

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**QUALIDADE DA CACHAÇA EM FUNÇÃO DO
TRATAMENTO DO CALDO E TIPO DE
FERMENTO**

Mara Lucia Dias Ribeiro

Tecnóloga em Processos Sucoalcooleiro

2016

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**QUALIDADE DA CACHAÇA EM FUNÇÃO DO
TRATAMENTO DO CALDO E TIPO DE FERMENTO**

Mara Lucia Dias Ribeiro

Orientadora: Profa. Dra. Márcia Justino Rossini Mutton

Co-Orientador – Prof. Dr. Miguel Angelo Mutton

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Microbiologia Agropecuária

2016

R484q Ribeiro, Mara Lucia Dias
Qualidade da cachaça em função do tratamento do caldo e tipo de
fermento / Ribeiro Mara Lucia Dias Ribeiro. -- Jaboticabal, 2016
viii, 52 p. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2016
Orientadora: Márcia Justino Rossini Mutton,
Co-Orientador: Miguel Angelo Mutton
Banca examinadora: Gisele Cristina Ravaneli. Leonardo Lucas
Madaleno
Bibliografia

1. Aguardente. 2. Cana-de-açúcar. 3. Fermento natural. I. Título. II.
Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 576.8:633.61

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: QUALIDADE DA CACHAÇA EM FUNÇÃO DO TRATAMENTO DO CALDO E
TIPO DE FERMENTO

AUTORA: MARA LUCIA DIAS RIBEIRO

ORIENTADORA: MARCIA JUSTINO ROSSINI MUTTON

CO-ORIENTADOR: MIGUEL ANGELO MUTTON

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em MICROBIOLOGIA
AGROPECUÁRIA, pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. MARCIA JUSTINO ROSSINI MUTTON
Departamento de Tecnologia / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Consultora Dra. GISELE CRISTINA RAVANELI
Setor Sucroenergético / Ribeirão Preto/SP

Prof. Dr. LEONARDO LUCAS MADALENO
Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza / FATEC - Jaboticabal/SP

Jaboticabal, 08 de março de 2016.

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

MARA LUCIA DIAS RIBEIRO – Nasceu aos quatro dias do mês de novembro de 1970, na cidade de Frutal, estado de Minas Gerais. Em janeiro de 1991 ingressou no curso de Ciências Econômicas na Universidade de Uberaba – UNIUBE, Campos de Frutal, recebendo o título de Economista em 1996. Em janeiro de 2008 ingressou no curso Superior de Tecnologia em Processos Sucroalcooleiro na Universidade do Estado de Minas Gerais – UEMG, Campus de Frutal, recebendo o título de Tecnóloga em Processos Sucroalcooleiro em 2010. Em julho de 2009 ingressou no curso de Especialização em Gestão Ambiental pela Faculdade Integrada de Jaquarepaguá RJ, recebendo o título de Especialista em Gestão Ambiental em março de 2010. Em agosto de 2013 ingressou no Programa de Mestrado Interinstitucional (MINTER) - Pós-Graduação em Microbiologia Agropecuária da FCAV-UNESP Jaboticabal, SP em parceria com a Universidade do Estado de Minas Gerais UEMG-Unidade de Frutal, obtendo o título de Mestre e Microbiologia Agropecuária em março de 2016.

Epígrafe

Bons alunos aprendem a matemática numérica vão além, aprendem a matemática da emoção, que não tem conta exata e que rompe a regra da lógica. Nessa matemática você só aprende a multiplicar quando aprende a dividir, só consegue ganhar quando aprende a perder, só consegue receber, quando aprende a se doar.

Augusto Cury

A meu esposo e companheiro de todos os momentos Liomar e aos meus filhos, Lucas e Gabriel desculpando-me pela ausência e descuido durante o período da elaboração do trabalho de dissertação.

Dedico

A meus pais falecidos Anita Querino Dias e Eurípedes Ribeiro dos Santos, que sempre me apoiaram em meus estudos, dedicação constante para que hoje eu pudesse estar aqui.

Minha homenagem

A minha tia Eunice por me incentivar sempre nos meus estudos.

Dedico e agradeço

AGRADECIMENTOS

Em especial, agradeço e dedico esta dissertação aos meus familiares, pela compreensão de minha ausência durante a elaboração deste trabalho.

Agradeço a orientadora Professora Dra. Márcia Justino Rossini Mutton e ao Co-orientador Professor Dr. Miguel Angelo Mutton, pelo acolhimento, pelos ensinamentos necessários e preciosos ao desenvolvimento deste trabalho.

Ao Programa de Mestrado Interinstitucional - MINTER - Microbiologia Agropecuária - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal (FCAV/UNESP) e Universidade do Estado de Minas Gerais - (UEMG) – Unidade de Frutal possibilitando capacitação.

À minha amiga Graciany Garcia que sempre esteve do meu lado dando força e apoio.

À Profa Dra. Osania Emerenciano Ferreira, que me ajudou na condução do experimento com sugestões e conselhos.

A todos do Laboratório de Tecnologia do Açúcar e do Alcool, pelos bons momentos de aprendizado, e pela colaboração na condução do experimento: Aline, Cristhyane, Franciele, Gustavo, Juliana Roviero, Leticia, Lidyane, Marcel, Sérgio Luís Nobukuni, Vitor.

Aos técnicos de laboratório UEMG – Unidade Frutal, Jorcelino e Fernanda, Jaila e Pedro pelo auxílio no experimento.

Ao Prof. Rodrigo Ney Millan e Gustavo Gravatim – pela colaboração na estatísticas.

COPACESP- Cooperativa dos Produtores de Cana, Aguardente, Açúcar e Alcool do Estado de São Paulo pela colaboração nas análises físico-químicas e cromatográficas das cachaças.

À Professora Maria das Graças Cardoso da UFLA – Universidade Federal de Lavras pela colaboração nas análise de Carbamato.

Aos membros da banca examinadora, Gisele Cristina Ravaneli e Leonardo Lucas Madaleno pela participação e considerações.

Agradeço, sobretudo, a Deus, que me concedeu a oportunidade de realizar mais uma etapa em minha vida.

SUMÁRIO

RESUMO -	iii
LISTA DE FIGURAS.....	v
LISTA DE TABELAS	vi
LISTA DE QUADROS	vii
LISTA DE SIGLAS.....	viii
INTRODUÇÃO	8
2. REVISÃO DE LITERATURA	10
2.1 Cachaça	10
2.2 Processo produtivo da cachaça	10
2.3 Matéria-prima para produção da cachaça	12
2.4 Tratamento do caldo	13
2.5 Leveduras.....	13
2.6 Fermentação do mosto.....	14
2.7 Destilação.....	17
2.8 Componentes secundários e qualidade da cachaça	18
2.8.1 Acidez.....	20
2.8.2 Ésteres	20
2.8.3 Aldeídos	20
2.8.4 Álcoois superiores	21
2.8.5 Metanol.....	22
2.8.6 Carbamato de etila	22
3. MATERIAL E MÉTODOS	24
3.1 Delineamento experimental.....	24
3.2 Matéria-Prima.....	24
3.3 Preparo do fermento	24
3.4 Preparo do fermento	25
3.5 Condução do processo fermentativo	26
3.6 Eficiência fermentativa	27
3.7 Caracterização do vinho e destilados.....	28
3.8 Determinações de macro e micronutrientes	28
3.9 Caracterização dos destilados por cromatografia	29
3.10 Análise estatística.....	30
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
4.1 Característica da matéria-prima empregada	31

4.2 Mosto e processo fermentativo	33
4.3 Nutrientes do vinho	34
4.4 Viabilidade celular	35
4.5 Composição das cachaças.....	39
5. CONCLUSÕES	45
REFERÊNCIAS.....	46

QUALIDADE DA CACHAÇA EM FUNÇÃO DO TRATAMENTO DO CALDO E TIPO DE FERMENTO

RESUMO - A cachaça é a aguardente produzida a partir da destilação do fermentado de caldo de cana. Diversos fatores afetam negativamente a qualidade deste destilado, dentre esses o processo produtivo, e a levedura utilizada na fermentação. Avaliou-se o desempenho de dois tipos de fermento (selecionado e natural) e o prévio tratamento físico-químico do caldo de cana e sua influência na qualidade do destilado final. O experimento foi realizado na safra 2014/2015, utilizando-se a variedade de cana-de-açúcar SP83-2847, obtida da Fazenda Santa Clara, localizada à 21°14'05''S e 48°17'09''W. O delineamento experimental foi realizado em blocos casualizados com 9 repetições, sendo 3 ciclos com 3 repetições cada. O tratamento primário principal, foi constituído por 2 mostos (clarificado e não clarificado); e o secundário os dois tipos de leveduras (Natural e CA-11). Avaliou-se a qualidade da cana e no mosto determinou-se: Brix, Compostos Fenólicos Totais (CFT), Açúcares Redutores Totais (ART) e Acidez Total. Ao longo do processo fermentativo avaliou-se a Viabilidade das Células e Brotos e o Índice de Brotamentos. No vinho determinou-se o Brix, Açúcares Redutores Residuais Totais (ARRT), pH, Acidez Total, Teor Alcoólico, Glicerol e Eficiência Fermentativa. A composição das cachaças (Acroleína, Acidez volátil, Acetaldeído, Carbamato de etila, Ésteres, Metanol, Alcoóis superiores (propílico, isobutílico, isoamílico)) foi determinada por cromatografia. Analisou-se ainda Condutividade Elétrica, Turbidez e pH. A utilização da levedura selecionada CA-11 e o prévio tratamento do caldo possibilitou a obtenção de destilados de melhor qualidade e com composição química dentro dos limites estabelecidos pela legislação brasileira.

Palavras-chave: Aguardente, Cana-de-açúcar, Fermento natural, CA-11, Tratamento físico-químico.

CACHAÇA QUALITY ACCORDING TO THE JUICE TREATMENT AND YEAST

ABSTRACT: Cachaça is the spirit produced from the distillation of fermented sugarcane juice. Several factors affect negatively the productive chain, among them the juice treatment and the yeast used into the fermentative process. We evaluated the performance of two different yeast (selected and natural) as well the previous physical-chemical treatment of sugarcane juice and its influence in the final spirit. The experiment was carried out through 2014-2015 season, using the SP83-2847 sugar cane variety which was obtained at Santa Clara Farm, located at 21°14'05"S e 48°17'09"W. The experimental statistic design used was the randomized blocks with three cycles and three replications each. The main primary factor had two types of musts (clarified and non-clarified) and the secondary two types of yeast (Natural and CA-11). We evaluated the sugarcane and must and we determined: Brix, Total Phenolic Compounds (CFT), Total Reducing Sugars (ART) and Total Acidity. Along the fermentative process we evaluated the Cells and Sprouts Viability and the Sprouting Index. At the wine we determined the Brix, Total Reducing Residual Sugars (ARRT), pH, Total Acidity, Alcohol By Volume, Glycerol, and Fermentative Efficiency. The cachaça composition (Acrolein, Volatile Acidity, Acetaldehyde, Ethyl Carbamate, Total Esters, Methanol, Superior Alcohols (propilic, isobutilic, isoamilic)) was determined through gas chromatography. Yet, we determined the Electric conductivity, Turbidity and pH. Using the selected yeast CA-11, together to the previous treatment of the juice, we could obtain spirits with higher quality and with a chemical composition fitting the Brazilian Legislation parameters.

Keywords: Aguardente, Sugarcane, Natural yeast CA-11, Physical-chemical treatment.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fluxograma das etapas de produção da cachaça.....	11
Figura 2. Esquema do processo de fermentação	16
Figura 3. Equação simplificada do carbamato de etila	23
Figura 4. Interação entre tratamento do caldo e leveduras para Açúcares Redutores Residuais em vinho, Letras minúsculas comparam tratamento do caldo (DMS=0,16) e letras maiúsculas comparam leveduras (DMS=0,16), CV (%)=38,44. Jaboticabal-SP, Safra 2014.	38
Figura 5. Interação entre tratamento do caldo e leveduras para o parâmetro Glicerol do vinho, Letras minúsculas comparam tratamento do caldo (DMS=0,16) e letras maiúsculas comparam leveduras (DMS=0,16), CV (%)=38,44. Jaboticabal-SP, Safra 2014/2015.....	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores médios para Brix; ART; Acidez Total e Compostos Fenólicos para a caracterização dos mostos clarificado e não clarificado, Jaboticabal, SP. Safra 2014/2015.....	34
Tabela 2. Valores médios dos nutrientes presentes no vinho utilizado para a fermentação Jaboticabal/SP. Safra 2014/2015.	35
Tabela 3. Valores médios obtidos para Viabilidade Celular, Viabilidade de Brotos e Índice de Brotamentos das leveduras Natural e CA-11, no início da fermentação de mostos obtidos a partir de caldo original e clarificado. Jaboticabal/SP, Safra 2014/2015.	36
Tabela 4. Valores médios e resultados da análise de variância para Açúcares Redutores Residuais Totais (ARRT), pH, Acidez total (AT) e Glicerol, Teor Alcoólico, Eficiência fermentativa do mosto vinho. Jaboticabal/SP, Safra 2014/2015.	37

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Indicadores da composição tecnológica da cana-de-açúcar e valores recomendados.....	12
Quadro 2. Composição da cachaça acordo com a Instrução Normativa nº 13 de 2005. Fonte: Brasil (2005).....	19
Quadro 3. Limites máximos para contaminantes orgânicos estabelecidos pelo MAPA para a cachaça.	19
Quadro 4. Valores obtidos para características do caldo original durante o período experimental. Jaboticabal – SP. Safra 2014/2015.....	31
Quadro 5. Resultados de temperatura, umidade relativa e precipitação da região de jaboticabal-SP, para o período experimental.....	32
Quadro 6. Resultados obtidos para a composição das cachaças a partir dos tratamentos estudados. Jaboticabal-SP. Safra 2014/2015.	40

LISTA DE SIGLAS

AR	Açúcares Redutores
ARRT	Açúcares Redutores Residuais Totais
ART	Açúcares Redutores Totais
CFT	Compostos Fenólicos Totais
CG	Cromatografia Gasosa
CTC	Centro de Tecnologia Canavieira
CV	Coefficiente de Variação
DMS	Desvio Mínimo Significativo
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MC	Mosto Clarificado
MNC	Mosto Não Clarificado
pH	Potencial Hidrogeniônico
TFC	Tratamento Físico do Caldo

1 INTRODUÇÃO

A cachaça é a segunda bebida em mercado de bebidas alcoólicas no Brasil, ficando atrás apenas da cerveja, sendo internacionalmente reconhecida, destaca-se como o terceiro destilado mais consumido no mundo. É obtida pela destilação do vinho de cana, com graduação alcóolica de 38% vol (trinta e oito por cento em volume) a 48% vol (quarenta e oito por cento em volume), a temperatura de 20°C, além de vários compostos que lhe conferem características sensoriais peculiares, podendo ter a adição de até 6g.L⁻¹ (seis gramas por litro), expressos em sacarose (ABRABE, 2015).

A produção e o consumo de destilados cresceram nos últimos anos, acompanhando este crescimento a cachaça, produto genuinamente brasileiro ganha espaço e destaque, com importância econômica no mercado nacional e internacional. Diante deste cenário é preciso que o produtor busque novas tecnologias que tragam além de maior produtividade, melhorias no rendimento, e qualidade do produto final.

Para o Brasil, é muito importante o desenvolvimento de novas alternativas que melhorem a qualidade da bebida e mantenha suas propriedades físico-químicas e características sensoriais, atributos estes que a distinguem de outras bebidas destiladas (ZACARONI et al., 2011).

De acordo com o processo produtivo e a matéria-prima empregada, a bebida pode ter as qualidades sensoriais agradáveis. Nesse sentido, o tratamento do caldo destaca-se como etapa importante, pois pode reduzir impurezas que atuam como precursores na formação de compostos indesejáveis, que desqualificam a bebida. Portanto, estudos que avaliam a interferência do tratamento físico-químico do caldo são importantes no sentido de trazer informações para que o produtor agregue qualidade à cachaça.

Outro fator importante que influencia no processo produtivo da cachaça é o tipo de fermento utilizado. No sistema de produção artesanal utiliza-se do fermento nativo ou natural, obtido do ecossistema agroindustrial. Neste, um grande número de estirpes de leveduras podem estar presentes geralmente, apresentando pequena tolerância ao álcool, além de favorecerem a formação de diversos compostos que dificultam a padronização do produto (LIMA et al., 2007).

A utilização de fermento selecionado proporciona fermentações mais puras e com maior eficiência, uma vez que se trabalha com células de leveduras que possuem melhor adaptação às condições do meio fermentativo (ALCARDE, et al., 2012).

Os componentes da cachaça, classificados como secundários, são representados por compostos minoritários oriundos de reações provenientes dos processos de fermentação, destilação e envelhecimento (SOUZA et al., 2013; CARDOSO, 2013). Estes componentes são especialmente importantes, por conferirem cheiro, gosto e “bouquet” especiais, definindo as características químico-sensoriais da bebida.

Para obtenção de uma bebida de qualidade, os compostos secundários totais, devem obedecer aos limites estabelecidos pela Instrução Normativa nº 13/2005 (BRASIL, 2005) e Instrução Normativa nº 28/2014 (BRASIL, 2014).

Neste contexto, tanto o tratamento do caldo de cana e o tipo de fermento utilizado no processo de fermentação alcoólica, apresentam-se como alternativas viáveis, aliadas as Boas Práticas de Fabricação (BPF), para que os pequenos, médios e grandes produtores busquem novas tecnologias que tragam além de maior produtividade, melhorias no rendimento, e qualidade da cachaça.

Portanto, objetivou-se com este estudo avaliar os reflexos do tratamento do caldo e a influência do tipo de fermento “natural e selecionado” no processo fermentativo destinado à produção de cachaça, avaliando a composição e qualidade do destilado final.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cachaça

A Cachaça, bebida brasileira é obtida pela destilação do vinho de cana, sua produção pode ser através de dois processos “artesanal” ou industrial. Para produção da cachaça “artesanal” ou cachaça de alambique a bebida é destilada em alambique feito de cobre. A produzida em escala industrial ou “cachaça de coluna” utiliza o processo de destilação de coluna contínua constituída de inox (GONÇALVES, 2009).

O destilado da cachaça é constituído principalmente de etanol e água, os demais compostos presentes e suas respectivas concentrações são formados, em diferentes níveis, tais como, compostos orgânicos, os quais são incorporados ao longo de todo o processo produtivo, sendo conhecidos como congêneres (ácidos orgânicos, ésteres, aldeídos e álcoois superiores) (BOSCOLO et al., 2000).

A cachaça é uma bebida com características peculiares, que lhe conferem sabor e aroma únicos, à linhagem de levedura empregada às condições de fermentação, de destilação e de envelhecimento, são os principais responsáveis pelas características sensoriais e químicas da bebida (SOUZA et al., 2013; CARDOSO, 2013).

2.2 Processo produtivo da cachaça

Para a produção de cachaça, deve-se utilizar variedades de cana-de-açúcar em ponto de maturação e sanidade adequados, ou seja, sadios e livres de impureza. Após a colheita, a cana é processada e o caldo é separado do bagaço. O caldo é submetido à filtração e decantação para separação do bagacilho (CLETO, 1997).

Em seguida é recomendado o tratamento do caldo, que é feito através da adição de leite de cal para correção do pH com elevação da temperatura até 105°C, (para remoção de impurezas solúveis) (DOHERTY; RACKEMANN, 2009).

Para que ocorra a fermentação é necessário ajustar o Brix, pH, temperatura do caldo clarificado, sendo que após estes ajustes, é denominado mosto. O mosto

é colocado para fermentar na presença de leveduras (“pé-de-cuba”). (SCHWAN, et al., 2013). Depois de terminada a fermentação faz-se a separação: do material fermentado (vinho) e do fermento (que normalmente é utilizado no próximo ciclo de fermentação), o vinho então passa por processo de destilação, a qual pode ocorrer em alambiques ou em colunas.

Durante a destilação, são separadas frações de cabeça e cauda, o coração e a fração é o destilado desejado a “cachaça” (BORTOLETTO, 2015). Na Fig 1. traz um o fluxograma com todas a etapas do processo produtivo de cachaça.

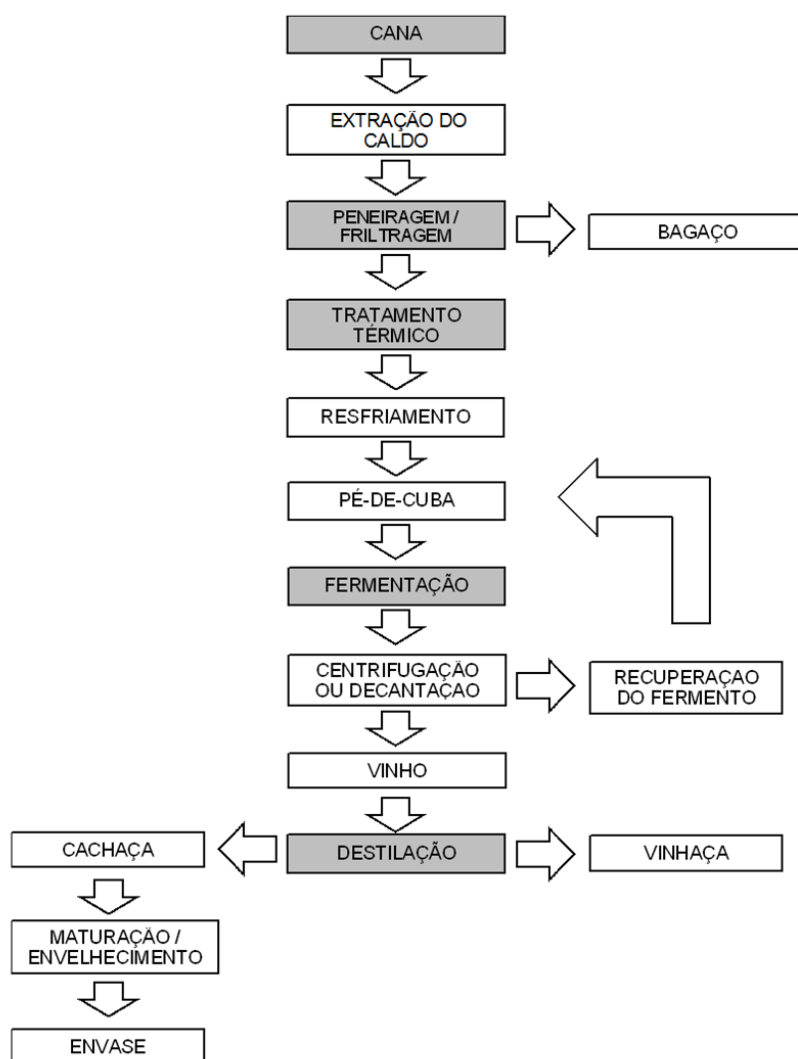


Figura 1. Fluxograma das etapas de produção da cachaça.

Fonte: Elaborado pelo autor, adaptado de Sakai (2015).

2.3 Matéria-prima para produção da cachaça

A matéria-prima para a fabricação da cachaça é cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*) de origem asiática, é cultivada em regiões tropicais, com diversas variedades disponíveis para utilização, são resultantes de diversos cruzamentos, e a escolha das mesmas se dá de acordo com a sua maturação: precoce, média e tardia e. (STUPIELLO, 1992). Outro fator importante a ser considerado é que a cultura pode sofrer com a infestação por pragas e doenças, que resultam em menor produtividade, que interferem na qualidade da matéria-prima e consequente qualidade da cachaça (MUTTON e MUTTON, 2010).

Para Oliveira (2010) o plantio da cana-de-açúcar pode ser feito em duas épocas do ano, entre os meses de outubro-novembro (nesta época não é recomendada, sendo plantada quando há necessidade de matéria-prima) e entre janeiro e março que é propício. Nessa época, pela influência das condições climáticas de temperatura e precipitação, brotação, o desenvolvimento do sistema radicular o estabelecimento do sistema radicular e o estabelecimento da cultura são rápidas. (MUTTON e MUTTON, 2010).

No quadro 1. A seguir é mostrado o indicador de qualidade da matéria-prima.

Quadro 1. Indicadores da composição tecnológica da cana-de-açúcar e valores recomendados.

Indicadores	Valores Recomendados
Fibras	8-18%
Caldo	86-92%
Água (75-82%)	75-82%
Sólidos solúveis/Brix	18-25%
Açúcares	15,5-27%
Sacarose	12-18%
Glicose	0,2-1%
Frutose	0,2-1%
Não-açúcares, tais como ácidos, aminoácidos, proteínas, ceras, gorduras, corantes, K ₂ O, P ₂ O ₃ , CaO, MgO	1-2,5%

Fonte: Mutton e Mutton, (2010).

2.4 Tratamento do caldo

O tratamento do caldo é o processo que visa eliminar a máxima quantidade de impurezas solúveis e materiais contaminantes (terra, compostos fenólicos, ácidos, aminoácidos, proteínas, corantes), visando uma boa condução no processo fermentativo que irá garantir a qualidade do processo. Objetivando melhorar o mosto a ser fermentado, é feita a filtragem de bagacilhos, ricos em substâncias pécticas possuindo unidades metoxilas, que quando liberadas pelas enzimas das leveduras fermentativas, dão origem ao metanol, produto indesejável (CLETO, 1997).

O processo é iniciado com a peneiragem do caldo, com o objetivo de remover bagacilhos em suspensão, em seguida, para o tratamento de caldo adiciona-se o leite de cal que através de reações químicas entre fosfatos dissolvidos na matéria-prima resultam na coagulação dos materiais presentes, formando precipitado insolúvel que adsorve e arrasta as impurezas, tais como ácidos e compostos fenólicos (ALBUQUERQUE, 2011).

O objetivo do tratamento do caldo é reduzir impurezas presentes no caldo de cana, que atuam como precursores na formação de substâncias indesejáveis melhorando o processo de fermentação e composição do destilado (ATKINS; DE PAULA, 2002).

2.5 Leveduras

. As leveduras para bebidas fermentadas são selecionadas a partir do isolamento de cepas com características desejáveis. Para que ocorram fermentações ideais, o fermento escolhido deve apresentar alta velocidade de fermentação, tolerância ao álcool, resistência à acidez e à temperatura elevada, estabilidade genética e rendimento do processo (MUTTON e MUTTON, 2010). (PATARO et al., 2002).

As leveduras selecionadas são alvos de pesquisa, visando um aumento da produtividade do produto final, vantagens tecnológicas e melhoria das características sensoriais da cachaça (PATARO et al., 2002). Já as leveduras “naturais” devido a sua biodiversidade ainda são passíveis de estudos que determinem o potencial de

aplicação destas na produção de bebidas (SOARES et al., 2011).

A escolha do tipo de linhagem pode influenciar a eficiência e a qualidade do processo fermentativo, bem como a qualidade química e sensorial da bebida alcoólica produzida (SOARES; SILVA e SHWAN, 2011). O uso de cepas selecionadas de *S. cerevisiae* no processo de produção de cachaça tem aumentado a produtividade e melhorado a qualidade da bebida em muitos alambiques, especialmente no que se refere aos teores de acidez e concentração de álcoois superiores.

A utilização de levedura selecionadas na produção de cachaça de alambique acelera o início do processo fermentativo, diminui o risco de contaminação microbiológica, reduz a concentração de açúcares residuais, aumenta a produtividade do processo e melhora a padronização da fermentação, contribuindo para a qualidade da bebida (ALCARDE, MONTEIRO e BELLUCO, 2012).

Segundo Soares, Silva e Schwan (2011), linhagens selecionadas de *S. cerevisiae* ao serem inoculadas nas dornas, tem se destacado, por serem competitivas, e apresentarem rápida multiplicação celular sendo bem adaptadas ao ambiente industrial. Estas competem com as leveduras selvagens do meio que muitas vezes interferem negativamente no processo fermentativo, desse modo vem a solucionar o problema da heterogeneidade, e garantir que a qualidade do produto final apresente características organolépticas superiores e constantes ao longo das safras (CAMPOS et al., 2010; GOMES et al., 2010).

A levedura selecionada *S. cerevisiae* CA-11 apresenta característica floculante, é disponibilizada no Brasil em sua forma desidratada ativa, podendo ser utilizada prontamente para fermentação. Em unidades produtoras de cachaça que fazem uso dessa levedura têm se verificado um aumento significativo no rendimento, e na melhoria da qualidade e produtividade de cachaça. (CARDOSO, 2013).

2.6 Fermentação do mosto

O caldo extraído da cana-de-açúcar que passou pelo processo de correção de Brix e pH ou tratamento físico-químico que está apto a fermentar é denominado mosto (SORATO, 2007).

Para a fermentação ser completa, adequada para o bom rendimento em

fermentação importante é que os teores de (ART) no mosto, sejam superiores a açúcares em torno de 12% para que se alcance bons rendimentos fermentativos.

De acordo com Mutton e Mutton, (1992), mostos muito diluídos geram fermentações mais rápidas, resultando em menor teor alcoólico do vinho, maior consumo de água diluição e facilidade de contaminação do mosto. No entanto, na utilização de mostos muito concentrados as fermentações são incompletas e demoradas, acarretando a perda do açúcar e menores rendimentos na destilação.

De acordo com (CARDOSO, 2013), a temperatura do mosto em fermentação, o ideal para o metabolismo das leveduras durante a fermentação permanecesse entre 26-32°C temperaturas abaixo da ideal, há maior gasto de energia para completar o ciclo celular das leveduras, enquanto em temperaturas muito elevadas, ou seja, acima de 35°C a algumas leveduras deixa de se multiplicar e perde a viabilidade, além de ocorrer o favorecimento do desenvolvimento de bactérias (ANGELIS, 1992).

A fermentação alcóolica é processo de oxidação anaeróbica parcial da glicose, pela ação das leveduras principalmente, em etanol, CO₂ e componentes secundários ou congêneres, tais como ácidos carboxílicos, metanol, ésteres, aldeídos e álcoois superiores, que podem influenciar positivamente ou negativamente a qualidade da bebida, através de reações químicas mediadas por enzimas (LEHNINGER, 2000).

Segundo o Regulamento de Avaliação de Conformidade do INMETRO, RAC 126 (2005), as dornas de fermentação devem ser de aço carbono ou inoxidável e sempre ficar isoladas das outras áreas de produção, para facilitar a limpeza e higienização. A fermentação do caldo de cana resulta no chamado vinho volante, que segue para a destilação. O fermento presente nesse caldo pode ser centrifugado, ou simplesmente decantado para a retirada das leveduras para utilização no próximo processo de fermentação. A decantação, pela facilidade, é o processo utilizado pela maior parte dos produtores de cachaça (SORATO, 2007). Na Figura 2 é apresentada as fases do processo de fermentação.

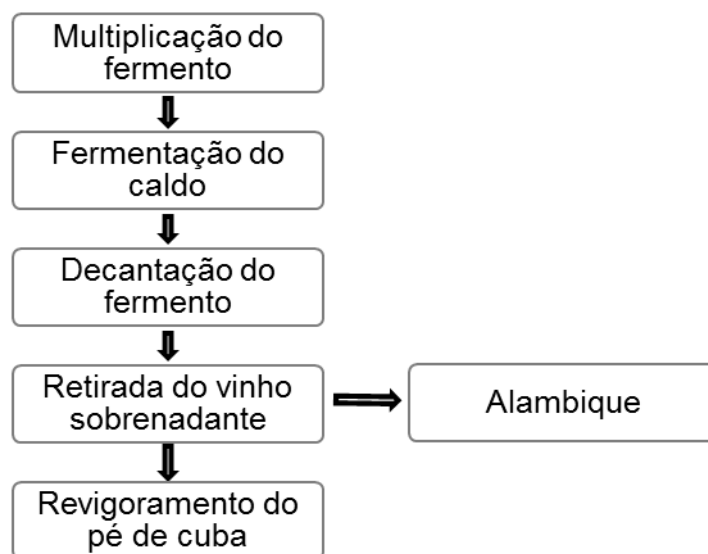


Figura 2. Esquema do processo de fermentação

. Fonte: Adaptado de Boscolo (2001).

O desempenho do processo fermentativo é significativamente afetado pela linhagem da levedura (BASSO, 1996). As leveduras utilizadas na fabricação de bebidas alcoólicas geralmente são linhagens de *S. cerevisiae*. Nas fermentações espontâneas, um grande número de espécies podem estar envolvidas, com predominância de *S. cerevisiae* (REED; NAGODAWITHANA, 1991; PATARO, 2000). Segundo Alves (1994), a viabilidade celular é extremamente importante para o desenvolvimento do processo fermentativo e a tolerância da levedura ao produto da fermentação é determinante na produtividade em álcool de fermentações em escala industrial.

O processo fermentativo inicia logo que a levedura entra em contato com o mosto e é dividido em três fases: fase preliminar ou pré-fermentação, caracterizada pela adaptação das leveduras e multiplicação celular; fase de fermentação principal e tumultuosa, com desprendimento abundante de gás e produção de etanol e fase de fermentação complementar ou pós-fermentação, onde se observa redução da atividade fermentativa (JANZANTTI, 2004).

Vários fatores interferem na qualidade das bebidas alcoólicas destiladas

como: a qualidade da matéria-prima, o tipo e o método de condução do processo fermentativo, as práticas tecnológicas, as operações unitárias envolvidas no processamento, a destilação e o envelhecimento. Portanto, considerando que a maioria dos compostos responsáveis pelo aroma e sabor é nessa etapa, as leveduras e as condições de fermentação são consideradas como os fatores que mais influenciam nas características sensoriais da cachaça (GONÇALVES, 2009).

Ao final da fermentação do mosto, obtém-se o vinho, produto com diversos constituintes de natureza gasosa, líquida e sólida. Os componentes de natureza gasosa, predomina o gás carbônico, formado durante a transformação do ácido pirúvico em acetaldeído e CO_2 SCHWAN, DIAS E DIAS (2013).

2.7 Destilação

A destilação consiste em aquecer o vinho resultante da fermentação, produzindo vapores que são condensados por resfriamento, resultando em etanol e outros compostos (SORATO, 2010). Os principais componentes da cachaça são água e etanol, em quantidade e proporções variáveis, da mesma forma que outras bebidas destiladas. Por isso, no processo de destilação é importante, pois é através dele que ocorre a separação dos componentes voláteis, representados por metanol, álcoois superiores, ácido acético, ésteres, ácidos carboxílicos e compostos carbonílicos, os quais são importantes para o aroma e sabor da bebida (BOSCOLO et al., 2000).

Os principais componentes líquidos são representados pelo álcool etílico, que aparece nos vinhos numa proporção de 5 a 10% em v/v, e a água em maior proporção, que somam mais de 99% em v/v. Além desses dois componentes, outras substâncias líquidas se fazem presentes em menor proporção: os ácidos succínico e acético, a glicerina, o furfural, os álcoois superiores (amílico, isoamílico, propílico, isopropílico, butílico, isobutílico), aldeído e acético etc. (JANZANTTI, 2004).

Utilizando-se de um alcoômetro, faz-se a medição do grau alcoólico resultante da destilação em três frações: cabeça, coração e cauda. A primeira e a última fração (cabeça e cauda) são ricas em substâncias indesejáveis, portanto deve-se eliminá-las ou reciclá-las, por serem prejudiciais à saúde do consumidor, e comprometer o sabor da cachaça bem como seu desempenho nos ensaios de certificação

(CARDOSO, 2013).

Deve-se utilizar somente o coração (que corresponde a 80% do v/v total) principal exigência para garantir a pureza e o sabor de uma cachaça de qualidade. Para destilação o produção da cachaça artesanal utiliza-se o alambique aparelho confeccionado de cobre No processo de destilação, deve-se controlar as variáveis como a pressão, temperatura e graduação alcoólica do destilado para a obtenção de uma bebida de boa qualidade.

2.8 Componentes secundários e qualidade da cachaça

A qualidade é o conjunto de características que pela diferença da cachaça e umas das outras e que distingui grau de aceitabilidade daquela cachaça pelo comprador e também para o consumidor. Portanto, sob o aspecto em produção e sentido amplo, a qualidade consiste em um grupo de especificações dentro de determinados limites ou tolerâncias que devem ser atingidos (BOZA e HORII,1998).

No Brasil, os Decretos 2.314, de 04 de Setembro de 1997, 4.062 de 21 de Dezembro de 2001 e 4.851 de 21 de outubro de 2003 do Governo Federal, e Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, por meio da Instrução normativa nº13, de 29 de junho de 2005 (BRASIL, 2005), regulamentam a bebida, entretanto foi alterada passando a vigorar em 8 de Agosto de 2014 a Instrução Normativa nº 28, com a seguinte redação: "5.1.2. Carbamato de etila em quantidade não superior a 210µg/L (duzentos e dez microgramas por litro)," (NR) Normativa nº 13 que refere-se para fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para Aguardente de Cana e para Cachaça, os pesquisadores (BRASIL, 2014).

De acordo com o Ministério do desenvolvimento indústria e comércio exterior e Instituto Brasileiro da Cachaça, a Alemanha e Paraguai foram os que mais importaram cachaça em volume no ano de 2013, representando junto um total de 39,59% das exportações brasileiras. Segundo os dados do Ministério do desenvolvimento indústria e comércio exterior neste ano, Paraguai e Portugal compraram mais cachaça que os norte-americanos. Também neste ano, o Brasil conseguiu a exclusividade do nome "cachaça" nos Estados Unidos após várias negociações, deixando de ser o "rum brasileiro", o que valorizou a bebida, até então somente a Colômbia concedia tal reconhecimento ao produto brasileiro (IBRAC,

2015).

A legislação brasileira pela Normativa nº13/2005, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Tabela 1) estabelece os limites de cada composto na bebida, proporcionando harmonia ao destilado e segurança ao consumidor (BRASIL, 2014).

Quadro 2. Composição da cachaça acordo com a Instrução Normativa nº 13 de 2005. Fonte: Brasil (2005).

Composto	Limite máximo
Teor alcoólico	48% etanol v/v
Ésteres em acetato de etila	200mg/100 mL ⁻¹ de álcool anidro
Acidez volátil em ácido acético	150mg/100 mL ⁻¹ de álcool anidro
Aldeídos em aldeído acético	30mg/100 mL ⁻¹ de álcool anidro
Furfural e Hidroximetilfurfural	5mg/100 mL ⁻¹ de álcool anidro
Soma dos álcoois isobutílico (2-metil propanol), isoamílicos (2-metil -1- butanol +3 metil-1- butanol) e n-propílico (1- propanol),	360 mg/100mL ⁻¹ de álcool anidro

Segundo esta Instrução Normativa (Regulamento Técnico) são fixados limites máximos para Contaminantes Orgânicos, mostrados na Tabela 2 a seguir.

Quadro 3. Limites máximos para contaminantes orgânicos estabelecidos pelo MAPA para a cachaça. Fonte Brasil (2014).

Contaminantes Orgânicos	Limite máximo
Álcool metílico	20mg/100mL ⁻¹ de álcool anidro.
Carbamato de etila*	210µg/L ⁻¹ *
Acroleína (2-propenal)	5mg/100mL ⁻¹ de álcool anidro
Álcool sec-butílico (2-butanol)	10mg/100mL ⁻¹ de álcool anidro
Álcool n-butílico (1-butanol)	3mg/100mL ⁻¹

Fonte: Brasil (2014)* alterada a lei que, passou a vigorar a Instrução Normativa nº 13, com a seguinte redação: "5.1.2. Carbamato de etila em quantidade não superior a 210µg/L⁻¹.

2.8.1 Acidez

Segundo a Instrução Normativa N°13/2005, (BRASIL, 2005), regulamenta, acidez volátil, em no máximo $150\text{mg}/100\text{mL}^{-1}$ de álcool anidro expressa em ácido acético. Os altos teores de acidez volátil estão relacionados com vários fatores, como a contaminação por bactérias acéticas do mosto ou da cana, corte inadequado da fração cabeça, contaminação do pé-de-cuba ou a aeração excessiva do mosto, práticas específicas de cada produtor.

Cardoso (2013) afirma que, a acidez volátil pode é depende do processo fermentativo sendo necessário o controle de alguns fatores, que são importantes para minimizar a ocorrência da acidez, como: cepa da levedura utilizada, pureza da fermentação, tempo e temperatura da fermentação, manejo do mosto e principalmente higienização.

2.8.2 Ésteres

O acetato de etila, principal éster encontrado na cachaça. É produto reação entre pequenas quantidades de etanol e ácido acético, provenientes do processo de fermentação (CANUTO, 2013).

Dentre os ésteres existentes, os ésteres etílicos de ácidos graxos e acetatos são considerados importantes em bebidas alcoólicas, devido a seus baixos valores, os quais contribuem para a formação do “buquet” (NASCIMENTO, 2007).

O principal éster encontrado na cachaça é o acetato de etila que, em pequenas quantidades na aguardente, incorpora um aroma agradável de frutas; no entanto, em grandes quantidades, confere à cachaça um sabor indesejável e enjoativo (CANUTO, 2013).

2.8.3 Aldeídos

Os aldeídos, principalmente o acetaldeído, são co-produtos da fermentação alcoólica. A formação desse tipo de composto é resultado da ação de leveduras durante estágios preliminares do processo de fermentação. Trata-se de compostos

muito voláteis, de odor penetrante, que afetam o aroma das bebidas alcoólicas tendendo a diminuir sua presença gradativamente até o estágio final, pela oxidação a ácido acético (CARDOSO et al., 2013).

O furfural, é um aldeído presentes na cachaça, é resultante da decomposição química de carboidratos. É formado, principalmente, pela pirogênese da matéria orgânica depositada no fundo dos alambiques. A sua formação é evitada pela destilação do vinho livre de substâncias orgânicas em suspensão. Nas cachaças envelhecidas, o furfural pode ser oriundo da ação de ácidos sobre as pentoses e seus polímeros (hemiceluloses). Esse composto pode estar presente no caldo de cana, quando a colheita da cana-de-açúcar for precedida da queima do palhiço (NOVAES, 1974).

2.8.4 Álcoois superiores

Pela legislação brasileira atual a quantidade de álcoois superiores por 100m.L^{-1} de álcool anidro é de 300 mg. (BRASIL, 2005). Os álcoois com mais de dois átomos de carbono formados durante o processo fermentativo são conhecidos como óleo fusel ou óleo de cana. Esses são provenientes, em grande parte, de reações de degradação de aminoácidos que ocorrem durante o processo de fermentação. Aplicando-se esse tipo de reação a certos aminoácidos, pode-se explicar a formação dos principais álcoois superiores, como o álcool d-amílico a partir da d-leucina, o álcool isoamílico a partir da l-leucina e o álcool isobutílico a partir da valina, os quais apresentam odores característicos frequentemente encontrados em bebidas (YOKOYA, 1995).

Com o aumento do número de carbonos, o aroma modifica-se substancialmente e os álcoois tornam-se oleosos; alguns deles lembram fortemente aroma de flores. Esse excesso é chamado óleo fúsel, o qual diminui o valor comercial e a qualidade da aguardente. Semelhante ao metanol e etanol esses álcoois também apresentam propriedades biológicas, sendo depressores do sistema nervoso central; entretanto, não provocam acidose nem lesão na retina (BOSCOLO, 2000).

A aeração do mosto durante o processo de fermentação pode favorecer a formação dos álcoois superiores, especialmente o isoamílico, formado por cinco átomos de carbonos. A temperatura também pode gerar um aumento na produção desses álcoois são as altas temperaturas durante a fermentação. O pH do mosto também influencia o aumento dos álcoois superiores, pois mostos com pH na faixa de 3,0 e 3,5 podem ter um aumento na formação de álcoois superiores em até 80%, em relação a mostos com pH entre 4,0 a 5,0 (MAIA; CAMPELO, 2006).

No processo de fermentação deve-se evitar a formação excessiva de álcoois superiores, já que a redução da sua quantidade durante o processo de destilação depende de um aumento da fração do destilado de “cabeça”, o que acaba reduzindo outros componentes secundários desejáveis para a formação do aroma e sabor da bebida, como os ésteres, por exemplo. De acordo com Maia e Campelo (2006) alguns cuidados simples podem ser tomados durante a fermentação a fim de diminuir a formação dos álcoois superiores. Tais como: diminuir o contato da levedura com o oxigênio, deixar sempre o pH do mosto acima de 4,0, controlar a temperatura durante todo o processo de fermentação (28 a 32°), evitando alterações bruscas da temperatura.

2.8.5 Metanol

De acordo com Cardoso (2013) o metanol é um álcool particularmente indesejável na aguardente. É originado da degradação da pectina, um polissacarídeo presente na cana-de-açúcar. É um álcool particularmente indesejável na cachaça, pois, sua ingestão mesmo que em quantidades reduzidas, por longos períodos de consumo, pode ocasionar cegueira e morte (CARDOSO, 2013). Portanto, ressalta-se a importância do preparo do caldo de cana, através da retirada de impurezas, com sistemas de filtração e decantação, a fim de evitar a presença de bagacilhos no material a ser fermentado.

2.8.6 Carbamato de etila

Segundo Caruso et al., (2010), o Carbomato de etila é um éster com fórmula $C_3H_9NO_2$, uretana ou etiluretana é o éster etílico do ácido carbâmico. Apresenta-se na forma de cristal incolor, inodoro, de sabor salino refrescante e levemente amargo, com ponto de fusão entre 48° e 50°C , ponto de ebulição entre 182° e 184°C (NAGATO et al., 2003; NOVAES, 2003) e massa molar $89,09\text{g/mol}$.

É muito solúvel em água, álcoois, éter, cetonas, ésteres e solventes clorados. A solução aquosa é neutra. O modo de se preparar o carbamato de etila é por meio do aquecimento de uréia com álcool etílico sob pressão (NAGATO et al., 2003). A legislação brasileira de 29 de junho de 2014, determinou o limite de até $210\mu\text{g.L}^{-1}$. O carbamato de etila pode ser formado durante todas as etapas de produção das bebidas, pela reação do etanol com alguns compostos nitrogenados, como ureia, carbamil fosfatos, n-carbamil aminoácidos, cianetos, entre outros, podendo ser formado durante todo o processo produtivo, ou seja, desde o plantio até a destilação. Esta formação é dependente da concentração dos reagentes, temperatura, pH, luz e tempo de armazenamento (NAGATO et al., 2003).

Segundo Aresta, Boscolo e Franco (2001), o carbamato de etila é obtido industrialmente pela reação direta de uréia com etanol, como mostra a equação abaixo.

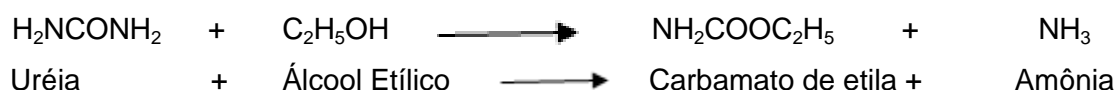


Figura 3. Equação simplificada do carbamato de etila

Fonte: CARDOSO, (2013)

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Tecnologia do Açúcar e do Álcool e Microbiologia das Fermentações, do Departamento de Tecnologia da FCAV/UNESP, Campus de Jaboticabal-SP, durante a safra 2014/2015.

3.1 Delineamento experimental

O delineamento experimental foi realizado em blocos casualizados com 9 repetições, sendo 3 ciclos com 3 repetições cada. O tratamento primário principal, foi constituído por 2 mostos (clarificado e não clarificado); e o secundário os dois tipos de leveduras (Natural e CA-11).

3.2 Matéria-Prima

A variedade utilizada foi a SP83-2847. Esta cana apresentava boa sanidade, a maturação é de média a tardia, com bom perfilhamento sem sinais de ferrugem e escaldadura.

A variedade foi cultivada na Fazenda Santa Clara no Município de Pitangueiras-SP, colhida manualmente, no final do mês de outubro e início do mês de novembro do ano de 2014, sem queima prévia da palha, despontada e imediatamente processada.

3.3 Preparo do fermento

O caldo foi extraído por moenda de laboratório e submetido à filtração para separação das impurezas grosseiras (bagacilho, terra).

Para tratamento do caldo, adicionou-se hidróxido de cálcio 6°Bé até atingir pH 6,0, aquecendo-se até a fervura (MONTIJO et al., 2014). O caldo aquecido foi disposto em decantador de inox por 1 hora em repouso, para decantação das impurezas sendo o sobrenadante, sifonado e resfriado a 32°C.

Preparou-se dois mostos que foram inoculadas com leveduras: natural e selecionada (CA-11).

Para mosto não clarificado inoculado com a levedura natural: realizou-se a diluição, ajustando-se a concentração de sólidos solúveis para 16°Brix (utilizando água destilada), o pH foi corrigido para 4,5 com adição de H₂SO₄ e temperatura de 32°C;

No mosto não clarificado com levedura CA-11: realizou-se a diluição, ajustando-se a concentração de sólidos solúveis para 16°Brix (utilizando água destilada) e temperatura de 32°C;

No mosto clarificado com levedura natural: realizou-se a diluição do caldo clarificado, ajustando-se a concentração de sólidos solúveis para 16°Brix (utilizando água destilada), pH para 4,5 e temperatura de 32°C;

No mosto clarificado com levedura CA-11: realizou-se a diluição do caldo clarificado, ajustando-se a concentração de sólidos solúveis para 16°Brix (utilizando água destilada) e de temperatura 32°C.

Para os mostos com a levedura CA-11, o ajuste do pH não foi realizado atendendo à recomendação técnica para emprego da levedura, uma vez que esta levedura apresenta como característica a habilidade de acidificar o meio (LNF, 2009).

As características químico-tecnológicas dos caldos e mostos determinadas através das análises de Brix segundo SCHENEIDER (1979), pH por leitura direta em medidor digital Digimed DMPH-2 com correção de temperatura, Açúcares Redutores Totais foram dosados pelo método volumétrico de LANE e EYNON (1934); o teor de Acidez Total foi determinado segundo CTC (2005), os Compostos Fenólicos Totais (CFT) foram quantificados segundo FOLIN e CIOCALTEAU, (1927) e Nitrogênio Total (KJELDAHL, 1883).

3.4 Preparo do fermento

Para a levedura CA-11 foi utilizado o método recomendável pela LNF (2009). Iniciou o processo de hidratação, adicionando-se 50g de levedura em 600mL de água destilada a 32°C sob agitação constante. Posteriormente, este foi misturado a 4,4L de água destilada nas mesmas condições e após 30min. foi determinada a viabilidade celular.

Em seguida, foi realizado a 1ª alimentação com 5L⁻¹ de caldo de cana esterilizado a 5°Brix, quando se verificou a redução do Brix para 2, adicionou-se 10L⁻¹ de caldo de cana esterilizado a 5°Brix. Este processo era repetido até a obtenção da massa de células necessária para compor o pé-de-cuba, na proporção de 30g/L⁻¹ considerando 10% de células. Ao longo do processo foi determinada a viabilidade celular, viabilidade de brotos e brotamento para acompanhamento. Para adaptação do fermento foram adicionados 10L⁻¹ de caldo de cana esterilizado e corrigido para 10°Brix, e monitorado até o Brix cair para 2, posteriormente foi determinada a viabilidade celular e a levedura armazenada em salina (NaCl a 0,5%).

Para obtenção do fermento natural utilizou-se na composição do substrato da levedura 2kg de farelo de arroz; 2kg de fubá de milho e suco de limão, que possui ácidos naturais acidificam o pH, em quantidade suficiente para formar uma pasta, o material foi colocado em saco de linhagem e deixado em repouso. Após isso, adicionou-se o caldo de cana diluído (1:1) até que o material ficasse submerso e deixado em repouso por 24h. Posteriormente, foi adicionado caldo diluído de duas a cinco vezes maiores que o caldo anterior. Este processo era repetido até a obtenção da massa de células necessária para compor o pé-de-cuba, na proporção de 30g/L⁻¹ considerando 10% de células (CARDOSO, 2013). Ao longo do processo foi determinada a viabilidade celular, viabilidade de brotos e brotamento para acompanhamento. Para adaptação do fermento foram adicionados 10L⁻¹ de caldo de cana esterilizado e corrigido para 10°Brix, e monitorado até o Brix cair para 2, posteriormente foi determinada a viabilidade celular e a levedura armazenada em salina (NaCl a 0,5%).

3.5 Condução do processo fermentativo

As fermentações foram inoculadas e conduzidas em dornas de aço inoxidável, capacidade útil de 6L, com 5L de mosto, em sistema de batelada alimentada, com recuperação do fermento por sedimentação no caso da levedura CA-11, e por centrifugação o preparo com a levedura natural.

Para o preparo do pé-de-cuba, o fermento natural e o CA-11 foram diluídos

isoladamente em solução salina de NaCl a 0,5%, de forma que a concentração final no mosto de fermentação esteve de aproximadamente 10^6 unidade formadora de colônia por mL^{-1} (UFC/ mL^{-1}) e Viabilidade Celular superior a 83%. A determinação do número de células foi feita por contagem direta em câmara de Neubauer utilizando-se $0,5\text{mL}^{-1}$. Contou-se as células de 4 áreas de um lado da câmara de contagem, o dividiu-se valor por 4 para obter a média. Para obter o número de células/ mL^{-1} , corrigiu o valor obtido por 10.000, pois: $1\text{mL}^{-1} = 1\text{cc}$. Na câmara de Neubauer obte-se o número de celular por $0,1\text{mm}^3$. Por regra de três simples, foi determinado o número de células por mL e feita a diluição em salina para obtenção do número de células estabelecido.

Foram realizadas duas alimentações sendo a primeira, 30min após a inoculação, onde foi adicionado $2,0\text{L}^{-1}$ de mosto e a segunda, 1h30 após a primeira alimentação onde adicionou-se $3,0\text{L}^{-1}$ de mosto a 16°Brix . O final da fermentação foi estabelecido quando o Brix do vinho foi menor ou igual a 1. Após o término, $2/3$ da dorna foi sifonado pela abertura lateral, correspondendo ao vinho.

Foram retiradas alíquotas para realização das análises de Viabilidade Celular, Viabilidade de Brotos e Índice de Brotamentos, após 40 minutos da segunda alimentação e ao final da fermentação, utilizando-se metodologia descrita por Lee, Robinson e Wong, (1981).

O fermento que permaneceram no $1/3$ inferior da dorna depois de centrifugado foi tratado com solução salina de NaCl a 0,5%, objetivando a redução dos teores de elementos tóxicos para a levedura, tais como álcool e ácidos. Após 4 horas de tratamento, realizavam-se novas alimentações, iniciando um novo ciclo fermentativo. Este mesmo fermento foi utilizado durante as 9 repetições.

3.6 Eficiência fermentativa

O rendimento teórico foi calculado considerando-se que 1g de ART produz $0,6475\text{mL}^{-1}$ de etanol (reação estequiométrica). Eficiência fermentativa foram calculados segundo Fernandes (2000), utilizando o rendimento prático (considerando-se o teor alcoólico do vinho),

3.7 Caracterização do vinho e destilados

Os vinhos foram recuperados 2500g/30°C, por 5min. (centrífuga HIMAC CR21G), para separação da levedura e do vinho, sendo que neste último foi determinado: Brix (densímetro), Acidez Total (CTC, 2005) Lane e Eynon 1931, Açúcares Redutores Residuais Totais (ARRT) (CTC, 2005) Lane e Eynon (1931), pH (leitura direta em potenciômetro digital) e Glicerol (MacGOWAN et al., 1993).

Os vinhos dos mesmos tratamentos (repetições) foram destilados em microdestilador de álcool modelo TE-012 Tecnal, com um volume de 60mL⁻¹ recuperando 20mL⁻¹ com concentração de 3 vezes para a quantificação do teor alcoólico em densímetro automatizado (Anton Paar DMA-48).

Logo após a determinação do teor alcoólico o vinho foi destilado em alambique de cobre com capacidade total de 6L, aquecido através de fogo direto, realizando-se a separação das frações de cabeça, coração e cauda, com graduação alcoólica de 38 a 48% a 20°C (CARDOSO, 2013).

O monitoramento das frações foi realizado com alcoômetro. A separação da fração foi recolhida de 1% a 10% do volume total do destilado do vinho ou graduação alcoólica, chamado de "cabeça". Quando a graduação chegou aos 48% de álcool, iniciou-se a parte principal da produção, a retirada do puro destilado, chamado "coração", representa um volume correspondente à 16% do volume total do mosto fermentado, ou 80% do volume do destilado considerado a parte central da cachaça, foi em garrafas de vidro, posteriormente analisadas. A fase tem seu término quando caiu para menos de 38% a "cauda", produto de teor alcoólico inferior, corresponde a 3% do volume total do mosto ou 10% do destilado ou apresenta um maior teor de substâncias menos voláteis e indesejáveis e também é descartada (LIMA (1983).

3.8 Determinações de macro e micronutrientes

O vinho obtido foi submetido a determinação dos compostos inorgânicos (Ca, Zn, Mn, Fe, Cu, Mg, N), segundo (A.O.A.C, 1997).

3.9 Caracterização dos destilados por cromatografia

Amostras compostas da fração de coração (dos 3 ciclos) das cachaças obtidas foram caracterizadas quanto aos teores de carbamato de etila, no Laboratório do Departamento de Química da UFLA, Lavras-MG, utilizando-se a metodologia proposta por Anjos et al. (2011), que consiste na derivação prévia da amostra para a análise desta substância, tais como: Derivação do padrão de carbamato de etila, em frasco âmbar, preparou-se uma solução de 9-xantidrol ($0,2 \text{ mol L}^{-1}$) em propanol; no mesmo frasco, foram adicionados 20 mL^{-1} de uma solução padrão de carbamato de etila ($4,0 \text{ g L}^{-1}$), preparada em etanol 40%. Em seguida, adicionaram-se 2 mL de HCl ($5,5 \text{ mol L}^{-1}$) e, então, a mistura reacional foi mantida sob agitação por aproximadamente 1 min ; após agitação, foi mantida em repouso por 60 minutos, Os cristais obtidos foram filtrados e recristalizados em hexano.

Para a análise quantitativa, preparou-se uma solução-estoque do carbamato de etila derivado, em uma concentração de 10 mg L^{-1} , em acetato de etila. Para a construção da curva analítica, foram realizadas diluições em etanol 50% a partir da solução-estoque previamente preparada, sendo preparadas soluções de trabalho em concentrações que variaram de 5,0 a $250,0 \mu\text{g L}^{-1}$.

Derivação das amostras, em frasco âmbar, adicionou-se 4,0 mL de cachaça, seguidos de 0,8 mL de solução de xantidrol ($0,02 \text{ mol L}^{-1}$) (preparada em propanol). Após agitação, adicionou-se $0,4 \text{ mL}^{-1}$ de HCl ($1,5 \text{ mol L}^{-1}$), mantendo a mistura reacional sob agitação por 1 min Em seguida, essa foi mantida em repouso por 60 min e, posteriormente, filtrada em membranas de polietileno $0,45 \mu\text{m}$ (Millipore) e injetadas no cromatógrafo.

Condições cromatográficas, o equipamento utilizado foi um cromatógrafo líquido de alta eficiência HPLC Shimadzu, equipado com duas bombas de alta pressão, modelo SPD-M20A, degaseificador modelo DGU-20A3, interface modelo CBM-20A e injetor automático modelo SIL-10AF.

As separações foram realizadas empregando-se uma coluna Agilent - Zorbax Eclipse AAA ($4,6 \times 150 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$) conectada a uma pré-coluna Agilent - Zorbax Eclipse AAA 4-Pack ($4,6 \times 12,5 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$), utilizando-se um detector de fluorescência (DF).

A quantificação do carbamato de etila foi realizada utilizando-se o método de padronização externa. Os comprimentos de onda de excitação e emissão empregados foram 233nm e 600nm, respectivamente. O fluxo utilizado foi de 0,75 mL min⁻¹ e o volume injetado das amostras e do padrão foi de 20μL⁻¹. As amostras e os padrões foram injetados em triplicata. A eluição foi realizada em sistema do tipo gradiente, sendo a fase móvel composta por solução de acetato de sódio 20mmol L⁻¹ (Solvente A) e acetonitrila (Solvente B).

Foram também qualificados os teores de acroleína, acidez volátil, acetaldeído, ésteres, metanol, álcoois superiores (propílico, isobutílico, isoamílico) em cromatógrafo gasoso GC Varian 3900, acoplado com software Galaxie Chromatography, coluna Varian Capillary Column, CP – Wax 52CB, 30m 0,53mm 1um #CP8748. Injetou-se 1μL⁻¹ de cada amostra, sob as seguintes condições: temperatura do injetor: 175°C, temperatura do detector: 210°C, empregaram como gás de arraste: ar sintético.

3.10 Análise estatística

A análise estatística dos resultados foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias comparadas segundo teste de Tukey (5%), através do programa estatístico ASSISTAT versão 7.7 beta.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Característica da matéria-prima empregada

A matéria-prima utilizada para produção das cachaças, em todas as semanas apresentou características tecnológicas com valores médios de °Brix acima de 20, ART da ordem de 16%, Acidez Total entre 0,98 - 1,26gL⁻¹ H₂SO₄ e pH de 5,05 - 5,13 (Quadro 2).

Quadro 4. Valores obtidos para características do caldo original durante o período experimental. Jaboticabal – SP. Safra 2014/2015.

Data	°Brix	pH	Acidez total (g L ⁻¹ H ₂ SO ₄)	Açúcares Redutores (%)	Açúcares Redutores Totais(%)
23/10/2014	21,40	5,13	0,98	0,23	15,32
24/10/2014	21,40	5,01	0,49	0,23	16,97
25/10/2014	21,40	5,07	0,73	0,23	16,14
31/10/2014	21,40	5,05	1,15	0,29	14,46
01/11/2014	20,50	4,95	1,82	0,29	17,65
02/11/2014	20,80	4,80	2,57	0,29	17,48
06/11/2014	20,70	5,25	1,47	0,23	17,14
07/11/2014	19,90	5,05	1,06	0,22	16,66
08/11/2014	19,80	5,05	1,26	0,22	16,90

Analisando-se os dados referentes ao Brix verificou-se que os valores do caldo ao longo das datas de colheita (Qua. 4) variaram, sendo maiores na primeira semana, com decréscimo de 7,4% em seus valores ao longo do período experimental. Esta variação nos valores de Brix pode ser oriunda do aumento da precipitação pluviométrica nos dias anteriores à data de colheita (Qua. 5). Scarpari e Beauclair (2010) observaram que, em áreas que apresentam maior disponibilidade hídrica, observou-se que esta condição acarrete diluição dos sólidos solúveis e por isso os valores de Brix são menores.

Quadro 5. Resultados de temperatura, umidade relativa e precipitação da região de Jaboticabal-SP, para o período experimental.

Ano/ Dia 2014	Temperatura (°C)			Umidade Relativa (%)			Precipitação (mm)
	Máxima	Mínima	Média	Máxima	Mínima	Média	
23/out	29,9	19,2	23,4	91,1	47,7	73,4	0
24/out	34,7	18,3	25,8	91,9	30,4	64,1	0
25/out	35,6	18	24,4	93,2	28,9	67,9	14,8
26/out	30,8	19,4	23	94,4	45,3	81,4	2
27/out	31,6	20,1	24,9	95,4	46,2	76,4	18
28/out	29,2	19,7	22,3	100	55,2	90,8	100,6
29/out	31,4	18,2	24,2	100	41,1	71,6	0
30/out	32,4	19,2	25,7	85	36,6	61,4	0
31/out	27,9	19,3	23,1	95,1	57,3	76,2	14,6
01/nov	27,7	19,4	22,2	96,7	64,6	89	8
02/nov	30,5	20,2	23	95,4	51,6	84,5	11
03/nov	28,5	20,5	23,2	96,3	57,9	84,5	0
04/nov	31,1	20,7	24,9	94,9	45,7	76,8	9,1
05/nov	31,9	20,9	25,3	95,9	43,3	74,1	0
06/nov	31,9	20,1	25,5	90,7	43,6	72,4	0
07/nov	27,1	18,9	22,5	91,3	65,2	82,6	0
08/nov	33,4	19,6	25,6	94,6	31,8	69,5	17,8

Fonte: Estação Agroclimatológica - Departamento de Ciências Exatas da FCAV/UNESP – Campus de Jaboticabal-SP.

Avaliando-se os teores médios de Açúcares Redutores (AR), Açúcares Redutores Totais (ART) e pH ao longo das semanas de colheita, observa-se que estes foram inferiores a 1% para AR, da ordem de 15% para ART e pH de 5,0. Estes parâmetros são indicadores de maturação da cana-de-açúcar e apresentaram-se dentro do recomendado por Amorim (2005).

Avaliando-se acidez da cana, observou-se que a matéria prima pode ter entrado em deteriorização a partir da primeira coleta, com ligeiro aumento da acidez total, provavelmente por estar em período de final de safra com a presença de precipitação e temperaturas elevadas. Schwan, dias e dias (2013) recomenda

valores de acidez total em torno de 2,5 a 3,0gH₂SO₄/L, para obtenção de fermentações completas.

4.2 Mosto e processo fermentativo

A Tab. 1 apresenta os valores médios determinados para os parâmetros °Brix, ART(%) e pH em mostos submetidos ao processo de clarificação e não clarificação. Quando se compara estes tratamentos verificou-se que não houve diferenças significativas para Brix e ART.

O ART favoreceu o brotamento no final da fermentação, valores da ordem de 3% favorecem o crescimento de células (RAVANELLI, 2010). A alta taxa de brotamentos pode justificar a facilidade de adaptação da levedura em diversas condições do substrato, favorecendo a manutenção da viabilidade celular (Lima et al., 2001).

Observando-se os resultados para a determinação do pH dos mostos, estes apresentaram valores médios da ordem de 5,5 para o mosto clarificado e de 4,5 para o mosto não clarificado. Esta diferença era esperada uma vez que no mosto clarificado o pH foi elevando para 6,0. Deve-se ressaltar que não foi efetuada correção de pH dos mostos antecedendo à inoculação com a levedura CA-11, objetivando anteceder suas exigências metabólicas.

Entretanto, no mosto resultante do tratamento do caldo este apresentou menores valores de Acidez Total e Compostos Fenólicos Totais (CFT) (Tab. 1). O tratamento prévio físico-químico do caldo com hidróxido de cálcio promove a formação de fosfatos de cálcio e remoção de ácidos e algumas biomoléculas como os fenóis através de adsorção/arraste (ALBUQUERQUE, 2011). Este fato é especialmente importante, pois os ácidos e compostos fenólicos em quantidades elevadas, atuam negativamente sobre o processo fermentativo, uma vez que são inibidores do metabolismo da levedura durante a fermentação. (CAMOLEZ; MUTTON, 2005)

Tabela 1. Valores médios para Brix; ART; Acidez Total e Compostos Fenólicos para a caracterização dos mostos para clarificado e não clarificado, Jaboticabal, SP. Safra 2014/2015.

Mostos	Brix	ART (%)	pH	Acidez Total g L ⁻¹ H ₂ SO ₄	Compostos Fenólicos Totais mg/L
Clarificado	16,00A	12,8A	5,5A	1,00B	251B
Não Clarificado	16,00A	12,50A	4,5B	1,59A	363A
Teste F	2,94ns	0,32ns	475,37**	5,64*	29,49 **
DMS	0,41	0,89	0,14	0,52	43,78
CV	2,55	7,07	2,68	40,43	14,25

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,05 de probabilidade; ns - Não significativo; *Significativo a nível de 0,05; **Significativo a nível de 0,01. DMS – Desvio Mínimo Significativo. CV – Coeficiente de Variação

4.3 Nutrientes do vinho

Observa-se que os valores de Ca, Cu, Fe, Mg, Mn e Zn (Tabela 2), foram afetados significativamente pelo tratamento do caldo. A clarificação do caldo de cana com utilização de Hidróxido de cálcio na forma de leite de cal, provavelmente pode ter contribuído com o aumento Ca, Zn, Mn e Mg. Sabe-se que este reagente possui grande quantidade destes nutrientes em sua composição (QUALLICAL [S/D])

Os resultados obtidos para o Nitrogênio foram em torno de 0,36 para caldo clarificado e 0,30 para caldo não clarificado.

Tabela 2. Valores médios dos nutrientes presentes no vinho utilizado para a fermentação Jaboticabal/SP. Safra 2014/2015.

Vinho	Ca (mg.L ⁻¹)	Zn (mg.L ⁻¹)	Mn (mg.L ⁻¹)	Fe (mg.L ⁻¹)	Mg (mg.L ⁻¹)	N (mg.L ⁻¹)
Clarificado	0,264A	0,08A	0,69A	0,52A	0,18A	0,36A
Não clarificado	0,05B	0,03B	0,39B	0,22A	0,11B	0,30A
Teste F (F1)	165,93**	29,79**	18,25**	3,99ns	67,42**	1,12ns
DMS	0,033	0,01	0,14	0,29	0,01	0,11
CV	30,41	45,14	38,73	11687	16,58	52,50
Fermento (F2)						
Natural	0,153A	0,06A	0,53A	0,48A	0,15A	0,34A
Fermento CA-11	0,166A	0,04A	0,54A	0,26A	0,15A	0,31A
Teste F (F2)	0,56ns	0,568ns	0,02ns	2,44ns	0,21ns	0,23ns
DMS	0,033	0,01	0,14	0,29	0,01	0,11
CV	30,41	45,14	38,73	116,87	16,58	52,50
Teste F Blocos	0,,56ns	0,568ns	3,96ns	0,02ns	2,44ns	0,20ns
Inter. F1xF2	0,004ns	0,69ns	0,05ns	1,47ns	0,03ns	1,20ns

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,05 de probabilidade; ns - Não significativo; *Significativo a nível de 0,05; **Significativo a nível de 0,01. DMS – Desvio Mínimo Significativo. CV – Coeficiente de Variação. Inter. MxF – Interação entre Mostos e Fermentos.

Os resultados obtidos para o Nitrogênio foram baixos para caldo clarificado e para caldo não clarificado, para o cobre este não foi detectado no vinho.

4.4 Viabilidade celular

Avaliando-se a Viabilidade Celular, a taxa de Brotamento e a Viabilidade de Brotos iniciais e finais (Tabela 3) não foram observadas diferença significativa para o tratamento do mosto. Entretanto, para tipo de fermento empregado observou-se que a levedura CA-11 apresentou aproximadamente 8% a mais de células vivas no início e final do processo fermentativo quando comparado a levedura natural. Este resultado demonstra a importância da utilização de leveduras selecionadas que são

melhores adaptadas às condições de processo, mantendo sua atividade metabólica.

Segundo Ravaneli et al., (2006) a taxa de células e brotos viáveis é importante para manutenção dos níveis de população de leveduras, uma vez que serão reutilizadas nos ciclos fermentativos posteriores, refletindo sobre o rendimento da fermentação.

Tabela 3. Valores médios obtidos para Viabilidade Celular, Viabilidade de Brotos e Índice de Brotamentos das leveduras Natural e CA-11, no início da fermentação de mostos obtidos a partir de caldo original e clarificado. Jaboticabal/SP, Safra 2014/2015.

	Viabilidade Celular		Brotamento		Viabilidade Brotos	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Mosto (M)						
Clarificado	74,19A	75,87A	17,95A	22,75A	85,75AA	85,57A
Não Clarificado	79,02A	80,97A	15,49A	26,70A	84,78AA	88,71A
Teste F (M)	2,67ns	2,56ns	0,34ns	1,18ns	0,05ns	0,49ns
DMS	6,02	6,50	8,48	7,39	8,33	9,04
CV	11,57	12,20	74,65	43,99	14,21	15,28
Fermento (F)						
Natural	72,46B	74,69B	17,27A	27,59A	82,28A	86,90A
CA-11	87,87A	81,37A	16,16	23,64A	93,35A	97,82A
Teste F (F)	7,87**	5,47*	0,07ns	2,49ns	2,18ns	0,01ns
DMS	6,02	6,50	8,48	7,39	8,33	9,04
CV	11,57	12,20	74,65	43,99	14,21	15,28
Inter. MxF	0,65ns	0,60ns	0,94ns	0,97ns	5,92*	1.0470ns

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,05 de probabilidade; ns - Não significativo; *Significativo a nível de 0,05; **Significativo a nível de 0,01. DMS – Desvio Mínimo Significativo. CV – Coeficiente de Variação. Inter. MxF – Interação entre Mostos e Fermentos.

Maiorella et al., (1983), observou que teores de ordem de 4% de ácidos orgânicos na fermentação foram suficientes para reduzir a viabilidade de células de levedura em até 80%. Ravaneli et al. (2011), obtiveram redução no rendimento alcoólico, quando da presença de concentrações de compostos fenólicos. Neste estudo, o tratamento prévio físico-químico do caldo promoveu redução de 37% de Acidez Total. Estes resultados corroboram com os relatos de Costa (2013) e Montijo et al., (2014).

Avaliando o tratamento de caldo e tipo de fermento sobre as características tecnológicas do vinho, verificou-se que não ocorreram diferenças significativas para ARRT, Acidez Total, Teor Alcoólico e Eficiência Fermentativa para ambos os tratamentos. Para o pH o tratamento de caldo e o tipo de fermento empregado influenciaram sobre este parâmetro, os menores valores foram observados em caldo não clarificado com utilização de fermento natural (Tabela 4).

Tabela 4. Valores médios e resultados da análise de variância para Açúcares Redutores Residuais Totais (ARRT), pH, Acidez total (AT) e Glicerol, Teor Alcoólico, Eficiência fermentativa do mosto vinho. Jaboticabal/SP, Safra 2014/2015.

	ARRT (%)	pH	Acidez (g/L H ₂ SO ₄)	Glicerol (%)	Teor Alcoólico (%)	Eficiência fermentativa (%)
Mosto (M)						
Clarificado	0,09A	3,55A	3,03A	0,37B	6,57A	71,72A
Não clarificado	0,10A	3,34B	3,26A	0,50A	6,65A	69,48A
Teste (M)	0,88 ns	7,19 *	2,03ns	5,29*	0,02ns	0,16ns
DMS	0,03	0,16	0,32	0,11	0,96	11,55
CV	0,12	6,85	15,31	3,44	17,55	9,72
Fermento						
Natural	0,10A	3,34B	3,20A	0,34A	6,62A	70,69A
CA-11	0,11A	3,70A	2,54B	0,54A	7,13A	80,21A
Teste (F)	0,07 ns	6,52 *	0,55ns	13,18**	0,02 ns	4,85
DMS	0,02	0,16	0,32	0,11	0,82	9,72
CV	0,02	6,85	15,31	38,44	17,55	9,72
MxF	28,85**	0,11ns	0,60ns	5,84*	0,0068 ns	2,03ns

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,05 de probabilidade; ns - Não significativo; *Significativo a nível de 0,05; **Significativo a nível de 0,01, DMS – Desvio Mínimo Significativo, CV – Coeficiente de Variação, Inter, MxF – Interação entre Mostos e Fermentos.

Observou-se interação entre o tipo de fermento utilizado e o tratamento de caldo. O fermento natural produziu maiores teores de ARRT e o tratamento físico químico independente do tipo de fermento, resultou em maiores teores destes açúcares (Fig. 4).

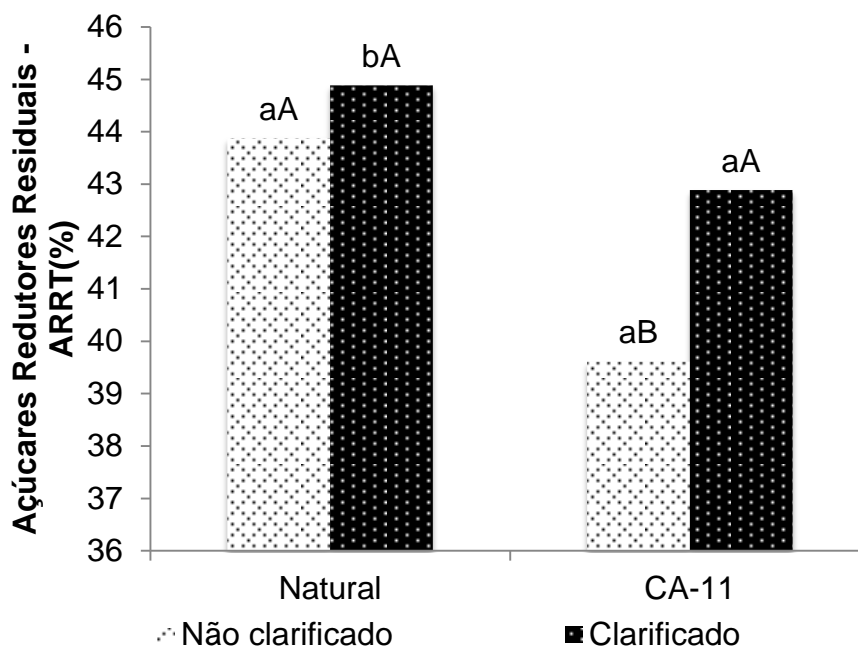


Figura 4. Interação entre tratamento do caldo e leveduras para Açúcares Redutores Residuais em vinho, Letras minúsculas comparam tratamento do caldo (DMS=0,16) e letras maiúsculas comparam leveduras (DMS=0,16), CV (%)=38,44. Jaboticabal-SP, Safra 2014.

Observou-se interação entre o processo de tratamento de caldo resultou em fermentações que produziram vinhos com baixos teores de glicerol, quando se utilizou a levedura CA-11 e a natural (Figura 5). De acordo com LNF (2015) é próprio da fisiologia da levedura a produção de ácidos para regular o pH do meio, o que também favorece sua permanência no processo fermentativo e o controle da contaminação microbiana. Estes valores foram menores que os determinados por Montijo et al., (2014), que avaliando a produção de cachaça, utilizando a levedura CA-11, obtiveram teores de glicerol da ordem de 0,70%.

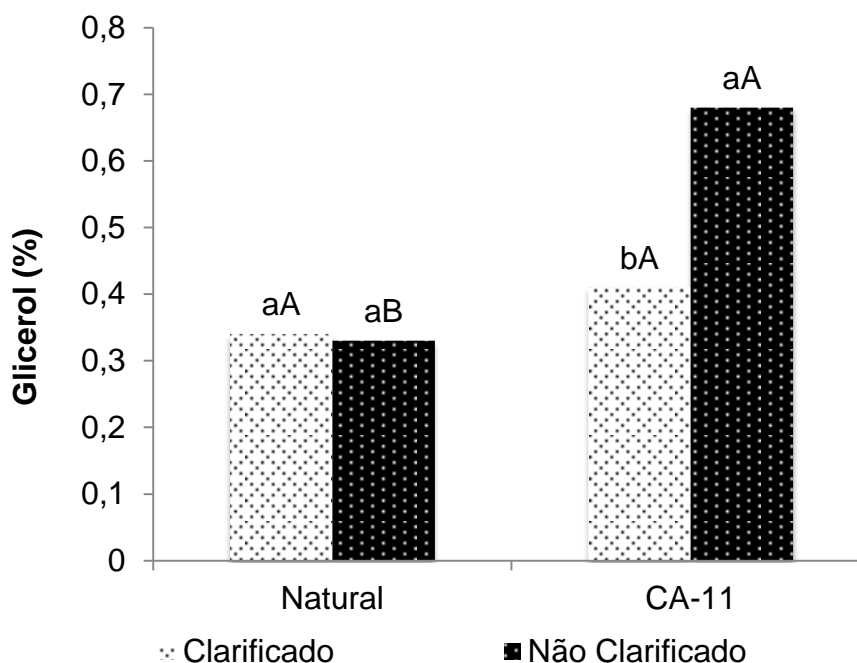


Figura 5. Interação entre tratamento do caldo e leveduras para o parâmetro Glicerol do vinho, Letras minúsculas comparam tratamento do caldo (DMS=0,16) e letras maiúsculas comparam leveduras (DMS=0,16), CV (%)=38,44. Jaboticabal-SP, Safra 2014/2015.

4.5 Composição das cachaças

Amostras compostas de cachaça, obtidas de todos os tratamentos foram avaliadas quanto a sua composição, os resultados são apresentados na Qua. 6. Verifica-se que a utilização do fermento selecionado CA-11 resultou em destilado de melhor qualidade, com menor coeficiente de congêneres (componentes voláteis "não álcool"), sendo 26% menor para o mosto não clarificado e de 32% para o mosto clarificado, quanto comparado ao fermento natural. Estes compostos estão diretamente relacionados à característica sensorial da bebida, sendo que maiores teores resultam em destilados de baixa qualidade (ODELLO et al., 2009; CARDOSO, 2013). Não obstante, cabe destacar que todos estes compostos apresentavam-se dentro dos limites estabelecidos pela legislação vigente (BRASIL, 2005).

Quadro 6. Resultados obtidos para a composição das cachaças a partir dos tratamentos estudados. Jaboticabal-SP. Safra 2014/2015.

Componentes do coeficiente de Congêneres			Natural		CA-11	
	**Mín.	**Máx.	Mosto Clarificado	Mosto Não Clarificado	Mosto Clarificado	Mosto Não Clarificado
Graduação Alcoólica °GL V/V	38	48	41,58	40,78	40,30	42,11
**Acidez Volátil (ácido acético em mg.100m.L ⁻¹ de álcool anidro)		150	109,7	117,7	44,7	34,2
**Ésteres Totais (acetato de etila em mg.100m.L ⁻¹ de álcool anidro)		200	37,16	32,75	9,15	20,23
**Aldeídos Totais (acetaldeído em mg.100m.L ⁻¹ de álcool anidro)		30	65,01	61,61	14,11	43,50
**Furfural (mg.100m.L ⁻¹ de álcool anidro)		5	32,31	30,15	14,95	12,13
*N-propanol (mg.100m.L ⁻¹ de álcool anidro)			131,80	134,65	72,80	57,65
*Isobutanol (mg.100m.L ⁻¹ de álcool anidro)			62,80	65,20	42,49	55,39
*Isoamílicos (mg.100m.L ⁻¹ de álcool anidro)			146,50	155,48	125,36	141,88
**Álcoois Superiores (mg.100m.L ⁻¹ de álcool anidro)		360	341,11	355,33	240,64	254,91
Contaminantes Orgânicos						
Metanol mg.100m.L ⁻¹ de álcool anidro)		20	3,13	4,04	0,97	1,86
Carbamato de Etila (µg/L)		210	28,43	34,56	25,67	25,47
Acroleína mg.100m.L ⁻¹ de álcool anidro)		5	10,77	13,56	***n.d	***n.d
Alc, Sec, Butílico (mg.100m.L ⁻¹ de álcool anidro)		10	14,61	33,64	0,76	0,87
Álcool n-butanol (mg.100m.L ⁻¹ de álcool anidro)		3	2,08	3,94	2,11	3,01
Condutividade Elétrica 25°C (µs)			30,4	27	20,0	17,0
Turbidez (NTU)			0,84	0,53	0,60	0,26
pH (potencial hidrogênionico)			4,57	4,55	4,80	4,7

*Álcoois superiores: (isobutílico + isoamílicos + n-propílico); **Congêneres: (acidez volátil + ésteres + aldeídos + furfural + álcoois superiores); ***mg/100mL, n.d. – não detectado.

Valores correspondentes a Instrução Normativa nº 13, de 29/06/05 e Instrução Normativa nº 28/2014.

Independente do tipo de fermento todos os destilados apresentam valores de acidez volátil abaixo do estabelecido pela Instrução Normativa nº 13 que determina valores da ordem de $150\text{mg}/\text{mL}^{-1}$ de álcool anidro. O tratamento de caldo não influenciou na presença de acidez volátil no mosto. Quando se avlia o fermento, observa-se que o natural apresentou valores de acidez volátil superiores em mais de duas vezes, quando comparado ao fermento selecionado CA-11. Resultados semelhantes ao desse trabalho foram obtidos por Montijo et al. (2014), utilizando levedura CA-11 com tratamento de caldo.

Verificou-se que para os esterres totais (acetado de etila, principal éster encontrado na cachaça), todos os tratamentos apresentavaleores inferiores a (valores inferiores a $100\text{mg}/\text{mL}^{-1}$ de álcool anidro), este composto, quando presente em porções inferiores ao igual a citada anteriormente contribui para formação do aroma agradável de frutas na bebida (BRASIL, 2005; CARDOSO et.al., 2013). Mesmo estando abaixo do recomendado observou-se que o tipo de fermento influenciou na produção deste composto sendo maiores nos destilados obtidos do fermento natural, o tratamento de caldo não influenciou na produção deste composto para este tipo de fermento. Para o fermento selecionado CA-11 em caldo tratado os valores de estéres totais foram muito baixos.

Considerando-se a presença de aldeídos, verificou-se que a cachaça obtida de caldo clarificado e com o empregado da levedura selecionada, esta apresentou teores dentro do especificado pela legislação sendo este tratamento o que também apresentou menores teores de alcóois superiores. Os aldeídos são compostos intermediários na formação dos ácidos ou álcoois superiores (CARDOSO, 2013)

Para o teor furfural, verificou-se que todos destilados apresentaram teores acima dos limites legais, segundo a legislação o valor máximo permitido para este composto na bebida é de $5\text{mg}/100\text{mL}^{-1}$ de álcool anidro (Qua. 6). No processo de produção da cachaça esses compostos são formados, sobretudo durante a destilação surgindo, predominantemente, como produto de cauda em alambiques, dependendo do tipo de aquecimento (FARIA et al., 2003). O furfural pode também ser reseultante da pirólise do bagaço de cana, durante o processo de destilação (CARDOSO et.al., 2013).

Zacaroni et al., (2011), analisando as concentrações das amostras do destilado quanto ao teor de furfural, variaram de 4,28 a 39,78mg.100mL⁻¹ de álcool anidro, 83% das amostras estavam em desacordo quanto à presença de furfural. Neste sentido, deve se ressaltar a necessidade de um tratamento de caldo para retirada de impurezas vegetais, associado a uma adequada decantação do vinho depois de concluída a fermentação, objetivando a remoção do bagacilho e da levedura. (Barcelos et al. (2007) verificaram que as cachaças produzidas em três diferentes regiões de Minas Gerais, apresentaram concentrações de furfural dentro do limite permitido pelo Mapa. Como as amostras analisadas foram produzidas utilizando cana não queimada, atribuíram a formação de furfural a falhas durante o processo fermentativo.

Avaliando formação de álcoois superiores, observou-se que o tipo de fermento e o tratamento de caldo influenciaram na formação deste composto, sendo maiores em caldo não clarificado com utilização de fermento natural. Os álcoois superiores são produtos metabólicos decorrentes do crescimento das leveduras e do aproveitamento de aminoácidos como fonte de nutrientes amoniacais. Sua formação é também influenciada pelas condições do meio de fermentação, da quantidade e viabilidade do inóculo, da temperatura e do teor alcoólico final, (YOKOYA 1995).

Considerando os teores de álcoois superiores todas as bebidas ficaram dentro dos limites de até 360mg.100mL⁻¹, especificados pela legislação, ressalta-se que a tipo de fermento e o tratamento de caldo influenciaram na produção destes, sendo maiores em caldo não clarificado e quando da utilização de fermento natural.

Em todos os tratamentos os teores de metanol estavam abaixo do limite máximo estabelecido pela legislação que é de (20mg.100mL⁻¹ de álcool anidro). O metanol é indesejável na bebida, e é proveniente da atividade de enzimas pécticas, Segundo os autores, Miranda et al. (2008) e Parazzi et al. (2008) e Alcarde et al. (2010). O álcool metílico em destilados tem origem na hidrólise de matérias pécticas, como o teor destas em cana-de-açúcar é baixo, o teor de álcool metílico em seus destilados acompanham esta característica. Montijo et al. (2014) determinou valores de metanol da ordem de (3,6 mg 100 mL⁻¹ de álcool anidro) e Bregagnoli (2006) obteve valores que variaram de (2 e 3mg 100mL⁻¹ de álcool anidro). Ambos trabalhos com valores semelhantes aos encontrados neste.

As baixas concentrações de álcool metílico na cachaça podem estar relacionadas principalmente a Boas Práticas de Fabricação (BPF) como o processo, o tratamento do caldo, controle de fermentação e o cuidado durante a destilação. O ponto de ebulição do metanol é próximo a 65°C, sendo encontrado na fração cabeça principalmente, onde esta é removida pelos produtores artesanais, justificando as baixas concentrações para essas bebidas. (ALCARDE et al., 2009).

Em ambos os tratamentos para a análise quantitativa os teores de carbamato de etila, situaram-se abaixo de 210µg.L⁻¹ para todas as amostras, atendendo ao padrão de identidade e qualidade estabelecido pela legislação brasileira. O tipo de fermento e o tratamento de caldo contribuíram para reduzir a formação de carbamato de etila, sendo menores quando da utilização de caldo clarificado e fermento selecionado (Qua 6).

Elevadas concentrações de carbamato foram identificadas por Baffa Jr et al. (2009) analisando 22 marcas de cachaças comercializadas na região da mata mineira, por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (GC-MS), observou valores médios de 1,206 mg L⁻¹ para teores de carbamato de etila entre as amostras que variaram de 0,005 a 12,376mg.L⁻¹, Dentre as 22 amostras analisadas 5 apresentaram teores considerados aceitáveis (abaixo de 0,150mg.L⁻¹), atendo aos requisitos de qualidade previstos no regulamento técnico da Instrução Normativa Nº28, de 8 de Agosto de 2014 que complementa a Nº13, de 29 de Junho de 2005 que estabelece limites de substâncias.

Considerando-se a concentração de acroleína nas bebidas, somente as bebidas resultantes da fermentação utilizando-se o fermento natural (Quad. 6), neste detectou-se valores de acroleína superiores ao especificado na legislação que é de 5mg/100mL⁻¹ de álcool anidro, independente do tratamento ou não do caldo. Quando da utilização de fermento selecionado não foi detectada presença de acroleína.

Braga, (2006) avaliou a presença de acroleína em aguardentes de cana produzidas com três linhagens de leveduras com temperatura de fermentação controlada (20 e 32°C) e encontrou níveis inferiores a 0,7mg/100 mL⁻¹ de álcool anidro para o contaminante.

Foi determinado a Condutividade Elétrica, Turbidez (NTU) e pH, todos os três parâmetros foram baixos. A determinação destes parâmetros é importante, pois a

Condutividade Elétrica e pH de cachaça quando alterados podem indicar a prática irregular de adição de hidróxido de sódio para mascarar uma possível produção de ácido acético durante o processo de fermentação, levando a formação de sais, que aumentam o pH e a condutividade elétrica do produto, denunciando assim a adulteração. Já a turbidez da cachaça pode ser indicativo de processo de destilação irregular com mistura de cabeça ao destilado de coração (LIMA et al., 2001, FARIA, 1995, CARDOSO et.al., 2013).

5. CONCLUSÃO

A utilização da levedura selecionada CA-11 e o prévio tratamento do caldo possibilitou a obtenção de destilados de melhor qualidade e com composição química dentro dos limites estabelecidos pela legislação brasileira.

REFERÊNCIAS

ABRABE. Associação Brasileira de Bebidas - Abrabe - IBRAC. **CATEGORIAS DE MERCADO**. 2015. Disponível em: < <http://www.abrabe.org.br/categorias/>>. Acesso em 02 de fev. de 2016.

ALBUQUERQUE, F.M. **Processo de fabricação do açúcar**. 3.ed. Recife: Editora Universitária UFPE, 2011. 449 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 leveduras *Saccharomyces cerevisiae*. **Química Nova**, São Paulo, v. 35, n.8, p.1612-1618, 2012.

ALVES, D.M.G. **Fatores que afetam a produção de ácidos orgânicos bem como outros parâmetros da fermentação alcoólica**. Dissertação (Mestrado em Microbiologia). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz da Universidade de São Paulo. Piracicaba, 128p. 1994.

AMORIM, H. V.; Fermentação alcoólica, ciência & tecnologia. Piracicaba: Fermentec, 2005. 448 p.

AMORIM, H. V. BASSO, L. C.; ALVES, D. M. G. **Processos de produção de álcool**. Piracicaba: Centro de Biotecnologia Agrícola, 1996. 103p.

ANJOS, I. A. FIGUEIREDO, P. A. M. Aspectos fitotécnicos do plantio. In: DINARDO-MIRANDA, L. L.; VASCONCELOS, A. C. M. de.; LANDELL, M. G. A. de. (Ed.). **Cana-de-açúcar**. Campinas: Instituto Agrônômico, 2010. p. 585-598.

ANGELIS, D. F de. Agentes físicos, químicos e microbiológicos que afetam a fermentação alcoólica. In: MUTTON, M. J. R.; MUTTON, M. A. Aguardente de cana produção e qualidade. Jaboticabal, FUNEP, 1992 p. 49-66.

ANJOS, I. A.; FIGUEIREDO, P. A. M. de. Aspectos fitotécnicos do plantio. In: DINARDO-MIRANDA, L. L.; VASCONCELOS, A. C. M. de.; LANDELL, M. G. A. de. (Eds.). **Cana-de-açúcar**. 1ª edição. 1ª reimpressão. Instituto Agrônômico. Campinas, 2010. p. 585-598.

ANJOS, J. P. **Compostos fenólicos e carbamato de etila: caracterização e quantificação em diferentes períodos do envelhecimento da cachaça em tonel de carvalho (*Quercus sp*)**. 2010. 153 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

ANJOS, J. P. et al. Evolution of the concentration of phenolic compounds in cachaça during aging in an oak (*Quercus sp.*) barrel. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 22, p. 1307-1314, 2011b.

ANJOS, J. P. et al. Identificação do carbamato de etila durante o armazenamento da cachaça em tonel de carvalho (*Quercus* sp) e recipiente de vidro. **Química Nova**, São Paulo, v. 34, n. 5, p. 874-878, 2011a.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis**. Arlington, 1995. 1141 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**, Easton, v. 49, p. 2819-2824, 2001.

ATKINS, P.; DE PAULA, J. Físico-Química: vol. II. 7ª ed. Rio de Janeiro: LTC, 2002.

BARCELOS, L. V. F. CARDOSO, M. G.; VILELA, F. J.; ANJOS, J. P. Teores de carbamato de etila e outros componentes secundários em diferentes cachaças produzidas em três regiões do estado de Minas Gerais: Zona da Mata, Sul de Minas e Vale do Jequitinhonha. **Química Nova**, São Paulo, v.30, n.4, p.1009-1011, 2007.

BASSO, L. C.; ALVES, D. M. G.; AMORIM, H. V. Fermentação alcoólica e alguns fatores que afetam o desempenho fermentativo. Processo de produção de álcool: controle e monitoramento. 2. ed. Piracicaba: FERMENTEC; FEALQ; ESALQ, 1996. p. 38- 84.

BORTOLETTO, A. M. Carbamato de Etila e Qualidade da Cachaça. **ESALQ-USP**. 27, mai.2014. Disponível em: <<http://www.mapadacachaca.com.br/artigos/carbamato-de-etila-e-qualidade-da-cachaca/>>. Acesso em: 22out. 2015.

BOSCOLO, M. Caramelo e carbamato de etila em aguardentes de cana: ocorrência e quantificação. 2001. 100f. Tese (Doutorado em Química Analítica) – Instituto de Química, USP, 2001.

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**, São Paulo, v.11, n.1, p.86-90, 2000.

BOZA, Yolanda; HORII, Jorge. INFLUÊNCIA DA DESTILAÇÃO SOBRE A COMPOSIÇÃO E A QUALIDADE SENSORIAL DA AGUARDENTE DE CANA-DE-AÇÚCAR. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 18, n. 4, p. 391-396, Oct. 1998. Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20611998000400006&lng=en&nrm=iso>. accesson 05 Apr. 2016. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20611998000400006>.

Faria, J. B.; Cardello, H. M. A. B.; Franco, D. W.; Bôscolo, M. Influência do tipo de madeira e de tonéis para envelhecimento de aguardente de cana em sua aceitabilidade. Campinas: UNICAMP/Faculdade de Engenharia de Alimentos, 2003. 57p.

Braga, V. S.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade de São Paulo, Brasil, 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº28, de 8 de agosto de 2014. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 11 ago. 2014, Seção 1.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº13, de 30 de junho de 2005. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 30 jun. 2005, Seção 1.

BRASIL. Decreto n. 2314, de 04 de setembro de 1997. Regulamenta a lei n. 8.918 de julho de 1994, sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/>>.

CAMOLEZ, M. A.; MUTTON, M. J. R. Influência de microrganismos contaminantes sobre o processo fermentativo. **STAB-Sociedade dos Técnicos Açucareiros e Alcooleiros do Brasil**, Piracicaba, v.23, n.5, p.44-47, 2005.

CANUTO, M. H. **Influência de alguns parâmetros na produção de cachaça: linhagem de levedura, temperatura de fermentação e corte do destilado**. 2013. 119 f. Tese (Doutorado Ciências) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2013.

CARDOSO, M. G. **Produção de aguardente de cana**. 3.ed. Lavras: UFLA, 2013.

CARDOSO, M. G. MACHADO, R. M. A. ZACARONI, M. L, SANTIAGO, D. W, MENDONÇA, P. G. J.; RODRIGUES, A. M. L. Análises Físico-Químicas e Cromatográficas de Aguardente. In: CARDOSO, M. G. **Produção de aguardente de cana**. 3.ed. Lavras: UFLA, 2013.

CARUSO, M. S. F. Benzo (a) pireno, carbamato de etila e metanol em cachaças. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 9, p. 1973-1976, 2010.

CLETO, F. V. G. **Influência da adição de ácido sulfúrico e de fubá de milho no processo fermentativo, rendimento e composição da aguardente de cana**. 1997. 109 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 1997.

COPERSUCAR – Cooperativa de Produtores de Cana, Açúcar e Álcool do Estado de São Paulo. **9ª Geração de variedades de cana-de-açúcar**. (Boletim Técnico). São Paulo: COPERSUCAR, 2003.

COSTA, G. H. G. **Emprego do extrato de moringa (*Moringa oleífera* Lamarck) na clarificação do caldo de cana para produção de açúcar**. 2013. 115 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2013.

CTC - Centro de Tecnologia Canavieira. **Manual de métodos de análises para açúcar**. Piracicaba: Laboratório de Análises, 2005. CD-ROM.

ESTAÇÃO AGROCLIMATOLÓGICA DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS EXATAS DA FCAV/UNESP – Campus de Jaboticabal. Latitude: 21°14'05" S; Longitude: 48°17'09" W; Altitude: 615,01 m.

DOHERTY, W. O. S.; RACKEMANN, D. W. Some aspects of calcium phosphate chemistry in sugarcane clarification. **International Sugar Journal**, v.111, p. 448-455, 2009.

FERNANDES, A. C. **Cálculos na agroindústria da cana-de-açúcar**. Piracicaba-SP, 2000, 193p.

JANZANTTI, N. S. **Compostos voláteis e qualidade de sabor de cachaça**, Thesis Ph.D., Faculdade de Engenharia de Alimentos. Campinas, SP, Brazil: Universidade Estadual de Campinas, 2004.

GONÇALVES, C. M. **Avaliação das Boas Práticas de Fabricação da Cachaça de Alambiques no Estado da Bahia como Porte para Desenvolvimento Biotecnológico dos Processos Produtivos da Bebida**. Feira de Santana. 174p. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Feira de Santana – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. Feira de Santana, BA, 2009.

LANE & EYNON. **Determination of reducing sugars by fehling solution with methylene blue indicator**. London. Norman Rodger, 1934, 8p.

LEE, S. S. ROBINSON, F. N.; WONG, H. Y. Rapid determination of yeast viability. In: Biotechnology Bioengineering Symposium, 11., 1981, Gatlingburg. **Anais**.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica**. 2. ed. São Paulo: Sarvier, 2000.

LELIS, V. G.; CHAVES, J. B. P.; DUTRA, M. B. L.; REIS, R.S.; LESSA, J. B. Ocorrência de carbamato de etila em cachaças de alambique e em aguardentes industriais. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v.61, n.4, p.467-474, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0034-737X201461040004>.

LIMA, J. R. BRUNO, L. M.; SILVA, J. L. A. Potencial de utilização de leveduras "killer" para produção de cachaça. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.38, n.4, p.366-371, 2007.

LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHIMIDELL, W. **Biotecnologia industrial**: processos fermentativos e enzimáticos. São Paulo: Edgard Blücher, 2001.

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

MAIA, A. B. R. A.; CAMPELO, E. A. P. **Tecnologia da cachaça de alambique**. Belo Horizonte: Sebrae/MG/Sindbebedas, 2006. 129p.

MACGOWAN, M. W. ARISS, J. D.; STRANBERGH, D. R.; ZAK, B. A. Peroxidase – coupled method for colorimetric determination of serum glicerides. **Clinical Chemistry**, Baltimore, v. 29, p. 538-542, 1993.

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**, v.28, p.84-89, 2008.

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**, v.28, p.84-89, 2008.

MONTIJO, N. A. SILVA, A. F.; COSTA, G. H. G.; FERREIRA, O. E.; MUTTON, M. J. R. Yeast CA-11 fermentation in must treated with Brown and green propolis. **African Journal of Microbiology Research**, Lagos, v.8, n.39, pp. 3515-3522, 2014.

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

MUTTON, M. J. R.; MUTTON, M. A. **Aguardente de cana: produção e qualidade**. Jaboticabal: FUNEP, p. 93-132, 1992.

MUTTON, M. J. R; MUTTON, M. A. Aguardente de cana. In: VENTURINI FILHO, W. G. (Coord.). **Bebidas alcóolicas: ciência e tecnologia**. São Paulo: Editora Blucher, 2010. 461 p.

NAGATO, L. A. F.; NOVAES, F. V.; PENTEADO, M. de V. C. Carbamato de etila em bebidas alcóolicas. **Bol. SBCTA**, Campinas, 37(1): 40-47, jan.-jun. 2003.

NASCIMENTO, R. F.; Marques, J. C.; Lima Neto, B. S.; Keukeleire, D.; Franco, D. W.; J. **Chromatogr.**, A 1997, 782, 13.

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

ODELLO, L. BRACESCHI, G. P.; SEIXA, F. R. F.; SILVA, A. A.; GALINARO, C. A.; FRANCO, D. W. Avaliação sensorial da cachaça. **Química Nova**, São Paulo, v.32, n.7, p.1839-1844, 2009.

OLIVEIRA, A. M. L. **O processo de produção da cachaça artesanal e sua importância comercial**. 2010. 55 f. Monografia (Especialização em Microbiologia) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.

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 da cachaça de alambique. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 23, n 217, p. 37-43, 2002.

QUALLICAL. **CAL HIDRATADA E CAL VIRGEM**. ([s/d]). Disponível em: <<http://www.quallical.com.br/Apostila%20cv.pdf>>. Acesso em 10 de fev de 2016

RAVANELI, G. C. GARCIA, D. B.; MADALENO, L. L.; MUTTON, M. A.; STUPIELLO, J. P.; MUTTON, M. J. R. Spittlebug impacts on sugar cane quality and ethanol production. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.46, n.2, p.120-129, 2011.

RAVANELI, G. C. MADALENO, L. L.; PRESOTTI, L. E.; MUTTON, M. A.; MUTTON, M. J. R. Spittlebug infestation in sugarcane affects ethanolic fermentation. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.63, n.6, p.543-546. 2006. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-90162006000600004>.

REED, G and NAGODAWITHANA, T.W. *Yeast Technology*. New York: 2 ed. Van Nostrand Reinhold Bool, 1991. 378p.

SAKAI, R. H. **Cachaça**. Agência Embrapa de Informação Tecnológica. 2015. Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-deacucar/arvore/CONT000fiog1ob502wyiv80z4s473agi63ul.html>>. Acesso em: 11 ago. 2015.

SCARPARI, M. S.; BEAUCLAIR, E. G. F. Anatomia e botânica. In: DINARDOMIRANDA, L. L.; VASCONCELOS, A. C. M.; LANDELL, M. G. A. (Ed). *Cana-deAçúcar*. Campinas: 1ª Ed. Instituto Agrônômico, 2010, p. 47-56.

SCHENEIDER, F. (Ed.) *Sugar Analysis ICUMSA methods*. 1979. 265p.

SCHWAN, R. F.; DIAS, D. R.; DIAS, W. R. Fermentação. In: CARDOSO, M. G. **Produção de aguardente de cana**. 3, ed. amp. e rev. Lavras: Editora UFLA, 2013. P.80-101.

SOARES, T. L. SILVA, C. F.; SCHWAN, R. F. Acompanhamento do processo de fermentação para produção de cachaça através de métodos microbiológicos e físico-químicos com diferentes isolados de *Saccharomyces cerevise*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.31, n.1, p.184-187, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612011000100027>>.

SORATTO, Alexandre Nixon; VARVAKIS, Gregorio and HORII, Jorge. A certificação agregando valor à cachaça do Brasil. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* [online]. 2007, vol.27, n.4 [cited 2016-04-05], pp.681-687. Available from:

<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010120612007000400002&lng=en&nrm=iso>.ISSN 1678-457X. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-2061200700040002>.

SOUZA, R. A. HENRIQUE, R. S.; SILVA, M. T. P. Perfil sensorial de cachaças industriais produzidas no sudeste do Brasil safra 2008/2009. **Revista Agrotecnologia**, Anápolis, v.4, n.1, p.97-108, 2013.

STUPIELLO, J. P. Produção de aguardente: qualidade da matéria-prima. In: MUTTON, M. J. R., MUTTON, M. A. **Aguardente de cana produção e qualidade**. Jaboticabal: FUNEP, 1992. p. 9-21.

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

ZACARONI, L. M. CARDOSO, M. G.; SACZK, A. A.; SANTIAGO, W. D.; ANJOS, J. P.; MASSON, J.; DUARTE, F. C.; NELSON, D. L. Caracterização e quantificação de contaminantes em aguardentes de cana. **Química Nova**, São Paulo, v. 34, n.2, p. 320-324, 2011.