

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

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA E  
SENSORIAL DA CACHAÇA ORGÂNICA ENVELHECIDA**

**Marcel de Campos Oliveira**

Engenheiro de Alimentos

**2016**

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

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA E  
SENSORIAL DA CACHAÇA ORGÂNICA ENVELHECIDA**

**Marcel de Campos Oliveira**

**Orientadora: Profa. Dra. Márcia Justino Rossini Mutton**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Agronomia (Produção Vegetal)

**2016**

## FICHA CATALOGRÁFICA

Oliveira, Marcel de Campos  
M499a Avaliação da qualidade físico-química e sensorial da cachaça orgânica  
envelhecida / Marcel de Campos Oliveira. -- Jaboticabal, 2016  
xix, 81 p. : il. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de  
Ciências Agrárias e Veterinárias, 2016  
Orientador: Márcia Justino Rossini Mutton  
Banca examinadora: Francisco Vicente Gaioto Cletto, Maria das  
Graças Cardoso, João Bosco Faria, Leonardo Lucas Madaleno  
Bibliografia

1. Cachaça orgânica. 2. Destilação. 3. Própolis marrom. 4. Própolis  
verde. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e  
Veterinárias.

CDU 619:616.728.3:636.92

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


CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA E SENSORIAL DA CACHAÇA  
ORGÂNICA ENVELHECIDA


AUTOR: MARCEL DE CAMPOS OLIVEIRA

ORIENTADORA: MARCIA JUSTINO ROSSINI MUTTON


Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em AGRONOMIA  
(PRODUÇÃO VEGETAL), pela Comissão Examinadora:

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

  
Prof. Dr. FRANCISCO VICENTE GAIOTTO CLETO  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento / Delegacia de Ribeirão Preto/SP

  
Profa. Dra. MARIA DAS GRACAS CARDOSO  
Departamento de Química / UFLA - Lavras, MG

  
Prof. Dr. JOÃO BOSCO FARIA  
Departamento de Alimentos e Nutrição da / UNESP / Faculdade de Ciências Farmacéuticas de Araraquara, SP

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

Jaboticabal, 27 de junho de 2016.

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

**MARCEL DE CAMPOS OLIVEIRA** – Nasceu aos 6 de julho de 1977, na cidade de Andradina, Estado de São Paulo. Em fevereiro de 1999 ingressou no curso de Engenharia de Alimentos da Fundação Educacional de Fernandópolis – FEF, Câmpus de Fernandópolis – São Paulo. No ano de 2001, foi transferido para o curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Norte do Paraná – UNOPAR, Câmpus de Londrina – Paraná. Durante a faculdade, participou do Programa de Iniciação Científica da UNOPAR como bolsista no Projeto de Pesquisa PP/143/00. Em dezembro de 2004, recebeu o título de Engenheiro de Alimentos e em março de 2005 ingressou no Curso de Especialização em Tecnologia e Controle de Qualidade em Alimentos da Universidade Norte do Paraná – UNOPAR. Concluiu o curso de Especialização em julho de 2006. Em março de 2007 ingressou no curso de mestrado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas – UNESP, Câmpus de São José do Rio Preto – SP. Durante o curso, desenvolveu pesquisas relacionadas à Tecnologia de óleos e gorduras. Em julho de 2009, recebeu o título de Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos. Atuou como professor no ano de 2009, no curso Técnico em Açúcar e Álcool pela UNITERP, Unidade de São José de Rio Preto – SP no período de fevereiro a julho. Em agosto de 2010, trabalhou como analista de alimentos pelo LabCentro de Votuporanga - SP, realizando análises físico-químicas em água, alimentos e entre outras no período de agosto a novembro. Foi professor designado pela Universidade do Estado de Minas Gerais – UEMG, Câmpus de Frutal – MG, no Curso de Ciência e Tecnologia de Laticínios e no Curso Superior de Tecnologia em Alimentos no ano de 2011 a 2013. Em agosto de 2012, ingressou no curso de doutorado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Produção Vegetal) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal – UNESP. Durante o curso desenvolveu pesquisas relacionadas à cana-de-açúcar como matéria-prima e processamento para produção de aguardente de qualidade, recebendo o título de Doutor em Junho de 2016.

“Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades, lembrai-vos de que as grandes coisas do homem foram conquistadas do que parecia impossível”.

Charles Chaplin

Aos meus pais, Hermínio e Oneide, e minha irmã Márcia, pela compreensão e apoio incondicional.

**Dedico**

A minha avó Lazara Rosa Campos (*in memoriam*), presente meu convívio da infância à adolescência. Sempre compartilhava meus sonhos e perspectivas futuras.

**Ofereço**

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por todas as conquistas, capacidade, tenacidade...

À orientadora, professora Dra. Márcia Justino Rossini Mutton, pelo profissionalismo, compreensão e dedicação na condução deste trabalho;

Aos docentes do curso de Pós-Graduação em Agronomia – Produção Vegetal, UNESP/FCAV, pela troca de conhecimentos no período acadêmico;

Ao professor Dr. João Bosco Faria (FCF/UNESP), por ceder seu tempo e paciência nos momentos de dúvidas. Agradeço à Mariana, pelo auxílio do início ao fim na condução do experimento da análise sensorial da cachaça;

À professora Dra. Ana Carolina Conti e Silva (IBILCE/UNESP), pela oportunidade de conhecer esta profissional de grande importância na área de Análise Sensorial de Alimentos. Grato, pelas aulas que foram importantes para aprimorar meus conhecimentos e auxiliar na redação desta Tese;

À professora Dra. Maria das Graças Cardoso (UFLA), pelo auxílio nas análises de Carbamato de Etila (cachaça orgânica armazenada) e pela disposição em ajudar na condução do experimento;

Ao professor Dr. Miguel Angelo Mutton (FCAV/UNESP), pela amizade, paciência e educação;

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

Aos colegas da Pós-Graduação, pelo apoio e amizade no laboratório, Cristhyane, Juliana Roviero, Letícia, Lidyane, Nayara Silvano, Osânia Emerenciano, Rita, Sílvia, Vitor; e principalmente ao Gustavo, pelo auxílio e dedicação no trabalho;

As “best friends”, Aline Ferreira e Nayara Montijo, pela amizade e companheirismo;

Ao técnico Sérgio Luís Nobukuni, pela valiosa contribuição;

Aos meus pais pela ajuda financeira e apoio incondicional, dedicação e, especialmente, por serem companheiros e conselheiros;

A todos que contribuíram direta ou indiretamente na construção deste trabalho.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	iii
<b>LISTA DE QUADROS</b> .....	v
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	vi
<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS</b> .....	vii
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	3
2.1 Cachaça .....	3
2.2 Matéria-prima: Produção de cachaça .....	4
2.3 Fermentação .....	5
2.4 Biocidas naturais e sintéticos .....	6
2.5 Destilação e envelhecimento.....	6
2.6 Transformações que ocorrem durante o envelhecimento .....	10
2.7 Composição química da cachaça .....	13
2.8 Legislação .....	15
2.9 Determinação de compostos voláteis .....	18
2.10 Análise sensorial de cachaça .....	19
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	22
3.1 Delineamento experimental .....	22
3.2 Matéria-prima .....	22
3.3 Preparo dos biocidas .....	22
3.4 Extração e Tratamento do Caldo e Preparo do Mosto .....	23
3.5 Produção da Cachaça – Fermentação e Destilação .....	23
3.6 Destilação .....	24
3.7 Determinação de nutrientes .....	24

3.8 Avaliação da composição química da cachaça .....	25
3.9 Determinação dos componentes do destilado presentes no vinho .....	25
3.9.1 Análise sensorial .....	26
3.9.2 Análise estatística dos resultados .....	26
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>27</b>
4.1 Determinação de nutrientes .....	27
4.1.1 Nitrogênio total .....	27
4.1.2 Composição de nutrientes em vinho e cachaça .....	29
4.1.2.1 Vinho .....	29
4.1.2.2 Cachaça .....	32
4.2 Determinação dos componentes do destilado presentes no vinho .....	36
4.2.1 Vinho .....	36
4.3 Análises físico-químicas das amostras de cachaça orgânica armazenada .....	42
4.4 Análise sensorial .....	53
4.4.1 Teste de aceitação – escala hedônica .....	53
<b>5. CONCLUSÃO .....</b>	<b>64</b>
<b>6. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>65</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>80</b>
Anexo 1 .....	80
Anexo 2 .....	82

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 01</b> – Fórmulas estruturais de alguns constituintes majoritários presentes na cachaça .....	14
<b>Figura 02</b> – Teores médios de nitrogênio total: caldo, mosto original e caldo clarificado.....	27
<b>Figura 03</b> – Teores médios de nitrogênio total em vinho dos cinco tratamentos [Controle, Monensina Sódica (MS), Extrato Etanólico de Própolis Verde (EEPV), Extrato Etanólico de Própolis Marrom (EEMP) e Tratamento Físico-químico (TFQ)] .....	29
<b>Figura 04</b> – Teores médios de micronutrientes dos cinco tratamentos [Controle, Monensina Sódica (MS), Extrato Etanólico de Própolis Verde (EEPV), Extrato Etanólico de Própolis Marrom (EEMP) e Tratamento Físico-químico (TFQ)] .....	30
<b>Figura 05</b> – Teores médios de fósforo dos cinco tratamentos [Controle, Monensina Sódica (MS), Extrato Etanólico de Própolis Verde (EEPV), Extrato Etanólico de Própolis Marrom (EEMP) e Tratamento Físico-químico (TFQ)] .....	35
<b>Figura 06</b> – Ancorotes de carvalho (Quercus sp).....	36
<b>Figura 07</b> – Resultados médios obtidos para teor alcoólico presentes no vinho dos cinco tratamentos: Controle, Monensina Sódica (MS), Extrato Etanólico de Própolis Verde (EEPV), Extrato Etanólico de Própolis Marrom (EEMP) e Tratamento Físico-químico (TFQ).....	37
<b>Figura 08</b> – Valores médios de Acetaldeído e 2-metilpropan-1-ol dos componentes do destilado presentes no vinho.....	38
<b>Figura 09</b> – Valores médios de Isoamílicos e Álcoois Superiores dos componentes do destilado presentes no vinho.....	39
<b>Figura 10</b> – Valores médios de Propanona e Butanol dos componentes do destilado presentes no vinho .....	40
<b>Figura 11</b> – Valores médios de Furfural e Etanoato de etila dos componentes do destilado presentes no vinho .....	41
<b>Figura 12</b> – Resultados médios obtidos para composição físico-química da cachaça para os parâmetros: A. Grau alcoólico, B. pH, C. Acidez volátil e D. Condutividade.....	44

<b>Figura 13</b> – Resultados médios obtidos para composição físico-química da cachaça armazenada para os parâmetros: A. Turbidez, B. Cor e C. Teor de Cobre.....	46
<b>Figura 14</b> – Evolução da cor para o destilado (aguardente) ao longo do período de armazenamento em ancorotes de carvalho ( <i>Quercus</i> sp.).....	47
<b>Figura 15</b> – Variação da concentração dos álcoois superiores em função do período de armazenamento da cachaça orgânica armazenada.....	49
<b>Figura 16</b> – Variação da concentração dos ésteres em função do período de armazenamento da cachaça orgânica armazenada.....	50
<b>Figura 17</b> – Reação de esterificação entre o ácido acético e o etanol durante o processo de maturação.....	51
<b>Figura 18</b> – Variação da concentração de metanol em função do período de armazenamento da cachaça orgânica armazenada.....	52
<b>Figura 19</b> – Variação da concentração de carbamato de etila em função do período de armazenamento da cachaça orgânica armazenada.....	53
<b>Figura 20</b> – Caracterização dos provadores em relação à categoria (%).....	54
<b>Figura 21</b> – Regressão polinomial para as médias obtidas para a Cor da Cachaça orgânica armazenada no tempo 0, 90 e 180 dias.....	56
<b>Figura 22</b> – Regressão polinomial para as médias obtidas para o Aroma da Cachaça orgânica armazenada no tempo 0, 90 e 180 dias.....	58
<b>Figura 23</b> – Regressão polinomial para as médias obtidas para o Sabor da Cachaça orgânica armazenada no tempo 0, 90 e 180 dias.....	60
<b>Figura 24</b> – Regressão polinomial para as médias obtidas para Impressão Global da Cachaça orgânica armazenada no tempo 0, 90 e 180 dias.....	61
<b>Figura 25</b> – Regressão polinomial para as médias obtidas para Intenção de Compra da Cachaça orgânica armazenada no tempo 0, 90 e 180 dias.....	63

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 01:</b> Concentrações de algumas substâncias presentes em cachaça obtida em diferentes alambiques .....	15
<b>Quadro 02:</b> Limites dos componentes secundários e contaminantes orgânicos e inorgânicos da cachaça .....	16

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 01:</b> Teores médios de nutrientes nas amostras de cachaça ( $\text{mg.L}^{-1}$ ), coletas nos períodos de 0, 15, 30, 60, 90 e 180 dias (6 meses) de armazenamento .....	32
<b>Tabela 02:</b> Valores médios obtidos para o Sabor da Cachaça e Resultados da Análise de Variância .....	55
<b>Tabela 03:</b> Valores médios obtidos para o Aroma da Cachaça e Resultados da Análise de Variância .....	57
<b>Tabela 04:</b> Valores médios obtidos para o Sabor da Cachaça e Resultados da Análise de Variância .....	59
<b>Tabela 05:</b> Valores médios obtidos para Impressão Global da Cachaça e Resultados da Análise de Variância .....	61
<b>Tabela 06:</b> Valores médios obtidos para Intenção de Compra da Cachaça e Resultados da Análise de Variância .....	62

**LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

CG	Cromatógrafo gasoso
EEPM	Extrato Etanólico de Própolis Marrom
EEPV	Extrato Etanólico de Própolis Verde
MS	Monensina sódica
TFQ	Tratamento Físico-Químico

## AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA E SENSORIAL DA CACHAÇA ORGÂNICA ENVELHECIDA

**RESUMO** - A cachaça produzida em sistemas orgânicos destaca-se pelo elevado padrão de qualidade, conferindo maior valor agregado, ampliando as possibilidades de comercialização, principalmente para o mercado interno. Aliada ao sistema orgânico, a qualidade do produto está associada às boas práticas de fabricação, como por exemplo, o tratamento físico-químico do caldo de cana que reduz os contaminantes microbiológicos e impurezas grosseiras. Os objetivos do trabalho foram avaliar a composição química e as características sensoriais da cachaça produzida utilizando-se diferentes antimicrobianos, armazenadas em ancorotes de carvalho por 180 dias. O delineamento experimental foi em bloco casualizado com 5 repetições, num esquema de parcelas subdivididas. Os tratamentos principais foram constituídos por 3 antimicrobianos utilizados durante o processo fermentativo: Monensina sódica, Extrato etanólico de própolis verde (EEPV) e Extrato etanólico de própolis marrom (EPPM), além do tratamento Controle e Tratamento Físico-Químico (TFQ). Os tratamentos secundários foram constituídos pelas épocas de armazenamento (0, 15, 30, 60, 90 e 180 dias) em ancorote de carvalho de cinco litros. Nestes períodos determinaram-se a composição química da cachaça (acroleína, acidez volátil, aldeído, carbamato de etila, ésteres, metanol e alcoóis superiores: (propílico, isobutílico, isoamílico), determinada por cromatografias CG e HPLC. Com base nos resultados obtidos pode-se afirmar que a utilização de Extrato Etanólico de Própolis Verde (EEPV) melhora as características físico-químicas da cachaça armazenada. Os antimicrobianos Extrato Etanólico de Própolis Marrom e Monensina sódica, além do Tratamento Físico-Químico do caldo, não afetam a qualidade da bebida. Sensorialmente, não foram observadas diferenças significativas entre as amostras produzidas nos processos estudados. As características sensoriais das amostras Controle e Tratamento Físico-químico do caldo foram as que tiveram maior aceitação em relação ao atributo aroma. Pode-se concluir que a utilização de própolis promove uma bebida de melhor impressão global no destilado.

**Palavras-chave:** Cachaça orgânica, destilação, própolis marrom, própolis verde, *Saccharomyces cerevisiae*.

## PRODUCTION AND QUALITY ASSESSMENT OF SENSORY CACHAÇA ARTESANAL ORGANIC AGED

**ABSTRACT** - The cachaça produced in organic systems is distinguished by high quality standards, providing greater added value, expanding the marketing possibilities, especially for the internal market. Combined with the organic system, product quality is associated with good manufacturing practices, such as physical-chemical treatment of sugarcane juice which reduces microbiological contaminants and coarse impurities. The objectives of the work were to evaluate the chemical composition and sensory characteristics of the cachaça produced using different antimicrobials, aged in oak casks for 180 days. The experimental design was completely randomized with 5 repetitions, in a split plot design. The main treatments consisted of 3 antimicrobials used during the fermentation process: sodium monensin, Ethanol Extract of Green Propolis (EEGP), Ethanol Extract of Brown Propolis (EEBP), and besides the Control treatment and the Physical-Chemical Treatment (PCT). Secondary treatments consisted of storage times (0, 15, 30, 60, 90 and 180 days) in five-liter oak ancorote. In these periods it was determined the chemical composition of cachaça (acrolein, volatile acidity, acetaldehyde, ethyl carbamate, esters, methanol and higher alcohols: propyl, isobutyl, isoamyl), determined by chromatography. Based on the results it is possible to say that the use of Ethanol Extract of Green Propolis (EEGP) improves the physical and chemical characteristics of the stored cachaça. The antimicrobials Ethanol Extract of Brown Propolis and Sodium Monensin, besides the Physical-Chemical Treatment of sugarcane juice, does not affect the beverage quality. Sensorially, there were no significant differences between the different samples produced by the processes studied. The sensory characteristics of the samples Control and Physical-Chemical Treatment of the sugarcane juice were those who had greater acceptance in relation to the aroma attribute. It can be concluded that the use of propolis promotes a beverage of better overall impression in the distillate.

**Keywords:** Organic Cachaça, distillation, brown propolis, green propolis, *Saccharomyces cerevisiae*.

## 1. INTRODUÇÃO

A cachaça é a bebida destilada mais popular do Brasil, tendo a sua origem no século XVI. Seu provável processo de produção inicialmente consistia na fermentação espontânea da espuma da caldeira, denominada “cagazza”, (onde se concentrava o caldo, visando à cristalização do açúcar), seguido de destilação desse fermentado em pequenos alambiques de barro. Após a metade do século XVI, a cachaça passou a ser produzida em maiores quantidades, utilizando-se alambiques de cobre, sendo comercializada, assim como o açúcar (PEREIRA; ROSA; FARIA, 2006).

Atualmente, denomina-se Cachaça toda bebida tipicamente brasileira, produzida pela destilação do caldo de cana-de-açúcar fermentado, com graduação alcoólica entre 38 e 48% em volume a 20°C com características sensoriais peculiares. Admite-se ainda, conforme a Instrução normativa nº 13 do Ministério da Agricultura no item 2.2.4 a aguardente de cana adoçada, que contém açúcares em quantidade superior a 6g.L (seis gramas por litro) e inferior a 30g.L (trinta gramas por litro), expressos em sacarose (BRASIL, 2005).

A produção de cachaça ocorre durante a safra de cana-de-açúcar que vai de maio a dezembro na região centro-oeste (PEREIRA; ROSA; FARIA, 2006), em praticamente todo o território nacional, com destaque para os estados de São Paulo, Goiás e Minas Gerais.

Anualmente são produzidos cerca de 1,7 bilhão de litros de aguardente de cana ou de cachaça no Brasil (ALCARDE, 2014). Estima-se que o país apresenta 40 mil produtores, com 4 mil marcas, sendo que as microempresas correspondem a 99% deste total. O setor é responsável pela geração de mais de 600 mil empregos, diretos e indiretos (IBRAC, 2015).

Esta produção classifica o produto como a quarta bebida destilada mais produzida no mundo, ficando somente atrás do *Baiju*, da *Vodka* e do *Soju*. No entanto, a qualidade da cachaça ainda deixa a desejar, pois o processo de produção muitas vezes é realizado de maneira empírica e rudimentar, razão pela qual volume menor que 1% da produção nacional é exportada. Entretanto, com a adoção de boas práticas de fabricação, caracterizada pela utilização de equipamentos adequados e novas

tecnologias, houve melhorias significativas na qualidade. Como consequência, a bebida pode ser comparada aos mais nobres destilados do mundo (ALCARDE, 2014).

Entre as tecnologias disponíveis, destaca-se o envelhecimento da bebida em tonéis de carvalho, jequitibá, amendoim, cerejeira, entre outras madeiras, que melhoram significativamente a composição química do produto, resultando em maior aceitabilidade do consumidor. Neste sentido, pode-se destacar ainda a valorização comercial da bebida (BORRAGINI, 2009).

Outro ponto a se destacar é a utilização de antimicrobianos sintéticos no fermento, visando a eliminação de bactérias contaminantes que alteram a composição da cachaça. Resíduos destes antimicrobianos podem ficar retidos na levedura, assim como no produto final, restringindo a comercialização da bebida, principalmente em países de rigorosa legislação. Neste sentido, novos estudos apontam para substituição destes antibióticos por biocidas naturais, como a própolis, que além de apresentar o mesmo efeito antimicrobiano não deixa resíduos sobre o produto (MUTTON et al., 2014).

Contudo, por se tratar de uma nova tecnologia, não há informações sobre a alteração das características sensoriais da bebida quando submetida a tratamento do fermento utilizando-se biomoléculas. Com este propósito o presente trabalho objetivou avaliar a composição química e características sensoriais da cachaça produzida utilizando-se diferentes antimicrobianos, armazenadas em ancorotes de carvalho.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Cachaça

Cachaça é a denominação típica e exclusiva da aguardente de cana produzida no Brasil, com graduação alcoólica de 38 a 48% em volume a 20°C e com características sensoriais peculiares. A caipirinha também foi definida como uma bebida típica brasileira elaborada exclusivamente com cachaça, limão e açúcar (BRASIL, 2002).

Já a aguardente de cana ou caninha é uma bebida fermento-destilada com graduação alcoólica de 38 a 54% em volume, a 20°C, obtida pela destilação do mosto fermentado de cana de açúcar (*Saccharum officinarum*, L.), podendo ser adicionada de açúcar até seis gramas por litro. Quando a adição de açúcar for superior a 6g e até 30g.L, o produto terá sua denominação acrescida da expressão “adoçada” (BRASIL, 2009).

As bebidas fermento-destiladas têm como principal característica o teor alcoólico bem superior ao de bebidas fermentadas. Além do etanol, outros compostos chamados secundários estão presentes e são os principais responsáveis pelo sabor característico destas bebidas. São esses compostos secundários, também chamados compostos voláteis ou congêneres, que diferenciam e definem as características das diversas bebidas fermento destiladas, sendo portanto, os determinantes de sua qualidade (JANZANTTI, 2004).

Segundo a Legislação Brasileira, os ácidos, ésteres, aldeídos, furfural e álcoois superiores não podem estar presentes em quantidades inferiores a 200mg ou superiores a 650mg.100mL<sup>-1</sup> de álcool anidro, devendo seguir os limites máximos (mg.100mL<sup>-1</sup> de álcool anidro) de 300mg para álcoois superiores, de 150mg para acidez volátil em ácido acético, de 200mg para ésteres em acetato de etila, de 30mg para aldeídos em aldeído acético e de 5mg para furfural. Os teores de metanol e cobre devem também estar limitados a 200mg.100mL<sup>-1</sup> de álcool anidro e 5mg.L<sup>-1</sup>, respectivamente (BRASIL, 2009).

Após a destilação, a cachaça está pronta para o consumo, mas pode ser envelhecida em tonéis de madeira, como parte importante do processo de sua

fabricação para a melhora do sabor, como ocorre com outras bebidas fermento-destiladas, tais como uísque e rum (JANZANTTI, 2004).

Esta etapa, no entanto, é opcional, de acordo com a Legislação Brasileira. A aguardente de cana será denominada envelhecida quando contiver pelo menos 50% de aguardente de cana envelhecida em tonéis de madeira, por pelo menos 1 ano, podendo ser adicionado caramelo para padronização da cor (BRASIL, 2009).

De acordo com a Legislação em vigência, todas as cachaças estão aprovadas e próprias para o consumo, desde que obedeçam aos limites estabelecidos para os principais grupos de componentes comuns a este tipo de bebida, assim como para o cobre e o metanol, entre outros eventuais contaminantes. Este tipo de controle não tem um efeito realmente efetivo sobre a qualidade química ou sensorial da cachaça (FARIA, 2000).

## 2.2. Matéria-prima: Produção de cachaça

A cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*, L.) é uma planta tropical que se desenvolve bem em regiões com clima quente (temperaturas mínimas de 20°C). O principal constituinte da planta, cerca de 65 a 75% do peso da matéria fresca, é a água, sendo que para o acúmulo de 1 grama de matéria seca são necessários cerca de 125 gramas de água. Tais aspectos demonstram a importância das relações hídricas para a cultura (MUTTON; MUTTON, 2005).

Na produção de cachaça, a matéria-prima que interessa são os colmos de cana-de-açúcar, constituídos de duas fases: a sólida e a líquida. A fase sólida, um complexo composto de celulose, lignina e pentosanas, é geralmente referida como fibra, e a fase líquida, ou caldo, é uma solução aquosa que contém uma grande variedade de substâncias orgânicas, dentre as quais, aproximadamente 90% são de sacarose (NOGUEIRA; FILHO, 2005).

Para que se obtenha bons resultados na fabricação da aguardente de cana-de-açúcar, a matéria prima deve estar perfeitamente madura e em boas condições fitossanitárias e tecnológicas, ou seja, ter sido recentemente colhida e não apresentar sinais de deterioração (LIMA, 1983).

Neste sentido, deve-se considerar ainda o sistema de produção orgânico da cana-de-açúcar, que está instalado, em sua maioria, em pequenas propriedades,

permitindo agregar valor ao produto, elevando de maneira significativa a receita, sem custos adicionais expressivos (MARGARIDO et al., 2009).

### 2.3. Fermentação

A fermentação é a principal etapa do processo de produção do vinho-de-cana. Nesta etapa o açúcar e outros compostos presentes no caldo de cana são transformados em etanol, CO<sub>2</sub> e outros produtos que são responsáveis pelas qualidades e contaminantes do produto (MUTTON; MUTTON, 2005). Além desses, há, normalmente a formação de pequenas quantidades de outros componentes, os quais recebem a denominação de produtos secundários da fermentação alcoólica, tais como ácidos carboxílicos, metanol, ésteres, aldeídos e álcoois superiores (CARDOSO, 2013).

Segundo Mutton e Mutton (2005) e Faria (2000), o processo fermentativo inicia-se logo que a levedura entra em contato com o mosto. Este é dividido em três fases: fase preliminar (pré-fermentação), caracterizada pela adaptação das leveduras e multiplicação celular; fase de fermentação principal (tumultuosa), quando ocorre desprendimento abundante de gás (CO<sub>2</sub>) e produção de álcool e fase de fermentação complementar (pós-fermentação), quando se observa redução acentuada da atividade fermentativa.

O aprimoramento da produção com o controle da fermentação através de linhagens selecionadas levou a melhor padronização da cachaça. A produção artesanal cresceu em detrimento da industrial. Apesar do processo ser mais trabalhoso e demorado, garante a tradição da melhor cachaça. A maioria dos compostos presentes na cachaça são formados no processo de fermentação, isto requer um controle adequado das etapas, envolvendo assepsia dos equipamentos, utilização de leveduras selecionadas, controle de pH, temperatura do mosto e ajuste do grau Brix (MUTTON; MUTTON, 2005).

A indústria também recorre à ajuda de antimicrobianos que possuem a função de inibir ou anular o crescimento de bactérias por mecanismos específicos, influenciando vias metabólicas e mudando o equilíbrio osmótico pela alteração da estrutura das paredes celulares. Porém, antibióticos são caros e o uso de tais produtos

fica restrito ao fator custo-benefício, além de requererem aplicação constante (NOBRE, 2007). Entre os produtos naturais, a própolis tem se destacado, tanto pelas suas diversas propriedades biológicas quanto pela sua aplicabilidade nas indústrias de cosméticos e alimentos, utilizada como ingrediente na formulação de vários produtos (CABRAL, 2008).

#### 2.4. Biocidas naturais e sintéticos

O controle de micro-organismos contaminantes da fermentação etanólica industrial é realizado através da lavagem da massa de fermento com ácido sulfúrico. Sob elevados índices de contaminação bacteriana, este processo pode ainda ser reforçado pela adição de antimicrobianos, tais como: compostos de amônio, compostos quaternário de amônio, fenóis e antibióticos (penicilina, virgicionina, Kamoran WP) (OLIVA-NETO et al., 2001).

Neste contexto, segundo Crisan (1995) o emprego indiscriminado e prolongado de antimicrobianos químicos sintéticos favorece a seleção de micro-organismos patogênicos mutantes resistentes a esses compostos, tornando o uso de produtos de origem natural uma alternativa eficaz e econômica.

Desta maneira, a própolis, apresenta-se como alternativa a ser empregada na fermentação (BADIN, 2010). Essa possui uma composição complexa, podendo variar em função de fatores como a flora da região, estações do ano e características genéticas das abelhas (SOUSA et al., 2007). Os flavonóides, juntamente com ácidos fenólicos e ésteres, aldeídos fenólicos e cetonas são considerados os mais importantes compostos antimicrobianos deste produto (FERNANDES Jr. et al., 2006).

#### 2.5. Destilação e envelhecimento

Após a fermentação, o vinho é destilado em alambiques ou colunas de vários tipos e tamanhos, de forma a se obter o destilado alcoólico simples de cana, a ser posteriormente diluído, ou diretamente, a cachaça (FARIA, 2000).

Existe um grande número de tipos de aparelhos destilatórios disponíveis, oferecendo uma ampla faixa de flexibilidade para o refinamento das bebidas destiladas, sendo os mais difundidos o alambique (destilação descontínua) e a coluna

contínua (BOZA; HORII, 1999). No entanto, considerando, as características inerentes de cada processo, a composição química da bebida varia em função do tipo de processo utilizado. Normalmente, os destilados oriundos de processo intermitente (alambique) apresentam maior teor de congêneres que aqueles provenientes de destilação contínua (em colunas) (ALCARDE, 2014).

Os alambiques funcionam em sistema intermitente. A caldeira é alimentada com o vinho, o qual, mediante aquecimento, emite vapores hidralcoólicos que são conduzidos por meio do capitel e da alonga até o condensador, resultando no destilador alcoólico. O resíduo da destilação do vinho, que permanece na caldeira após o término da destilação, chama-se vinhaça, e é composto basicamente por água, pelos componentes não voláteis e por substâncias sólidas do vinho (ALCARDE, 2014)

O processo de destilação separa os diversos componentes do vinho em duas frações: volátil e fixa. Os componentes voláteis são representados pela água, etanol, metanol, álcoois superiores ou óleo fúsel, ácido acético, ésteres e gás carbônico. Os não voláteis ou fixos são constituídos pelos sólidos presentes no mosto, células de leveduras e bactérias, minerais e ácidos fixos orgânicos e inorgânicos, eventualmente adicionados (LIMA, 1983).

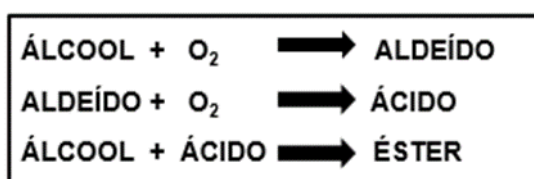
Os componentes voláteis do vinho possuem diferentes graus de volatilidade, sendo, portanto, possível a sua separação pelo processo de destilação. Assim, de uma maneira geral, os componentes mais voláteis são recolhidos na primeira fração do destilado denominado de “cabeça”, e os menos voláteis nas frações finais, denominada “cauda”. A porção intermediária conhecida como “coração” é constituída principalmente de frações medianamente voláteis (YOKOYA, 1995) que poderá ser destinada ao envelhecimento e posterior comercialização após as operações de filtração, embalagem e identificação do produto (MUTTON; MUTTON, 2005).

A cachaça recém destilada é de difícil degustação, apresentando sabor ardente e seco (FARIA, 1995). As cachaças recém destiladas não estão prontas para o consumo devido à presença de aldeído, uma substância de aroma pungente que irrita a mucosa nasal. É necessário, ainda, que seja maturada ou descansada de três a seis meses. Neste período, alguns procedimentos naturais permitem ajustar a composição e apurar o sabor e o aroma da bebida.

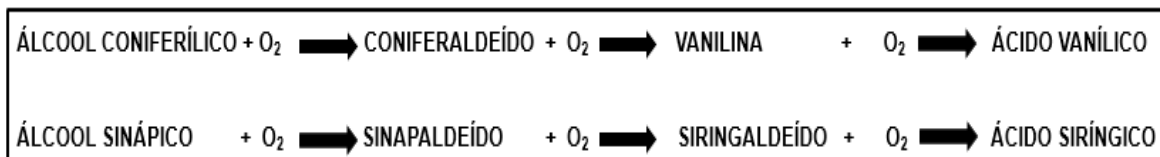
O processo de maturação corresponde a um período de armazenamento suficiente para suavizar, “amaciar” o aroma e o sabor da cachaça. Isto porque os aldeídos presentes, principalmente o aldeído, são oxidados a ácidos carboxílicos, devido à troca de oxigênio com a atmosfera ambiente. A oxidação pode ser acelerada aplicando-se aeração à cachaça. O recurso tradicional consiste em circular a cachaça, por meio de bombeamento, retirando-a pela base e retornando-a pelo topo do tonel, em forma de chuveiro, até obter o efeito esperado. Outra opção, mais eficiente, consiste em efetuar a aeração por meio de ar comprimido puro e filtrado. O ar deve borbulhar suavemente na bebida, sob a forma de bolhas muito finas, durante algumas horas por dia (MAIA; CAMPELO, 2006).

Lima Neto e Franco (1994) afirmam que o envelhecimento é resultado de uma série de reações químicas e não confere à aguardente qualquer coloração, que se deve à dissolução de substâncias químicas existentes na madeira dos tonéis onde a aguardente foi acondicionada ou devido à adição de substâncias químicas. O processo de envelhecimento ou maturação não é totalmente conhecido; além da perda de água e etanol por evaporação, ocorrem as seguintes reações (BOSCOLO et al., 1995):

**a) Oxidação e esterificação:** são reações de álcoois e aldeídos com oxigênio e entre álcoois e ácidos produzindo ésteres.



**b) Extração, decomposição, oxidação e esterificação da lignina da madeira:** em contato com o etanol, a lignina da madeira forma um complexo etanol-lignina que se degrada nos álcoois coniferílico e o sinápico. Estes álcoois são oxidados produzindo aldeídos, ácidos e ésteres, que atribuirão aroma, sabor e cor à bebida. Polifenóis também são formados na degradação da lignina (ISIQUE; FRANCO, 2000).



**c) Eliminação de compostos contendo enxofre:** tióis e mercaptanas presentes em pequena concentração são eliminados devido à sua elevada volatilidade.

Segundo Novaes (1997 e 2000), tanto a cachaça obtida industrialmente por alambiques de cobre como por colunas de aço podem apresentar problemas: o uso de água de baixa qualidade na produção, a queima da cana antes da colheita, a contaminação do caldo de cana por hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (benzênicos) cancerígenos oriundos do contato com o óleo lubrificante das moendas, o uso de reagentes que não tenham grau alimentício e outros. Suas considerações sobre a melhoria na produção da bebida no país reconhecem o valor do conhecimento tradicional associado ao conhecimento científico. A bidestilação da cachaça é considerada adequada por diminuir a concentração de compostos tóxicos, mas apresenta a desvantagem de elevar o preço final do produto.

De acordo com Dórea et al. (2008), a madeira é uma matriz ideal para o envelhecimento da cachaça, pois permite uma disponibilidade lenta de oxigênio, ocorrendo reações químicas e incorporando diversas substâncias, como os fenóis, ésteres, óleos voláteis, açúcares, substâncias tânicas, pigmentos e compostos inorgânicos que influenciam na cor, odor, sabor e adstringência, formando assim, um “buquê” especial. A madeira tradicionalmente empregada na fabricação dos barris para o envelhecimento da cachaça é o carvalho, por ser utilizado mundialmente no envelhecimento de outras bebidas, como uísque, conhaque, vinho, etc. A busca de madeiras nacionais (como umburana, jequitibá, jatobá, bálsamo, amendoim, castanheira, louro canela) para o envelhecimento desta bebida está sendo feita por vários pesquisadores da área. O controle de qualidade da cachaça é essencial devido à busca de um produto padronizado, com qualidade química e sensorial.

Outro fator que merece destaque está ligado aos barris de carvalho reutilizados, oriundos de outros países os quais, além de terem alto custo, deixam de lado a utilização da rica flora brasileira o que deixaria a bebida mais peculiar, característica e com valor agregado totalmente nacional (MORI et al., 2003; ALCARDE et al., 2010).

Existe um aumento de mercado da cachaça e procura por bebidas cada vez mais requintadas com sabores, cores e aromas peculiares. O Brasil, grande produtor

do destilado, possui uma vasta flora com grande variedade de espécies de madeira com viabilidade de uso para a confecção de barris visando ao envelhecimento de cachaça (Mori et al., 2003), que deve ser estudada e explorada como fator contribuinte para a melhora deste nicho de mercado nacional.

## 2.6. Transformações que ocorrem durante o envelhecimento

Segundo Nishimura e Matsuyama (1989), o mecanismo de envelhecimento em barris de carvalho é basicamente comum a todos destilados e o que ocorre neste processo é um conjunto de reações, sendo as principais:

- Extração direta dos componentes da madeira;
- Decomposição de macromoléculas que formam a estrutura da madeira, de modo que compostos tais como lignina, celulose e hemicelulose migrem para o destilado;
- Reações dos componentes da madeira com componentes do destilado sem envelhecer;
- Reações envolvendo somente o material extraído da madeira e o material da decomposição de macromoléculas da madeira, gerando novos produtos;
- Reações envolvendo somente os componentes do destilado;
- Evaporação dos compostos de baixo peso molecular por meio da madeira do barril e adsorção destes compostos na superfície da madeira queimada;
- Formação de aglomerados envolvendo moléculas de etanol, água e os componentes extraídos da madeira. Estes componentes extraídos da madeira reorganizam a matriz água-álcool ao seu redor, conferindo a característica de “corpo” à bebida, sendo este arranjo o principal responsável pelo desenvolvimento das características sensoriais da bebida envelhecida.

A concentração de álcool da bebida estocada também tem influência no desenvolvimento do aroma. Para bebidas duplamente destiladas, o teor alcoólico indicado para o envelhecimento é de 60-63% v/v, no caso da cachaça observa-se valores menores. Este conteúdo alcoólico é mais efetivo na extração dos componentes da madeira para a bebida (muitos compostos que proporcionam sabor e aroma à bebida são mais solúveis em álcool do que em água). Teores mais elevados

de álcool diminuem o tempo de envelhecimento e favorecem o desenvolvimento do aroma (PIGGOTT et al., 1989).

Moléculas de etanol e água interagem por meio de ligações de hidrogênio durante a maturação de bebidas, e as mudanças destas interações estão relacionadas ao desenvolvimento de um sabor mais suave. No processo de armazenamento da aguardente de cana em tonéis de madeira o contato com o ar favorece reações de oxidação e, devido ao processo de evaporação, a aguardente perde álcool, concentra os componentes secundários e se enriquece de componentes provenientes da madeira conferindo-lhe cor e contribuindo para suas qualidades sensoriais (AQUARONE et al., 1983).

Dessa forma, as conseqüentes transformações que a bebida sofre envolvem mudanças na cor, volume, peso específico e nos teores de álcool, extrato residual, acidez, ésteres, álcoois superiores, aldeídos, furfural e no coeficiente dos compostos secundários (LIMA, 1992).

- **Cor:** armazenadas em contato com a madeira, os destilados mudam de cor; já que as madeiras são ricas em matérias extrativas que dão cor, estas se solubilizam no líquido alcoólico de acordo com a natureza da madeira e o tempo de contato.
- **Redução do volume:** nos barris de madeira há troca gasosa devido à permeabilidade desse material, resultando em evaporação do líquido alcoólico em maior ou menor intensidade, de acordo com a natureza da madeira e das condições ambientais. A redução do volume vai depender da composição, da porosidade da madeira, da capacidade do recipiente, de sua forma, das características de sua construção, de seu estado de conservação, da espessura das aduelas, da temperatura ambiente, do estado higrométrico do ar, das condições de ventilação, de existência de abrigo ou não para os recipientes e de eventual exposição ao sol.
- **Extração:** o contato do destilado com a madeira promove a extração de substâncias corantes, taninos e outros componentes de sabor e aroma que vão reagir entre si e com os componentes do destilado e assim modificar suas qualidades sensoriais. Mais de cem compostos já foram identificados no uísque, sendo as lactonas as mais abundantes, com vários isômeros. Um isômero diferente já provoca mudanças no aroma e no sabor (PIGGOTT et al., 1989).

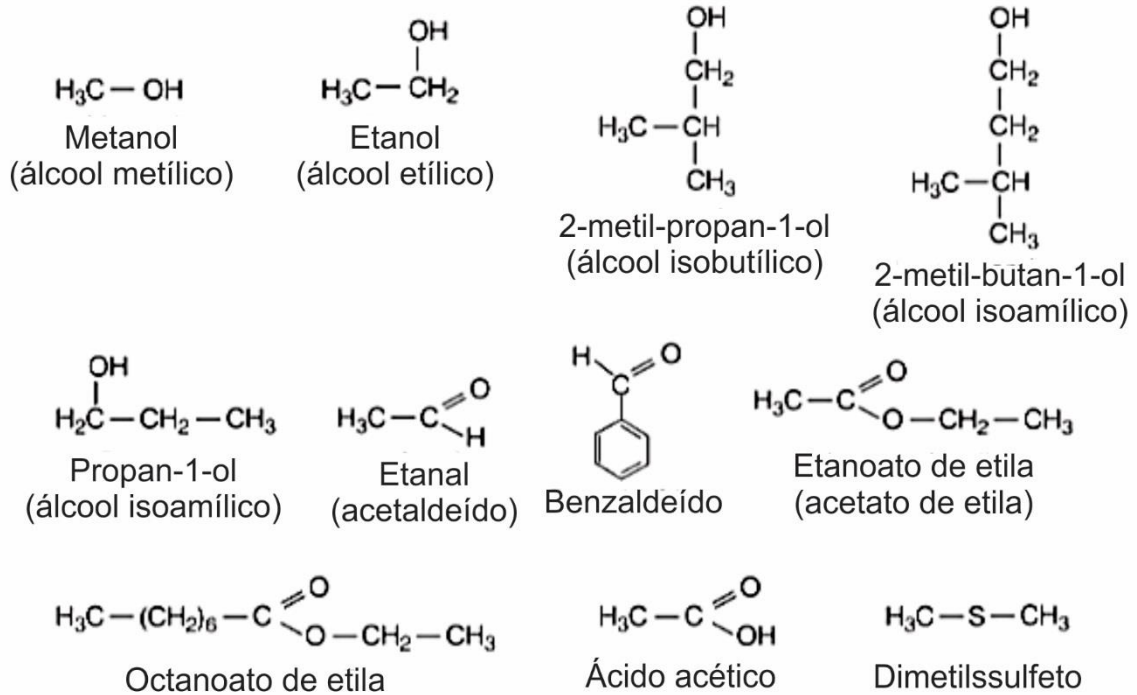
- **Teor alcoólico do destilado:** o volume do destilado envelhecido diminui devido à evaporação de voláteis através dos poros da madeira dos barris, porém, além da redução do volume, a mistura hidroalcoólica pode também variar pela perda maior ou menor de álcool em relação à água. A mudança do teor alcoólico e a redução do volume de destilado armazenado são também influenciadas pela ventilação, temperatura e umidade ambiente do local de envelhecimento.
- **Sólidos solúveis:** sólidos em solução, tais como substâncias minerais, corantes e formadoras de aroma, que compõem o extrato residual da bebida aumentam pela lenta dissolução dos componentes da madeira. Os teores dos extratos residuais da cachaça serão maiores quanto mais longos for o período de envelhecimento.
- **Acidez:** a acidez total de uma bebida eleva-se com o envelhecimento, em decorrência de extração de ácidos da madeira e do aumento da acidez volátil ao longo do processo, devido provavelmente à elevação do teor de ácido acético, que é formado pela oxidação do etanol e do aldeído.
- **Ésteres:** com o envelhecimento os destilados adquirem um teor mais elevado de ésteres e, conseqüentemente um aroma mais agradável, já que estes compostos são considerados os principais responsáveis pelo desenvolvimento do aroma dos destilados.
- **Álcoois superiores:** O conteúdo de álcoois superiores de uma cachaça pode ser reduzido na destilação com a separação da cabeça do destilado. O teor dos álcoois superiores não se altera muito com o envelhecimento e um possível ligeiro aumento é simplesmente relacionado com a redução da graduação alcoólica.
- **Aldeídos:** durante o envelhecimento a quantidade de aldeídos eleva-se, porque são produtos intermediários da oxidação do álcool, mas sua elevação não obedece a uma proporcionalidade definida, já que tais compostos podem também serem oxidados a ácidos.
- **Furfural:** composto oriundo das pentoses da madeira é também um produto de pirogenação pela queima do material orgânico depositado no fundo das caldeiras dos aparelhos aquecidos a fogo direto, sobretudo de células de leveduras. Seu teor varia em função do conteúdo desse material no vinho e da intensidade da aplicação do fogo para destilar. O envelhecimento tende a aumentar a concentração de

furfural, devido à extração e modificações dos componentes da madeira (SINGLETON, 1995; LIMA, 1992).

## 2.7. Composição química da cachaça

A composição química da cachaça depende da matéria-prima utilizada e do modo como a produção foi conduzida. Além da água e do etanol, estão presentes álcoois, aldeídos, cetonas, ésteres, ácidos carboxílicos, compostos de enxofre e outras substâncias. A Figura 01 apresenta as fórmulas estruturais de alguns componentes majoritários presentes e o Quadro 01 a concentração dos mesmos. Um estudo comparativo de aguardentes obtidas em alambiques de cobre e de aço inox mostrou que as diferenças acentuadas nos teores de aldeído, ésteres e álcoois são as prováveis responsáveis pelas diferenças sensoriais entre os dois tipos de bebida (NASCIMENTO et al.,1998).

Embora exista a inconveniência de contaminação da cachaça com íons de cobre, alguns pesquisadores consideram importante a presença do metal nos destiladores, atribuindo-lhe o papel de catalisador na desidrogenação de álcoois a aldeídos e agindo na transformação de compostos sulfurados voláteis no destilado, cujo odor e sabor são desagradáveis (o principal composto dessa classe é o dimetilssulfeto, que é parcialmente oxidado a sulfato nos alambiques de cobre), contribuindo para as qualidades organolépticas da bebida (FARIA, 1995).



**Figura 01** – Fórmulas estruturais de alguns constituintes majoritários (Metanol, etanol, isobutanol álcool isoamílico, propanol, aldeído, benzaldeído, acetato de etila, ciprilato de etila, ácido acético e dimetilssulfeto) presentes na cachaça.

Fonte: (NASCIMENTO et al.,1998).

Além dos compostos mencionados, uma grande variedade de substâncias químicas pode estar presente, como outros álcoois com 3 a 5 átomos de carbono e superiores (CLETO, 2000), outros ácidos carboxílicos e ésteres (CARDOSO et al., 2013), outros aldeídos (NASCIMENTO et al., 1997), compostos fenólicos e partículas suspensas (ISIQUE; FRANCO, 2000), íons de metais de transição (LIMA-NETO; FRANCO, 1994), ureia, íons amônio e aminoácidos (POLASTRO et al., 2001), carbamato de etila (ANDRADE-SOBRINHO et al., 2002; GUERRA; SIMÕES, 2001).

**Quadro 01:** Concentrações de algumas substâncias presentes em cachaça obtida em alambiques de cobre e aço inox.

Substância/mg.L <sup>-1</sup>	Alambique	
	Cobre	Aço inox
Metanol	1,82	1,16
Álcool isoamílico	1095	1546
Isobutanol	203,5	250
Propanol	58,0	78,2
Aldeído	19,0	9,00
Acetato de etila	16,3	108
Octanoato de etila	1,60	6,70
Ácido acético	20,7	21,5
Dimetilssulfeto	150	250

Fonte: Nascimento et al. (1998).

## 2.8. Legislação

Para Siebald et al. (2009), a composição química da cachaça pode ser dividida em duas porções: a fração inorgânica e a fração orgânica. A primeira, fração inorgânica é constituída principalmente por íons metálicos, tais como: alumínio, cádmio, cálcio, chumbo, cobalto, cobre, cromo, estanho, ferro, lítio, magnésio, manganês, mercúrio, níquel, potássio, sódio, zinco; e por fração orgânica, aquela que contém: alcoóis, como etanol e metanol; álcoois superiores, como álcool isoamílico e isobutílico; aldeídos, como formaldeído, aldeído; furfural; ácidos carboxílicos, como ácido acético (responsável pelo sabor e o cheiro do vinagre); ésteres, como acetato de etila (cheiro de frutas), octanoato de etila (cheiro de abacaxi); carbamato de etila; cetonas, como propanona; compostos sulfurados (aqueles que contêm enxofre), como dimetilsulfeto.

Os principais compostos voláteis presentes na cachaça servem de parâmetro de qualidade da mesma e devem estar de acordo com a Instrução Normativa número 13 de 2005 (Quadro 02) e Brasil (2014)\* alterada a lei que passou a vigorar a seguinte redação: 5.1.2. Carbamato de etila em quantidade não superior a 210µg.L<sup>-1</sup>.

**Quadro 02:** Limites dos componentes secundários e contaminantes orgânicos e inorgânicos da cachaça. Fonte: Brasil (2005) e Fonte: Brasil (2014)\*.

Componente	Unidade	Limite	
		Mínimo	Máximo
Graduação alcoólica de aguardente	% em volume de álcool etílico a 20°C	38	54
Graduação alcoólica de cachaça	% em volume de álcool etílico a 20°C	38	48
Sacarose, em açúcar refinado, cristal, invertido ou glicose****	g.L <sup>-1</sup>	6,0	30,0
Acidez volátil, em ácido acético anidro	mg.100mL <sup>-1</sup> álcool	-	150
Ésteres, em acetato de etila	mg.100mL <sup>-1</sup> álcool anidro	-	200
Aldeídos, em aldeído acético	mg.100mL <sup>-1</sup> álcool anidro	-	30
Furfural	mg.100mL <sup>-1</sup> álcool anidro	-	5
Álcoois superiores**	mg.100mL <sup>-1</sup> álcool anidro	-	360
Congêneres***	mg.100mL <sup>-1</sup> álcool anidro	200	650
Álcool metílico	mg.100mL <sup>-1</sup> álcool anidro	-	20
Álcool sec-butílico	mg.100mL <sup>-1</sup> álcool anidro	-	10
Álcool n-butílico	mg.100mL <sup>-1</sup> álcool anidro	-	3
Cobre	mg.L <sup>-1</sup>	-	5,0
Extrato seco	g.L <sup>-1</sup>	-	6,0****
Carbamato de etila*	μ.L <sup>-1</sup>	-	210*
Partículas em suspensão (resíduo sólido)	-	Ausentes	Ausentes

\*\*Álcoois superiores = (isobutílico + isoamílico + propílico).

\*\*\*Congêneres = (Acidez Volátil + Ésteres + Aldeídos + Furfural + Álcoois Superiores).

\*\*\*\*Aguardente de cana e cachaça “adoçada” = máximo 30,0g.L<sup>-1</sup>.

De acordo com Yokoya (1995), os álcoois superiores formam-se através da degradação de aminoácidos que ocorrem durante o processo fermentativo, os quais apresentam odores característicos em bebidas fermento-destiladas. Assim com os álcoois superiores, os ésteres também conferem aroma e sabor à bebida destilada, sendo oriundos do metabolismo dos micro-organismos presentes. A concentração

destes compostos pode ser controlada conhecendo-se o fermento utilizado e suas particularidades, assim como o tempo de fermentação e a realização correta da separação das frações durante a destilação (VARGAS, 1995).

No início da fermentação alcoólica é que são formados alguns aldeídos, especialmente o aldeído. O metanol é um contaminante, ou defeito da cachaça, e a sua formação também está associada ao início da destilação. O furfural é resultante da decomposição química de carboidratos. Sua formação é evitada pela filtração do vinho antes da destilação deixando-o livre de substâncias orgânicas em suspensão. Quando as cachaças são envelhecidas, o furfural pode ser oriundo da ação de ácidos sobre as pentoses e seus polímeros (hemiceluloses) (CARDOSO, 2013; MASSON, 2007; YOKOYA, 1995).

O glicerol é um triálcool de fórmula molecular  $C_3H_8O_3$ , formado durante a fermentação alcoólica. Sua produção está na dependência de vários fatores, tais como a presença de contaminantes e o pH do mosto. Amorim (1977) observou que estes fatores afetam diretamente a produção de biomassa pela levedura, assim como a de glicerol. Relatou ainda que condições de pH básico favoreceram a produção de glicerol, proporcionando o crescimento de contaminantes em detrimento das leveduras que são acidófilas. Constataram ainda que esta condição está relacionada com um menor rendimento fermentativo, uma vez que partes dos açúcares eram desviadas da produção de etanol para outras vias metabólicas.

A presença de compostos como o carbamato de etila e os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos podem representar riscos à saúde e à qualidade sensorial da cachaça (FRANCO, 2008). A uretana ou carbamato de etila (CE) merece destaque especial. Trata-se de uma substância com reconhecido potencial carcinogênico, anteriormente utilizada como hipnótico, anestésico e também como cossolvente em algumas sínteses de fármacos (EUROPA, 2007; UTHURRY, 2006; WEBER, 2009).

Em testes de toxicidade em animais foi comprovado ser causador de edemas pulmonares, papilomas de pele, linfomas malignos, hepatomas, carcinomas mamários, tumores de ovário, hemangiomas hepáticos, tumores melanóticos de pele e de íris, entre tantos outros (LACHENMEIER, 2010; NÓBREGA, 2009; WEBER, 2009). O carbamato de etila está naturalmente presente em alimentos fermentados (queijos, iogurtes, molhos de soja, pães) e em bebidas alcoólicas (vinhos, saquê,

aguardente, vodca, rum, cerveja, cidras) (BRUNO, 2007; LACHENMEIER, 2010; MADRERA, 2009; NÓBREGA, 2009; WEBER, 2009). A sua formação e os seus precursores em alimentos e bebidas dependem do tipo e da maneira pelos quais estes são processados (EUROPA, 2007; UTHURRY, 2006; WEBER, 2009).

Ainda de acordo com as disposições legais contidas na Instrução Normativa n. 13 de 29/06/2005, alterada pela Instrução Normativa n. 27 de 15/05/2008 e Instrução Normativa n. 58 de 19/12/2007, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, definem-se:

- *Cachaça Envelhecida* – contém no mínimo 50% de cachaça ou aguardente de cana, envelhecidas em recipiente de madeira apropriado, com capacidade máxima de 700 L por um período não inferior a um ano.
- *Cachaça Premium* – contém 100% de cachaça ou aguardente de cana, envelhecidas em recipiente de madeira apropriado, com capacidade máxima de 700 L por um período não inferior a um ano.
- *Cachaça Extra Premium* – contém 100% de cachaça ou aguardente de cana, envelhecidas em recipiente de madeira apropriado, com capacidade máxima de 700 L por um período não inferior a três anos.

## 2.9. Determinação de compostos voláteis

O aroma de um alimento pode ser explicado pela ocorrência de compostos químicos cuja principal característica é a volatilidade, a qual permite que tais compostos sejam percebidos pelos receptores nasais, tanto durante a degustação do alimento (detecção retro nasal), como pelo odor exalado a distância. Estima-se que o processo de percepção pelo olfato (aroma) é mais sensível do que pelo paladar (sabor) (MOTTRAM, 1993).

Ao contrário do paladar, milhares de compostos voláteis podem ser detectados e diferenciados, em menor ou maior escala, pelo olfato. Isso depende de diversos fatores, dentre os quais, a estrutura química do composto volátil e a interação deste com a matriz alimentícia (BELITZ; GROSCH, 1999). Tais fatores, por sua vez, são responsáveis por características importantes dos compostos, a exemplo o valor do

limiar de odor (limiar de detecção ou "*threshold*"), que pode ser definido como a concentração mínima pela qual um composto pode ser detectado pelo sentido do olfato (BELITZ; GROSCH, 1999).

O componente volátil majoritário das bebidas alcoólicas é o álcool etílico, ao lado do qual está presente centenas de outros compostos voláteis proporcionalmente minoritários, os quais são formados por rotas químicas ou bioquímicas, durante e após a fermentação alcoólica. Nas classes dos compostos voláteis produzidos por estas vias, incluem-se: ésteres, aldeídos, álcoois superiores (propílico, butílico e amílico), cetonas e hidrocarbonetos (NYKÄNEN; NYKÄNEN, 1991).

O etanol, devido ao seu valor de limiar de odor elevado (100.000ppb) e a sua característica de aroma pouco marcante, é provavelmente um dos componentes voláteis de menor destaque na definição ou caracterização do aroma nas bebidas alcoólicas. No entanto, uma parcela significativa dos compostos voláteis possui grande impacto na qualidade do aroma das bebidas alcoólicas, na medida que tais compostos pertencem às classes dos ésteres (como também dos aldeídos, álcoois superiores, entre outros), que geralmente possuem valores de limiar de odor relativamente baixos, assumindo características de aroma mais marcantes (BELITZ; GROSCH, 1999).

Poucos trabalhos foram feitos até o momento com objetivo de identificar, por meio de cromatografia gasosa (CG) ou cromatografia gasosa associada com espectrometria de massas (CG-EM), compostos voláteis de importância, ou com potencial de impacto, no aroma da cachaça. Entre os trabalhos pioneiros incluem-se o de Almeida e Barreto (1971) e o de Llistó et al. (1979) e, entre os mais recentes, incluem-se o de Nascimento et al. (1998) e o de Nonato et al. (2001).

## 2.10. Análise sensorial de cachaça

Os testes sensoriais são geralmente incluídos como garantia da qualidade nas indústrias de alimentos e bebidas devido à capacidade já demonstrada de identificar a presença ou ausência de diferenças pouco perceptíveis e de definir de forma rápida as características sensoriais mais importantes de um produto, assim como de perceber particularidades dificilmente detectadas por procedimentos analíticos, além

de serem capazes de avaliar a aceitação de diferentes produtos (STONE; SIDEL, 1993).

O teste afetivo mede quanto os consumidores gostaram de um produto, para avaliar preferência ou aceitabilidade. A aceitabilidade pode ser dimensionada pelo grau de gostar relacionado a um produto único, enquanto a preferência pode ser dimensionada pelo grau de gostar a partir da comparação entre dois ou mais produtos alimentícios. O teste de aceitabilidade é um teste quantitativo, no qual avalia as respostas dos provadores referentes ao questionário, visando determinar o grau de aceitabilidade global do produto, identificando os fatores sensoriais que determinam a preferência de determinado produto (DUTCOSKY, 2011).

Já a técnica de mapa de preferência utiliza análise estatística multivariada para obter, num espaço multidimensional, uma representação gráfica das diferenças de aceitação entre produtos, identificando o indivíduo e suas preferências (ELMORE et al., 1999; SCHLICH; MCEWAN, 1992). Ela permite, ainda, identificar as amostras mais aceitas pela maioria da população do estudo e, ao considerar a individualidade de cada provador, caracterizar grupos com diferentes preferências e padrões de consumo. Os mapas podem ser divididos em duas categorias: interno, quando se constrói o espaço vetorial sobre dados de aceitação/preferência gerados a partir de testes afetivos, e externo, onde o espaço vetorial é construído com dados de análise descritiva ou outras caracterizações físico-químicas e, depois correlacionado com dados de aceitação (LAWLESS et al., 1998; MACFIE et al., 1988).

Por meio de testes afetivos e mapa de preferência interno conduzidos por Cardello e Faria (2003), ficou evidente que cachaças envelhecidas acima de 24 meses em barril de carvalho de 200L detêm a preferência dos consumidores, em comparação com as comerciais não envelhecidas e com as comerciais envelhecidas adicionadas de cachaça não envelhecida (processo denominado corte), conforme permitido pela legislação brasileira. As amostras envelhecidas apresentaram os maiores valores de intensidade de cor e de compostos fenólicos, evidenciando que o processo de envelhecimento altera a composição e melhora as características da bebida.

A cachaça é muito apreciada por seu sabor e aroma característicos, que são decorrentes dos processos de fermentação, destilação e envelhecimento em tonéis de madeira, sendo denominada cachaça envelhecida a bebida que contiver no mínimo

50% de aguardente de cana envelhecida em barris de madeira, por um período não inferior a 1 ano, podendo ser adicionada de caramelo para a correção da cor (BRASIL, 2005).

Os principais compostos responsáveis pelo sabor e aroma da bebida são os aldeídos, ésteres e álcoois superiores, porém, os aldeídos em excesso são indesejáveis por serem os principais responsáveis pela ressaca. Os álcoois superiores de cadeia longa também devem ser evitados devido ao seu aspecto oleoso que deprecia a qualidade do produto final. Devido a sua alta toxicidade, o metanol presente na bebida, por processo oxidativo, forma  $\text{CO}_2$  causando acidose no sangue podendo levar ao coma e até à morte (CARDOSO, 2013).

A presença de cobre nas cachaças brasileiras deve-se, principalmente, à dissolução da parede interna do alambique pelos componentes da cachaça durante o processo de destilação. A utilização de equipamentos de cobre nos alambiques é favorável à produção de cachaças finas, pois reduz a acidez, os níveis de aldeídos e os compostos sulfurosos, que conferem sabor e aroma estranhos à bebida (CARDELLO et al., 2003).

O processo de envelhecimento promove redução considerável do teor de cobre das cachaças, podendo constituir uma das formas para reduzir níveis de contaminação desse componente na cachaça (CARDELLO et al., 2003).

No caso da aguardente de cana inúmeros trabalhos já utilizaram a análise sensorial para avaliar e comparar a aceitação dessa bebida, bem como para estudar o efeito do processo de obtenção deste produto, assim como do seu envelhecimento em tonéis de carvalho (CARDELLO; FARIA, 2000) e outras madeiras (FARIA, 2003).

Cabe destacar que não há estudos na literatura, que relacionam o uso da própolis na fermentação sobre as características organolépticas de bebidas destiladas, tais como os parâmetros de cor, sabor e odor.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido no Laboratório de Tecnologia do Açúcar e do Álcool e Microbiologia das Fermentações - FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal-SP, na safra 2013/2014.

#### 3.1. Delineamento Experimental

O delineamento experimental foram em blocos casualizados com 5 repetições, num esquema de parcelas subdivididas. Os tratamentos principais foram constituídos por 3 antimicrobianos utilizados durante o processo fermentativo: Monensina sódica, Extrato Etanólico de Própolis Verde (EEPV) e Extrato Etanólico de Própolis Marrom (EPPM), além do tratamento Controle e o Tratamento Físico-Químico (TFQ). Os tratamentos secundários foram constituídos por 6 épocas de armazenamento (0, 15, 30, 60, 90 e 180 dias).

#### 3.2. Matéria-prima

Foram utilizados colmos de cana recém cortados, da variedade RB867515, 3º corte, provenientes da Fazenda São José, unidade produtora certificada como orgânica, localizada do município de Jaboticabal-SP. A colheita foi realizada manualmente, com desponte no ponto natural de quebra, sem queima prévia da palha em Outubro/Novembro de 2013.

#### 3.3. Preparo dos biocidas

Os biocidas/concentrações empregadas neste estudo foram aqueles propostos por Montijo et al. (2014): 3  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  para Monensina Sódica, 3  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  para Extrato Etanólico de Própolis Verde (EEPV) e 2  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  para o Extrato Etanólico de Própolis Marrom (EPPM).

### 3.4. Extração e Tratamento do Caldo e Preparo do Mosto

Os colmos foram submetidos ao processo de extração em moenda, sendo o caldo extraído filtrado em tela de 60 mesh, para remoção de impurezas grosseiras (bagacilho, areia). Este foi padronizado em 16°Brix à temperatura ajustada para 28 a 32°C, originando o mosto 1. Utilizou-se o pH natural do caldo de cana, atendendo à recomendação técnica para emprego da levedura CA-11.

Para o Tratamento Físico-Químico (TFQ), o caldo foi padronizado para 16°Brix, recebeu adição de hidróxido de cálcio 6°Bé até atingir pH 6,0. A seguir foi aquecido até à fervura possibilitando a reação entre o cálcio e o fósforo presente na solução (ALBUQUERQUE, 2011).

O caldo aquecido foi transferido para um decantador de inox, com prévia adição de extrato de folhas de *Moringa oleífera* Lamarck, preparado conforme Ghasi, Nwobodo e Ofili, (2000) na dosagem de 5mg.L<sup>-1</sup> (COSTA et al., 2014), para auxiliar a sedimentação dos flocos formados. Após 1 hora em repouso, o sobrenadante foi sifonado, originando o mosto 2.

### 3.5. Produção da cachaça – Fermentação e Destilação

Os mostos obtidos foram submetidos à inoculação com levedura CA-11, previamente adaptada, na concentração de 10<sup>8</sup> unidades formadoras de colônia (UFC/mL), com viabilidade de células superior a 90%. Cada fermentação foi realizada utilizando-se 6L de mosto em dornas de aço inox, por 5 ciclos fermentativos consecutivos, com recuperação da levedura por decantação. A levedura recuperada recebeu o tratamento com os antimicrobianos: [sintético (Kamoran WP), Extrato Etanólico de Própolis Verde e Extrato Etanólico de Própolis Marron], tratamento controle e tratamento físico-químico.

O vinho obtido foi imediatamente destilado em alambique de cobre (6 litros) aquecido por meio de fogo direto. As destilações foram conduzidas separando-se as frações de cabeça, coração e cauda, coletando-se 80% (coração) (volume) do destilado com graduação alcoólica que variou entre 38 e 40% (v/v) a 20°C. A seguir foram reservadas em garrações de 4,5 litros de capacidade, onde estes recipientes

foram revestidos por papel para abrigo de luz. Foram misturadas as frações de coração (cachaça) obtidas, de acordo com os tratamentos já mencionados.

Na etapa seguinte, preparou-se o *blend* das amostras de cachaça, apresentando aproximadamente 44% (v/v), que foram encaminhadas para o período de armazenamento em ancorotes francês (*Quercus sp.*) recém construído.

### 3.6. Armazenamento

A cachaça obtida foi armazenada em ancorotes novos de carvalho francês (*Quercus sp.*) com capacidade de 5 litros. O ancorote foi mantido em ambiente fechado, na posição horizontal com distanciamento de 20 cm entre eles. Foram mantidos em temperatura ambiente.

As amostras representativas de cada tratamento (300 mL) foram coletadas, nos períodos de 0, 15, 30, 60, 90 e 180 dias de armazenamento para caracterização físico-química. A seguir foram coletadas 250 mL das amostras, nos períodos 0, 90 e 180 dias para realização da análise sensorial da cachaça orgânica armazenada.

### 3.7 Determinação de nutrientes

A metodologia utilizada para avaliação dos nutrientes está descrita por MALAVOLTA et al. (1997). Foram determinados os teores de nitrogênio total do caldo original, do mosto, do caldo clarificado e do vinho.

A quantificação de potássio, magnésio, cálcio, sódio, ferro, manganês, zinco foi realizada em espectrofotômetro de absorção atômica, utilizando-se amostras previamente digeridas por reação nitro-perclórica (ZASOUSK; BURAU,1977). Realizou-se análise de minerais do vinho e da cachaça sem a prévia digestão da reação nitro-perclórica, isto é, ocorreu a leitura direta a partir das amostras das respectivas amostras de cachaça orgânica armazenada do presente estudo.

### 3.8. Determinação dos componentes do destilado presentes no vinho

Os componentes voláteis presentes nos vinhos foram recuperados por destilação, onde a cada 50 mL de vinho recuperava-se 20 mL de destilado. As amostras foram submetidas à análise de componentes em cromatógrafo gasoso GC Varian 3900, acoplado com software Galaxie Chromatography, coluna Varian Capillary Column, CP – Wax 52 CB, (L= 30 m; Di= 0,53 mm; Ef =1µm) #CP8738. Injetou-se 1µL de cada amostra nas seguintes condições: temperatura do injetor: 175°C, temperatura do detector: 210°C, empregando-se como gás de arraste: ar sintético. Determinou-se os teores de acroleína, acidez volátil, aldeído, ésteres, metanol, álcoois superiores (propílico, isobutílico e isoamílico).

### 3.9. Avaliação da Composição Química da Cachaça

As cachaças foram caracterizadas quanto ao Grau Alcoólico, Acidez Volátil (BRASIL, 2005), Condutividade, Turbidez (INMETRO, 2005), Cor (REAZIN, 1981) pH e Cobre (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005).

Determinou-se também os teores de acroleína, acidez volátil, aldeído, ésteres, metanol, álcoois superiores (propílico, isobutílico e isoamílico) em cromatógrafo gasoso GC Varian 3900, acoplado com software Galaxie Chromatography, coluna Varian Capillary Column, CP – Wax 52 CB, (L= 30 m; Di= 0,53 mm; Ef =1µm) #CP8738. Injetou-se 1µL de cada amostra nas seguintes condições: temperatura do injetor: 175°C, temperatura do detector: 210°C, empregando-se como gás de arraste: ar sintético.

A determinação do carbamato de etila foi realizada segundo Anjos et al. (2011), utilizando-se a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência. O equipamento utilizado foi um cromatógrafo 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.

### 3.9.1. Análise sensorial

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 (PEREZ, 2013; GUAGLIANONI, 2009). Foi realizada em junho de 2015, a partir de cinco amostras (tratamentos) de cachaça orgânica armazenada nos períodos 0, 90 e 180 dias, onde foram submetidas a teste de aceitação (utilizando a escala hedônica de nove pontos) no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Alimentos e Nutrição da FCF-UNESP, com pessoas maiores de 21 anos que preencheram uma ficha com informações pessoais, inclusive se eram ou não consumidores de bebidas alcoólicas (anexo 01).

As amostras de cachaças foram servidas de forma monádica e balanceada (3,5 mL), em copinho acrílico transparente com capacidade total de 10 mL, codificados com três dígitos. Utilizou-se para o teste sensorial a escala hedônica híbrida, conforme descrito por Villanueva et al. (2005). A intenção de compra dos consumidores em relação a cada cachaça também foi avaliada, através de uma escala de 5 pontos (1 = certamente não compraria e 5 = certamente compraria) (Anexo 2). Participaram desta análise alunos, professores e funcionários da Faculdade de Ciências Farmacêuticas.

### 3.9.2. Análise estatística dos resultados

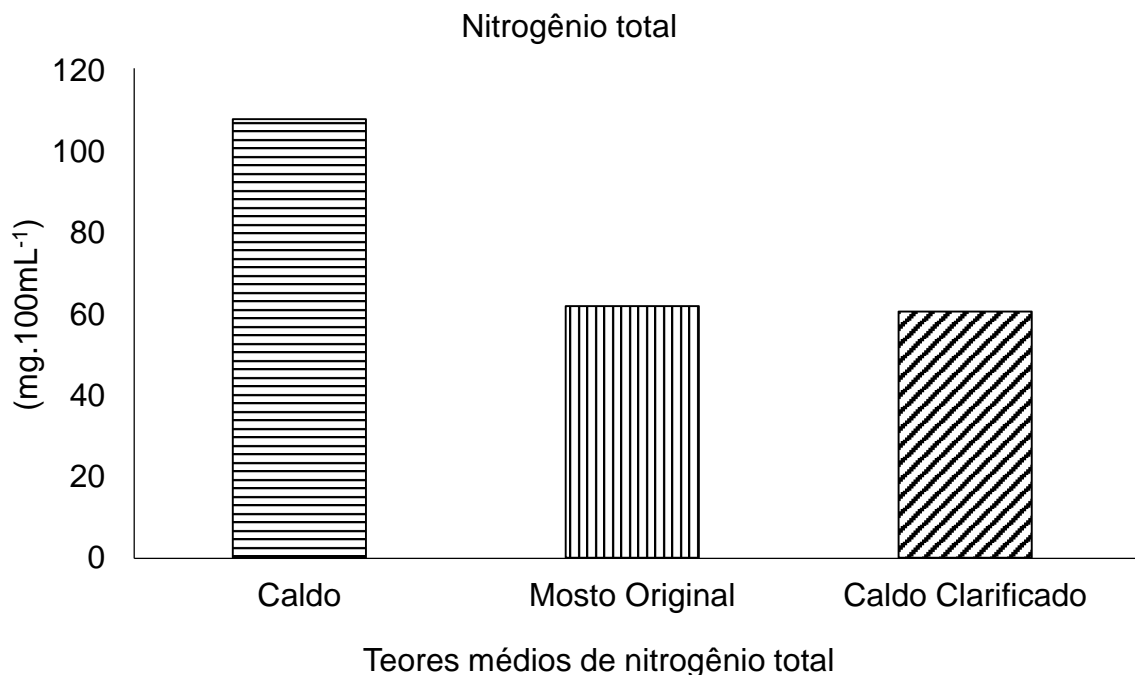
Os resultados obtidos para a análise sensorial da cachaça orgânica armazenada foram submetidos à análise de variância (teste F), teste de comparação de médias (Tukey 5%) e análise de regressão polinomial empregando-se o Sistema para Análises Estatísticas de Ensaio Agronômicos - AgroEstat (BARBOSA; MALDONADO, 2015).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Determinação de nutrientes

#### 4.1.1 Nitrogênio total

O nitrogênio é um elemento essencial não apenas para o crescimento como para uma fermentação adequada. Em quantidade insuficiente pode aumentar o tempo de fermentação e reduzir o rendimento, se for acima da quantidade ideal, a levedura irá se multiplicar, desviando o açúcar para a produção de biomassa (STUPIELLO; HORII, 1981). Neste estudo, foram determinados os teores de nitrogênio total do caldo, do mosto original e do caldo clarificado. Os valores médios dos teores de nitrogênio total presentes nas respectivas amostras analisadas encontram-se representados graficamente pela Figura 02.



**Figura 02** – Teores médios de nitrogênio total: caldo, mosto original e caldo clarificado.

Analisando-se os resultados, verifica-se que os valores médios obtidos para o nitrogênio total do caldo, do mosto original e do caldo clarificado variaram de 108mg.N.100.mL<sup>-1</sup> para caldo, 62mg.N.100.mL<sup>-1</sup> para mosto original e 60,5mg.N.100mL<sup>-1</sup> para caldo clarificado para a cana-de-açúcar da variedade RB867515, 3<sup>o</sup> corte.

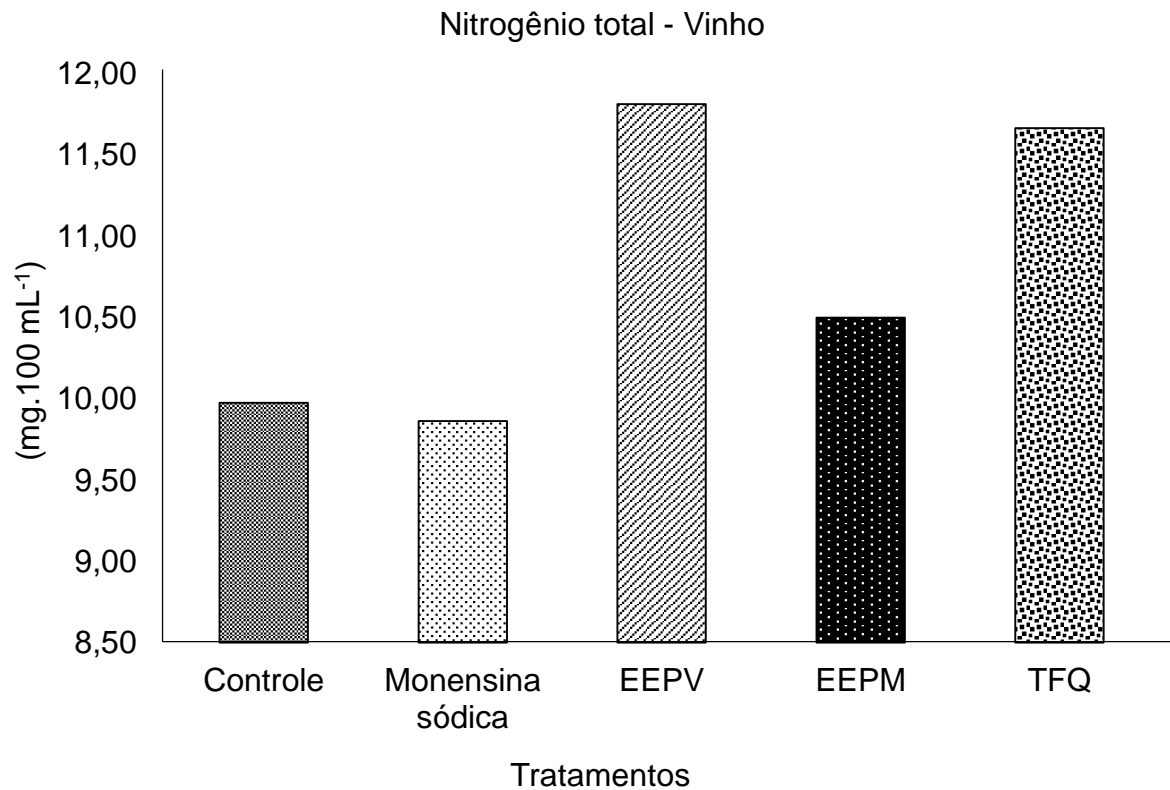
Pode-se observar que o caldo de cana-de-açúcar apresentou o maior valor médio, corroborando com Sharma e Johary (1984), que relataram compostos nitrogenados no caldo de cana-de-açúcar, nas concentrações de 200 a 600ppm de nitrogênio, na forma de amônia, peptídeos, aminoácidos, nucleotídeos, proteínas, glicoproteínas e poliaminas. Estes valores variam com os fatores que podem influenciar o teor e a composição dos compostos nitrogenados no caldo, tais como a variedade, a maturação, a adubação e as condições edafoclimáticas da região produtora (SILVA, 2011).

Os resultados dos teores médios de nitrogênio total do vinho, para os cinco tratamentos do estudo, encontram-se representados graficamente pela Figura 03. Os valores médios de nitrogênio total do vinho, foi de 9,98mg.N.100mL<sup>-1</sup> para o tratamento Controle, 9,86mg.N.100mL<sup>-1</sup> para o tratamento Monensina Sódica (MS), 11,81mg.N.100mL<sup>-1</sup> para o tratamento Extrato Etanólico de Própolis Verde (EEPV), 10,50mg.N.100mL<sup>-1</sup> para o tratamento Extrato Etanólico de Própolis Marrom (EEMP) e 11,77mg.N.100mL<sup>-1</sup> para o tratamento físico-químico (TFQ).

Destacaram-se dois tratamentos, que obtiveram os maiores teores médios de nitrogênio total, como o tratamento de EEPV com maior teor médio de nitrogênio total seguido pelo Tratamento Físico-Químico (TFQ). Pereira (2007) estudou a suplementação de nitrogênio sobre a fermentação alcoólica para produção de cachaça, cerveja e vinho, destacou-se que o aumento da concentração do sulfato de amônio, presente em vinho, colaborou para a produção de compostos como o propano-1-ol (álcool propílico) e o 2-metilpropan-1-ol (álcool isobutílico) que tiveram seus valores elevados devido à composição nitrogenada presente no vinho.

Já os valores médios, obtidos para o mosto original e o caldo clarificado, apresentaram valores similares. Henschke e Jiranek (1994) relatam que a cinética da fermentação e a produção de aromas e metabólitos secundários podem ser em parte dependentes da qualidade e quantidade de nitrogênio do mosto. Com relação ao caldo clarificado, Doherty e Rackemann (2009) relata que o tratamento físico-químico do caldo objetiva a máxima remoção de impurezas e materiais contaminantes (terra, compostos fenólicos, ácidos, aminoácidos, proteínas, corantes), de fundamental importância para a qualidade do mosto a ser fermentado. Etapa imprescindível, que pode atuar como precursora da formação de interferentes na qualidade do produto

final. É a filtragem de bagacilhos, ricos em substâncias pécnicas possuindo unidades metoxilas, que quando liberadas pelas enzimas das leveduras fermentativas dão origem ao metanol, produto indesejável.

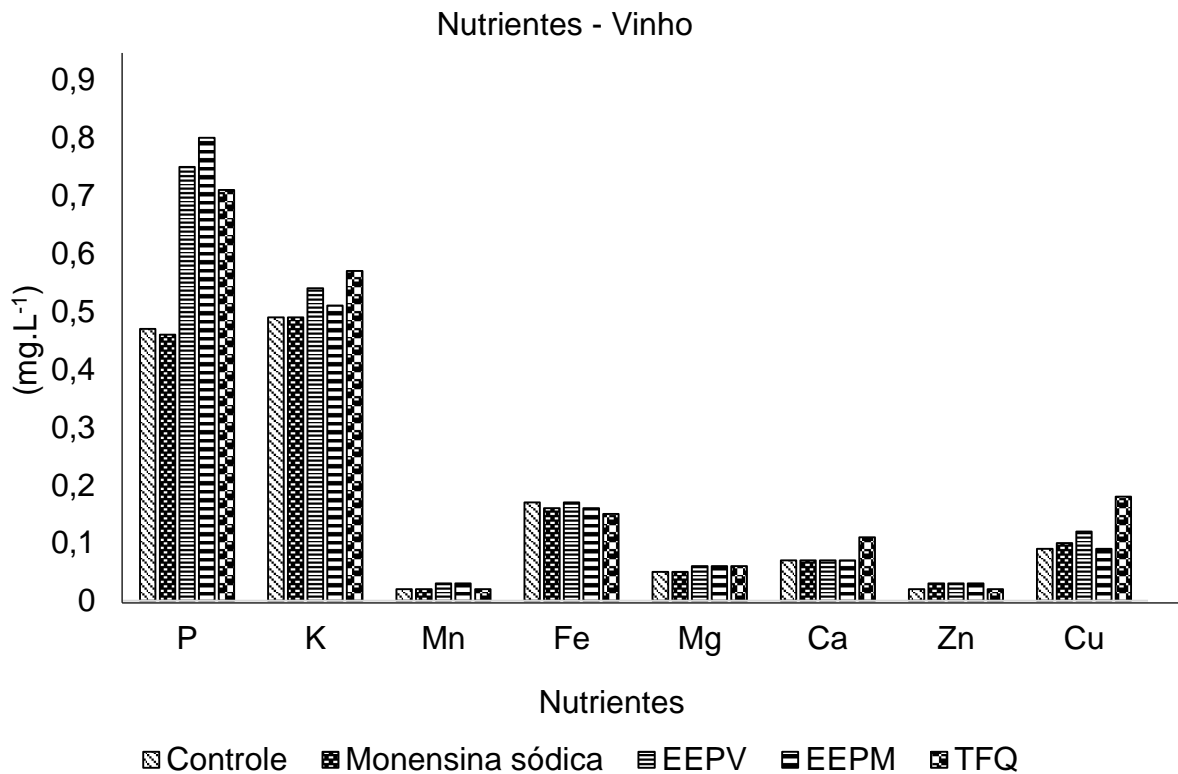


**Figura 03** – Teores médios de nitrogênio total em vinho dos cinco tratamentos [Controle, Monensina Sódica (MS), Extrato Etanólico de Própolis Verde (EEPV), Extrato Etanólico de Própolis Marrom (EEPM) e Tratamento Físico-químico (TFQ)].

#### 4.1.2. Composição de nutrientes em vinho e cachaça

##### 4.1.2.1 Vinho

Os resultados médios, obtido para nutrientes P, K, Mn, Fe, Mg, Ca, Zn e Cu esta apresentados na Figura 04.



**Figura 04** - Teores médios de nutrientes dos cinco tratamentos [Controle, Monensina Sódica (MS), Extrato Etanólico de Própolis Verde (EEPV), Extrato Etanólico de Própolis Marrom (EEPM) e Tratamento Físico-Químico (TFQ)].

Dentre os cinco tratamentos, pode-se observar que ocorreram variações para alguns nutrientes conforme a Figura 04. No caso do fósforo (P), houve uma elevação dos teores em relação às médias obtidas dos outros nutrientes analisados. Lanhi e Rizzon (2002) estudaram a influência de alguns minerais na qualidade e práticas de produção de vinhos, ao analisarem o fósforo encontraram na forma mineral e orgânica em concentrações de 40-120mg.L<sup>-1</sup>.

Em relação aos outros nutrientes analisados, apresentam-se na ordem do maior para o menor dos teores médios de nutrientes no vinho, como: Fe, Cu, Ca, Mg, Zn e Mn. Os teores de ferro apresentaram valores médios próximos dentre os cinco tratamentos. Os valores para a concentração média de ferro foram de 0,15mg.L<sup>-1</sup> e 0,17mg.L<sup>-1</sup>. Já os teores médios de cobre, dentre os tratamentos: Controle, Monensina sódica, EEPV e EEPM, seus valores médios variou de 0,09 a 0,12mg.L<sup>-1</sup>, demonstrando que os tratamentos não ocorreram grande variação de concentração de cobre e estando próximos. No Tratamento Físico-Químico, tendo como valor médio

de 0,18mg.L<sup>-1</sup> de cobre. Entretanto, nos nutrientes: Ca, Mg, Zn e Mn, apresentaram valores médios menores (baixos).

Estudos realizados por Neves (2004) analisaram as concentrações de Fe, Cu, Ca, Mg, Zn e Mn em mg.kg de 5 vinhos (produtores) da região sul das safras de 1999-2001. Os valores extremos para a concentração de ferro foram de 1,45mg.kg e 2,67mg.kg.

Os vinhos da safra de 1999 apresentaram concentração média de ferro menor que as safras subsequentes (NEVES, 2004).

O teor de cobre nas amostras de vinho variou de um valor mínimo de 0,044mg.kg (produtor 2) a um valor máximo de 0,183mg.kg (produtor 3). O cobre é um metal classificado como intermediário, sendo um nutriente essencial, porém apresentando efeitos toxicológicos quando em excesso (NEVES, 2004).

A concentração do cálcio varia na faixa de 43,27mg.kg a 80,87mg.kg, representando cerca de 43,3% do total de minerais analisados. O teor de cálcio é importante durante a fermentação, sendo utilizado pela levedura em seu metabolismo. Um controle de sua concentração é também importante para evitar a formação de precipitados (NEVES, 2004).

Para magnésio os valores se encontram na faixa de 51,34mg.kg a 161,15mg.kg. O magnésio, assim como o cálcio, está em grande proporção em relação a concentração total dos minerais avaliados (48,76%) (NEVES, 2004).

Para o zinco houve grande variação entre safras e em relação aos produtores. Seus valores se encontram na faixa de 0,314mg.kg a 0,663mg.kg. Do ponto de vista tecnológico é interessante que se tenha baixos teores de zinco no produto, devido a sua característica de alterar as características sensoriais do vinho. Para manganês, os valores de 0,85 mg.kg e de 1,68 mg.kg representaram os valores extremos para as amostras analisadas. Estas variações podem ser explicadas pela diversidade de condições de produção tanto da uva (variações de clima, pluviosidade, características de solos e outros) como das práticas enológicas (tipos de levedura e bactérias empregadas em cada local e safra, qualidade de insumos e equipamentos, mão-de-obra, dentre outros) (NEVES, 2004)

#### 4.1.2.2 Cachaça

A variação da composição mineral da cachaça, pode estar relacionada ao material de construção do alambique utilizado na destilação.

Dentre os fatores que podem alterar este parâmetro destacam-se o conteúdo de SO<sub>2</sub> no mosto fermentado, o solo onde a cana é plantada, a água utilizada no processo, além de eventuais contaminações durante o engarrafamento e o envelhecimento/armazenamento (CARDOSO, 2013).

A legislação brasileira Instrução Normativa número 13/2005, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento estabelece os limites apenas para os íons metálicos cobre (5,0mg.L<sup>-1</sup>), chumbo (200µg.L<sup>-1</sup>) e arsênio (100µg.L<sup>-1</sup>). Apesar dos nutrientes zinco, ferro, sódio e potássio não fazerem parte dessa Instrução Normativa, existe certo interesse na quantificação dos mesmos, já que a composição mineral das bebidas pode permitir a caracterização de diferentes amostras com relação à origem geográfica. Em adição, pode-se ainda avaliar os reflexos do modo de produção (orgânica ou convencional), forma de destilação (cachaças destiladas em alambiques de cobre ou em colunas), além da diferenciação entre bebidas semelhantes, como o rum e cachaça, ou mesmo o rum cubano ou não-cubano (CARDOSO,2004; BRASIL, 2005; FERNANDES,2005; RECHE et al., 2006; RECHE et al., 2007; SAMPAIO; RECHE; FRANCO, 2008; PENTEADO; MASINI,2009; RECHE; FRANCO, 2009).

A Tabela 01, apresenta os resultados médios obtidos para as concentrações de teores médios de nutrientes nas amostras de cachaça (mg.L<sup>-1</sup>), coletadas nos períodos de 0, 15, 30, 60, 90 e 180 dias de armazenamento. Os íons quantificados foram: P, K, Mn, Fe, Mg, Ca e Zn.

**Tabela 01:** Teores médios dos nutrientes nas amostras de cachaça (P, K, Mn, Fe, Mg, Ca e Zn), coletadas nos períodos de 0, 15, 30, 60, 90 e 180 dias de armazenamento. Jaboticabal-SP. Safra 2013/2014.

Tratamentos*/Dias		Nutrientes (mg.L <sup>-1</sup> )					
Controle	P	K	Mn	Fe	Mg	Ca	Zn
0	0,37	0,04	ND	ND	ND	ND	0,58
15	6,14	0,08	0,02	0,01	ND	0,01	0,39
30	8,84	0,13	0,02	0,01	ND	0,01	0,32
60	13,00	0,15	0,02	0,01	ND	0,02	0,29
90	8,38	0,12	0,14	0,01	ND	0,02	0,34
180	8,26	0,11	0,14	0,01	ND	0,02	0,43
Monensina sódica	P	K	Mn	Fe	Mg	Ca	Zn
0	0,16	0,03	0,02	0,01	ND	ND	0,55
15	14,89	0,10	0,01	0,01	ND	0,01	0,44
30	10,80	0,11	0,02	0,01	ND	0,02	0,31
60	14,10	0,15	0,01	ND	ND	0,03	0,29
90	24,42	0,10	0,12	0,01	ND	0,03	0,77
180	12,46	0,10	0,13	0,02	ND	0,02	0,34
EEPV	P	K	Mn	Fe	Mg	Ca	Zn
0	0,08	0,02	ND	ND	ND	ND	0,46
15	8,63	0,11	0,04	0,01	0,05	0,03	1,00
30	7,66	0,13	0,03	ND	0,07	0,03	0,68
60	11,52	0,21	0,05	0,01	0,19	0,06	0,82
90	7,91	0,11	0,14	0,02	0,07	0,03	0,53
180	11,73	0,12	0,13	0,01	0,12	0,03	0,79
EEPM	P	K	Mn	Fe	Mg	Ca	Zn
0	0,20	0,03	0,02	0,01	ND	ND	0,43
15	8,32	0,10	0,04	0,01	ND	0,02	0,67
30	13,27	0,12	0,04	ND	0,01	0,02	0,48
60	8,76	0,14	0,04	0,01	0,02	0,04	0,50
90	8,88	0,09	0,14	0,01	0,01	0,02	0,64
180	13,39	0,14	0,15	0,01	0,03	0,04	0,58
TFQ	P	K	Mn	Fe	Mg	Ca	Zn
0	0,55	0,02	0,02	ND	ND	ND	0,78
15	12,98	0,10	0,04	0,01	ND	0,02	0,80
30	12,35	0,10	0,02	0,01	ND	0,02	0,60
60	7,93	0,16	0,02	0,01	ND	0,03	0,67
90	7,10	0,09	0,14	0,01	ND	0,02	0,43
180	13,06	0,11	0,13	0,01	ND	0,02	0,69

\*Tratamentos: Controle, Monensina Sódica (MS), Extrato Etanólico de Própolis Verde (EEPV), Extrato Etanólico de Própolis Marrom (EEPM) e Tratamento Físico-químico (TFQ); (N.D) Não detectado.

Os resultados dos teores médios obtidos para cobre na cachaça armazenada dos 180 dias estão discutidos no tópico 4.2 para análises físico-químicas das amostras de cachaça orgânica armazenada.

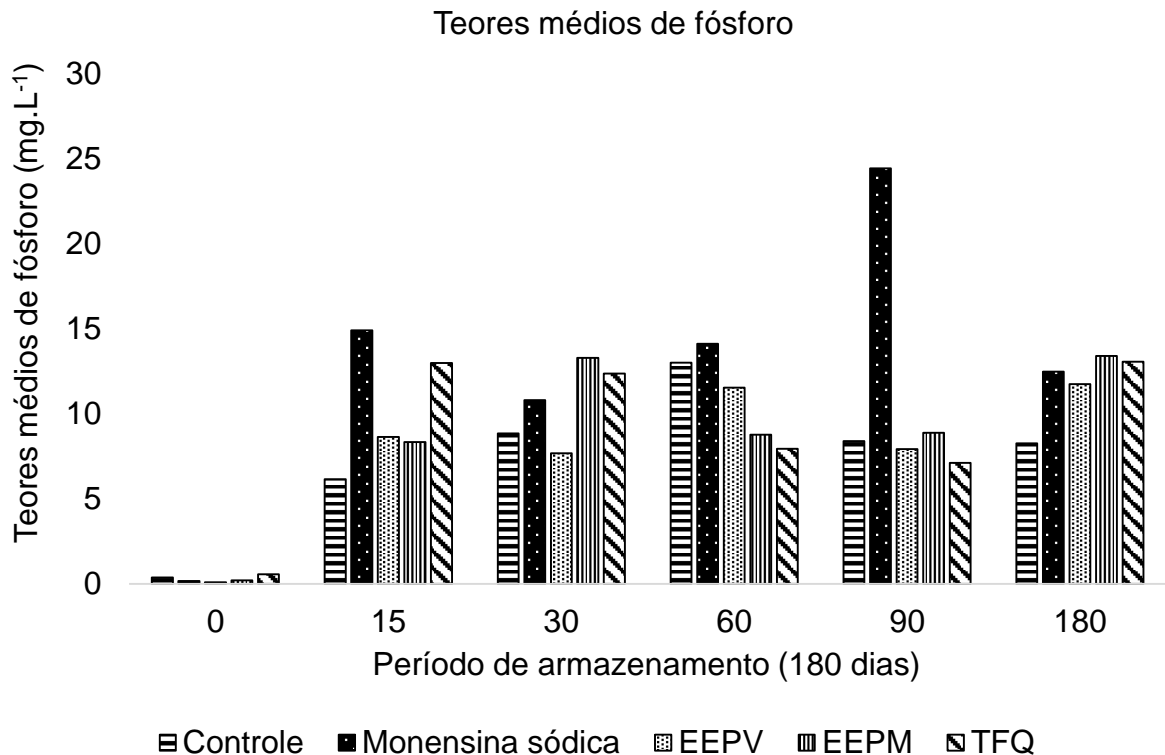
Os teores médios de zinco encontrados no presente estudo situaram-se entre 0,29 a 1,00 mg.L<sup>-1</sup>. Souza, Ferreira e Passoni (2010) analisaram os teores médios de zinco avaliados em 79 amostras de cachaças, classificadas em: tipo exportação, comercializadas no mercado interno e produzidas de forma artesanal. Revelaram os teores médios de 0,14mg.L<sup>-1</sup> para as do tipo exportação, 0,15mg.L<sup>-1</sup> para as comercializadas no mercado interno e 0,13mg.L<sup>-1</sup> para as fabricadas em alambique de cobre. Em outro estudo, realizado por Pinto et al. (2005), 52 amostras foram analisadas, encontrando valores médios para zinco que se situaram entre não-detectável e 3,64mg.L<sup>-1</sup> (NASCIMENTO, 1999).

Segundo Souza, Ferreira e Passoni, (2010), há interesse na quantificação do íon ferro na cachaça, já que quando presente em certas concentrações pode alterar as características sensoriais da bebida. Os teores médios de ferro obtidos no presente trabalho variaram de não detectado a 0,02mg.L<sup>-1</sup>. Os teores de ferro avaliados foram baixos em relação aos cinco tratamentos no período de 180 dias de armazenamento da cachaça. Estudos realizados por Nascimento et al. (1999), com 79 amostras de cachaças, mostram que os teores médios de ferro ficaram entre 0,11mg.L<sup>-1</sup> (cachaça de alambique) e 0,35mg.L<sup>-1</sup> (comercializadas no mercado interno).

Benítez et al. (2002) avaliaram o papel dos íons de cobre, ferro e manganês no escurecimento de vinhos andaluz branco e licoroso (xérez fino). Não foi observado escurecimento significativo em concentrações de 3 a 9mg.L<sup>-1</sup> de ferro e de 0,821 a 1,64mg.L<sup>-1</sup> de manganês, mas acima destes valores a tendência ao escurecimento foi significativa. Os teores de magnésio (Mg) detectados na cachaça, foram baixos ou não detectados, conforme os dados descritos na Tabela 01. Já o manganês (Mn) variou de 0,01 a 0,15mg.L<sup>-1</sup> apresentando índice porcentual muito baixo.

Quanto ao potássio, foi detectado em todas as amostras, sendo observado um teor máximo de 0,21mg.L<sup>-1</sup>. Dentre os nutrientes analisados, os teores médios de fósforo foram os que apresentaram a maior taxa porcentual em relação aos demais. O teor de fósforo variou de 0,08 a 24,42mg.L<sup>-1</sup>. Na Figura 05 demonstra graficamente

a evolução dos teores de fósforo durante os seis meses de armazenamento da cachaça.



**Figura 05** - Teores médios de fósforo dos cinco tratamentos [Controle, Monensina Sódica (MS), Extrato Etanólico de Própolis Verde (EEPV), Extrato Etanólico de Própolis Marrom (EEPM) e Tratamento Físico-químico (TFQ)].

No período de 90 dias de armazenamento da cachaça, o teor médio de fósforo se apresentou como o maior valor porcentual da ordem de  $25\text{mg.L}^{-1}$  para o tratamento Monensina Sódica. No início do armazenamento (tempo zero) os valores foram baixos da ordem de  $0-0,5\text{mg.L}^{-1}$ . A seguir observou-se que aos 15, 30, 60 e 180 dias apresentaram valores de  $6,14$  a  $13,39\text{mg.L}^{-1}$ , assim, tendo valores médios de fósforo aproximados nestes períodos de armazenamento.

No período de armazenamento ocorrem diversas reações químicas associadas ao processo de envelhecimento de bebidas destiladas, dentre elas as reações entre os compostos secundários provenientes da destilação (álcoois, hidrocarbonetos carbonilados superiores, etc.); da extração direta de componentes da madeira (extrativos); da decomposição de macromoléculas da madeira (celulose, hemicelulose

e lignina) e a subsequente incorporação desses compostos na bebida. De acordo com Piggot et al. (1989) e Dias (1997) há também reações entre esses compostos da madeira com os componentes originais do destilado.

Vale ressaltar que o ancorote de carvalho (*Quercus sp*) utilizado neste estudo, de capacidade de 5 L, resulta numa cachaça de coloração amarelo dourado bem característico. Em razão do tamanho e da capacidade, estes podem influenciar decisivamente os constituintes inorgânicos das madeiras que se apresentaram bem acentuados devido a pequena dimensão no ancorote.

Esta condição permite interpretar a relação das variáveis dos compostos inorgânicos presentes, como no caso do fósforo. Na Figura 06 ilustra a disposição dos cinco ancorotes de carvalho (*Quercus sp*) utilizados durante o estudo.



**Figura 06** – Ancorotes de carvalho (*Quercus sp*).

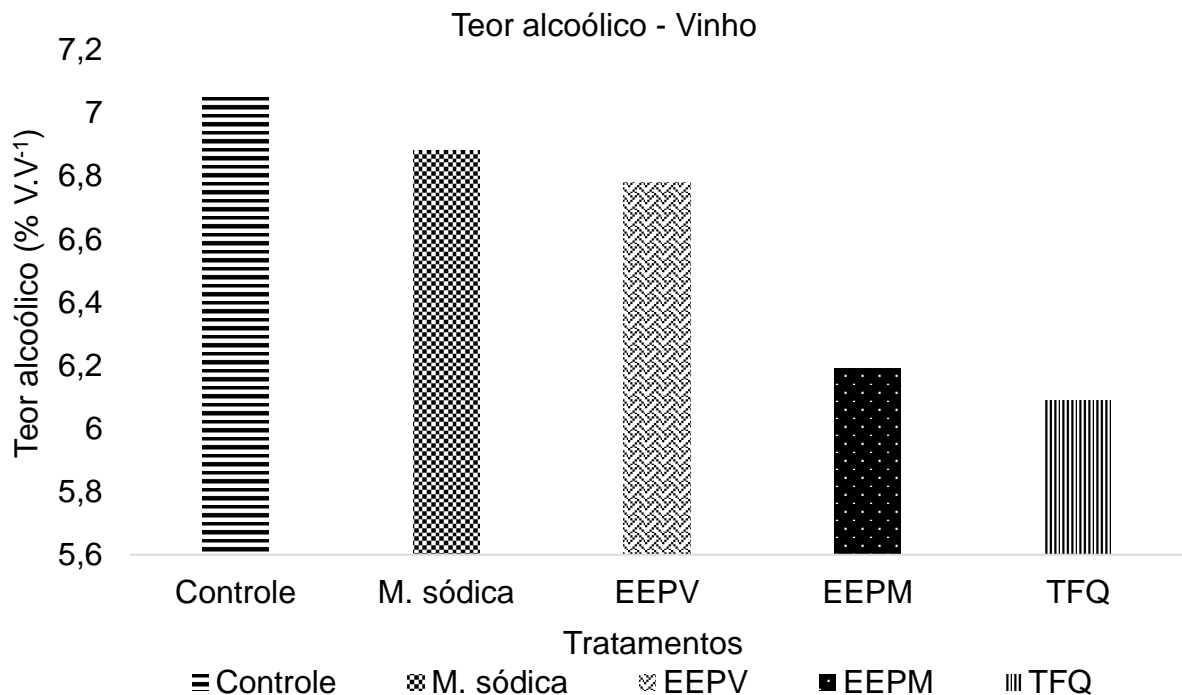
## 4.2. Determinação dos componentes do destilado presentes no vinho

### 4.2.1. Vinho

Analisando-se o teor alcoólico, dentre os cinco tratamentos, observou-se uma redução gradativa dos valores médios dos teores alcoólicos presentes no vinho (Figura 07). Estudo realizado por Bregagnoli (2006) resultou que os vinhos do tratamento com extrato de pomelo foram aqueles que produziram menor teor alcoólico em relação aos tratamentos, testemunha, extrato de própolis e solução de ampicilina.

Ravaneli (2005) e Garcia (2009) também observaram redução do teor alcoólico presentes no vinho.

Na Figura 08 apresenta graficamente os valores médios de aldeído e 2-metilpropan-1-ol. Pesquisa realizada por Ravaneli (2010) determinou por análises cromatográficas no destilado uma diferença significativa entre épocas somente para a produção de álcool isobutílico no tratamento testemunha e durante o 3º a 7º ciclo para álcool isoamílico.

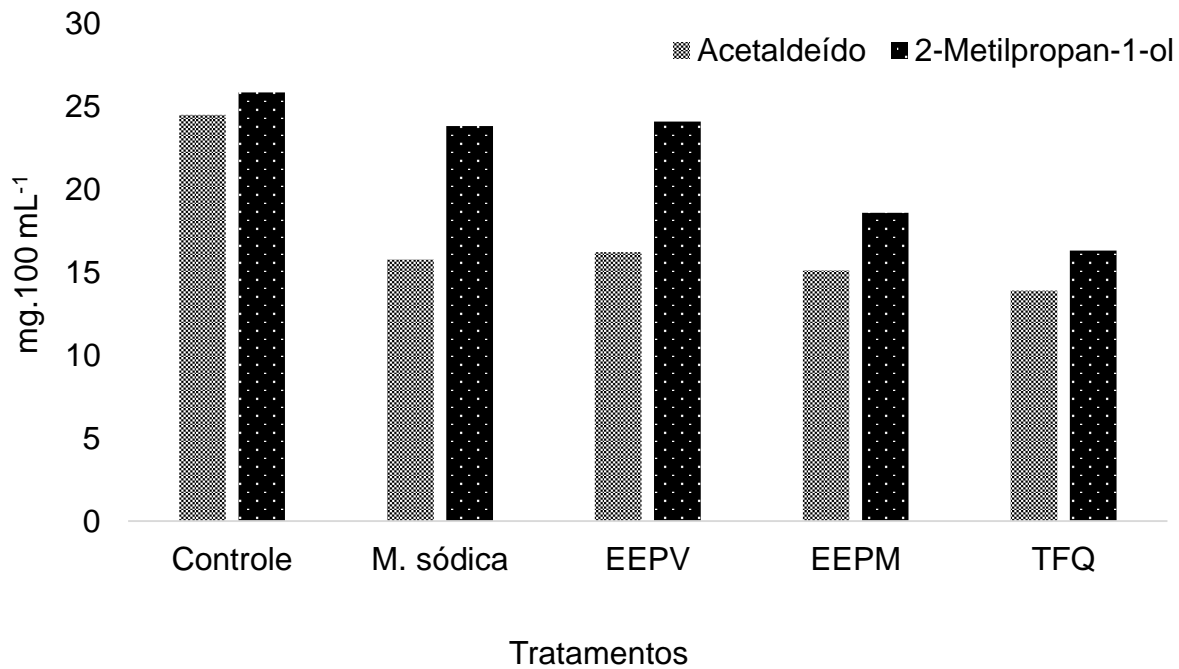


**Figura 07** - Resultados médios obtidos para teor alcoólico presentes no vinho dos cinco tratamentos: Controle, Monensina Sódica (MS), Extrato Etanólico de Própolis Verde (EEPV), Extrato Etanólico de Própolis Marrom (EEPM) e Tratamento Físico-Químico (TFQ).

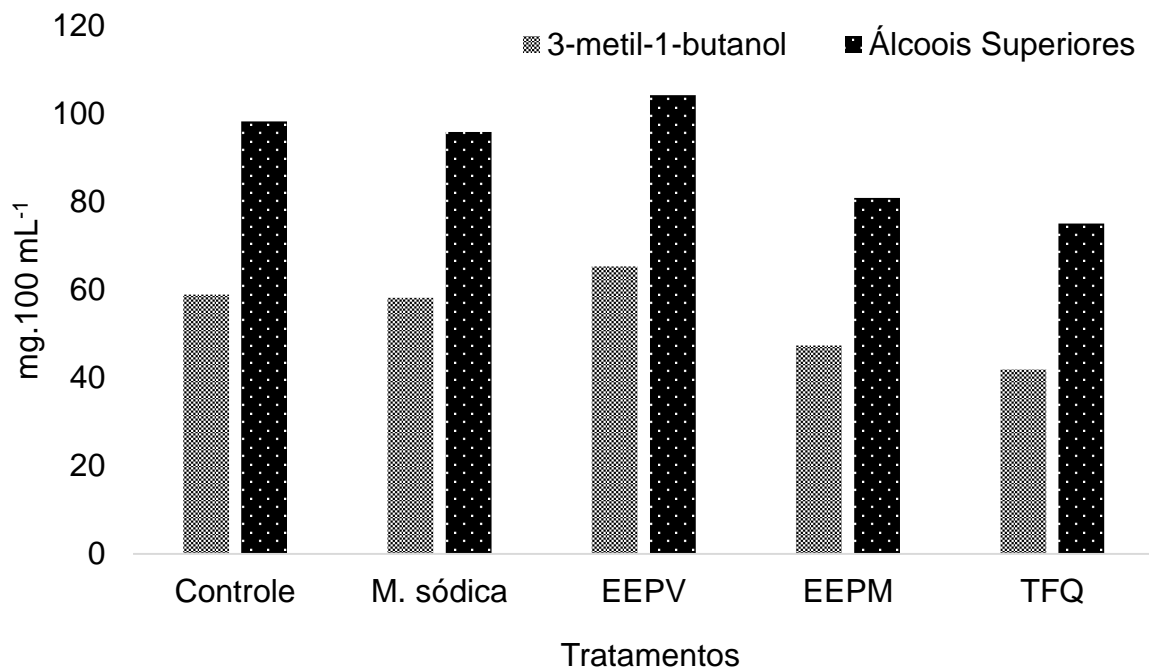
A Figura 09 apresenta os resultados obtidos para álcoois superiores. O tratamento (EEPM) apresentou-se menor valor médio de álcoois superiores. Em relação (TFQ), cujo o não aumento da concentração de álcoois superiores pode ser justificado pelo processo de clarificação do caldo, uma vez que esse processo pode

ter removido aminoácidos, que são os precursores da formação desses compostos, como relatado por Ravaneli (2010).

Pode-se destacar que as concentrações de isoamílicos tiveram os menores valores médios em relação aos álcoois superiores, ocorrendo uma diminuição gradativa dentre os cinco tratamentos como pode ser observado na Figura 09.



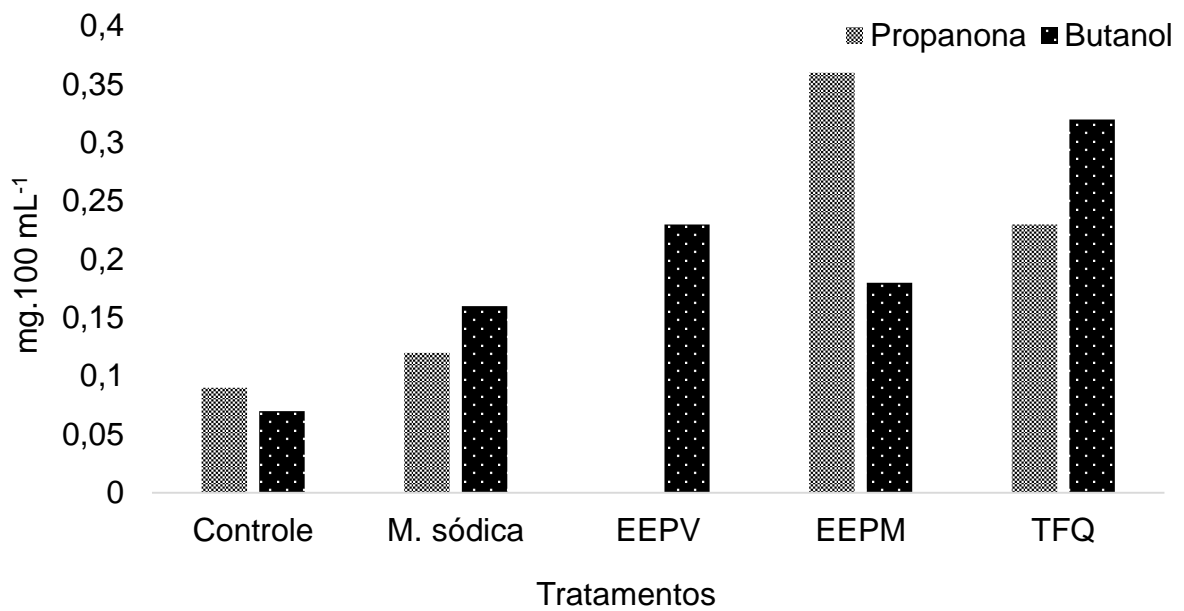
**Figura 08** – Valores médios de aldeído e 2-Metilpropan-1-ol (álcool isobutílico) dos componentes do destilado presentes no vinho.



**Figura 09** – Valores médios de 3-metil-1-butanol (álcool isoamílico) e Álcoois Superiores dos componentes do destilado presentes no vinho.

Garcia (2009) observou que com o aumento dos ciclos fermentativos houve redução na formação dos álcoois propílico, isobutílico e isoamílico, além de um maior tempo de fermentação.

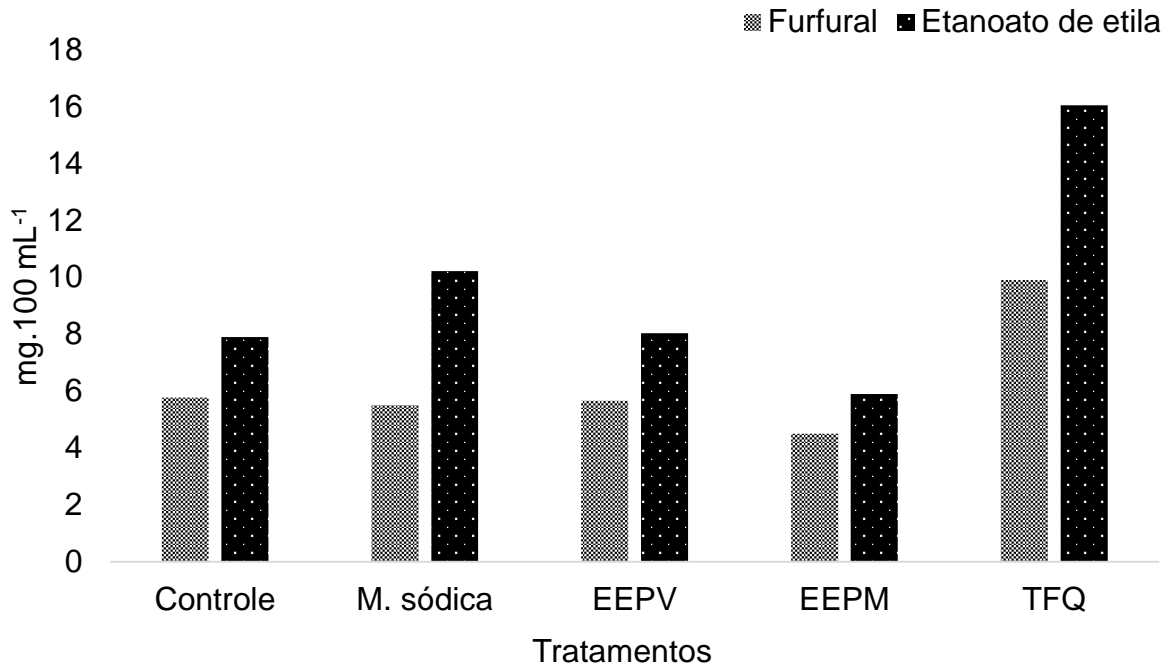
Na Figura 10 observa-se que o EEPV apresentou o maior valor médio para propanona e o TFQ que se constitui como maior valor médio para butanol.



**Figura 10** – Valores médios de propanona e butanol dos componentes do destilado presentes no vinho.

Os valores médios de propanona variaram entre 0,09 a 0,36mg.100mL<sup>-1</sup>. Valores próximos foram obtidos por Bregagnoli (2006) para propanona, com valores entre 0,2 a 0,32mg.100mL<sup>-1</sup>. Em vinhos de uva as concentrações de propanona estão na faixa de 3 a 32mg.L<sup>-1</sup> de álcool anidro (HASHIZUME, 2001). De acordo com a Figura 18, vale ressaltar que o EEPV não teve presença de propanona. Com relação ao butanol, obteve-se valor máximo de 0,32mg.100mL<sup>-1</sup>. Em estudo realizado por Neto et al. (2006), analisou-se os componentes voláteis, metanol e álcoois superiores do vinho de caju (concentração expressa em mg.L<sup>-1</sup> de álcool anidro), sendo um dos componentes analisados o butanol obteve valor de 7,0mg.L<sup>-1</sup> de álcool anidro. No TFQ apresentou-se destaque dos demais tratamentos como maior valor médio de acetato de etila, como demonstra na representação gráfica na Figura 11. O valores médios de acetato de etila variaram entre 5,9 a 16,03mg.100mL<sup>-1</sup> presentes no vinho. De acordo com Neto et al. (2006), os valores de acetato de etila apresentaram concentração de 46mg.L<sup>-1</sup> de álcool anidro. Os ésteres, como o acetato de etila, são formados a partir de uma reação entre os álcoois e ácidos, têm aroma peculiar de frutas e compõe o

“buquet” de vinhos e destilados (CARDOSO, 2001). Concentrações entre 50 a 80mg.L<sup>-1</sup> contribuem para o aroma do produto (GARRUTI, 2001).



**Figura 11** – Valores médios de Furfural e Etanoato de etila dos componentes do destilado presentes no vinho.

Nos tratamentos Controle, EEPV e EEPM obtiveram valores médios próximos para o etanoato de etila. Já o tratamento com a MS destacou-se dos três tratamentos citados anteriormente, tendo como valor médio de 10,21mg.100mL<sup>-1</sup> de etanoato de etila presentes no vinho (Figura 11).

A presença de furfural nos componentes do destilado presentes no vinho, dos demais cinco tratamentos tendo com valores médios oscilando entre 4,5 a 9,9mg.100mL<sup>-1</sup> de furfural. O furfural, um aldeído de presença rara em algumas cachaças, é resultante da decomposição química de carboidratos. É formado, principalmente, pela pirolisação da matéria orgânica depositada no fundo dos alambiques. A sua formação é evitada pela destilação do vinho limpo, livre de substâncias orgânicas em suspensão (NOVAES et al., 1974; POTTER, 1980; PIGGOTT et al., 1989; YOKOYA, 1995).

Em confronto com a Instrução Normativa nº 13, de junho de 2005, o valor máximo para furfural é  $5\text{mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$  álcool anidro, sendo assim, o TFQ obteve valor de  $9,9\text{mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$ , presentes no vinho (destilado), estando em desacordo com a legislação vigente. Nos demais tratamentos como: Controle, MS, EEPV e EEPM resultaram em valores médios de furfural próximos à legislação vigente.

O teor médio de metanol presente no destilado (vinho) variou entre 1,5 a  $2,2\text{mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$ . O metanol é indesejável e, caso ocorra, não deve ultrapassar o limite de  $35\text{mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$  da bebida ou  $500\text{mg}$  de metanol. $100\text{ mL}^{-1}$  de álcool anidro (SALTON; DAUDT; RIZZON, 2000).

A acroleína, foi o único composto presente em menor taxa de concentração e dentre os cinco tratamentos analisados com presença apenas no TFQ. A acroleína apresentou concentração média de  $0,32\text{mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$  presentes no destilado do vinho. Acroleína, composto produzido na cachaça, é uma substância que apresenta gosto desagradável, presente nos vinhos alterados, responsável pela presença de gostos amargos em destilados. Sendo formada por bactérias ou pela desidratação do glicerol na presença de ácidos, quando em contato com as superfícies metálicas do alambique, é altamente tóxica e irritante ao nariz e aos olhos (NYKANEN; NYKANEN, 1991).

O destilado (vinho) apresentou concentrações médias de n-propanol, 14,9 a  $16,9\text{mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$ . Alcarde, Monteiro e Belluco (2012) analisaram o destilado da levedura CA-11, que apresentou a maior concentração de n-propanol ( $14,03\text{mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$  de álcool anidro).

#### 4.3. Análises físico-químicas das amostras de cachaça orgânica armazenada

Os resultados obtidos para o Grau Alcoólico, pH, Acidez Volátil e Condutividade estão apresentados nas figuras 12A, 12B, 12C e 12D.

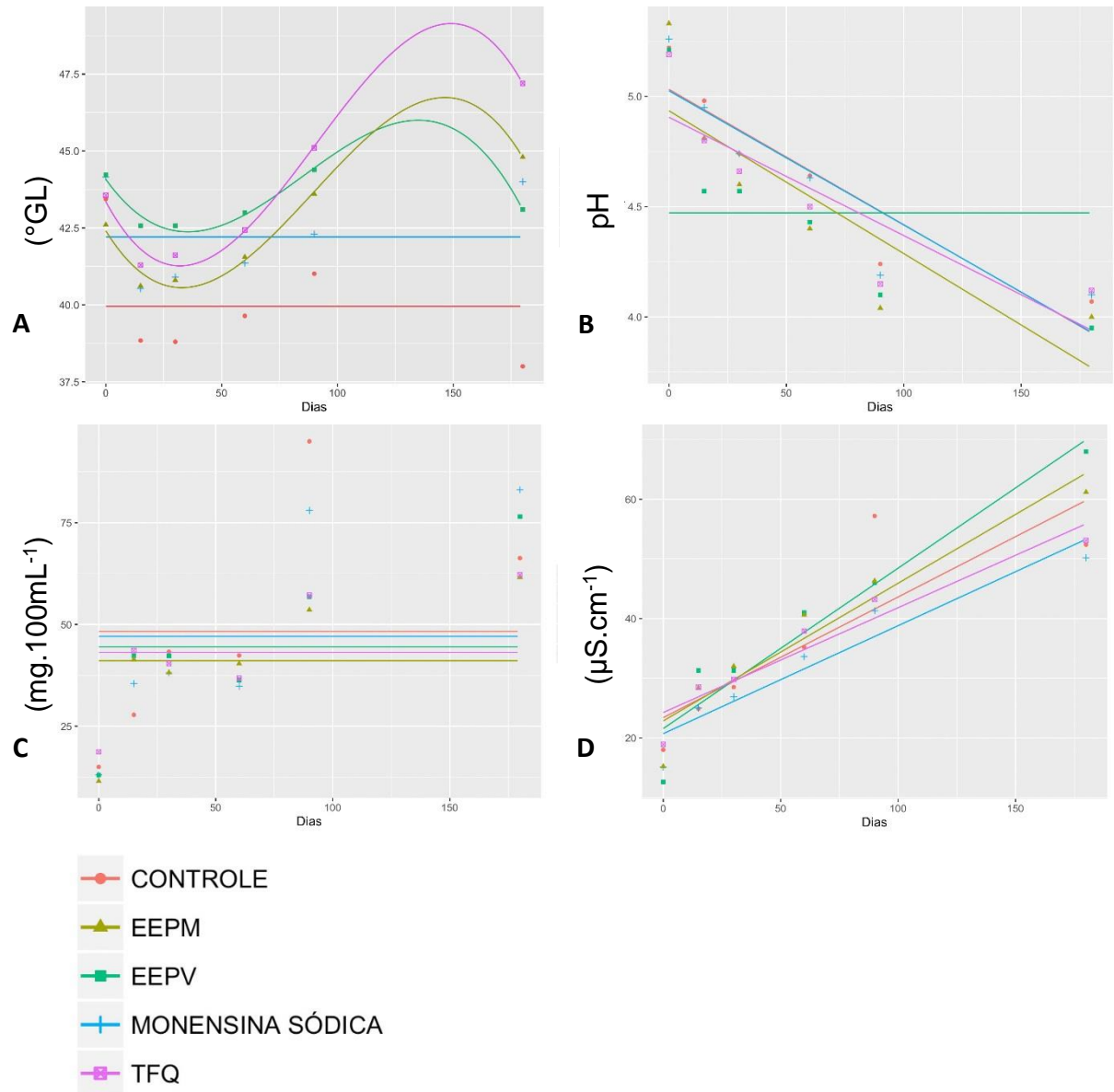
Avaliando-se o grau alcoólico (Figura 12A), constatou-se uma ligeira redução ao longo do período de 0 a 60 dias e houve um aumento progressivo no período de 90 a 180 dias de armazenamento no ancorote de carvalho (*Quercus* sp.). De acordo com Miranda et al. (2006) e Parazzi et al. (2008), vários componentes das aguardentes têm suas concentrações modificadas durante o envelhecimento, devido à evaporação

parcial do etanol e da água, sendo comuns perdas de álcool em torno de 3 a 4% ao ano. Alcarde (2014) destaca as reações entre os componentes originais do destilado (compostos secundários, etanol e água) e os compostos da madeira; além da perda dos componentes voláteis em função da evaporação através dos poros da madeira do barril. Aos 180 dias pode-se destacar o tratamento controle, este foi o que apresentou o menor grau alcoólico comparado com os tempos de avaliação e com os tratamentos. Em contrapartida, o tratamento físico-químico, aos 180 dias, apresentou o maior grau alcoólico em comparação com as épocas de estudo e com o tratamento.

Comparando-se o pH das amostras (Figura 12B), observou-se redução progressiva ao longo do tempo para todos os tratamentos. Durante o armazenamento de bebidas é esperada uma diminuição do pH, uma vez que ocorre extração dos componentes dos ácidos da madeira, assim como reações de oxidações de álcoois e aldeídos que podem produzir ácidos (PARAZZI et al., 2008). Os resultados observados neste estudo indicam que os antimicrobianos utilizados durante o processo fermentativo não afetaram o pH da cachaça armazenada.

Os valores obtidos para Acidez Volátil das cachaças produzidas (Figura 12C) indicam acréscimo deste parâmetro de acordo com o tempo de armazenamento, sendo este efeito mais pronunciado entre 90-180 dias. Deve-se destacar ainda que os tratamentos Controle e a Monensina Sódica apresentaram os maiores teores de ácidos em relação aos demais.

Segundo Borragini (2009) e Parazzi et al. (2008), o aumento da acidez observado durante o período de maturação das cachaças pode estar diretamente relacionado com a redução do pH nas amostras mais envelhecidas. Cardoso (2013) relata que a reação de oxidação do etanol, contribui para a formação de aldeído levando à formação de ácido acético. Entretanto, os valores obtidos não ultrapassaram o limite máximo permitido pela legislação brasileira que são de  $150\text{mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$  de álcool anidro.



**Figura 12** – Resultados médios obtidos para composição físico-química da cachaça para os parâmetros: A. Grau alcoólico, B. pH, C. Acidez volátil e D. Condutividade.

Analisando-se os resultados obtidos para condutividade das cachaças (Figura 12D), observou-se aumento progressivo durante o período de armazenamento para todos os tratamentos estudados. Este fato pode estar associado à remoção de compostos inorgânicos presentes na madeira durante o armazenamento, que promoveram este aumento de cinzas. Estudos de Mori et al. (2003), analisando madeiras de barris de eucaliptos, de madeiras nativas e de carvalho, constataram que a constituição química das diferentes madeiras é semelhante entre si. A constituição

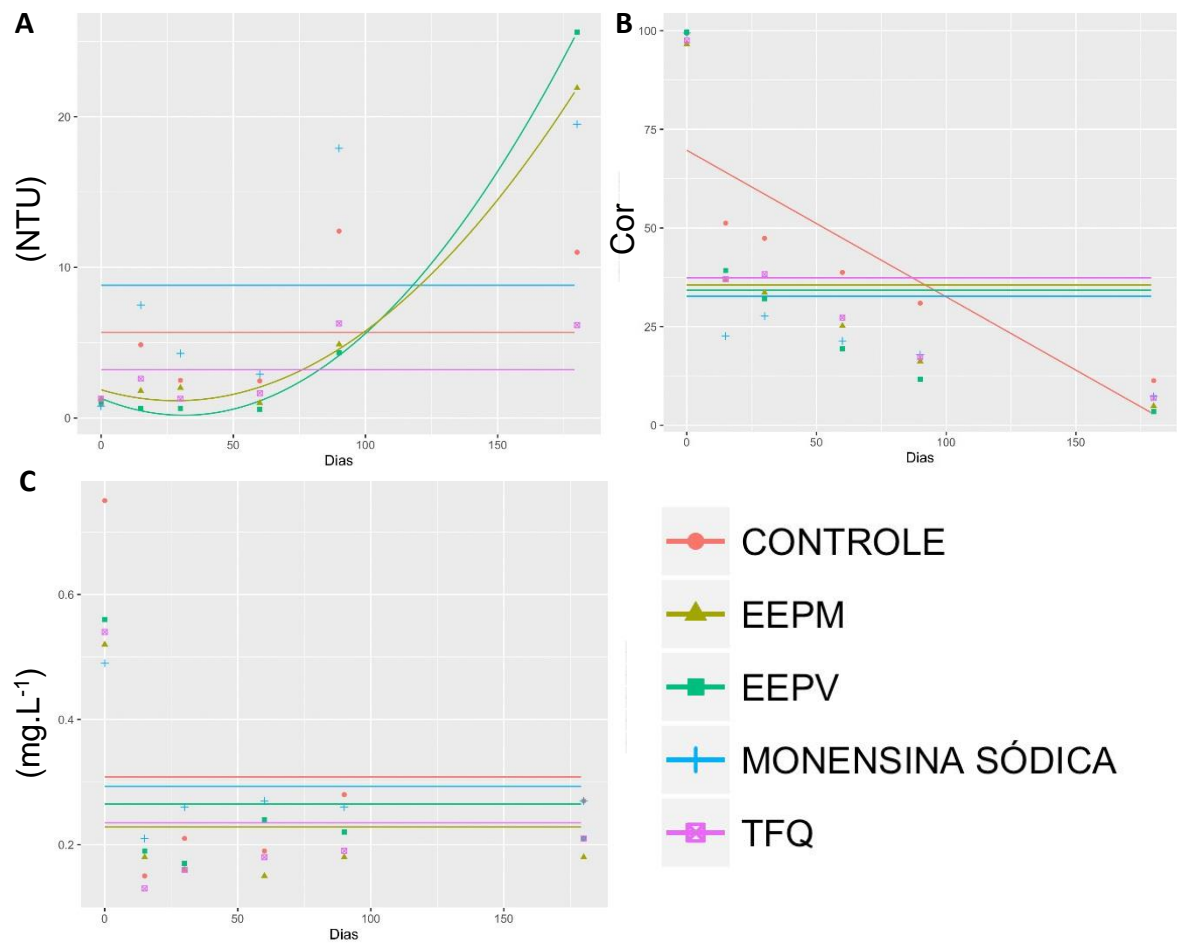
química das madeiras de angiospermas dicotiledôneas apresenta em torno de 40-55% de celulose, 24-40% de hemiceluloses, 18-25% de lignina, 1-10% de extrativos e menos de 1% de constituintes inorgânicos, ou seja, cinzas (LEWIN; GOLDSTEIN, 1991). De acordo com estes estudos a quantidade de constituintes inorgânicos (cinzas) apresentados pelas madeiras estudadas foram maiores ou igual a 1%, foram o angico vermelho (1,26%), o jequitibá-rosa (1%) e o *Eucalyptus paniculata* (1%), enquanto o carvalho (0,52%) apresentou baixo teor de cinzas.

Nas Figuras 13A, 13B e 13C estão apresentados os resultados obtidos para Turbidez, Cor e Teor de Cobre das cachaças armazenadas por até 180 dias.

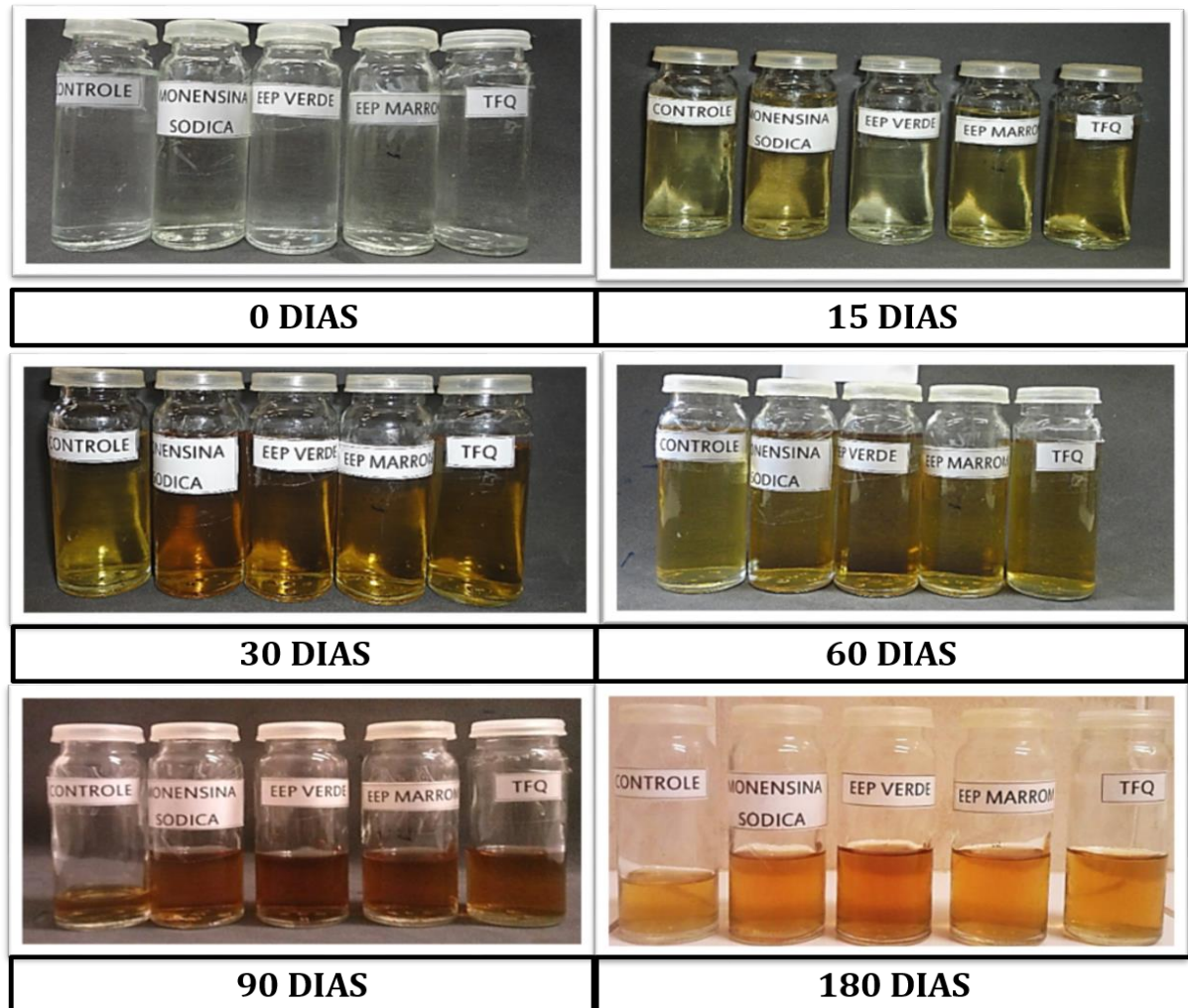
Avaliando-se a Turbidez das cachaças (Figura 13A), observou-se que para os períodos de 90 e 180 dias de armazenamento houve aumento significativo deste parâmetro para todos os tratamentos. Deve-se ressaltar que a Turbidez quantifica os compostos presentes em uma solução responsável pela dispersão da luz, que durante o armazenamento em barril de madeira observa-se um aumento progressivo no teor de extrato seco, no qual os taninos e os compostos fenólicos provenientes da lignina chegam a representar até 40% (PIGGOTT 1989; PUECH, 1983). Neste sentido, pode-se inferir que conforme o envelhecimento há desprendimento de partículas de madeira do ancorote, resultando no aparecimento de material em suspensão. Desta maneira, faz-se necessário realizar filtração da cachaça antes do envase. Pode-se destacar ainda que houve elevação porcentual do teor de turbidez em quase todos os tratamentos, sendo que o EEPV apresentou os maiores valores aos 180 dias. Cabe destacar a importância do TFQ para obtenção de mosto de qualidade, que contribuíram para a produção de um destilado com menor turbidez ao logo de todo período, especialmente no final dos 180 dias provável eliminação dos precursores de reações.

Considerando-se a Cor das cachaças (Figura 13B e Figura 14), verificou-se acréscimo linear deste parâmetro, conforme decorrido o tempo de armazenamento, sendo observado desenvolvimento da coloração amarelada.

A evolução da intensidade de cor está relacionada à incorporação de componentes da madeira à bebida durante o período de armazenamento (ANJOS et al., 2011), como os taninos e seus produtos de oxidação (MIRANDA et al., 2008).



**Figura 13** – Resultados obtidos para composição físico-química da cachaça armazenada para os parâmetros: A. Turbidez, B. Cor e C. Teor de cobre, para os tratamentos estudados.



**Figura 14** – Evolução da cor para o destilado (aguardente) ao longo do período de armazenamento em ancorotes de carvalho (*Quercus* sp.).

Deve-se destacar que o tratamento Controle apresentou baixa intensidade de cor em todos os períodos de armazenamento. Através da análise polinomial é nítida essa diferença entre o Tratamento controle comparado com os antimicrobianos. Particularidades foram observadas nos tratamentos em que se utilizou extrato de própolis (verde e marrom). Estes apresentaram os maiores índices de cor, principalmente aos 180 dias. Provavelmente, esses extratos apresentam biomoléculas que aumentam a extração de taninos da madeira. Embora a coloração do destilado não seja um limitante da qualidade do produto, há maior aceitabilidade do consumidor para as cachaças de coloração amarelada. Faria et al. (2003) comparando cachaças armazenadas por 6 meses em tonéis de diferentes madeiras (carvalho, amarelo,

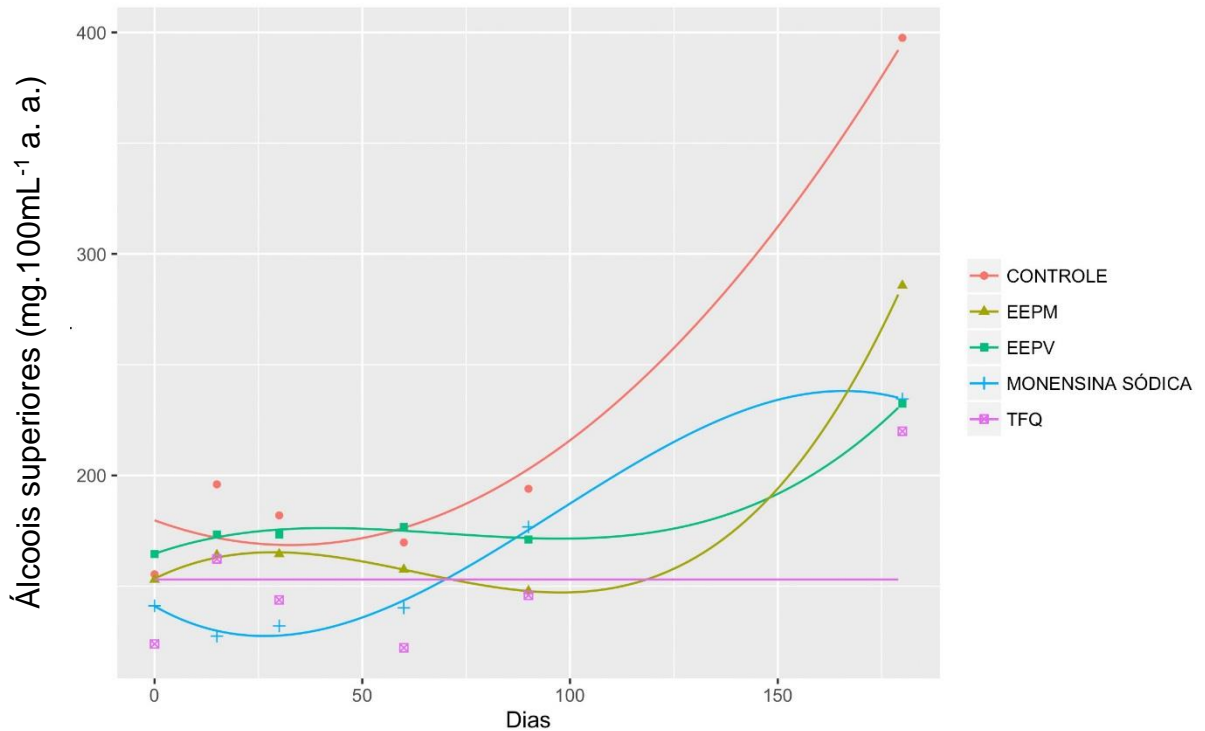
amendoim, bálsamo, jatobá, louro, pau-d'arco, pau-d'óleo e pereiro), determinaram este mesmo comportamento para a cor. Os resultados comprovaram que amendoim, pereiro e jatobá são madeiras muito boas para substituir o carvalho. Testes sensoriais sugeriram que o amendoim pode substituir o carvalho nos barris, sem provocar mudanças significativas na aceitabilidade do consumidor.

Da análise dos resultados obtidos para a concentração de cobre nas cachaças (Figura 13C), constatou-se que o processo de armazenamento da bebida proporcionou um decréscimo da concentração deste íon para todos os tratamentos avaliados. Deve-se destacar que a presença deste íon na bebida é resultante da destilação em alambiques de cobre com pouca higienização (CARDELLO; FARIA, 1997).

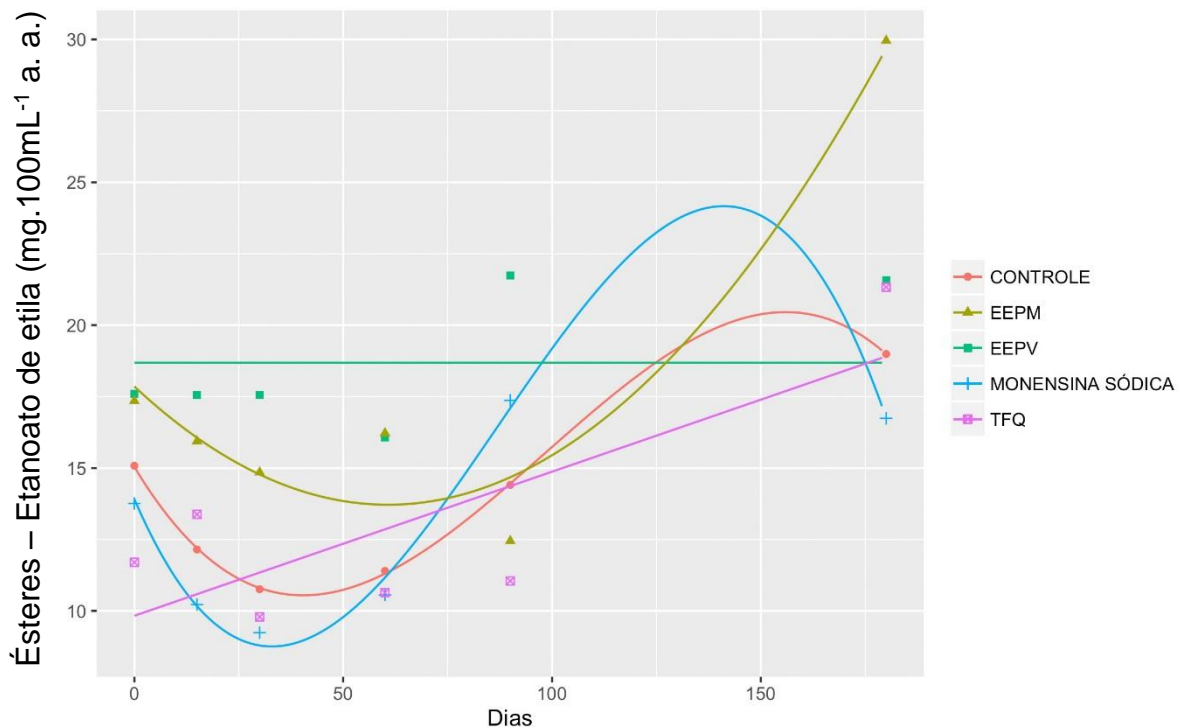
De acordo com Cardello et al. (2003) embora este processo seja conhecido, destaca-se que o período de armazenamento/envelhecimento da bebida é essencial para adequação da qualidade do produto, uma vez que a não redução do cobre pode ser tóxica ao ser humano, provocando alterações como lesões capilares, hepáticas e renais (GOSSEL; BRICKER, 1990). Vale destacar que, no estudo realizado, se observou uma menor concentração de cobre ao longo do período de 180 dias de armazenamento, sendo que o valor máximo é de 5mg.L recomendado pela legislação brasileira. Os valores obtidos estavam abaixo do limite máximo exigido pela legislação brasileira.

De acordo com a Figura 15, verificou-se que para os tratamentos Controle e EEPM a concentração de álcoois superiores aumentou de acordo com o período de armazenamento. Dias (1997) e Boza e Oetterer (1999) relacionaram o aumento destes compostos com a perda de água e álcool por evaporação, durante o armazenamento. Segundo Yokoya (1995), a proporção de álcoois superiores nas aguardentes é relativamente alta. Estes passam na destilação juntamente com os ésteres e são os principais responsáveis pelo aroma característico da aguardente. Durante o armazenamento, os ésteres são formados pela reação entre os álcoois e os ácidos. Assim o teor tende a aumentar, de modo lento e progressivo, durante todo o tempo de armazenamento (ALMEIDA et al. 1974; PARAZZI et al. 2008). Dentre os demais tratamentos no período de 180 dias o tratamento controle destacou-se obtendo-se a maior concentração de álcoois superiores. O valor obtido foi de

397,52mg.100mL<sup>-1</sup> álcool anidro, estando portanto em desacordo com a legislação brasileira, uma vez que o valor máximo de álcoois superiores permitido pela legislação brasileira é de 360mg.L<sup>-1</sup> álcool anidro. Tal fato pode estar relacionado ao fato que no período de 180 dias obteve-se o menor Grau Alcoólico, tendo como valor de 38<sup>o</sup>GL. Houve portanto uma redução volumétrica para o último período de coleta, assim, contribuindo para a perda do Grau Alcoólico. Este pode ter contribuído para a elevação da concentração dos álcoois superiores.



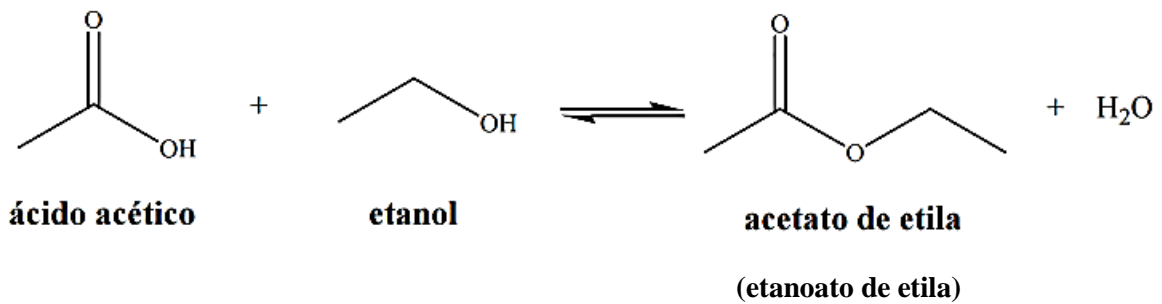
**Figura 15** – Variação da concentração dos álcoois superiores em função do período de armazenamento da cachaça orgânica armazenada.



**Figura 16** – Variação da concentração dos ésteres em função do período de armazenamento da cachaça orgânica armazenada.

Da análise da Figura 16, pode-se observar um aumento progressivo de ésteres ao longo do período de 180 dias de armazenamento. Resultados semelhantes foram relatados por Almeida et al. (1974) e Miranda et al. (2008). De acordo com Cardoso (2013) e Parazzi et al. (2008) o acetato de etila é o componente majoritário desse grupo de substâncias, sendo responsável pelo odor agradável das bebidas envelhecidas.

Segundo Silva (2006), o aumento na concentração de etanoato de etila ao longo do envelhecimento da aguardente pode ser atribuído ao aumento na acidez da bebida, havendo deslocamento da reação de esterificação (Figura 17), favorecendo a formação de éster.



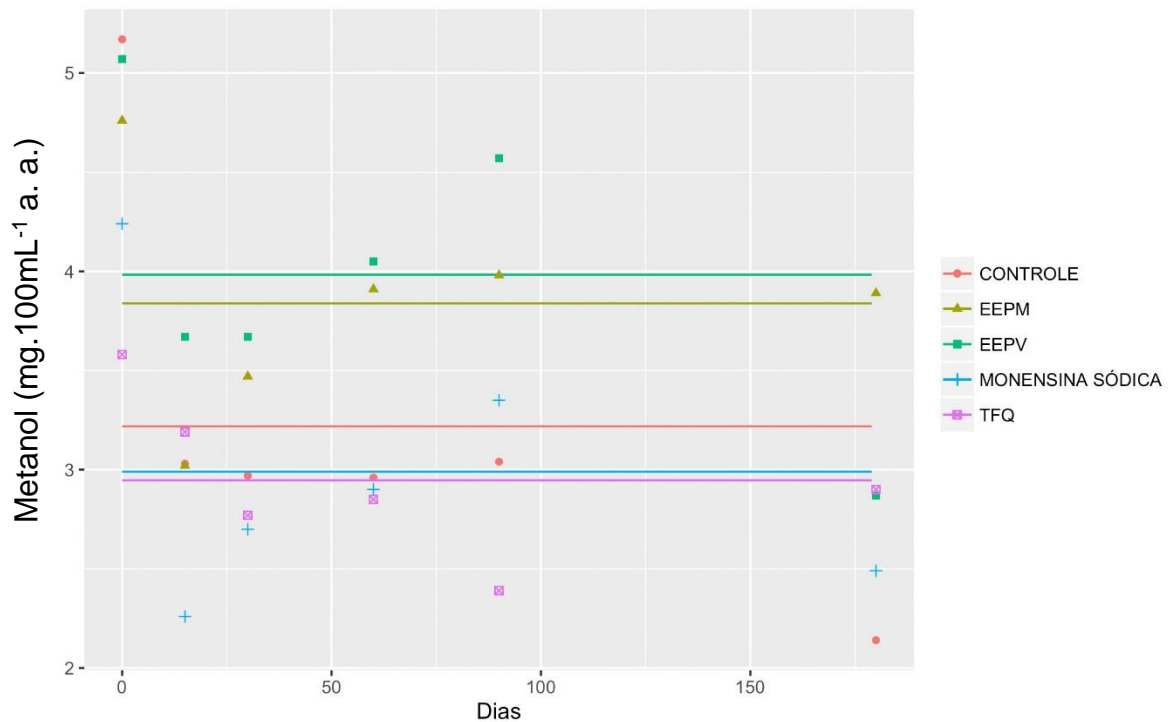
**Figura 17** – Reação de esterificação entre o ácido acético e o etanol durante o processo de maturação.

Fonte: Anjos, (2010).

Pode-se destacar dois períodos de armazenamento, assim sendo, de 90 e 180 dias. Considerando-se os teores de ésteres durante a estocagem da cachaça para o tratamento com EEPV, os teores evoluíram de zero dias até os 90 dias de armazenamento, após o que mantiveram-se constantes até 180 dias. Para o tratamento com EEPM este apresentou o maior valor de éster no período de 180 dias com 29,96mg.100mL<sup>-1</sup>, sendo o menor valor de 16,64mg.100mL<sup>-1</sup> para o tratamento Monensina Sódica (MS). Neste contexto verifica-se que todos os destilados estavam aptos para o consumo, conforme a legislação brasileira com valor máximo de 200mg.100mL<sup>-1</sup> de álcool anidro.

Os resultados médios obtidos para metanol estão apresentados na Figura 18. Da sua análise observa-se uma redução na concentração de metanol durante o período de armazenamento, destacando-se o tratamento EEPM no período de 180 dias com maiores teores. A presença de metanol na aguardente é indesejável, sendo considerado um contaminante na bebida, devido a sua toxicidade para a saúde. Apesar da concentração dessa substância ao longo do processo de envelhecimento, o metanol apresentou-se abaixo do limite máximo estabelecido pela legislação brasileira (20 mg.100 mL<sup>-1</sup> álcool anidro).

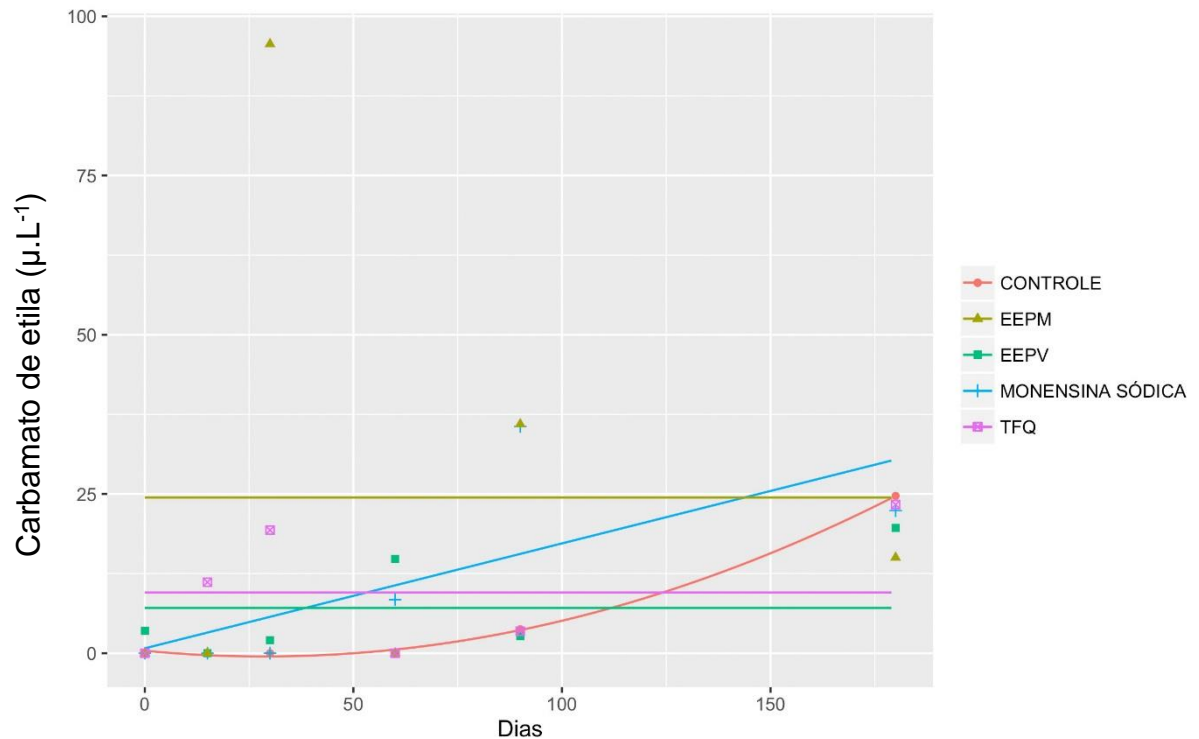
Estudos realizados por Parazzi et al. (2008) com aguardentes envelhecidas não apontaram uma variação significativa na concentração de metanol durante o processo de envelhecimento da bebida.



**Figura 18** – Variação da concentração de metanol em função do período de armazenamento da cachaça orgânica armazenada.

Pelos resultados obtidos para carbamato de etila (Figura 19), pode-se observar que todas as amostras dos períodos de avaliação apresentaram concentração abaixo do limite estabelecido pela legislação brasileira ( $210 \mu\text{g.L}^{-1}$ ). A maior concentração foi encontrada para o tratamento de Extrato Etanólico de Propólis Marrom e para o Tratamento Físico-Químico, avaliada no período de 90 dias de armazenamento.

Esse resultado é similar ao de Sobrinho et al. (2009), que encontraram valores de amostras destiladas em alambique apresentando em sua maioria concentrações de carbamato de etila de até  $150 \mu\text{g.L}^{-1}$ .

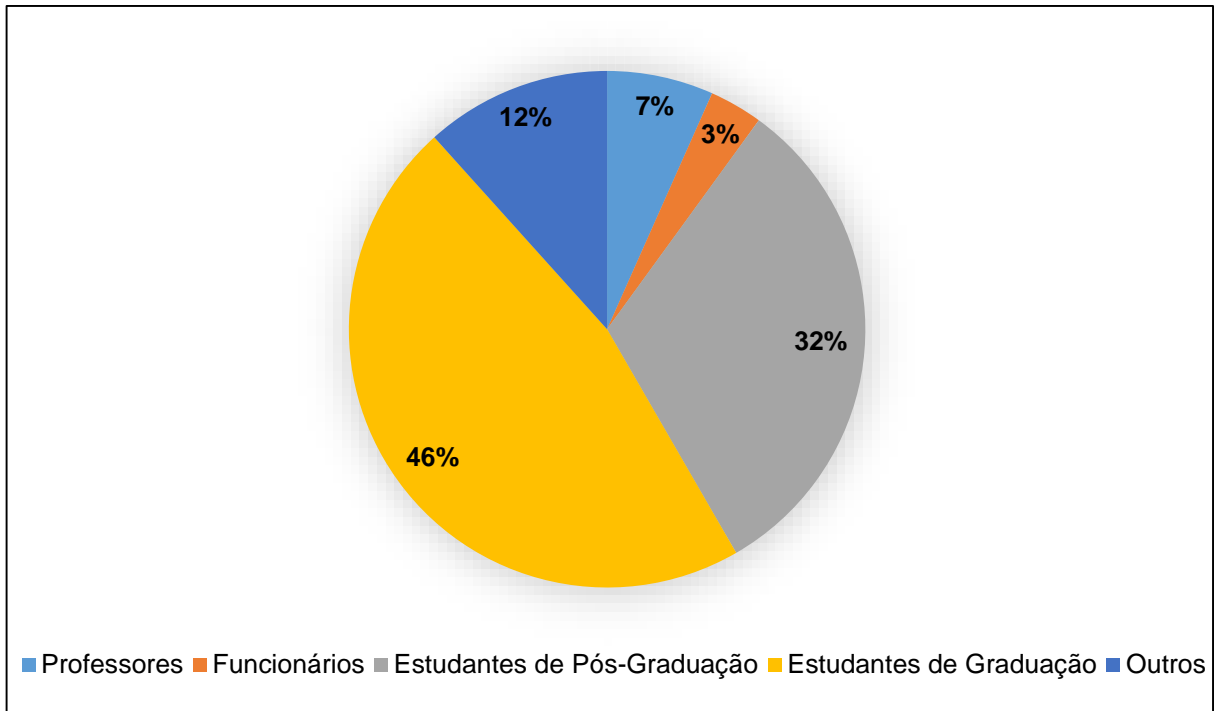


**Figura 19** - Variação da concentração de carbamato de etila em função do período de armazenamento da cachaça orgânica armazenada.

#### 4.4. Análise sensorial

##### 4.4.1. Teste de aceitação – escala hedônica

Foram recrutados para a análise sensorial das cachaças 60 provadores, a maioria entre 18 e 64 anos, sendo 50% do sexo masculino e 50% do sexo feminino. Os estudantes de Graduação e Pós-Graduação representaram a maioria dos provadores, 46% e 32% respectivamente (Figura 20).



**Figura 20** - Caracterização dos provadores em relação à categoria participante na análise sensorial da cachaça orgânica armazenada (%).

Os resultados obtidos para o teste de aceitação (escala hedônica) para os atributos avaliados (cor, aroma, sabor, impressão global e intenção de compra) na cachaça orgânica armazenada avaliada nos períodos 0, 90 e 180 dias de armazenamento estão representados nas Tabelas 02, 03, 04, 05 e 06, além das respectivas figuras.

Na Tabela 02, apresentam-se os valores médios obtidos para Cor da Cachaça e os Resultados da Análise de Variância.

Observou-se que houve uma variação na média dentre todos os tratamentos no decorrer dos períodos de avaliação, onde ocorreram diferença significativa entre as médias nos períodos 0 e 180 dias, com relação ao tratamento Controle. No período 0 e 90 dias para o atributo Cor, não diferiram entre si, para o tratamento Controle. No tratamento MS ocorreu diferença significativa para os períodos (tempo) de 0 e 180 dias, entretanto nos períodos 0 e 90 dias, não diferiram entre si, assim, obtendo médias aproximadas. De forma semelhante o tratamento EEPV e o tratamento MS, avaliados nos períodos em questão. Nos tratamentos EEPM e TFQ, demonstraram os

mesmos comportamentos dos resultados avaliados, onde no tempo 0 dias se diferiram entre os períodos 90 dias e 180 dias de armazenamento da cachaça orgânica.

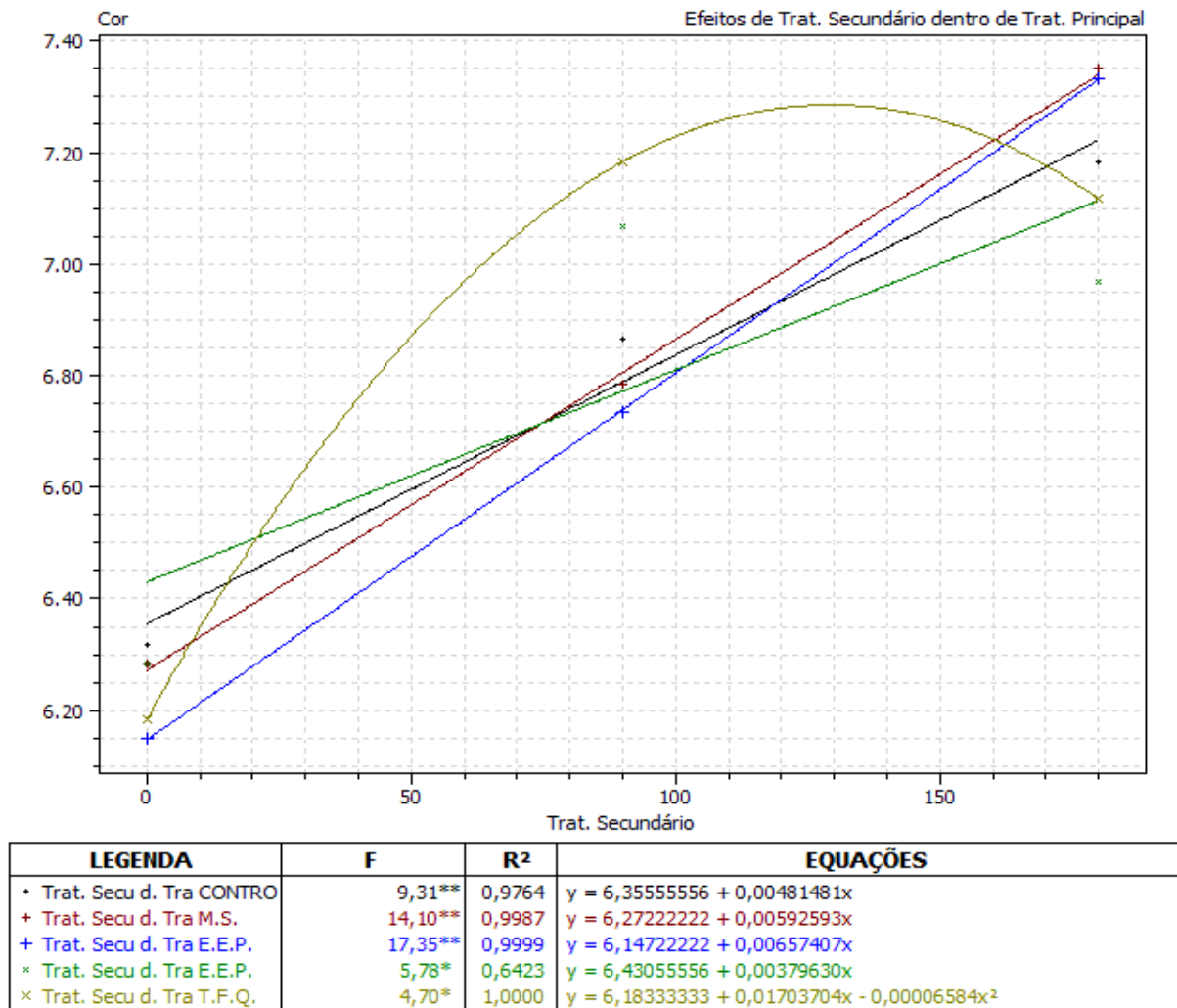
Em relação à média, obtida entre os três períodos avaliados, apenas no tempo 0 dias há diferença significativa. Para cor, nos tempos (0, 90 e 180 dias), não houve diferença significativa.

**Tabela 02** – Valores médios obtidos para Cor da Cachaça e Resultados da Análise de Variância.

TRATAMENTOS	TEMPO (dias)			Média	Teste F
	0	90	180		
CONTROLE	6,31B	6,87AB	7,18A	6,79A	4,76**
MS	6,28B	6,78AB	7,35A	6,81A	7,06**
EEPV	6,15B	6,73AB	7,33A	6,77A	8,69**
EETM	6,28B	7,07A	6,97A	6,74A	4,50**
TFQ	6,18B	7,18A	7,12A	6,83A	7,75**
Média	6,24B	6,93A	7,19A	-----	----
Teste F	0,14NS	0,96NS	0,66NS	-----	----
FTrat= 0,10ns			FTempo= 29,58**	FTratxTempo=0,79ns	
CVTrat= 21,17				CVTempo= 22,93	
DMS Tempo dentro de Tratamento= 0,67					

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ ); \* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $p < 0,05$ ) e NS não significativo ( $p > 0,05$ ).

Na Figura 21, representa-se a Regressão polinomial para as médias obtidas para o atributo Cor da Cachaça orgânica armazenada no tempo 0, 90 e 180 dias. Pode-se observar que a cor aumenta conforme o período do tempo, como demonstra na figura em questão. Como pode ser observado pela reta linear, tendendo a aumentar progressivamente, conforme os tratamentos EETM e MS (tratamentos secundários) avaliados, sendo significativo ao nível de  $p < 0,01$ . No TFQ, obteve-se o menor resultado, sendo significativo ao nível de  $p < 0,05$ . Estudo realizado por Alcarde et al. (2010) relatou que a concentração de compostos fenólicos e a intensidade de cor foram as análises que apresentaram os resultados mais discrepantes entre as aguardentes envelhecidas nas diferentes madeiras. Apesar de não ter sido observada uma correlação diretamente proporcional, observou-se influência dos compostos fenólicos no escurecimento das aguardentes.

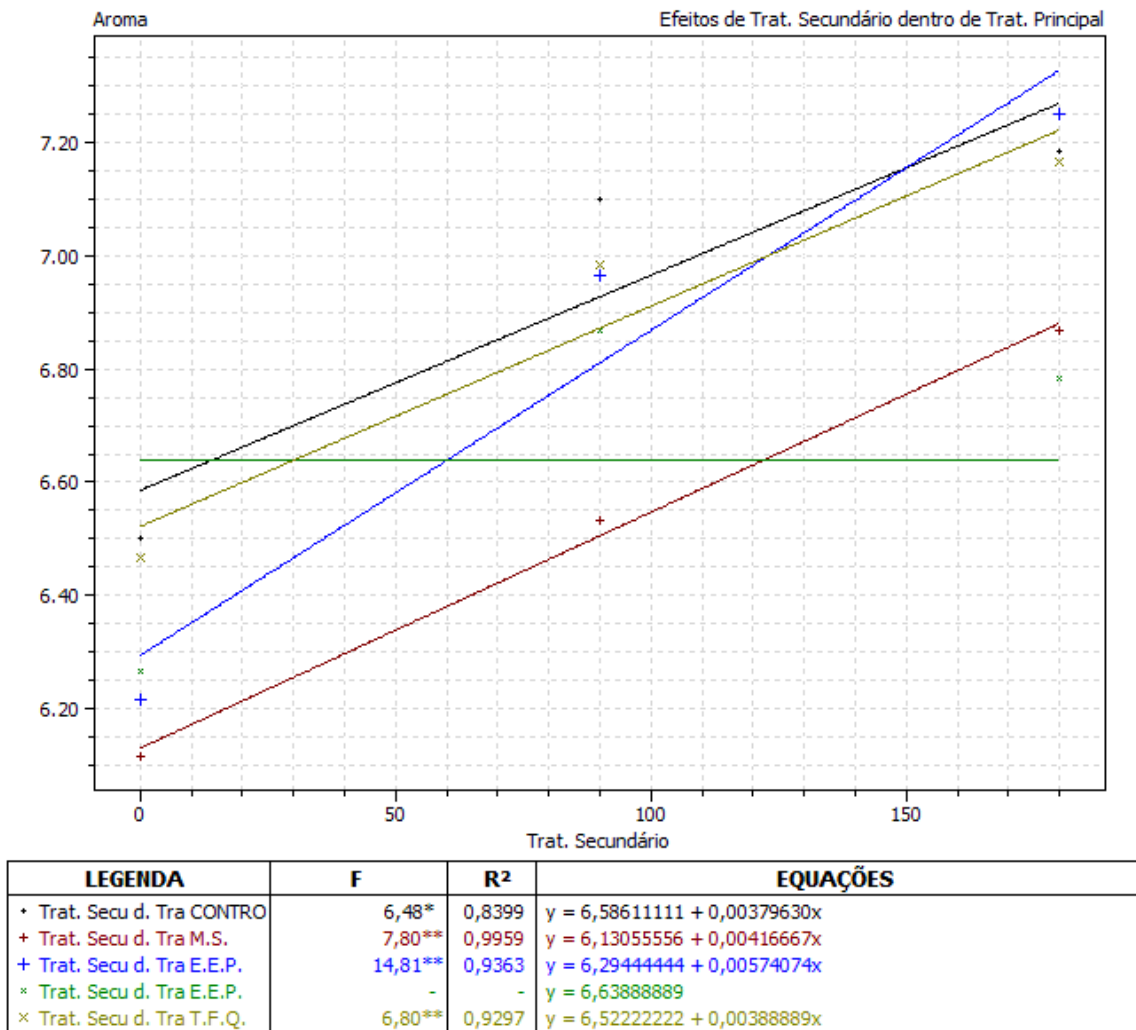


**Figura 21** – Regressão polinomial para as médias obtidas para Cor da Cachaça orgânica armazenada no tempo 0, 90 e 180 dias.

Na Tabela 03, apresentam-se os valores médios obtidos para o Aroma da Cachaça e os Resultados da Análise de Variância.

Dentre os tratamentos e o tempo (dias) de avaliação nos tratamentos: Controle, MS e TFQ, para os períodos 0 e 90 dias, não diferem entre si, apenas no tempo 180 dias. No tratamento EEPV, diferiu apenas no período 0 dias e nos respectivos períodos 90 e 180 dias, não ocorrendo diferença significativa entre si. No tratamento EEPM, dentre os três períodos avaliados, não ocorreu diferença significativa. Com relação às médias obtidas para o tempo (dias), para o atributo aroma, o período 0 dias diferiu dos demais períodos de dias avaliados.





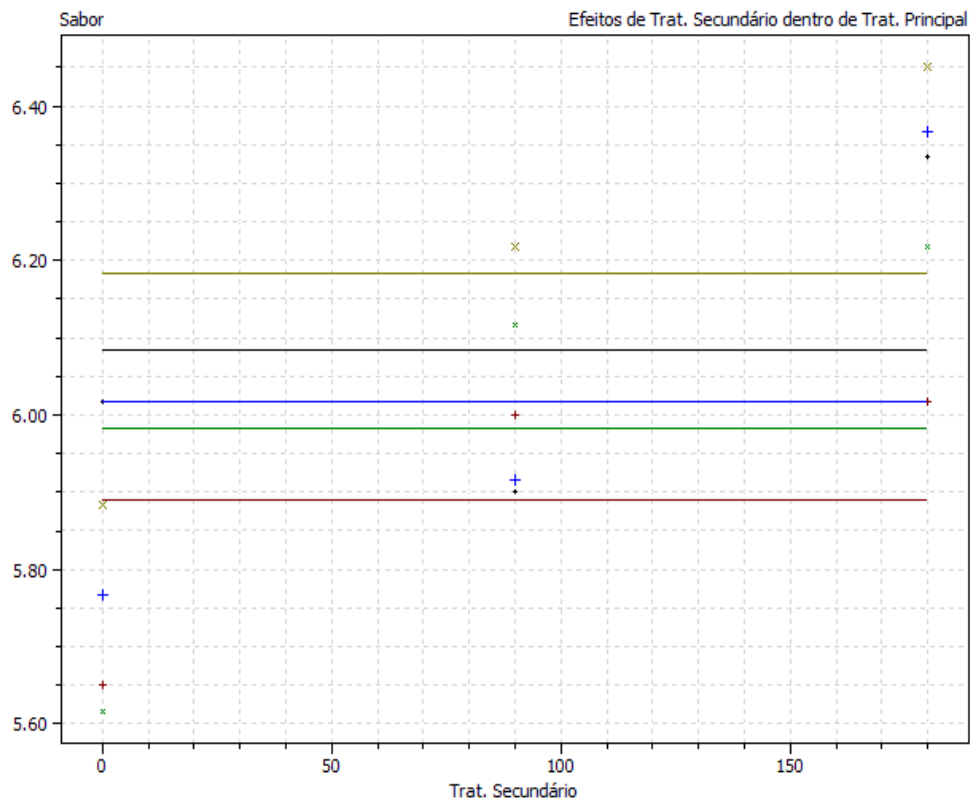
**Figura 22** – Regressão polinomial para as médias obtidas para o Aroma da Cachaça orgânica armazenada no tempo 0, 90 e 180 dias.

Na Tabela 04, apresentam-se os valores médios obtidos para o Sabor da Cachaça e os Resultados da Análise de Variância.

A partir dos resultados obtidos, pode-se observar que não ocorreu diferença significativa nem nos tratamentos e nem nos períodos avaliados para o atributo Sabor, isto é, não diferiram entre si, de acordo com a tabela em questão. As médias para os três períodos avaliados não ocorreram diferença significativa entre si e constituem valores médios aproximados e homogêneos.

Na Figura 23, demonstram-se linhas retas e perpendiculares, sem haver nenhuma diferença dentre os cinco tratamentos e os três períodos avaliados para o





**Figura 23** – Regressão polinomial para as médias obtidas para o Sabor da Cachaça orgânica armazenada no tempo 0, 90 e 180 dias.

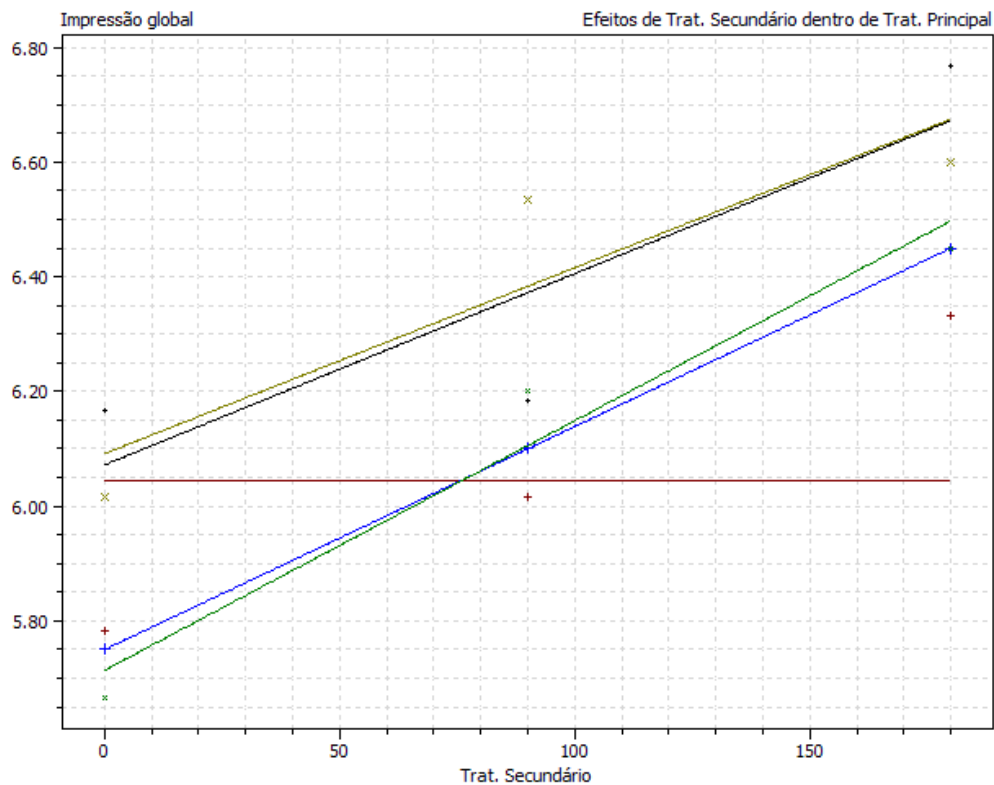
No período de 180 dias, os tratamentos referidos obtiveram o mesmo resultado médio para este tempo (dias). Dentre as médias obtidas para os três períodos avaliados, todos diferem entre si.

Na Figura 24, demonstra-se tendência de crescimento nas duas retas aproximadas e perpendiculares para o efeito dos tratamentos Controle e TFQ. Tal efeito de comportamento se repete para os tratamentos EEPV e EEPM, mais abaixo da tendência de crescimento da reta.

**Tabela 05** – Valores médios obtidos para Impressão Global da Cachaça e Resultados da Análise de Variância.

TRATAMENTOS	TEMPO (dias)			Média	Teste F
	0	90	180		
CONTROLE	6,17A	6,18A	6,77A	6,37A	2,89NS
MS	5,78A	6,02A	6,33A	6,04A	1,88NS
EEPV	5,75B	6,10AB	6,45A	6,10A	3,03*
EETM	5,67B	6,20AB	6,45A	6,11A	3,96*
TFQ	6,02A	6,53A	6,60A	6,38A	2,52NS
Média	5,88C	6,21B	6,52A	-----	----
Teste F	1,04NS	0,93NS	0,67NS	-----	----
FTrat=1,81NS		FTempo=12,80**		FTratxTempo= 0,37NS	
CVTrat=26,24				CVTempo=25,12	
DMS Tempo dentro de Tratamento=0,67.....					

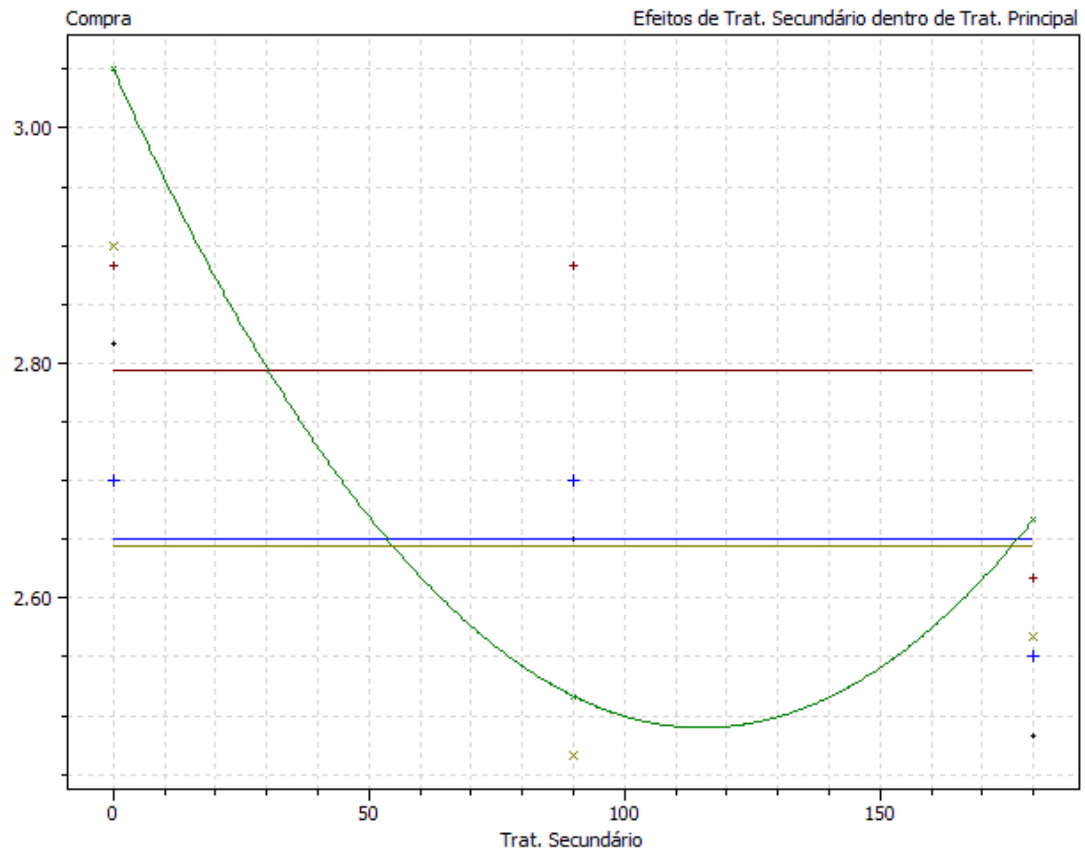
\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ ); \* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $p < 0,05$ ) e NS não significativo ( $p > 0,05$ ).



LEGENDA	F	R <sup>2</sup>	EQUAÇÕES
• Trat. Secu d. Tra CONTRO	4,45*	0,7708	$y = 6,07222222 + 0,00333333x$
+ Trat. Secu d. Tra M.S.	-	-	$y = 6,04444444$
+ Trat. Secu d. Tra E.E.P.	6,06*	1,0000	$y = 5,75000000 + 0,00388889x$
* Trat. Secu d. Tra E.E.P.	7,59**	0,9582	$y = 5,71388889 + 0,00435185x$
x Trat. Secu d. Tra T.F.Q.	4,21*	0,8345	$y = 6,09166667 + 0,00324074x$

**Figura 24** – Regressão polinomial para as médias obtidas para Impressão Global da Cachaça orgânica armazenada no tempo 0, 90 e 180 dias.





LEGENDA	F	R <sup>2</sup>	EQUAÇÕES
• Trat. Secu d. Tra CONTRO	-	-	$y = 2,65000000$
+ Trat. Secu d. Tra M.S.	-	-	$y = 2,79444444$
+ Trat. Secu d. Tra E.E.P.	-	-	$y = 2,65000000$
* Trat. Secu d. Tra E.E.P.	4,33*	1,0000	$y = 3,05000000 - 0,00972222x + 0,00004218x^2$
× Trat. Secu d. Tra T.F.Q.	-	-	$y = 2,64444444$

**Figura 25** – Regressão polinomial para as médias obtidas para Intenção de Compra da Cachaça orgânica armazenada no tempo 0, 90 e 180 dias.

## **5. CONCLUSÃO**

Pode-se concluir que o uso de antimicrobianos naturais (Própolis verde Própolis marrom) e o tratamento Físico-químico podem ser utilizados, sem que haja interferência na composição química da cachaça armazenada em ancorotes de carvalho.

## 6. REFERÊNCIAS

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

ALCARDE, A. R.; MONTEIRO, B. M. S.; BELLUCO, A. E. S. Composição química de aguardentes de cana-de-açúcar fermentadas por diferentes cepas de levedura *Saccharomyces cerevisiae*. **Revista Química Nova**, v. 35, n. 8, p. 1612-1618, 2012.

ALCARDE, A. R.; SOUZA, P. A.; BELLUCO, A. E. S. Aspectos da composição química e aceitação sensorial da aguardente de cana-de-açúcar envelhecida em tonéis de diferentes madeiras. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.30, p.226-232, 2010.

ALMEIDA, J. R.; VALSECHI, O.; NOVAES, R. F. Envelhecimento das aguardentes. **Anais da ESALQ**, Piracicaba, v.4, n.56, p.11-83, 1974.

ALMEIDA, M. E. W.; BARRETO, H. H. C. Álcoois superiores em aguardente de cana por cromatografia em fase gasosa. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 31, p. 117-124, 1971.

AMORIM, H. V. de, **Fermentação alcoólica: princípios e problemas**. Piracicaba, 59p. Apostila, 1977.

ANDRADE-SOBRINHO, L. G.; BOSCOLO, M.; LIMA-NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Carbamato de etila em bebidas alcoólicas (cachaça, tiquira, uísque e grapa). **Química Nova**, v. 25, p. 1074-1077, 2002.

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). 153f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

ANJOS, J. P.; CARDOSO, M. G.; SACZK, A. A.; ZACARONI, L. M.; SANTIAGO, W. D.; DÓREA, H. S.; MACHADO, A. M. R. Identificação do carbamato de etila durante o armazenamento da cachaça em tonel de carvalho (*Quercus* sp) e recipiente de vidro. **Química Nova**, São Paulo, v. 34, n. 5, p. 874-878, 2011.

AQUARONE, E. LIMA U. A.; BORZANI, W. **Alimentos e bebidas produzidos por fermentação**: biotecnologia. São Paulo: Edgard Blücher, 1983. v. 5, 43 p.

BADIN, F. **Biocidas naturais e seus reflexos sobre contaminantes na produção de etanol**. Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2010. 51 f. (Dissertação, Mestrado em Microbiologia Agropecuária).

BARBOSA, J. C.; MALDONADO JÚNIOR, W. **Experimentação agrônômica & AgroEstat**: sistema para análises estatísticas de ensaios agrônômicos. Jaboticabal, 2015.

BELITZ, H. D.; GROSCH, W. Aroma Substances. In: BELITZ, H. D.; GROSCH, W. (Eds) **Food Chemistry**. Berlin; Springer-Verlag, 1999. Cap. 5, p. 319-377.

BENITEZ, P.; CASTRO, R.; BARROSO, C. G. Removal of iron, copper and manganese from White wines through ion exchange techniques: effects on their organoleptic characteristics and susceptibility to browning. **Analytica Chimica Acta**, v. 458, p. 197-202, 2002.

BORRAGINI, M. C. C. **Envelhecimento forçado com circulação e aeração da aguardente de cana**. 2008. 79p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2009.

BOSCOLO, M.; LIMA-NETO, B. S.; FRANCO, D. W. O envelhecimento de aguardente de cana-de-açúcar em tonéis de madeira. **Engarrafador Moderno**, n. 41, p. 30-33, 1995.

BOZA, Y.; OETTERER, M. Envelhecimento de aguardente de cana. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.1, n.33, p.8-15, 1999.

BOZA, Y.; HORII, J. A destilação na obtenção de aguardente de cana de açúcar. **B. SBCTA**, v. 33, n. 1, p. 98-105, 1999.

BRASIL. Decreto nº 6891 de 04/06/2009. Regulamenta a Lei nº 8918 de 14/06/1994 que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. **Diário Oficial da União** de 05/06/2009, p. 20.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº. 13, de 29 de junho de 2005. Aprova o Regulamento Técnico para Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para Aguardente de Cana e para Cachaça. **Diário Oficial da União** de 30/06/2005, Seção 1, p. 3.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Instrução Normativa nº 28, de 8 de agosto de 2014. **Diário Oficial da União** de 11/08/2014, Seção 1.

BREGAGNOLI, F. C. R. **Comportamento fisiológico de micro-organismos submetidos à biocidas convencional e natural na produção de cachaça orgânica.** (Tese de Doutorado, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias). Unesp, Jaboticabal – SP, 2006, 69p.

BRUNO, S. N. F.; VAITSMAN, D. S.; KUNIGAMI, C. N. Influence of the distillation processes from Rio de Janeiro in the ethyl carbamate formation in Brazilian sugarcane spirits. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 104, p. 1345-1352, 2007.

CABRAL, I. S. R.; **Isolamento e identificação de compostos com atividades antibacteriana da própolis vermelha brasileira.** 2008. 94p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 2008.

CARDELLO, H. M. A. B.; FARIA, J. B. Análise da aceitação de aguardentes da cana por testes afetivos e mapas de preferência interno. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, p. 32-36, 2000.

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

CARDELLO, H. M. A. B.; FARIA, J. B.; SOBRINHO, L. G. A.; CAVALHEIRO, S. F. L. Influência do envelhecimento no teor de cobre em cachaças. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 21, n. 1, p. 99-108, 2003.

CARDOSO, D. R.; ANDRADE-SOBRINHO, L. G. LEITE-NETO, A. F.; RECHE, R. V.; ISIQUE, W. D.; FERREIRA, M. M. C.; LIMA-NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Comparison between Cachaça and rum using pattern recognition methods. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 52, p. 3429-3433, 2004.

CARDOSO, D. R.; LIMA-NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Influência do material do destilador na composição química das aguardentes de cana. Parte II. **Química Nova**, v. 26, p. 165-169, 2003.

CARDOSO, M. G. Análises físico-químicas de aguardentes. In: CARDOSO, M. G. **Produção de aguardente**. Lavras: UFLA, 2001. 152-173p.

CARDOSO, M. G. **Produção de Aguardente de Cana de Açúcar**. 2ª Edição, Lavras, UFLA, 2006.

CARDOSO, M. G. **Produção de Aguardente de Cana**. 3ª Edição, Lavras: UFLA, 2013.

CLETO, F. V. G. **Ação da lecitina no processo fermentativo, rendimento e composição das aguardentes em mostos de cana-de-açúcar, laranja e uva**. Jaboticabal: UNESP (tese de doutorado), 2000.

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.

COSTA, H. G. C, MASSON, I. S, FREITA, L. A, ROVIEIRO, J. P. Use of Moringa Oleifera Lamarck Leaf Extract as Sugarcane Juice Clarifier: Reflects on Clarified Juice and Sugar. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, v. 34, n.1, p. 204- 209, 2014.

CRISAN, I.; ZAHARIA, C.N.; POPOVICI, F.; JUCU, V.; BELU, O.; DASCALU, C.; MUTIU, A.; PETRESCU, A. Natural propolis extract NIVCRISOL in the treatment of acute and chronic rhinopharyngitis in children. **Romanian Journal of Virology**. v.46, p.115-133, 1995.

DELGADO, A. A.; MARQUES, T. A.; ALMEIDA, C. L. F. Madeiras nacionais para envelhecimento natural de aguardente. **Álcool & Açúcar**, v. 16, n. 83, p. 22-27, 1996.

DIAS, S. M. B. C. **Efeito de diferentes tipos de madeira sobre a composição química da aguardente de cana envelhecida**. 1997. 109f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 1997.

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.

DUTCOSKY, S. D. **Análise sensorial de alimentos**. 4ª ed. Curitiba: Champagnat, 2011.

ELMORE, J. R.; HEYMANN, H.; JOHNSON, J.; HEWETT, J. E. Preference mapping: relating acceptance of "creaminess" to a descriptive sensory map of a semisolid. **Food Quality and Preference**, Oxford, v.10, p.465-475, 1999.

EUROPA. Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the European Commission on ethyl carbamate and hydrocyanic acid in food and beverages. **The EFSA Journal**, Parma, n. 551, p. 1-44, 2007.

FARIA, E. V.; YOTSUYANAGI, K. **Técnicas de análise sensorial**. Campinas, 2002.  
FARIA, J. B. **Determinação dos compostos responsáveis pelo defeito sensorial das aguardentes de cana (*Saccharum officinarum*, L.) destiladas na ausência de cobre**. 2000. 98 f. Tese de Livre docência - Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho. Araraquara, 2000.

FARIA, J. B.; LOYOLA, E.; LOPEZ, M. G.; DUFOUR, J. P. Cachaça, Pisco and Tequila. In: LEA, A. G. H.; PIGGOTT, J. R. (Ed.). **Fermented Beverage Production**. 2. ed. New York: Kluwer Academic / Plenum Publishers, 2003. p. 335-346.

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 cachaças aging. **European Food Research and Technology**, v. 218, n. 1, p. 83-87, 2003.

FARIA, J. B. Sobre a produção de aguardente de cana. **Engarrafador Moderno**, n. 40, p. 9-16, 1995.

FERNANDES, A. P.; SANTOS, M. C.; LEMOS, S. G.; FERREIRA, M. M. C.; NOGUEIRA, A. R. A.; NÓBREGA, J. A. Pattern recognition applied to mineral characterization of Brazilian coffees and sugar-cane spirits. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 60, p. 717-724, 2005.

FRANCO, A. C. **Redestilação da cachaça**. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Araraquara, 2008. 52 p. (Dissertação, mestrado em Nutrição).

FRANCO, D. W.; RECHE, R. V. Uso de íons metálicos e caramelo como alternativa na distinção entre cachaça e rum. **Engarrafador Moderno**, v. 17, n. 148, p. 36-42, 2006.

GARCIA, D. B. **Danos causados por *Mahanarva fimbriolata* (Stål, 1854) na qualidade da cana e processo fermentativo**. Jaboticabal, 2009. 85p. (Dissertação de Mestrado, FCAV, UNESP).

GARRUTI, D. S. **Compostos voláteis e qualidade de aroma do vinho de caju**. 2001. 218f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas.

GHASI, S.; NWOBODO, E.; OFILI, J. O. Hypocholesterolemic effects of crude extract of leaf of *Moringa oleifera* Lam in high-fat diet fed wistar rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 69, p. 21-25, 2000.

GOSSEL, T. A.; BRICKER, J.D. **Principles of clinical toxicology**. 2<sup>nd</sup>.ed. New York: Raven, 1990. Cap 9, 413 p.

GUERRA, J. W. N.; SIMÕES, R. S. (Orgs.). **Equipamentos, usos e costumes da casa brasileira**. Fichário Ernani Silva Bruno. 5. Equipamentos. São Paulo: Edusp.

HALABI, A. F. **Efeito do extrato de própolis sobre a composição e a qualidade do destilado alcoólico**. 2010. 65p., Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

HASHIZUME, T. **Biotechnologia na Produção de Alimentos**; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A., eds.; Edgard Blücher Ltda: São Paulo, 2001, cap. 2.

HENSCHKE, P. A.; JIRANEK, V. Yeast – Metabolism of nitrogen compounds. In: **Wine Microbiology and Biotechnology**. FLEET, G. H. ed. Suíça: Hardwood Academic Publishers, p. 510, 1994.

IBANEZ, J. G.; CARREON-ALVAREZ, A.; BARCENA-SOTO, M.; CASILLAS, N. Metals in alcoholic beverages: a review of sources, effects, concentrations, removal, speciation, and analysis. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, p. 672-683, 2008.

IBRAC – INSTITUTO BRASILEIRO DA CACHAÇA. Disponível em <<http://www.ibrac.net/index.php/noticias/noticias-do-ibrac/405-a-cachaca-e-o-seu-dia-nacional>>. Acesso em 04 de março de 2015.

INMETRO. Portaria nº 126, de 2005. Aprova o Regulamento de avaliação da conformidade da cachaça. DOU, Brasília. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Disponível em: <[www.inmetro.gov.br](http://www.inmetro.gov.br)>. Acesso em 04 de março de 2015.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas**. 4. ed. São Paulo, 2005. v. 1, p. 407-441.

ISIQUE, W. D.; FRANCO, D. W. Polifenóis em aguardente de cana. **Engarrafador Moderno**, n. 81, p. 38-42, 2000.

JANZANTTI, N. S. **Compostos voláteis e qualidade de sabor da cachaça**. 2004. 179 f. Tese. (Doutorado em Ciência dos alimentos) - Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. Campinas, 2004.

JANZANTTI, N. S.; GARCIA, C. C. T. Influência da expectativa do consumidor de cachaça orgânica. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 3, p. 1069-1082, 2011.

LACHENMEIER, D. W.; LIMA, M. C. P.; NOBREGA, I. C. C. PEREIRA, J. A. P.; KERR-CORRÊA, F.; KANTERES, F. e REHM, J. Cancer risk assessment of ethyl carbamate in alcoholic beverages from Brazil with special consideration to the spirits cachaça and tiquira. **BMC Cancer**, London, v.10, p. 1-15, 2010.

LANHI, A. P.; RIZZON, L. A. **Minerais nos vinhos da serra gaúcha**. Bento Gonçalves-RS: EMBRAPA/CNPUV, 2002. 75p. Relatório de Estágio.

LAWLESS, H.T.; HEYMANN, H. **Sensory evaluation of food**. New York: Chapman & Hall, 1998, 819p.

LEWIN, M.; GOLDSTEIN, I. S. **Wood Structure and Composition**. Marcel Dekker, New York, 1991.

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

LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D. W. A aguardente e o controle químico de sua qualidade. **Engarrafador Moderno**, n. 33, p. 5-8, 1994.

LIMA, U. A. Produção nacional de aguardentes e potencialidade dos mercados internos e externos. In: MUTTON, M. J. R.; MUTTON, M. A. (Ed.). **Aguardente de cana: produção e qualidade**. Jaboticabal: FUNEP, 1992. p. 151-163.

LLISTÓ, A. M. S. M.; SOUZA, L. G.; MISCHAN, M. M. Alguns componentes do coeficiente não-álcool das aguardentes de cana: ésteres. **Brasil Açúcareiro**, v. 5, p. 341-346, 1979.

LUDWING, K.M.; OLIVA-NETO, P.; ANGELIS, D.F. Quantificação da floculação de *Saccharomyces cerevisiae* por bactérias contaminantes da fermentação alcoólica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.21, n.1, p.63-68, 2001.

MADRERA, R. R.; VALLES, B. S. Determination of ethyl carbamate in cider spirits by HPLC-FLD. **Food Control**, Amsterdam, v. 20, p. 139-143, 2009.

MACFIE, H. J. H.; THOMSON, D. M. H. Preference mapping and multidimensional scaling. In: PIGGOTT, J.R. (Ed.). **Sensory Analysis of Food**. 2 ed. New York, Elsevier. 1988, 389p.

MAIA, A. B. R. A.; CAMPELO, E. A. P. **Tecnologia da Cachaça de Alambique**. Belo Horizonte: Sebrae/MG; Sindbebidas, 2006, 129p.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. Piracicaba: **Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato**, 1997. Cap.6, p.231-307: Metodologia para análise de nutrientes em material vegetal.

MIRANDA, M. B.; HORII, J.; ALCARDE, A. R. Estudo do efeito da irradiação gamma ( $^{60}\text{Co}$ ) na qualidade da cachaça e no tonel de envelhecimento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 4, p. 772-778, 2006.

MIRANDA, M. B.; MARTINS, N. G. S.; BELLUCO, A. E. S.; HORII, J.; ALCARDE, A. R. Perfil físico-químico de aguardente durante envelhecimento em tonéis de carvalho. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, p. 84-89, 2008. Suplemento.

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, p-3515-3522, 2014.

MORI, F. A.; MENDES, L. M.; TRUGILHO, P. F.; CARDOSO, M. G. Utilização de eucaliptos e de madeiras nativas no armazenamento da aguardente de cana-de-açúcar. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.23, p.396-400, 2003.

MOTTRAM, D. S. Aroma. In: MACRAE, R.; ROBINSON, R.; SADLER, M. (Eds) **Encyclopaedia of Food Science, Food Technology and Nutrition**. London: Academic Press, 1993, p. 4065-4071.

MUTTON, M. J. R.; OLIVEIRA-FILHO, J. H.; COSTA, G. H. G.; ROVIERO, J. P.; FREITA, L. A. **Green and brown propolis: efficient natural biocides for the control of bacterial contamination of alcoholic fermentation of distilled beverage. Food Science and Technology**, Campinas, 34(4): 767-772, Out.-Dez. 2014.

MUTTON, M. J. R.; MUTTON, M. A. Aguardente. In: VENTURINI FILHO, W. G. **Tecnologia de bebidas: matéria-prima, processamento, BPF/APPCC, legislação e mercado**. São Paulo: Edgard Blücher, 2005. cap. 20, p. 485-524.

NASCIMENTO, R. F.; LIMA-NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Aldeídos em bebidas alcoólicas fermento-destiladas. **Engarrafador Moderno**, n. 49, p. 76-78, 1997.

NASCIMENTO, R. F.; CARDOSO, D. R.; LIMA-NETO, D. S.; FRANCO, D. W. Determination of acids in brazilian sugar cane spirits and other alcoholic beverages by HRGC-SPE. **Chromatographia**, v. 48, n. 866, p. 757-737, 1998.

NASCIMENTO, R. F.; CARDOSO, D. R.; LIMA-NETO, B. S.; FRANCO, D.W. FARIA, J. B. Influência do material do alambique na composição das aguardentes de cana-de-açúcar. **Química Nova**, v. 21, p. 735-739, 1998.

NASCIMENTO, R. F.; BEZERRA, C. W. B.; FURUYA, S.M.B.; SCHULTZ, M. S.; POLASTRO, L.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Mineral Profile of Brazilian Cachaças and other international spirits. **J. Food Composition and Analysis**, 1999, vol.12, p.17-25.

NETO A. B. T.; SILVA, M. E.; SILVA, W. B.; SWARNAKAR, R.; SILVA, F. L. H. Cinética e caracterização físico-química do fermentado do pseudofruto do caju (*Anacardium occidentale* L.). **Química Nova**, v. 29, n. 3, p. 489-492, 2006.

NEVES, E. O. **Composição de minerais em caldo de cana-de-açúcar e em vinho tinto artesanal de mesa**. Universidade Federal de Viçosa - UFV. 2004. 70 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos).

NISHIMURA, K.; MATSUYAMA, R. Maturation and maturation chemistry. In: PIGGOTT, J. R.; SHARP, R.; DUNCAN, R. E. B. **The science and technology of whiskies**. New York: Longman Scientific & Technical, 1989. p. 235-263.

NOBRE, T. P.; HORII, J.; ALCARDE, A. R. Viabilidade celular de *Saccharomyces cerevisiae* cultivada em associação com bactérias contaminantes da fermentação alcoólica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 1, p. 20-25, 2007.

NÓBREGA, I. C. C. et al. Ethyl carbamate in pot still cachaças (Brazilian sugarcane spirits): influence of distillation and storage conditions. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 117, p. 693-697, 2009.

NOGUEIRA, A.M.P.; FILHO, W.G.V. – **“AGUARDENTE DE CANA”** – UNESP Campus De Botucatu Faculdade De Ciências Agrônômicas, 2005.

NONATO, E. A.; CARAZZA, F.; SILVA, F. C.; CARVALHO, C. R.; CARDEAL, Z. de L. A headspace solid-phase microextraction method for the determination of some secondary compounds of brazilian sugar cane spirits by gas chromatography. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 8, p. 3533-3539, 2001.

NOVAES, F. V. Cachaça de alambique x aguardente industrial. **Engarrafador Moderno**, n. 72, p. 46-49, 2000.

NOVAES, F. V. Em nome da qualidade da aguardente de cana. **Engarrafador Moderno**, n. 49, p. 68-73, 1997.

NOVAES, F. V.; OLIVEIRA, E. R.; STUPIELLO, J. T. **I Curso de extensão em tecnologia de aguardente de cana**. Piracicaba: ESALQ, 1974. 104p.

NYKÄNEN, L.; NYKÄNEN, I. Distilled Beverages. In: MAARSE, H. (Ed) **Volatile compounds in foods and beverages**. New York: Marcel Dekker, 1991, Cap.15, p. 547-580.

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

PARAZZI, C.; ARTHUR, C. M.; LOPES, J. J. C.; BORGES, M. T. M. R. Avaliação e caracterização dos principais compostos químicos da aguardente de cana de açúcar envelhecida em tonéis de carvalho (*Quercus* sp.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 1, p. 193-199, 2008.

PENTEADO, J. C. P.; MASINI, J. C. Multivariate analysis for the classification differentiation of brazilian sugar cane spirits by analysis of organic and inorganic compounds. **Analytical Letters**, v. 42, n. 17, p. 2747-2757, 2009.

PEREIRA, A. F. **Suplementação de nitrogênio sobre a fermentação alcoólica para produção de cachaça, cerveja e vinho**. 2007. 113 f. Dissertação (Magister Scientiae) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.

PEREIRA, J. A. M. S.; ROSA, C. A.; FARIA, J. B. **Cachaça de Alambique**. LK Editora, Brasília, 2006, 179p.

PEREZ, C. A. **Estudo da viabilidade da levedura de descarte da indústria cervejeira na obtenção da aguardente de "liquor" de laranja**. 2013. 57 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho. Araraquara, 2013.

PIGGOTT, J. R.; SHARP, R.; DUCAN, R. E. B. **The science and technology of whiskies**. New York: Longman, 1989. 410 p.

PINTO, F. G.; ROCHA, S. S.; CANUTO, M. H.; SIEBALD, H. G. L.; SILVA, J. B. B. Determinação de cobre e zinco em cachaça por espectrometria de absorção atômica com chama usando calibração por ajuste de matriz. **Revista Analytica**, v. 17, p. 48-50, 2005.

POLASTRO, L. R.; BOSO, L. M., ANDRADE-SOBRINHO, L. G.; LIMA-NETO, B. S., FRANCO, D. W. Compostos nitrogenados em bebidas destiladas: cachaça e tiquira. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, p. 78-81, 2001.

POTTER, N. N. **Food science**. Westport: AVI, 1980.

PUECH, J. L. Vieillissement du Cognac. **Sciences des Aliments**, v. 4, n. 1, p. 66-80, 1983.

RAVANELI, G. C. **Efeito da cigarrinha-das-raízes com tratamento químico sobre a qualidade da matéria-prima e fabricação de álcool**. Jaboticabal, 2005. 78p. (Dissertação de Mestrado, FCAV, UNESP).

RAVANELI, G. C. **Qualidade da matéria-prima, microbiota fermentativa e produção de etanol sob ataque de *Mahanarva fimbriolata* em cana-de-açúcar**. (Tese de Doutorado, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias). Unesp, Jaboticabal – SP, 2010, 90p.

REAZIN, G. H. Chemical analysis of whisky maturation. In: PIGGOTT, J. R. (Ed.). **Flavour of distilled beverages: origin and development**. Chichester, UK: Ellis Horwood, 1983. p. 225 -240.

RECHE, R. V., LEITE, A. F., SILVA, A. A., GALINARO, C. A., OSTI, R. Z., FRANCO, D. W. Influence of type of distillation apparatus on chemical profiles of brazilian cachaças. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 6603-6608, 2007.

RECHE, R. V.; FRANCO, D. W. Distinção entre cachaças destiladas em alambiques e em colunas usando quimiometria. **Química Nova**, v. 32, n. 2, p. 332-336, 2009.

SALTON, M. A.; DAUDT, C. E.; RIZZON, L. A. Influência do dióxido de enxofre e cultivares de videira na formação de alguns compostos voláteis e na qualidade sensorial do destilado de vinho. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, n. 3, p. 302-308, 2000.

SAMPAIO, O. M.; RECHE, R. V.; FRANCO, D. W. Chemical profile of rums as a function of their origin. The use of chemometric techniques for their identification. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 1661-1668, 2008.

SCHLICH, P.; MCEWAN, J. A. Preference mapping a statistical tool for the food industry. **Science des Aliments**, Paris, v.12, p.339-355, 1992.

SHARMA, S. C.; JOHARY, P. C. Amino-acid removal during cane juice clarification. **International Sugar Journal**, Kent, v. 86, n. 1021, p. 7-11, 1984.

SIEBALD, H. G. L.; CANUTO, M. H.; SILVA, J. B. B. Alguns aspectos toxicológicos da cachaça. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 30, n. 248, p. 55-59, 2009.

SILVA, M. J.; MOREIRA, R. T.; COUTINHO, E. P.; CRUZ, G. R. B.; SOUSA, J. R. T. Características físico-químicas e sensoriais de cachaças de alambiques produzidas na microrregião do Brejo Paraibano, PB. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.16, n.4, p.445-451, 2014.

SILVA, A. A. **Compostos fenólicos em madeiras brasileiras**. 2006. 114 p. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) – Universidade de São Paulo, São Carlos.

SILVA, J. D. R. **Frações de nitrogênio em caldos de diferentes cultivares de cana-de-açúcar**. Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. 2011. 41 f. Dissertação (Mestrado), Agronomia – Produção Vegetal.

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

SOBRINHO, L. G. A.; CAPPELINI, L. T. D.; SILVA, A. A.; GALINARO, C. A.; BUCHVISER, S. F.; CARDOSO, D. R.; FRANCO, D. W. Teores de carbamato de etila em aguardentes de cana e mandioca. Parte II, **Química Nova**, v. 32, n. 1, p. 116-119, 2009.

SOUSA, J.P.B.; FURTADO, N.A.J.C.; JORGE, R.; SOARES, A.E.E.; BASTOS, J.K. Perfis físico-químico e cromatográficos de amostras de própolis produzidas nas microrregiões de Franca (SP) e Passos (MG), Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v.17, n.1, 2007.

SOUZA, L. M.; FERREIRA, K. S.; PASSONI, L. C. Teores de minerais em cachaças produzidas na região norte do estado do Rio de Janeiro. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 21, n. 4, p. 625-631, out./dez. 2010.

STONE, H.; SIDEL, J. **Sensory evaluation practices**. 2<sup>nd</sup> ed. New York: Academic, 1993. 338 p.

STUPIELLO, J. P.; HORII, J. Condução da fermentação alcoólica. **Saccharum**, v. 17, p.43-46, 1981.

TRIVELIN, P.C.O.; SALATI, E.; MATSUI, E. **Preparo de amostras para análise de 15N por espectrometria de massa** (Boletim Técnico, 2). Piracicaba, CENA, 1973. 41p.

UTHURRY, C. A. et al. Ethyl carbamate production by selected yeasts and lactic acid bacteria in red wine. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 94, p. 262-270, 2006.

VARGAS, E. A. **Qualidade da aguardente de cana produzida, engarrafada e/ou comercializada em Minas Gerais**. Faculdade de Farmácia da UFMG. 1995. 81 p. (Dissertação, Mestrado em Ciências de Alimentos).

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

WEBER, J. V.; SHARYPOV, V. I. Ethyl carbamate in foods and beverages: a review. **Environmental Chemical Letters**, Berlin, v. 7, p. 233-247, 2009.

YOKOYA, F. **Fabricação de aguardente de cana**. Campinas: Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia "André Tosello", 1995. 92p.

ZASOUSK, R. J.; BURAU, R. G. A rapid nitric-perchloric acid digestion method for multielement tissue analysis. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 8, n. 5, p. 425-436, 1977.

## ANEXOS

### Anexo 1

Por favor, preencha o questionário com todas as informações solicitadas.

Nome: \_\_\_\_\_

Sexo: \_\_\_\_\_ ( ) masculino \_\_\_\_\_ ( ) feminino

Idade: \_\_\_\_\_ anos

Professor ( ) Funcionário ( ) Aluno de Pós-Graduação ( ) Aluno de Graduação ( )

Outros ( ): \_\_\_\_\_

Telefone: (0xx\_\_\_\_) \_\_\_\_\_ e-mail: \_\_\_\_\_

Utilizando a escala abaixo, indique o quanto você gosta de bebidas alcoólicas:

- ( ) Gosto muitíssimo
- ( ) Gosto muito
- ( ) Gosto moderadamente
- ( ) Gosto ligeiramente
- ( ) Nem gosto/ nem desgosto
- ( ) Desgosto ligeiramente
- ( ) Desgosto moderadamente
- ( ) Desgosto muito
- ( ) Desgosto muitíssimo

Com que frequência você compra/consome bebidas alcoólicas?

- ( ) 3 vezes/semana ou mais
- ( ) 1 vez/semana
- ( ) 1 vez/quinzena
- ( ) 1 vez/mês
- ( ) Não consome

Utilizando a escala abaixo, indique a frequência com que você consome as diferentes bebidas.

- ( 4 ) 3 vezes/semana ou mais
- ( 3 ) 1 vez/semana
- ( 2 ) 1 vez/quinzena
- ( 1 ) 1 vez/mês
- ( 0 ) Não consome

- Cachaça não envelhecida
- Cachaça envelhecida
- Destilados não envelhecidos (Vodca, Rum, Gin)
- Destilados envelhecidos (Uísque, Rum, Tequila)
- Caipirinha (Cachaça com limão ou qualquer outra fruta)
- Ace

Utilizando a escala abaixo, indique o quanto gosta das bebidas que você consome, de acordo com a questão anterior.

- ( 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

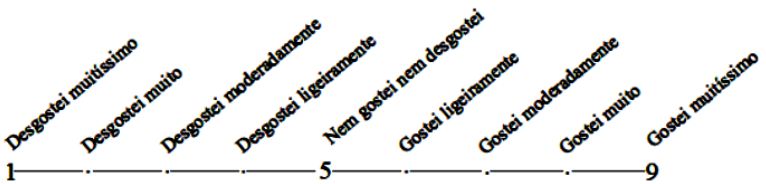
- Cachaça não envelhecida
- Cachaça envelhecida
- Destilados não envelhecidos (Vodca, Rum, Gin)
- Destilados envelhecidos (Uísque, Rum, Tequila)
- Caipirinha (Cachaça com limão ou qualquer outra fruta)
- Ice

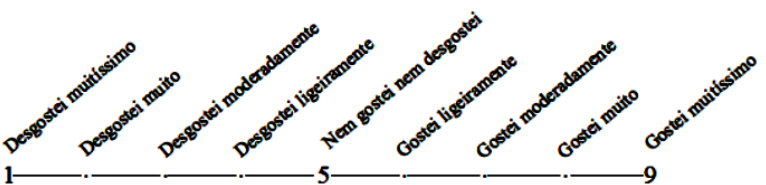
## Anexo 2

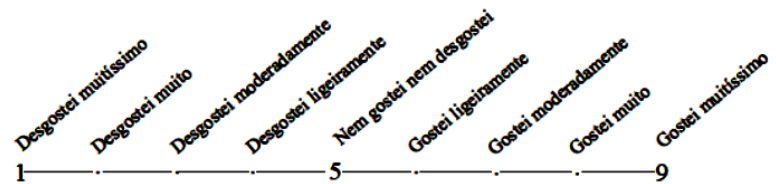
Nome: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

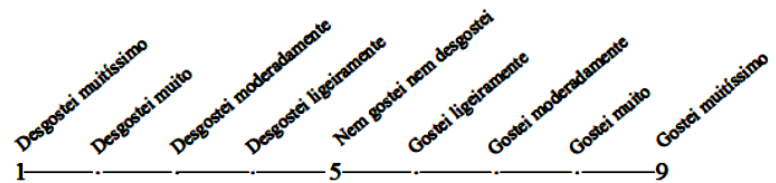
Você está recebendo uma amostra de CACHAÇA. Por favor, avalie a amostra de acordo com os atributos, utilizando a escala abaixo.

Amostra nº: \_\_\_\_\_

COR: 

AROMA: 

SABOR: 

IMPRESSÃO GLOBAL: 

Indique abaixo o que você mais gostou e o que menos gostou nesta aguardente envelhecida:

+ gostei: \_\_\_\_\_

- gostei: \_\_\_\_\_

Assinale abaixo o grau de certeza com que você compraria ou não compraria esta aguardente envelhecida:

- ( ) Certamente compraria
- ( ) Provavelmente compraria
- ( ) Tenho dúvidas se compraria
- ( ) Provavelmente **não** compraria
- ( ) Certamente **não** compraria

Comentários: \_\_\_\_\_