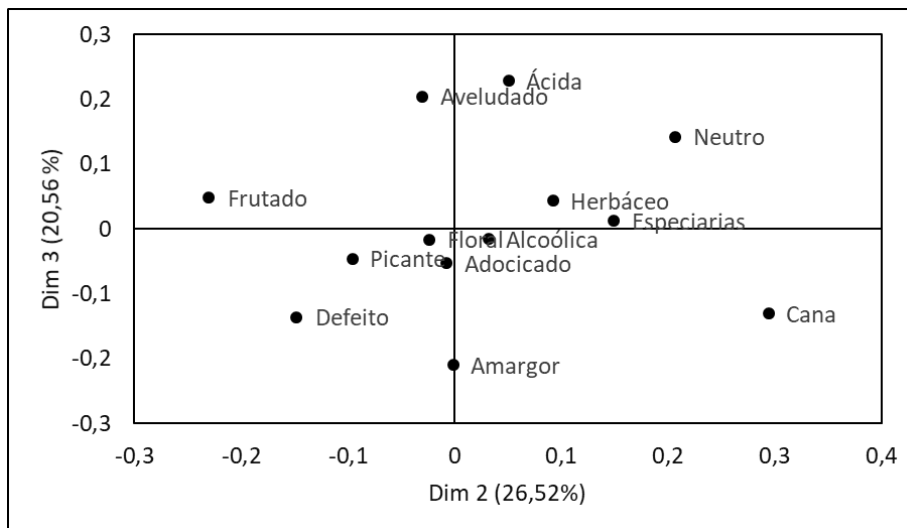


Figura 55. Representação gráfica por Análise Fatorial Múltipla dos atributos sensoriais levantados pelos avaliadores na segunda e terceira dimensões

Na representação da segunda e terceira dimensões (Figura 54) a amostra comercial continuou distante das 4 outras amostras e foi posicionada próximo ao centro do plano. Neste caso observa-se que os avaliadores posicionaram as amostras bem distantes umas das outras indicando diferenças entre todas elas. Os avaliadores não conseguiram identificar as amostras

repetidas. A equipe distinguiu as amostras avaliadas, mas não foi capaz de identificar os possíveis parâmetros relacionados a essas diferenças sensoriais. É possível observar, no entanto, que tanto nas dimensões 1 e 2 como nas dimensões 2 e 3 (Figuras 53 e 55), as características atribuídas à cachaça comercial (COM) foram “herbáceo” e “floral”, a amostra CA-11 foi caracterizada com o atributo “picante”, a FN foi caracterizada como “frutado” e à cachaça CX foi atribuída a característica “neutro”. A cachaça CX foi a que apresentou o menor coeficiente de congêneres (Tabela 18) e esse pode ter sido o motivo pelo qual ela foi relacionada ao atributo “neutro”, observado tanto na primeira e segunda dimensões, como na segunda e terceira dimensões. Quanto aos outros atributos, não é possível afirmar quais compostos químicos podem estar relacionados às características atribuídas às cachaças.

Apesar das cachaças brancas apresentarem menor variação de aromas quando comparadas com uma cachaça envelhecida, pois essas contêm componentes provenientes da matéria-prima, fermentação e destilação, de acordo com LOUW (2014), a complexidade e o alto teor alcoólico do produto provavelmente podem ser fatores que afetam o desempenho da equipe. O álcool etílico é o composto presente em altas concentrações nas bebidas destiladas, possui odor característico, gosto adocicado e provoca sensação de calor (BURDOCK, 2002). Observa-se que os atributos “alcoólica” e “adocicado” apresentam-se próximos na representação gráfica dos atributos nas dimensões 1 e 2 (Figura 53), em que estão mais relacionados às três cachaças produzidas no presente trabalho, e dimensões 2 e 3 (Figura 55), caracterizando a amostra de cachaça comercial. Esses resultados indicam que houve a percepção sensorial das características do álcool etílico, pelos avaliadores, em todas as amostras analisadas.

5.4. Considerações finais

No uso da metodologia *Ultraflash Profiling* a equipe de avaliadores levantou atributos coerentes e já utilizados para a caracterização de amostras de cachaças brancas. A metodologia *Napping* revelou que a equipe não foi capaz de distinguir as amostras repetidas e não conseguiu identificar os possíveis parâmetros relacionados às diferenças sensoriais entre todas as cachaças estudadas. Houve a percepção sensorial das características do álcool etílico, pelos avaliadores, em todas as amostras analisadas.

Referências

- ALBERT, A.; VARELA, P.; SALVADOR, A.; HOUGH, G.; FISZMAN, S. Overcoming the issues in the sensory description of hot served food with a complex texture. Application of QDA, flash profiling and projective mapping using panels with different degrees of training. **Food Quality and Preference** v. 22, p. 463-473, 2011.
- ALCARDE, A. R. **Cachaça: ciência, tecnologia e arte**. São Paulo: Edgard Blücher, 2014. 96 p.
- ALCARDE, A. R.; MONTEIRO, B. M. S.; BELLUCO, A. E. S. Chemical composition of sugar cane spirits fermented by different *Saccharomyces cerevisiae* yeast strains. **Quimica Nova**, 35 (8), 1612–1618, 2012.
- ALCARDE, A. R.; SOUZA, L. M.; BORTOLETTO, A. M. (2012). Ethyl carbamate kinetics in double distillation of sugar cane spirit. Part 2: Influence of type of pot still. **Journal of the Institute of Brewing**, 118 (4), 2012.
- ARAÚJO, L. D. **Análise sensorial descritiva de cachaça: proposta de um protocolo preliminar para avaliação da qualidade da bebida**. 2010. 136 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2010.
- BURDOCK, G.A. Fenaroli's handbook of flavor ingredients. 4ª edição. Boca Raton: CRC Press, 2002. 1831 p., ISBN 0-8493-0946-8.
- 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.
- BORTOLETTO, A. M. **Influência da madeira na qualidade química e sensorial da aguardente de cana envelhecida**. Tese (doutorado), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. 321 p., 2016.
- 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.
- _____. Instrução normativa nº 28, de 8 de agosto de 2014. Altera o subitem 5.1.2. do Anexo da Instrução Normativa nº 13, de 29 de junho de 2005. **Diário Oficial da União**, Brasília, 11 ago. 2014, Seção I, Brasília, 2014.
- CALDAS, C. **Novo manual para laboratórios sucroalcooleiros**. Piracicaba: Sociedade dos Técnicos Açucareiros e Alcooleiros do Brasil, 2012. 744 p.
- CALDAS, C. **Manual de análises selecionadas para indústrias sucroalcooleiras**. Maceió: Sindicato da Indústria do Açúcar e do Alcool no Estado de Alagoas, 1998. 422p.

- CARDELLO, H. M. A. B.; FARIA, J. B. Análise descritiva quantitativa de aguardentes de cana durante o envelhecimento em tonel de carvalho (*Quercus alba* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 18, n. 2, p. 169-175, 1998.
- 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.
- DEHLHOLM, C.; BROCKHOFF, P. B.; MEINERT, L.; AASLYNG, M. D.; BREDIE, W. L. P. Rapid descriptive sensory methods - comparison of free multiple sorting, partial napping, napping, flash profiling and conventional profiling. **Food Quality and Preference**, vol. 26, p. 267-277, 2012.
- DEHLHOLM, C.; BROCKHOFF, P. B.; BREDIE, W. L. P. Confidence ellipses: A variation based on parametric bootstrapping applicable on Multiple Factor Analysis results for rapid graphical evaluation. **Food Quality and Preference**, 26(2), 278–280, 2012.
- DENZIN, N. K. *The Research Act: A Theoretical Introduction to Sociological Methods*. 2 ed. McGraw-Hill, New York, 1978, 370 p.
- FOX, J. **Using the R Commander: A Point-and-Click Interface for R**. Boca Raton FL: Chapman and Hall/CRC Press, 2017.
- FURTADO, S. M. B. **Avaliação sensorial descritiva de aguardente de cana (*Saccharum officinarum*, L.): Influência da composição em suas características sensoriais e correlação entre as medidas sensoriais e físico-químicas**. 99p. Doutorado. Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade de Campinas (UNICAMP), Campinas, 1995.
- ISO. **Sensory analysis – apparatus - Wine-tasting glass**. ISO Standard 3591, Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization, 1977.
- ISO. **Sensory analysis - General guidance for the design of test rooms**. ISO Standard 8589, Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization, 2007.
- 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.
- LÊ, S., JOSSE, J.; HUSSON, F. FactoMineR: An R Package for Multivariate Analysis. **Journal of Statistical Software**, vol. 25, n. 1, p. 1-18, 2008.
- LÊ, S.; HUSSON, F. SensoMineR: A Package for Sensory Data Analysis. **Journal of Sensory Studies**, vol. 23, n. 1, p. 14-25, 2008.
- LIMA, U. A. *Aguardente: fabricação em pequenas destilarias*. Piracicaba: FEALQ, 1999. 187 p.

- LOUW, L.; OELOFSE, S.; NAES, T.; LAMBRECHTS, M.; VAN RENSBURG, P.; NIEUWOUDT, H. Optimization of the partial napping approach for the successful capturing of mouthfeel differentiation between brandy products. **Food Quality and Preference**, v. 41, p. 245-253, 2015.
- LOUW, L. **Sensory Analysis of brandy: The application of rapid profiling methodologies**. Dissertation. Agricultural Sciences. Stellenbosch University. 131 p., 2014.
- MAÇATELLI, M. **Determinação do perfil sensorial de amostras comerciais de cachaça**. 2006. 126 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2006.
- MAGNANI, B. D. **Estudo Comparativo das Características Sensoriais do Rum e da Cachaça**. 2009. 105p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2009.
- MARCELLINI, P. S. **Análise descritiva quantitativa de aguardente de cana (*Saccharum spp*) comerciais e destilados em alambiques de cobre e aço inoxidável**. 2000. 77 p. Tese (Mestre em Alimentos e Nutrição) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade Estadual de São Paulo. Araraquara. 2000.
- MONTELEONE. Sensory methods for product development and their application in the alcoholic beverage industry. In: PIGGOT, J. **Alcoholic beverages: Sensory evaluation and consumer research**. Woodhead Publishing, Oxforde: UK, Cambridge: UK, Philadelphia: USA, New Dehli: India. cap. 4, p. 66-100, 2012.
- MORAES, J. S. **Estudo comparativo das características sensoriais do rum e da cachaça**. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, Araraquara-SP, 2004.
- ODELLO, L.; BRACESCHI, G. P.; SEIXAS, F. R. F.; DA SILVA, A. A.; GALINARO, C. A.; FRANCO, D. W. Avaliação Sensorial de Cachaça. **Química Nova**, v. 32, p. 1839-1844, 2009.
- OLIVER, P.; CICERALE, S.; PANG, E.; KEAST, R. Comparison of Quantitative Descriptive Analysis to the Napping methodology with and without product training. **Journal of Sensory Studies**. p. 1-11, 2018.
- O’SULLIVAN M. G. **A Handbook for Sensory and Consumer-Driven New Product Development**. Innovative Technologies for the Food and Beverage Industry. Elsevier: woodhead publishing. 348 p. 2017.

- PAGÈS, J. Collection and analysis of perceived product inter-distances using multiple factor analysis: Application to the study of 10 white wines from the Loire Valley. **Food Quality and Preference**, v.16(7), 2005.
- PERRIN, L., SYMONEAUX, P., MATTRE, I., ASSELIN, C., JOURJON, F., & PAGÈS, J. Comparison of three sensory methods for use with the Napping® procedure: Case of ten wines from Loire valley. **Food Quality and Preference**, v. 19, p. 1-11, 2008.
- PERRIN, L.; PAGÈS, J. Construction of a product space from the ultra-flash profiling method: application to 10 red wines from the Loire Valley. **Journal of sensory Studies** 24, 372-395, 2009.
- 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.
- PORTUGAL, C. B; SILVA, A. P.; BORTOLETTO, A. M; ALCARDE, A. R. How native yeasts may influence the chemical profile of the Brazilian spirit, cachaça? **Food Research International**, Barking, Elsevier BV, v. 91, p. 18-25, 2017.
- REINBACH, H. C.; GIACALONE, D.; MACHADO RIBEIRO, L.; BREDIE, W. L. P.; FROST, M. B. Comparison of three sensory profiling methods based on consumer perception: CATA, CATA with intensity and Napping. **Food Quality and Preference** v. 32, p.160-166, 2014.
- RISVIK, E.; MCEWAN, J. A.; COLWILL, J. S.; ROGERS, R.; LYON, D. H. Projective mapping: a tool for sensory analysis and consumer research. **Food Quality and Preference**, 5, 263-269, 1994.
- ROTA, M. B. **Estudo comparativo entre cachaça de alambique e cachaça bidestilada envelhecidas em tonéis de carvalho**. 2012, 106p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2012.
- ROTA, M. B.; PIGGOTT, J. R.; FARIA, J. B. Sensory profile and acceptability of traditional and double distilled cachaça aged in oak casks. **Journal of the Institute of Brewing**, London, v. 119, p. 251-257, 2013.
- SERAFIM, F. A. T., & FRANCO, D. W. Chemical traceability of industrial and natural yeasts used in the production of Brazilian sugarcane spirits. **Journal of Food Composition and Analysis**, 38,98–105, 2015.

- SOUZA, M. D. C. A. **Identificação, quantificação e comparação das substâncias químicas responsáveis pelos aromas da cachaça de alambique e do rum comercial tratados pelo processo de irradiação.** 2006. 137p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia Nuclear) – Instituto de pesquisas energéticas e nucleares (IPEN). Autarquia associada à Universidade de São Paulo, 2006.
- SOUZA, A. P., VICENTE, M. A., KLEIN, R. C., FIETTO, L. G., COUTRIM, M. X., CÁSSIA FRANCO AFONSO, R. J., ARAÚJO, L. D., SILVA, P. H., BOUILLET, L. E., CASTRO, I. M., BRANDÃO, R. L. Strategies to select yeast starters cultures for production of flavor compounds in cachaça fermentations. **Antonie Van Leeuwenhoek**, 101(2), 379–392, 2012.
- SOUZA, R. A.; HENRIQUE, R. S.; CLERICI, M. T. P. S. Perfil sensorial de cachaças industriais produzidas no sudeste do Brasil safra 2008/2009. **Revista Agrotecnologia**, Anápolis, v. 4, n. 1, p. 97 - 108, 2013.
- STONE, H.; SIDEL, J. **Sensory evaluation practices.** 3 ed. New York: Academic Press, 2004. 408p.
- SYMONEAUX, R., GALMARINI, M.V., & MEHINAGIC, E. Comment analysis of consumer's likes and dislikes as an alternative tool to preference mapping. A case study on apples. **Food Quality and Preference**, v. 24, p.59–66, 2012.
- WILLIAMS, E.J. Experimental designs for the estimation of residual effects of treatments. **Australian Journal Scientific Research**. Ser. A. v.2, p.149-168, 1949.
- YOKOTA, S.R.C. **Avaliação sensorial descritiva de cachaça envelhecida por 18 a 24 meses: contribuição para um protocolo de qualidade da bebida.** 2005. 104p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2005.
- YOKOTA, S.R.C. **Qualidade sensorial e físico-química de cachaças envelhecidas em recipientes de carvalho e de algumas madeiras brasileiras.** 2002. 121p. Dissertação (Mestrado Ciência de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2002.

APÊNDICES

APÊNDICE A. Questionário elaborado para produtores de cachaça

1. Nome da Cachaça?
2. Razão Social do Estabelecimento?
3. Localização (Cidade/Estado)?
4. Produção anual em litros?
5. Quais tipos de Cachaça comercializa?
- Branca/ Armazenada/ Envelhecida (Caixas de seleção)
6. Produz também para exportação?
- Sim/ Não (Múltipla escolha)
7. Se "SIM" para pergunta anterior, quais são os países?
8. Faz tratamento térmico do caldo de cana-de-açúcar?
- Sim/ Não (Múltipla escolha)
9. Qual o ° Brix do caldo pronto para fermentação?
10. Qual o material da dorna de fermentação?
11. Qual o tipo de fermento utilizado?
- Caipira/ Seleccionado/ Misto/ Outros (Caixas de seleção)
12. De acordo com a resposta anterior: Se é "CAIPIRA", como é preparado o pé de cuba e quanto tempo leva até a inoculação? Se é "SELECIONADO", qual é o fermento (cepas de leveduras)? Se é "MISTO", qual é a mistura?
13. Adiciona alguma substância durante a fermentação?
- Sim/ Não (Múltipla escolha)
14. Se "Sim" para a resposta anterior, qual é a substância?
15. Faz reciclo de fermento? (Utiliza o mesmo pé de cuba mais de uma vez)
- Sim/ Não (Múltipla escolha)
16. Se "Sim" para a resposta anterior, quantas fermentações você faz com o mesmo fermento?
17. Controla a temperatura do processo de fermentação?
- Sim/ Não (Múltipla escolha)
18. Se "Sim" para a resposta anterior, a qual temperatura a fermentação é conduzida?
19. Faz alguma análise do mosto durante o processo de fermentação?
- Sim/ Não (Múltipla escolha)
20. Se "Sim" para a resposta anterior, qual é a análise realizada?
21. Qual o tempo médio (horas) da fermentação?

22. Qual o tipo (coluna, alambique) e material (cobre, inox, etc.) do aparelho destilador?

23. Tipo de destilação?

- Monodestilada/ Bidestilada/ Multidestilada (Caixas de Seleção)

APÊNDICE B. Respostas dos produtores**Influência dos tipos de fermentos na produção de Cachaças e aguardentes**

Essa pesquisa tem por objetivo levantar dados a nível nacional sobre diferentes fermentos utilizados e alguns parâmetros da produção de cachaças e aguardentes de cana-de-açúcar.

Esse questionário foi elaborado EXCLUSIVAMENTE para produtores de cachaças e aguardentes. Fica garantido o sigilo de dados confidenciais ou que, de algum modo, possam provocar constrangimentos ou prejuízos ao voluntário. Os dados serão publicados e apresentados em reuniões científicas sem identificação dos voluntários.

Agradecemos sua participação!

Produtor	3. Localização (Cidade/Estado)	4. Produção anual em litros	5. Quais tipos de Cachaça comercializa?	6. Produz também para exportação?	7. Se "SIM" para pergunta anterior, quais são os países?
1	Laranjal Paulista/SP	600	Armazenada	Não	
2	Taquaraçu de Minas/MG	20000	Branca, Armazenada	Não	
3	Quadra/SP	5000	Branca, Armazenada, Envelhecida	Não	
4	Alhandra /PB	100000	Branca, Armazenada, Envelhecida	Não	
5	Alvinópolis/MG	20.000	Branca, Armazenada, Envelhecida	Sim	Portugal
6	Rio das Flores/RJ	15000	Branca, Armazenada, Envelhecida	Não	
7	Torre de Pedra - SP	20000	Branca, Envelhecida	Sim	China, Taiwan e Portugal
8	São Paulo/SP	3000	Branca, Armazenada	Não	
9	Pitangui/ MG	50.000	Branca, Armazenada, Envelhecida	Não	
10	Turvolândia MG	30.000	Branca, Envelhecida, Aguardente	Não	
11	Acrelândia/AC	120.000	Branca	Sim	Peru e Bolívia.
12	Passagem Franca/MA	60000	Branca, Armazenada	Não	
13	Salinas /MG	1.800.000	Branca, Armazenada, Envelhecida	Sim	EUA , JAPÃO, ALEMANHA e AUSTRÁLIA
14	Jandaia do Sul/PR	50000	Branca, Armazenada, Envelhecida	Sim	Portugal
15	Dracena/SP	25.000	Branca, Armazenada, Envelhecida	Não	
16	Betim/MG	180.000	Branca, Envelhecida	Sim	França, China, Alemanha, EUA
17	Santo Antonio do Jardim/SP	7000	Branca, Envelhecida	Sim	França, que distribui para toda europa
18	Cerquillo / SP	30000	Branca, Armazenada, Envelhecida	Não	
19	Formosa/GO	30.000	Branca, Envelhecida	Não	
20	Sobrado/PB	10.000	Branca, Armazenada, Envelhecida	Não	
21	Campo Alegre de Goiás/GO	100.000	Armazenada, Envelhecida	Não	
22	Conceição da Barra/ES	80.000	Branca, Armazenada	Não	
23	Chã Grande/PE	23.000	Branca, Armazenada	Sim	Luxemburgo
24	Piracicaba/SP	100	Branca, Armazenada, Envelhecida	Não	
25	Pirassununga/SP	20000	Branca, Envelhecida, Extra Premium	Sim	Holanda, Belgica, Luxemburgo, Inglaterra, Escocia , Austria, Italia
26	Aparecida/PB	25000	Branca, Armazenada	Não	
27	Passa Quatro /MG	20.000	Armazenada	Não	
28	SÃO SEBASTIÃO/AL	40.000	Branca, Armazenada	Sim	LUXEMBURGO, ESTADOS UNIDOS
29	Linhares / ES	30000	Branca, Armazenada, Envelhecida	Sim	Alemanha
30	Distrito Santiago do Norte/MT	50.000	Branca, Armazenada, Envelhecida	Não	
31	Aracruz/ES	30000	Branca, Armazenada	Não	
32	Itirapuã/SP	35000	Armazenada, Envelhecida, Solera	Sim	EUA e Europa
33	Amparo/SP	10000	Armazenada, Envelhecida	Não	
34	São Luiz do Paraitinga/SP	78000	Armazenada, Envelhecida	Não	

35	Jussiape/BA	20000	Branca, Armazenada	Não	
36	Monte Alegre do Sul/SP	6000	Armazenada, Envelhecida	Não	
37	Paraíso/SC	100000	Branca, Armazenada, Envelhecida	Não	
38	Ribeirão Preto/SP	0	Branca, Armazenada, Envelhecida	Sim	Reino Unido, Alemanha e Taiwan
39	Bahia/BA	2000000	Branca, Armazenada	Sim	Alguns países da Europa como Alemanha, Itália e outros
40	Campos dos Goytacazes/RJ	25000	Branca, Armazenada, Envelhecida	Sim	
41	SALTINHO/SP	1.000	Branca, Armazenada	Não	
42	Siqueira Campos /PR	5.000	Branca, Armazenada	Não	

Produtor	8. Faz tratamento térmico do caldo de cana-de-açúcar?	9. Qual o ° Brix do caldo pronto para fermentação?	10. Qual o material da dorna de fermentação?	11. Qual o tipo de fermento utilizado?
1	Não	15 a 16	Bombona alumínio plastica	Caipira
2	Sim	16	inox	Selecionado
3	Sim	16	Inox	Selecionado
4	Não	16	Inox	Selecionado
5	Não	15	Inox	Caipira
6	Não	15	inox	Caipira, Selecionado
7	Não	15	Inox	Selecionado
8	Não	15	Inox	Selecionado
9	Não	25	Inox	Selecionado
10	Sim	15	Inox	Selecionado
11	Sim	14	Inox	Fermento Biológico para pães
12	Não	15	Inox	Caipira
13	Não	15	Inox	Caipira
14	Não	12	Inox	Misto
15	Não	15	Inox	Selecionado
16	Não	15	Inox	Caipira
17	Não	16	inox	Caipira
18	Não	16	Inox	Caipira, Selecionado
19	Não	15	Inox	Caipira
20	Não	16	Aço Carbono	Selecionado
21	Não	15-16	Inox	Caipira, Selecionado
22	Não	12	Inox	Misto
23	Não	12	inox	Caipira
24	Não	20	Inox	Caipira, Selecionado, Misto
25	Sim	15	inox	Selecionado
26	Não	15	Inox	Selecionado
27	Não	15	Inox	Caipira
28	Não	15	INOX	Caipira
29	Não	15	Inox	Selecionado
30	Não	15	inox	Selecionado
31	Não	15	inox	Selecionado
32	Não	15	Polipropileno alimentício	Caipira
33	Não	15	aço carbono	Selecionado
34	Não	16	Inox	Caipira
35	Não	14	Inox	Caipira
36	Não	19 a 22	polietileno	Caipira
37	Não	15	Inox	Selecionado
38	Não	0	Inox	Caipira, Selecionado
39	Não	15	Inox	Misto
40	Não	16	Inox	Caipira
41	Não	17	Material plástico PEAD	Caipira
42	Não	14	inox	Selecionado

Produtor	12. De acordo com a resposta anterior: Se é "CAIPIRA", como é preparado o pé de cuba e quanto tempo leva até a inoculação? Se é "SELECIONADO", qual é o fermento (cepas de leveduras)? Se é "MISTO", qual é a mistura?
1	Como cepas o o cepas forró o fundo da forma com os nos e de acordo com o volume faço uma proporção rque define a adição do morpelo tempo determinado para fermentação entre 17 a 24h mas o brix final que determinará se corto e alambico ou postergo um pouco mais
2	Certos de levedura ca 11
3	Fermento selecionado - saccharomyces cerevisiae
4	Levedura J18 E. J 1
5	À base de fubá de milho, leva cerca de 10 a 12 dias para atingir o volume do pé de cuba. Alambique de 600 litros.
6	O preparo normal puro caldo de cana, leva em média 8 dias para ficar pronto e o selecionado é o CA11
7	CA 11
8	CA 11
9	CA 11
10	Levedura selecionada mais ativa do próprio canavial
11	É "Outro".
12	Água + caldo 20 dias aproximadamente
13	Levedura Selvagem , 6 dias pra fica pronto
14	Início com leveduras fleschman
15	Ca11
16	Caldo de Cana e fubá e farelo de arroz, 10 dias
17	Pé de cuba = 30kg de fuba de milho (hibrido) quebrado e não em pó + 3kg de farelo de arroz, para uma dorna de 600 lts. O pé de cuba leva, em média (depende da temperatura) 6 dias.
18	Eu utilizo o fermento caipira, apenas milho torrado e moído, do início ao término do pé de Cuba, dura sem média 30 dias..... tbm utilizo o CA-11 Mas isso em dornas separadas
19	8 /10 Dias
20	Blend de levedura nordestina (Fermenta Olinda)
21	O caipira leva até 10 dias para completar a dorna de 1250 litros.
22	Selecionada + selvagem
23	Fubá de milho orgânico, 15 dias
24	Utilizamos todos os tipos desde o fermento prensado de padaria, passando pelo produzido pelo metodo da canjica ate fermentos de cervejaria
25	CA11 para iniciar
26	CA-11
27	Apenas Caldo de Cana e Agua, 6 a 8 dias para preparação
28	FAZENDO A DILUIÇÃO DO CALDO EM UMA FORMULA DE 7 DIAS ATE O FERMENTO FICAR PRONTO...ALIMENTANDO ESTE CALDO DIA A DIA COM UM BRUX QUE DE 5 ATÉ CHEGAR 12. INICIA COM UMA MISTURA DE FUBA DE MILHO.
29	CA11
30	CA11
31	não e caipira e selecionado da própria cana ,trabalho com o prof Rogelio ,30dias de propagação da levedura
32	Misturo fubá de milho, farelo de arroz, extrato de soja e bolacha de Maizena embebido em caldo de cana a 10 brix, deixo descansar por dois dias e depois adiciono a isca que fica guardada do ano anterior.
33	Por 7 dias, adiciono caldo de cana em doses crescentes de brix e mantenho as dornas com aerador para ajudar na multiplicação das leveduras.
34	CA11
34	Fubá de milho natural, limão e caldo de cana com 5º de brix, leva 72 horas.

35	Caldo de cana e água e leva de 8 a 10 dias
36	O pé de cuba é preparado com milho crioulo moido. Leva de 12 à 15 dias para termos o pé de cuba
37	Sacharomices Cerevisiae
38	Propagação com quirela de milho e caldo de cana
39	Misto com massa de milho ou até mesmo massa de mandioca lavada, ou até mesmo o caldo puro da cana
40	Começo com 1kg fubá um litro de caldo e o caldo de três limões galegos grandes , vou dobrando está proporção até atingir uns 800 litros. Depois divido entre as 4 dor nas que tenho.depoi e só completar com caldo.
41	COLOCA O MILHO TRITURADO COM GARAPA DURANTE 7 DIAS VAI TRATANDO ELE COM GARAPA ATÉ O 7 DIA QUE FOI A PRIMEIRA DESTILAÇÃO
42	CA-11

Produtor	13. Adiciona alguma substância durante a fermentação?	14. Se "Sim" para a resposta anterior, qual é a substância?	15. Faz reciclo de fermento? (Utiliza o mesmo pé de cuba mais de uma vez)	16. Se "Sim" para a resposta anterior, quantas fermentações você faz com o mesmo fermento?
1	Não		Sim	2
2	Não		Sim	5
3	Sim	Antiespumante	Sim	Não sabemos um número exato
4	Não		Sim	Até o tempo de fermentação não passar de 30hs
5	Não		Sim	Período de 45 a 50 dias é feito um reforço. Eventualmente, dependendo dos resultados mais recentes, é descartado.
6	Não		Sim	De 10 a 15 dependendo da acidez
7	Não		Sim	Toda semana lavamos o fermento.
8	Não		Sim	30
9	Não		Sim	Depende
10	Não		Sim	Trinta a quarenta e cinco
11	Não		Sim	20
12	Não		Sim	Depende muito da área onde a cana e coletada, região de brejo ou do auto
13	Não		Sim	25
14	Não		Sim	Utilizo o mesmo fermento a safra toda
15	Sim	Nutrientes	Sim	Em torno de 30
16	Não		Não	
17	Não		Não	
18	Não		Sim	Trabalho em média 60 - 70 dias... fazendo a lavagem a cada 15 dias
19	Não		Sim	Até ficar comprometido 40/60 dias
20	Não		Sim	De acordo com a acidez
21	Sim	Milho quebrado e tostado.	Sim	Até perceber declínio na atividade. Oque é raro.
22	Sim	Fubá, nutriente vitahope e lactostab (inibidor de bacteria natural a base de lupulo)	Sim	30
23	Não		Sim	45
24	Não		Não	
25	Não		Sim	Quantas estiverem com qualidade
26	Não		Sim	10
27	Não		Sim	Safra inteira, lavagem semanal, adição de própolis a cada 15 dias
28	Não		Não	
29	Não		Sim	15
30	Não		Não	
31	Não		Sim	depende de alguns fatores
32	Não		Sim	Uso durante a safra toda
33	Não		Sim	É utilizado o mesmo durante todo o processo
34	Não		Sim	é utilizado durante 12 meses.

35	Não		Sim	15
36	Não		Sim	Em torno de 8 s 10 vezes
37	Sim	Nutriente	Sim	Quantas forem possíveis, desde que a qualidade do produto final estiver conforme. Qualquer alteração sofrida, o fermento é descartado e outro é introduzido.
38	Não		Sim	Durante a temporada toda
39	Não		Sim	Muitas durante toda a safra se o mesmo não sofrer infestação de bactérias
40	Não		Sim	Renovo o fermento a cada 2 a 3 meses
41	Não		Sim	Depende do fermento, as vezes com a variacao de temperatura ele pode morrer. Se correr tudo bem, geralmente dura 1 mes o mesmo fermento
42	Sim	Fermemplus	Sim	25

Produtor	17. Controla a temperatura do processo de fermentação?	18. Se "Sim" para a resposta anterior, a qual temperatura a fermentação é conduzida?	19. Faz alguma análise do mosto durante o processo de fermentação?	20. Se "Sim" para a resposta anterior, qual é a análise realizada?
1	Não		Não	
2	Não		Não	
3	Não		Não	
4	Sim	36 °C	Não	
5	Não	Acompanhamos e sabemos que com temperatura ambiente abaixo de 15°, cai a produtividade.	Não	Apenas visual.
6	Sim	25 a 30 °C	Não	
7	Não		Sim	PH
8	Sim	28 °C	Não	
9	Sim	28 a 32 °C		
10	Sim	30 a 38 C	Não	
11	Sim	32 °C	Não	
12	Não		Sim	Acidez
13	Sim	30 a 31 °C	Sim	PH , Acidez e controle de Brix
14	Sim	30 °C	Sim	Brix e controle de temperatura
15	Sim	28 a 32 °C	Sim	Quantidade de açúcar e acidez
16	Sim	32 °C	Sim	PH, acidez, Brix e alcool
17	Sim	28 °C	Não	
18	Não		Sim	Apenas o brix
19	Sim	28 a 30 ° C	Sim	Teste de acidez
20	Sim	34 °C	Não	
21	Sim	28 a 36 °C	Sim	Acidez
22	Não		Não	
23	Sim	28 °C	Sim	ph
24	Não		Sim	Brix, ART, PH e quando necessario outras mais complexas
25	Não		Sim	Análise Visual constante e sensorial
26	Sim	28 a 30 °C	Sim	Acidez
27	Não		Não	
28	Sim	22 a 25 °C	Não	
29	Sim	28-32	Não	
30	Sim	28 a 33	Sim	visual
31	Não		Sim	acidez
32	Sim	28 a 35°C	Não	
33	Não		Não	
34	Sim	25 a 30 °C	Não	
35	Sim	26 a 28 °C	Sim	PH
36	Sim	24°C a 28°C	Não	
37	Sim	30 a 33°C	Não	
38	Não		Não	
39	Sim	28 a 32 °C	Sim	Sempre fazer análise do pH
40	Sim	22 °C	Sim	Acidez

41	Não		Sim	No olhar sabe-se se esta indo tudo bem. Coleta-se uma pequena amostra e experimenta para ver se esta com paladar característico e aroma de refrigerante. E apos a destilação experimenta para ver se esta de qualidade
42	Sim	25 °C	Não	

Produtor	21. Qual o tempo médio (horas) da fermentação?	22. Qual o tipo (coluna, alambique) e material (cobre, inox, etc.) do aparelho destilador?	23. Tipo de destilação?
1	17 a 24	Alambiques inox e condensadorve resfriador de cobre	Monodestilada
2	24	Alambique de cobre	Monodestilada
3	24 a 30	Alambique de cobre	Monodestilada
4	28	Alambique cobre	Monodestilada
5	20 a 28	Alambique de cobre	Monodestilada
6	24	Alambique de cobre	Monodestilada
7	18 horas	Alambique de cobre	Monodestilada
8	18 a 20	Coluna/deflaguimador	Monodestilada
9	16 a 24	Alambique de Cobre	Monodestilada
10	20	Alambique de cobre	Monodestilada , Bidestilada
11	18	Coluna Inox com condensador de cobre.	Multidestilada
12	12	Alambique de cobre	Monodestilada
13	18	Alambique de Cobre	Monodestilada
14	30	Coluna de cobre	Monodestilada
15	12 a 14	Alambique de cobre	Monodestilada
16	20	Alambique de cobre	Monodestilada
17	24 a 30	Alambique de cobre	Monodestilada
18	24	Alambique de cobre	Monodestilada
19	24/36	Alambique de cobre	Monodestilada
20	24	Alambique Cobre	Monodestilada
21	18	3 corpos de cobre	Monodestilada
22	20	Alambique de cobre	Monodestilada
23	23	Alambique de cobre	Monodestilada
24	24 a 36	Alambique de cobre e destilador de 3 corpos	Monodestilada , Bidestilada
25	36	alambique cobre	Monodestilada , Bidestilada
26	24 a 30	Alambique de Cobre	Monodestilada
27	24	Alambique de Cobre	Monodestilada
28	26	Alambique de cobre	Monodestilada
29	24	alambique de cobre	Monodestilada
30	18 a 24	alambique de cobre	Monodestilada
31	18 e 24	Alambique de cobre	Monodestilada
32	18 a 24	Alambique de cobre	Monodestilada
33	30	Alambique de cobre	Monodestilada
34	18 a 24	Alambique, cobre.	Monodestilada
35	24 a 28	Alambique de cobre	Monodestilada
36	20 a 30	Alambique de cobre	Monodestilada
37	30	Alambique de cobre	Monodestilada , Bidestilada
38	48	Colona com cobre	Monodestilada , Multidestilada
39	18 a 32	Alambique de cobre	Monodestilada
40	20	Alambique Cobre	Monodestilada

41	22 a 24	Alambique de inox	Monodestilada
42	28	Alambique de cobre	Monodestilada

ANEXOS

ANEXO A. Ficha de informações pessoais

INFORMAÇÕES PESSOAIS

Nome: _____

Data de Nascimento: _____

Gênero: () F () M

Grau de escolaridade: _____

Caso possua graduação e/ou trabalhe, por gentileza especifique a sua área de atuação/especialidade:

Com que frequência você consome cachaça?

- () Todos os dias
- () Uma vez por semana
- () Eventualmente
- () Em testes e/ou análises sensoriais
- () Outros

ANEXO B. Ficha etapa 1. *Napping***Ficha 1 - *Napping***

Você irá receber 5 amostras de cachaças brancas. Elas devem ser avaliadas quanto às semelhanças e diferenças, de acordo com o seu próprio critério, já que não existem respostas certas ou erradas. Então, posicione os copos na folha à sua frente, onde as amostras que estiverem perto devem ser muito parecidas e as amostras distantes devem ser bem diferentes. Sinta-se à vontade para usar todo o espaço da folha, da maneira que preferir.

Certifique-se de enxaguar a boca antes de iniciar o teste e de realizar as primeiras provas da esquerda para a direita.

Quando este passo estiver completo, por favor chame o avaliador para as próximas instruções.

Prove novamente as amostras, se for necessário, na ordem que quiser.

Nos questione sobre qualquer dúvida.

ANEXO C. Ficha etapa 2. *Ultraflash Profiling***Ficha 2 – *Ultraflash Profiling***

Por favor, anote o código de cada amostra na folha onde o mesmo estiver localizado. Em seguida, escreva perto de cada código, alguns termos que descrevam as características do exemplar que você provou.

Você pode provar as amostras novamente, na ordem que preferir.

Qualquer dúvida, estamos à disposição.

Muito obrigada pela sua participação!

ANEXO D. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido apresentado aos provadores anteriormente à análise sensorial realizada.

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

O TCLE é o documento básico e fundamental do protocolo e da pesquisa com ética. É a fonte de esclarecimento que permite ao sujeito da pesquisa tomar sua decisão, de participar do projeto como voluntário, de forma justa e sem constrangimentos. É a proteção legal e moral do pesquisador, posto que é a manifestação clara de concordância com a participação na pesquisa. Deve ser assinado pelo responsável da pesquisa e pelo voluntário, ficando uma cópia para cada um.

Título da pesquisa: Perfil químico e sensorial de cachaças produzidas a partir de leveduras selecionadas e fermento natural

Justificativa para a realização da pesquisa: O metabolismo da levedura é responsável não só pela produção de etanol, mas também pela formação de diversos compostos que são responsáveis pelas propriedades químicas e sensoriais, podendo resultar em características favoráveis ou desfavoráveis ao destilado. A razão para a realização da pesquisa é a pretensão de identificar os perfis químicos e sensoriais de cachaças produzidas a partir de leveduras selecionadas e fermento natural.

Objetivos da pesquisa: O objetivo deste trabalho é avaliar a influência de leveduras selecionadas e fermento natural na qualidade química e sensorial de cachaças monodestiladas.

Procedimentos que serão utilizados: Mosto de caldo de cana-de-açúcar será fermentado a 30 °C mediante adição de diferentes leveduras *Saccharomyces cerevisiae* para cada tratamento: cepas CA-11, CanaMax e fermento natural (caipira). Os vinhos serão destilados em alambique de cobre e para traçar o perfil sensorial será procedida uma única sessão, dividida em duas etapas, de avaliação das amostras (datas a combinar com os provadores). Serão oferecidas 5 amostras contendo 10 mililitros de cada cachaça. A primeira etapa das avaliações será a aplicação da metodologia *Napping*, em que os provadores posicionam, em uma folha retangular A3, as amostras de acordo com similaridades e diferenças, aproximando-as quando forem semelhantes e distanciando-as quando forem diferentes, de acordo com a impressão sensorial geral dos atributos. Depois de posicionadas, os provadores farão uma análise qualitativa das cachaças, seguindo a metodologia *Ultraflash Profiling* (UFP), listando todos os atributos identificados em cada uma das amostras.

Riscos possíveis e benefícios esperados: nesta pesquisa, os riscos relacionados ao consumo de bebidas alcoólicas existem e serão minimizados, pois os participantes serão aconselhados a não consumir, ou seja, não deglutir o produto durante a sessão de análise sensorial, visto que nenhuma quantidade de etanol no sangue é permitida pela legislação nacional para a condução de veículos. O benefício da pesquisa será a obtenção de resultados práticos e realistas que contribuam para o desenvolvimento de cachaças monodestiladas que apresentem qualidade sensorial superior. A pesquisa será acompanhada integralmente pelo seu responsável, o qual garante total assistência ao sujeito durante a realização da pesquisa.

- Fica garantido o direito de esclarecimento de qualquer dúvida ou curiosidade do voluntário, quer seja antes, durante ou após a realização da pesquisa.
- Fica garantido aos sujeitos da pesquisa o direito de recusar a participar em qualquer momento, sem que isto acarrete qualquer penalidade.
- Fica garantido o sigilo de dados confidenciais ou que, de algum modo, possam provocar constrangimentos ou prejuízos ao voluntário. Os dados serão publicados e apresentados em reuniões científicas sem identificação dos voluntários.
- Conforme já citado há riscos, porém se não houver a deglutição do produto, esses serão minimizados.
- Uma cópia do TCLE será entregue ao voluntário.
- Ciente do compromisso assumido, subscrevo-me a seguir:
- Nome (completo) _____
- Assinatura _____

Piracicaba, ____ de _____ de 201__ .

Ana Carolina Corrêa - Pesquisadora responsável

Doutoranda na Universidade de São Paulo - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição - Setor de Açúcar e Álcool

Av. Pádua Dias, 11 – CP 9 – 13418-900 – Piracicaba-SP Fone: (19) 3429-4198

E-mail: ana.carolina.correa@usp.br

Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos na USALQ/USP (CEP)

Universidade de São Paulo - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Av. Pádua Dias, 11 – CP 9 – 13418-900 – Piracicaba-SP Fone: (19) 3429-4376 – Fax: (19) 3429-4225

E-mail: coet@esalq.usp.br

ANEXO E. Parecer consubstanciado do Comitê de Ética na Pesquisa (CEP) de aprovação das análises sensoriais desenvolvidas durante este projeto

USP - ESCOLA SUPERIOR DE
AGRICULTURA "LUIZ DE
QUEIROZ" DA UNIVERSIDADE



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Perfil químico e sensorial de cachaças produzidas a partir de leveduras selecionadas e fermento natural

Pesquisador: Ana Carolina Corrêa

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 65866117.5.0000.5395

Instituição Proponente: "Escola Superior de Agricultura ""Luiz de Queiroz"" - ESALQ da Universidade

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.145.205

Apresentação do Projeto:

Mosto de caldo de cana-de-açúcar será fermentado a 30°C mediante adição de diferentes leveduras *Saccharomyces cerevisiae* para cada tratamento: cepas CA-11, CanaMax e fermento natural (caipira). Os vinhos serão destilados em alambique de cobre, procedendo-se a separação das frações "cabeça" (1% do volume útil da caldeira), "coração" (destilado recuperado até 38% de etanol na fração à saída do condensador) e "cauda" (destilado recuperado de 38% até o esgotamento do etanol na fração à saída do condensador). As aguardentes serão submetidas a análises de teor alcoólico densimetria), cobre (colorimetria), congêneres voláteis (CG-DIC), carbamato de etila (CG-EM), identificação de ésteres (CG-EM modo SIM) e compostos de flavor (CG-EM – modo SCAN). Teste sensorial (Perfil Flash) será realizado para a caracterização das amostras.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar a influência de leveduras selecionadas e fermento natural na qualidade química e sensorial de cachaças monodestiladas.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos relacionados ao consumo de bebidas alcoólicas existem e serão minimizados, pois os

Endereço: Avenida Pádua Dias, 11 Caixa Postal 9

Bairro: São Dimas

CEP: 13.418-900

UF: SP

Município: PIRACICABA

Telefone: (19)3429-4400

E-mail: cep.esalq@usp.br

USP - ESCOLA SUPERIOR DE
AGRICULTURA "LUIZ DE
QUEIROZ" DA UNIVERSIDADE



Continuação do Parecer: 2.145.205

Justificativa de Ausência	06TCLE.doc	23/06/2017 10:49:09	Ana Carolina Corrêa	Aceito
Outros	Sujeito_da_pesquisa.doc	26/04/2017 13:11:20	Ana Carolina Corrêa	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_de_pesquisa.docx	26/04/2017 13:09:34	Ana Carolina Corrêa	Aceito
Outros	13_Curriculo_pesquisador_3.pdf	17/03/2017 02:33:14	Ana Carolina Corrêa	Aceito
Outros	12_Curriculo_pesquisador_2.pdf	17/03/2017 02:32:14	Ana Carolina Corrêa	Aceito
Outros	11_Curriculo_pesquisador_responsavel.pdf	17/03/2017 02:26:14	Ana Carolina Corrêa	Aceito
Outros	08_Declaracoes_da_instituicao.pdf	17/03/2017 02:21:50	Ana Carolina Corrêa	Aceito
Outros	03_Carta_de_encaminhamento.pdf	17/03/2017 02:05:38	Ana Carolina Corrêa	Aceito
Orçamento	10_Orcamento_de_projeto_de_pesquisa.pdf	17/03/2017 02:02:41	Ana Carolina Corrêa	Aceito
Declaração de Pesquisadores	07_Declaracoes_dos_pesquisadores.pdf	17/03/2017 02:01:45	Ana Carolina Corrêa	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declaracao_de_infraestrutura.pdf	17/03/2017 02:00:56	Ana Carolina Corrêa	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	17/03/2017 01:57:55	Ana Carolina Corrêa	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

PIRACICABA, 28 de Junho de 2017

Assinado por:
Sandra Helena da Cruz
(Coordenador)

Endereço: Avenida Pádua Dias, 11 Caixa Postal 9

Bairro: São Dimas

CEP: 13.418-900

UF: SP

Município: PIRACICABA

Telefone: (19)3429-4400

E-mail: cep.esalq@usp.br

USP - ESCOLA SUPERIOR DE
AGRICULTURA "LUIZ DE
QUEIROZ" DA UNIVERSIDADE



Continuação do Parecer: 2.145.205

adultos participantes serão aconselhados a não consumir, ou seja, deglutir o produto durante a sessão de análise sensorial.

O benefício para os voluntários é a colaboração e participação em uma pesquisa inédita e importante para a área de tecnologia de bebidas.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa relevante para a área. Os pesquisadores esperam obter resultados necessários para a caracterização química e sensorial das aguardentes produzidas a partir de diferentes leveduras e fermentação natural, assim como identificar parâmetros que as assemelham e as diferenciam entre si. O trabalho também espera trazer benefícios aos produtores e contribuir com o desenvolvimento do setor.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Documentos e termos apresentados: CV dos pesquisadores, Declarações estão adequadas.

TCLE presente e corrigido.

Recomendações:

1- Após a aprovação os pesquisadores devem atentar para a necessidade de envio de relatórios parciais de atividades (no mínimo um a cada 12 meses) e do relatório final de atividades (ao término da pesquisa). 2- Destaca-se que o parecer consubstanciado é o documento oficial de aprovação do sistema CEP/CONEP

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

As pendências foram atendidas.

Parecer de Protocolo aprovado e emitido "ad referendum" conforme autorização do Comitê na reunião de 24/05/2017. O mesmo será submetido para homologação na reunião de 28/06/2017.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_856840.pdf	23/06/2017 17:08:54		Aceito
Outros	Cartarespostaass2.pdf	23/06/2017 17:08:02	Ana Carolina Corrêa	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento /	06TCLE.doc	23/06/2017 10:49:09	Ana Carolina Corrêa	Aceito

Endereço: Avenida Pádua Dias, 11 Caixa Postal 9

Bairro: São Dimas

CEP: 13.418-900

UF: SP

Município: PIRACICABA

Telefone: (19)3429-4400

E-mail: cep.esalq@usp.br