



GABRIEL BISCOTTO D' AVILA

**QUANTIFICAÇÃO DO CARBAMATO DE
ETILA EM CACHAÇAS PRODUZIDAS EM
DIFERENTES SISTEMAS DE PRODUÇÃO
AGROINDUSTRIAL**

LAVRAS - MG

2015

GABRIEL BISCOTTO D' AVILA

**QUANTIFICAÇÃO DO CARBAMATO DE ETILA EM CACHAÇAS
PRODUZIDAS EM DIFERENTES SISTEMAS DE PRODUÇÃO
AGROINDUSTRIAL**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora

Dra. Maria das Graças Cardoso

LAVRAS - MG

2015

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

d' Avila, Gabriel Biscotto.

Quantificação do carbamato de etila em cachaças produzidas
em diferentes sistemas de produção agroindustrial / Gabriel
Biscotto d' Avila. – Lavras : UFLA, 2015.

87 p. : il.

Dissertação (mestrado acadêmico)–Universidade Federal de
Lavras, 2015.

Orientadora: Maria das Graças Cardoso.

Bibliografia.

1. Cachaça. 2. Variedade de cana. 3. Carbamato de etila. I.
Universidade Federal de Lavras. II. Título.

GABRIEL BISCOTTO D' AVILA

**QUANTIFICAÇÃO DO CARBAMATO DE ETILA EM CACHAÇAS
PRODUZIDAS EM DIFERENTES SISTEMAS DE PRODUÇÃO
AGROINDUSTRIAL**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 24 de fevereiro de 2015.

Dra. Adelir Aparecida Saczk	UFLA
Dr. José Guilherme Lembi Ferreira Alves	UFLA
Dra. Márcia Justino Rossini Mutton	UNESP

Dra. Maria das Graças Cardoso
Orientadora

LAVRAS – MG

2015

DEDICO E OFEREÇO

A Deus, que sempre esteve ao meu lado guiando-me e dando-me forças para seguir.

Aos meus pais, Ney e Geani, que são meus exemplos de vida e educação.

Aos meus irmãos, Neilane e Rafael, que sempre me deram força e incentivo nos momentos difíceis.

A todos os apreciadores, consumidores, estudiosos e produtores de cachaça.

AGRADECIMENTOS

Obrigado, Deus Pai, Todo Poderoso, Criador e Salvador; Jesus Cristo, Nosso Senhor; Divino Espírito Santo; Santa Maria, Mãe de Deus e Nossa Mãe; Santo Expedito e São Judas Tadeu e todos os santos e santas que não cessam de interceder por nós.

Ao Programa de pós-graduação em Ciência dos Alimentos da UFLA, bem como ao Departamento de Ciência dos Alimentos e ao Departamento de Química.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela bolsa, e também à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela oportunidade, execução do experimento.

A todos os produtores de cachaça que colaboraram com informações e amostras.

Obrigado, professora Dra. Maria da Graças Cardoso, pela oportunidade, orientação, amizade, ensinamentos e confiança para a execução do meu trabalho.

À professora Adelir Aparecida Saczk, do Departamento de Química da UFLA; professor José Guilherme Lembi Ferreira Alves, do Departamento de Ciência dos Alimentos da UFLA; e professora Márcia Justino Rossini Mutton, da UNESP de Jaboticabal, que aceitaram fazer parte da banca de defesa deste trabalho.

Obrigado, Cleusa, pelos ensinamentos práticos e paciência. Os colegas do Laboratório de Qualidade de Aguardente e Óleos Essenciais: Wilder, Leonardo, João, Rodolfo, Bruno, Alex, Lucas, Richard e Allan, Juliana, Maria Luísa, Lucilene, Christiane, Rafaela, Luana, Luiz Roberto, Marcos, Danúbia, Thais, Karen e Anni, pela amizade, companheirismo, atenção, dedicação e ajuda na condução dos experimentos.

À minha família, que é o pilar de sustentação da minha vida. Meus pais, Geani e Ney, e meus irmãos, Neilane e Rafael, amo vocês.

Obrigado meus companheiros de república, Bruno e Lucas, e Imaculada, que continuou presente conosco em mais essa etapa.

Todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho, muito obrigado.

RESUMO

Conhecida popularmente por diversos nomes, como caninha, perigosa, pinga, danada e muitas outras denominações, cachaça é a bebida genuinamente brasileira, produzida a partir da fermentação de caldo de cana por leveduras, seguida de destilação em alambique. Levando em consideração que a cachaça é o destilado mais consumido do Brasil, é importante o conhecimento de sua composição química e de compostos potencialmente tóxicos, como o carbamato de etila, considerado um carcinógeno humano. Objetivou-se neste trabalho avaliar a influência das condições de diferentes sistemas de produção agroindustriais de cachaça, entre elas a variedade de cana-de-açúcar, na quantificação do carbamato de etila por meio do perfil cromatográfico e de análises físico-químicas. Foram utilizadas 13 amostras de bebidas produzidas a partir de variedades de cana diferentes, sem processo de envelhecimento em madeira. Pela análise de variância e comparação das concentrações médias de carbamato de etila (Scott-Knott, $\alpha = 5\%$), observou-se que todas as amostras continham valores do contaminante inferiores ao limite máximo estabelecido pela legislação, que é de $210 \mu\text{g L}^{-1}$.

Palavras-chave: Cachaça. Variedade de cana. Carbamato de etila.

ABSTRACT

Popularly known by various names such as caninha, dangerous, drips, damned and many other denominations, cachaça is the genuine Brazilian drink, produced by fermentation of sugar cane juice by yeast, followed by distillation in alambics. Considering that cachaça is the most widely consumed distilled beverage from Brazil, the knowledge of the chemical composition and the presence of potentially toxic compounds such as ethyl carbamate, considered a human carcinogen, is important. The aim of this study was to evaluate the influence of different conditions of the agro-industrial production systems of cachaça, including the variety of sugarcane, on the quantification of ethyl carbamate through the chromatographic profile and physical-chemical analysis. Thirteen unaged beverage samples produced from different varieties of sugar cane were analyzed. Using analysis of variance and comparison of average concentrations of ethyl carbamate (Scott-Knott, $\alpha = 5\%$), all the samples were found to contain contaminant levels below the ceiling established by the legislation, which is $210 \mu\text{g L}^{-1}$.

Keywords: Cachaça. Variety of sugar cane. Ethyl carbamate.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Variedades de cana-de-açúcar	17
Figura 2	Fluxograma do processo produtivo da cachaça de alambique.....	24
Figura 3	Equação simplificada da fermentação alcoólica por leveduras	25
Figura 4	Fórmula estrutural do carbamato de etila	31
Figura 5	Formação do carbamato de etil xantila por meio da reação entre 9-xantidrol e carbamato de etila sob condições ácidas	33
Figura 6	Destilador empregado para redestilar as amostras	41
Figura 7	Destilador Eletrônico Enochimico Gibertini	43
Figura 8	Reações envolvidas na determinação dos aldeídos.....	44
Figura 9	Reação envolvida na análise de furfural.....	45
Figura 10	Reações envolvidas na análise de ésteres.....	45
Figura 11	Reações envolvidas na análise de cobre.....	46
Figura 12	Soluções-padrão empregadas para construção da curva analítica para análise de cobre, por meio da qual possível observar o composto de coloração violeta formado	47
Figura 13	Cromatograma da solução padrão de carbamato de etila (CE), com detecção de fluorescência. Concentração do padrão injetado: 160 $\mu\text{g.L}^{-1}$	70
Figura 14	Cromatograma da cachaça produzida com a cana RB739735 (amostra B) de carbamato de etila, com detecção de fluorescência	72
Figura 15	Cromatograma da cachaça produzida com a cana RB867515 (amostra K) de carbamato de etila, com detecção de fluorescência	73

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Variedades de cana-de-açúcar usadas para produzir cachaça, tipo de fermento, cidades de origem das amostras	38
Tabela 2	Condições do método de cromatografia gasosa empregada para análise de álcoois superiores e metanol.....	48
Tabela 3	Rampa de temperatura do método de cromatografia gasosa empregada para análise de álcoois superiores e metanol.....	49
Tabela 4	Gradiente de eluição da fase móvel para a determinação do carbamato de etila.*.....	51
Tabela 5	Esquema para análise de variância das amostras de bebidas coletadas, com base nas variedades de cana-de-açúcar	53
Tabela 6	Grau alcoólico das amostras de bebidas coletadas*.....	55
Tabela 7	Teor de sólidos solúveis das amostras de bebidas coletadas	56
Tabela 8	Acidez volátil das amostras de bebidas coletadas.....	57
Tabela 9	Concentrações de totais de álcoois superiores, de butanol-1 e de butanol-2 nas amostras de bebidas coletadas*	59
Tabela 10	Concentrações de álcool propílico, isoamílico e isobutílico encontradas nas amostras.....	60
Tabela 11	Valores médios de metanol presentes nas amostras.....	62
Tabela 12	Valores médios de aldeídos em cachaças	63
Tabela 13	Valores médios de furfural nas amostras de bebidas coletadas	65
Tabela 14	Valores médios de ésteres nas amostras de bebidas coletadas	66
Tabela 15	Valores médios do teor de cobre nas amostras de bebidas coletadas	68
Tabela 16	Concentrações de carbamato de etila nas amostras de bebidas coletadas	71

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1	Cana-de-açúcar	15
2.1.1	Plantio da cana	19
2.2	Padrões de identidade e qualidade da cachaça	20
2.3	Produção de cachaça	23
2.3.1	Fermentação	25
2.3.2	Destilação	26
2.4	Compostos secundários e contaminantes presentes nas cachaças	27
2.5	Carbamato de etila	30
2.5.1	Formação do carbamato de etila	34
2.6	Mercado de Cachaça	35
3	MATERIAL E MÉTODOS	38
3.1	Coleta de amostras	38
3.2	Análises físico-química das cachaças	40
3.3	Análises cromatográficas das cachaças	47
3.3.1	Cromatografia gasosa	47
3.3.1.1	Álcoois superiores e metanol	47
3.3.1.2	Preparação das amostras e cromatógrafo	48
3.3.1.3	Condições Cromatográficas	48
3.3.2	Cromatografia líquida	49
3.3.2.1	Análise de carbamato de etila	49
3.3.2.2	Derivação do padrão de carbamato de etila	50
3.3.2.3	Derivação das amostras	50
3.3.3	Condições cromatográficas e quantificação do CE	50
4	ANÁLISE ESTATÍSTICA	53
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
5.1	Avaliação físico-química	54
5.1.1	Exame organoléptico	54
5.1.2	Teor alcoólico	54
5.1.3	Extrato seco	55
5.1.4	Acidez volátil	56
5.1.5	Álcoois superiores	59
5.1.6	Metanol	61
5.1.7	Aldeídos	63
5.1.8	Furfural	64
5.1.9	Ésteres	66
5.1.10	Cobre	67
5.1.11	Carbamato de etila	69

6	CONCLUSÃO.....	77
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	78
	REFERÊNCIAS.....	79

1 INTRODUÇÃO

Cachaça é a bebida genuinamente brasileira, produzida a partir da fermentação de caldo de cana por leveduras, seguida de destilação em alambiques de cobre ou em colunas de aço inoxidável, passando ou não por um período de envelhecimento em barris de madeira. Podem ficar armazenadas em recipientes de aço inoxidável ou mesmo materiais plásticos antes de serem engarrafadas, mas o derivado de petróleo não é recomendado para esse fim, pois a bebida extrai compostos que são prejudiciais à saúde humana, como os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos.

Popularmente é conhecida por diversos nomes, como caninha, água-de-cana, perigosa, pinga, danada, dengosa, moça-branca, malvada, branquinha, engasga-gato, água-que-passarinho-não-bebe, uminha, urina-de-santo, mata-bicho, mé, mamãe-sacode, águas-de-setembro, a-que-matou-o-guarda, arrebenta-peito, quebra-munheca e muitas outras denominações, variando de acordo com a região do país.

A cana-de-açúcar cultivada no território nacional hoje não é de uma única espécie definida, mas, sim, híbridas resultantes do cruzamento de diferentes espécies, sendo chamada de *Saccharum* spp. Nesse contexto, há diferentes variedades do vegetal e a tendência é que novas variedades sejam lançadas todos os anos, adaptadas a diferentes condições de plantio e cultivo e com mais resistência a pragas. A escolha da variedade a ser cultivada garante maior lucro e redução dos custos de produção e dependerá do clima do local da plantação, da qualidade do solo, da oferta de água, da época de colheita pretendida pelo produtor, etc. (ANDRADE, 2013).

O caldo da cana é obtido pelo processo de moagem, e, após passar pelas etapas fermentação e destilação, obtém-se a cachaça, na qual o componente majoritário é o etanol. Além dele, vários outros compostos são formados durante

essas etapas e o envelhecimento. Esses são conhecidos como componentes secundários, que juntos darão o sabor e aroma característicos da bebida. Juntamente desses compostos, alguns contaminantes podem ser encontrados na bebida; entre eles, o carbamato de etila (CE), éster do ácido carbâmico, formado naturalmente durante os processos fermentativos e está presente em vários alimentos e bebidas fermentadas, apesar de seu mecanismo de origem não estar ainda totalmente elucidado. O carbamato foi classificado como um possível carcinógeno humano pela Agência Internacional de Investigação do Câncer e seu limite máximo permitido em aguardente e cachaça no Brasil é de $210 \mu\text{g L}^{-1}$.

Diante do exposto, objetivou-se com este trabalho: quantificar carbamato de etila em cachaças novas produzidas em almbiques de cobre e diferentes sistemas de produção agroindustrial, nos quais foram utilizadas diferentes variedades de cana-de-açúcar e, assim, verificar a relação entre a presença desse contaminante e o sistema de produção utilizado.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Cana-de-açúcar

A matéria-prima utilizada para a produção da cachaça é a cana-de-açúcar, uma planta tropical que se desenvolve bem em regiões com clima quente, tendo seu cultivo concentrado em áreas subtropicais, com temperaturas que variam de 18 a 35°C (MUTTON; MUTTON, 2005).

O vegetal teve sua origem na Ásia e Oceania, chegando ao Brasil no século XVI, onde se adaptou muito bem ao clima e relevo. Sua classificação botânica é apresentada no Quadro 1, sendo trinta e duas espécies atualmente conhecidas e devidamente catalogadas (ANDRADE, 2013).

Reino	Vegetal
Divisão	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Liliopsida</i>
Ordem	<i>Cyperales</i>
Família	<i>Poaceae (Gramineae)</i>
Tribo	<i>Andropogoneae</i>
Subtribo	<i>Saccharininae</i>
Gênero	<i>Saccharum</i>

Quadro 1 Classificação botânica da cana-de-açúcar

Fonte: Andrade (2013).

Não há um consenso entre os historiadores sobre quando e como a cultura da cana-de-açúcar chegou ao Brasil. Acredita-se que sua chegada ocorreu na primeira metade do século XVI, quando a Coroa Portuguesa decidiu iniciar a produção regular na então Colônia recém-descoberta para combater a

presença francesa no litoral brasileiro e para abastecer o mercado consumidor europeu, onde o açúcar ainda era um produto raro e destinado à gente fidalga e rica (TRINDADE, 2006).

A primeira cana cultivada em território brasileiro foi a cana Crioula, que já era cultivada na Ilha da Madeira por Portugal, mas tem sua origem na Sicília. Essa variedade deu lugar à cana Caiana, vinda da Guiana Francesa, então sob o domínio dos portugueses, e que somente fora substituída por espécies javanesas no século XX (TRINDADE, 2006).

A espécie *Saccharum officinarum* L. foi responsável por grande parte da matéria-prima mundial até o século XX, por meio de cultivares como Bourbon e Caiana. Entretanto, o surgimento da doença sereh e, posteriormente, o mosaico e a gomose, contribuíram para o início do melhoramento genético, a partir de 1880 (LANDELL et al., 2006). Algumas cultivares pertencentes à mesma espécie são Manteiga, Crioula, Riscada, Preta, Roxa, entre outras, muito plantadas no Brasil até 1925. São conhecidas como nobres ou tropicais, apresentam pouca fibra e riqueza de açúcar; porém, são exigentes em solo e clima e susceptíveis às doenças citadas (ANDRADE, 2013).

Atualmente todas as variedades de cana cultivadas são híbridas, resultantes do cruzamento entre diferentes espécies de cana-de-açúcar. Assim, hoje, o nome científico da cana é *Saccharum* spp. (ANDRADE, 2013).

Na Figura 1 são ilustradas algumas variedades de cana e como elas podem ser visualmente diferentes.



Figura 1 Variedades de cana-de-açúcar

Foto: Raffaella Rosseto
Fonte: AGEITEC (2014).

O manejo adequado das variedades contribui para a obtenção de elevados potenciais de produtividade agroindustrial e auxilia na minimização dos custos. Entre as características que uma variedade deve apresentar, estão a alta produtividade, elevado teor de sacarose e amplo período de industrialização, uniformidade de crescimento e boa resistência ou tolerância às principais doenças e pragas etc. Todavia, uma variedade que apresente todas as características desejáveis não existe; todas as variedades têm suas qualidades e defeitos. Estabelece-se como regra geral que a utilização de uma variedade não deve ultrapassar 20-25% da área do produtor (MUTTON; MUTTON, 2005).

De acordo com Andrade (2013), as variedades que são adequadas para a produção de aguardente também o são para a produção de açúcar e álcool. A safra da cana-de-açúcar na Região Sudeste, no Brasil, inicia-se em maio/junho e perdura até o fim do ano, isto é, outubro/novembro. Nesse contexto, as variedades podem ser classificadas de acordo com sua época de maturação:

precoce, que apresenta melhor rendimento industrial e características tecnológicas adequadas para serem colhidas no início da safra; **média**, que será colhida no meio da safra (julho/agosto/setembro); e **tardia**, que será colhida no final da safra.

As principais variedades de cana indicadas para o estado de Minas Gerais são: SP 79-1011, RB 76-5418, SP 80-1842, RB 835054, RB 835486, SP 801816, RB 928064, RB 855536. Todas elas apresentam em comum alto teor de sacarose, média exigência em fertilidade do solo e boa ou ótima brotação de soqueiras, além das características particulares de cada uma. E novas variedades têm sido lançadas a cada ano, proporcionando ganhos altamente significativos (ANDRADE, 2013).

As variedades que possuem a sigla RB (República do Brasil) são desenvolvidas pelo Programa de Melhoramento das universidades federais que compõem a Rede Interuniversitária para Desenvolvimento do Setor Sucroalcooleiro (RIDESA); a sigla SP (São Paulo) é das variedades desenvolvidas pela Cooperativa dos Produtores de Cana-de-açúcar e Álcool do Estado de São Paulo (Coopersucar), atualmente incorporado pelo Programa de Melhoramento do Centro de Tecnologia Canavieira (CTC) (BARBOSA et al., 2007); as variedades desenvolvidas pelo Instituto Agrônomo de Campinas recebem a sigla IAC e variedades desenvolvidas pela CanaVialis (marca comercial da Monsanto para os negócios de cana-de-açúcar e sorgo sacarino no Brasil) levam a sigla CV. Esses são os quatro programas de melhoramento de cana-de-açúcar no Brasil atualmente (BARBOSA; SILVEIRA, 2010).

O Brasil é considerado o maior produtor de cana-de-açúcar do planeta, com uma área colhida de aproximadamente 9,8 milhões de hectares em 2013. São Paulo é o principal estado produtor, seguido de Minas Gerais, Goiás e Paraná (AGRIANUAL, 2015).

Os colmos da cana para serem considerados como uma boa matéria-prima para a produção de cachaça devem ser utilizados em estágio ideal de maturação (Brix maior ou igual a 18%), sadios, recém-cortados, normalmente despontados e livres de matéria estranha. A partir de uma tonelada de colmos, obtêm-se 60 a 80 litros da fração coração da cachaça produzida em um alambique simples. Variedades que apresentam teores de fibra igual ou menor que 11% são consideradas ideais para produção de cachaça, já que, em pequenos alambiques, muito presentes em Minas Gerais, comumente são utilizadas moendas com um único terno, de baixa capacidade de extração de caldo, quando comparadas às moendas das usinas e destilarias, que contêm três ternos de moendas (ANDRADE, 2013).

Antes do fermento ser inoculado no caldo de cana, ele deve ter o teor de açúcar ajustado entre 14° e 16° Brix, pois concentrações superiores podem resultar em fermentações mais lentas e, frequentemente incompletas, reduzindo o rendimento e a qualidade da bebida produzida (CARDOSO, 2013).

2.1.1 Plantio da cana

A cana-de-açúcar pode ser plantada em diversos tipos de solo, em razão da rusticidade natural da planta, do trabalho de melhoramento genético e da possibilidade de correção de fertilidade do solo. A parte física do solo impõe algumas limitações, devendo ser evitados os solos com profundidade efetiva menor que 1,0 metro, para não limitar o crescimento das raízes; solos com lençol freático alto ou solos excessivamente argilosos e mal drenados que prejudicam a aeração, que afeta o desenvolvimento do sistema radicular e o crescimento vegetativo da parte aérea da cana; solos excessivamente arenosos, por apresentarem baixa retenção de água e grande lixiviação de nutrientes (ANDRADE, 2013).

Segundo esse autor, a temperatura média ótima do ar para cultivo da cana é de 25 a 30°C; boa entre 20 e 25°C e praticamente nula abaixo de 20°C ou acima de 35°C. A profundidade ideal de sulcamento é de 20 a 30 cm, com a finalidade de proporcionar um enraizamento mais profundo; espaçamento entre linhas de 1,50 m no caso de canaviais industriais com colheita mecanizada e 1,0 m no caso de pequenas áreas, com capina manual. Para plantar 01 hectare, são necessários de 8 a 10 toneladas de mudas, com solo em boas condições de umidade. O plantio de canas paralelas no sulco cruzadas (pé x cana) garante um bom número de brotações iniciais.

2.2 Padrões de identidade e qualidade da cachaça

A cachaça surgiu no Período Colonial do Brasil, época de imigrantes portugueses e de escravos africanos e na qual se iniciou a plantação de cana-de-açúcar no território e a fabricação do açúcar, produto muito nobre e consumido principalmente por famílias mais abastadas. Durante a fervura da garapa nos engenhos, a espuma formada era retirada dos tachos e jogada em cochos para servir de alimento aos animais, onde fermentava e formava um caldo que passou a ser também consumido pelos escravos por seu sabor e efeito revigorante. Os senhores de escravos portugueses decidiram, então, destilar esse caldo fermentado, assim como era feito com o mosto de uva para a produção de bagaceira e, dessa forma, surgiu a cachaça. Entretanto, não se sabe ao certo em que local do Brasil esse fato teria acontecido primariamente e não há relatos sobre os primeiros alambiques do Brasil (TRINDADE, 2006).

A legislação brasileira estabelece como **aguardente** de cana-de-açúcar a bebida com graduação alcoólica de 38% a 54% em volume, a 20°C, obtida do destilado alcoólico simples de cana-de-açúcar ou pela destilação do mosto fermentado de cana-de-açúcar, podendo ser adicionada de açúcares até 6 g L⁻¹. É

denominada como **cachaça** a aguardente de cana produzida exclusivamente no Brasil, com graduação alcoólica de 38% a 48% v/v, a 20°C, obtida pela destilação do mosto fermentado de cana-de-açúcar com características sensoriais peculiares, podendo ser adicionada de açúcares até 6 g L⁻¹, expressos em sacarose (BRASIL, 2009). Logo, toda cachaça é uma aguardente, mas nem toda aguardente é cachaça.

A qualidade da cachaça pode ser influenciada por diversos fatores, como matéria-prima, conservação e manutenção dos equipamentos, mas também pelas etapas do processo de produção, que são basicamente a moagem da cana, filtração do caldo e preparo do mosto, fermentação, destilação, armazenamento, envelhecimento e engarrafamento. Pesquisas têm sido realizadas em toda a cadeia produtiva da cachaça: seleção de variedades de cana-de-açúcar, aspectos fermentativos, seleção de cepas de leveduras, aperfeiçoamento do processo de destilação, escolha de madeiras para o envelhecimento do produto, e determinação das análises químicas que caracterizam o produto de alta qualidade, buscando tanto a melhoria e a competitividade do produto final quanto o incremento financeiro para o produtor, bem como a elitização do consumo (SCHWAN et al., 2006).

A normatização do registro, padronização, classificação, inspeção e fiscalização da produção e comércio de bebidas são responsabilidade do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). As bebidas que apresentam como matéria-prima os vegetais (como é o caso da cachaça e da aguardente, cuja matéria-prima é a cana-de-açúcar) são fiscalizadas/inspeccionadas pelo Serviço de Inspeção Vegetal – SIV (BRASIL, 2005a).

Os Padrões de Identidade e Qualidade (PIQs) para a aguardente de cana-de-açúcar e cachaça, estabelecidos pela legislação brasileira, conforme a

Instrução Normativa n° 13, de 29 de junho de 2005 (BRASIL, 2005a), estão descritos no Quadro 2.

Componente	Unidade	Limite	
		Mínimo	Máximo
Gradação alcoólica (aguardente)	% v/v de álcool etílico a 20°C	38,0	54,0
Gradação alcoólica (cachaça)	% v/v de álcool etílico a 20°C	38,0	48,0
Sacarose, em açúcar refinado, invertido ou glicose	g L ⁻¹	6,0	30,0
Acidez volátil, em ácido acético	mg/100 mL de álcool anidro	-	150,0
Ésteres, em acetato de etila	mg/100 mL de álcool anidro	-	200,0
Aldeídos, em aldeído acético	mg/100 mL de álcool anidro	-	30,0
Furfural	mg/100 mL de álcool anidro	-	5,0
Álcoois superiores*	mg/100 mL de álcool anidro	-	360,0
Butanol-1	mg/100 mL de álcool anidro	-	3,0
Butanol-2	mg/100 mL de álcool anidro	-	10,0
Congêneres**	mg/100 mL de álcool anidro	200,0	650,0
Álcool metílico	mg/100 mL de álcool anidro	-	20,0
Acroleína	mg/100 mL de álcool anidro	-	5,0
Carbamato de etila	µg L ⁻¹	-	210,0
Cobre	mg L ⁻¹	-	5,0
Arsênio	µg L ⁻¹	-	100,0
Chumbo	µg L ⁻¹	-	200,0
Extrato seco	g L ⁻¹	-	6,0

Quadro 2 Padrões de Identidade e Qualidade (PIQs) da aguardente de cana-de-açúcar e da cachaça

*Álcoois superiores: isobutílico + isoamílico + propílico

**Congêneres: acidez volátil + ésteres + aldeídos + furfural + álcoois superiores

Fonte: (BRASIL, 2005a).

Pelo fato de apresentarem diferenças na sua composição química, o estudo de compostos potencialmente tóxicos, considerados como contaminantes,

tem sido um fator determinante no controle de qualidade da bebida (CARDOSO, 2013).

De acordo com a legislação vigente, a aguardente de cana/cachaça pode ter adicionado em sua denominação o atributo “**Envelhecida**” ou “**Premium**” ou “**Extra Premium**”. A bebida “**Envelhecida**” deve conter, no mínimo, 50% de aguardente de cana/cachaça envelhecida em recipiente de madeira apropriado, com capacidade máxima de 700 L, por um período não inferior a um ano. A denominação “**Premium**” refere-se à bebida que contém 100% de aguardente de cana/cachaça envelhecida em recipiente de madeira apropriado, com capacidade máxima de 700 L, por um período mínimo de um ano. Por fim, a denominação aguardente de cana/cachaça “**Extra Premium**” refere-se à bebida cujo conteúdo é 100% de aguardente de cana/cachaça envelhecida em recipiente de madeira apropriado, com capacidade máxima de 700 L, por um período não inferior a três anos (BRASIL, 2005a).

2.3 Produção de cachaça

A cachaça pode ser produzida de modo artesanal ou industrial. O modo artesanal configura-se pela destilação em almbiques de cobre, no qual separam as frações de cabeça, coração e cauda, e geralmente, produção em pequena escala, fatores que garantem a qualidade sensorial da bebida. O modo industrial é caracterizado pela grande quantidade produzida em colunas de aço inoxidável, mais utilizadas por empresas de médio e grande porte (CARDOSO, 2013).

Segundo Aquino et al. (2006) e Santiago (2014), as principais etapas de produção da cachaça de alambique são: obtenção do mosto, fermentação, destilação e envelhecimento. Na Figura 2 apresenta-se o processo de produção de maneira simplificada.

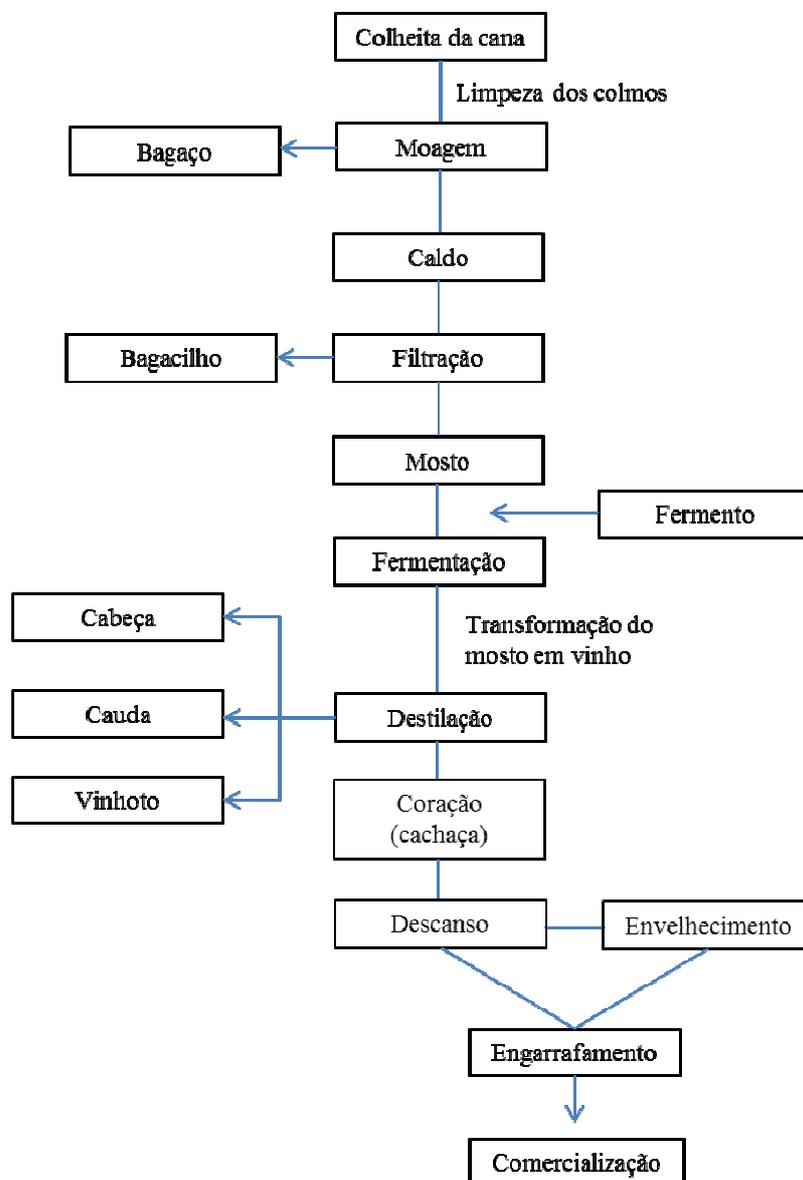


Figura 2 Fluxograma do processo produtivo da cachaça de alambique

Após a colheita da cana e limpeza dos colmos, eles são moídos para que seja liberado o caldo (também conhecido por garapa), com pH levemente ácido

(4,8 – 6,0), e que é constituído de água (65-75%), açúcares (11-18%), pequenas quantidades de substâncias nitrogenadas, ceras, lipídios, pectinas, corantes e sais minerais (SCHWAN et al., 2006).

2.3.1 Fermentação

O termo fermentação é derivado do verbo latino *fervere*, que significa ferver. Tal palavra foi utilizada com a intenção de descrever a aparência da ação das leveduras no mosto (caldo de cana pronto para ser fermentado). A levedura *Saccharomyces cerevisiae* é a espécie mais empregada para a produção de bebidas alcoólicas, apesar de já terem sido isoladas outras espécies de leveduras diferentes, provenientes do processo de fermentação da cachaça. A fermentação alcoólica é o processo de oxidação anaeróbica parcial da glicose, transformando-a em etanol e CO₂ (Figura 3), e ocorre quando as leveduras encontram-se sob escassez ou ausência de oxigênio ou em elevadas concentrações de açúcares (SCHWAN; DIAS; DIAS, 2013).

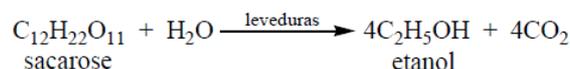


Figura 3 Equação simplificada da fermentação alcoólica por leveduras

O vinho, isto é, o mosto fermentado, contém um grande número de componentes de natureza distinta, podendo ser sólidos, líquidos ou gasosos, alguns deles considerados tóxicos e não sendo, portanto, recomendada sua ingestão. Entretanto, como as substâncias voláteis apresentam propriedades químicas e físicas diferentes, é possível separá-las por meio da diferença da temperatura de ebulição existente entre elas, pelo processo de destilação (NOGUEIRA; VENTURINI FILHO, 2005).

2.3.2 Destilação

A destilação pode ser considerada como um processo de purificação do vinho. Sua finalidade é a separação dos componentes voláteis ali presentes por meio do aquecimento do líquido em alambique e posterior condensação dos vapores formados. Durante a destilação, ocorrem algumas reações químicas, tais como hidrólise, esterificação e acetilação, induzidas pelo calor. A maneira como a destilação é conduzida determinará quais compostos serão carregados pelo vapor para a bebida, influenciando diretamente a qualidade da cachaça produzida (CARDOSO, 2013).

Os vinhos são constituídos de etanol, água e congêneres, como ácidos, álcoois, ésteres, compostos carbonilados, acetais, fenóis, hidrocarbonetos, compostos nitrogenados, compostos sulfurados e açúcares residuais não fermentados. No ato da destilação, esses compostos são concentrados e atingem valores que caracterizam e qualificam a bebida (CARDOSO, 2013; SUOMALAINEN; LEHTONEN, 1979).

A maioria dos aparelhos de destilação usados na obtenção de bebidas destiladas são construídos com cobre, metal bem maleável, bom condutor de calor, resistente ao desgaste físico, apresentando grande influência na formação de sabor e aroma do produto. As reações entre os congêneres e as superfícies de cobre do destilador são especialmente importantes. Essas são capazes de remover ou modificar muitos compostos desagradáveis presentes no processo, como aqueles que contêm grupos sulfurados em sua cadeia (YOKOYA, 1995).

Durante a destilação em alambique de cobre, ocorre separação do destilado total em três frações: cabeça, coração e cauda. Segundo Reche et al. (2007), as frações podem ser separadas com base no teor alcoólico e o principal objetivo dessa separação é assegurar que a cachaça apresente baixa ou nenhuma concentração de substâncias nocivas à saúde humana e compostos que diminuam

a qualidade sensorial da bebida, bem como apresentar concentrações aceitáveis de etanol e de componentes que contribuam para o sabor e aroma da cachaça (DIAS, 2013).

A **fração da cabeça** é a primeira a ser recolhida, com um teor alcoólico alto (50 – 70% v/v), corresponde aos primeiros vapores e é separada recolhendo-se 1 a 5% do volume total do vinho ou 5 a 8% do total do destilado, dependendo da geometria do aparelho. A **fração do coração** é recolhida logo após, constituída de 16% do volume total do vinho ou 80% do destilado. A **fração da cauda** é caracterizada por baixo teor alcoólico (10 – 38% v/v) e, por essa razão, também é chamada de água fraca, corresponde a 3% do volume total do vinho ou 15% do destilado. As frações da cabeça e da cauda não devem ser aproveitadas para fins alimentícios por conterem substâncias tóxicas, como o metanol (DIAS, 2013; SOUZA et al., 2009).

Após a destilação, a cachaça ainda não está totalmente pronta para ser consumida porque apresenta um bouquet irregular, sendo necessário um período de descanso de aproximadamente três meses para completar sua qualidade, devendo ser armazenada em recipientes apropriados, como dornas de aço inoxidável ou madeira ou mesmo recipientes de vidro, em local protegido, evitando altas temperaturas (CARDOSO, 2013).

2.4 Compostos secundários e contaminantes presentes nas cachaças

A cachaça é dividida em fração orgânica e inorgânica. A primeira é constituída basicamente de alcoóis, aldeídos, ésteres, ácidos carboxílicos, cetonas, carbamato de etila e compostos sulfurados. Dependendo do teor e dos compostos presentes, a bebida pode ser classificada como desejável ou não, em relação à aceitação sensorial, ou então, tóxica ou não tóxica, em relação à saúde. A fração inorgânica é constituída principalmente por íons metálicos, tais como

cobre, alumínio, cálcio, chumbo, ferro, entre outros (SIEBALD; CANUTO; SILVA, 2009).

O álcool etílico é o produto majoritário formado durante o processo de fermentação do mosto de cana-de-açúcar para a produção da cachaça. Entretanto, outros compostos também são formados, em quantidades menores quando comparado ao álcool etílico produzido, e são denominados compostos secundários, tais como os aldeídos, álcoois superiores, ésteres e ácidos orgânicos (CARDOSO, 2013).

Os álcoois com três a cinco átomos de carbono são chamados álcoois superiores e são frequentemente encontrados em bebidas destiladas. Conhecidos como óleo fúsel, geralmente apresentam um odor característico de flores, e juntamente com os ésteres são responsáveis pelo *flavour* da aguardente. Os principais álcoois superiores encontrados em aguardentes são os álcoois isoamílico (2-metilbutanol-1), amílico (1-pentanol), isobutílico (2-metilpropanol-1) e propílico (propanol) (VILELA et al., 2007).

O álcool metílico, no entanto, é um álcool particularmente indesejado na cachaça. Sua ingestão, mesmo em quantidades reduzidas, por longos períodos de consumo, pode ocasionar cegueira ou mesmo a morte. Essa substância é originada na degradação da pectina, um polissacarídeo presente na cana-de-açúcar em quantidades muito pequenas, que chega até as dornas de fermentação por meio dos bagacilhos, quando não há filtragem do mosto (BADOLATO; DURAN, 2000).

O acetado de etila é o principal éster encontrado na aguardente de cana, formado por meio de pequenas quantidades de etanol e ácido acético, provenientes do processo de fermentação. Quando em quantidades limitadas, é responsável pela incorporação de um aroma agradável de frutas, desejável nessa bebida. Quando em excesso, confere à aguardente um sabor enjoativo e indesejável. Os ésteres geralmente são formados por meio das reações de

esterificação entre os álcoois e os ácidos carboxílicos formados durante o processo oxidativo (MIRANDA; HORII; ALCARDE, 2006; PEREIRA et al., 2003).

Entre os ácidos produzidos durante a fermentação alcoólica, o ácido acético tem sido quantitativamente o principal componente da fração ácida das aguardentes, expresso em acidez volátil. A levedura *Saccharomyces cerevisiae* utilizada para a produção da bebida pode converter o açúcar em ácido acético na presença de oxigênio. Em sua ausência, esse micro-organismo produz apenas pequenas quantidades de ácido acético. Quantidades elevadas desse ácido carboxílico são frequentemente associadas às práticas de estocagem da cana e contaminações do mosto com bactérias acéticas, decorrentes de um tempo excessivo de descanso entre o processo de fermentação e a destilação (CARDOSO, 2013; PEREIRA et al., 2003).

Os aldeídos são formados durante o processo de fermentação alcoólica. A formação desses compostos é resultado da ação de leveduras durante os estágios preliminares do processo de fermentação, tendendo a desaparecer nas etapas finais desde que o meio reacional não sofra aeração. O principal aldeído formado nesta etapa de produção da bebida é o acetaldeído. Os demais aldeídos são obtidos provavelmente pela oxidação de álcoois superiores (PEREIRA et al., 2003).

O furfural e o hidroximetilfurfural podem ser encontrados no caldo da cana quando ela é submetida à queima da folhagem para facilitar a colheita, fato ainda comum em algumas lavouras. O procedimento provoca a desidratação parcial de uma pequena fração dos açúcares presentes na cana-de-açúcar. Quando, nesse processo, estão envolvidas as pentoses, há a formação do 2-furfural (furfural), e quando estão envolvidas as hexoses, forma-se o 5-hidroximetil-2-furfural (hidroximetilfurfural) (MASSON et al., 2007).

O carbamato de etila tem despertado o interesse de estudiosos, visto que, quando em grandes quantidades na bebida, esse composto pode trazer sérios problemas ao organismo devido à sua potencialidade carcinogênica (CARDOSO, 2013; MASSON, 2005) sendo considerado um contaminante orgânico, assim como o metanol, o furfural e o hidroximetilfurfural. Pesquisadores têm avaliado a relação desses compostos com o tempo de armazenamento e o tipo de recipiente (ANJOS et al., 2011; SANTIAGO et al., 2014; ZACARONI et al., 2011) e o tipo de fermento (MENDONÇA, 2014),

Os contaminantes inorgânicos também estão presentes nas aguardentes, representados pelo cobre, o chumbo e o arsênio, entre outros (ROSE; HARRISON, 1970). A quantificação de metais em aguardentes é efetuada com diversas finalidades, sendo a mais importante a presença de espécies metálicas em níveis tóxicos, atendendo as especificações exigidas pelas leis do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

O cobre, um dos metais mais importantes que podem ser encontrados na cachaça, é proveniente, principalmente, do material constituinte dos alambiques. Ele contribui na eliminação de certos odores desagradáveis, observados em aguardentes destiladas em alambiques confeccionados com materiais nos quais não está presente esse metal, tal como aço inox. De modo geral, o que se observa é que a assepsia cuidadosa dos alambiques, após o procedimento de alambicagem, tende a reduzir consideravelmente os problemas de excesso de cobre nas aguardentes (LIMA et al., 2006).

2.5 Carbamato de etila

Formado naturalmente durante processos fermentativos, o carbamato de etila (CE) é o éster do ácido carbâmico, apresentando fórmula molecular $C_2H_5OCONH_2$, com temperatura de ebulição entre 182 e 184°C, temperatura de

fusão de 48 a 50°C e massa molar de 89,09g mol⁻¹ (MERCCK INDEX, 2001). Sua estrutura é mostrada na Figura 4. É também conhecido como uretana e pode ser encontrado em diversos alimentos e bebidas produzidas por fermentação de micro-organismos, tais como pão, iogurte, vinho, cerveja e, principalmente, em bebidas fermento-destiladas, como uísque, rum, vodca, graspa, cachaça e tiquira (ANJOS et al., 2011).

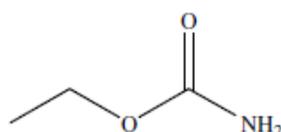


Figura 4 Fórmula estrutural do carbamato de etila

De acordo com Bruno et al. (2007) e Polastro et al. (2001) esse composto é formado por meio da degradação enzimática da arginina em ureia, pelo metabolismo das leveduras durante o processo fermentativo, a qual reage com etanol, produzindo o carbamato de etila. A presença de precursores nitrogenados durante o processo de destilação e altas temperaturas, resultante do mau dimensionamento do sistema de destilação ou operação com níveis de refluxo impróprios, favorecem a formação do carbamato.

Alguns pesquisadores relacionam a influência do processo de destilação e da composição do destilador na formação do carbamato de etila em aguardentes de cana-de-açúcar, observando-se uma dependência entre a concentração de carbamato de etila, a geometria do destilador e o processo de destilação (BRUNO et al., 2007; CARDOSO; LIMA-NETO; FRANCO, 2003; NASCIMENTO et al., 1998; SANTIAGO, 2013).

Barcelos et al. (2007); Lachenmeier, Nerlich e Kuballa (2006); Park et al. (2007) relataram níveis desse composto em concentrações que variam de 0 a

3,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ em queijos, chás, iogurtes e cidras; já em pães e nas bebidas do malte, a concentração variava na faixa de 0 a 13,0 $\mu\text{g L}^{-1}$; em molhos de soja, de 0 a 84,0 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Segundo a Agência Internacional de Investigação do Câncer (IARC), o carbamato de etila foi classificado como um possível carcinógeno humano, sendo já reconhecido seu poder de causar câncer em animais (LACHENMEIER; NERLICH; KUBALLA, 2006).

O Canadá foi o primeiro país a possuir legislação sobre o conteúdo de carbamato de etila em alimentos, estabelecendo limites máximos para o carbamato de etila em diferentes bebidas alcoólicas (Quadro 3) e, por isso, pode ser considerado como referencial (ANDRADE-SOBRINHO et al., 2002). Nos Estados Unidos, a Food and Drug Administration (FDA) elaborou um plano de redução dos níveis de CE, com limites de até 125 $\mu\text{g L}^{-1}$ para uísques e até 15 $\mu\text{g L}^{-1}$ para vinhos (XU et al., 2012).

O MAPA estipulou, por meio da Instrução Normativa N. 13, de 29/06/2005, que o limite máximo permitido para esse composto em aguardente e cachaça seria de **150 $\mu\text{g L}^{-1}$** , até agosto de 2014, quando o limite foi elevado para **210 $\mu\text{g.L}^{-1}$** , pela Instrução Normativa N° 28, de 08/08/2014 (BRASIL, 2014).

Bebida	Limite máximo ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Vinhos	30,0
Vinhos fortificados	100,0
Bebidas destiladas	150,0
Destilados de frutas e licores	400,0

Quadro 3 Limites estabelecidos pelo Canadá para teores de carbamato de etila em bebidas alcoólicas

A formação do carbamato de etila na produção de cachaça pode ocorrer antes, durante e depois do processo de destilação, incluindo o armazenamento da bebida, podendo haver um aumento potencial tanto na bebida que foi armazenada em tonéis de madeira quanto em recipientes de vidros (ANJOS et al., 2011). A formação do CE em etapas posteriores à destilação é dependente da concentração, pH, luz e tempo de armazenamento (NAGATO; NOVAES; PENTEADO, 2003).

O método oficial e mais utilizado para determinação de carbamato de etila em bebidas alcoólicas é a cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (GC-MS). Alguns autores, no entanto, têm utilizado a cromatografia líquida de alta eficiência com detector de fluorescência (HPLC – FLD). A derivação prévia do CE (Figura 5) possibilita sua detecção em diferentes matrizes e vem sendo usada como alternativa ao método oficial para determinação desse contaminante em cachaças. Os níveis de detecção obtidos são similares aos obtidos em GC-MS (ANJOS et al., 2011; MACHADO et al., 2012).

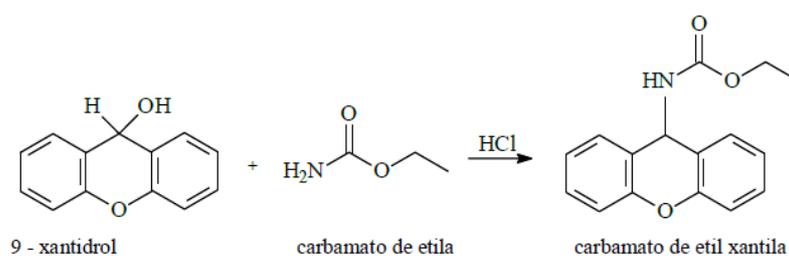


Figura 5 Formação do carbamato de etil xantila por meio da reação entre 9-xantidrol e carbamato de etila sob condições ácidas

Fonte: (ANJOS et al., 2011).

Machado et al. (2013) determinaram CE em cachaças produzidas por alambiques de cobre utilizando HPLC – FLD. O método utilizado pelos autores

apresentou excelentes resultados para os parâmetros de validação em termos de linearidade, detecção, limites de quantificação e precisão, demonstrando que o método é adequado para a análise do CE em cachaças.

2.5.1 Formação do carbamato de etila

A formação do carbamato de etila em diferentes tipos de bebidas alcoólicas envolve pelo menos cinco precursores principais, incluindo ureia, citrulina, fosfato de carbamila, compostos cianogênicos e o dietilpirocarbonato. Ureia, citrulina e fosfato de carbamila são acumulados principalmente por micro-organismos, tais como leveduras e bactérias do ácido lático, ao passo que os outros dois precursores são produzidos por várias reações enzimáticas durante o processo de fermentação (ZHAO et al., 2013).

Em vinhos, o CE pode ser formado durante e depois da fermentação, e durante o processo fermentativo, as reações de fermentação do CE são influenciadas pelo tipo de levedura, nutrientes adicionados ao mosto, temperatura e acidez da fermentação (LABANCA; GLÓRIA; AFONSO, 2008).

Em bebidas alcoólicas, incluindo saquê, vinho de arroz e vinho de uva, a ureia é acumulada principalmente pela levedura, sendo o principal precursor do CE. Nas células, a ureia vem da arginina pela degradação da arginase pelo do ciclo da ureia, sendo degradada em amônia e dióxido de carbono pela ação da ureia amidoliase (ZHAO et al., 2013).

A degradação térmica da ureia (60 – 100°C), na presença de soluções hidroalcoólicas, em isocianato e cianato é outro caminho possível para a formação do carbamato de etila durante a destilação. O isocianato e o cianato podem reagir com o etanol, em meio ácido, formando o CE (BRUNO et al., 2007). A decomposição térmica da ureia em amônia e ácido ciânico e posterior

reação do ácido cianico com etanol também é uma possível via de formação do carbamato de etila (SCHABER et al., 2004).

Alguns autores acreditam que a formação desse contaminante também possa ocorrer pela degradação enzimática da arginina em ureia, realizada pelo metabolismo das leveduras durante o processo fermentativo, produzindo prováveis precursores, como o fosfato de carbamila, citrulina e aminoácidos N-carbamil. Esses compostos estão presentes em bebidas alcoólicas, como o vinho, e podem reagir com etanol em pH ácido, formando carbamato de etila (NAGATO; NOVAES; PENTEADO, 2003).

O carbamato de etila ainda pode ser formado a partir do cianeto, pela ação enzimática e clivagem térmica dos glicosídeos cianogênicos presentes em alguns vegetais, tais como a cevada, mandioca, aveia, arroz, centeio, trigo, maçã e manga. O cianeto degradado enzimaticamente pode ser oxidado a cianato (OCN), o qual reage com o etanol para formar o CE (GALINARO; FRANCO, 2011; LACHENMEIER et al., 2005).

2.6 Mercado de Cachaça

O mercado nacional de bebidas alcoólicas tem enorme variedade de produtos e atende a todas as classes sociais do Brasil, segundo a Associação Brasileira de Bebidas (ABRABE). De acordo com a entidade, a cachaça constitui-se como o segundo maior mercado de bebidas alcoólicas no Brasil, ficando atrás apenas da cerveja. Como a cerveja é uma bebida apenas fermentada, a cachaça é o destilado mais consumido do Brasil (correspondendo a 50% do volume do segmento de destilados) e o terceiro maior destilado do mundo, comprovando sua competitividade no mercado internacional.

O Instituto Brasileiro da Cachaça (IBRAC) estima que o Brasil possui capacidade instalada de produção de cachaça de aproximadamente 1,2 bilhão de

litros anuais; porém, se produzem anualmente menos de 800 milhões de litros. São quase 12 mil estabelecimentos produtores no país, mas existem estimativas somadas de associações regionais que chegam a quase 15 mil estabelecimentos; porém, devidamente registrados no Ministério de Agricultura e Receita Federal, são menos de 2.000 estabelecimentos, com 4.000 marcas, demonstrando que embora 90% da produção sejam legalizados, estima-se que 85% dos produtores, na maioria micro e pequenos, sejam informais (INSTITUTO BRASILEIRO DA CACHAÇA, 2008).

O estado de Minas Gerais se destaca dos demais por abrigar 548 estabelecimentos produtores e 1612 marcas de cachaça e aguardente de cana (INSTITUTO BRASILEIRO DA CACHAÇA, 2013).

No mercado externo, foram vendidos 10,18 milhões de litros de cachaça no ano de 2014, um aumento de mais de 10% no volume em relação a 2013. Exportada para 66 países, com mais de 60 empresas exportadoras, gerou receita de US\$ 18,33 milhões, um aumento de mais de 10% em relação a 2013. Os principais países de destino em valor são: Alemanha, Estados Unidos, França, Portugal, Paraguai e Itália (INSTITUTO BRASILEIRO DA CACHAÇA, 2015).

Parte desse sucesso internacional pode ser explicado pelo acordo firmado entre Brasil e Estados Unidos, em 2012, em que os Estados Unidos passaram a reconhecer a cachaça como um produto exclusivo e genuinamente brasileiro, e o Brasil, por sua vez, passou a reconhecer como legitimamente americanos os uísques do tipo Bourbon e Tennessee. Tal reconhecimento torna proibido o uso da denominação cachaça por empresas de outros países e garante que se trata de uma bebida típica e exclusiva do Brasil, permitindo às empresas brasileiras venderem o destilado nos Estados Unidos apenas com o nome de cachaça. Antes do acordo, não havia diferenciação entre o rum e a cachaça naquele país, seus parâmetros físico-químicos e das suas características

sensoriais, pois ambos são produzidos a partir da cana-de-açúcar (INSTITUTO BRASILEIRO DA CACHAÇA, 2012).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Coleta de amostras

Foram coletadas 13 amostras de destilados de caldo de cana-de-açúcar em alambiques do estado de Minas Gerais, caracterizando cada uma um sistema de produção agroindustrial.

Com relação às variedades de cana utilizadas, 10 amostras foram produzidas com diferentes variedades de cana-de-açúcar e três com a mesma variedade, porém, de produtores diferentes.

Na Tabela 1 são apresentadas as variedades de cana usadas para produzir as bebidas e suas respectivas cidades de origem.

Tabela 1 Variedades de cana-de-açúcar usadas para produzir cachaça, tipo de fermento, cidades de origem das amostras

Amostra	Tipo de fermento	Variedade	Cidade de origem
A	Selvagem	CO421	Cel. Xavier Chaves
B	Selvagem	RB739735	Divinésia
C	Selvagem	CO413	Guiricema
D	Selvagem	SP803280	Ponte Nova
E	Selvagem	SP801816	Ponte Nova
F	Selvagem	RB867515	Santa Bárbara do Tugúrio
G	Selvagem	Caiana	Poço Fundo
H	LNF CA-11	RB867515	Toledo
I	LNF CA-11	RB801842	Lavras
J	Selvagem	SP791011	Perdões
K	Selvagem	RB867515	Perdões
L	Selvagem	SP813250	Ponte Nova
M	Selvagem	Espalha-rama	Presidente Bernardes

De acordo com Silveira, Barbosa e Oliveira (2002), os municípios de Barbacena, São João del-Rei e Lavras estão inseridos dentro da região de Campos das Vertentes, na qual também estão inseridos os municípios de Santa Bárbara do Tugúrio, Coronel Xavier Chaves e Perdões. A região se caracteriza por solos de baixa fertilidade natural e inverno com possibilidades de geadas. Alguns fatores negativos que devem ser evitados nas canas plantadas nessas localidades são as seguintes características: desenvolvimento vegetativo inicial lento e suscetibilidade à ferrugem e carvão. As variedades predominantes são: Co413 (Manteiga), Co419 (Coxa-de-Moça), CB45-3 (Roxinha), CB47-355 (Mulata-Pelada), CB40-77, CB49-15, RB785148, RB765418, RB739359, RB739735, CB61-7, Co290 (Canela-de-Urubu), Espalha-Rama (provavelmente oriunda de Java), NA56-79, SP71-1406 e SP79-1011.

Os municípios de Cataguases, Juiz de Fora, Manhuaçu, Muriaé, Ponte Nova, Ubá, Viçosa, Visconde do Rio Branco, pertencem à região da Zona da Mata Mineira, onde há predominância de solos de baixa fertilidade natural e onde também estão inseridos os municípios de Divinésia, Guiricema e Presidente Bernardes. A topografia acidentada exige do produtor maior cuidado no manejo e conservação do solo. A ocorrência de pragas é localizada, devendo-se atentar para a cigarrinha-da-cana-de-açúcar, cupins e formigas-cortadeiras. As variedades mais cultivadas foram: CB47-89, CB49-19, CB40-77, CB49-260, CB45-3, CB47-355, CB53-98, Co419, Co740, Co413, NA56-79, Espalha-Rama e Co421. As variedades que têm sido introduzidas mais recentemente são: RB835486, RB867515, RB928064, SP80-1842, SP80-1816, RB855536, SP80-3280, RB739735, RB76541', RB72454, SP79-1011 e SP71-1406.

A Região Sul/Sudeste de Minas contém os de Alfenas, Andrelândia, Itajubá, Passos, Poços de Caldas, Pouso Alegre, Santa Rita do Sapucaí, São Lourenço, São Sebastião do Paraíso e Varginha. Poço Fundo e Toledo também pertencem à região. O clima é bastante variável entre os municípios inseridos

nessa região. Há locais onde há limitação para o cultivo de variedades, como a SP79-1011 e a RB835486, pois essas não são muito tolerantes à ferrugem. A escolha da área para introdução do canavial deve também ser relevada nas regiões e locais mais sujeitos à ocorrência de geada. Em determinados locais, a topografia ondulada sugere adoção de práticas culturais que amenizem possíveis ocorrências de erosão do solo. As variedades predominantes nessa região são: SP79-1011, SP71-1406, RB785148, CB45-3, NA56-79, CB47-355, SP70- 1143, RB72454, RB765418, IAC86-110, IAC64-356, Co413 e CB41-76.

A escolha das amostras foi baseada nos dados fornecidos pelos produtores, que durante as etapas de fermentação utilizaram caldo oriundo de apenas uma variedade de cada vez. Além disso, a cachaça não passou por qualquer tratamento depois de pronta para mudar suas características, como adição de corante ou carvão.

Todos os produtores eram de pequeno porte, utilizavam dornas de aço inoxidável para fermentação e alambiques de cobre na destilação e não realizavam queima do canavial antes da colheita.

As amostras foram coletadas em seus locais de produção, diretamente nas cidades produtoras, em garrafas de vidro e identificadas com: a marca do produto, cidade e data de coleta da amostra, variedade da cana-de-açúcar utilizada na produção.

3.2 Análises físico-química das cachaças

As análises foram realizadas no Laboratório de Qualidade de Aguardente no Departamento de Química da UFLA, segundo os parâmetros estabelecidos pela Instrução Normativa nº 24, de 08/09/2005 do Ministério Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), com algumas modificações (BRASIL, 2005b).

Inicialmente, as amostras foram redestiladas em triplicatas, em destilador de vidro (Figura 6), e acondicionadas em frascos de vidro hermeticamente fechados e mantidos sob refrigeração até o momento de cada análise. Para cada triplicata, foram utilizados 250 mL de cachaça, redestilados, até que fossem recuperados $\frac{3}{4}$ desse volume, usados para determinar o teor alcoólico, álcoois superiores, aldeídos, furfural, ésteres e metanol. O exame organoléptico e a determinação de acidez volátil, extrato seco e cobre foram realizados sem a redestilação da cachaça.



Figura 6 Destilador empregado para redestilar as amostras

As metodologias empregadas para as análises estão descritas a seguir.

- **Exame organoléptico:** a análise foi realizada observando-se a amostra de cachaça contra um transluminador de luz branca. Os seguintes parâmetros foram observados: aspecto, coloração, limpidez, presença de corpos estranhos, vazamentos e oleosidade.

- **Teor alcoólico:** determinado por densimetria, sendo o resultado expresso em percentagem em volume. Mediu-se o teor alcoólico das amostras redestiladas que estavam à temperatura ambiente de 20°C, com o auxílio de um densímetro digital DensiMat Gibertini.

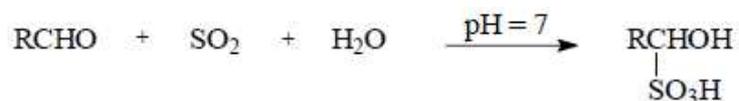
- **Extrato seco:** a análise foi efetuada por meio de métodos gravimétricos. Inicialmente, uma cápsula de alumínio seca foi previamente pesada em balança analítica com precisão de 0,0001 g. Em seguida, uma alíquota de 25 mL da amostra sem redestilar foi transferida para a cápsula e evaporada em banho-maria a 95°C, por 3 horas. Decorrido esse tempo, a amostra foi levada à estufa a 100°C por 30 minutos e, logo depois, o material foi resfriado em dessecador. O resíduo sólido remanescente foi pesado em balança analítica (Marte/ AM - 220) e os resultados obtidos, expressos em gramas de extrato seco por litro da amostra.

- **Acidez:** foi determinada por titulação volumétrica de neutralização. Os ácidos voláteis foram extraídos da bebida por arraste a vapor d'água, utilizando o destilador eletrônico Enochimico Gibertini (Figura 7). Foram utilizados 20 mL de cachaça sem redestilar e recolhidos 250 mL da mistura hidroalcoólica obtida, que, em seguida, foi titulada com hidróxido de sódio 0,1 mol L⁻¹ em presença de fenolftaleína 1%. Os resultados obtidos foram expressos em gramas de ácido acético por 100 mL de amostra ou por 100 mL de álcool anidro.

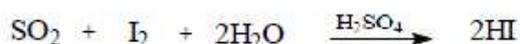


Figura 7 Destilador Eletrônico Enochimico Gibertini

- **Aldeídos:** foram analisados pelo método titulométrico direto com iodo $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, titulando o SO_2 formado por meio das reações envolvidas na análise. Os aldeídos reagem com íons bissulfitos (em excesso), em pH neutro em um meio tamponado. Em meio fortemente ácido, o bissulfito em excesso reage com o iodo para impedir a dissociação do composto aldeído-bissulfito, que é estável em pH 2,0. O bissulfito, que está combinado com o aldeído, é titulado com a solução de iodo, após ser liberado em meio alcalino (pH 9,0). A quantidade de aldeídos presente nas amostras foi expressa em gramas de aldeído acético por 100 mL da amostra ou por 100 mL de álcool anidro. As reações envolvidas nesse processo estão apresentadas na Figura 8.



o SO_2 , em excesso, reage com I_2 , em meio ácido:



em meio alcalino, o aldeído é então determinado:



Figura 8 Reações envolvidas na determinação dos aldeídos

Fonte: Cardoso (2013).

- **Furfural:** a quantificação do furfural foi realizada pela técnica de espectrofotometria (Shimadzu UV-160-1PC), na região visível do espectro, a 520 nm, por comparação das absorbâncias observadas nas amostras da bebida com valores de absorbâncias de uma curva analítica, previamente construída com soluções padrão de etanol/furfural.

Antes da leitura de furfural no espectrofotômetro, o grau alcoólico da cachaça redestilada foi corrigido para 50°GL. Quando o grau alcoólico da amostra está abaixo de 50°GL, adiciona-se álcool etílico a uma concentração de 90°GL; quando estiver acima de 50°GL, água destilada é adicionada. A reação colorimétrica ocorre entre o furfural e a anilina, em meio ácido (Figura 9). O produto colorido da reação (imina) é, então, lido no aparelho. Os resultados obtidos foram comparados com os de uma curva analítica, construída a partir de soluções com concentrações conhecidas de furfural, e expressos em miligrama de furfural por 100 mL de álcool anidro.

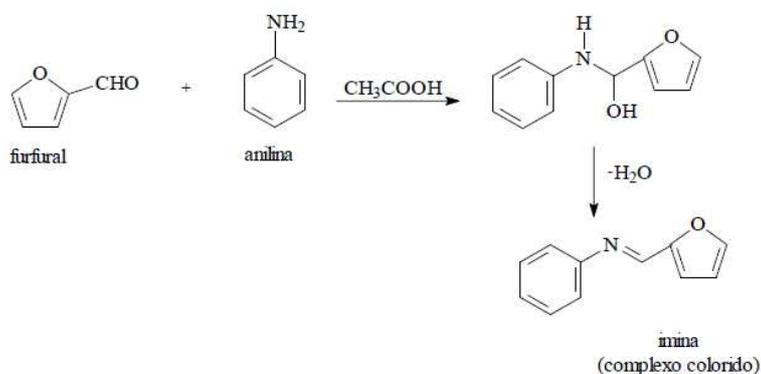


Figura 9 Reação envolvida na análise de furfural

Fonte: Cardoso (2013).

- **Ésteres:** foram determinados pela titulação dos ácidos carboxílicos obtidos por transesterificação dos ésteres presentes nas amostras, conforme mostrado na Figura 10. Inicialmente, 50 mililitros de amostra foram colocados em erlenmeyers e neutralizados com solução padronizada de hidróxido de sódio, concentração de $0,025 \text{ mol L}^{-1}$, na presença de fenolftaleína 1% como indicador. Logo depois, foram adicionados 5 mL de solução padronizada de NaOH; desta vez, na concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, e deixado em repouso por 12 horas. Decorrido esse intervalo, 5 mL de ácido sulfúrico, $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, foram acrescentados à amostra, quando, então, foi titulada com hidróxido de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. A quantidade total de ésteres foi expressa em gramas de acetato de etila por 100 mL de amostra.

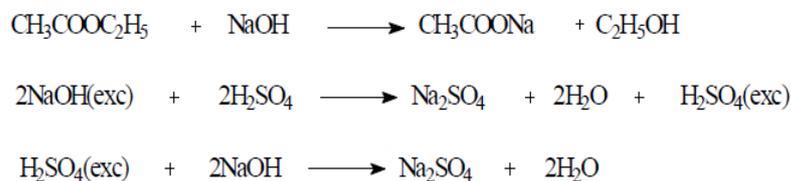


Figura 10 Reações envolvidas na análise de ésteres

Fonte: Cardoso (2013).

- **Cobre:** A quantificação do cobre foi realizada por meio da adição de cloridrato de hidroxilamina e acetato de sódio para promover uma redução do Cu^{2+} presente nas amostras para Cu^+ . Em seguida, foi adicionada solução de 2,2-diquinolilo em álcool isoamílico, formando-se um complexo de coloração violeta entre o cobre reduzido e a solução (Figuras 11 e 12). Quanto mais intensa a coloração violeta, maior o teor de cobre. A quantificação do metal foi realizada por meio de medidas espectrofotométricas na região visível do espectro, a 546 nm, em um espectrofotômetro Shimadzu UV-1601 PC, sendo as quantidades nas amostras determinadas por meio da construção de uma curva analítica, utilizando-se sulfato de cobre como padrão. Os resultados obtidos foram expressos em mg L^{-1} (CARDOSO, 2013).

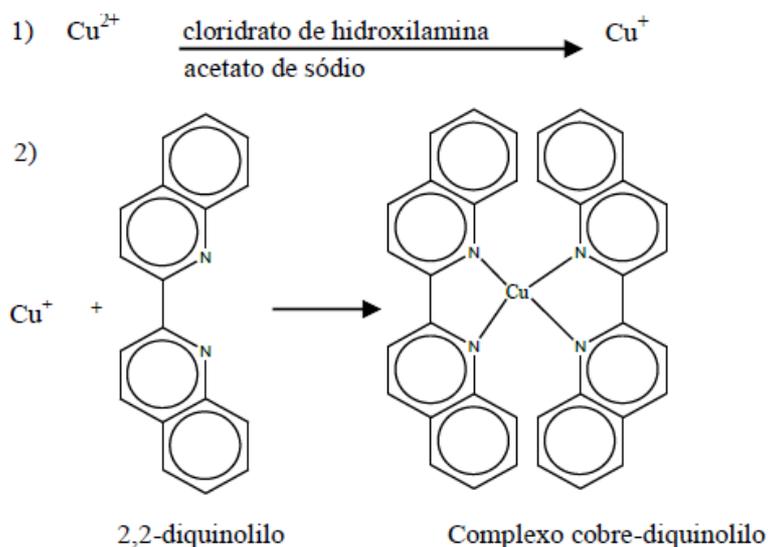


Figura 11 Reações envolvidas na análise de cobre

Fonte: Cardoso (2013).



Figura 12 Soluções-padrão empregadas para construção da curva analítica para análise de cobre, por meio da qual possível observar o composto de coloração violeta formado

3.3 Análises cromatográficas das cachaças

As condições dos métodos cromatográficos utilizados são descritas a seguir.

3.3.1 Cromatografia gasosa

As análises dos álcoois superiores foram realizadas em cromatógrafo gasoso Shimadzu (GC2010), autoamostrador AOC-20i, detector de ionização de chama e coluna DB-WAX (30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m).

3.3.1.1 Álcoois superiores e metanol

A metodologia usada para a análise dos álcoois superiores nas amostras foi aquela proposta por Vilela et al. (2007), com modificações.

Os padrões empregados para análise dos álcoois superiores foram o 1-butanol, 2-butanol, isoamílico, isobutílico, propanol, metanol, sendo todos da marca Merck, de grau analítico para cromatografia. Para a curva analítica, foi feita uma solução (mix) em uma concentração de 4 g L⁻¹ em etanol 40%.

A identificação dos compostos foi realizada por comparação do tempo de retenção das amostras em relação aos padrões.

3.3.1.2 Preparação das amostras e cromatógrafo

As amostras destiladas foram injetadas diretamente no cromatógrafo gasoso. As injeções das amostras foram realizadas em triplicata, sendo a identidade dos analitos confirmada pelo tempo de retenção e o perfil dos picos das amostras comparados aos dos padrões.

3.3.1.3 Condições Cromatográficas

As condições do método cromatográfico empregado são apresentadas na Tabela 2 e na Tabela 3.

Tabela 2 Condições do método de cromatografia gasosa empregada para análise de álcoois superiores e metanol

Temperatura da coluna	55°C
Temperatura do injetor	150°C
Temperatura do detector	170°C
Fluxo	1,4 mL/min
Split	1:10

Tabela 3 Rampa de temperatura do método de cromatografia gasosa empregada para análise de álcoois superiores e metanol

Rampa/rate	Temperatura (°C)	Tempo (minutos)
-	55	1
1,0°C/min	70	1

3.3.2 Cromatografia líquida

Utilizou-se um cromatógrafo líquido de alta eficiência (HPLC) da marca Shimadzu, equipado com duas bombas de alta pressão modelo SPD-M20A, degaseificador modelo DGU-20A3, um injetor automático com autoamostrador modelo SIL-10AF, interface modelo CBM-20A e um detector de fluorescência (FLD) modelo RF-10AXL. As separações foram realizadas empregando-se uma coluna Agilent - Zorbax Eclipse AAA (4,6 x 150 mm, 5µm) conectada a uma pré-coluna Agilent - Zorbax Eclipse AAA 4-Pack (4,6 x 12,5 mm, 5µm).

3.3.2.1 Análise de carbamato de etila

A identificação e quantificação foram realizadas segundo a metodologia descrita por Madrera e Valles (2009), modificada por Anjos et al. (2011) e Santiago et al. (2014), utilizando a padronização externa e realizando a derivação prévia das amostras para posterior análise por HPLC. Os reagentes empregados para análise foram padrão de carbamato de etila (Acros Organics), etanol, propanol, hexano, ácido clorídrico (HCl), acetato de etila, acetato de sódio, acetonitrila grau HPLC (Merck), água tipo I e 9-xantidrol (Acros Organics).

3.3.2.2 Derivação do padrão de carbamato de etila

Uma solução de 9-xantidrol foi preparada à concentração de $0,2 \text{ mol L}^{-1}$, dentro de um frasco âmbar, usando propanol como solvente. Adicionaram-se, no mesmo frasco, 20 mL de uma solução padrão de carbamato de etila ($4,0 \text{ g L}^{-1}$), preparada em etanol 40%. Adicionaram-se, em seguida, 2 mL de HCl ($5,5 \text{ mol L}^{-1}$) e a mistura reacional foi mantida sob agitação durante aproximadamente 60 segundos e, então, mantida em repouso pelo tempo de 60 minutos. Os cristais obtidos foram filtrados e recristalizados em hexano.

Para a análise quantitativa, preparou-se uma solução-estoque do carbamato de etila derivado, em uma concentração de 10 mg L^{-1} , em acetato de etila. Para a construção da curva analítica, foram realizadas diluições em etanol 50% a partir da solução-estoque previamente preparada, sendo preparadas soluções de trabalho em concentrações que variaram de 5,0 a $160,0 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$.

3.3.2.3 Derivação das amostras

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

3.3.3 Condições cromatográficas e quantificação do CE

Na quantificação desse contaminante orgânico, utilizaram-se comprimentos de onda de excitação e emissão de 233 e 600 nm,

respectivamente. O fluxo utilizado em toda a análise foi de $0,75 \text{ mL min}^{-1}$ e o volume injetado das amostras e do padrão foi de $20 \mu\text{L}$. A eluição foi realizada em sistema do tipo gradiente (Tabela 4). A fase móvel foi composta por solução de acetato de sódio 20 mmol L^{-1} (Solvente A) e acetonitrila (Solvente B).

Tabela 4 Gradiente de eluição da fase móvel para a determinação do carbamato de etila*

Tempo (min.)	Fase móvel*	
	Solvente A (% v/v)	Solvente B (% v/v)
0,01	60	40
5,00	40	60
10,00	30	70
18,00	20	80
19,50	10	90
25,00	60	40
30,00	60	40

*Fase móvel: Solvente A: solução de acetato de sódio 20 mmol L^{-1} ; Solvente B: acetonitrila.

Os limites de quantificação (LQ) e detecção (LD) do carbamato de etila foram estimados por meio dos parâmetros obtidos para a curva analítica construída, sendo calculados pelas respectivas relações matemáticas: $LQ = 10DP/m$ e $LD = 3DP/m$ (em que DP = estimativa do desvio padrão da linha de regressão e m = coeficiente angular da linha de calibração) (HARRIS, 2008). Todas as amostras foram analisadas em triplicata.

A curva analítica obtida por regressão linear para quantificação do CE nas amostras foi $y = 11914,70x - 47197,63$ (em que y = área do pico e x = concentração de CE), correlacionando a área do pico versus a concentração da respectiva solução padrão, sendo o coeficiente de correlação linear (R^2) obtido de 0,99996. O limite de detecção (LD) e o limite de quantificação (LQ) do

método foram estimados utilizando-se os parâmetros da curva analítica, cujos valores encontrados foram de 1,86 e 6,23 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente.

4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise de variância foi realizada com base no esquema que envolve variação entre as variedades e dentro de variedades, dado que as variedades são provenientes de locais de procedências diferentes e de sistemas agroindustriais de produção diferentes, o que não permite sua casualização.

O esquema para a análise de variância foi:

Tabela 5 Esquema para análise de variância das amostras de bebidas coletadas, com base nas variedades de cana-de-açúcar

Fontes de variação	Graus de liberdade
Entre variedades	12
Dentro de variedades	26
Total	38

Quando o teste F da análise de variância foi significativo na quantificação de carbamato de etila, as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott (1974), nível de 95% de confiança, com auxílio do software estatístico SISVAR (FERREIRA, 2011).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Avaliação físico-química

Os resultados das análises físico-químicas são apresentados a seguir.

5.1.1 Exame organoléptico

Todas as amostras estavam límpidas e cristalinas, próprias para condução das análises, sem nenhum tipo de impureza sólida presente ou turbidez.

5.1.2 Teor alcoólico

Pelos dados descritos na Tabela 6, observa-se que entre as amostras analisadas, duas encontram-se com o teor alcoólico fora dos padrões para cachaças. A amostra A estava com 50,51 °GL, isto é, acima do permitido para cachaças (48 °GL), mas dentro dos padrões de aguardente de cana-de-açúcar, cujo limite máximo é de 54 °GL, sendo, então, considerada como tal. A amostra I, por sua vez, apresentou um valor de 35,51 °GL, abaixo do mínimo permitido (38 °GL), não correspondendo, portanto, aos padrões de identidade e qualidade de cachaça e nem de aguardente. Por essa razão, a amostra I não foi considerada nas demais análises físico-químicas realizadas.

Tabela 6 Grau alcoólico das amostras de bebidas coletadas*

Amostra	Variedade	Grau alcoólico (%v/v)
A	CO421	50,51 ± 0,03
B	RB739735	41,73 ± 0,01
C	CO413	41,24 ± 0,03
D	SP803280	43,23 ± 0,01
E	SP801816	38,65 ± 0,07
F	RB867515	44,62 ± 0,02
G	Caiana	45,11 ± 0,01
H	RB867515	43,98 ± 0,05
I	RB801842	35,51 ± 0,03
J	SP791011	41,92 ± 0,02
K	RB867515	44,62 ± 0,03
L	SP813250	42,69 ± 0,02
M	Espalha-rama	38,23 ± 0,05

* Média ± desvio padrão.

O grau alcoólico é considerado como um dos parâmetros de grande importância, pois é por meio dele que se caracteriza o produto. Observa-se que todas as amostras, exceto **A** e **I**, apresentavam grau alcoólico variando de 38,23 a 44,62% (v/v).

Segundo Miranda et al. (2007), possíveis imprecisões nos equipamentos utilizados pelos produtores na determinação do teor alcoólico e possíveis erros na execução da destilação ou na diluição afetam diretamente a quantidade desse componente na cachaça.

5.1.3 Extrato seco

Os resultados obtidos para o extrato seco estão apresentados na Tabela 7. O extrato seco é constituído pelos sólidos diluídos na cachaça, que podem ser

açúcares, compostos celulósicos extraídos da madeira nos quais a bebida ficou armazenada e incorporados a ela, ou mesmo impurezas. Todas as amostras avaliadas possuíam quantidades de extrato seco inferiores a 6 g L^{-1} , e em uma quantidade mínima, o que era esperado, já que as amostras eram de bebidas novas e que não passaram por qualquer tratamento e nem foram adicionadas de qualquer ingrediente. Quando a aguardente tem teor de sólidos solúveis acima de 6 g L^{-1} e até 30 g L^{-1} , deve ser acrescida da denominação “adoçada” no rótulo (BRASIL, 2005a).

Tabela 7 Teor de sólidos solúveis das amostras de bebidas coletadas

Amostra	Variedade	Extrato seco (g L^{-1})*
A	CO421	$0,51 \pm 0,14$
B	RB739735	$0,32 \pm 0,14$
C	CO413	$0,06 \pm 0,002$
D	SP803280	$0,25 \pm 0,02$
E	SP801816	$0,04 \pm 0,01$
F	RB867515	$0,05 \pm 0,01$
G	Caiana	$0,21 \pm 0,02$
H	RB867515	$0,07 \pm 0,01$
J	SP791011	$0,19 \pm 0,01$
K	RB867515	nd
L	SP813250	$0,02 \pm 0,01$
M	Espalha-rama	$0,06 \pm 0,02$

* Média \pm desvio-padrão. ND não detectado.

5.1.4 Acidez volátil

Na Tabela 8, são apresentados os resultados para acidez volátil das amostras de cachaças.

Tabela 8 Acidez volátil das amostras de bebidas coletadas

Amostra	Variedade	Acidez*
A	CO421	147,28 ± 3,08
B	RB739735	163,69 ± 3,60
C	CO413	69,94 ± 3,64
D	SP803280	51,04 ± 1,77
E	SP801816	106,04 ± 0,18
F	RB867515	32,44 ± 1,70
G	Caiana	287,86 ± 1,73
H	RB867515	22,55 ± 1,76
J	SP791011	123,12 ± 0,06
K	RB867515	27,22 ± 0,01
L	SP813250	49,78 ± 0,02
M	Espalha-rama	186,61 ± 0,23

* Média ± desvio-padrão (mg/100 mL de álcool anidro).

Pelos dados descritos na Tabela 8, observa-se que as amostras B, G, M estavam com valores acima do limite permitido pelo MAPA, que é de 150 mg/100 mL de álcool anidro.

A acidez da cachaça depende principalmente do controle do processo de fermentação, em relação a fatores como estirpe da levedura predominante no pé-de-cuba, pureza da fermentação, tempo e temperatura da fermentação, manejo do mosto e da cana colhida. A aeração do mosto deve ser evitada, pois o aumento do oxigênio no meio induz o metabolismo celular oxidativo, em que a levedura oxida os carboidratos por respiração para haver multiplicação celular e ácido acético como produto de reação em lugar do etanol, diminuindo o rendimento da bebida e causando conseqüente aumento da acidez. Na ausência de oxigênio e alto teor de substrato, o metabolismo passa a ser fermentativo, quando ocorre a produção de etanol e CO₂, o gás carbônico contribui para a

manutenção da anaerobiose na dorna de fermentação (SCHWAN; DIAS; DIAS, 2013).

Segundo Cardoso (2013), quando o oxigênio está presente no meio fermentativo, ocorre também a oxidação do etanol, o que contribui para queda do teor alcoólico e aumento dos ácidos carboxílicos.

Pereira et al. (2003), trabalhando com 45 amostras de cachaças provenientes de diferentes localidades do estado de Minas Gerais, encontraram um valor médio de 77,79 mg/100 mL de álcool anidro para acidez volátil, e apenas três amostras se apresentaram fora dos padrões estabelecidos pelo MAPA para esse componente. Os autores relatam que o tempo e a temperatura de fermentação, manejo do mosto e higienização adequada são fatores importantes que podem minimizar os teores de acidez elevados.

O tipo do fermento também pode influenciar na composição química da bebida. Silva et al. (2009), estudando compostos de cachaças produzidas por diferentes leveduras isoladas de alambiques de diferentes regiões de Minas Gerais, onde, segundo os autores, o processo é absolutamente artesanal e o tipo de fermentação é espontânea, demonstraram a influência de diferentes linhagens de levedura. Pelos resultados obtidos neste trabalho quanto aos teores de acidez, pôde-se observar que as amostras B, G, M, que obtiveram alto teor do mesmo parâmetro, foram produzidas por fermentação espontânea, o que pode ter influenciado no aumento da acidez, pois não se tem o controle de quais espécies de leveduras estão presentes no meio ou outros tipos de micro-organismos, como bactérias acéticas, por exemplo.

A cachaças H, que foi produzida com leveduras selecionadas, apresentou baixa acidez (22,55 mg/100 mL de álcool anidro, respectivamente).

A acidez elevada pode influenciar negativamente o paladar do consumidor, desestimulando-o de continuar degustando cachaça. Odello et al. (2009) realizaram uma avaliação sensorial e hedônica (em que o

provador/consumidor avalia o quanto gostou ou desgostou de um produto) em 36 amostras de cachaças comerciais não adoçadas e constataram uma correlação negativa com a acidez e sabor de álcool, fatores que diminuem a preferência da bebida.

5.1.5 Álcoois superiores

Pelos dados descritos na Tabela 9, observa-se que os valores dos álcoois superiores totais encontram-se dentro dos padrões para todas as amostras. Na Tabela 10, são apresentados as concentrações dos álcoois propílico, isoamílico e isobutílico encontradas nas amostras.

Tabela 9 Concentrações de totais de álcoois superiores, de butanol-1 e de butanol-2 nas amostras de bebidas coletadas*

Amostra	Álcoois superiores ¹	Butanol-1	Butanol-2
A	118,31 ± 0,11	1,61 ± 0,01	1,10 ± 0,01
B	171,90 ± 13,05	2,02 ± 0,06	3,66 ± 0,18
C	178,81 ± 3,5	2,04 ± 0,01	23,03 ± 0,89
D	175,03 ± 4,66	1,94 ± 0,004	1,42 ± 0,01
E	259,68 ± 11,57	2,01 ± 0,04	14,06 ± 0,54
F	113,84 ± 5,01	1,59 ± 0,03	1,51 ± 0,04
G	142,81 ± 1,58	1,83 ± 0,01	1,30 ± 0,01
H	191,30 ± 3,63	1,72 ± 0,01	1,16 ± 0,01
J	224,49 ± 0,29	1,98 ± 0,01	20,67 ± 0,1
K	160,57 ± 0,53	2,68 ± 0,01	1,15 ± 0,01
L	126,19 ± 2,45	1,93 ± 0,01	1,21 ± 0,01
M	141,09 ± 2,29	1,65 ± 0,01	1,35 ± 0,01

* Média ± desvio-padrão; (mg/100 mL de álcool anidro). ¹ Álcoois superiores = soma dos álcoois (propílico + isoamílico + isobutílico)

Tabela 10 Concentrações de álcool propílico, isoamílico e isobutílico encontradas nas amostras

Amostra	Álcool propílico	Álcool isobutílico	Álcool isoamílico
A	25,30 ± 0,05	34,12 ± 0,20	58,89 ± 0,36
B	61,85 ± 4,42	36,12 ± 2,70	73,93 ± 5,93
C	44,05 ± 0,62	47,21 ± 1,61	87,55 ± 1,27
D	42,62 ± 0,90	39,60 ± 0,62	92,81 ± 3,14
E	99,69 ± 4,02	69,80 ± 3,31	90,19 ± 4,25
F	49,53 ± 2,37	36,20 ± 1,63	28,11 ± 1,00
G	64,09 ± 0,75	25,24 ± 0,30	53,48 ± 0,53
H	50,74 ± 0,56	49,12 ± 0,38	91,44 ± 2,69
J	95,16 ± 0,02	43,14 ± 0,38	86,19 ± 0,65
K	45,48 ± 0,24	29,86 ± 0,33	85,23 ± 1,10
L	38,96 ± 0,59	29,29 ± 0,40	57,94 ± 1,46
M	27,48 ± 0,39	45,04 ± 1,08	68,57 ± 0,82

* Média ± desvio-padrão; (mg/100 mL de álcool anidro).

Segundo Cardoso (2013), o álcool isoamílico (3-metilbutanol-1), amílico (pentanol-1), isobutílico (2-metilpropanol-1) e propílico (propanol) são os principais álcoois superiores encontrados nas cachaças.

Ao analisar separadamente, nota-se que as amostras C, E e J apresentaram valores superiores ao permitido pela legislação para o butanol-2 (10 mg/100 mL de álcool anidro).

Penteado e Masini (2009) identificaram e quantificaram, entre outros compostos, butanol-1 (álcool butílico) e butanol-2 (álcool sec-butílico) em concentrações acima daquelas estabelecidas pela legislação em 33 amostras de aguardentes de alambiques e industrial analisadas, produzidas em quatro estados do Brasil. Observaram grande heterogeneidade nas características físico-químicas e sensoriais; nas amostras de aguardentes de alambiques dos estados de São Paulo, Paraná e Minas Gerais (região de Salinas), as concentrações de

butanol-2 estiveram dentro da faixa de valores permitidos pela legislação; uma amostra de Belo Horizonte apresentou concentração elevada de 408 mg/100 mL de álcool anidro; três amostras de aguardentes industriais também estavam com concentrações acima da legislação, 110, 111 e 115 mg/100 mL de álcool anidro.

Fernandes (2013), estudando cachaças obtidas de cinco variedades de cana (RB72454, SP79-1011, SP80-1842, JAVA e RB765418), colhidas em três épocas distintas (segunda quinzena dos meses de junho e agosto e primeira quinzena do mês de outubro), observou que suas amostras não ultrapassaram o limite permitido pela legislação do álcool butílico e não detectou nelas presença do álcool sec-butílico, demonstrando que a formação dos álcoois superiores não foi influenciada pelas variedades de cana ou época de maturação, naquele experimento.

A formação de álcoois superiores em excesso pode ser evitada com algumas medidas, como não utilizar a cana bisada e nem armazenar a cana por longo período após o corte, evitando a degradação de aminoácidos e a posterior formação dos álcoois superiores.

Cana bisada é a cana que ficou em pé de uma safra para outra. Tem uma produtividade agrícola alta; porém, perde em qualidade, já que os canaviais estavam em um ponto de maturação e voltaram a se desenvolver. Os fatores que contribuem para a má qualidade da cana bisada são: o tombamento, enraizamento, brotação lateral, maior infestação de pragas e doenças, colmos secos ou mortos, além do aumento de impurezas (ROSSINI, 2010).

5.1.6 Metanol

Na Tabela 11, são expressos os valores médios de metanol presentes nas amostras. Todas estavam abaixo do limite estabelecido pelo MAPA, que é de 20 mg/100 mL de álcool anidro.

Tabela 11 Valores médios de metanol presentes nas amostras

Amostra	Variedade	Metanol *
A	CO421	Nd
B	RB739735	3,95 ± 0,04
C	CO413	4,56 ± 0,12
D	SP803280	3,07 ± 0,004
E	SP801816	3,45 ± 0,13
F	RB867515	3,22 ± 0,02
G	Caiana	3,00 ± 0,01
H	RB867515	3,10 ± 0,09
J	SP791011	3,16 ± 0,03
K	RB867515	3,22 ± 0,1
L	SP813250	3,30 ± 0,06
M	Espalha-rama	3,74 ± 0,12

* Média ± desvio-padrão; (mg/100 mL de álcool anidro); Nd: não detectado.

O metanol é um composto indesejável na cachaça, que se origina da degradação da pectina (polissacarídeo presente na cana-de-açúcar) que fica acumulada sobre as paredes das dornas de destilação e da coluna de destilação de alambiques mal higienizados. A pectina pode vir também de bagacilhos, quando o caldo extraído da cana não passa por peneiras ou decantadores após a moagem e antes da fermentação, pois sua molécula é formada pela associação de centenas de moléculas de ácido galacturônico, que possuem fragmentos de moléculas de metanol, as quais são liberadas durante o processo de fermentação, quando ocorre a hidrólise ácida da pectina (CARDOSO, 2013).

Vilela et al. (2007) mostraram que o baixo teor de metanol observado em cachaças demonstra cuidado no armazenamento da bebida em recipientes apropriados e adoção de boas práticas de fabricação pelos produtores, como limpeza adequada dos destiladores, peneiramento do caldo para eliminar o bagacilho presente e correta separação da fração de cabeça, que contém a maior

parte de metanol. Zacaroni et al. (2011) corroboram esses resultados, quando caracterizaram e quantificaram diferentes contaminantes em aguardentes de cana, não sendo detectada a presença de metanol.

5.1.7 Aldeídos

Os valores de teores de aldeídos estão expressos na Tabela 12.

Tabela 12 Valores médios de aldeídos em cachaças

Amostra	Variedade	Aldeído*
A	CO421	6,83 ± 0,26
B	RB739735	24,45 ± 0,31
C	CO413	8,73 ± 0,54
D	SP803280	15,62 ± 0,01
E	SP801816	44,64 ± 0,35
F	RB867515	19,00 ± 0,29
G	Caiana	5,99 ± 0,01
H	RB867515	13,48 ± 0,28
J	SP791011	27,48 ± 0,25
K	RB867515	15,89 ± 0,01
L	SP813250	5,54 ± 0,30
M	Espalha-rama	8,11 ± 0,57

* Média ± desvio-padrão; (mg/100 mL de álcool anidro).

Pelos dados descritos na Tabela, observa-se que a amostra E ultrapassou o limite de aldeídos permitido pela legislação, estando acima de 30 mg/100 mL de álcool anidro. As amostras B e J apresentaram valores elevados de aldeídos (24,25 e 27,48, respectivamente), mas ainda dentro do limite legal.

Silva et al. (2009) observaram em nove amostras de cachaças produzidas em laboratório e duas comerciais que o acetaldeído foi o parâmetro que

apresentou o maior índice de não conformidade em relação à legislação nacional, entre todos os compostos voláteis analisados, sendo a maior concentração encontrada pelo autor de 178,6 mg/100 mL álcool anidro, em uma amostra elaborada com fermento selecionado.

Serafim et al. (2012) relatam que os aldeídos são compostos responsáveis pela definição e consequente separação do grupo de compostos referentes à fração de cabeça, pois esse composto apresenta maior solubilidade em etanol. Logo, valores elevados de aldeídos observados em cachaças podem estar associados a erros no processo do corte entre as frações de cabeça e coração. Erros no processo de corte ocorrem quando o produtor não calcula previamente a graduação alcoólica da bebida desejada e/ou não calcula o volume de mosto fermentado correspondente e/ou não acompanha a mudança do grau alcoólico do destilado que está saindo do alambique. Targino (2009) atribui as concentrações mais altas de aldeídos a uma possível oxidação espontânea.

5.1.8 Furfural

De acordo com os dados descritos na Tabela 13, observa-se que todas as amostras estavam dentro do padrão de furfural exigido pela legislação, que é abaixo de 5 mg/100 mL de álcool anidro.

Tabela 13 Valores médios de furfural nas amostras de bebidas coletadas

Amostra	Variedade	Furfural*
A	CO421	0,20 ± 0,01
B	RB739735	0,97 ± 0,03
C	CO413	0,51 ± 0,01
D	SP803280	0,26 ± 0,01
E	SP801816	0,18 ± 0,01
F	RB867515	0,05 ± 0,01
G	Caiana	1,40 ± 0,02
H	RB867515	0,12 ± 0,01
J	SP791011	0,30 ± 0,00
K	RB867515	0,20 ± 0,01
L	SP813250	0,12 ± 0,01
M	Espalha-rama	0,11 ± 0,01

* Média ± desvio-padrão; (mg/100 mL de álcool anidro).

O furfural é tóxico ao organismo humano e não deve estar presente em cachaças. É formado durante o processo fermentativo da aguardente e também durante a destilação, principalmente quando ela é realizada em alambiques a fogo direto (CARDOSO, 2013). Sua concentração tende a aumentar quando a cachaça passa pela etapa de envelhecimento, devido à degradação de pentoses e hemicelulose da madeira do tonel (PEREIRA et al., 2003).

Masson et al. (2007), ao estudarem a concentração de furfural em aguardentes de cana com e sem queima prévia do palhiço da cana-de-açúcar, verificaram que a queima influenciou significativamente ($P < 0,01$) na concentração do furfural, quando utilizado o mesmo processo de produção da aguardente. Esses autores concluíram que o açúcar exsudado durante a queima do palhiço torna-se um excelente aderente ao colmo de resíduos da combustão, de partículas sólidas de solo, minerais e outros. Os autores relatam que quando a cana é processada, esses resíduos são transferidos para o caldo e, em suspensão,

vão para as dornas e, posteriormente, para o alambique, cuja matéria orgânica é transformada em furfural, chegando ao produto final e aumentando as chances de contaminação do destilado. Por essa razão, a queima do canavial é prejudicial para a qualidade da aguardente.

Fernandes (2013), ao analisar cachaças produzidas por diferentes cultivares de cana, colhidas em três épocas de maturação, não detectou presença de furfural e hidroximetilfurfural em suas amostras.

5.1.9 Ésteres

Os valores das concentrações de ésteres encontradas nas amostras são descritos na Tabela 14.

Tabela 14 Valores médios de ésteres nas amostras de bebidas coletadas

Amostra	Variedade	Ésteres*
A	CO421	55,74 ± 1,00
B	RB739735	99,76 ± 1,22
C	CO413	30,51 ± 2,20
D	SP803280	27,02 ± 4,16
E	SP801816	31,00 ± 1,39
F	RB867515	34,23 ± 0,01
G	Caiana	260,29 ± 6,11
H	RB867515	20,43 ± 0,01
J	SP791011	30,69 ± 1,25
K	RB867515	16,10 ± 0,01
L	SP813250	18,22 ± 1,21
M	Espalha-rama	51,65 ± 2,41

* Média ± desvio-padrão; (mg/100 mL de álcool anidro).

Observa-se que apenas a amostra G estava acima do limite permitido pela legislação, que é de 200 mg/100 mL de álcool anidro.

Os ésteres são formados por meio da reação entre os álcoois e os ácidos presentes na bebida (CARDELLO; FARIA, 2000). Podem ser formados nos processos de fermentação, destilação e envelhecimento, devido a reações com compostos extraídos da madeira (PEREIRA et al., 2003). Segundo Miranda et al. (2008), além das reações de esterificação entre os álcoois e ácidos carboxílicos da bebida, os ésteres fenólicos são alguns dos principais compostos extraídos da madeira pelos destilados.

Os autores Lambrechts e Pretorius (2000), Nóbrega (2003), Nykänen e Nykänen (1991) descrevem que a presença de ésteres mais simples, como os etílicos, em bebidas destiladas, está relacionada ao processo de fermentação, em decorrência do metabolismo secundário das leveduras. Cardoso (2013) explica que o acetato de etila é o principal éster formado nessa etapa e representa aproximadamente 80% de todos os ésteres da cachaça.

Fernandes (2013) verificou concentrações de acetato de etila em valores muito baixos em cachaças feitas com cinco cultivares de cana distintas, variando de 4,27 a 8,56 mg/100 mL de álcool anidro, o que o autor atribui ao fato de todas as suas cachaças avaliadas serem recém-destiladas.

5.1.10 Cobre

As concentrações médias de cobre encontradas nas amostras são apresentadas na Tabela 15.

Tabela 15 Valores médios do teor de cobre nas amostras de bebidas coletadas

Amostra	Variedade	Cobre*
A	CO421	3,44 ± 0,07
B	RB739735	2,51 ± 0,09
C	CO413	3,83 ± 0,04
D	SP803280	1,84 ± 0,01
E	SP801816	5,11 ± 0,01
F	RB867515	1,19 ± 0,04
G	Caiana	10,63 ± 0,06
H	RB867515	0,72 ± 0,03
J	SP791011	0,53 ± 0,01
K	RB867515	0,25 ± 0,12
L	SP813250	3,18 ± 0,06
M	Espalha-rama	5,49 ± 0,05

* Média ± desvio-padrão; (mg.L⁻¹).

Nota-se que as amostras E, G, M estavam acima do limite legal estipulado de 5 mg.L⁻¹, a amostra G continha mais que o dobro do teor máximo permitido.

A presença desse metal na cachaça se deve principalmente à dissolução do carbonato básico de cobre [Cu₂(OH)₂CO₃] presente nas paredes internas do alambique, que é arrastado pelos vapores alcoólicos ácidos durante a destilação. Fazer a higienização adequada para remoção do azinhavre, bem como encher o alambique e as serpentinas com água para reduzir a oxidação do cobre, são medidas que reduzem consideravelmente a possibilidade de contaminação da cachaça por cobre (CARDOSO, 2013). O uso de filtros de resinas de troca iônica é uma boa alternativa para remover o cobre da bebida contaminada, sem, contudo, remover componentes secundários responsáveis pela qualidade sensorial do aperitivo (DUARTE et al., 2012).

Fernandes (2013), avaliando cachaças produzidas com cinco cultivares de cana colhidas em três épocas de maturação, observou que amostras obtidas a partir das cultivares SP80-1842 e RB765418, colhidas na primeira época de maturação, e RB765418, colhida na terceira época, apresentaram valores de cobre que superaram as exigências dispostas pela legislação, sem, contudo, poder inferir sobre a influência da cultivar ou da época de maturação, de modo que a presença do cobre na bebida está ligada ao material do alambique e às suas condições de higiene.

Anjos (2001) analisou a presença desse elemento em aguardentes produzidas com cultivares de cana-de-açúcar de ciclo precoce, médio e tardio em três épocas de colheita, e não constatou diferença significativa para os valores médios de cobre nas amostras, dentro de cada época, que variaram de 1,04 a 11,95 mg.L⁻¹.

5.1.11 Carbamato de etila

Na Figura 13, encontra-se o cromatograma obtido para o padrão de carbamato de etila.

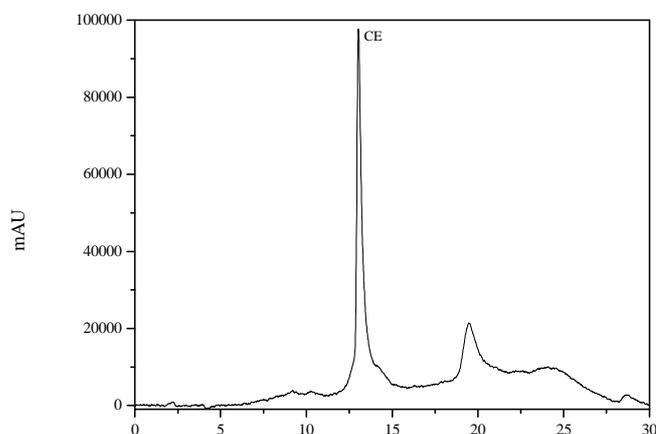


Figura 13 Cromatograma da solução padrão de carbamato de etila (CE), com detecção de fluorescência. Concentração do padrão injetado: $160 \mu\text{g L}^{-1}$

O tempo médio de retenção obtido para o composto analisado neste estudo foi de $13,06 \pm 0,09$ minutos. Santiago et al. (2014) avaliaram teores de CE no processo de produção e envelhecimento em tonéis de carvalho e amburana, encontrando um tempo médio de retenção de 13,34 minutos. Anjos et al. (2011), estudando o carbamato em cachaças armazenadas em carvalho e em vidro, encontraram um tempo médio de retenção de 13,10 minutos para esse composto. Mendonça (2014) observou um tempo médio de retenção de 13,29 minutos, enquanto estudava cachaças produzidas com levedura selecionada e fermentos caipiras. Esses resultados corroboram com os aqueles encontrados neste trabalho.

Os valores de LD e LQ encontrados foram de 1,86 e 6,23, respectivamente. Esses valores foram inferiores aos encontrados em trabalhos desenvolvidos recentemente para a determinação de CE em matriz de cachaça, utilizando a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência, com detecção de

fluorescência (HPLC-FLD) e derivação prévia do carbamato de etila. Anjos et al. (2011) observaram os valores de $3,93 \mu\text{g L}^{-1}\text{LD}$ e $13,09 \mu\text{g L}^{-1}\text{LQ}$; Machado et al. (2013) obtiveram $6,39 \mu\text{g L}^{-1}\text{LD}$ e $21,32 \mu\text{g L}^{-1}\text{LQ}$; Mendonça (2014) encontrou $2,48 \mu\text{g L}^{-1}\text{LD}$ e $8,26 \mu\text{g L}^{-1}\text{LQ}$ e Santiago et al. (2014) encontraram os valores de $3,24 \mu\text{g L}^{-1}\text{LD}$ e $10,83 \mu\text{g L}^{-1}\text{LQ}$.

As concentrações de carbamato de etila encontradas em todas as amostras de cachaças selecionadas estão dentro do limite estabelecido pela legislação vigente no país, isto é, abaixo de $210 \mu\text{g L}^{-1}$, tendo como média geral $24,354 \mu\text{g L}^{-1}$. Os valores obtidos para as concentrações de CE nas amostras são apresentados em ordem crescente na Tabela 16.

Tabela 16 Concentrações de carbamato de etila nas amostras de bebidas coletadas

Amostra	Carbamato de etila ($\mu\text{g.L}^{-1}$)*	Variedade
K	$12,29 \pm 0,20$ a	RB867515
H	$14,21 \pm 0,31$ b	RB867515
M	$14,58 \pm 0,10$ b	Espalha-rama
L	$15,02 \pm 0,06$ b	SP813250
E	$22,49 \pm 0,70$ c	SP801816
G	$25,53 \pm 0,51$ d	Caiana
J	$28,21 \pm 0,53$ e	SP791011
D	$30,36 \pm 0,32$ f	SP803280
C	$30,52 \pm 0,35$ f	CO413
A	$30,91 \pm 0,10$ g	CO421
F	$31,37 \pm 0,42$ g	RB867515
B	$35,35 \pm 0,19$ h	RB739735

* Média \pm desvio-padrão. Coeficiente de variação = 1,59%. As médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem significativamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

Pelos dados obtidos, pode-se observar que a amostra B, que corresponde à variedade RB739735, foi a que apresentou a maior concentração de carbamato de etila ($35,35 \mu\text{g L}^{-1}$), diferindo significativamente das segundas colocadas; as amostras A e F, que não apresentaram diferenças significativas entre si ($30,91$ e $31,37 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente). A menor concentração de CE foi observada na amostra K (variedade RB867515), $12,29 \mu\text{g L}^{-1}$, seguida das amostras H, M, L ($14,21$; $14,58$; $15,02 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente), que não diferiram significativamente entre si ($\alpha = 0,05$). Nas Figuras 14 e 15, são apresentados os cromatogramas das amostras B e K, respectivamente.

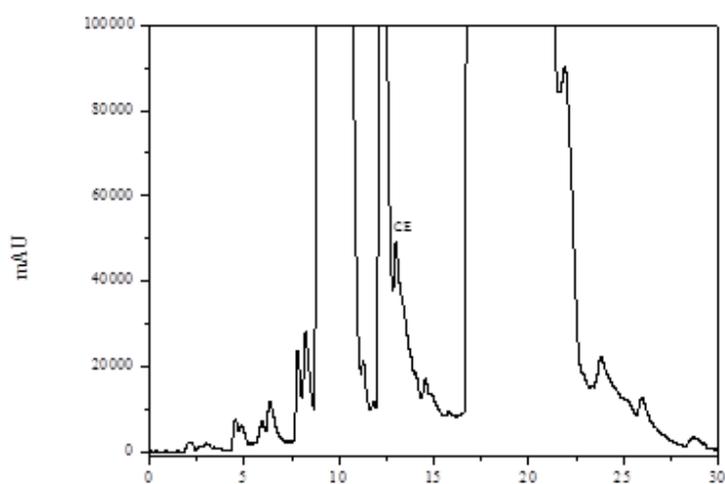


Figura 14 Cromatograma da cachaça produzida com a cana RB739735 (amostra B) de carbamato de etila, com detecção de fluorescência

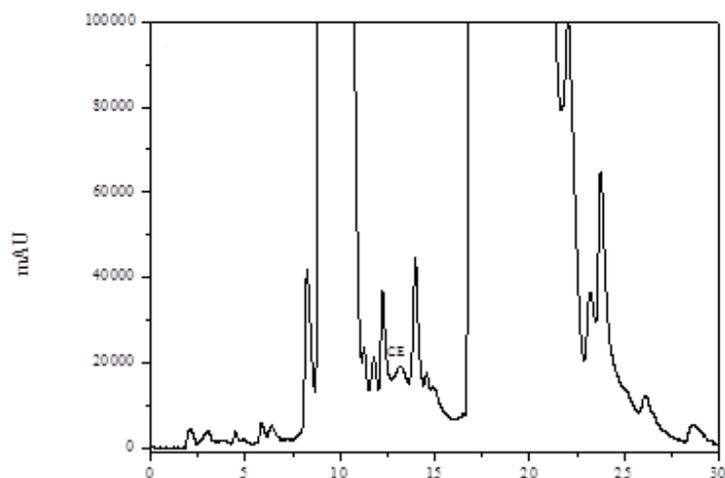


Figura 15 Cromatograma da cachaça produzida com a cana RB867515 (amostra K) de carbamato de etila, com detecção de fluorescência

Nota-se que três amostras que foram produzidas a partir da mesma variedade, RB867515 (amostras F, H, K), diferiram significativamente entre si, ao nível de 5% de probabilidade. A amostra F foi a que teve a segunda maior concentração de carbamato observada entre as 13 analisadas, ao passo que a amostra K, seguida da amostra H, foram as que apresentaram menor concentração entre todas as analisadas.

Barcelos et al. (2007) avaliaram amostras de cachaça de três regiões de Minas Gerais (sul de Minas, Zona da Mata e Vale do Jequitinhonha) e obtiveram valores que variam desde de não detectado até $700 \mu\text{g L}^{-1}$ de carbamato. Entre as regiões estudadas, apenas as amostras do Vale do Jequitinhonha apresentaram níveis superiores aos estabelecidos pelo MAPA de carbamato de etila.

Masson et al. (2012), estudou cachaças produzidas em alambiques de pequeno e médio porte das regiões norte e sul de Minas Gerais, e encontrou valores que variavam de $22,6$ a $980 \mu\text{g L}^{-1}$. O autor relata que os teores de CE

encontrados na aguardente não se correlacionam com a graduação alcoólica, acidez ou cobre nas amostras analisadas.

No presente estudo, apesar das amostras B, G, M terem ultrapassado o limite permitido para acidez e as amostras E, G, M terem ultrapassado os limites permitidos para o cobre; esse fato não influenciou o teor de carbamato de etila presente nessas amostras, concordando com Masson et al. (2012).

Zacaroni et al. (2011) analisaram alguns contaminantes em amostras de aguardente de cana e observaram-se que todas as amostras apresentaram concentrações de carbamato de etila abaixo do limite estabelecido pela legislação brasileira, sendo a maior concentração encontrada de $119 \mu\text{g L}^{-1}$, muito superior a maior concentração encontrada neste trabalho, que foi de $35,35 \mu\text{g L}^{-1}$ (amostra B).

Serafim et al. (2012), analisando a concentração de carbamato de etila para as três frações da cachaça de alambique (cabeça, coração e cauda), verificaram que a soma das concentrações desse contaminante em todas essas frações tende a ser menor que as concentrações de carbamato da cachaça destilada em colunas, na qual não se separam as frações.

Fernandes (2013), estudando cachaças obtidas de cinco variedades de cana, colhidas em três épocas de maturação, não detectou a presença de carbamato de etila em suas amostras.

Neste estudo, foram avaliadas apenas cachaças novas, isto é, destiladas há menos de 2 meses e acondicionadas em garrafas de vidro, bem vedadas, e mantidas ao abrigo da luz em local arejado e fresco, sem grandes variações de temperatura, até o momento de execução das análises. Sabe-se, entretanto, que o envelhecimento da bebida e o material do recipiente que a contém influenciam no aumento gradativo do carbamato de etila, que pode ser formado pela degradação de precursores nitrogenados, como o fosfato de carbamila, íon cianeto e os aminoácidos arginina, ornitina e citrulina, antes e depois da

destilação (COOK et al., 1990; LAWRENCE; CONACHER; CONACHER, 1990).

Anjos et al. (2011) confirmam que o armazenamento da bebida, tanto em tonel de carvalho quanto em recipiente de vidro, influencia na formação do carbamato de etila, proporcionando um aumento significativo na concentração desse contaminante. A presença de luz também influencia, já que foi detectado $13,63 \mu\text{g L}^{-1}$ de carbamato na cachaça armazenada em vidro logo no segundo mês de armazenamento, ao passo que a mesma concentração só foi observada na cachaça do tonel de carvalho no nono mês.

Machado et al. (2013) analisaram e quantificaram carbamato de etila em cachaça de alambique, obtida da cana-de-açúcar adubada com ureia e nitrato de amônio e acondicionadas em bombonas de polietileno de alta densidade (PEAD) e vidro, pelo método de microextração em fase sólida e GC-MS, usando modo de monitoramento seletivo de íons e pelo método de derivação do CE e CLAE com detector de fluorescência. Observaram que os dois métodos podem ser empregados na quantificação do carbamato e que nenhuma das amostras apresentou concentração acima do limite estipulado pela legislação. Apesar de ter trabalhado apenas com uma variedade de cana, a SP791011, os resultados encontrados corroboram com aqueles obtidos neste trabalho, no qual não se encontraram valores acima do limite permitido pela legislação para o carbamato de etila.

Santiago et al. (2014) acompanharam periodicamente o perfil cromatográfico do carbamato de etila no processo de produção e no envelhecimento de cachaça em tonéis de amburana. Os autores observaram que a concentração do carbamato de etila, ao longo do processo de produção e na etapa de envelhecimento, apresentou valor inferior ao limite máximo estabelecido pela legislação para esse composto.

Mendonça (2014), estudando diferentes tipos de fermento e diferentes materiais para armazenamento de cachaça, observou que a concentração de carbamato de etila foi influenciada tanto pela madeira de carvalho quanto pelo vidro, no qual as amostras ficaram armazenadas, estando, porém, em concentração muito inferior ao limite máximo estabelecido pela legislação para esse composto. Em relação ao tipo de fermento, as cachaças que utilizavam farelo de arroz como nutrientes na fermentação foram as que apresentaram as maiores concentrações de carbamato de etila, antes e após o armazenamento.

Neste trabalho, as bebidas obtidas por fermento nativo utilizavam apenas milho como nutriente.

6 CONCLUSÃO

Todas as amostras analisadas apresentaram concentrações de carbamato de etila muito abaixo do limite fixado pela legislação brasileira; as bebidas oriundas de uma mesma variedade de cana apresentaram concentrações distintas desse contaminante, apesar de algumas amostras terem se apresentado fora do padrão em relação aos parâmetros de etanol, acidez volátil, butanol-1, butanol-2, aldeídos, ésteres e cobre,

Logo, pode-se concluir que as características dos sistemas agroindustriais utilizados para produzir cachaça não influenciaram uma produção elevada de carbamato de etila nas bebidas novas analisadas e que a falta de padrões de qualidade ainda é comum nos estabelecimentos de pequeno porte de produtores da bebida.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As irregularidades observadas podem estar relacionadas a possíveis falhas no processo produtivo, como contaminação do mosto e da matéria-prima; falta de higienização adequada dos equipamentos, manipuladores e/ou local; erros durante a condução da fermentação; modo e condições de operação dos alambiques, imprecisões nos aparelhos de medidas dos produtores; equívocos no processo do corte das frações, de modo que parte da cabeça ou cauda seja recolhida e misturada acidentalmente com a fração de coração, comprometem a qualidade da bebida.

Todas essas possíveis falhas podem ser controladas por meio da elaboração e implantação de ferramentas de qualidade, como Manual de Boas Práticas de Fabricação (BPF); Procedimentos Operacionais Padronizados (POPs); Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), Ciclo PDCA, entre outras, que garantirão um padrão de qualidade do processo de produção e da cachaça produzida.

REFERÊNCIAS

- AGRIANUAL. **Anuário da Agricultura Brasileira**. São Paulo: Instituto FNP, 2015.
- ANDRADE, L. A. B. Cultura da cana-de-açúcar. In: CARDOSO, M. G. **Produção de aguardente de cana**. 3 ed. Lavras: Editora da UFLA, 2013. p. 25-55.
- ANDRADE-SOBRINHO, L. G. et al. Carbamato de etila em bebidas alcoólicas (cachaça, tiquira, uísque e grapa). **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 6, p. 1074-1077, 2002.
- ANJOS, I. A. **Produtividade agrícola, rendimento e qualidade da aguardente artesanal de diferentes variedades de cana-de-açúcar**. 2001. 102 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2001.
- ANJOS, J. P. et al. Identificação do carbamato de etila durante o armazenamento da cachaça em tonel de carvalho (*Quercus* sp) e recipiente de vidro. **Química Nova**, São Paulo, v. 34, n. 5, p. 874-878, 2011.
- AQUINO, F. W. B. et al. Determinação de marcadores de envelhecimento em cachaças. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 1, p. 145-149, jan/mar. 2006.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE BEBIDAS. **Categorias de mercado**. São Paulo: Associação Brasileira de Medidas, 2014. Disponível em: <<http://www.abrabe.org.br/categorias/>>. Acesso em: 04 fev. 2015.
- BADOLATO, E. S. G.; DURAN, M. C. Risco de intoxicação por metanol pela ingestão de bebidas alcoólicas. **Revista de Psiquiatria Clínica**, Santiago, v. 27, n. 2, p. 90-92, mar./abr. 2000.
- BARBOSA, M. H. P. et al. Variedades melhoradas de cana-de-açúcar para Minas Gerais. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 28, n. 239, p. 20-24, jul./ago. 2007.

BARBOSA, M. H. P.; SILVEIRA, L. C. I. da. Melhoramento genético e Recomendação de Cultivares. In: SANTOS, F.; BORÉM, A.; CALDAS, C. **Cana-de-açúcar: bioenergia, açúcar e álcool- tecnologia e perspectivas**. Viçosa: Editora da UFV, 2010. p. 313-331.

BARCELOS, L. V. F. et al. Teores de carbamato de etila e outros componentes secundários em diferentes cachaças produzidas em três regiões do estado de Minas Gerais: Zona da Mata, Sul de Minas e Vale do Jequitinhonha. **Quimica Nova**, São Paulo, v. 30, n. 4, p. 1009-1011, ago. 2007.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa n. 24, de 08 de setembro de 2005. Aprova o Manual Operacional de Bebidas e Vinagres. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, 20 set. 2005b. Seção I.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n° 28, de 08 de agosto de 2014. Altera o subitem 5.1.2 do Anexo da Instrução Normativa n° 13, de 29 de junho de 2005. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, 11 ago. 2014. Disponível em:
<<http://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?data=11/08/2014&jornal=1&pagina=7&totalArquivos=100>>. Acesso em: 12 abr. 2014.

BRASIL. Decreto n° 6.871 de 4 de junho de 2009. Regulamenta a Lei n° 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. **Diário Oficial da União**, Brasília, 4 de jun. 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n° 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**, Brasília, n. 124, 30 de jun. 2005a. Seção 1.

BRUNO, S. N. F. et al. Influence of the distillation processes from Rio de Janeiro in the ethyl carbamate formation in Brazilian sugar cane spirits. **Food Chemistry**, London, v. 104, n. 4, p. 1345-1352, 2007.

BUDAVARI, S. **Merck index**. 13. ed. Rahway: Merck, 2001. 1175 p.

CARDELLO, H. M. A. B.; FARIA, J. B. Análise da aceitação de aguardentes de cana por testes afetivos e mapa de preferência interno. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, n. 1, p. 32-36, abr. 2000.

CARDOSO, D. R.; LIMA-NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Influência do material do destilador na composição química das aguardentes de cana. Parte II. **Química Nova**, São Paulo, v. 26, n. 2, p. 165-169, mar./abr. 2003.

CARDOSO, M. G. Análises físico-químicas de aguardente. In: CARDOSO, M. G. **Produção de aguardente de cana**. 3. ed. Lavras: Editora da UFLA, 2013. p. 203-232.

COOK, R. et al. Ethyl carbamate formation in grain-based spirits. Part III. The primary source. **Journal of the Institute of Brewing**, London, v. 96, n. 4, p. 233-244, July/Aug. 1990.

DIAS, S. M. B. C. O processo da destilação. In: CARDOSO, M. G. **Produção de aguardente de cana**. 3 ed. Lavras: Editora da UFLA, 2013. p. 104-150.

DUARTE, F. C. et al. Physicochemical and sensory changes in aged sugarcane spirit submitted to filtering with activated carbon filter. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 32, n. 3, p.471-477, July/Sept. 2012.

FERNANDES, O. W. B. **Avaliação da composição físico-química de cachaça de alambique de cinco cultivares de cana-de-açúcar colhidas em três épocas de maturação**. 2013. 132 p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2013.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, nov./dez. 2011.

GALINARO, C. A.; FRANCO, D. W. Formação de carbamato de etila em aguardentes recém-destiladas; proposta para seu controle. **Química Nova**, São Paulo, v. 34, n. 6, p. 996-1000, 2011.

HARRIS, D. C. **Análise química quantitativa**. 7. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2008. 868 p.

INSTITUTO BRASILEIRO DA CACHAÇA. **Estabelecimentos e marcas registradas no Ministério da Agricultura (Cachaça e Aguardente de cana)**. Brasília: IBRAC, 2013. Disponível em:
<<http://www.ibrac.net/index.php/servicos/estatisticas/estabelecimentos-registrados/estabelecimentos-por-estado>>. Acesso em: 04 fev. 2015.

INSTITUTO BRASILEIRO DA CACHAÇA. **EUA reconhece cachaça como produto brasileiro**. Brasília: IBRAC, 2012. Disponível em: <<http://www.ibrac.net/index.php/noticias/183-eua-reconhece-cachaca-como-produtobrasileiro>>. Acesso em: 25 jan. 2015.

INSTITUTO BRASILEIRO DA CACHAÇA. **Mercado extertno**. Brasília: IBRAC, 2015. Disponível em: <<http://www.ibrac.net/index.php/servicos/estatisticas/mercado-externo>>. Acesso em: 04 fev. 2015.

INSTITUTO BRASILEIRO DA CACHAÇA. **Mercado interno**. Brasília: IBRAC, 2008. Disponível em: <<http://www.ibrac.net/index.php/servicos/estatisticas/mercado-interno>>. Acesso em: 04 fev. 2015.

LABANCA, R. A.; GLÓRIA, M. B. A; AFONSO, R. J. C. F. Determinação de carbamato de etila em aguradentes de cana por CG-EM. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 7, p. 1860-1864, 2008.

LACHENMEIER, D. W. et al. Retrospective trends and current status of ethyl carbamate in German stone-fruit spirits. **Food Additives & Contaminants: part A**, Abingdon, v. 22, n. 5, p. 397-405, May 2005.

LACHENMEIER, D. W.; NERLICH, U.; KUBALLA, T. Automated determination of ethyl carbamate in stone-fruit spirits using headspace solid-phase microextraction and gas chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 1108, n. 1, p. 116–120, Mar. 2006.

LAMBRECHTS, M. G.; PRETORIUS, I. S. Yeast and its importance to wine aroma: a review. **South Africa Journal for Enology and & Viticulture**, Dennesig, v. 21, nesp. p. 97-129. 2000.

LANDELL, M. G. de A. et al. Desenvolvimento e critérios de manejo de variedades. In: RIPOLI, T. C. C. et al. **Plantio de cana-de-açúcar**: estado da arte. Piracicaba: T.C.C Ripoli, 2006. Cap. 8, p. 163-172.

LAWRENCE, J. F.; PAGE, B. D.; CONACHER, H. B. S. The formation and determination of ethyl carbamate in alcoholic beverages. **Advice Environment Science Technology**, [S.l.], v. 23, p. 457-471, 1990.

LIMA, A. J. B. et al. Emprego do carvão ativado para remoção de cobre em cachaça. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 2, p. 247-250, mar./abr., 2006.

MACHADO, A. M. R. et al. Determination of ethyl carbamate in cachaça produced from copper stills by HPLC. **Food Chemistry**, London, v. 138, n. 2-3, p. 1233-1238, June 2013.

MACHADO, A. M. R. et al. Experimental design methodology to optimize the solid phase microextraction procedure prior to GC/MS determination of ethyl carbamate in samples of homemade cachaça. **Analytical Letters**, New York, v. 45, n. 10, p. 1143-1155, June 2012.

MADRERA, R. R.; VALLES, B. S. Determination of ethyl carbamate in cider spirits by HPLC-FLD. **Food Control**, Guildford, v. 20, n. 2, p. 139-143, 2009.

MASSON, J. **Determinação dos teores de carbamato de etila e acroleína em aguardentes de cana produzidas em Minas Gerais**. 2009. 95 p. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos) –Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

MASSON, J. et al. Determination of acrolein, ethanol, volatile acidity, and copper in different samples of sugarcane spirits. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 32, n. 3, p. 568-572, July/Sept. 2012.

MASSON, J. **Parâmetros físico-químicos e cromatográficos em aguardentes de cana queimada e não queimada**. 2005. 69 p. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.

MASSON, J. et al. Parâmetros físico-químicos e cromatográficos em aguardentes de cana queimada e não queimada. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 6, p. 1805-1810, dez. 2007.

MENDONÇA, J. G. P. **Análise do carbamato de etila em cachaças de alambique produzidas por leveduras selecionada e fermentação espontânea**. 2014. 127 p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.

MERCK INDEX. **Propriedades físico-químicas do carbamato de etila**. 13. ed. Rahway: Merck, 2001.

MIRANDA, M. B. de et al. Qualidade química de cachaças e de aguardentes brasileiras. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 4, p. 897-901, out./dez. 2007.

MIRANDA, M. B. et al. Perfil físico-químico de aguardente durante envelhecimento em tonéis de carvalho. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, p.84-89, dez. 2008. Suplemento.

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

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

NAGATO, L. A. F.; NOVAES, F. V.; PENTEADO, M. de V. C. Carbamato de etila em bebidas alcoólicas. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 37, n. 1, p. 40-47, jan./jun. 2003.

NASCIMENTO, R. F. et al. Influência do material do alambique na composição química das aguardentes de cana-de-açúcar. **Química Nova**, São Paulo, v. 21, n. 6, p. 735-739, nov./dez. 1998.

NÓBREGA, I. C. D. C. Análise dos compostos voláteis da aguardente de cana por concentração dinâmica do "headspace" e cromatografia gasosa-espectrometria de massas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 2, p. 210-216, maio/ago. 2003.

NOGUEIRA, A. M. P.; VENTURINI FILHO, W. G. **Aguardente de cana**. Botucatu: Editora da UNESP, 2005. 71 p.
NYKANEN, L.; NYKANEN, I. Distilled beverages. In: MAARSE, H. (Ed.). **Volatile compounds in food and beverages**. New York: Marcel Dekker, 1991. p. 547-580.

ODELLO, L. et al. Avaliação sensorial de cachaça. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 7, p. 1839-1844, 2009.

PARK, S.-K. et al. Analysis of ethyl carbamate in Korean soy sauce using high-performance liquid chromatography with fluorescence detection or tandem mass spectrometry and gas chromatography with mass spectrometry. **Food Control**, Guildford, v. 18, n. 8, p. 975-982, Aug. 2007.

PENTEADO, J. C. P.; MASINI, J. C. Heterogeneidade de alcoóis secundários em aguardentes brasileiras de diversas origens e processos de fabricação. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 5, p. 1212-1215, 2009.

PEREIRA, N. E. et al. Compostos secundários em cachaças produzidas no Estado de Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 5, p. 1068-1075, set./out. 2003.

POLASTRO, L. R. et al. Compostos nitrogenados em bebidas destiladas: cachaça e tiquira. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 21, n. 1, p. 78-81, jan./abr. 2001.

RECHE, R. V. et al. Influence of type of distillation apparatus on chemical profiles of brazilian cachaças. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 55, n. 16, p. 6603-6608, 2007.

ROSE, A. H.; HARRISON, J. S. (Ed.). **The yeasts**. London: Academic Press, 1970. 366 p.

ROSSINI, C. Cana Bisada: a primeira a ser processada em 2010. **Revista Canavieiros: a força que movimenta o setor**, Sertãozinho, v. 5, n. 45, p. 22, mar. 2010.

SANTIAGO, W. D. et al. Ethyl carbamate in the production and aging of cachaça in oak (*Quercus* sp.) and amburana (*Amburana cearensis*) barrels. **Journal of The Institute of Brewing**, London, v. 120, n. 4, p. 507-511, Sept. 2014.

SANTIAGO, W. D. **Teores de carbamato de etila e composição fenólica no processo de produção e no envelhecimento de cachaça em tonéis de carvalho (*Quercus* sp) e amburana (*Amburana cearensis*)**. 2013. 168 p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

SCHABER, P. M. et al. Thermal decomposition (pyrolysis) of urea in an open reaction vessel. **Thermochimica Acta**, Amsterdam, v. 424, n. 1-2, p. 131-142, Dec. 2004.

SCHWAN, R. F. et al. Fermentação. In: CARDOSO, M. das G. **Produção de aguardente de cana-de-açúcar**. 2. ed. Lavras: Editora da UFLA, 2006. p. 102-103.

SCHWAN, R. F.; DIAS, D. R.; DIAS, R. W. de. Fermentação. In: CARDOSO, M. das G. **Produção de aguardente de cana-de-açúcar**. 3. ed. Lavras: Editora da UFLA, 2013. p. 81-101.

SERAFIM, F. A. T. et al. Comparação do perfil químico entre cachaças de um mesmo vinho destiladas em alambiques e em colunas. **Química Nova**, São Paulo, v. 35, n. 7, p. 1412-1416, 2012.

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, jan./fev. 2009.

SILVA, P. H. A. et al. Avaliação cromatográfica de compostos voláteis de cachaças produzidas com leveduras de diferentes procedências. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 1, p. 100-106, jan./mar. 2009.

SILVEIRA, L. C. I.; BARBOSA, M. H. P.; OLIVEIRA, M. W. Manejo de variedades de cana-de-açúcar predominantes nas principais regiões produtoras de cachaça em Minas Gerais. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 23, n. 217, p. 25-32, 2002.

SOUZA, P. P. et al. Brazilian cachaça: “single shot” typification of fresh alembic and industrial samples via electrospray ionization spectrometry fingerprinting. **Food Chemistry**, London, v. 115, n. 3, p. 1064-1068, Aug. 2009.

SUOMALAINEN, H.; LEHTONEN, M. The production of aroma compounds by yeast. **Journal of the Institute of Brewing**, London, v. 85, n. 3, p. 149-156, May/June 1979.

TARGINO, B. N. **Influência da variedade de cana-de-açúcar e do tipo de fermento na qualidade da cachaça de alambique**. 2009. 80 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) –Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.

TRINDADE, A. G. **Cachaça um amor brasileiro**. São Paulo: Melhoramentos, 2006. 160 p.

VILELA, A. F. **Estudo da adequação de critérios de boas práticas de fabricação na avaliação de fábricas de cachaça de alambique**. 2005. 95 p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2005.

VILELA, F. J. et al. Determinação das composições físico-químicas de cachaças do Sul de Minas Gerais e de suas misturas. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 4, p. 1089-1094, jul./ago. 2007.

XU, X. et al. Derivatization followed by gas chromatography-mass spectrometry for quantification of ethyl carbamate in alcoholic beverages. **Journal of Separation Science**, Weinheim, v. 35, n. 7, p. 804-810, Apr. 2012.

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

ZACARONI, L. M. et al. Caracterização e quantificação de contaminantes em aguardentes de cana. **Química Nova**, São Paulo, v. 34, n. 2, p. 320-324, 2011.

ZHAO, X. et al. Progress in preventing the accumulation of ethyl carbamate in alcoholic beverages. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge v. 32, n. 2, p. 97-107, Aug. 2013.