



FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

CAMPUS DE ARARAQUARA

Departamento de Alimentos e Nutrição

**ESTUDO DA VIABILIDADE DA LEVEDURA DE DESCARTE DA
INDÚSTRIA CERVEJEIRA NA OBTENÇÃO DA AGUARDENTE DE
“LIQUOR” DE LARANJA**

CRISLAINE ALVARENGA PEREZ

ARARAQUARA - SP

2013

CRISLAINE ALVARENGA PEREZ

**ESTUDO DA VIABILIDADE DA LEVEDURA DE DESCARTE
DA INDÚSTRIA CERVEJEIRA NA OBTENÇÃO DA
AGUARDENTE DE “LIQUOR” DE LARANJA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, para obtenção do grau de Mestre em Alimentos e Nutrição – Área de Ciência dos Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. João Bosco Faria

ARARAQUARA - SP
2013

Ficha Catalográfica

Elaborada Pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP – Campus de Araraquara

P438e Perez, Crislaine Alvarenga
Estudo da viabilidade da levedura de descarte da indústria cervejeira na
obtenção da aguardente de “liquor” de laranja / Crislaine Alvarenga Perez. –
Araraquara, 2013
57 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de
Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós
Graduação em Alimentos e Nutrição
Orientador: João Bosco Faria

1. Liquor de laranja. 2. Levedura cervejeira. 3. Aguardente. I. Faria, João
Bosco, orient.. II. Título.

CAPES: 50700006

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. João Bosco Faria
(Orientador)

Prof. Dr. José Paschoal Batistuti
(Membro Titular)

Profa. Dra. Alice Yoshiko Tanaka
(Membro Titular)

Prof. Dr. Rubens Monti
(Membro Suplente)

Prof. Dr. André Ricardo Alcarde
(Membro Suplente)

"O único lugar onde o sucesso vem antes
do trabalho é no dicionário."

Albert Einstein
(1879 - 1955)

Dedico este trabalho à minha família e ao meu noivo pelo apoio, paciência e compreensão nos momentos difíceis desta minha caminhada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus por iluminar meus passos e pensamentos nos momentos de dificuldade dessa minha caminhada;

Ao Prof. Dr. João Bosco Faria pela orientação, paciência e dedicação durante o trabalho;

A minha família: Antônio, Carmem e Taciane pela motivação, paciência e força durante a realização do meu trabalho;

Ao meu noivo Júlio pelo amor, compreensão e paciência desde o princípio; a toda a sua família pelo incentivo;

A Cutrale e a Heineken pela doação do material utilizado na obtenção das amostras de aguardente de "liquor" de laranja;

Ao CNPq pela bolsa concedida;

As técnicas de laboratório Adriana e Ana Lúcia pela ajuda durante as análises laboratoriais; Henrique Roçafa pela ajuda no início do projeto; aos alunos de iniciação de científica, Gabriel e Edgar pela ajuda na obtenção das amostras.

As companheiras de trabalho: Bárbara, Mariana e Michelle pela amizade e risadas durante os momentos difíceis;

Aos julgadores do teste de aceitação pela importante contribuição;

Aos membros da banca examinadora pela valiosa presença;

A todos que, de alguma forma contribuíram para que fosse possível a realização do mestrado.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	7
LISTA DE TABELAS	8
RESUMO	9
ABSTRACT	10
INTRODUÇÃO	11
CAPÍTULO 1	15
1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
1.1. Cachaça	16
1.2. “Liquor” de laranja	19
1.3. A levedura Cervejeira	22
2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24
CAPÍTULO 2	28
RESUMO	29
ABSTRACT	30
1. INTRODUÇÃO	31
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	31
2.1 Material	31
2.1.1 “Liquor” de laranja	31
2.1.2 Fermento de descarte da indústria cervejeira	31
2.2 MÉTODOS.....	32
2.2.1 Obtenção da aguardente de “liquor” de laranja.....	32
2.2.2. Determinações físico-químicas.....	32
2.2.2.1. Determinação de pH.....	32
2.2.2.2. Determinação do teor de sólidos solúveis totais.....	33
2.2.2.3. Determinação do teor alcoólico	33
2.2.2.4. Viabilidade do fermento.....	33
2.2.2.5. Determinação de açúcares redutores totais.....	33
2.2.2.6. Composição química das amostras de aguardente de “liquor” de laranja.....	33
2.3. Análise sensorial.....	34
2.4. Análise estatística dos resultados	35
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35

3.1. Acompanhamento do processo fermentativo e viabilidade do fermento de descarte da indústria cervejeira	35
3.2. Acompanhamento do processo de destilação, bidestilação e envelhecimento da aguardente de “liquor” de laranja.	39
3.3. Teste de aceitação	40
3.4. Análises físico-químicas	47
4. CONCLUSÃO	50
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
ANEXOS	54
Anexo 1. Ficha de recrutamento dos julgadores da análise sensorial das amostras de aguardente de “liquor” de laranja	55
Anexo 2. Ficha da análise sensorial das amostras de aguardente de “liquor” de laranja	56

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1

- Figura 1.** Sucos de frutas e néctares na UE por sabores. 19
- Figura 2.** Consumo mundial de suco de laranja (em milhões de litros)..... 20

Capítulo 2

- Figura 1.** Viabilidade do fermento durante as bateladas de fermentação. 35
- Figura 2.** Consumo de açúcares redutores totais em 24 horas de fermentação (%). 37
- Figura 3.** Consumo de açúcares redutores totais em 48 horas de fermentação (%). 38
- Figura 4.** Consumo de açúcares redutores totais em 72 horas de fermentação (%). 38
- Figura 5.** Representação gráfica da preferência dos provadores entre aguardente de cana envelhecida, outras bebidas destiladas envelhecidas e drinks com aguardente. 41
- Figura 6.** Representação gráfica da frequência do consumo dos provadores em relação a aguardente de cana envelhecida, outras bebidas destiladas envelhecidas e drinks com aguardente. 41
- Figura 7.** Caracterização dos julgadores em relação à categoria (%). 42
- Figura 8.** Representação gráfica das notas do teste de aceitação em relação ao atributo cor. 43
- Figura 9.** Representação gráfica das notas do teste de aceitação em relação ao atributo aroma. 44
- Figura 10.** Representação gráfica das notas do teste de aceitação em relação ao atributo sabor. 45
- Figura 11.** Representação gráfica das notas do teste de aceitação em relação ao atributo impressão global. 45
- Figura 12.** Intenção de compra em relação às três amostras avaliadas. 47

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1

Tabela 1. Composição do “liquor” de laranja.....	21
---	----

Capítulo 2

Tabela 1. Médias e desvios padrão do teor de sólidos solúveis (°Brix) e pH antes e após o processo fermentativo.	37
--	----

Tabela 2. Rendimento da destilação das nove bateladas de fermentação.	39
---	----

Tabela 3. Médias ¹ de aceitação dos atributos avaliados para as amostras de aguardente de “liquor” de laranja (<i>n = 60 provadores</i>).	42
--	----

Tabela 4. Composição físico-química das amostras de aguardente de “liquor” de laranja	48
---	----

RESUMO

O Brasil, país com características climáticas propícias ao cultivo de laranja, é considerado o maior produtor e exportador de suco de laranja do mundo. O "liquor" de laranja é um dos principais subprodutos da indústria cítrica, rico em açúcares, geralmente é destinado para a produção de ração animal. Com um mercado em crescente expansão, a indústria cervejeira descarta em média 160 milhões de litros de fermento viável por ano. Considerando as vantagens que o aproveitamento desse resíduo pode representar para a produção da aguardente de "liquor" de laranja, este trabalho teve por objetivo avaliar a viabilidade do uso do fermento de descarte da indústria cervejeira na obtenção da aguardente de "liquor" de laranja. O "liquor" foi fermentado pelo fermento descartado da indústria cervejeira sendo posteriormente destilado em alambique de cobre. O volume corresponde a três destilações (três fermentações) foi bidestilado em alambique de cobre e envelhecido em ancorotes de castanheira por seis meses. A viabilidade das leveduras foi analisada durante o processo de obtenção da bebida, assim como o teor de sólidos solúveis totais e o consumo de açúcares redutores totais. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ao teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Foi realizada nove bateladas de fermentações contínuas, sem a reposição do fermento. O fermento utilizado na produção da bebida apresentou uma viabilidade inicial de 97,65% apresentando uma queda de 15% das células viáveis ao final da nona batelada de fermentação. A diminuição do teor de sólidos solúveis totais foi bem menor nas últimas bateladas, cerca de 9% se comparadas as três bateladas iniciais, em que observou-se uma redução de aproximadamente 23%. No teste de aceitação não houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) nos atributos cor e aroma entre as três amostras. Nos atributos sabor e impressão global houve diferença significativa na amostra 2 correspondente às bateladas de fermentação 4, 5 e 6. A levedura de descarte da indústria cervejeira apresentou-se como uma boa opção na obtenção da aguardente de "liquor" de laranja, garantindo pelo menos a fermentação de seis bateladas, sem a necessidade de reposição de leveduras.

Palavras-chave: "liquor" de laranja; levedura cervejeira; aguardente.

ABSTRACT

Brazil, a country with climatic characteristics conducive to the cultivation of oranges, is the largest producer and exporter of orange juice in the world. Orange liquor is one of the main by-products of the citrus industry. Rich in sugars, it is generally used for the production of animal feed. With a rapidly expanding market, the brewing industry discards on average 160 million liters per year of viable yeast. Considering the advantages that the use of this waste can pose for the production of orange liquor spirit, this study aimed to evaluate the viability of using brewer's spent yeast in obtaining orange liquor spirit. The liquor was fermented by the brewer's spent yeast and subsequently distilled in copper stills. The product of three distillations (three fermentations) was redistilled in a copper still and aged in chestnut casks for six months. Yeast viability was analyzed during fermentation, as well as the content of total soluble solids and total reducing sugars consumption. Data were subjected to analysis of variance (ANOVA) and Tukey's test ($p \leq 0.05$). Nine consecutive fermentations were completed, without replacing the starter. The yeast had an initial viability of 97.65% with a decline of 15% of viable cells at the end of the ninth batch fermentation. The decrease in total soluble solids content was much lower in the last batch, about 9% compared with the three initial batches, in which there was a reduction of approximately 23%. Acceptance test showed no significant difference ($p \leq 0.05$) in colour and aroma attributes among the three samples. Flavour and overall acceptability showed significant differences in sample 2, corresponding to batch fermentations 4, 5 and 6. Brewer's spent yeast was shown to be a good choice for obtaining orange liquor spirit, allowing at least six batch fermentations without the need to replace the yeast.

Keywords: Orange liquor; brewer's yeast; spirit.

INTRODUÇÃO

Considerada um patrimônio histórico, a cachaça faz parte história do Brasil. Descoberta durante os primórdios da colonização portuguesa, até a Segunda Guerra Mundial a bebida era produzida no ambiente rural, em fábricas rudimentares e com baixa capacidade de produção (IBRAC, 2012, AQUARONE, et al., 2008).

Mesmo com o aumento da produção de cachaça (atualmente o Brasil possui capacidade instalada de produção de cachaça de aproximadamente 1,3 bilhões de litros) e o surgimento de grandes marcas comerciais, menos de 1% do volume total de cachaça produzida é exportada, podendo ser considerado um dos principais fatores a falta de conhecimento técnico-científico que garantiria um controle de qualidade maior e a padronização da bebida (IBRAC, 2012).

Atualmente o Brasil é o maior produtor e exportador mundial de suco de laranja, responsável por 53% da produção e por 85% do comércio mundial. Além do suco de laranja, principal produto da indústria de cítricos, ocorre a produção de diversos subprodutos dentre eles o “liquor” de laranja, líquido resultante da prensagem do bagaço. Este subproduto possui uma alta demanda bioquímica, entre 40.000 e 100.000 ppm, o que impossibilita seu descarte no meio ambiente, sendo seu principal destino a fabricação de ração animal (CITRUSBR, 2012; KIMBALL, 1999).

A utilização de resíduos industriais como matéria prima para a produção de álcool e aguardentes tem se mostrado um destino estratégico para esses subprodutos, valendo citar a produção de bioetanol e ácido galacturônico, a partir da casca de limão e outras frutas cítricas (BOLUDA-AGUILAR e LÓPEZ-GÓMEZ, 2013; WILKINS et al., 2007), o uso de soro de queijo (BARBOSA et al., 2010), casca e borra de jabuticaba (ASQUIERI, 2009), resíduos amiláceos da agroindustrialização da mandioca (BRINGHENTI e CABELLO, 2005) como também do “liquor” de laranja (FARIA et al., 2008).

Outro subproduto da indústria de bebidas com grande potencial é o fermento de descarte da indústria cervejeira. No ano de 2010 o Brasil produziu cerca de 12,35 bilhões de litros e no ano de 2012 essa produção saltou para 13,70 bilhões de litros (SICOB, 2013; SINDICERV, 2012). Tal produção representa o descarte de um volume de aproximadamente 160 milhões de litros de fermento por ano, já que este é descartado após a utilização em cinco ciclos de fermentação na produção da cerveja. Assim a possibilidade de utilizar esse fermento para produzir a aguardente de “liquor” de laranja apresentou-se como uma interessante proposta a ser avaliada (FARIA et al., 2008).

Nesse sentido, devido a escassez de trabalhos científicos na área da produção de aguardente e dando continuidade aos estudos relacionados com a aguardente de “liquor” de laranja, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a viabilidade do fermento de descarte da indústria cervejeira, na produção da aguardente de “liquor” de laranja.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEXANDRINO, A.M.; FARIA, H.G.; SOUZA, C.G.M.; PERALTA, R.M. Aproveitamento do resíduo de laranja para a produção de enzimas lignocelulolíticas por *Pleurotus ostreatus* (Jack:Fr). **Ciênc. Tecnol. Alim.**, Campinas, v. 27, n. 2, p. 364-368, 2007.
- AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W.; LIMA, U.A. Biotecnologia Industrial – Biotecnologia na produção de alimentos. São Paulo: Blucher, 2008. 523 p.
- ASQUIERI, E.R.; SILVA, A.G.M.; CÂNDIDO, M.A. Aguardente de jabuticaba obtida da casca e borra da fabricação de fermentado de jabuticaba. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 29, n.4, p. 896-904, 2009.
- ASSOCIAÇÃO NACIONAL DOS EXPORTADORES DE SUCOS CÍTRICOS (CitrusBR). Disponível em: <http://www.citrusbr.com/>. Acesso em: 18 dez. 2012.
- BARBOSA, A.S.; FLORENTINO, E.R.; FLORÊNCIO, I.M.; ARAÚJO, A.S. Utilização do soro como substrato para produção de aguardente: estudo cinético da produção de etanol. **Revista Verde**, Mossoró, v.5, n.1, p.07-25, 2010.
- BOLUDA-AGUILAR, M.; LÓPEZ-GÓMEZ, A. Production of bioethanol by fermentation of lemon (*Citrus limon* L.) peel wastes pretreated with steam explosion. **Industrial Crops and Products**, v. 41, p. 188-197, 2013.
- BRINGHENTI, L.; CABELLO, C. Qualidade do álcool produzido a partir de resíduos amiláceos da agroindustrialização da mandioca. **Energ. Agric.**, Botucatu, v. 20, n. 4, p. 36-52, 2005.
- CAMARGO, L.A.; DENTILLO, D.B.; CARDELLO, L.; GATTÁS, E.A.L. Utilização de bagaço de laranja na produção de pectinases de *Aspergillus* sp. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v. 16, n. 2, p. 153-156, 2005.
- FARIA, J.B.; ROÇAFA JUNIOR, H.; FERREIRA, J.O. Orange press liquor spirit: technical and economic aspects of a new distilled beverage. In: BRYCE, J.H.; PIGGOTT, J.R.; STEWART, G.G. (Ed.) **Production, technology and innovation**. Nottingham University, 2008. cap. 3, p. 15-20.
- INSTITUTO BRASILEIRO DA CACHAÇA (IBRAC). Disponível em: <http://www.ibrac.net/>. Acesso em: 18 dez. 2012.
- KIMBALL, D.A. **Citrus processing: a complete guide**. 2nd ed. Florida: John Wiley & Sons, 1999. 247 p.
- SINDICATO NACIONAL DA INDÚSTRIA CERVEJEIRA (SINDICERV). Disponível em: <http://www.sindicerv.com.br/#>. Acesso em: 27 jul. 2011.

SISTEMA DE CONTROLE DE PRODUÇÃO DE BEBIDAS (SICOB). Disponível em: <http://www.receita.fazenda.gov.br/Legislacao/LegisAssunto/Sicobe.htm>. Acesso em: 30 dez. 2012.

WILKINS, M.R.; WIDMER, W.W.; GROHMANN, K. Simultaneous saccharification and fermentation of citrus peel waste by *Saccharomyces cerevisiae* to produce ethanol. **Process Biochemistry**, v. 42, p. 1614-1619, 2007.

CAPÍTULO 1

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1. Cachaça

A história da cachaça se mistura com a própria história do Brasil. Durante a colonização portuguesa, com o cultivo da cana-de-açúcar e a formação dos engenhos para a produção de açúcar foi observado a espuma do caldo de cana-de-açúcar, retirados dos tachos de rapadura durante o processo dava origem a garapa azeda que após a destilação fornecia um destilado que foi denominado cachaça. Na época as bebidas mais apreciadas pelos portugueses, a bagaceira e o vinho, eram trazidos da Corte Portuguesa e a cachaça foi sendo adotada como bebida da população colonial de menor renda (ABRABE, 2012; AMPAQ, 2012). Hoje, a bebida é considerada um patrimônio histórico, da mesma maneira que em outros países do mundo, onde também existem bebidas que fazem parte das suas tradições históricas (AQUINO et al., 2006).

De acordo com a legislação brasileira, cachaça é a denominação típica e exclusiva da Aguardente de Cana produzida no Brasil, com graduação alcoólica de 38% a 48% a 20°C, obtida pela destilação do mosto fermentado do caldo de cana-de-açúcar com características sensoriais peculiares, podendo ser adicionada de açúcares até 6g/l, expressos em sacarose. A aguardente de cana é a bebida com graduação alcoólica de 38% a 54% a 20°C, obtida do destilado alcoólico simples de cana-de-açúcar ou pela destilação do mosto fermentado do caldo de cana-de-açúcar, podendo ser adicionada de açúcares até 6g/l, expressos em sacarose (BRASIL, 2005).

A produção da aguardente pode ser dividida em quatro etapas principais:

- Obtenção do mosto: a cana madura, fresca e limpa é moída resultando no mosto que será fermentado; este deve conter uma carga microbiana inicial baixa, concentração adequada de açúcares fermentescíveis, pH e composição química adequadas para a realização da fermentação; (AMPAQ, 2012; AQUARONE, et al., 2008)

- Fermentação: o fermento é adicionado ao mosto em uma proporção de 10 a 20 % do volume total a ser fermentado. As leveduras podem ser selecionadas (fermentos puros), de panificação ou ainda naturais (“fermento caipira”). Dentre as principais espécies de leveduras pode-se citar *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces* e *Hansenula*. A temperatura nessa etapa deve ser controlada, sendo de grande importância tanto para o desenvolvimento da levedura quanto para sua atividade. A temperatura ideal varia de 26 e 30°C, entretanto há leveduras

que tem atividade satisfatória em temperaturas mais elevadas (37°C) (AQUARONE, et al., 2008).

o Destilação: na destilação ocorre a separação e concentração dos compostos voláteis presentes no vinho, podendo ser destilados em alambiques de cobre ou inox. As primeiras (cabeça) e as últimas (cauda) porções saídas da bica do alambique devem ser separadas, eliminadas ou recicladas, devido a presença de substâncias tóxicas ou sensorialmente indesejadas (FARIA et al., 2003a; AMPAQ, 2012).

Envelhecimento: em alguns países essa etapa é obrigatória, sendo o destilado armazenado em tonéis de madeira para o desenvolvimento de sabor e aroma desejáveis. Mesmo com boa qualidade sensorial do destilado, a cachaça submetida a este processo adquire sabor e aroma típicos, reduzindo consideravelmente o sabor seco, ardente e outros aromas desagradáveis presentes (CARDELLO e FARIA 2000; FARIA et al., 2003a; FARIA et al., 2003b). Segundo Aquarone (2008), através do processo de envelhecimento associado a um controle de qualidade durante a produção de cachaça, é possível garantir um produto com a qualidade necessária que o mercado externo exige.

A cachaça é constituída em sua maior parte por etanol e água, mas contém também compostos secundários como álcoois superiores, ácidos, ésteres acetais, fenóis, hidrocarbonetos, compostos nitrogenados, sulfurados e açúcares, entre outros, que a caracterizam e qualificam (ODELLO e BRACESCHI, 2009).

O Brasil possui capacidade instalada de produção de cachaça de aproximadamente 1,3 bilhões de litros, representado por mais de 40 mil produtores (quatro mil marcas). As microempresas correspondem a 99% do total de produtores e os estados brasileiros que mais se destacam na produção da cachaça são: São Paulo, Pernambuco, Ceará, Minas Gerais e Paraíba. Do volume total de cachaça produzida anualmente no Brasil, menos de 1% é exportada. Em 2011, mais de 9,80 milhões de litros foram exportados gerando uma receita na ordem US\$ 17,28 milhões. Dentre os principais países compradores estão Alemanha, Estados Unidos, Portugal e França (IBRAC, 2012).

Por várias décadas, a cachaça foi considerada uma bebida das classes sociais mais baixas, vendidas a baixos preços e produzidas sem preocupação com o seu controle de qualidade. Entretanto nas últimas décadas diversas ações e programas foram desenvolvidos a fim de melhorar a qualidade da cachaça (CARNEIRO et al., 2010).

O Brasil tem buscado desenvolver e aperfeiçoar a cadeia produtiva da cachaça a fim de garantir e controlar sua qualidade, visto que a padronização da cachaça é essencial para

que o produto atenda aos padrões internacionais e seja aceita no mercado externo. Além disso, a aceitação no mercado interno poderia crescer incluindo as classes de maior poder aquisitivo, interessadas em bebida de boa qualidade (MARINHO et al., 2009; MIRANDA et al., 2007).

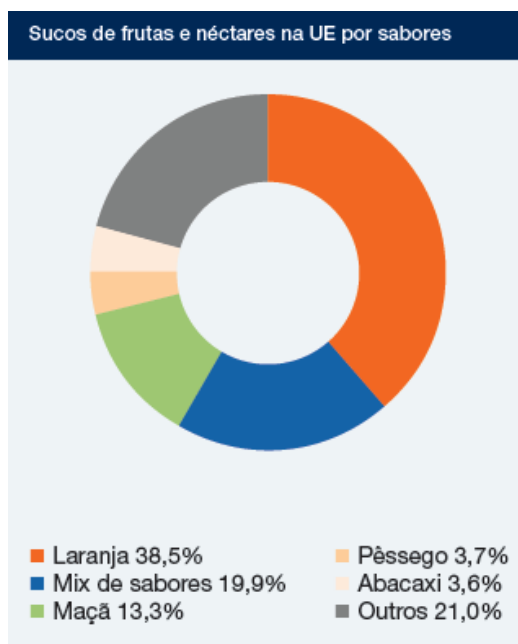
Diante da preocupação com a garantia da qualidade da cachaça e a exemplo da iniciativa de outros países em relação a suas bebidas locais, em 1997 foi criado dentro da Associação Brasileira de Bebidas (ABRABE) o Programa Brasileiro de Desenvolvimento da Cachaça (PBDAC) com a participação do Governo Federal, através dos Ministérios da Agricultura e Abastecimento, do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior e da Ciência e Tecnologia. Em 2006, foi fundado o Instituto Brasileiro da Cachaça - IBRAC, entidade de âmbito nacional. O principal objetivo desses órgãos é criar condições de inserir a cachaça no mercado internacional através da conscientização e capacitação dos produtores, adequando o produto não só para o mercado local, mas também para com vistas ao mercado internacional (ABRABE, 2012; IBRAC, 2012; JANZANTTI, 2004).

1.2. “Liquor” de laranja

A safra de laranja de 2011-12 foi de 428 milhões de caixas de laranja de 40,8 kg. Segundo a estimativa projetada pela CitrusBR para a safra 2012-13 deverão ser produzidas cerca de 364 milhões de caixas de laranja, representando uma queda de 15% em relação a safra anterior devido ao baixo nível de chuva, principalmente entre os meses de fevereiro e abril.

Entretanto tal queda ainda não tira o título do Brasil de o maior produtor e exportador mundial de suco de laranja. Atualmente o país é responsável por 53% da produção mundial, exportando 98% da sua produção que representa atualmente 85% do comércio mundial. A cada cinco copos de suco de laranja consumidos no mundo, três são produzidos no Brasil (CITRUSBR, 2012). Dentre os sabores de sucos, o de laranja continua em primeiro lugar no ranking de preferência, seguido pelo mix de sabores e pelo de maçã (Figura 1) (ASSOCIAÇÃO EUROPÉIA DE SUCOS DE FRUTAS, 2012).

Figura 1. Sucos de frutas e néctares na UE por sabores.



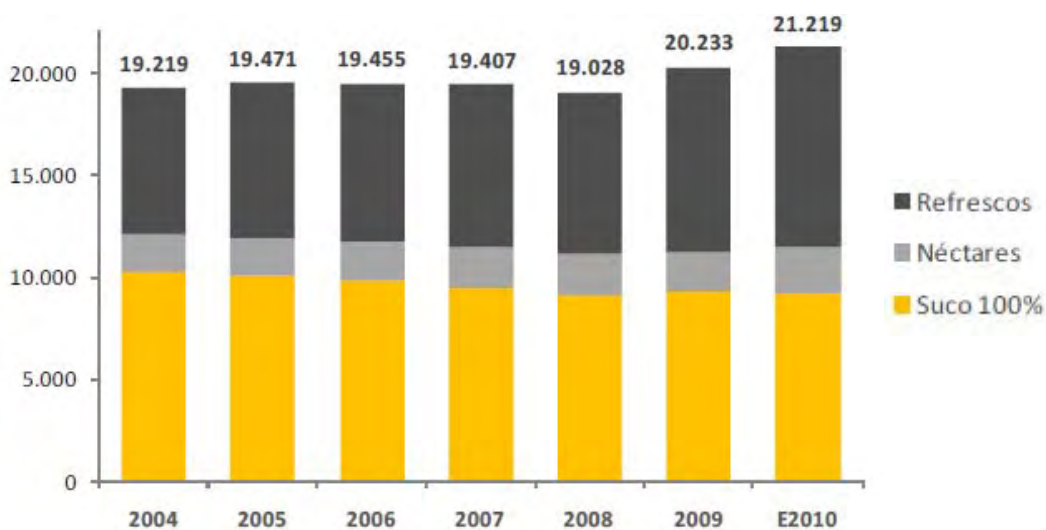
Fonte: CitrusBr.

A maior parte do suco exportado é do tipo concentrado (FCOJ), que passa por evaporadores onde grande parte da água é retirada da bebida, inativando assim os microrganismos responsáveis pela deterioração do suco. Ao final da etapa de concentração, um produto com teor inicial de sólidos solúveis totais de aproximadamente 10° Brix, termina com um teor de 66° Brix. O suco é mantido congelado, podendo ser armazenado por até dois anos (CITRUSBR, 2012).

No ano de 2011 a exportação de suco FCOJ totalizou 441 mil toneladas desse produto gerando uma receita de aproximadamente US\$ 888 milhões. Já no ano de 2012, foram exportados 448 mil toneladas, movimentando cerca de US\$ 906 milhões (CITRUSBR, 2012).

Segundo a CitrusBr, em 2010 o consumo mundial de bebidas totalizou 1.611 bilhões de litros, sendo 21.219 milhões de litros de suco de laranja, entre refrescos, néctares e suco 100% de laranja (Figura 2).

Figura 2. Consumo mundial de suco de laranja (em milhões de litros).



Fonte: CitrusBr.

Além do suco de laranja, principal produto da indústria de cítricos, são produzidos diversos subprodutos como óleos essenciais, terpenos e o farelo de polpa cítrica, utilizado na elaboração de ração animal (KIMBALL, 1999).

Todo o resíduo produzido como bagaço, os descartes das centrífugas, a polpa, as cascas e os refugos, é encaminhado para a produção de ração cítrica. Esse resíduo tem o seu pH corrigido com a adição de óxido de cálcio. A parte sólida é encaminhada para a etapa de prensagem, resultando em uma fase sólida (bagaço) e em outra líquida, o “liquor” de laranja.

A fase sólida pode ser encaminhada para os secadores ou passar por uma segunda etapa de prensagem. O “liquor” é concentrado em evaporadores e misturado com o bagaço (FARIA, 2008; TETRA PAK, 1998).

O “liquor” é composto basicamente por frações de açúcares (tabela 1), possuindo uma alta demanda bioquímica de oxigênio (DBO), entre 40.000 e 100.000 ppm, sendo portanto seu descarte capaz de causar sérios problemas ao meio ambiente. Assim, a utilização do “liquor” na elaboração de ração animal (KIMBALL, 1999), tem se mostrado uma alternativa válida e viável.

Tabela 1. Composição do “liquor” de laranja.

Componente	Unidade	“Liquor”
Sólidos solúveis	°Brix	10,1
pH	-	5,7
Sacarose	%	2,4
Proteína	%	0,5
Açúcares redutores	%	4,2
Pentoses	%	0,3
Cinzas	%	0,7
Pectina	%	0,7

Fonte: Braddock (1999).

Vários estudos mostram que os subprodutos do processamento da laranja pode ser utilizado na obtenção de enzimas (ALEXANDRINO et al., 2007; CAMARGO et al., 2005), de óleos essenciais (KOBORI e JORGE, 2005) e de ácido cítrico (RODRIGUES, 2006). A produção de bioetanol e ácido galacturônico, a partir da casca de limão e outras frutas cítricas (BOLUDA-AGUILAR e LÓPEZ-GÓMEZ, 2013; WILKINS et al., 2007), assim como a produção de biogás, limoneno e pectina (POURBAFRANI et al., 2010) também tem sido estudados.

Entretanto Zhou et al., 2008 afirmam que mesmo com o progresso significativo dos estudos na área de produção de etanol a partir de subprodutos oriundos da indústria cítrica, várias dificuldades técnicas devem ser superados antes que a produção comercial desse tipo de etanol seja uma realidade.

Sabendo-se que cerca de 60-75% dos sólidos solúveis presentes no “liquor” de laranja são constituídos de açúcares, principalmente glicose, frutose, sacarose e pequenas porções de pentoses (BRADDOCK, 1999; FARIA et al., 2008), Roçafa Junior et al. (2005) estudaram o processo de obtenção de uma bebida fermento-destilada a partir do “liquor” de laranja, utilizando procedimento semelhante ao adotado na produção de cachaça e obtiveram uma aguardente viável tanto do ponto de vista técnico como sensorial. Ferreira et al. (2006) também estudaram a aguardente de “liquor” de laranja com ênfase na viabilidade técnico-econômica da sua produção e demonstraram que a utilização do “liquor” de laranja no processo de obtenção de aguardente é sem dúvida uma opção viável.

1.3. A levedura Cervejeira

O mercado de cervejas no Brasil se caracteriza pela presença de poucas marcas, predominantemente do tipo Pilsen (*larger*), bebida com características de sabor suave, pH em torno de 4,3, clara e límpida. A produção deste tipo de bebida se concentra em grandes indústrias, representando as principais marcas distribuídas em todo o país (ARAÚJO et al., 2003).

Os processos de produção de cerveja podem variar um pouco de país para país, mas tradicionalmente pode ser dividido em: preparo do mosto (que inclui a moagem do malte, mosturação, filtração do mosto, fervura do mosto e tratamento do mosto) fermentação; maturação e clarificação (NGUYEN et al., 2008; VENTURINI FILHO, 2010).

A fermentação é a etapa mais demorada da produção da cerveja, podendo variar de 5 dias no caso da produção de cerveja tipo *ale* (“alta fermentação”, quando ao final dessa etapa as leveduras se localizam na parte superior, formando uma película no líquido) a 14 dias na produção da cerveja tipo *lager* (“baixa fermentação”, quando as leveduras se localizam na parte inferior do fermentador) (CARVALHO, 2006; HARRISON 2009).

É durante a fermentação que as leveduras metabolizam os constituintes presentes no mosto produzindo principalmente etanol e dióxido de carbono. Metabólitos secundários como ésteres, aldeídos e ácidos orgânicos são os principais responsáveis pelo sabor e aroma característico da cerveja (QUEROL e FLEET, 2006).

Tradicionalmente, as cepas de leveduras utilizadas na produção de cervejas são de *Saccharomyces cerevisiae*. Características como velocidade rápida de fermentação sem crescimento excessivo, utilização de forma eficaz da maltose e maltotriose com uma boa conversão em etanol e a habilidade de tolerar o stress devido a altas concentrações de álcool e

pressões osmóticas do mosto são desejáveis nas linhagens de leveduras cervejeiras (CARVALHO, 2006).

De acordo Lorenzetti (2009) *apud* Ehrhardt e Sassen (1995) a levedura utilizada na “baixa fermentação” é utilizada apenas de 4 a 10 gerações, sendo necessária uma reposição constante do fermento enquanto a levedura de “alta fermentação” é utilizada por um período maior (vários anos), caracterizada por cepas mais robustas.

O Brasil está entre os maiores fabricantes de cerveja do mundo. No ano de 2010 o Brasil produziu cerca de 12,35 bilhões de litros; no ano de 2012 essa produção saltou para 13,70 bilhões de litros produzidos (SICOB, 2013; SINDCERV, 2012).

Tal volume de produção de cerveja pela indústria brasileira representa também o descarte de aproximadamente 160 milhões de litros de fermento por ano, isso porque a indústria cervejeira brasileira reutiliza o mesmo fermento em apenas cinco ciclos de produção para que não haja efeitos negativos relacionados com a qualidade sensorial da cerveja, já que na reutilização do fermento há geralmente a desnaturação de enzimas da levedura, ocasionando esporulação ou morte de células. Entretanto para que o fermento possa ser descartado e utilizado como adubo, o teor de células mortas do fermento deve exceder 80% da população total, tornando necessário seu armazenamento em tanques até que o fermento apresente o percentual de células mortas citado acima, já que geralmente o teor de células viáveis após os cinco ciclos de produção é superior à 80% da população (FARIA et al., 2011; LORENZETTI, 2009; SAITO, 2007). Considerando-se, portanto o desperdício observado nesse descarte, a possibilidade da utilização do fermento da indústria cervejeira na produção da aguardente de “liquor” de laranja foi considerada e avaliada (LORENZETTI, 2009; SAITO, 2007).

2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEXANDRINO, A.M.; FARIA, H.G.; SOUZA, C.G.M.; PERALTA, R.M. Aproveitamento do resíduo de laranja para a produção de enzimas lignocelulolíticas por *Pleurotus ostreatus* (Jack:Fr). **Ciênc. Tecnol. Alim.**, Campinas, v. 27, n. 2, p. 364-368, 2007.
- AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W.; LIMA, U.A. Biotecnologia Industrial – Biotecnologia na produção de alimentos. São Paulo: Blucher, 2008. 523 p.
- AQUINO, F.W.B.; NASCIMENTO, R.F.; RODRIGUES, S.; CASEMIRO, A.R.S. Determinação de marcadores de envelhecimento em cachaças. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 26, n.1, p. 145-149, 2006.
- ARAÚJO, F.B.; SILVA, P.H.A.; MINIM, V.P.R. Perfil sensorial e composição físicoquímica de cervejas provenientes de dois segmentos do mercado brasileiro. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 23, n.2, p. 121-128, 2003.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE BEBIDAS (ABRABE). Disponível em: <http://www.abrabe.org.br/>. Acesso em: 10 dez. 2012.
- ASSOCIAÇÃO EUROPÉIA DE SUCOS DE FRUTAS. Relatório de mercado. Disponível em: http://www.citrusbr.com/download/AIJNMarketReport2012_PT_02.pdf. Acesso em: 10 dez. 2012.
- ASSOCIAÇÃO MINEIRA DOS PRODUTORES DE CACHAÇA DE QUALIDADE (AMPAQ). Disponível em: <http://www.ampaq.com.br/>. Acesso em: 10 dez. 2012.
- ASSOCIAÇÃO NACIONAL DOS EXPORTADORES DE SUCOS CÍTRICOS (CitrusBR). Disponível em: <http://www.citrusbr.com/>. Acesso em: 18 dez. 2012.
- BOLUDA-AGUILAR, M.; LÓPEZ-GÓMEZ, A. Production of bioethanol by fermentation of lemon (*Citrus limon* L.) peel wastes pretreated with steam explosion. **Industrial Crops and Products**, v. 41, p. 188-197, 2013.
- BRADDOCK, R.J. **Handbook of citrus by products and processing technology**. Gaithersburg: Aspen Publ., 1999. 449 p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 13, de 29 de junho de 2005. Regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para aguardente de cana e para cachaça. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 30 jun. 2005 p. 3.
- CAMARGO, L.A.; DENTILLO, D.B.; CARDELLO, L.; GATTÁS, E.A.L. Utilização de bagaço de laranja na produção de pectinases de *Aspergillus* sp. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v. 16, n. 2, p. 153-156, 2005.

CARDELLO, H.M.A.B.; FARIA, J.B. Perfil sensorial e características físico-químicas de aguardentes comerciais brasileiras envelhecidas e sem envelhecer. **Braz. J. Food Technol.**, v. 3, p. 31-20, 2000.

CARNEIRO, J.D.S.; MINIM, V.P.R.; CHAVES, J.B.P.; SILVA, C.H.O.; REGAZZI, A.J. Opiniões e atitudes dos consumidores em relação a embalagens e rótulos de cachaça. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 30, n. 3, p. 669-673, 2010.

CARVALHO, G.B.M.; BENTO, C.V.; SILVA, J.B.A. Elementos biotecnológicos fundamentais no processo cervejeiro: 1º parte – as leveduras. **Revista Analytica**, n. 25, 2006.

EHRHARDT, P.; SASSEN, H. **Levedura**. Vassouras: SENAI, 1995. 20 p.

FARIA, J. B. et al. Cachaça, pisco e tequila. In: LEA, A. G. H.; PIGGOTT, J. R. (Eds.). **Fermented beverage production**. 2 ed. New York: Klumer Academic, 2003a. cap. 15, p. 335-363.

FARIA, J. B.; LORENZETI, N. C.; SAITO, F.H.S.F. **Produção da aguardente de “liquor” de laranja, utilizando o fermento de descarte da indústria cervejeira**. In: Waldemar gastoni Venturini Filho. (Org.). Indústria de bebidas - Inovação, Gestão e Produção. Indústria de bebidas - Inovação, Gestão e Produção. v. 3, p. 497-512, 2011.

FARIA, J.B.; CARDELLO, H.M.A.B.; BOSCOLO, M.; ISIQUE, W.D.; ODELLO, L.; FRANCO, D.W. Evaluation of Brazilian woods as an alternative to oak for cacha as aging. **Eur Food Res Technol**, v. 218, p. 83–87, 2003b.

FARIA, J.B.; ROÇAFA JUNIOR, H.; FERREIRA, J.O. Orange press liquor spirit: technical and economic aspects of a new distilled beverage. In: BRYCE, J.H.; PIGGOTT, J.R.; STEWART, G.G. (Ed.) **Production, technology and innovation**. Nottingham University, 2008. cap. 3, p. 15-20.

FERREIRA, J.O.; ROÇAFA JUNIOR, H.; FARIA, J.B. The production of orange press liquor spirit: technical and economic aspects. **Braz. J. Food Nutr.**, Araraquara, v. 17, n. 1, p.1-9, 2006.

HARRISON, M. A. Beer/Brewing. In: SCHAECHTER, M. **Encyclopedia of Microbiology**. 3 ed. Philadelphia: Elsevier, 2009. p. 23-33.

INSTITUTO BRASILEIRO DA CACHAÇA (IBRAC). Disponível em: <http://www.ibrac.net/>. Acesso em: 18 dez. 2012.

JANZANTTI, N. S. **Compostos voláteis e qualidade de sabor da cachaça**. 2004. 193f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos, 2004.

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

KOBORI, C.N.; JORGE, N. Caracterização dos óleos de algumas sementes de frutas como aproveitamento de resíduos industriais. **Ciênc. Agrotec.**, Lavras, v. 29, n. 5, p. 1008-1014, 2005.

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

MARINHO, A.V.; RODRIGUES, J.P.M.; SIQUEIRA, M.I.D. Avaliação da acidez volátil, teor alcoólico e de cobre em cachaças artesanais. **Estudos**, Goiânia, v. 36, n. ½, p. 75-93, jan./fev. 2009.

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

NGUYEN, M.T.; ROON, J.V.; EDENS, L. Otimizando tempo na fabricação de cerveja. **Engarrafador Moderno**, 2008.

ODELLO, L., BRACESCHI, G.P. Avaliação sensorial de cachaça. **Quim. Nova**, vol. 32, n. 7, p. 1839-1844, 2009.

POURBAFRANI, M.; FORGÁCS, G.; HORVÁTH, I.S.; NIKLASSON, C.; TAHERZADEH, M. Production of biofuels, limonene and pectin from citrus wastes. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 4246-4250, 2010.

QUEROL, A.; FLEET, G.H. Yeasts in food and beverages. Gernamy: **Springer**. 2006. 453p.

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

RODRIGUES, C. **Desenvolvimento de bioprocesso para produção de ácido cítrico por fermentação no estado sólido utilizando polpa cítrica**. 2006. 93f. Dissertação (Mestrado em Processos Biotecnológicos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

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

SINDICATO NACIONAL DA INDÚSTRIA CERVEJEIRA (SINDICERV). Disponível em: <http://www.sindicerv.com.br/#>. Acesso em: 27 jul. 2011.

SISTEMA DE CONTROLE DE PRODUÇÃO DE BEBIDAS (SICOB). Disponível em: <http://www.receita.fazenda.gov.br/Legislacao/LegisAssunto/Sicobe.htm>. Acesso em: 30 dez. 2012.

TETRA PAK PROCESSING SYSTEM AB. **The orange book**. Lund-Sweden, 1998. 206 p.

WALDEMAR GASTONI VENTURINI FILHO **Bebidas Alcoólicas - Ciência e Tecnologia Volume 1**. 1. ed. São Paulo: Blucher, 2010. 492 p.

WILKINS, M.R.; WIDMER, W.W.; GROHMANN, K. Simultaneous saccharification and fermentation of citrus peel waste by *Saccharomyces cerevisiae* to produce ethanol. **Process Biochemistry**, v. 42, p. 1614-1619, 2007.

ZHOU, W.; WIDMER, W.; GROHMANN, K. Development in ethanol production from citrus peel waste. **Proc. Fla. Hort. Soc.**, v.121, p. 307-310, 2008.

CAPÍTULO 2

ESTUDO DA VIABILIDADE DA LEVEDURA DE DESCARTE DA INDÚSTRIA CERVEJEIRA NA OBTENÇÃO DA AGUARDENTE DO “LIQUOR” DE LARANJA

PEREZ, C.A.¹; FARIA, J.B¹.

¹Centro de Pesquisa e Desenvolvimento da Qualidade da Cachaça, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP – Araraquara, São Paulo, Brasil.

RESUMO

Um dos subprodutos da indústria cítrica é o “liquor” de laranja, líquido resultante da prensagem do bagaço, rico em açúcares, que após concentrado juntamente com o farelo de polpa cítrica é destinado à ração animal. A indústria cervejeira, por sua vez, descarta o fermento utilizado na obtenção da cerveja após cinco ciclos de produção, sendo descartado com células totalmente viáveis (teor de células mortas inferiores a 5%) e destinado à adubação. Sendo assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a viabilidade da levedura de descarte cervejeira na produção da aguardente de “liquor” de laranja. O “liquor” foi fermentado pelas leveduras de descarte da indústria cervejeira, sendo avaliada a viabilidade celular do fermento assim como o teor de sólidos solúveis totais e o consumo de açúcares redutores totais durante a obtenção da bebida. Após a fermentação o “liquor” fermentado foi bidestilado em alambiques de cobre e a bebida resultante envelhecida em ancorotes de castanheira por seis meses. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ao teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Foram realizadas nove bateladas de fermentações contínuas, sem a reposição do fermento. O fermento utilizado na produção da bebida apresentou uma viabilidade inicial de 97,65% e uma queda de 15% das células viáveis ao final da nona batelada de fermentação. A diminuição do teor de sólidos solúveis totais foi bem menor nas últimas bateladas, cerca de 9% se comparadas às três bateladas iniciais, em que se observou uma redução de aproximadamente 23%. Os testes de aceitação não revelaram diferença significativa ($p \leq 0,05$) nos atributos cor e aroma entre as três amostras. Nos atributos sabor e impressão global observou-se diferença significativa na amostra 2 correspondente às bateladas de fermentação 4, 5 e 6. Todas as determinações físico-químicas ficaram dentro da legislação vigente, exceto o teor de álcool metílico, álcool n-butílico e o carbamato de etila. A levedura de descarte da indústria cervejeira apresentou-se como uma boa opção na obtenção da aguardente de “liquor” de laranja, garantindo pelo menos a fermentação de seis bateladas, sem a necessidade de reposição das leveduras.

Palavras-chave: “liquor” de laranja; levedura cervejeira; aguardente.

ABSTRACT

One of the by-products of the citrus industry is orange liquor, a liquid resulting from the pressing of the pomace. It is rich in sugars, and after being concentrated, together with citrus pulp is used as animal feed. The brewing industry, in turn, discards yeast used for beer fermentation after five cycles of production, although composed of viable cells (dead cell count of less than 5%) and it is used as fertilizer. Therefore, this study aimed to evaluate the viability of brewer's spent yeast in the production of orange liquor spirit. The liquor was fermented by brewer's spent yeast; yeast cell viability and total soluble solids and total sugars consumption were assessed during the process. There were nine consecutive batches of fermentations, without replacing the starter. After each three fermentation batches, the orange liquor was double distilled in copper stills, and the resulting spirit aged in chestnut casks (capacity of 5 liters) for 6 months. Data were subjected to analysis of variance (ANOVA) and Tukey's test ($p \leq 0.05$). The yeast showed initial viability of 97.65%, and a drop of 15% of viable cells at the end of the ninth fermentation. The decrease in total soluble solids content was much lower in the last batch, about 9% compared to the initial three batches, in which there was a reduction of approximately 23%. Acceptance tests revealed no significant difference ($p \leq 0.05$) in acceptability of color and aroma among the three samples. For flavor and overall acceptability there was a significant difference in sample 2, corresponding to batch fermentations 4, 5 and 6. All physico-chemical determinations were within legislation, except the content of methyl alcohol, n-butyl alcohol and ethyl carbamate. Brewer's spent yeast was shown to be a good choice for obtaining orange liquor spirit, ensuring at least six batch fermentations without the need for replacement of the yeast.

Keywords: orange liquor, brewer's yeast, spirit.

1. INTRODUÇÃO

Com uma produção de 428 milhões de caixas de laranja no ano de 2011-12, o Brasil lidera o primeiro lugar no ranking de produção e exportação mundial de suco de laranja. O principal produto da indústria cítrica é o suco de laranja tipo FCOJ (concentrado e congelado), totalizando 448 mil toneladas exportadas no ano de 2012 (CITRUSBR, 2012).

Na indústria cítrica, além do suco de laranja, vários subprodutos são gerados, dentre eles o “liquor” de laranja. Todo o resíduo da fruta (bagaço, sementes, casca) passa por uma etapa de prensagem, onde o líquido resultante (“liquor”) é concentrado e destinado à ração animal. O “liquor” é composto de frações de açúcares sendo a sua fermentação para a obtenção de aguardente totalmente viável (FARIA et al., 2008; ROÇAFA JUNIOR et al., 2005).

Outro subproduto descartado pela indústria é a levedura da indústria cervejeira. Por ano são descartados aproximadamente 160 milhões de litros de fermento, isso porque a indústria cervejeira brasileira reutiliza o mesmo fermento em apenas cinco ciclos de produção para que não haja efeitos relacionados com a qualidade sensorial da cerveja. Com isso, fermentos com viabilidade celular de aproximadamente 97% são destinados à adubação. Considerando o desperdício observado nesse descarte e a possibilidade da utilização do fermento de descarte da indústria cervejeira na produção da aguardente de “liquor” de laranja foi considerada e avaliada (LORENZETI, 2009; SAITO, 2007).

Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a viabilidade da levedura de descarte da indústria cervejeira na produção da aguardente de “liquor” sem causar alterações sensoriais e físico-química indesejáveis no produto final.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

2.1.1 “Liquor” de laranja

O “liquor” de laranja foi obtido em uma indústria cítrica do interior de São Paulo, após a primeira prensagem do bagaço.

2.1.2 Fermento de descarte da indústria cervejeira

O fermento de descarte foi obtido de uma indústria cervejeira do interior de São Paulo, sendo coletado na saída dos tanques de fermentação, após o quinto ciclo de fermentação.

A levedura utilizada na produção da bebida foi a *Saccharomyces cerevisiae*, típica de todas as cervejas brasileiras, de baixa fermentação, com compactação em torno de 65 % em média e viabilidade celular de 97%.

2.2 MÉTODOS

2.2.1 Obtenção da aguardente de “liquor” de laranja

O “liquor” foi fermentado pelas leveduras de descarte da indústria cervejeira, em uma proporção de 4:1 (“liquor”: fermento) durante 48 horas. Durante a obtenção das amostras, “liquor” de diferentes lotes cedidos pela indústria, com uma variação de 27 – 30° Brix no teor inicial de sólidos solúveis. Antes do início de cada processo de fermentação o “liquor” foi diluído a faixa 15° Brix (SAITO, 2007). A fermentação foi conduzida em temperatura ambiente, com monitoramento do pH e do teor de sólidos solúveis totais.

Foram realizadas nove bateladas de fermentações sem a reposição do fermento, sendo que o “liquor” fermentado em cada batelada foi destilado em alambique de cobre, com capacidade de 300 L, obtendo-se assim um destilado alcoólico com graduação de 30% v/v de etanol. O volume correspondente ao conjunto de três destilações foi bidestilado em alambique de cobre aquecido com chama direta, com capacidade de 20 L correspondendo assim a obtenção de cada uma das três amostras. Assim o volume dos destilados 1, 2 e 3 após a bidestilação deu origem a amostra 1; os destilados 4, 5 e 6 após a bidestilação originou a amostra 2 e os destilados 7, 8 e 9 após a bidestilação correspondeu a amostra 3.

As amostras de aguardente de “liquor” de laranja foram a seguir armazenadas em ancorotes de 5 L por um período de seis meses.

2.2.2. Determinações físico-químicas

2.2.2.1. Determinação de pH

O pH das amostras foi determinado por leitura direta em pHmetro (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005).

2.2.2.2. Determinação do teor de sólidos solúveis totais

O teor dos Sólidos Solúveis Totais (°Brix) das amostras foi determinado por leitura direta em refratômetro, conforme metodologia definida pela AOAC – Association of Official Analytical Chemists (2000).

2.2.2.3. Determinação do teor alcoólico

O percentual de etanol do produto final foi determinado em conformidade com a metodologia descrita pelas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2005), utilizando-se alcoômetro de Gay-Lussac.

2.2.2.4. Viabilidade do fermento

Ao final de cada processo de fermentação foi realizada a contagem de células viáveis em câmara de *Neubauer*, utilizando o corante azul de metileno segundo BONNEU et al. (1991).

2.2.2.5. Determinação de açúcares redutores totais

Para a determinação dos açúcares redutores totais do “liquor” fermentado foi utilizado o método DNS (ácido 3,5 dinitrosalicílico) de acordo com MILLER (1959).

2.2.2.6. Composição química das amostras de aguardente de “liquor” de laranja

As análises referentes à composição química das amostras de aguardente de “liquor” de laranja foram realizadas no Laboratório de Tecnologia e Qualidade Química de bebidas do Setor de Açúcar e Álcool do Departamento de Alimentos e Nutrição da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, ESALQ/USP na cidade de Piracicaba/SP. Foram realizadas as seguintes determinações: etanol, cobre e acidez volátil segundo metodologia descrita na Instrução Normativa nº 24, de 08 set. 2005, do MAPA; aldeídos, ésteres, metanol, álcoois superiores (propanol, 1-butanol, 1-amílico), acidez volátil e furfural, por CG-FID e carbamato de etila por CG-MS.

Condições cromatográficas – CG-FID:

As análises foram realizadas em cromatógrafo a gás Shimadzu modelo QP-2010 PLUS, com coluna Stabilwax-DA (Crossbond Carbowax polyethylene glycol, 30 m x 0,18 mm x 0,18 µm) e detector de ionização de chama (FID). As temperaturas do detector e do injetor foram fixadas em 250 °C e a injeção foi realizada manualmente com divisão de fluxo (*split*)

de 1:25 e volume de injeção de 1,0 µL da amostra, em triplicata. O fluxo do gás de arraste na coluna (H₂) foi de 1,5 mL min⁻¹ com fluxo total de 42 mL min⁻¹ e pressão de 252,3 KPa. A programação da rampa de temperatura da coluna foi: 40 °C (isoterma de 4 min), aumento até 120 °C a uma taxa de 20 °C min⁻¹ (isoterma de 1 min) e aumento a 30°C min⁻¹ até 180°C (isoterma de 4 min).

Condições cromatográficas – CG-MS:

A análise de carbamato de etila foi realizada sem tratamento prévio das amostras, utilizando um cromatógrafo gasoso Shimadzu com detector de massas, modelo GCMS-QP2010 Plus, tendo como fonte de ionização o impacto eletrônico com energia de ionização de 70 eV. Foi utilizada coluna cromatográfica capilar de fase polar (polietilenoglicol esterificada) HP-FFAP (50m x 0,20mm x 0,33µm de espessura do filme da fase estacionária). As temperaturas do injetor e da interface do detector foram respectivamente 230 e 220°C. Empregou-se a seguinte programação de temperatura para o forno: início com 90°C por 1 min, elevação para 150°C a uma taxa de 10°C/min, seguido de aquecimento para 230°C a uma taxa de 30°C/min, na qual permaneceu por 2 min. O volume injetado foi de 1,0µL no modo “splitless” automático, em duplicata. O gás de arraste foi hélio (5.0) com fluxo de 1,2 mL/min. O modo de aquisição foi o SIM, monitorando os íons de m/z 62 para carbamato de etila e m/z 75 para carbamato de metila, usado como padrão interno (Clegg & Frank, 1988; Reche et al, 2007). A quantificação foi realizada mediante comparação dos resultados cromatográficos das amostras com uma curva analítica obtida a partir de uma solução padrão de carbamato de etila, utilizando carbamato de metila na concentração de 150 µg/L como padrão interno.

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

2.3. Análise sensorial

Para a realização dos testes de aceitação das amostras de aguardente de “liquor” de laranja foram recrutados consumidores por meio de questionário (Anexo 1), sendo selecionados somente consumidores em potencial do produto.

Os testes sensoriais foram realizados no Laboratório de Análise Sensorial da Faculdade de Ciências Farmacêuticas (UNESP), em cabines individuais, sob luz branca por 60 provadores (GUAGLIANONI, 2009). As amostras foram avaliadas monadicamente,

utilizando-se escala hedônica híbrida, conforme descrito por Villanueva et al. (2005). A intenção de compra dos consumidores em relação a cada aguardente também foi avaliada, através de uma escala de 5 pontos (1 = certamente não compraria e 5 = certamente compraria) (Anexo 2).

2.4. Análise estatística dos resultados

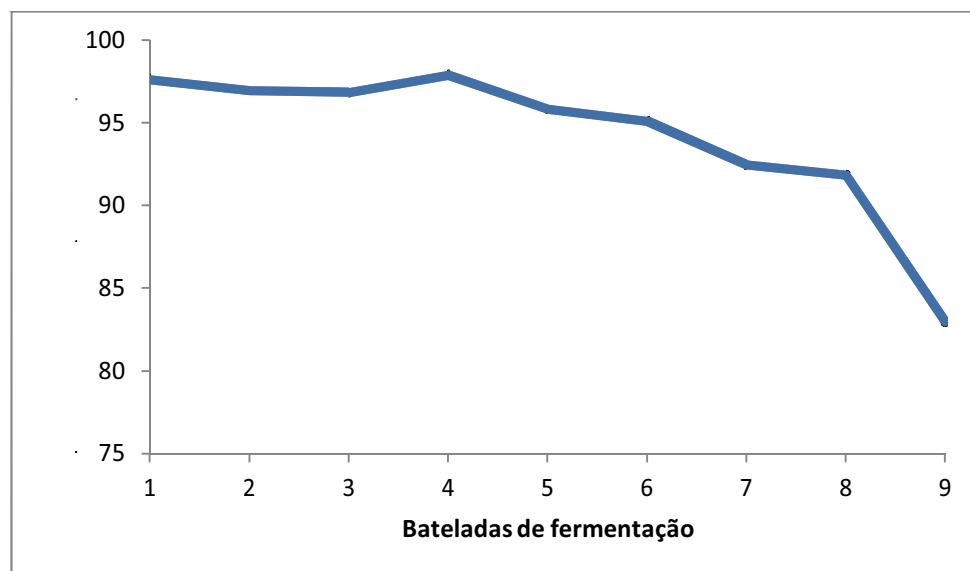
Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ao teste de Tukey (nível de significância de 5%) utilizando-se o programa *Statistical Analysis Systems* (SAS), versão 8.2 (1999).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Acompanhamento do processo fermentativo e viabilidade do fermento de descarte da indústria cervejeira

A viabilidade celular do fermento durante as nove bateladas de fermentação está representada na figura 1.

Figura 1. Viabilidade do fermento durante as bateladas de fermentação.



Utilizando-se o sistema de pé-de-cuba no processo fermentativo foram realizadas nove bateladas de fermentação, sendo seis delas com duração de 48 horas e as três últimas com duração de 72 horas determinadas pela interrupção da produção de CO₂. A viabilidade inicial do fermento era de 97,65%, decaindo durante as seis primeiras bateladas apenas cerca de 2%. Assim após as seis primeiras fermentações utilizando-se o mesmo pé-de-cuba (fermento de

descarte da indústria cervejeira), a viabilidade do fermento (95,14%) revelou total adequação do uso da levedura cervejeira na fermentação do “liquor” de laranja. Com base nos resultados observados, a extensão da fermentação nas três últimas bateladas parece não ser aconselhável, devido aos riscos de contaminação por outros microrganismos (bactérias e leveduras selvagens) que poderiam resultar na produção de compostos indesejáveis refletindo assim na diminuição do rendimento e na qualidade da bebida (NOGUEIRA e VENTURINI FILHO 2005).

No processo de fermentação do “liquor” de laranja é importante que o mesmo apresente um baixo teor de óleo proveniente da casca da laranja devido ao seu efeito tóxico para as leveduras do fermento. O “liquor” adquirido para a realização do “piloto” do presente estudo apresentou um elevado teor de óleo, devido a uma falha na linha de processo da indústria, resultando na morte do fermento. Segundo Lanza (2003) o “liquor” a ser fermentado não deve apresentar níveis de óleo superiores a 0,08%.

O teor de sólidos solúveis totais (SS) (tabela 1) diminuiu em média 3,34 °Brix nas três primeiras bateladas (1, 2 e 3), correspondentes a amostra 1. Durante as nove bateladas de fermentação a redução dos SS se manteve relativamente constante, não havendo diferença significativa entre esta primeira amostra quando comparado ao consumo de SS das demais amostras. Porém a amostra três (três últimas bateladas) foi a que apresentou o menor desempenho (redução de aproximadamente 1° Brix).

Roçafa Junior et al. (2005) utilizando o fermento de pão na obtenção da aguardente de “liquor” de laranja conseguiu uma redução dos SS de 5,7 °Brix (de 14 para 8,3 °Brix) com bateladas de fermentação de 48 horas. Saito (2007) utilizando o fermento de descarte da indústria de cerveja na produção da mesma bebida obteve uma redução em média de 9,7 °Brix (de 18,25 para 8,52 °Brix) em apenas 24 horas de fermentação. Lorenzetti (2009), também utilizando a levedura cervejeira, em bateladas de 24 horas, conseguiu uma redução média de 5 °Brix (de 16,3 para 11,5 °Brix).

O pH tem relação direta tanto no crescimento como no metabolismo da levedura. No presente estudo o pH se manteve ideal para a levedura cervejeira, não apresentando diferença significativa entre as nove bateladas de fermentação. De acordo com Nogueira e Venturini Filho (2005), é normal durante a fermentação a diminuição do valor de pH devido a formação de ácidos, tendência observada no presente trabalho.

Tabela 1. Médias¹ e desvios padrão do teor de sólidos solúveis (°Brix) e pH antes e após o processo fermentativo.

Amostra	°Brix início fermentação	°Brix fim fermentação	pH início fermentação	pH final fermentação
1	14,67 ^a ± 0,577	11,33 ^a ± 1,04	4,47 ^a ± 0,03	3,62 ^a ± 0,04
2	16,00 ^a ± 1,73	14,00 ^a ± 1,73	4,43 ^a ± 0,03	3,59 ^a ± 0,06
3	14,83 ^a ± 0,289	13,67 ^a ± 0,76	4,47 ^a ± 0,03	3,73 ^a ± 0,02

¹Médias com letras em comum em uma mesma coluna não diferem significativamente entre si no (Tukey $p \leq 0,05$).

Nas figuras 2, 3 e 4 está representado o consumo de açúcares redutores totais das nove bateladas de fermentação nos tempos de 24, 48 e 72 horas. Assim como a redução do teor de SS, o consumo de açúcares redutores totais foi maior nas primeiras três bateladas, ficando entre 70 – 80%.

Figura 2. Consumo de açúcares redutores totais em 24 horas de fermentação (%).

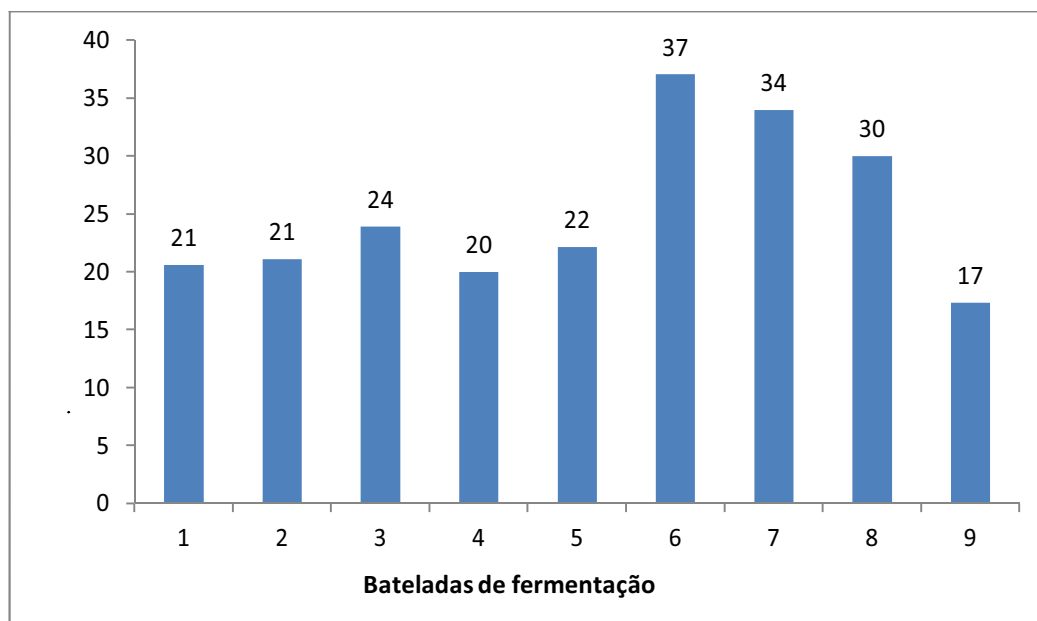


Figura 3. Consumo de açúcares redutores totais em 48 horas de fermentação (%).

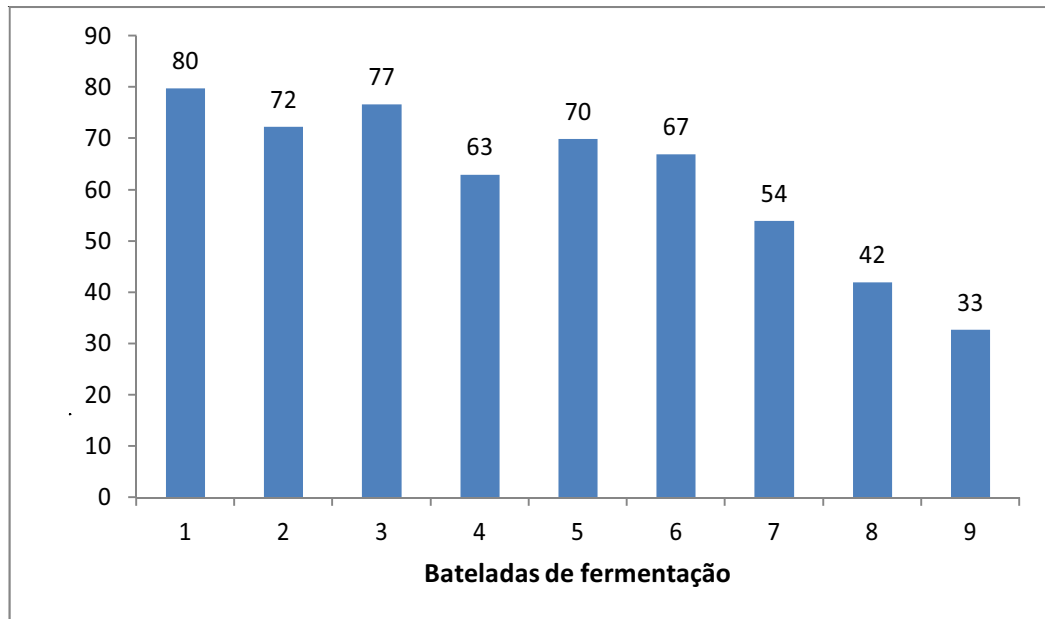
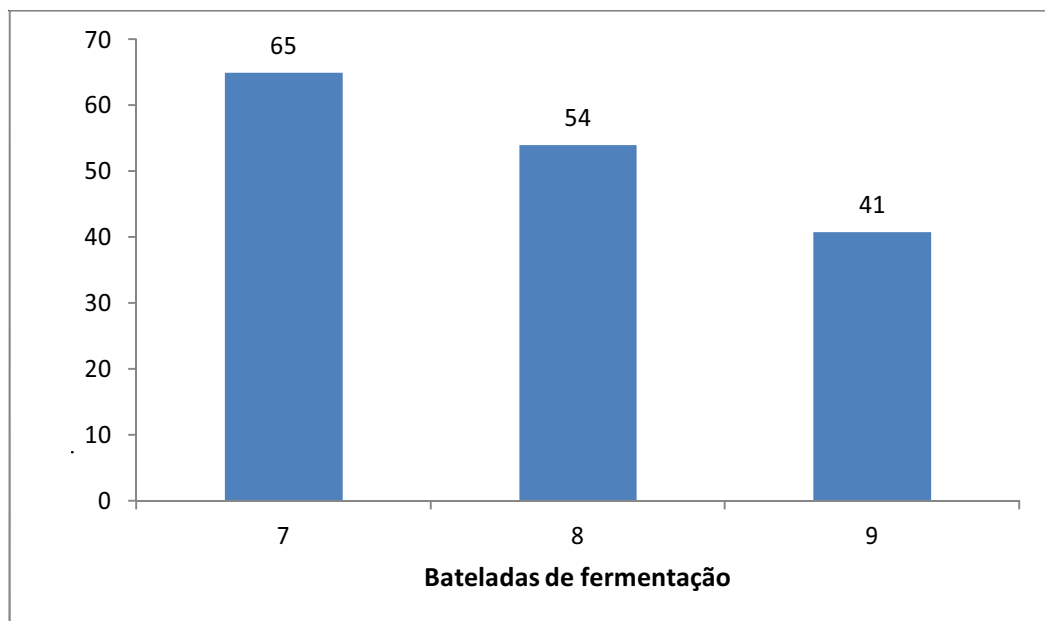


Figura 4. Consumo de açúcares redutores totais em 72 horas de fermentação (%).



3.2. Acompanhamento do processo de destilação, bidestilação e envelhecimento da aguardente de “liquor” de laranja.

O rendimento da destilação das nove bateladas de fermentação está representado na tabela 2. O processo de destilação foi conduzido lentamente, com média de 4 horas de duração. Segundo Chaves (1992), na destilação realizada de forma lenta há uma melhor formação e separação de compostos aromáticos, provenientes tanto do processo fermentativo como das reações que acontecem dentro do destilador. No início da destilação o destilado apresentou graduação alcoólica de 70% (v/v), obtendo-se um destilado ao final do processo com graduação alcoólica de 30% (v/v).

Mesmo com a destilação sendo conduzida lentamente, o rendimento foi de aproximadamente 7% do volume do vinho a 30% em álcool, rendimento inferior quando comparado ao processo de obtenção da cachaça (15-17% do volume de vinho para aguardente com 38-54% em álcool) (Cardoso (2001) citado por Lorenzetti (2009)).

Tabela 2. Rendimento da destilação das nove bateladas de fermentação.

Batelada de fermentação	Rendimento Destilação (L, 30% em álcool)	Amostra	Total (L)	Rendimento Bidestilação (L, 60% em álcool)
1	16			
2	21	1	72	23
3	35			
4	20			
5	24	2	68	24
6	24			
7	24			
8	20	3	61	23
9	17			

O processo de bidestilação também foi conduzido lentamente, com média de 2 horas de duração. Como a bidestilação foi realizada em alambique de cobre com capacidade de 20 L, foram necessárias três alambicadas de cada amostra. Foram separados nas frações cabeça e cauda, volume correspondente a 2% do total a ser destilado.

Ao final da bidestilação foram obtidas amostras com teor alcoólico de 60% (v/v) que foram armazenadas em tonéis de madeiras por um período de seis meses. O processo de bidestilação além de aumentar o grau alcoólico da bebida, reduz componentes secundários, melhorando assim a qualidade sensorial da bebida. A bebida bidestilada submetida ao processo de envelhecimento em tonéis de madeira adquire características mais desejáveis, resultantes da extração de componentes da madeira (VENTURINI FILHO, 2010).

No início do processo de envelhecimento, as aguardentes de “liquor” de laranja apresentavam teor alcoólico de 60% de etanol em volume (à 20 °C) que de acordo com Piggott et al. (1989) é a graduação alcoólica mais efetiva na extração dos componentes presentes na madeira (compostos responsáveis pelo aroma e sabor são mais solúveis em álcool do que em água).

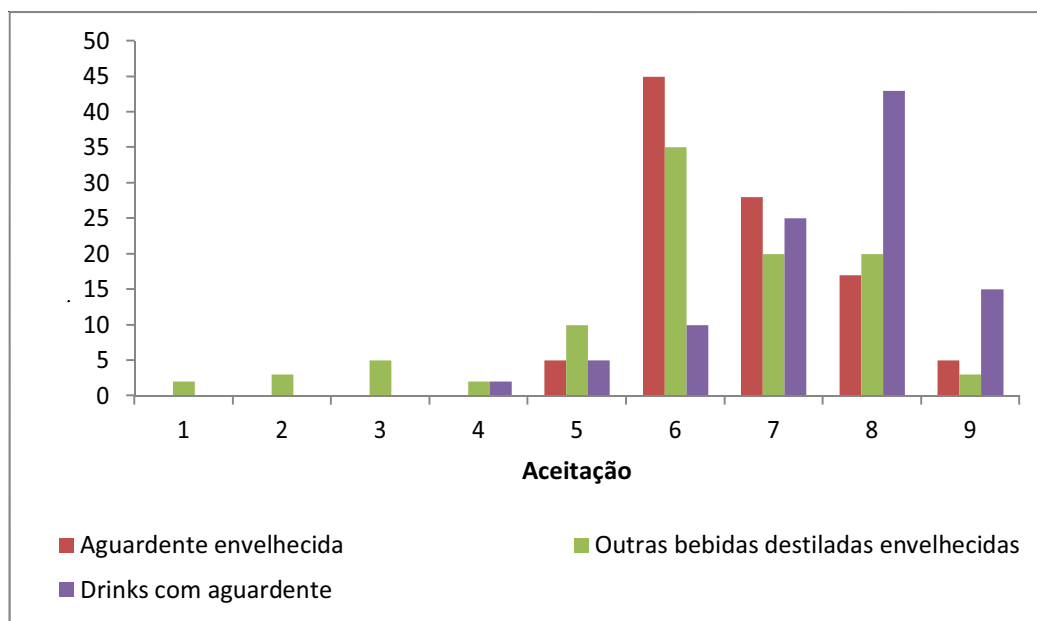
Durante o período de envelhecimento a umidade relativa do ar permaneceu em média 61%. Ao final dessa etapa, as amostras apresentaram teor alcoólico em média 62% de etanol em volume (à 20 °C). Em ambientes secos, a tendência é de que ocorra uma maior evaporação de água, o que resulta no aumento do grau alcoólico da bebida. O oposto acontece em ambientes úmidos, onde a evaporação do álcool é maior do que da água, resultando na redução do grau alcoólico da bebida (VENTURINI FILHO, 2010).

3.3. Teste de aceitação

Com base no questionário aplicado para o recrutamento dos consumidores para a realização do teste de aceitação, na figura 5 estão representados os dados do quanto esses consumidores gostam ou desgostam de aguardente envelhecida, drinks com aguardente e de outras bebidas destiladas envelhecidas, e na figura 6 a frequência do consumo dos mesmos para essas bebidas. Foram selecionados provadores que afirmaram gostar de “ligeiramente a muitíssimo” de aguardente envelhecida ou de outras bebidas destiladas envelhecidas e que consomem, pelo menos, uma dose (30 mL) a cada quatro semanas. É importante salientar que em testes afetivos os julgadores devem fazer parte do grupo da população que consome a classe do produto em questão, sendo importante considerar a frequência de consumo do produto, idade e sexo dos julgadores selecionados (FARIA e YOTSUYANAGI, 2002).

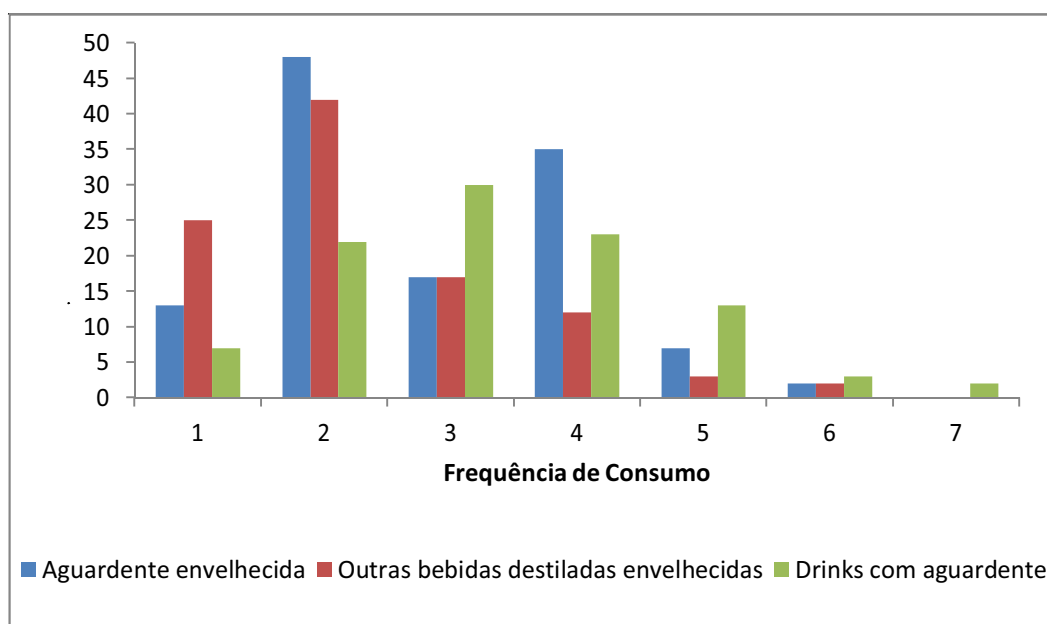
Os 60 provadores recrutados apresentavam-se na faixa etária entre 18 e 62 anos, sendo 57% do sexo masculino e 43% do sexo feminino. Estudantes de graduação e pós-graduação representaram a maioria dos provadores, 72% e 20% respectivamente (figura 7).

Figura 5. Representação gráfica da preferência dos provadores entre aguardente de cana envelhecida, outras bebidas destiladas envelhecidas e drinks com aguardente.



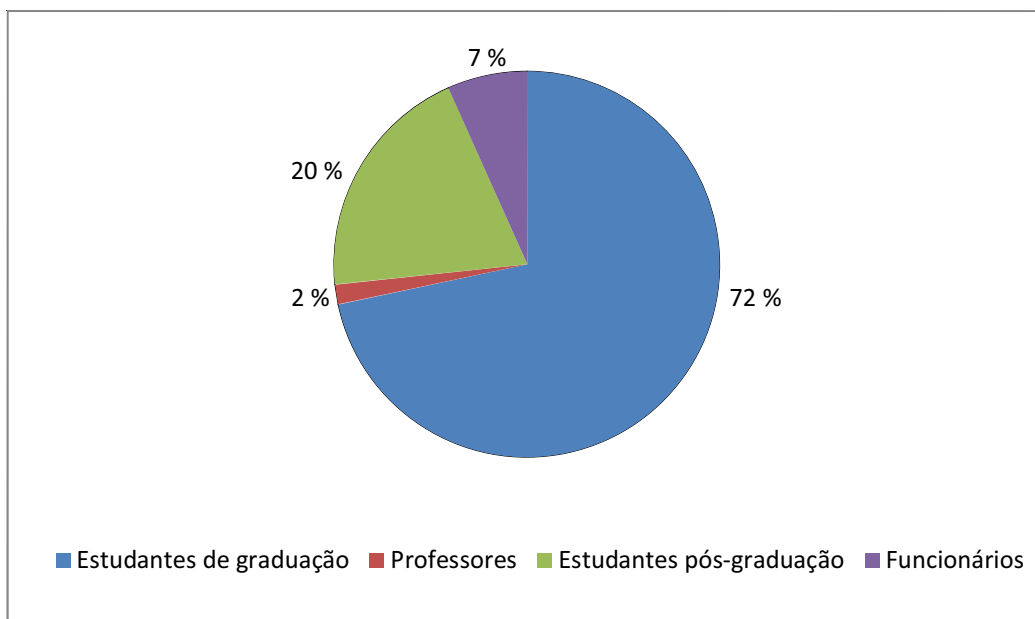
(1 = Desgosto muitíssimo; 2 = Desgosto muito; 3 = Desgosto moderadamente; 4 = Desgosto ligeiramente; 5 = Nem gosto nem desgosto; 6 = Gosto ligeiramente; 7 = Gosto moderadamente; 8 = Gosto muito; 9 = Gosto muitíssimo).

Figura 6. Representação gráfica da frequência do consumo dos provadores em relação a aguardente de cana envelhecida, outras bebidas destiladas envelhecidas e drinks com aguardente.



(1 = Não consumo; 2 = Pelo menos 1 dose (30 mL) a cada quatro semanas; 3 = Pelo menos 1 dose (30 mL) a cada duas semanas; 4 = Pelo menos 1 dose (30 mL) por semana; 5 = Pelo menos 2 doses (60 mL) por semana; 6 = Pelo menos 3 doses (90 mL) por semana; 7 = Pelo menos 4 doses (120 mL) por semana).

Figura 7. Caracterização dos julgadores em relação à categoria (%).



Os dados da aceitação dos atributos avaliados nas três amostras (cor, aroma, sabor e impressão global) estão representados na tabela 3.

Entre as amostras de aguardente de “liquor” de laranja estudadas, não se observou diferença significativa ($p \leq 0,05$) em relação aos atributos cor e aroma. Já em relação aos atributos sabor e impressão global, a amostra 2, correspondente às bateladas de fermentação 4, 5 e 6, diferiu significativamente ($p \geq 0,05$) das outras duas amostras avaliadas.

O atributo cor foi o que apresentou melhores médias, correspondendo a “gostei ligeiramente” na escala hedônica. No atributo aroma, as médias ficaram entre 5 e 6, o que corresponde a “nem gostei nem desgostei” e “gostei ligeiramente”. Já o atributo sabor obteve as menores médias, ficando entre 3 e 5, correspondendo entre “desgostei moderadamente” e “nem gostei nem desgostei” na escala. A média da impressão global permaneceu na faixa entre 4 e 5, correspondentes a “desgostei ligeiramente” e “nem gostei nem desgostei”.

Tabela 3. Médias¹ de aceitação dos atributos avaliados para as amostras de aguardente de “liquor” de laranja ($n = 60$ provadores).

AMOSTRA	COR	AROMA	SABOR	IMPRESSÃO GLOBAL
1	6,8 ^a	6,2 ^a	5,2 ^a	5,3 ^a
2	6,8 ^a	6,0 ^a	3,7 ^b	4,3 ^b
3	6,9 ^a	5,9 ^a	4,9 ^a	5,1 ^a
MDS*	0,3551	0,5798	0,6603	0,5782

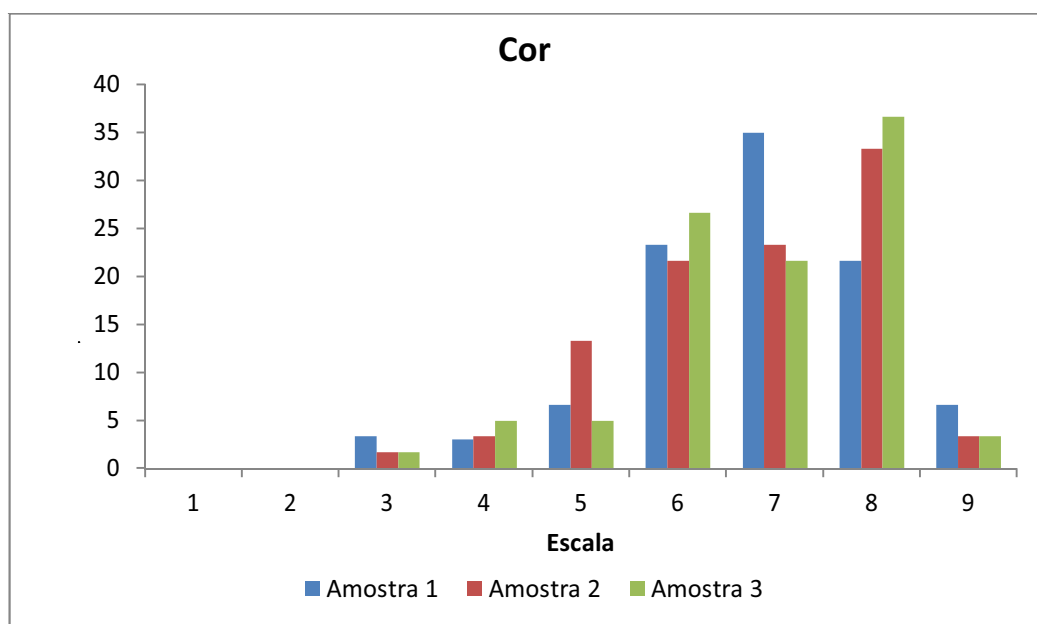
¹Médias com letras em comum na mesma coluna não diferem significativamente entre si (Teste de Tukey, $p \leq 0,05$). *Mínima diferença significativa.

Mesmo sem as amostras 1 e 3 diferirem significativamente entre si ($p \leq 0,05$), a distribuição das frequências das notas atribuídas pelos consumidores (figuras 8, 9, 10 e 11) permite observar algumas diferenças dos atributos nas três amostras de aguardente de “liquor” de laranja.

A amostra 3 foi a mais aceita em relação ao atributo cor, obtendo frequência de 88% entre “gostei ligeiramente” e “gostei muitíssimo”, seguida da amostra 1 (87%) e amostra 2 (82%) (figura 8).

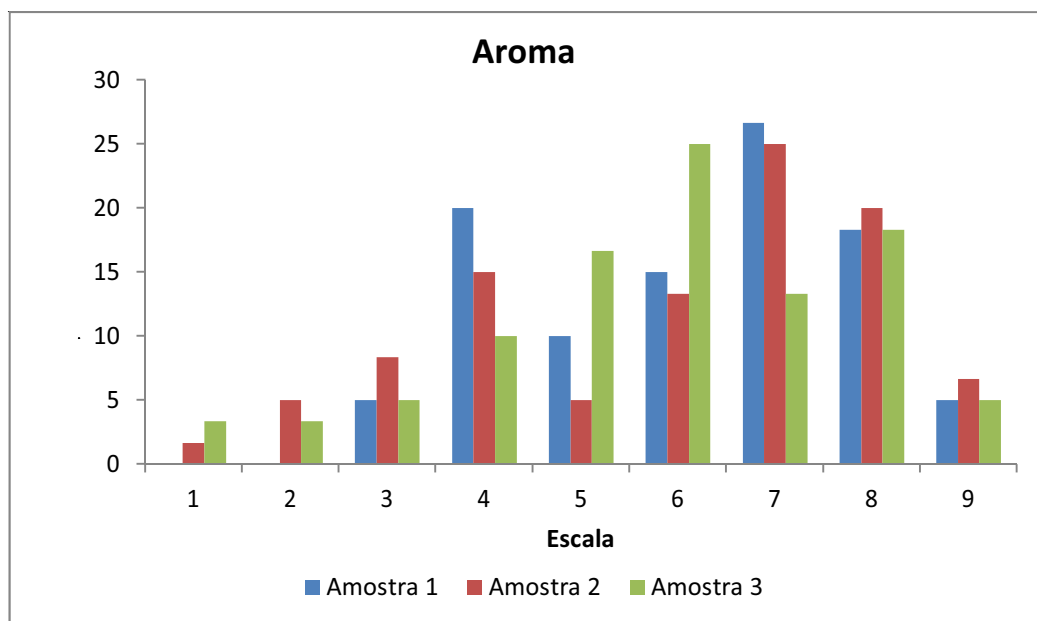
Na figura 9 está representada a frequência das notas em relação ao atributo aroma. As amostras 1 e 2 obtiveram a mesma frequência de 65% entre “gostei ligeiramente” e “gostei muitíssimo” e a amostra 3 obteve 62%.

Figura 8. Representação gráfica das notas do teste de aceitação em relação ao atributo cor.



(1 = Desgostei muitíssimo; 2 = Desgostei muito; 3 = Desgostei moderadamente; 4 = Desgostei ligeiramente; 5 = Nem gostei nem desgostei; 6 = Gostei ligeiramente; 7 = Gostei moderadamente; 8 = Gostei muito; 9 = Gostei muitíssimo).

Figura 9. Representação gráfica das notas do teste de aceitação em relação ao atributo aroma.

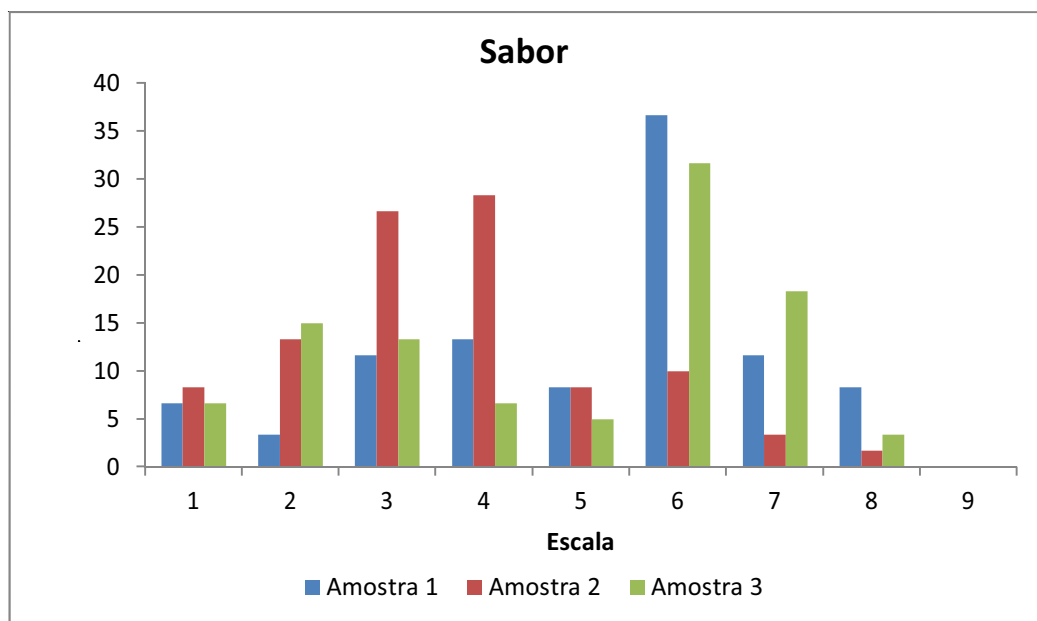


(1 = Desgostei muitíssimo; 2 = Desgostei muito; 3 = Desgostei moderadamente; 4 = Desgostei ligeiramente; 5 = Nem gostei nem desgostei; 6 = Gostei ligeiramente; 7 = Gostei moderadamente; 8 = Gostei muito; 9 = Gostei muitíssimo).

No atributo sabor a amostra 1 obteve 57% de frequência entre “gostei ligeiramente” e “gostei muito”. Para a amostra 2, 85% da frequência das notas ficaram entre “desgostei muitíssimo” e “nem gostei nem desgostei” e no caso da amostra 3, 53% da frequência variaram entre “gostei ligeiramente” e “gostei muito” (figura 10).

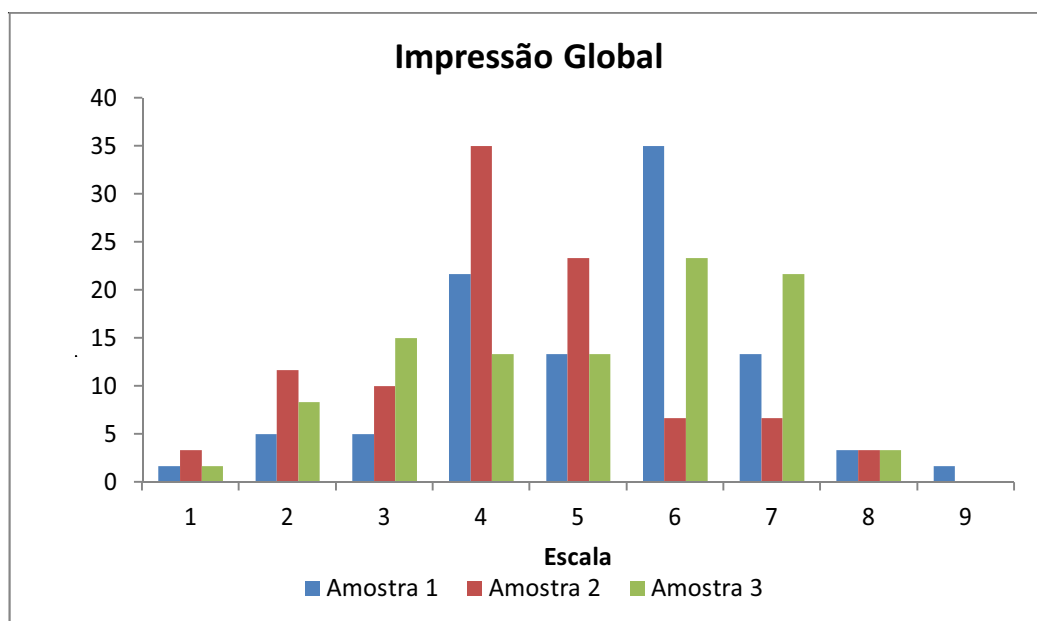
Com relação ao atributo impressão global, 53% dos consumidores avaliaram a amostra 1 entre “gostei ligeiramente” e “gostei muitíssimo”, ficando o maior percentual de notas para a amostra 2 entre “desgostei muitíssimo” e “nem gostei nem desgostei”, sendo que a amostra 3 obteve 52% de frequência na mesma faixa (figura 11).

Figura 10. Representação gráfica das notas do teste de aceitação em relação ao atributo sabor.



(1 = Desgostei muitíssimo; 2 = Desgostei muito; 3 = Desgostei moderadamente; 4 = Desgostei ligeiramente; 5 = Nem gostei nem desgostei; 6 = Gostei ligeiramente; 7 = Gostei moderadamente; 8 = Gostei muito; 9 = Gostei muitíssimo).

Figura 11. Representação gráfica das notas do teste de aceitação em relação ao atributo impressão global.



(1 = Desgostei muitíssimo; 2 = Desgostei muito; 3 = Desgostei moderadamente; 4 = Desgostei ligeiramente; 5 = Nem gostei nem desgostei; 6 = Gostei ligeiramente; 7 = Gostei moderadamente; 8 = Gostei muito; 9 = Gostei muitíssimo).

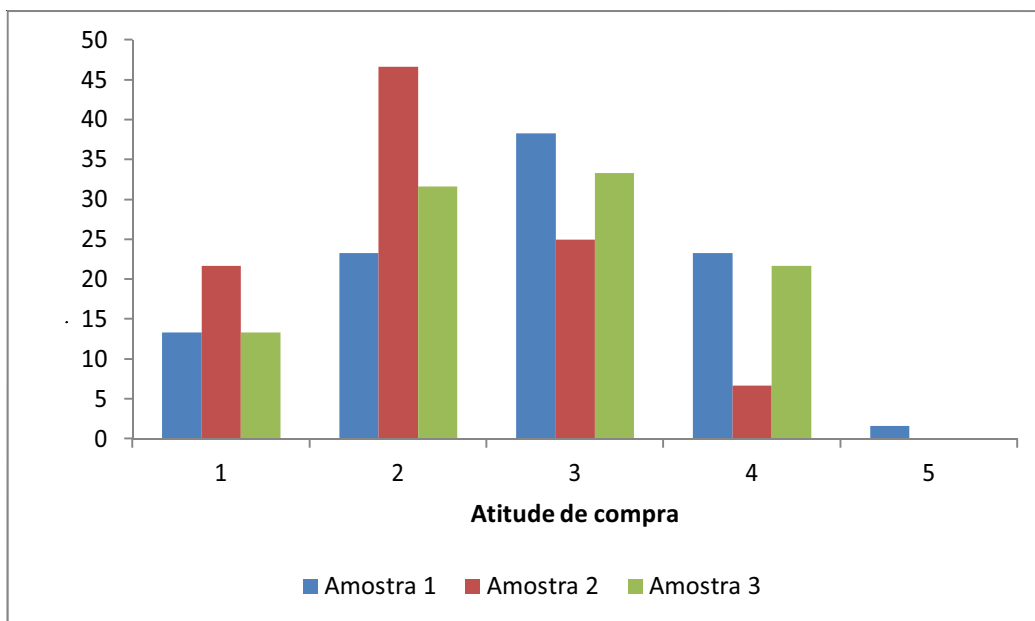
Durante a realização do teste de aceitação foi solicitado aos consumidores que descrevessem as características que eles mais gostaram e menos gostaram nas amostras de aguardente de “liquor” de laranja. Esses consumidores descreveram como “mais gostei” os atributos cor e aroma, nas 3 amostras avaliadas. A amostra 1 apresentou 42% de citações para o atributo cor e 36% para o atributo aroma. Nas amostras 2 e 3 o atributo aroma foi o que apresentou mais citações (47,3% e 44,2% respectivamente). Em relação ao atributo sabor, a amostra 1 foi a que obteve o maior percentual (30%) de “mais gostei”, sendo os termos refrescante, suave e frutal também citados pelos provadores.

Já entre os atributos descritos como “menos gostei”, o sabor foi o mais citado nas três amostras (amostra 1 = 56%; amostra 2 = 78,9% e amostra 3 = 63,5%) além de termos como amargo, ácido e pouco doce.

Para os atributos avaliados no presente estudo, as aguardentes apresentaram notas semelhantes as obtidas por Saito (2007), que também utilizou o fermento de descarte da indústria cervejeira na obtenção de aguardente de “liquor” de laranja e envelheceu as amostras em ancorotes de castanheira, apresentando média de 6,78 para a aparência, 5,73 para o aroma, 4,6 para o sabor e 5,09 para impressão global. Diferentemente do presente estudo, Saito (2007) adicionou 5 g de sacarose por litro às amostras. As aguardentes de “liquor” de laranja no estudo de Lorenzetti (2009) obtiveram médias superiores em todos os atributos em relação ao presente estudo, diferença essa que pode ser explicada pelo fato do processo de envelhecimento ter ocorrido em ancorotes de carvalho ao invés de castanheira. Alcarde (2010) avaliou a aceitação de aguardentes de cana-de-açúcar envelhecidas em tonéis de diferentes madeiras sendo a aguardente envelhecida em carvalho a que teve maior média no atributo sabor (8,6) em relação as demais madeiras.

Na figura 12 está representada a intenção de compra dos provadores em relação as amostras. Como pode-se observar, a amostra 2 obteve a maior atitude positiva, com intenções de compra de “certamente compraria” (21,7%) e de “provavelmente compraria” (46,7%) mesmo tendo apresentado a menor média nos atributos sabor (4,9) e impressão global (4,3). As amostras 1 e 3 obtiveram 13,3% das intenções de compra de “certamente compraria”, enquanto a amostra 1 obteve 38,3% das intenções em “tenho dúvidas se compraria ou não” seguido das amostras 3 (33,3%) e amostra 2 (25%). Em relação a intenção “provavelmente não compraria”, na escala utilizada, a amostra 1 obteve 23,3% das intenções seguido da amostra 3 (21,8%) e amostra 2 (6,7%).

Figura 12. Intenção de compra em relação às três amostras avaliadas.



(1 = Certamente compraria; 2 = Provavelmente compraria; 3 = Tenho dúvidas se compraria ou não; 4 = Provavelmente não compraria; 5 = Certamente não compraria).

3.4. Análises físico-químicas

Os dados referentes à composição físico-química das três amostras de aguardente de “liquor” de laranja estão apresentados na tabela 4.

Nas três amostras, todas as determinações ficaram dentro da legislação vigente (BRASIL, 2005), exceto o teor de álcool metílico, álcool n-butílico e o carbamato de etila.

A amostra três apresentou um teor de álcool metílico de 22,84 mg/100 mL álcool anidro (máximo permitido pela legislação é de 20 mg/100 mL álcool anidro) e um teor de álcool n-butílico de 4,03 (máximo permitido pela legislação é de 3 mg/100 mL álcool anidro). Tais compostos são encontrados principalmente nas primeiras e últimas frações da destilação (cabeça e cauda), que devem ser separadas da fração principal (coração). As amostras 1 e 2 apresentaram teores de álcool metílico e n-butílico de acordo com a legislação.

Tabela 4. Composição físico-química das amostras de aguardente de “liquor” de laranja

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Legislação⁴
Acidez volátil em ácido acético ¹	51,01	96,65	144,39	0-150
Aldeídos em aldeído acético ¹	14,09	9,84	10,91	0-30
Ésteres em acetato de etila ¹	26,34	35,25	61,23	0-200
Álcool metílico ¹	14,43	13,25	22,84	0-20
Álcool sec-butanol ¹	1,80	4,57	3,32	0-10
Álcool propílico ¹	94,06	149,48	142,62	-
Álcool iso-butílico ¹	11,84	21,39	20,04	-
Álcool n-butílico ¹	1,44	2,72	4,03	0-3
Álcool iso-amílico ¹	58,47	78,29	80,97	-
Álcoois superiores ¹	164,37	249,16	243,63	0-360
Furfural ¹	2,17	3,51	2,89	0-5
Coeficiente de congêneres ¹	257,98	394,41	463,04	200-650
Cobre ²	1,75	4,01	2,12	0-5
Carbamato de etila ³	3055,32	5850,47	4917,95	0-150

¹: mg/100 mL álcool anidro; ²: mg/L; ³: µg/L; ⁴: IN 13 do Brasil (2005).

Os teores de acidez volátil nas amostras 2 e 3 apresentaram valores superiores do que os encontrados na amostra 1. Na produção de cachaça, o alto teor de acidez volátil é indicativo de contaminação microbiana durante a fermentação. (VARGAS e GLÓRIA, 1995; MAIA e CAMPELO, 2005). A amostra 3 (correspondente as bateladas de fermentação 7, 8 e 9) foi que apresentou o maior teor de acidez volátil próximo do máximo permitido pela legislação (144,39 mg/100 mL de álcool anidro), fato que pode ser explicado pelo longo tempo de fermentação (72 horas) que certamente possibilitou uma maior atuação dos microrganismos contaminantes. Segundo Boza e Horii (1998), altos teores de acidez volátil influencia de forma negativa a qualidade sensorial das aguardentes.

Outro composto que pode interferir negativamente na qualidade sensorial das aguardentes é o álcool propílico que dentre as três amostras, as amostras 2 e 3 foram as que apresentaram maiores teores desse composto (149,48 e 142,62 mg/100 mL de álcool anidro, respectivamente). Outros pesquisadores já relacionaram a presença de teores elevados de álcool propílico em aguardentes de qualidade inferior (BOZA e HORII, 1998; ALMEIDA e

BARRETO, 1972). No presente trabalho, justamente as amostras 2 e 3 apresentaram as menores médias nos atributos sabor e impressão global.

Em relação aos teores de álcoois superiores, geralmente relacionadas à baixa qualidade das aguardentes, cabe destacar o aumento observado a partir da quarta batelada de fermentação (amostras 2 e 3), indicando um possível comprometimento da qualidade sensorial da aguardente de “liquor” de laranja.

Os teores de carbamato de etila (CE) encontrados nas três amostras apresentaram valores superiores ao máximo permitido pela legislação brasileira (BRASIL, 2005). Uma das hipóteses para explicar o alto teor desse contaminante é que o precursor responsável pela formação do carbamato de etila esteja provavelmente presente no fermento de descarte da indústria cervejeira ou no “liquor” de laranja utilizados no presente estudo, e tenha originado o CE por catálise com o cobre contaminante da aguardente de “liquor” de laranja (teores de 1,75 a 4,01 mg/L).

O mecanismo de formação do carbamato de etila ainda não é totalmente conhecido. Sabe-se que o precursor de maior importância na formação do CE é o íon cianeto ou compostos derivados que na presença de cobre (proveniente do alambique) e etanol, pode produzir este composto, o que provavelmente ocorreu neste trabalho, durante a etapa de envelhecimento (BOSCOLO, 2001; NAGATO et al., 2003).

Uma alternativa já utilizada na produção de cachaça para prevenir a formação do CE é a troca das partes descendentes dos alambiques de cobre por aço inoxidável como forma de evitar a contaminação do destilado pelo cobre e a posterior catálise do precursor presente (BOSCOLO, 2001). A utilização de alambiques de aço inoxidáveis na etapa da bidestilação representa uma opção a ser considerada para redução dos teores de carbamato de etila em trabalhos futuros.

4. CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos podemos afirmar que o uso da levedura de descarte da indústria cervejeira representa sem dúvida uma boa opção para a obtenção de aguardente de “liquor” de laranja, garantindo pelo menos a fermentação de seis bateladas de “liquor” (48 horas) sem a reposição do pé-de-cuba.

Do ponto de vista da composição da aguardente de “liquor” de laranja e de sua qualidade sensorial, os resultados obtidos nas condições estudadas apresentaram para a fermentação de três bateladas sem reposição, já que características sensoriais da amostra 1 foram superiores às da amostras 2 (sabor e impressão global).

Estudos futuros ainda deverão ser realizados a fim de garantir a redução dos teores de álcool metílico, n-butílico e carbamato de etila da aguardente de “liquor” de laranja, aos níveis estabelecidos pela legislação brasileira.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALCARDE, A.R.; SOUZA, P.A.; BELLUCO, A.E.S. Aspectos da composição química e aceitação sensorial da aguardente de cana-de-açúcar envelhecida em tonéis de diferentes madeiras. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, n.30, p. 226-232, 2010.

ALMEIDA, M.E.W. & BARRETO, H.H.C. Alcoóis superiores em aguardente de cana por cromatografia em fase gasosa. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, 31: 117-24, 1971.

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

ASSOCIAÇÃO NACIONAL DOS EXPORTADORES DE SUCOS CÍTRICOS (CitrusBR). Disponível em: <http://www.citrusbr.com/>. Acesso em: 18 dez. 2012.

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

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, São Carlos, 2001.

BOZA, Y.; HORII, J. Influência da destilação sobre a composição e qualidade sensorial da aguardente de cana-de-açúcar. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, n. 3, p. 279-284

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 13, de 29 de junho de 2005. Regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para aguardente de cana e para cachaça. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 30 jun. 2005 p. 3.

CARDOSO, M.G. **Produção de aguardente de cana-de-açúcar**. Lavras: UFLA, 2001. 264 p.

CHAVES, J.B.P.; PÓVOA, M.E.B. A qualidade da aguardente de cana-de-açúcar. In: MUTTON, M.J.R.; MUTTON, M.A. (Ed.) **Produção e Qualidade**. FUNEP. Jaboticabal: Aguardente de cana, 1992.

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

FARIA, E.V.; YOTSUYANAGI, K. **Técnicas de análise sensorial**. Campinas, 2002.

FARIA, J.B.; ROÇAFA JUNIOR, H.; FERREIRA, J.O. Orange press liquor spirit: technical and economic aspects of a new distilled beverage. In: BRYCE, J.H.; PIGGOTT, J.R.; STEWART, G.G. (Ed.) **Production, technology and innovation**. Nottingham University, 2008. cap. 3, p. 15-20.

GUAGLIANONI, D.G. **Análise sensorial: um estudo sobre procedimentos estatísticos e número mínimo de julgadores**. 2009. 121f. Tese (Doutorado em Ciências de Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, Araraquara, 2009.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas: métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. São Paulo: Secretaria da Saúde. 2005. 4. ed., v. 1, p. 104; 407-419.

LANZA, C.M. Processed and Derived Products of Orange. **Citrus fruits**, p. 1346-1354, 2003.

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

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

MILLER, G.H. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v.31, p.426-429, 1959.

NAGATO, L. A. F.; NOVAES, F. V.; PENTEADO, M. D. V. C. Carbamato de etila em bebidas alcoólicas. **Ciênc. Tecnol. Alim.**, v. 37, p. 40-47, 2003.

NOGUEIRA, A.M.P.; VENTURINI FILHO, W.G. **Aguardente de cana**. [S.I.: s.n.], 2005. 71 p.

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

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

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

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

STATISTICAL ANALYTICAL SYSTEM INSTITUTE. **SAS user's guide: statistics**. Cary, 1993. (software).

VARGAS, E. A.; GLORIA, M. B. Qualidade da aguardente de cana (*Saccharum officinarum*, L.) produzida, comercializada e/ou engarrafada no Estado de Minas Gerais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 15, n. 1, p. 43-46, 1995.

VILLANUEVA, N.D.M.; PETENATE, A.J.; DA SILVA, M.A.A.P. Performance of the hybrid hedonic scale as compared to the traditional hedonic, self-adjusting and ranking scales. **Food Qual. Prefer.**, v. 16, p. 691-703, 2005.

WALDEMAR GASTONI VENTURINI FILHO **Bebidas Alcoólicas - Ciência e Tecnologia Volume 1**. 1. ed. São Paulo: Blucher, 2010. 492 p.

ANEXOS

Anexo 1. Ficha de recrutamento dos julgadores da análise sensorial das amostras de aguardente de “liquor” de laranja

Nome: _____

Idade: _____ Sexo: () Feminino () Masculino

E-mail: _____

Telefone: () _____

Categoria: () Aluno de graduação () Aluno de pós-graduação

() Professor () Funcionário

() Outro _____

Nível de escolaridade: () Ensino fundamental incompleto () Superior incompleto

() Ensino fundamental completo () Superior completo

() Ensino médio incompleto () Pós-graduação incompleto

() Ensino médio completo () Pós-graduação completo

Usando a escala à sua direita (abaixo) indique o quanto você gosta ou desgosta das seguintes bebidas alcoólicas:

Aguardentes Envelhecidas _____

Outras Bebidas Destiladas Envelhecidas _____

(uísque, rum, conhaque, etc)

Drinks com Aguardente _____

(coquetéis de frutas, batidas, caipirinhas, etc)

Usando a escala à sua direita (abaixo) indique com que frequência você consome as seguintes bebidas alcoólicas:

Aguardentes envelhecidas _____

Outras bebidas destiladas envelhecidas _____

(uísque, rum, conhaque, etc)

Drinks com Aguardente _____

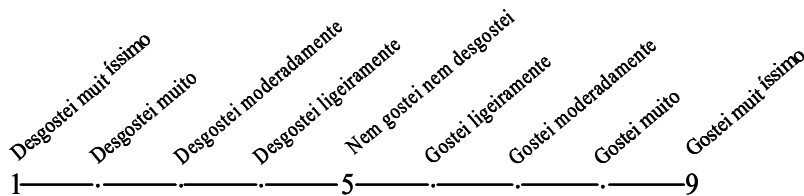
(coquetéis de frutas, batidas, caipirinhas, etc)

9. Gosto muitíssimo
 8. Gosto muito
 7. Gosto moderadamente
 6. Gosto ligeiramente
 5. Nem gosto nem desgosto
 4. Desgosto ligeiramente
 3. Desgosto moderadamente
 2. Desgosto muito
 1. Desgosto muitíssimo
7. Pelo menos 4 doses (120 mL) por semana
 6. Pelo menos 3 doses (90 mL) por semana
 5. Pelo menos 2 doses (60 mL) por semana
 4. Pelo menos 1 dose (30 mL) por semana
 3. Pelo menos 1 dose (30 mL) a cada duas semanas
 2. Pelo menos 1 dose (30 mL) a cada quatro semanas
 1. Não consome

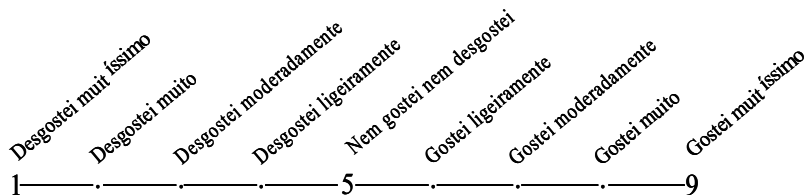
Anexo 2. Ficha da análise sensorial das amostras de aguardente de “liquor” de laranja

Nome: _____ Data: _____ AMOSTRA n° _____

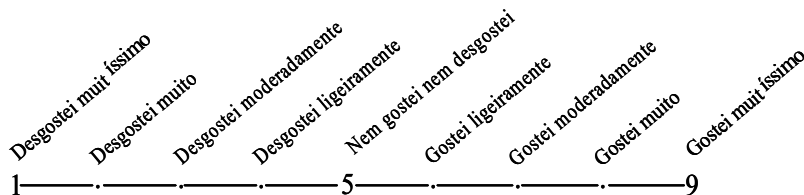
Observe a amostra de aguardente de “liquor” de laranja e avalie-a com relação a **COR**, usando a escala abaixo:



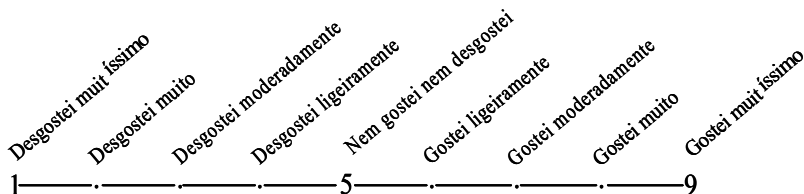
Aspire a amostra de aguardente de “liquor” de laranja e avalie-a com relação ao **AROMA**, usando a escala abaixo:



Prove a amostra de aguardente de “liquor” de laranja e indique o **SABOR**, usando a escala abaixo:



Prove a amostra de aguardente de “liquor” de laranja e avalie-a de acordo com a **IMPRESSÃO GLOBAL**, usando a escala abaixo:



Se esta amostra de aguardente de “liquor” de laranja estivesse disponível no mercado, você:

Certamente não
compraria

Provavelmente não
compraria

Tenho dúvidas se
compraria ou não

Provavelmente
compraria

Certamente
compraria