

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Campus Araraquara

**Utilização de alambique de aço inoxidável na produção de aguardente de
líquor de laranja: Efeito na formação de carbamato de etila.**

Victor Augusto da Silva

Orientador: Prof. Dr. João Bosco Faria

Araraquara

2014

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Campus Araraquara

**Utilização de alambique de aço inoxidável na produção de aguardente de
líquor de laranja: Efeito na formação de carbamato de etila.**

Victor Augusto da Silva

Orientador: Prof. Dr. João Bosco Faria

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação em
Farmácia-Bioquímica da Faculdade de
Ciências Farmacêuticas da Universidade
Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” –
UNESP, para obtenção do grau de
Farmacêutico-Bioquímico. Departamento de
Alimentos e Nutrição. Área de Ciência de
Alimentos

Araraquara

2014

“Sem o respaldo do desempenho e do trabalho duro, as palavras não significam nada.”

Michael Jeffrey “Air” Jordan

Dedico este trabalho, aos meus pais José Vander e Maria de Fátima, e a minha irmã Thailly, por todo suporte, confiança e presença durante toda a minha vida.

Agradecimentos

Aos meus avós Joaquim e Amélia que, apesar de há muito tempo não estarem mais fisicamente ao meu lado, me ensinaram desde cedo a seguir sempre por um caminho correto, independente das dificuldades que possam ser encontradas pelo caminho. Sempre serão minhas maiores inspirações e, com certeza, cada conquista minha tem grande contribuição dos dois.

A todos os meus familiares, em especial aos meus pais José Vander e Maria de Fátima, por sempre estarem ao meu lado, se superando a cada dia para me apoiar e não deixar faltar nada em minha vida, o que me proporcionou oportunidades que ambos jamais sonharam ter. E a minha irmã Thailly, a qual está sempre disposta a ajudar.

Ao meu orientador, Professor Dr. João Bosco Faria, pelo apoio, oportunidade e orientação disponibilizados a mim ao longo de grande parte de minha graduação.

À doutoranda Crislaine Alvarenga Peres, por todo auxílio e atenção prestado ao longo do trajeto, bem como disponibilidade e a orientação em momentos de dificuldade.

A toda equipe do Centro de Pesquisa e Desenvolvimento da Qualidade da Cachaça pelo auxílio e prestatividade durante o desenvolvimento do trabalho. Em especial a mestrando Mariana Rodrigues e ao técnico Rômulo, os quais sempre estavam dispostos a melhorar o trabalho desenvolvido. Também deixo um agradecimento especial à Professora Dra. Edwil Aparecida de Lucca por ceder o laboratório para a

realização de alguns de meus testes e aos inúmeros funcionários da FCFAR por sempre me auxiliarem em momentos adversos.

Aos irmãos de longa data Alan, Lau (Lautaro), Cacá (Ricardo), Taq/Japs (Rodrigo), Rick/Barbie (Henrique), Tonho (Antonio) e Gui/Tremelique (Guilherme) pela constante motivação ao longo de toda faculdade, me impedindo de desanimar e afastando todos os pensamentos negativos de minha mente.

Aos irmãos que a vida me deu no melhor momento e, ao mesmo tempo, o momento mais desafiador de minha vida até o momento, a graduação. Agradeço imensamente à República Várzea pelo incentivo incondicional nos piores e melhores momentos possíveis, por compreenderem o meu jeito de ser e me ajudarem a ser uma pessoa e um profissional melhor e sempre buscar uma evolução contínua de caráter, ética, pensamento crítico e coletivo.

Aos grupos estudantis que permitiram o meu desenvolvimento pessoal e profissional em que tive a oportunidade de participar ao longo da faculdade, como o PET Farmácia, a 60^a Jornada Farmacêutica da UNESP, e as quatro gestões do CACIF (Covalente, Planeta, Panorâmica e Sinergia), principalmente na diretoria esportiva e na organização do meu amado JUSEFA.

E a todos que, independente da forma, colaboraram para que eu chegasse a esse ponto de minha vida, terminando um curso tão difícil como esse. E obrigado a Thor, deus do trovão, filho de Odin, e neto de Borr por defender a humanidade da Serpente Jörmungandr e dos terríveis Gigantes de Gelo.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	08
LISTA DE TABELAS	09
RESUMO	10
1. INTRODUÇÃO	11
1.1. O mercado de suco de laranja.....	11
1.2. Caracterização de suco de laranja.....	13
1.3. O mercado nacional de aguardentes.....	14
1.4. Obtenção de aguardente de <i>líquor</i> de laranja.....	16
1.4.1. Fermentação.....	18
1.4.2. Destilação.....	19
1.4.3. Bidestilação.....	21
1.4.4. Envelhecimento.....	23
1.5. Carbamato de etila.....	24
2. OBJETIVO	26
3. MATERIAIS E MÉTODOS	26
3.1. Material.....	26
3.1.1. <i>Líquor</i> de laranja.....	26
3.1.2. Fermento de descarte de indústria cervejeira.....	27
3.2. Métodos	27
3.2.1. Preparação do mosto.....	27
3.2.2. Determinação do teor de sólidos solúveis totais.....	28
3.2.3. Viabilidade celular do fermento de descarte da indústria cervejeira.....	28

3.2.4. Quantificação do carbamato de etila.....	29
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
5. CONCLUSÃO.....	33
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34

Lista de Figuras

Figura 1: Evolução da Produção Mundial de Laranjas. Fonte: NEVES, 2011.....	11
Figura 2: Evolução da Produção Mundial de Suco de Laranja. Fonte: NEVES, 2011	12
Figura 3: Consumo per capita de álcool puro. Fonte OMS, 2010.....	15
Figura 4: Percentual de consumo de destilados no Brasil. Fonte: Euromonitor International – Spirits of Brazil 2006 – 2011.....	16
Figura 5: Alambique de aço inoxidável com capacidade para 20 litros.....	20
Figura 6: Esquema interno de alambique. Fonte: EMBRAPA.....	20
Figura 7: Estrutura do carbamato de etila.....	24
Figura 8: <i>Líquor</i> de laranja armazenado.....	25
Figura 9: Termômetro utilizado para controle de temperatura e umidade.....	26
Figura 10: Fermentação do <i>líquor</i> de laranja.....	27
Figura 11: Recipiente de fermentação.....	27
Figura 12: Refratômetro.....	28
Figura 13: Gráfico de Viabilidade de celular X Tempo.....	31
Figura 14: Gráfico do Teor de Sólidos Solúveis X Tempo.....	32

Lista de Tabelas

Tabela 1: Composição do <i>líquor</i> de Laranja. Fonte: BRADDOCK (1999).....	14
Tabela 2: Viabilidade X Tempo	30
Tabela 3: Média do teor de sólidos solúveis totais X Tempo.....	32
Tabela 4: Teor de cobre e de carbamato de etila na amostra.....	33

RESUMO

O Brasil é reconhecido mundialmente como o maior produtor e exportador de suco de laranja do mundo. O *líquor* de laranja é um dos principais subprodutos da indústria cítrica, rico em açúcares e destinado, quase que exclusivamente para a produção de ração animal, já que seu descarte certamente causaria problemas ambientais.

Com o intuito de ter um melhor aproveitamento deste subproduto, foi desenvolvido um novo tipo de destilado obtido a partir da fermentação do *líquor* de laranja.

Dado o enorme volume de *líquor* e considerando-se também o enorme volume de fermento de descarte da indústria cervejeira (160 milhões de litros/ano) ainda viável, está sendo objeto de estudo a utilização deste fermento na obtenção da aguardente de *líquor* de laranja.

Nesse sentido, foram obtidas amostras de aguardente de *líquor* de laranja, utilizando-se de técnicas tradicionais de produção de cachaça, sendo o *líquor* fermentado de fermento que é descarte da indústria cervejeira.

Dessa forma, foram avaliados a viabilidade da levedura de descarte da indústria cervejeira, o teor de sólidos solúveis, o teor de cobre e carbamato de etila na aguardente de *líquor* de laranja obtida utilizando alambique de aço inoxidável.

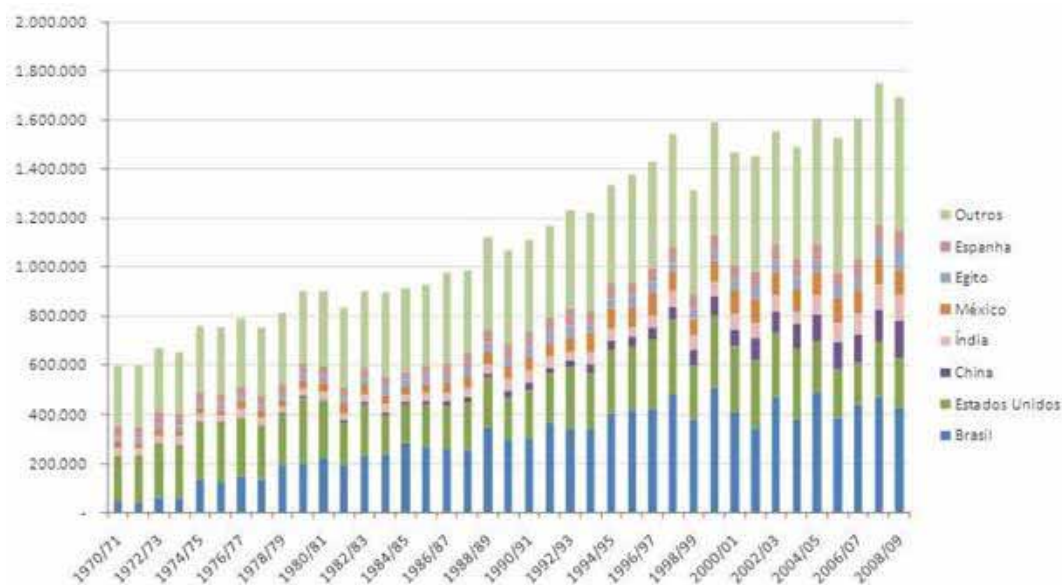
Palavras-chave: *licor* ou *liquor* de laranja, aguardente, levedura, carbamato de etila, e aço inoxidável.

1. Introdução

1.1. O mercado de suco laranja

Segundo o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos da América (USDA, 2014) a produção de laranja mundial deve alcançar 51,77 milhões de toneladas na safra 2013/2014 em comparação com 49,40 milhões de toneladas de 2012/2013, o que significa um aumento de 5%.

Figura 1: Evolução da Produção Mundial de Laranjas.



Fonte: NEVES, 2011. Elaborado por Markestrar a partir de USDA, FAO, IBGE, CONAB e CitrusBR.

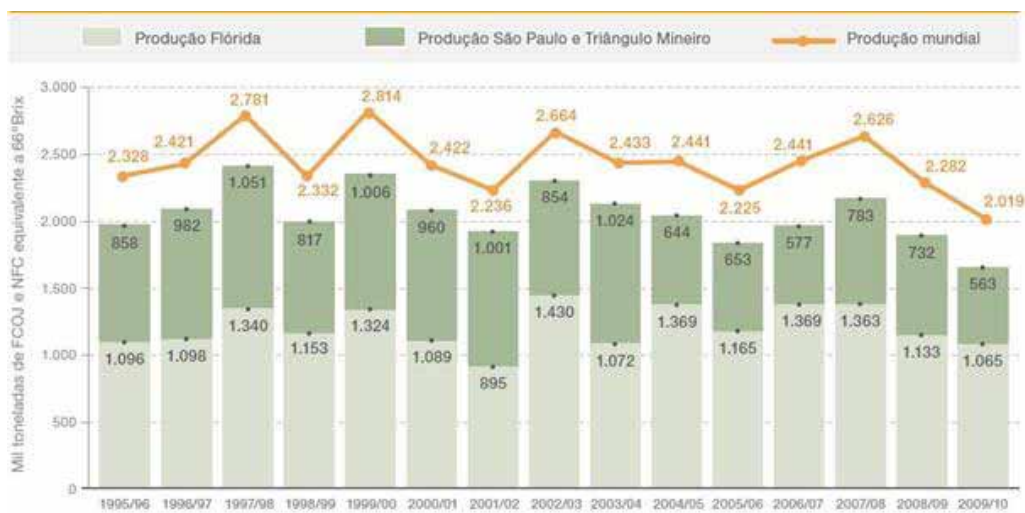
O Brasil, com uma produção estimada em 17,75 milhões de toneladas, teve um aumento de 8% na safra 2013/2014 se comparado com as 16,36 milhões de toneladas de 2012/2013. E com previsão de 20,5 milhões de toneladas em 2018/2019 segundo o Ministério da Agricultura. Esse crescimento acima da média coloca o Brasil como maior produtor mundial laranja, a frente de grandes produtores, como Estados Unidos, União Europeia, Chile e China (USDA, 2014).

Todo esse crescimento brasileiro é impulsionado e será absorvido pelo aumento da demanda de suco de laranja, produto o qual o Brasil é o principal produtor e exportador, uma vez que o consumo em natura no mundo deve permanecer estável segundo a USDA.

O suco de laranja é um produto de grande aceitação na maior parte do mundo, tendo uma previsão de 2,02 milhões de toneladas mundiais para 2013/2014, um aumento de 6% se comparado com o ano anterior (1,91 milhão de tonelada).

Só o estado de São Paulo concentra 53% da produção mundial de suco de laranja. (NEVES, 2011).

Figura 2: Evolução da Produção Mundial de Suco de Laranja.



Fonte: NEVES, 2011. Elaborado por Markestrar a partir de CitrusBr.

Os Estados Unidos terão uma redução no processamento de suco de laranja devido ao clima seco e à doença de *greening* nos pomares da Flórida, onde cerca de 95% das laranjas são destinadas à produção de suco, enquanto que o processamento brasileiro deve crescer 18% (de 1,16 milhão em 2013/1014 ante 918 mil toneladas em 2012/2013) graças ao aumento da safra e do rendimento (USDA, 2014).

Segundo o Ministério da Agricultura, o Brasil processa 80% de sua safra de laranja em suco, o que corresponde a aproximadamente 60% da produção mundial e US\$ 2,276 bilhões.

1.2 Caracterização do *líquor* de laranja

Ao término do processamento de suco de laranja, muitos subprodutos são obtidos. A soma prensada desses resíduos é o chamado *líquor* ou licor de laranja. Após a prensagem, há separação da fase líquida (*líquor*) da fase sólida (bagaço ou farelo de polpa cítrica). O bagaço pode ser prensado novamente ou ser encaminhado para secadores para ser desidratado e posteriormente compactado em máquinas chamadas “pelletizadoras”. Já a parte líquida segue para evaporadores para ser concentrada, onde seu °Brix passa de 11-14 para 35-45, podendo ser devolvido ao bagaço.

Devido ao seu grande valor energético, graças as altas concentrações de açúcares, principalmente glicose, frutose, sacarose e pequenas porções de pentose (ROÇAFA, 2005) e a grande quantidade de substâncias solúveis (entre os componentes do *líquor* estão óleos essenciais, d-limoneno, terpenos, líquidos aromáticos) pode ser concentrado e reincorporado ao resíduo seco da polpa (bagaço, semente, casca e descarte das centrífugas, o que corresponde a quase 50% do peso de cada laranja), com pH corrigido (de 3,5-4,5 para 6,0-6,4) e com a adição de óxido de cálcio para demetilar a pectina e facilitar a remoção de água no processo de prensagem (TETRA-PARK, 1998), sendo utilizado na fabricação de ração animal, sobretudo ruminantes, com destaque especial para vacas leiteiras. Além disso, alguns desses componentes também são utilizados como óleos essenciais e terpenos. (KIMBALL, 1999).

Tabela 1: Composição do *Líquor* de Laranja.

Componente	Unidade	<i>Líquor</i>
Sólidos solúveis	°Brix	10,1
pH	-	5,7
Sacarose	%	2,4
Proteína	%	0,5
Açúcares redutores	%	4,2
Pentoses	%	0,3
Cinzas	%	0,7
Pectina	%	0,7

Fonte: BRADDOCK (1999).

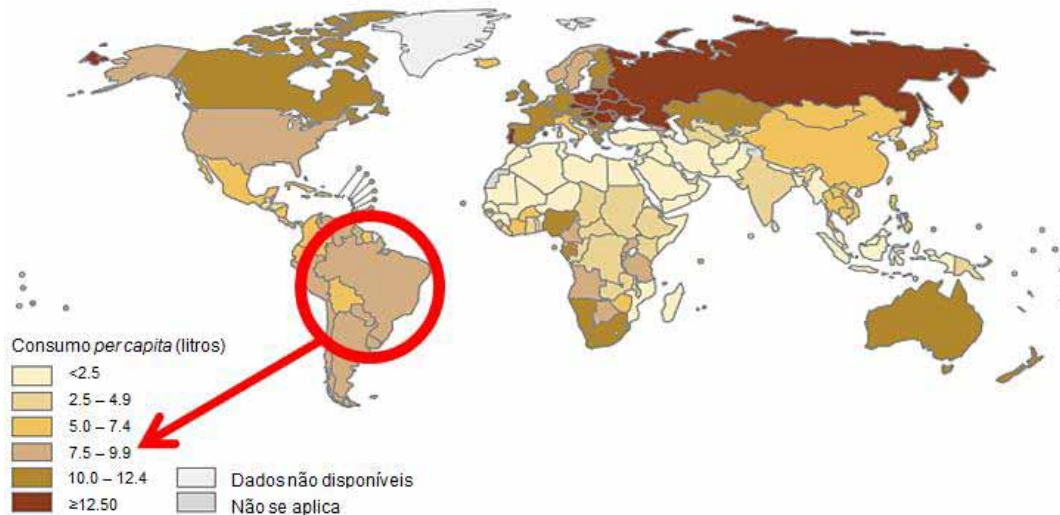
A utilização desses subprodutos é altamente recomendável, uma vez que esse material possui alto potencial poluidor e não deve ser descartado no meio ambiente.

1.3 O mercado nacional de aguardentes

O interesse por bebidas alcoólicas e inovações nesse setor cresce a cada ano. Segundo a o Relatório Global de Álcool e Saúde (OMS, 2014), divulgado pela organização mundial da saúde em 12 de maio de 2014 a média mundial de consumo de álcool puro (essa medida não deve ser comparada com ao volume de bebidas alcoólicas ingeridas) per capita é de 6,2 litros. Os maiores consumidores são nesse quesito são os europeus, como Hungria, Irlanda, Luxemburgo e Moldávia, com cerca de 13 litros per capita para habitantes acima de 15 anos. Rússia, Letônia, França, Grã-Bretanha e Estônia consomem ao menos 12,5 litros per capita. Os Estados

Unidos, assim como o Brasil (8,7 litros) não ultrapassam os 10 litros, mas ultrapassam a média mundial.

Figura 3: Consumo per capita de álcool puro.

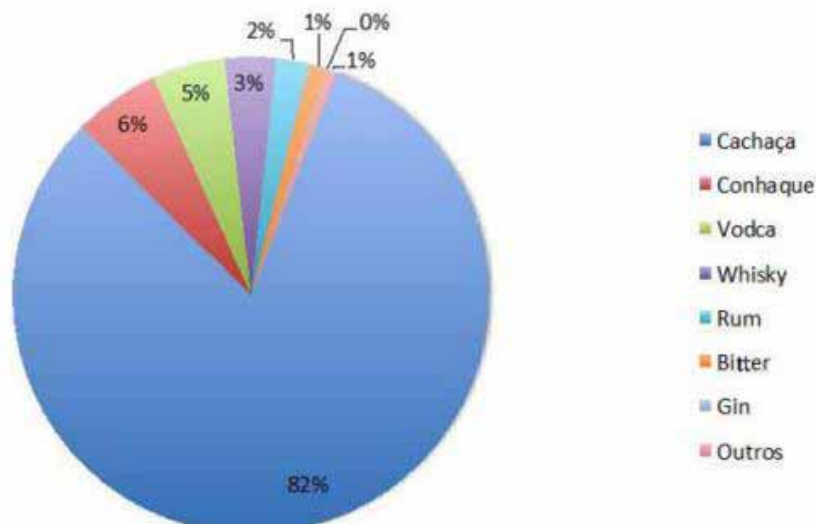


Fonte: OMS, 2010.

Mesmo não figurando entre os maiores consumidores de bebidas alcoólicas, o Brasil pode ser considerado um grande produtor de bebidas alcoólicas, tanto fermentadas como destiladas. No caso das destiladas, devem-se muito as aguardentes, em especial a cachaça, a qual é a segunda bebida alcoólica mais consumida no país e a terceira bebida destilada mais consumida no mundo, perdendo para a *vodka* e o *shoju* (bebida destilada coreana obtida a partir do arroz). Apesar da grande produção, 99% da aguardente brasileira destinam-se ao consumo interno e apenas 15 milhões de litros (1%) é destinada a exportação, mas com o grande potencial ainda inexplorado para a exportação e inovação.

No quesito volume, de 14,9 bilhões de litros de bebida alcoólica consumida no Brasil, a cerveja possui 88,9% do consumo, enquanto os destilados são responsáveis por 7,5% e as demais tipos por 3,6% (EUROMONITOR, 2012^a)

Figura 4: Percentual de consumo de destilados no Brasil.



Fonte: EUROMONITOR International – Spirits of Brazil 2006 – 2011.

Em termos de faturamento, o setor alcançou R\$ 5,95 bilhões em 2013, de acordo com o Sistema Nacional de Controle da Produção de Bebidas da Receita Federal (SICOBEBE), responsável por controlar a produção das principais empresas formais de aguardente.

1.4 Obtenção de aguardente de *Líquor de laranja*

Por definição do Decreto n° 6.871 (BRASIL 2009), o qual regulamenta a Lei n° 8.918 (BRASIL, 1994), aguardentes são bebidas fortemente alcoólicas (38% a 54% em volume), obtidas a vinte graus Celsius, por meio de um processo fermentativo e posterior destilação de mostos (líquido apto a fermentar) açucarados de frutas,

cereais, colmos, raízes e tubérculos. Esta Lei também é responsável pela padronização, registro, inspeção, produção e fiscalização de bebidas alcoólicas.

Cabe destacar que a aguardente de *líquor* de laranja não pode ser considerada como cachaça, uma vez que segundo o artigo 53 da lei citada acima, cachaça é a aguardente de cana de açúcar produzida no Brasil, com graduação alcoólica de 38 a 48 por cento em volume, a 20° Celsius, obtida pela destilação do caldo da cana de açúcar, podendo ter o acréscimo de até 6 gramas de açúcar (expresso em sacarose) por litro.

O *líquor* de laranja é muito rico em açúcares e por isso pode ter mais uma utilidade, além das já citadas. Ele pode ser utilizado como matéria prima na produção de aguardente, em um processo muito similar ao de produção de cachaça (ROÇAFA, 2005), sendo possível redestilar, bidestilar e envelhecer o produto em busca de uma melhora na qualidade físico-química e sensorial.

Para obter melhores resultados, é importante que a matéria prima esteja em boas condições de conservação, sendo recentemente colhida, armazenada em geladeira e não apresentar sinais de deterioração, como demonstrado na produção de cachaça, por LIMA, (1983).

Com o intuito de reduzir os custos de produção e aumentar o valor agregado do produto, pode-se utilizar um pé de cuba já pronto, o fermento de descarte da indústria cervejeira. Visando manter a qualidade sensorial da cerveja, a indústria cervejeira reutiliza a mesma levedura apenas cinco vezes.

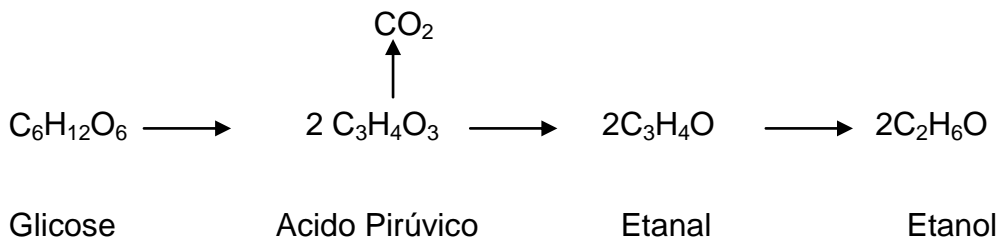
Perez (2013) realizou destilações de *líquor* de laranja em alambiques de cobre, o qual é o material mais utilizado na produção de alambiques utilizados na fabricação de aguardente de cana (NASCIMENTO, 1998). Entretanto, após o processo de

destilação a concentração de carbamato de etila presente na aguardente foi superior à permitida por lei (150 microgramas por litro ($\mu\text{g.L}^{-1}$)).

1.4.1 Fermentação

Como já mencionado o “pé de cuba” ou fermento utilizado nesse estudo será o fermento de descarte da indústria cervejeira. A levedura é adicionada em um volume de cerca de 10 a 20% do volume total do mosto a ser fermentado (*líquor* de laranja e água), conforme determinou FARIA (2000).

A fermentação nada mais é do que a obtenção do álcool (etanol) e gás carbônico a partir açúcares, como glicose e sacarose através de leveduras e, nesse caso especificamente, da espécie *Saccharomyces cerevisiae*.



Esse processo é amplamente utilizado a milhares de anos, não apenas na produção de álcool como também na panificação.

1.4.2 Destilação

De acordo com Lima (1983) após a fermentação, o mosto passa a ser chamado de vinho e poderá ser transferido para o alambique. O vinho deve apresentar uma variada composição de substâncias, tanto líquidas (água e etanol em maior

proporção e outros componentes secundários, sendo estes de menor quantidade responsáveis pelas diferentes características sensoriais de uma bebida, seja ela destilada ou fermentada), como sólidas (açúcares não fermentados durante a fermentação, restos de leveduras, sais minerais, impurezas das substâncias originais ou adquiridas ao longo do processo fermentativo) e até mesmo gasosas dissolvidas no vinho (gás carbônico como componente predominante).

O processo de destilação faz-se necessário para elevar o teor alcoólico da bebida uma vez que o vinho é fervido, e conseqüentemente produz vapores que são condensados por meio de resfriamento. Uma vez que o álcool é mais volátil o que a água, ele tende a sair primeiro do destilador.

Além de aumentar o teor alcoólico, a destilação também é responsável pela separação de certas substâncias da mistura de interesse por meio do aquecimento e da diferença de volatilidade entre as substâncias, permitindo assim a purificação ou a formação de novos produtos por decomposição de frações. O resultado da destilação é chamado de flegma e vinhaça (NOGUEIRA & FILHO, 2005).

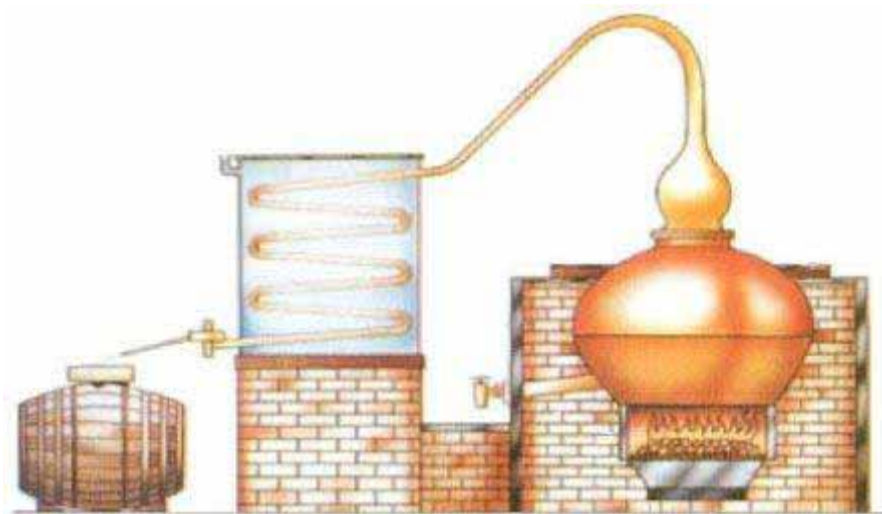
Flegma é o principal produto de interesse na obtenção de bebidas, pois é constituído de por uma mistura hidroalcoólica impura, cuja concentração dependente do aparelho utilizado na destilação. Já a vinhaça é o resíduo final da destilação, sendo composta por substâncias que não são de interesse, como sais, leveduras, bactérias e etc., porém sua riqueza alcoólica deve ser nula (NOGUEIRA & FILHO, 2005).

Para um melhor aproveitamento da destilação, ela deve ser realizada de forma lenta e gradual, com controle de temperatura para evitar que o alambique “vomite” e que não haja perda de compostos de interesse.

Figura 5: Alambique de aço inoxidável com capacidade para 20 litros.



Figura 6: Esquema interno de alambique.



Fonte: EMBRAPA

1.4.3 Bidestilação

A técnica da bidestilação tem como objetivo principal obter uma bebida mais leve para o posterior envelhecimento (NOVAES, 1994). Logo após a fermentação do mosto de *líquor* de laranja, o vinho obtido deve sofrer duas destilações consecutivas, podendo ou não ser no mesmo alambique.

Segundo ROTA (2008) essas destilações sucessivas podem melhorar a padronização do perfil dos compostos orgânicos secundários da aguardente produzida em alambiques (estudo realizado com cachaça) com o objetivo de aprimorar a qualidade sensorial do produto, com seletividade das frações desejadas, diminuição da acidez volátil, do teor de cobre e aldeídos, além de buscar uma significativa redução ou até mesmo a eliminação de outros compostos indesejáveis, como metanol, furfural e carbamato de etila (FORLIN, 2005).

Ainda segundo NOVAES (1994) a técnica da bidestilação é utilizada em diversas bebidas destiladas ao redor do mundo, como “whisky”, conhaque e rum. Nos últimos anos o número de produtores de cachaça adeptos ao uso da bidestilação cresceu, entretanto ainda não é uma prática muito comum para os pequenos produtores. Outro ponto negativo é a não separação das frações “cabeça” e “cauda” durante a destilação (NOGUEIRA & VENTURINI-FILHO, 2005).

Na bidestilação o vinho é submetido a uma primeira destilação até que todo o etanol presente seja destilado, ocasionando um produto com teor alcoólico não muito elevado, com aproximadamente de 25 a 27 % em volume (°Gay-Lussac). Já na segunda destilação (processo sucessivo) as frações cabeça (aproximadamente entre 2 a 15% do volume a ser destilado) e cauda (contém os compostos menos voláteis e com altas temperaturas de ebulição, como também álcool que pode ser recuperado posteriormente) são separadas da fração coração, a qual corresponde a cerca de 60% do volume total (ROTA, 2009).

A fração cabeça contém compostos tóxicos os quais devem ser evitados para o consumo, como metanol (BOSQUEIRO, 2010).

A fração coração possui um teor alcoólico maior do que a fração coração obtida de forma tradicional. Essa fração pode ser consumida após diluição ou envelhecida (NOVAES 1999).

1.4.4 Envelhecimento

O envelhecimento ou maturação de bebidas destiladas tem como grande objetivo melhorar as qualidades sensoriais do produto, independente se o mesmo está ou não pronto para o consumo. Essa prática é comum para vinhos e whisky, por exemplo (PIGGOT et al., 1989).

O envelhecimento natural de bebidas nada mais é do que armazená-las em barris de madeira por um determinado tempo (PIGGOT et al., 1989). Essa ação acarretará mudanças em sua composição química, além de também alterar o aroma, cor e sabor da bebida. Durante o envelhecimento inúmeras transformações químicas acontecem, principalmente entre os compostos secundários provenientes da destilação. O álcool tem um fator importante na extração direta de componentes da madeira, bem como na decomposição de macromoléculas da madeira, como lignina, celulose e hemicelulose, além de sua incorporação à bebida e ainda há compostos de madeira entre si e com os componentes originais do destilado.

Muitos tipos diferentes de madeira podem ser utilizados na maturação de bebidas destiladas. SILVA (2009) testou cachaça em processo de envelhecimento em tonéis de diferentes tipos de madeira: Bálsamo, Carvalho, Castanheira, Ipê Amarelo, Jatobá, Jequitibá, Peroba, Umburana e Timborana. Cada madeira possui características únicas, as quais são repassadas a bebida conforme o tempo de envelhecimento.

Segundo Piggott et al. (1989) *apud* Borragini (2009), 60% de etanol em volume é o conteúdo alcoólico mais efetivo para bebidas na extração dos componentes da madeira (muitos compostos que proporcionam sabor e aroma são mais solúveis em álcool do que em água).

Para Philp (1989) *apud* Mosedale e Puech (1998), a temperatura e a umidade são os dois principais fatores do ambiente externo aos ancorotes que influenciam o processo de envelhecimento (em particular nas perdas de volume e de teor alcoólico).

Lorenzetti (2009) estudou o perfil sensorial e aceitabilidade de aguardente de *líquor* de laranja, bem como o seu envelhecimento, assim como Ferreira (2005), que constatou a perda de volume alcoólico. Ao comparar os resultados de Ferreira e Lorenzetti observa-se que os teores de acidez entre as aguardentes envelhecidas de Lorenzetti, obtidas em alambiques de cobre e de aço inoxidável, não para a acidez total e, no entanto, apresentaram acidez fixa e volátil significativamente diferente. Já o resultado obtido por Ferreira (2005) indicou que as amostras de aguardente envelhecida de *líquor* de laranja não diferiram na acidez volátil.

As aguardentes de *líquor* de laranja do estudo de Lorenzetti (2009), mesmo após o período de maturação (6 meses) apresentaram teores de acidez volátil muito abaixo do que a legislação brasileira permite para aguardentes de cana (BRASIL, 2005).

1.5 Carbamato de Etila

O carbamato de etila, também conhecido como uretana ($\text{NH}_2\text{COOHCH}_2\text{CH}_3$) é um éster do ácido carbâmico (NH_2COOH) é um componente potencialmente carcinogênico e que pode ser formado naturalmente em alimentos como pão,

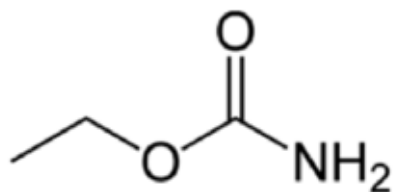
iogurte, vinho, cerveja, saquê e, principalmente, em bebidas fermento destiladas, como vodca, rum, uísque e cachaça. (TORRES, 2012; Andrade-Sobrinho, 2002).

O carbamato de etila ocorre na forma de um cristal colunar incolor, inodoro, de sabor salino refrescante e levemente amargo, ou na forma de pó granular. Possui uma massa molecular de 89,09, ponto de fusão entre 48 e 50°C e ponto de ebulição entre 182 e 184°C. É solúvel em água, etanol, éter etílico e clorofórmio (LABANCA, 2004).

Além de ser um componente relacionado à problemas de saúde pública, sua concentração acima de 210 µg.L⁻¹ também é um empecilho para a exportação de aguardente, principalmente para a América do Norte e Europa.

A principal hipótese estudada para a formação de carbamato de etila em bebidas destiladas é a reação entre o etanol e precursores nitrogenados, como ureia, fosfato de carbamila e cianeto, bem como a utilização de alambiques de cobre, o qual pode atuar como catalizador nessas reações (de Andrade-Sobrinho, 2002) aumentando sua concentração acima dos limites permitidos (PEREZ, 2013).

Figura 7: Estrutura do carbamato de etila



2. Objetivo

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito do uso de alambique de aço inoxidável na produção de carbamato de etila na aguardente de licor de laranja. O processo de destilação ocorreu de forma simples e descontínua (batelada).

3. Materiais e Métodos

3.1 Material

3.1.1 Licor de laranja obtido por meio de doação de uma indústria de suco de laranja do interior estado de São Paulo, após prensagem do bagaço.

Figura 8: Licor de laranja armazenado.



3.1.2 Fermento de descarte de indústria cervejeira (*Saccharomyces cerevisiae*) do estado de São Paulo, sendo coletado na saída dos tanques de fermentação, após o quinto fermentativo, com viabilidade média de 87,82%.

3.2 Métodos

3.2.1 Preparação do mosto

Em um recipiente plástico adicionou-se *líquor* de laranja, água e fermento de descarte da indústria cervejeira nas proporções de 2:2:1. A mistura entrou em processo fermentativo logo após a adição do fermento e foi finalizado após 24 horas em temperatura ambiente.

Figura 9: Termômetro utilizado para controle de temperatura e umidade.



Figura 10: Fermentação do *líquor* de laranja.



Figura 11: Recipiente de fermentação.



3.2.2 Determinação do teor de sólidos solúveis totais

Durante o processo fermentativo o teor de sólidos solúveis totais foi medido em °Brix por meio de leitura direta em refratômetro, como descrito na metodologia definida pela Association of Official Analytical Chemists (2000).

Figura 12: Refratômetro



3.2.3 Viabilidade celular do fermento de descarte de indústria cervejeira

A amostra (0,05 mL de vinho de *líquor* de laranja) foi diluída em um tubo de ensaio com solução corante de Ringer (0,95 mL), que é uma solução isotônica de múltiplos eletrólitos. A solução foi agitada vigorosamente por aproximadamente 30 segundos, seguida de descanso de aproximadamente 1 minuto. A suspensão celular foi colocada em uma câmara de Neubauer e examinada ao microscópio óptico onde realizou-se a contagem direta, determinando a porcentagem de células vivas presentes na amostra. As células vivas foram identificadas como incolores, enquanto as células mortas são identificadas como azuis (BONNEU et AL. (1991).

Para calcular a viabilidade e o número total de células, caso seja de interesse utiliza-se a fórmula:

$$V = (v \times 100) / (v + m)$$

Onde:

V = viabilidade;

v = número total de células vivas;

m = número de células mortas

A viabilidade foi observada nos períodos de 0, 2, 4, 6, 8 e 24 horas.

3.2.4 Quantificação do carbamato de etila

Esse método consiste em analisar amostras de 50 mL de coração do destilado após a bidestilação das três bateladas. As análises das amostras de aguardente de licor de laranja foram realizadas no Laboratório de Tecnologia e Qualidade Química de bebidas do Setor de Açúcar e Álcool do Departamento de Alimentos e Nutrição da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, ESALQ/USP na cidade de Piracicaba/SP.

A análise de carbamato de etila foi realizada sem tratamento prévio das amostras, utilizando um cromatógrafo gasoso Shimadzu com detector de massas, modelo GCMSQP2010 Plus, tendo como fonte de ionização o impacto eletrônico com energia de ionização de 70 eV. Foi utilizada coluna cromatográfica capilar de fase polar (polietilenoglicol esterificada) HP-FFAP (50m x 0,20mm x 0,33 μ m de espessura do filme da fase estacionária). As temperaturas do injetor e da interface do detector foram respectivamente 230 e 220°C. Empregou-se a seguinte programação de temperatura para o forno: início com 90°C por 1 minuto, elevação para 150°C a uma taxa de 10°C/min, seguido de aquecimento para 230°C a uma taxa de 30°C/minuto, na qual permaneceu por 2 min. O volume injetado foi de 1,0 μ L no modo “splitless” automático, em duplicata. O gás de arraste foi 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, usado como padrão interno (Clegg & Frank, 1988; Reche et al, 2007). A quantificação foi realizada

mediante comparação dos resultados cromatográficos das amostras com uma curva analítica obtida a partir de uma solução padrão de carbamato de etila, utilizando carbamato de metila na concentração de 150 µg/L como padrão interno.

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico (Sigma-Aldrich) sendo o carbamato de etila (99,0%) e o carbamato de metila (98,0%) adquiridos da Sigma-Aldrich e para as diluições foram utilizados etanol de grau cromatográfico (Merck) e água ultra pura (Milli-Q).

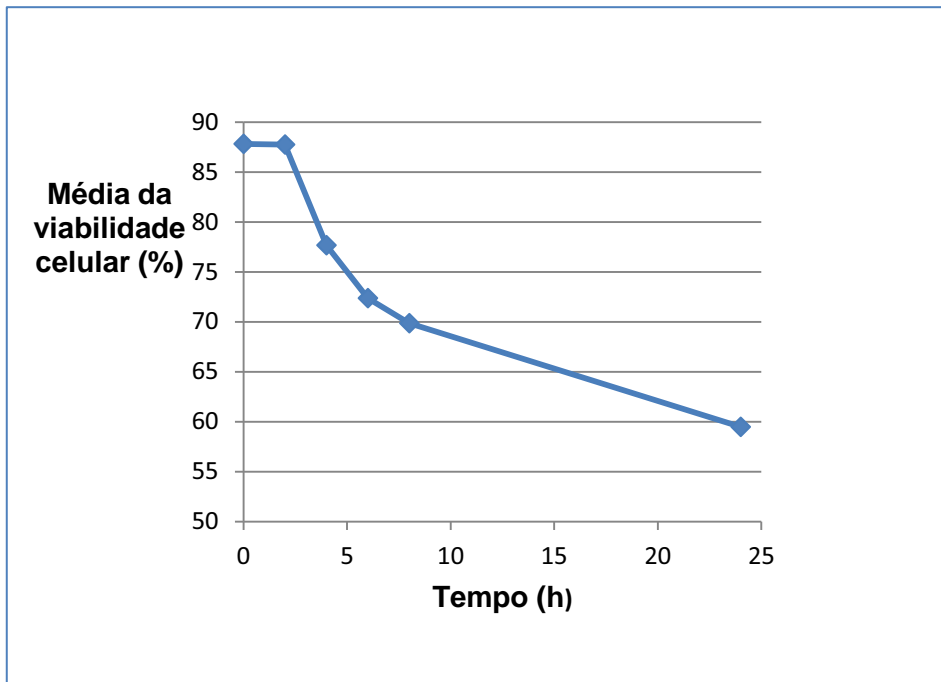
4. Resultados e Discussão

Foram realizadas três fermentações e três bateladas (destilação descontínua, onde a fermentação só começa após o preenchimento do fermentador, momento em que se mistura o mosto e o fermento). Durante as bateladas de *líquor* de laranja, foram obtidos os seguintes resultados (vide Tabela 2 e Figura 13), em média, de viabilidade celular de *Saccharomyces* utilizados:

Tabela 2: Viabilidade média celular do fermento ao longo do processo fermentativo

Tempo (h)	Média da viabilidade celular de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (%)
0	87,82
2	87,75
4	77,67
6	72,37
8	69,86
24	59,48

Figura 13: Gráfico da média da viabilidade celular X Tempo

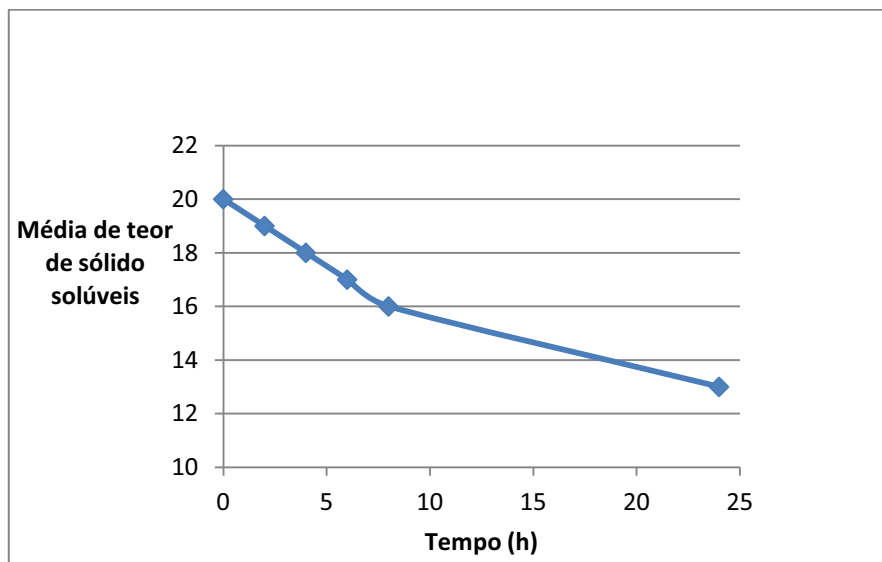


As bateladas duraram 24 horas cada, como realizado em SAITO (2007) em processo fermentativo. Elas foram interrompidas pelo término da produção de gás carbônico, uma vez que as bolhas de CO₂ não estavam mais sendo produzidas. Isso ocorre devido à queda na viabilidade das leveduras. De 87,82% de viabilidade inicial média para 59,37% em 24 horas.

O teor de sólidos solúveis totais também foi acompanhado ao longo das bateladas do *líquor* de laranja, tendo iniciado com um valor próximo a 20° no início da batelada e terminado com 13°Brix. O teor inicial foi propositalmente deixado acima dos valores de outros estudos para garantir que o °Brix não ficasse abaixo do valor desejado ao término da fermentação.

Tabela 3: Média do teor de sólidos solúveis totais X Tempo

Tempo (h)	Média do teor de sólidos solúveis totais (°Brix)
0	20
2	19
4	18
6	17
8	16
24	13

Figura 14: Gráfico da Média do teor de sólidos solúveis totais X Tempo

O rendimento alcoólico (álcool puro) após o processo de destilação ficou na faixa de 30%. Esse rendimento foi obtido após a mistura dos produtos resultantes das três bateladas.

Com relação à produção do carbamato de etila, sua produção ocorreu, mas em menor quantidade do que a observada em estudos anteriores onde a destilação foi realizada em alambique de cobre (PEREZ, 2013) com a concentração máxima encontrada de 75,01, o que está dentro dos valores descritos na Instrução Normativa 13, uma vez que o limite é de até 210. O teor de cobre presente nas amostras analisadas também foi considerado dentro da legislação. O método utilizado para este experimento está de acordo com Alcarde, A.R.; Souza, L.M.; Bortoletto, 2012, com Certificado de Análise n° 02-03/14.

Tabela 4: Teor de cobre e de carbamato de etila na amostra de aguardente de *líquor* de laranja

Itens analisados	Amostra A	Amostra B	Referência IN 13
Cobre ($\mu\text{g/L}$)	0,04	0,02	0-5
Carbamato de etila ($\mu\text{g/L}$)	0,00	75,01	0-150

5. Conclusão:

De acordo com os resultados alcançados neste estudo o uso de alambique de aço inoxidável na produção da aguardente de *líquor* de laranja com fermento de descarte de indústria cervejeira, é considerado adequado por obter uma concentração de carbamato de etila dentro do limite estabelecido por lei, o que habilita o produto ao consumo e a novas etapas de estudo.

6. Referências Bibliográficas

ALCARDE, A.R.; SOUZA, L.M.; BORTOLETTO, A.M. Ethyl carbamate kinetics in double distillation of sugar cane spirit. *Journal of the Institute of Brewing*, v.118, n.1, p.27-31, 2012.

AOAC. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. Gaithersburg-USA: AOAC International, 2000. v. 2, p.26(1)-44(6).

BONNEU, M.; CROUZET, M.; URDACI, M.; AIGLE, M. Direct selection of yeast mutants with reduced viability on plates by eritrosine B. staining. *Analytical Biochemistry*, v. 193, p. 225-230, 1991.

BORRAGINI, M.C.C. Envelhecimento forçado com circulação e aeração da aguardente de cana. 2009. 79f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, Araraquara, 2009.

BOSQUEIRO, A.C. Composição química da aguardente de cana-de-açúcar ao longo do processo de dupla destilação em alambique simples. Tese de mestrado. Piracicaba: Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Orientador Prof. Dr. André Ricardo Alcarde, 2010. 84 p.

BRADDOCK, R.J. *Handbook of citrus by products and processing technology*. Gaithersburg: Aspen Publ., 1999. 449 p.

BRASIL, Instrução Normativa nº13, de 30 de junho de 2005. Aprova o Regulamento Técnico para Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para Aguardente de Cana e para Cachaca. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Diário Oficial da União, DF, 30 de junho de 2005, Seção 1.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 6871, de 4 de junho de 2009. Regulamenta a lei nº 8918, de 14 de julho de 1994. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 5 jun. 2009. p. 20.

Andrade-Sobrinho LG, Boscolo M, Lima-Neto BD, Franco DW: Ethyl carbamate in alcoholic beverages (cachaca, tiquira, whisky and grape). *Quim Nova* 2002, 25:1074-1077.

CLEGG, B.S.; FRANK, R. Detection and Quantitation of Trace Levels of Ethyl Carbamate in Alcoholic Beverages by Selected Ion Monitoring. *J. Agric. Food Chem.*,v. 36, p. 502-505, 1988.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). Disponível em:

<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Graspa/SistemaProducaoGraspa/alambique.htm>. Acesso em 7 mai.2014.

EUROMONITOR INTERNATIONAL LTD. Disponível em:

<http://www.euromonitor.com/>. Acesso em 20 abr. 2014.

FARIA, J. B. Determinação dos compostos responsáveis pelo defeito sensorial das aguardentes de cana (*Saccharum ssp*) destiladas na ausência de cobre. Tese (Livre Docência). Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade Estadual Paulista. Araraquara, 99p, 2000.

FERREIRA, J.O. Estudo da viabilidade técnico-econômica da produção industrial da aguardente do “licor” de laranja. 2005. 84f. Tese (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, Araraquara, 2005.

FORLIN, F.J. Maturação de aguardente de cana composta com extrato de Madeira de carvalho em embalagens de polietileno tereftalato (PET). Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos, 2005.

KIMBALL, D.A. Citrus processing: - a complete guide. 2nd ed. Florida: John Wiley & Sons, 1999. 247 p.

LABANCA, R.A. Teores de carbamato de etila, cobre e grau alcoólico em aguardentes produzidas em Minas Gerais. 2004. 62 f. Tese (Mestrado em Ciência de Alimentos), Universidade Federal de Minas Gerais, MG.

LIMA, U. A. Aguardentes. São Paulo: Edgard Blucher, Biotecnologia, v.5, 79-103p, 1983.

LORENZETI, N.C. Perfil sensorial e aceitabilidade de aguardentes de “*liquor*” de laranja. 2009. 140f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, Araraquara, 2009.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. Disponível em <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/citrus/saiba-mais>. Acesso em 24 mar. 2014.

MOSEDALE, J.R.; PUECH, J.L. Wood maturation of distilled beverages. *Food Sci. Technol.*, n. 9, p. 95-101, 1998.

NASCIMENTO, R. F.; Cardoso, D. R.; Faria, J. B.; Lima-Neto, B. S.; Franco, D. W.; *Quim. Nova* 1998, 21, 735

NOGUEIRA, A. M. P., VENTURINI-FILHO, W. G. V. Aguardente de cana. Botucatu: Faculdade de Ciências Agronomicas, 2005

NEVES, M. F.; TROMBIM, V. G.; MILAN, P.; LOPES, F. F.; CRESSONI, F.; KALAKI, R. O retrato da citricultura brasileira, São Paulo: CitrusBR, 2011.

NOVAES, F. V. Nocoés básicas sobre a teoria da destilação. Piracicaba: ESALQ/Depto de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, 22p, 1994.

PEREZ. C. A. Estudo da viabilidade da levedura de descarte da indústria cervejeira na obtenção da aguardente de “*liquor*” de laranja. 2013. 57 f. Dissertação (Mestrado

em Ciências dos Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, Araraquara 2013.

PIGGOTT, J. R. Ç.; SHARP, R. Ç.; DUNCAN, R. E. B. The Science and Technology of Whiskies. New York: Longman Scientific & Technical, 1989. 410 p.

RECHE, R. V.; NETO, A.F.L.; SILVA, A.A.; GALINARO, C.A.; OSTI, R.Z.; FRANCO, D.W. Influence of Type of Distillation Apparatus on Chemical Profiles of Brazilian Cachaças. J. Agric. Food Chem., v. 55, p. 6603-6608, 2007.

ROÇAFA JUNIOR, H.; PADOVAN, F.C.; FARIA, J.B. Obtenção de uma bebida fermento-destilada a partir do “licor” de laranja. Alim. Nutr., Araraquara, v. 16, n. 4, p. 321-325, 2005.

ROTA, M. B. Efeito do processo de bidestilacao na qualidade sensorial da cachaca. Dissertacao(Mestrado em Ciencia de Alimentos) - Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”.Faculdade de Ciencias Farmaceuticas, Departamento de Alimentos e Nutricao, Campus Araraquara, 80p, 2008.

SAITO, F.H.S.F. Utilização de fermento de descarte de cervejaria na produção de aguardente de “licor” de laranja. 2007. 75f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, Araraquara, 2007.

SISTEMA DE CONTROLE DE PRODUÇÃO DE BEBIDAS (SICOB). Disponível em: <http://www.receita.fazenda.gov.br/Legislacao/LegisAssunto/Sicobe.htm>. Acesso em: 15 Abr. 2014.

SILVA B. V. Envelhecimento de cachaca artesanal em toneis de diversos tipos de madeira com 20L de capacidade. 2009. Dissertacao (Trabalho de iniciação científica) – VIII Congresso Brasileiro de Engenharia Quimica em Iniciacao Cientifica.

TETRA-PAK. The orange book. Lund-Sweden: Tetra Pak Processing System AB, 1998. 206 p.

TORRES, E.M.J; BOESSO, F.F.; HENRIQUE, C.M. A redução do carbamato de etila em cachaça pelo método da redestilação. Pesquisa & Tecnologia, vol. 9, n. 2, Jul-Dez 2012. Disponível em www.aptaaregional.sp.gov.br em 23 de março de 2014.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Disponível em <http://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/citrus.pdf> . Acesso 30 jul. 2014.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Disponível em http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112736/1/9789240692763_eng.pdf?ua=1. Acesso em 27 mai. 2014.

Araraquara, 22 de outubro de 2014

Professor Dr. João Bosco Faria

Victor Augusto da Silva