

**DETERMINAÇÃO DOS TEORES DE  
CARBAMATO DE ETILA E DE ACROLEÍNA  
EM AGUARDENTES DE CANA PRODUZIDAS  
EM MINAS GERAIS**

**JOSÉ MASSON**

**2009**

**JOSÉ MASSON**

**DETERMINAÇÃO DOS TEORES DE CARBAMATO DE ETILA E  
ACROLEÍNA EM AGUARDENTES DE CANA PRODUZIDAS EM  
MINAS GERAIS**

Tese 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 obtenção do título de “Doutor”.

Orientadora  
Prof<sup>a</sup>. Maria das Graças Cardoso

LAVRAS  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2009

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca Central da UFLA**

Masson, José.

Determinação dos teores de carbamato de etila e de acroleína em  
aguardentes de cana produzidas em Minas Gerais / José Masson. – Lavras :  
UFLA, 2009.

95 p.: il.

Dissertação (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2009.

Orientador: Maria das Graças Cardoso.

Bibliografia.

1. Cachaça. 2. Análise cromatográfica. 3. Carbamato de etila.
4. Acroleína. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 663.53

**JOSÉ MASSON**

**DETERMINAÇÃO DOS TEORES DE CARBAMATO DE ETILA E DE  
ACROLEÍNA EM AGUARDENTES DE CANA PRODUZIDAS EM  
MINAS GERAIS.**

Tese 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 obtenção do título de “Doutor”.

APROVADA em 18 de fevereiro de 2009

Prof. Haroldo Silveira Dorea	UFS
Profa. Dra. Márcia Justino Rossini Mutton	UNESP
Prof. Dr. Luis Roberto Batista	UFLA
Prof. Dr. Ruy Carvalho	UFLA

Profa. Maria das Graças Cardoso  
UFLA  
(Orientadora)

LAVRAS  
MINAS GERAIS – BRASIL

A Deus,

Pela proteção e concessão desta graça!

Aos meus familiares;

### **OFEREÇO**

À minha esposa, Docinea;

E aos meus filhos, Erich, Neilor e Junior;

### **DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

A DEUS, pela proteção e forças durante toda esta caminhada para a obtenção desse título.

A minha família e familiares, que sempre me apoiaram.

À profa. Maria das Graças Cardoso pela orientação, confiança, incentivo, ensinamentos, amizade, incansável busca de reagentes para viabilização da execução do projeto, apoio e compreensão nos momentos difíceis da pós-graduação.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnológica do Mato Grosso Campus de São Vicente, pela oportunidade concedida na realização desse curso tornando possível este meu anseio.

À Universidade Federal de Lavras e aos Departamentos de Ciência dos Alimentos e de Química pela oportunidade de realização desse curso e a utilização de seus laboratórios.

Aos Professores Adalcino França Junior e Oswaldo Guimarães Filho do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Norte de Minas - Campus de Salinas pelo apoio na coleta de amostras da região.

Aos professores do DCA/UFLA pela amizade e ensinamentos.

Aos produtores de aguardente de cana pela prestimosa atenção e informações nos dada em seus alambiques bem como no fornecimento de amostras para o projeto.

À agradável convivência com os amigos Paulo e Creuza.

Aos professores e funcionários do Departamento de Química pela convivência e amizade.

Ao Prof<sup>o</sup>. Dr. Ruy Carvalho, Chefe do DQI-UFLA, pela viabilização estrutural e material para a execução do projeto.

Ao Prof<sup>o</sup>. Dr. Mário César Guerreiro, Coordenador do Laboratório de Análise e Prospecção Química - CAPQ/UFLA e equipe pela utilização do HPLC e análises de C, N e H.

Aos professores e servidores do IF-MT Campus de São Vicente pelo apoio e aquiescência de minha ausência no seio da comunidade escolar.

Aos amigos do Laboratório de Análises Físico-químicas (UFLA) Ana Eliza, Ana, Cleuza, Fernando, Jeancarlo, Lidiany, Leonardo, Wilder e Cesar pelo apoio nas análises e em especial ao Felipe pela acolhida em sua moradia na parte mais difícil do projeto.

Aos demais colegas, Rafaela, Luis Gustavo, Stefânia, Juliana, Milene, pela amizade e colaboração.

Ao Flávio Pimentel pela amizade e companheirismo.

Às secretárias, Rafaela e Lucilene, DCA-UFLA, Miriam e Lílian, DQI-UFLA, pela dedicação no atendimento, pela amizade e estarem sempre dispostas a colaborar.

Ao CNPq e à FAPEMIG pelo apoio financeiro.

À CAPES pela bolsa concedida, programa PIQDTEC.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a conclusão deste trabalho.

MUITO OBRIGADO

## **BIOGRAFIA**

José Masson, filho de Angelo Maçon e Rosa Priotto Maçon, nasceu na cidade de Jales – SP, em 12 de outubro de 1957.

Em setembro de 1978, ingressou no Departamento Nacional de Estradas e Rodagem, 11<sup>a</sup> DRF-MT, por concurso público, onde exerceu o cargo de patrulheiro rodoviário federal.

Formou-se em Licenciatura em Ciências Habilitação Plena em Química em janeiro de 1983, pela Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá – Mato Grosso.

Professor do Ensino Médio da Rede Estadual de Mato Grosso de 1985 a 1993.

Em março de 1984, transferiu-se para o Centro Federal de Educação Tecnológica de Cuiabá atual Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Mato Grosso - Campus de São Vicente ocupando o cargo de Professor.

Em março de 2004, ingressou no curso de Mestrado em Ciência dos Alimentos, na Universidade Federal de Lavras – MG, concentrando seu estudo na área de Análises Físico Químicas de Aguardente, concluindo em junho de 2005.

Em agosto de 2005, iniciou o curso de Doutorado em Ciência dos Alimentos na Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG, concentrando seus estudos em análises físico-químicas e cromatográficas dos compostos presentes na aguardente de cana.

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
RESUMO GERAL .....	i
GENERAL ABSTRACT .....	ii
1 INTRODUÇÃO GERAL.....	1
CAPÍTULO 1: REVISÃO DE LITERATURA .....	3
1 História da Aguardente .....	3
2 Matéria-prima .....	5
3 Caracterização da aguardente de cana .....	8
4 Processo de produção.....	9
5 Fermentação.....	10
6 Destilação .....	15
7 Envelhecimento .....	20
8 Legislação .....	22
9 Componentes secundários.....	24
10 Contaminantes .....	28
10.1 Metanol.....	28
10.2 Carbamato de etila .....	29
10.3 Acroleína.....	34
10.4 Minerais: Cobre, Chumbo e Arsênio .....	37
Referências Bibliográficas.....	41
CAPÍTULO 2: Avaliação dos teores de carbamato de etila por CG-EM em aguardentes de cana do norte e sul de Minas Gerais.....	52
1 Resumo .....	53
2 Abstract.....	54
3 Introdução .....	55

4	Material e Métodos .....	57
4.1	Obtenção das amostras.....	57
4.2	Reagentes.....	57
4.3	Análises qualitativa e quantitativa .....	57
4.4	Análise estatística .....	59
5	Resultados e Discussão .....	60
5.1	Comparação dos teores de CE e cobre entre as regiões norte e sul de Minas Gerais.....	60
5.2	Influência do destilador no teor de CE na bebida .....	63
6	Conclusões.....	66
7	Referências Bibliográficas.....	67
	Anexos .....	69
	CAPÍTULO 3: Teores de acroleína (2-propenal) em aguardentes de cana avaliados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).....	72
1	Resumo .....	73
2	Abstract.....	74
3	Introdução .....	75
4	Material e Métodos .....	77
4.1	Obtenção das amostras.....	77
4.2	Reagentes.....	77
4.3	Purificação da 2,4-Dinitrofenilidrazina .....	78
4.4	Preparação do derivado 2,4-Dinitrofenilidrazina de acroleína .....	78
4.5	Derivação das amostras .....	79
4.6	Análises qualitativa e quantitativa .....	80
4.7	Análise estatística .....	82
5	Resultados e Discussão .....	83
6	Conclusões.....	86
7	Referências Bibliográficas.....	87

Anexos .....	90
Considerações Finais .....	92
Anexo Geral.....	93

## RESUMO GERAL

MASSON, José. **Determinação do carbamato de etila e de acroleína em aguardentes de cana produzidas em Minas Gerais**. 2009. 95 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.<sup>1</sup>

A aguardente de cana é obtida por meio de processo fermentativo natural do caldo da cana-de-açúcar, tendo alguns pontos críticos nas etapas devido à presença de microorganismos contaminantes e de substâncias indesejáveis que podem interferir na produção, bem como na qualidade da bebida. Além do etanol e água, a aguardente de cana contém em menor concentração grande quantidade de compostos químicos, formados nas diferentes etapas, devido à qualidade da matéria-prima, à linhagem de levedura empregada às condições de fermentação, destilação e envelhecimento. Com este objetivou-se avaliar as concentrações de carbamato de etila (CE), acroleína e outros componentes como alcoóis superiores, ésteres, aldeídos, cobre, acidez volátil, metanol, furfural e grau alcoólico de aguardentes de cana coletadas de produtores das regiões norte e sul Minas Gerais. Das 71 amostras analisadas 29,57% encontraram-se fora da Legislação Brasileira quanto ao teor de carbamato de etila; 21% para o cobre; 26,71% para graduação alcoólica; 9,85% para acidez volátil e apenas 9,85% para a acroleína (propen-2-al); não foi observada correlação significativa entre os teores de CE e cobre. O método analítico desenvolvido para a determinação de acroleína em aguardente de cana foi a derivação com 2,4-dinitrofenilidrazina – DNPH e posterior análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.

---

<sup>1</sup> Comitê Orientador: Maria das Graças Cardoso - UFLA (Orientadora); Augusto Ramalho de Moraes – UFLA; Gilson Alberto Rosa Lima UFMT - (Co-orientadores)

## GENERAL ABSTRACT

MASSON, José. **Determination of ethyl carbamate, acrolein in sugar cane spirits produced in Minas Gerais**. 2009. 95 p. Thesis (Doctorate in Food Science) – Federal University of Lavras, Lavras, MG.<sup>1</sup>

Sugar cane spirit is obtained by means of natural fermentation process of the sugar cane juice, there being some critical points in the steps due to the presence of contaminant microorganisms and undesirable substances that can interfere in the production and the quality of the beverage. In addition to ethanol and water, the beverage contains in lesser concentration, a large amount of chemical compounds, formed in the different steps, owing to the quality of raw material, the strain of yeast used and the conditions of fermentation, distillation and aging. With this, it was aimed to evaluate the concentrations of ethyl carbamate, acrolein and other components such as higher alcohols, esters, aldehydes, copper, volatile acidity, methanol, furfural and alcoholic degree of sugar cane spirits from producers of the northern and southern regions of Minas Gerais. Out of the 71 samples analyzed, 29.57% were out of the Brazilian legislation as to the content of ethyl carbamate (EC), 21% for copper, 26.71% for alcoholic degree, 9.85% for volatile acidity and only 9.85% for acrolein (propen-2-al), no significant correlation was found between the contents of EC and copper. The analytical method developed for the determination of acrolein in sugar cane spirit was the derivation with 2,4-dinitrophenylhydrazine - DNPH and subsequent analysis by high performance liquid chromatography.

---

<sup>1</sup> Guidance Committee: Maria das Graças Cardoso - UFLA (Major Professor); Augusto Ramalho de Moraes – UFLA and Gilson Alberto Rosa Lima - UFMT

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

A mais brasileira de todas as bebidas, cujos relatos de sua primeira fabricação datam de 1536, apresenta ascensão no mercado internacional, sendo a vodka a primeira, o suju a segunda e a aguardente de cana a terceira bebida destilada mais consumida no mundo e a primeira no Brasil. Produzida em todo país por empresas de pequeno, médio e grande porte, totalizam-se 30 mil empresas com mais de cinco mil marcas, gerando mais de 400 mil empregos diretos e indiretos. Segundo dados da Associação Brasileira de Bebidas (ABRABE), são produzidos cerca de 1,5 bilhão de litros de aguardente de cana anualmente. Isso evidencia a importância sócio-econômica desse agronegócio, com exportações para mais de 70 países, hoje em torno de 15 milhões de litros e um crescimento médio de 10% ao ano, devendo fechar a década superando o volume previsto de 42 milhões de litros, número ainda pequeno se comparado à produção, mas com enorme potencial a ser explorado, considerando-se as tendências e o já comprovado sucesso da bebida no mundo (Associação Brasileira de Bebidas - ABRABE, 2008).

A aguardente de cana, produzida em todas as regiões do país, faz com que a bebida seja diferenciada pelos métodos de produção, pelas características culturais e históricas de cada região. Minas Gerais é o maior produtor de aguardente de cana de alambique do país, representando 44% da produção nacional. Estima-se que o número de produtores no estado aproxime-se de 8 mil, gerando cerca de 240 mil empregos diretos e indiretos (Sebrae, 2005).

Apesar da importância desse agronegócio, a aguardente de cana no Brasil não apresenta uma uniformidade tecnológica em sua produção. A busca na melhoria tecnológica, aprimoramento de sua qualidade e identificação dos padrões de qualidade é extremamente importante no atendimento às exigências

dos padrões internacionais e dos consumidores nacionais, cuja aceitação vem aumentando em todas as classes, as quais não importam em pagar valores mais elevados, desde que a bebida seja de qualidade.

O processo de produção é natural e espontâneo, apresentando alguns pontos críticos na cadeia produtiva desse destilado devido à presença de microrganismos contaminantes e de substâncias indesejáveis que podem interferir no processo, bem como na qualidade da bebida.

A falta de boas práticas de produção e a utilização de equipamentos tecnologicamente defasados favorecem a contaminação da bebida, principalmente por carbamato de etila e aldeídos, dificultando a comercialização no mercado externo, em decorrência das exigências dos países importadores quanto à presença e teor dessas substâncias na bebida.

Em busca da melhoria da aguardente de cana, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) aprovou o Regulamento Técnico para Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para a Aguardente de Cana e para Cachaça (Brasil, 2005a). As substâncias álcool sec-butílico (butan-2-ol), álcool butílico (butan-1-ol) e acroleína (propen-2-al) tinham até 30/6/2008 para inclusão no laudo oficial dos padrões de identidade e qualidade para as aguardentes de cana, e as substâncias carbamato de etila (CE), chumbo (Pb) e arsênio (As) tem até a ano de 2010 para sua inclusão.

Estudos sobre essas substâncias, bem como as metodologias para sua determinação, são requeridos, universalizando-as para que os produtores possam implantar programas de qualidade.

Diante do exposto, o presente trabalho objetivou-se analisar amostras de aguardentes de cana produzidas nas regiões norte e sul de Minas Gerais quanto à presença de carbamato de etila e acroleína, compostos que possivelmente são transferidos ou formados durante o processo de produção.

## CAPÍTULO 1

### REVISÃO DE LITERATURA

#### **1 História da Aguardente**

Os primeiros relatos sobre a fermentação vem dos antigos egípcios, os quais julgavam que a inalação de vapores de líquidos aromatizados e fermentados, absorvidos diretamente do bico de uma chaleira, num ambiente fechado, curava várias moléstias.

Cascudo (1968) relata que na América do Sul os índios preparavam bebidas alcoólicas com base na fermentação da mandioca, banana, milho, caju e outras frutas. Os índios praticam até hoje a técnica da cauinagem, cujo processo da fermentação tem início na mastigação do substrato. Segundo esse autor, a aguardente é a mais comunitária das bebidas, sendo usada em festas, cerimônias tribais, cultos religiosos e oferendas votivas aos mortos, muito além das terras brasileiras.

Os primeiros colonizadores que vieram para o Brasil apreciavam a bagaceira portuguesa e o vinho-do-porto. Assim como a alimentação, toda bebida era trazida da corte. Em um engenho da Capitania de São Vicente, entre 1532 e 1548, descobriram o vinho de cana-de-açúcar - garapa azeda que ficava ao relento em cochos de madeira para os animais, que provinha dos tachos de rapadura. Os senhores de engenho passam a servir o tal caldo, denominado cagaça, para os escravos, nascendo aí a cachaça (Lima, 2001). De meados do século XVI até a metade do século XVII, as “casas de cozer méis” – como eram chamados os alambiques – multiplicaram-se e a aguardente chegou até mesmo a ser moeda corrente para a compra de escravos na África; ao mesmo tempo, seu consumo crescia, principalmente entre os mais pobres.

Como símbolo de brasilidade e dos ideais de liberdade, a aguardente freqüentou a mesa dos inconfidentes e das pessoas que apoiavam a conjuração mineira. A “aguardente da terra”, como passou a ser chamada, tornou-se um símbolo da resistência ao domínio português.

São Paulo, onde acredita-se que a aguardente teve origem, é igualmente responsável pela redenção da bebida. Com a Semana de Arte Moderna, em 1922, começou o “resgate” da brasilidade. A aguardente voltou a ser um símbolo, como na época dos inconfidentes, só que agora não mais da independência política, mas da insubmissão à cultura européia. Como os participantes do movimento eram intelectuais que freqüentavam a alta sociedade paulistana e, muitos deles de famílias tradicionais, a cozinha brasileira e a cachaça foram reinseridas nos solares das fazendas e palacetes urbanos de todo o País, principalmente dos Estados de São Paulo e Minas Gerais.

As características de qualidade, dentre elas sabor, aroma e cor, eram os mais variados e algumas aguardentes de cana destacavam-se por apresentarem propriedades sensoriais peculiares, resultante de técnicas de fermentação, destilação e variedades da madeira na construção de tonéis. O aumento da produção ocorreu com o fim da guerra, quando surgiram as destilarias de maior porte e com elas a necessidade de conhecimentos técnicos e científicos, desde a cultura da cana-de-açúcar ao engarrafamento (Lima, 1992).

A produção de aguardente de cana é uma atividade desenvolvida em todo o Brasil e, pelo seu valor histórico, parece ter incorporado os segredos e a tradição de Minas Gerais. Até o início da década de 80, conceitos, credences e técnicas populares envolviam essa atividade de tal forma que cada alambique parecia produzir uma aguardente especial e diferente de todas as outras. Hoje, a produção da aguardente de alambique vem passando por uma profunda revisão em seus conceitos e iniciativas empreendedoras. Entre esses, podem-se citar a introdução da pesquisa e a postura dos novos investidores do agronegócio da

aguardente, que visam à qualidade e ao lucro, deixando de lado a idéia de que a atividade seria simplesmente para complementação do orçamento da propriedade e manutenção das instalações agropecuárias (Sebrae, 2005).

## **2 Matéria-prima**

Para a produção de aguardente de cana, somente pode ser utilizada a matéria-prima cana-de-açúcar, da qual se extrai o caldo.

O Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar do mundo, com uma área plantada de aproximadamente 6,6 milhões de hectares e uma produtividade média de 77,047 t.ha<sup>-1</sup>, tendo produzido na safra 2007/2008, 658.181.799 de toneladas, observou-se uma ascensão de 19,2%, em relação a safra anterior (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE, 2008). Os maiores estados produtores são: São Paulo, Paraná, Minas Gerais, Goiás, Alagoas, Mato Grosso do Sul, Pernambuco, Mato Grosso, Rio de Janeiro e Paraíba (IBGE, 2007).

A cana-de-açúcar é uma planta pertencente à classe das monocotiledôneas, família Poaceae (Gramineae), gênero *Saccharum* e espécie *Saccharum* spp. O nome atual da espécie está relacionado ao fato de que todas as variedades de cana (atualmente cultivadas no mundo para produção de açúcar, álcool, aguardente ou forragem), são híbridas, envolvendo duas ou mais espécies diferentes (atualmente existem trinta e duas espécies conhecidas e catalogadas). As principais espécies conhecidas têm origem na Oceania (Nova Guiné) e Ásia (Índia e China) (Andrade, 2006).

A qualidade da matéria-prima foi conceituada por Stupiello (1992) como o conjunto de características compatíveis com as exigências da indústria, que devem atender a uma conjunção de parâmetros tecnológicos e microbiológicos que definam a sua qualidade e tenham influência fundamental no processamento. Para Clarke & Legendre (1999), entre os fatores de qualidade da

matéria-prima que influenciam no rendimento do processo de produção de cana, estão a variedade, o conteúdo de sólidos solúveis e de açúcares, o teor de impurezas e fibra na cana, os fatores de estresse e deterioração, causados por atraso no processamento.

Entre os fatores de produção da cana-de-açúcar, a variedade ocupa lugar de destaque, já que é o único fator capaz de proporcionar aumentos significativos na produtividade agrícola e industrial, sem aumentos nos custos de produção. As variedades de cana que são adequadas para a produção de açúcar e álcool são as mesmas indicadas para a produção de aguardente de cana (Andrade, 2006).

Maia et al. (1994) relatam que há diferenças de uma variedade para outra; porém, isso não é um fator limitante da qualidade, pois desde que a cana forneça o teor necessário de açúcar, todos os demais requisitos nutricionais das leveduras no momento da fermentação poderão ser suplementados pelo fabricante. Ao longo da história da cana-de-açúcar, houve a necessidade de contínua substituição de variedades menos produtivas por outras mais ricas e produtivas. Pesquisas de Mota et al. (1996) indicam que uma variedade produtiva tem grande importância econômica no contexto da cultura, pois é um insumo que pode gerar maior lucratividade, sem aumento de despesas.

Nas usinas, oito a dez variedades são responsáveis por 100% da área de corte, permitindo um planejamento da colheita que leva em conta a idade, a maturação e as demais características das variedades, para obter um bom rendimento industrial durante o período da safra. Nos alambiques, normalmente é feita uma seleção entre as variedades existentes, para produção de açúcar e álcool, que possam ser utilizadas na produção de aguardente de cana/cachaça (Andrade et al., 2002).

A composição média do colmo de cana-de-açúcar maduro compõe-se de fibras (10%) e caldo (90%); neste último predominam de 70% a 90% (sólidos

solúveis constituídos de sacarose); 65% a 80% de água; 2% a 4% de glicose e frutose; 3% a 5% de sais; 0,5% a 0,6% de proteína; 0,001% a 0,05% de amido; 0,05% a 0,15% de ceras e graxas e 3% a 5% de corantes (Stupiello, 1987). O caldo de cana, por conter nutrientes orgânicos e inorgânicos, alta atividade de água, pH entre 5,0 e 5,5 e manter-se na temperatura de 25 a 30°C, constitui-se em ótimo substrato para o crescimento de grande e diversificada microbiota (Gallo & Canhos, 1991).

Recomenda-se, tanto para cana sem queima como para cana queimada, que o intervalo entre corte e moagem não ultrapasse 48 horas. Quando a cana é queimada para efetuar o corte, há uma modificação considerável na fisiologia e morfologia do colmo, dependendo da intensidade do fogo e da temperatura ambiente por ocasião da queima (Yokoya, 1995). Embora a cana queimada aumente o rendimento de corte manual em relação à não queimada, há alguns inconvenientes, tais como perda de açúcar pela exsudação de mel nos colmos, aumento de impurezas minerais, como terra, areia e outros, aderentes aos colmos e, em algumas condições de alta temperatura e umidade, podem facilitar contaminações microbiológicas. Assim, para produção de aguardente de cana, a colheita da cana deverá ser realizada sem a queima prévia do canavial (Andrade, 2006).

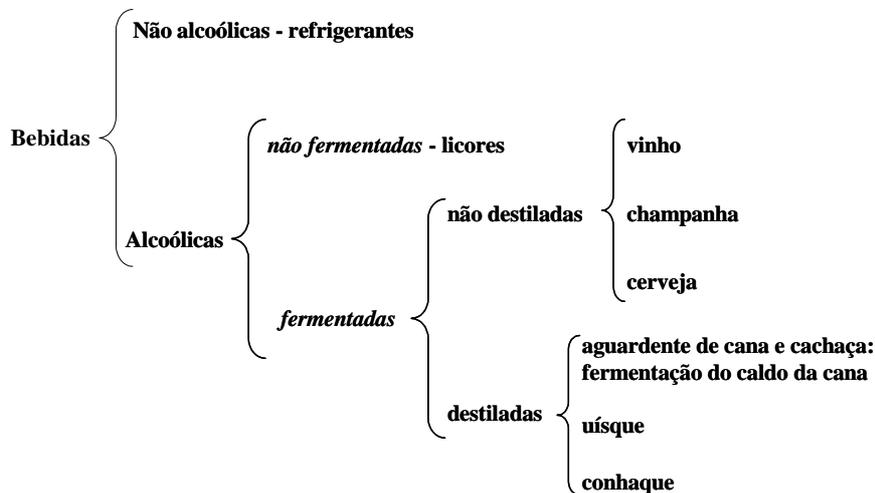
Masson et al. (2007), comparando as aguardentes de cana alambique obtidas de cana-de-açúcar com e sem queima prévia, oriundas de um mesmo processo de produção (fermentação, destilação e equipamentos), concluiu que a queima do palhiço da cana-de-açúcar propiciou um aumento na concentração de furfural; porém, os demais componentes nas aguardentes estudadas (alcoóis superiores, ésteres, aldeídos, cobre, acidez volátil e metanol) não foram afetados significativamente pela queima prévia da cana-de-açúcar.

### **3 Caracterização da aguardente de cana**

As bebidas alcoólicas são classificadas em dois grupos: fermentadas e destiladas. Fermentadas são aquelas preparadas por fermentação e operações posteriores de clarificação e acabamento. Entre essas, encontram-se o vinho obtido de uvas e outras frutas, os fermentados obtidos de grãos e de outras partes vegetais, os fermentados de seiva e os fermentados de mel. Destiladas são aquelas em que o mosto, após a fermentação, sofre algum processo de destilação (Aquarone et al., 2001).

De acordo com a legislação brasileira, a aguardente de cana é a bebida com graduação alcoólica de 38% a 54% em volume a 20°C, obtido do destilado alcoólico simples de cana-de-açúcar ou pela destilação do mosto fermentado do caldo de cana-de-açúcar, podendo ser adicionado de açúcares até 6 g L<sup>-1</sup>, expressos em sacarose. Cachaça é a denominação típica e exclusiva da aguardente de cana produzida no Brasil, com graduação alcoólica de 38% a 48% em volume a 20°C, obtida pela destilação do mosto fermentado do caldo de cana-de-açúcar com características sensoriais peculiares, podendo ser adicionada de açúcares até 6g L<sup>-1</sup>, expressos em sacarose (Brasil, 2005a). A classificação das bebidas, inclusive a aguardente de cana, está exemplificado na Figura 1.

As bebidas alcoólicas possuem características próprias de aroma e sabor conferidas pela presença de diversos constituintes do processo fermentativo. Além do etanol, muitos compostos orgânicos, como alcoóis superiores, ácidos orgânicos e ésteres estão presentes. Do ponto de vista microbiológico, a variação qualitativa e quantitativa desses produtos é devida, entre outros fatores, à estirpe de levedura utilizada (Mendonça et al., 1999).

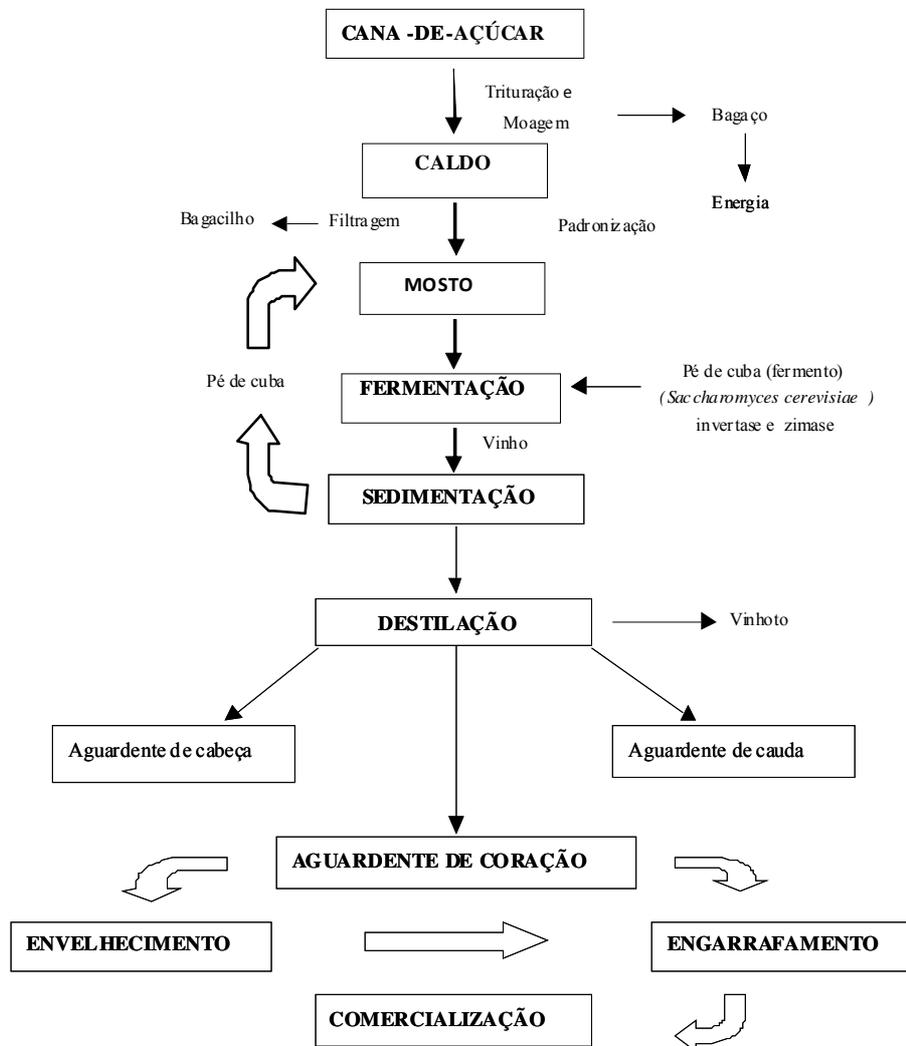


**FIGURA 1.** Esquema simplificado de classificação das bebidas.

Além do etanol e da água, a aguardente de cana contém em menor concentração grande quantidade de compostos orgânicos, os quais são incorporados ao longo de todo o processo produtivo, sendo requeridos como congêneres. Os compostos presentes e suas respectivas concentrações são formados, em diferentes níveis, devido ao tipo de substrato utilizado, à linhagem de levedura empregada e às condições de fermentação, de destilação e de envelhecimento (Brasil, 1997).

#### **4 Processo de produção**

A produção de aguardente de cana inicia-se com a trituração dos colmos da cana-de-açúcar em moendas, extraindo a parte líquida juntamente com os sólidos solúveis, obtendo-se o caldo de cana, que é filtrado e levado ao processo de fermentação em dornas onde já se encontra o fermento ou pé-de-cuba. Na Figura 2 ilustra-se simplificada todo o processo de produção da aguardente de cana.



**FIGURA 2.** Fluxograma de produção da aguardente de cana.

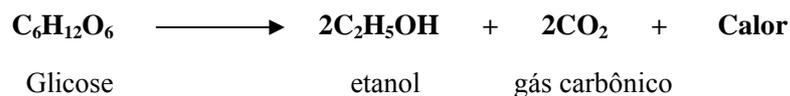
## 5 Fermentação

O processo fermentativo consiste basicamente no desdobramento dos açúcares, especialmente a sacarose em álcool. Entretanto, dependendo de como

essa transformação é realizada, pode-se obter maior ou menor quantidade de aguardente de cana e produto de melhor ou pior qualidade. Do ponto de vista biológico, o processo para fabricação de aguardente de cana e cachaça constitui-se de duas etapas principais: na primeira é preparado o inóculo, chamado também de pé-de-cuba. Nessa etapa, basicamente os microrganismos são multiplicados em condições apropriadas para garantir o desenvolvimento adequado da segunda etapa, que corresponde à conversão de açúcar em álcool e gás carbônico, denominada fermentação (Pataro et al., 2002).

Louis Pasteur, químico francês, em seus trabalhos comprovou que a fermentação é provocada pelo processo vital de microrganismos; em suas condições de trabalho, obteve a partir de 100 g de glicose, 48,5 g ou 61 mL de etanol a 15°C. Comparando com resultados atuais obtidos com tecnologia avançada, seus resultados foram excelentes e, portanto, o rendimento obtido por Louis Pasteur é usado na avaliação da eficiência da fermentação, sendo conhecido como Rendimento de Pasteur. Outro método empregado para o cálculo da eficiência do processo fermentativo é relacionar o teor alcoólico real da destilação com o valor teórico da equação de Gay Lussac (Equação 1). Nessa equação, os açúcares são fermentados para a produção de álcool e liberação de gás carbônico. A diferença entre os dois métodos deve-se às perdas no processo produtivo, tendo como causa principal o consumo de açúcar por microrganismos indesejáveis ao processo fermentativo e evaporação (Lima, 2002). Na prática, os rendimentos descritos, são impossíveis de conseguir, visto que o processo fermentativo é muito complexo para ser resumido por uma reação química como a de Gay Lussac; essa reação vai depender de vários fatores, entre eles o tipo do destilador, da levedura e, principalmente, das práticas de produção empregada. Obtêm-se valores na ordem de 90%, estimando-se que parte do açúcar metabolizado pelas leveduras seja desviado para a produção de produtos como glicerol, alcoóis superiores e outros, além do necessário para a manutenção

celular (Lima et al., 2001; Schmidell et al., 2001). Segundo Lima et al. (2001), em condições industriais ocorre o desvio de 10% do açúcar consumido para a formação de produtos secundários (co-produtos) da fermentação.



**EQUAÇÃO 1.** Degradação de glicose em C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH e CO<sub>2</sub>.

Segundo Sanches-Peres et al. (2000) e Pereira Júnior (2002), características como alta produtividade, eficiência do processo, tolerância ao etanol e temperatura, resistência a altas concentrações de substrato, habilidade em flocular e de produzir ou não componentes do aroma são parâmetros de grande interesse na produção de bebidas.

O grupo de leveduras do gênero *Saccharomyces* é o de maior importância industrial, sendo a *Saccharomyces cerevisiae* a mais utilizada na indústria de alimentos e bebidas. No Brasil, são largamente empregadas como agentes nas transformações microbiológicas na panificação, na produção de bebidas, como cerveja, vinho, aguardente de cana e na produção de álcool (Ogawa et al., 2000; Pacheco & Sgarbieri, 2002).

O bom desempenho do processo fermentativo depende também das condições de pH e acidez do meio (Cleto & Mutton, 1997). Durante a fermentação, o metabolismo das leveduras libera 11,7 Kcal por quilo de substrato consumido (Lima, 2002). Temperatura e pH do mosto em fermentação devem ser controlados evitando o desenvolvimento de microrganismos contaminantes. De acordo com Schwan et al. (2006), em valores de pH próximos a 4 e temperatura acima de 32°C, as contaminações bacterianas podem ocorrer, interferindo na eficiência do processo. Temperaturas elevadas podem causar a morte das leveduras e favorecer contaminações.

A alta acidez presente no vinho pode comprometer o padrão de qualidade da aguardente de cana e pode estar relacionada à presença de um número elevado de bactérias no mosto durante a fermentação. O pH do caldo de cana é normalmente em torno de 5,5. Essas características tornam o caldo de cana um excelente meio para desenvolvimento de microrganismos. O pH ótimo para produção de álcool por *Saccharomyces cerevisiae* é em torno de 4,5, a acidificação realizada antes da inoculação favorece a fermentação alcoólica e previne também o crescimento das bactérias contaminantes (Schwan et al., 2006).

Durante a fermentação alcoólica, além da formação dos produtos principais etanol e dióxido de carbono, ocorre também a formação de pequenas quantidades de outros compostos, os quais recebem a denominação de produtos secundários ou congêneres. Esses produtos contribuem para o sabor e aroma final da aguardente de cana. Os principais produtos formados são glicerol, ácido acético, acetato de etila, 2-metil butanol-1 (álcool amílico), 2,3-butanodiol, acetaldeído, ésteres, 3-metil butanol-1 (álcool isoamílico) (Lima et al., 2001; Schwan & Castro, 2001).

Vários fatores interferem na qualidade das bebidas alcoólicas destiladas, como a matéria-prima, a fermentação, a destilação e o envelhecimento. No entanto, considerando que a maioria dos compostos responsáveis pelo sabor é formada durante a fermentação, as leveduras e as condições de fermentação são apontadas como os fatores que mais influenciam as características organolépticas da aguardente de cana (Lehtonen & Jounela-Eriksson, 1983).

Nykänen (1986) verificou que mais de 1.300 compostos voláteis já foram identificados em bebidas alcoólicas. Apesar dessas informações, o sabor em um sistema complexo, tal como a cerveja, o vinho, o uísque, não pode ser inferido com base em análises; com poucas exceções, o sabor perceptível é resultante de uma combinação de vários componentes e não de um composto de



celular, consumo de substrato e formação de produto, bem como avaliar a influência de fatores como pH, temperatura, entre outros (Carvalho, 1996).

Silva et al. (2006) encontraram variações nos teores dos principais compostos secundários, não resultando em diferenças perceptíveis em relação aos atributos de sabor e impressão global. Entretanto, o propanol-1 apresentou correlação positiva com os atributos aroma, sabor e impressão global em quatro aguardentes de cana produzidas com quatro linhagens de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* isoladas de fermentações em fábricas de aguardente de cana de alambique, localizadas no estado de Minas Gerais.

Jeronimo et al. (2008), com a adição de nitrogênio protéico no meio fermentativo, observaram a influência positiva na manutenção da viabilidade celular, propiciando melhor qualidade do fermento reciclado e redução do tempo de fermentação, não interferindo na aceitação sensorial da bebida e, também não alterando o conteúdo dos compostos voláteis.

## **6 Destilação**

A destilação deve ser efetuada de forma que o produto obtido preserve o aroma e o sabor dos principais componentes contidos na matéria-prima e aqueles formados durante a fermentação. Após a fermentação, é vedada a adição ou introdução no equipamento de destilação de qualquer substância ou ingrediente que altere as características sensoriais naturais do produto (Brasil, 2005a).

A destilação em alambiques ou colunas, após a fermentação, consiste em separar e selecionar os produtos de acordo com as temperaturas de ebulição ou de mudança de fase do componente. Para evaporação dos componentes, a mistura é aquecida a um ponto em que os componentes ou porções da mistura mais voláteis passam do estado líquido para o gasoso. A seguir, são transferidos para uma região de temperatura mais baixa (condensador), onde é feito o retorno ao estado líquido. No caso de mistura álcool-água, geralmente a fração do vapor

contém maior proporção de álcool que a fração líquida que a deu origem, pois o álcool é mais volátil que a água. Essa relação pode ser representada matematicamente pela expressão:

$$\frac{P}{Q} < \frac{p}{q}$$

Em que: P = quantidade de álcool no líquido gerador;  
Q = quantidade de água no líquido gerador;  
p = quantidade de álcool no vapor;  
q = quantidade de água no vapor.

A destilação simples de um vinho que contém entre 5% e 10% em volume de etanol não permite atingir 54% v/v de etanol, pois os primeiros vapores condensam com concentração entre 35,8% e 51,0% (v/v). Na prática, em função de outros fenômenos físicos, obtêm-se concentrações muito superiores para o destilado final (Rasovisky, 1979).

O condensado, que representa a soma de todos os vapores, com diferentes concentrações formadas sucessivamente após atingir teor alcoólico mais elevado, tem sua concentração reduzida ao longo do processo. Portanto, ao atingir a graduação desejada, faz-se o corte porque, a partir daí, a concentração alcoólica do destilado reduz-se gradativamente, podendo ser abaixo do teor desejado para aguardente de cana; nesse caso, sua qualidade ficará prejudicada.

O produto de destilação, tanto em alambiques como em colunas, apresenta composição química mais rica em compostos voláteis do que a fração líquida remanescente, obtendo uma aguardente de cana de 38% a 54% v/v a 20°C de teor alcoólico. No processo da destilação em alambique, os compostos são separados de acordo com a temperatura de ebulição, denominadas de frações cabeça, coração e cauda.

A cabeça, correspondendo 8% - 10% do destilado, contém produtos como o metanol, acetaldeído, acetato de etila e grau alcoólico acima de 65 °GL, devendo ser desprezada ou utilizada para produção de álcool combustível.

O coração, fração subsequente, correspondendo a 80% do destilado, é recolhido até que o teor alcoólico atinja o valor de 1,0 a 1,5 °GL acima estabelecido para o engarrafamento dependendo das operações de acabamento (para o envelhecimento deverá ser maior em função do número de anos e do tipo de madeira utilizado).

A cauda, fração final da destilação, correspondendo 8% a 10% da fração total do destilado, deve ser desprezada ou utilizada para a produção de álcool combustível.

Em cada alambicada são desconsiderados, aproximadamente, 20% de pré-destilado rico em álcool. Em vez de ser considerado como resíduo perdido, a cabeça, que possui elevado teor alcoólico (geralmente, superior a 50 °GL) e a cauda deverão ser levados para uma coluna de retificação para serem transformados em álcool combustível (Silva et al., 2007).

Uma das diferenças básicas da aguardente de cana produzida em alambique, para as produzidas industrialmente em colunas contínuas, é que estas padronizam a destilação, e conseqüentemente retiram congêneres importantes na qualidade sensorial da bebida. O efeito da destilação sobre o “flavour” da bebida pode ser prejudicado pela remoção quantitativa das frações cabeça e cauda (Reed & Nagodawithana, 1991)

O resíduo remanescente no alambique é chamado de vinhoto ou vinhaça e contém compostos sólidos, minerais, açúcares não-fermentados, células de leveduras, bagacilho, ácidos não-voláteis e a maior parte dos ácidos voláteis. A precisão com que são efetuados os cortes tem influência na qualidade final da aguardente (Maia, 1994).

Segundo Léauté (1990), as condições sob as quais é conduzida a destilação são de primordial importância às características da bebida, pois além de afetar as quantidades relativas dos congêneres, promove algumas reações químicas induzidas pelo calor e, dependendo do tipo de reação, os componentes voláteis do vinho podem aumentar ou diminuir e ainda originar novos componentes. Algumas reações são bem conhecidas, como a hidrólise, a esterificação, a acetalização, a produção de furfural e as reações com o cobre. Na primeira destilação em alambique, classificam-se os compostos voláteis em: compostos solúveis em álcool, com baixa Te (Temperatura de ebulição), apresentando maior concentração, saem nas frações cabeça e no início do coração (acetaldeído (21°C) e acetato de etila (77°C)); compostos que apresentam Te menor ou igual a 93°C, solúveis em álcool e total ou parcialmente solúveis em água, encontram-se na cabeça e no coração do destilado. Ex. metanol e álcoois superiores; compostos com alta Te total ou parcialmente solúveis em etanol terminam de destilar no meio da fração do coração. Os ácidos graxos e seus ésteres estão nessa categoria; compostos com Te maior que o da água, solúveis ou parcialmente solúveis em água, iniciam-se a destilação no meio do coração. Ex.: ácido acético (110°C), lactato de etila, 2-feniletanol; e componentes com alta Te, muito solúveis em água e produzidos durante a destilação aumentando a concentração do meio do coração para cauda (furfural (167°C)). Já na segunda destilação, o comportamento dos componentes voláteis é levemente diferenciado, devido ao aumento do conteúdo de álcool na fração coração.

Boza & Horii (1998), ao estudar o comportamento dos congêneres da aguardente de cana durante a primeira destilação do vinho em alambique, verificou que o álcool 3-metil butanol-1 (isoamílico) (Te 128°C), solúvel em etanol e pouco solúvel em água, destila em quantidades apreciáveis entre 80% – 60% de etanol em volume, faixa que compreende as frações cabeça e coração.

Mas, quanto ao comportamento do teor de acidez total (determinado principalmente pela concentração de ácido acético (Te 110°C)), solúvel em água, observou-se o aumento a partir da fração coração e maiores teores na fração cauda, em razão da maior proporção de água, do baixo teor alcoólico e do aumento da temperatura no final da destilação. Portanto, a distribuição dos congêneres durante a destilação é determinada pelas suas respectivas volatilidade e solubilidade no meio.

Para assegurar que o destilado mantenha o aroma e o sabor característicos, o estabelecimento do grau alcoólico de destilação é fundamental, como no caso do “brandy”, que é de 170° proof; porém, quanto à aguardente de cana obtida do destilado alcoólico simples com graduação alcoólica em torno de 95% em volume a 20°C, o grau alcoólico de destilação é bastante elevado, o que talvez descaracterize a bebida (Boza & Horri, 1999).

Para Boza & Horii (1998), as aguardentes de cana obtidas de vinhos decantados, destilados em alambiques com bandejas perfuradas de cobre, apresentam aroma e sabor mais agradáveis do que as aguardentes obtidas de vinhos centrifugados e destilados no mesmo equipamento.

A concentração de células de leveduras no vinho a ser destilado influencia a composição química, o aroma e o corpo dos destilados, pois as células enriquecem os destilados principalmente com ésteres de ácidos graxos e com aminoácidos. Os aminoácidos, produtos de hidrólise protéica, participam da formação de compostos importantes para composição do “flavour” da bebida destilada (Carnacini et al., 1989). Alves et al. (1997) concluíram que a centrifugação de vinhos, destilados na ausência de cobre, pode reduzir odores e sabores indesejáveis na aguardente, conferidos pelos produtos de degradação térmica das estruturas protéicas do fermento.

Os aparelhos de destilação usados na obtenção de bebidas destiladas são geralmente construídos de cobre, tendo em vista que esse metal é bem maleável,

bom condutor de calor, resistente ao desgaste físico, apresenta função essencial na formação de sabor e aroma do produto. As reações entre os congêneres e as superfícies de cobre do destilador são especialmente importantes, uma vez que essas reações são capazes de remover ou modificar muitos congêneres desagradáveis presentes; o cobre atua como catalisador de reações de oxirredução nas quais compostos sulfurados voláteis transformam-se em compostos insolúveis, enquanto a crosta cúprica formada na superfície da chapa exposta aos vapores do destilado catalisa a esterificação dos ácidos orgânicos pelo álcool, bem como a redução e conseqüente remoção de sulfetos orgânicos e mercaptanas (Yokoya, 1995).

As colunas de destilação são constituídas em forma de alambiques interconectados em série, contendo separações às quais se dá o nome de pratos ou bandejas (o número de pratos, a dimensão e formas são variáveis, e dependem da capacidade de produção e finalidade; estes proporcionam o refluxo desejado, e quanto maior o número, maior o refluxo e maior a concentração alcoólica) de operação contínua de fácil manejo, consome menos energia, requer mão-de-obra menos hábil, permite maior produtividade e uniformidade do produto (Lima et al., 2001). São encontrados nas destilarias de médio e grande porte, sendo aparelhos flexíveis podendo obter flegma de alto ou baixo teor alcoólico, porém a usada na fabricação de aguardente de cana frequentemente é a de baixo grau e produz flegma de 35° a 65°C, construída em aço inox contendo revestimento no topo em cobre ou telas de fios de cobre (Yokoya, 1995).

## **7 Envelhecimento**

O envelhecimento da aguardente de cana é feito em recipientes de madeira, cujas características naturais proporcionarão à bebida coloração e aspectos sensoriais, por meio da incorporação de substâncias da madeira.

A composição química das madeiras consiste em celulose, hemicelulose, lignina e constituintes menores. Os constituintes menores incluem vários compostos orgânicos e inorgânicos, cuja presença é governada especialmente por fatores genéticos e ecológicos, sendo esses constituintes responsáveis por características da madeira, como cor, odor, sabor e resistência ao apodrecimento (Almeida, 1988).

Durante os anos, o aroma da aguardente de cana torna-se harmonioso, arredondado; por outro lado, já não se distingue com facilidade a contribuição da fermentação e da madeira, pois já existe uma associação entre seus componentes.

Quanto ao tempo de envelhecimento, a legislação brasileira (Brasil, 2005a), designa que:

Aguardente de cana envelhecida é a bebida que contém, no mínimo, 50% da aguardente de cana ou do destilado alcoólico simples de cana-de-açúcar envelhecidos em recipiente de madeira apropriado, com capacidade máxima de 700 litros, por um período não inferior a um ano.

Cachaça envelhecida é a cachaça que contém, no mínimo, 50% de cachaça ou aguardente de cana envelhecidas em recipiente de madeira apropriado, com capacidade máxima de 700 litros, por um período não inferior a um ano.

Aguardente de cana Premium é a bebida que contém 100% de aguardente de cana ou destilado alcoólico simples de cana-de-açúcar envelhecidos em recipiente de madeira apropriado, com capacidade máxima de 700 litros, por um período não inferior a um ano.

Cachaça Premium é a bebida que contém 100% de cachaça ou aguardente de cana envelhecidas em recipiente de madeira apropriado, com capacidade máxima de 700 litros, por um período não inferior a um ano.

Aguardente de cana Extra Premium: é a bebida que contém 100% de aguardente de cana ou destilado alcoólico simples de cana-de-açúcar envelhecidos em recipiente de madeira apropriado, com capacidade não superior a 700 litros, por um período não inferior a três anos.

Cachaça Extra Premium é a bebida que contém 100% de cachaça ou aguardente de cana envelhecidas em recipientes de madeira apropriado, com capacidade não superior a 700 litros, por um período não inferior a três anos.

## **8 Legislação**

A aguardente de cana é a bebida com graduação alcoólica que varia de 38% a 54% em volume a 20°C, obtida do rebaixamento do teor alcoólico do destilado alcoólico simples de cana-de-açúcar com água, ou pela destilação do mosto fermentado (Brasil, 1997).

Através do Decreto nº 2314, de 4 de set. de 1997 no Art. 91 estabelece os valores dos padrões de qualidade da análise de aguardente. O teor alcoólico deve ser entre 38% a 54% v/v, a temperatura de 20°C como padrão de leitura do grau alcoólico; a soma dos componentes voláteis (aldeídos, ácidos, ésteres, furfural e alcoóis superiores) não pode ser inferior a 200 mg 100 mL<sup>-1</sup> de álcool anidro.

Com o avanço tecnológico e a exigência do mercado consumidor, tanto nacional como internacional, o controle de qualidade em relação aos componentes químicos presentes na aguardente de cana faz-se necessário. Por meio da Instrução Normativa nº 13/2005, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) aprovou o Regulamento Técnico para Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para Aguardente de Cana e para Cachaça, alterando alguns componentes e acrescentando outros. Atualmente, a qualidade da aguardente de cana deve atender aos requisitos descritos na Tabela 1 (Brasil, 2005a).

**TABELA 1.** Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ's) mínimos e máximos permitidos pelo MAPA.

Componentes	Unidade	Limite mínimo	Limite máximo
Graduação alcoólica de aguardente	% em volume de etanol a 20 °C	38	54
Graduação alcoólica de cachaça	% em volume de etanol a 20 °C	38	48
<b>Congêneres (soma)</b>	mg 100 mL <sup>-1</sup> de álcool anidro	200	650
Acidez volátil em ácido acético	mg 100 mL <sup>-1</sup> de álcool anidro	-	150
Ésteres totais, expressos em acetato de etila	mg 100 mL <sup>-1</sup> de álcool anidro	-	200
Aldeídos em aldeído acético	mg 100 mL <sup>-1</sup> de álcool anidro	-	30
Soma dos álcoois isobutílico (2-metil propanol), isoamílicos (2-metil-butanol-1 + 3-metil-butanol-1) e propílico (propanol-1)	mg 100 mL <sup>-1</sup> de álcool anidro	-	360
Furfural e hidroximetilfurfural	mg 100 mL <sup>-1</sup> de álcool anidro	-	5
<b>Contaminantes orgânicos</b>			
Metanol	mg 100 mL <sup>-1</sup> de álcool anidro	-	20
Carbamato de etila(**)	µg L <sup>-1</sup> de álcool anidro	-	150
Acroleína (propenal-2)(*)	mg 100 mL <sup>-1</sup> de álcool anidro	-	5
Álcool sec-butílico (butanol-2)(*)	mg 100 mL <sup>-1</sup> de álcool anidro	-	10
Álcool butílico (butanol-1)(*)	mg 100 mL <sup>-1</sup> de álcool anidro	-	3
<b>Contaminantes inorgânicos</b>			
Cobre (Cu)	mg L <sup>-1</sup>	-	5
Chumbo (Pb)(*)	µg L <sup>-1</sup>	-	200
Arsênio (As)(*)	µg L <sup>-1</sup>	-	100
<b>Partículas em suspensão</b>			
(resíduos sólidos de qualquer espécie)	-	ausentes	Ausentes
<b>Extrato seco</b>			
Aguardente de cana e cachaça	g L <sup>-1</sup>	-	6
Aguardente de cana e cachaça "adoçada"	g L <sup>-1</sup>	>6	<30

Fonte: Adaptado de Brasil, 1997 e 2005a.

(\*) Estabelecido o prazo, a partir de junho/2005, de 3(três) anos para adequação e controle.

(\*\*) Estabelecido o prazo, a partir de junho/2005, de 5(cinco) anos para adequação e controle.

É possível encontrar na aguardente de cana a presença de açúcares, principalmente de sacarose; a aguardente de cana normal ou natural não tem açúcar, sendo esse é adicionado após a destilação, no ato do engarrafamento. A aguardente de cana que contiver açúcar superior a 6 g L<sup>-1</sup> e inferior a 30 g L<sup>-1</sup> expressos em sacarose, terá sua denominação acrescida da expressão adoçada.

Para os aspectos gerais de sua qualidade e de seu controle, exige-se a realização de análises físico-químicas para designação da aguardente de cana de boa qualidade. Essas análises correspondem aos teores de densidade relativa, cobre, chumbo, arsênio, extrato seco, grau alcoólico real, acidez volátil em ácido acético, alcoóis superiores, butanol-1, butanol-2, aldeídos em aldeído acético, propenal-2 (acroleína), ésteres em acetato de etila, metanol, e soma de furfural e hidroximetilfurfural (Brasil, 1997, 2005b).

Para Franco (2001), a conquista de mercados externos, o esclarecimento do consumidor brasileiro e a disponibilidade de novos métodos analíticos são fatores que, em intensidades diferentes, estão conduzindo a uma revisão nos requisitos de qualidade da aguardente de cana brasileira.

Segundo Oliveira & Oliveira (2000), a clandestinidade na produção de aguardente de cana/cachaça em todo o território nacional é elevada. Estima-se que 90% das aguardentes de cana produzidas no Brasil não tenham registro no MAPA, dificultando a sua fiscalização.

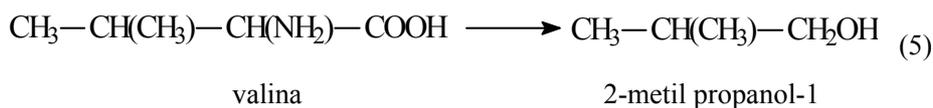
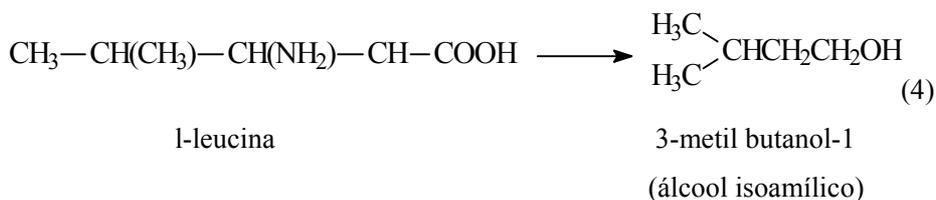
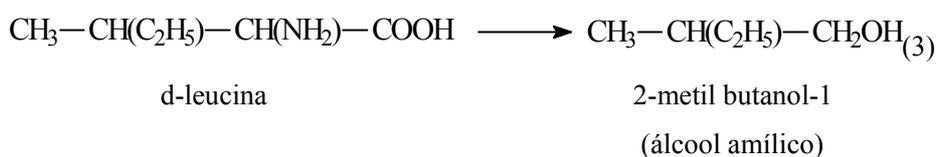
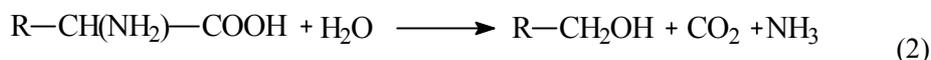
Esses padrões e seus limites possibilitam proteção à saúde do consumidor e à qualidade da bebida, não significando que a bebida tenha propriedades sensoriais desejadas pelo consumidor. A bebida deve ser aprovada tanto quimicamente como sensorialmente; caso contrário, não terá espaço no mercado, que é cada vez mais exigente.

## **9 Componentes secundários**

Em bebidas destiladas, os componentes orgânicos retentores de energia consistem principalmente de etanol. Entretanto, há a formação de outras substâncias denominadas compostos secundários, que devido à sua volatilização, são destilados juntamente como o etanol, conferindo nas diferentes aguardentes suas características peculiares, definidas como o “flavour” da bebida (Marques & Pastore, 1999). A natureza e a proporção dos compostos secundários são

definidas pela característica da matéria-prima da fermentação, na qual a cepa de levedura exercerá grande influência na destilação e no envelhecimento (Cleto & Mutton, 1997).

Os alcoóis com mais de dois átomos de carbono formados durante o processo oxidativo são vulgarmente conhecidos como óleo fúsel ou óleo de cana. Quantitativamente, em função do seu papel no aroma e sabor, os alcoóis superiores compõem um conjunto de compostos mais importantes presentes em bebidas alcoólicas. Segundo Ward (1991), em bebidas alcoólicas como cerveja e vinho, os mais significativos são o álcool amílico (2-metil butanol-1), o isoamílico (3-metil butanol-1) e 2-feniletanol. Esses são provenientes, em grande parte, de reações de degradação de aminoácidos que ocorrem durante o processo de fermentação (equação 2). Aplicando-se esse tipo de reação a certos aminoácidos, pode-se explicar a formação dos principais álcoois superiores da aguardente de cana (equações 3, 4, 5) (Galhiane, 1988).



Segundo Zoecklein et al. (2001), o tipo de levedura, estado nutricional do mosto, temperatura da fermentação, pH, quantidade de sólidos em suspensão e oxigênio são variáveis, entre outras, que afetam a concentração de alcoóis superiores.

A utilização da lecitina no processo fermentativo diminui o rendimento alcoólico, proporcionando o aumento das concentrações de glicerol no vinho e do álcool isoamílico nas aguardentes obtidas. As matérias-primas utilizadas (mostos de cana, laranja e uva) influenciaram o rendimento alcoólico e a concentração dos componentes secundários (Cleto & Mutton, 2004).

Segundo Gutierrez (1993), o tipo de levedura e pH baixo favorecem o aumento na produção de alcoóis superiores e, com o aumento da temperatura e da concentração de sacarose, maior produção de álcool isoamílico.

Os aldeídos, principalmente o acetaldeído, são co-produtos normais da fermentação alcoólica. Kourkoutas et al. (2005) referem a eles como um dos compostos que contribuem positivamente para o aroma de vinhos. Anteriormente Ward (1991) observou que ele apresenta propriedades organolépticas indesejáveis, produzido quando se tem no meio fermentativo altas taxas de levedura e excessiva aeração. Como é um produto intermediário da fermentação alcoólica, a maior parte é reduzida a etanol durante o processo fermentativo (Zoecklein et al., 2001). A formação desse tipo de composto é resultado da ação de leveduras durante estágios preliminares do processo de fermentação, tendendo a desaparecer nas etapas finais, desde que o mosto sofra aeração. Os demais aldeídos são obtidos, provavelmente, pela oxidação de alcoóis superiores provenientes da degradação de aminoácidos gerados pela hidrólise de proteínas. O furfural, um aldeído presente em algumas aguardentes, é resultante da decomposição química de carboidratos. É formado, principalmente, pela pirogênese da matéria orgânica depositada no fundo dos alambiques. A sua formação é evitada pela destilação do vinho limpo, livre de

substâncias orgânicas em suspensão. Nas aguardentes de cana e cachaças envelhecidas, o furfural pode ser oriundo da ação de ácidos sobre as pentoses e seus polímeros (hemiceluloses). Esse composto pode estar presente no caldo de cana, quando a colheita da cana-de-açúcar for precedida da queima do palhico (Yokoya, 1995).

Os açúcares residuais e os compostos sulfurados podem sofrer transformações químicas durante o aquecimento do vinho, no alambique, afetando a qualidade da bebida. A presença de açúcares residuais ou bagacilho no vinho poderá formar compostos indesejáveis, catalisados pelo aumento da temperatura e pelo pH ácido do vinho, desidratando os açúcares e hidrolisando celulose, hemicelulose e pectina, como também outros polissacarídeos do bagacilho, seguido da desidratação dos monômeros de hexoses e pentoses, originando hidroximetilfurfural e furfural, respectivamente (Maia, 1994).

O acetato de etila, principal éster encontrado na aguardente, é obtido pela reação entre etanol e ácido acético, provenientes do processo de fermentação (Rose & Harrison, 1970; Pigott, 1989). Para Dufour & Malcorps (1995), eles são formados principalmente durante a fermentação, da reação de álcool e acetyl-CoA, catalisada pela enzima álcool acetyltransferase. O etanol é o principal álcool do vinho e, por isso, o acetato de etila, originado do etanol e do acetyl-CoA, é o éster mais abundante do vinho. E, em função da abundante presença de acetyl-CoA e etanol, o acetato de etila é o éster encontrado em maior concentração em processos fermentativos com leveduras para produção de bebidas alcoólicas (Dufour & Malcorps, 1995; Franco, 2004). Podem também ser formados por reações químicas catalisadas por íons de hidrogênio, cuja interação favorece o equilíbrio para o ácido e o álcool (Zoecklein et al., 2001). Esse é um dos principais responsáveis, quando presente em pequenas porções, pela incorporação de um aroma agradável de frutas na aguardente. Por outro

lado, em grandes quantidades, confere à aguardente um sabor enjoativo e indesejado (Windholz, 1976).

Na presença de oxigênio e utilizando-se o levedo *Saccharomyces cerevisiae*, o açúcar pode ser convertido em ácido acético; porém, na ausência de O<sub>2</sub> essa levedura produz apenas pequenas quantidades de ácido acético. Quantidades elevadas desse ácido carboxílico são, frequentemente, associadas a práticas de estocagem da cana e contaminações do mosto com bactérias acéticas, o que é decorrente de um tempo excessivo de descanso entre o processo de fermentação e a destilação (Faria, 1989; Cardoso, 2006).

Nascimento et al. (1998) identificaram e quantificaram, em 20 amostras de aguardentes de cana, o ácido acético, propiônico, isobutírico, butírico, isovalérico, valérico, hexanóico, heptanóico, octanóico, decanóico, láurico, mirístico e palmítico. Do total dos ácidos quantificados, 95,14% eram correspondentes ao ácido acético.

## **10 Contaminantes**

A Instrução Normativa nº 13, de 29 de junho de 2005, do MAPA, que aprova o Regulamento Técnico para Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para Aguardente de Cana e para Cachaça, em observância ao item 5 do seu anexo, estabelece que as substâncias: álcool metílico (metanol), carbamato de etila, acroleína (2-propenal), álcool sec-butílico (2-butanol) e álcool butílico (1-butanol) como contaminantes orgânicos e os metais cobre (Cu), chumbo (Pb) e Arsênio (As) como contaminantes inorgânicos na bebida (Brasil, 2005a).

### **10.1 Metanol**

Esta substância, presente na aguardente de cana, é originária da degradação da pectina, um polissacarídeo presente na cana-de-açúcar em

quantidade muito pequena. A pectina é um composto formado pela associação de centenas de moléculas de ácido galacturônico, que possuem fragmentos de molécula de metanol. Durante o processo de fermentação do mosto, esses fragmentos são liberados das moléculas de ácido galacturônico pela hidrólise (ácida ou enzimática). A formação do metanol é acentuadamente incrementada quando a fermentação é conduzida na presença de sucos ou polpas de frutas ricas em pectina, tais como laranja, limão, maçã, abacaxi e outros (Valsechi, 1960; Windholz, 1976; Cardoso, 2006).

As bebidas alcoólicas fermentadas, produzidas a partir de frutos distintos da uva são mais susceptíveis à formação de elevadas concentrações de metanol, por apresentarem maiores quantidades de pectina (Ward, 1991).

O metanol, no organismo, é oxidado a ácido fórmico e, posteriormente, a  $\text{CO}_2$ , provocando acidose grave (diminuição do pH sanguíneo), afetando o sistema respiratório, o sistema nervoso, particularmente no nervo óptico. Os sistemas de exposição incluem dor de cabeça, náusea, vômito, cegueira, coma e até morte (Maia et al., 1994). A ingestão por longos períodos, mesmo em quantidades pequenas, pode ocasionar cegueira e morte (Windholz, 1976).

## **10.2 Carbamato de etila**

O carbamato de etila (CE), conhecido como uretana ou etil metano ( $\text{NH}_2\text{COOC}_2\text{H}_5$ ), carcinógeno, é encontrado naturalmente em baixas concentrações em diferentes bebidas alcoólicas e em alguns alimentos fermentados. Em vinhos, derivados de vinhos, saquê, cerveja, licorés, bebidas destiladas como aguardentes de frutas, aguardente de cana, uísque, são encontradas quantidades que vão desde menos de 5 até  $1.000\mu\text{g L}^{-1}$  e ocasionalmente excedem  $1.000\mu\text{g L}^{-1}$  em alguns tipos de bebidas destiladas (Battaglia et al., 1990; Vahl, 1993; Zimmerli & Schlatter, 1991). Também podem estar presentes em alimentos fermentados, tais como molhos de soja,

pães, iogurtes, azeitonas, em níveis que podem ser desde não-detectado até algumas dezenas de  $\mu\text{g L}^{-1}$  (Vahl, 1993).

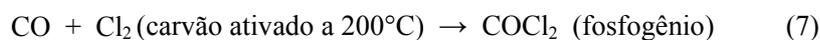
Nagato et al. (2000) encontraram quantidades muito elevadas de CE em aguardentes de cana, variando desde  $100\mu\text{g L}^{-1}$  a  $1.500\mu\text{g L}^{-1}$ , teores muito acima do limite estabelecido na legislação.

O carbamato de etila é o éster etílico do ácido carbâmico cristalino, incolor, inodoro, de sabor salino refrescante e levemente amargo. Apresenta temperatura de fusão entre  $48^\circ$  e  $50^\circ\text{C}$ , temperatura de ebulição entre  $182^\circ$  e  $184^\circ\text{C}$  e peso molecular  $89,09\text{ g mol}^{-1}$  (Budavari, 2001). É muito solúvel em água, álcoois, éter, cetonas, ésteres e solventes clorados. A solução aquosa é neutra. Pode ser preparado por aquecimento de uréia com álcool sob pressão (Equação 6).



#### **EQUAÇÃO 6.** Preparação do carbamato de etila.

Industrialmente é produzido a partir do fosfogênio, da uréia ou da cianamida. O processo inicia-se com uma reação entre o monóxido de carbono e o cloro (Equações 7, 8 e 9) (Morrison & Boyd, 1992).



Ou pela reação da uréia com etanol, como mostrado na Equação 10 (Aresta et al., 2001).



As bebidas destiladas, exceto o gim e a vodka, apresentam valores de carbamato de etila muito mais altos do que em vinhos e cervejas.

Battaglia et al. (1990) encontraram valores elevados de carbamato de etila em aguardentes de frutas como cereja, damasco ou ameixa, variando desde 100 até 12000  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

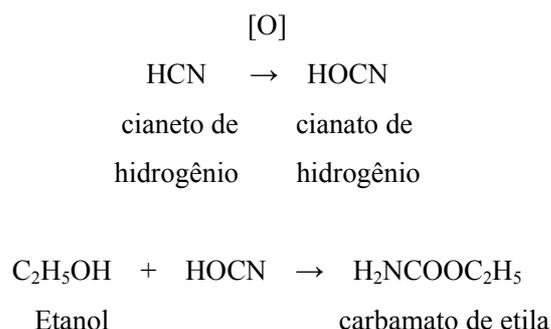
Existem várias vias possíveis para a formação de carbamato de etila nas bebidas destiladas, geralmente envolvendo a reação entre o etanol e precursores nitrogenados, tais como uréia (Zimmerli & Schlatter, 1991), fosfato de carbamila (Lawrence et al., 1990) e cianeto (Cook et al., 1990). Este último é considerado um precursor de carbamato de etila durante e após o processo de destilação.

Segundo Muller & Fugelsang (1996), os principais precursores para a formação do carbamato de etila em vinhos são a uréia, arginina e citrulina. Quando a uréia reage com o etanol após a fermentação, há formação de carbamato de etila.

Nas bebidas destiladas, como uísque, vários compostos presentes no próprio destilado estão envolvidos na reação com o etanol e formação de carbamato de etila; entre essas, o ácido cianídrico e espécies químicas contendo cianeto, além de substâncias com grupamentos carbonila vicinais (Aylott et al., 1990; Mackenzie et al., 1990). O primeiro passo envolve a oxidação do cianeto a cianato, e este, reagindo com álcoois forma o éster carbâmico (Equação 11).

A formação do carbamato de etila na bebida pode ocorrer antes, durante e depois do processo de destilação (Mackenzie et al., 1990). A formação antes da destilação deve ocorrer pelas mesmas vias que ocorrem em vinhos, mas sua contribuição para o produto final pode ser reduzida pelo controle adequado do

processo de destilação, principalmente no final desta, uma vez que o carbamato de etila tem uma temperatura de ebulição de 185°C (Cook et al., 1990).



**EQUAÇÃO 11.** Formação de carbamato de etila.

O íon cianeto tem sido indicado como o mais importante precursor de carbamato de etila em bebidas (Mackenzie et al., 1990). Este é formado pela ação enzimática e por segmentos terminais de glicosídeos cianogênicos (Cook et al., 1990).

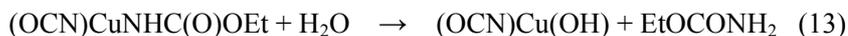
Dois mecanismos químicos foram propostos como os mais prováveis de ocorrer à formação do carbamato de etila a partir do cianeto. O primeiro é baseado na complexação do cianeto com o Cu (II), proveniente do aparelho destilador pela corrosão, seguido pela oxidação a cianogênio e com subsequente desproporcionamento para o cianato e cianeto. O cianato pode reagir com etanol para formar carbamato de etila (Beattie & Polyblank, 1995). Diferentes espécies de cianeto-Cu(I) foram encontradas em aparelhos de destilação de uísque, como [CuCN, Cu(CN)<sub>2</sub><sup>-</sup>, Cu<sub>2</sub>(CN)<sub>3</sub><sup>-</sup> e Cu<sub>3</sub>(CN)<sub>4</sub><sup>-</sup>], dando suporte à idéia de que a formação de carbamato de etila também pode começar mesmo durante a destilação. O segundo é baseado na auto-oxidação induzida por radiação ultravioleta de compostos insaturados presentes nas bebidas alcoólicas, os quais

produzem radicais livres que catalisam a oxidação do cianeto a cianato (Guerain & Leblond, 1992).

Em pesquisas de Battaglia et al. (1990) e Rifflikin et al. (1990), verificou-se que os fatores que influenciam a formação do carbamato de etila a partir do cianeto são pH, luz, conteúdo de etanol, temperatura, viscosidade do grupo carbonil em moléculas orgânica e a concentração dos íons Cu(II) na bebida.

Aresta et al. (2001) estudaram a interferência de N<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> dissolvidos na bebida na formação de carbamato de etila e investigaram também a influência do Cu(II) como catalisador na reação do etanol com cianato para formação de carbamato de etila. Esses pesquisadores observaram correlação positiva para o cianeto como principal precursor do carbamato de etila em aguardentes de cana e cachaças e também a coordenação de um centro metálico tem papel importante na ativação do cianato para sofrer ataque nucleofílico. Propuseram dois caminhos de reações pelos quais o cianato pode ser convertido em carbamato de etila. No caminho (A), o etanol pode atacar o isocianato para formar a unidade carbâmica (Equação 12), que sofre ataque de água para formar o carbamato de etila (Equação 13). O outro caminho (B) trabalha com o ataque pela água ao isocianato para formar uma aquosidade de carbamato que, por meio do etanol, pode chegar a uretana (Equações 14 e 15) ou pela reação com água pode produzir NH<sub>3</sub> e CO<sub>2</sub> (Equação 16).

Caminho A



Caminho B





O caminho (B) parece ser o mais provável de ocorrer porque ele pode explicar a formação de uretana e a evolução observada de  $\text{CO}_2$ .

O Canadá, em 1985, através do Health and Welfare Department, foi o primeiro país a emitir legislação específica estabelecendo teores máximos de carbamato de etila em bebidas alcoólicas: vinhos,  $30 \mu\text{g L}^{-1}$ ; vinhos fortificados,  $100 \mu\text{g L}^{-1}$ ; bebidas destiladas,  $150 \mu\text{g L}^{-1}$ ; destilados de frutas e licores,  $400 \mu\text{g L}^{-1}$ . Esse é um referencial para outros países em razão de este ser, até então, o único país a possuir legislação específica sobre o assunto, como EUA e Comunidade Europeia (Lawrence et al., 1990). Em março de 1990, o FDA (U. S. Food and Drug Administration) publicou nota na qual os produtores de uísques americanos comprometeram-se, a partir daquela data, a limitar o teor de carbamato de etila em  $125 \mu\text{g L}^{-1}$  (Dyer, 1994).

Barcelos et al. (2007) encontraram em aguardentes de cana e cachaças concentrações de 30,78 a  $645,18 \mu\text{g L}^{-1}$ , com média de  $243 \mu\text{g L}^{-1}$  para o carbamato de etila.

Assim, essa substância passou a integrar o rol de substâncias a serem controladas na aguardente de cana e o limite máximo permitido pela Legislação Brasileira é de  $150 \mu\text{g L}^{-1}$ , a ser exigido a partir de junho de 2010, conforme Instrução Normativa nº 13/2005 (Brasil, 2005a).

### 10.3 Acroleína

A acroleína ou 2-propenal, de fórmula química  $\text{C}_3\text{H}_4\text{O}$ , é um aldeído etilênico, altamente tóxica, irritante aos olhos e nariz, e apresenta um odor picante (Amerine et al., 1972). Pode ser produzido no motor quando esse utiliza como combustível o óleo vegetal cru. A queima parcial da glicerina gera acroleína, produto suspeito de ser cancerígeno. É um líquido amarelo com sabor

amargo e odor picante com temperatura de ebulição 52,5°C; temperatura de fusão -88°C; massa molar 56,06g/mol; pouco solúvel em água. Produzida durante o cozimento ou processamento de alimentos contendo gordura (Lane & Smathers, 1991). O limite máximo permitido para aguardente de cana de é 5 mg 100 mL<sup>-1</sup> de álcool anidro (Brasil, 2005).

Hirayama et al. (1991) encontraram acroleína em cinco amostras de óleos comestíveis com concentrações que variavam de 11,9 a 38,1 µg.g<sup>-1</sup> (média de 28,5 µg.g<sup>-1</sup>), aquecidos a 80°C durante 20 horas.

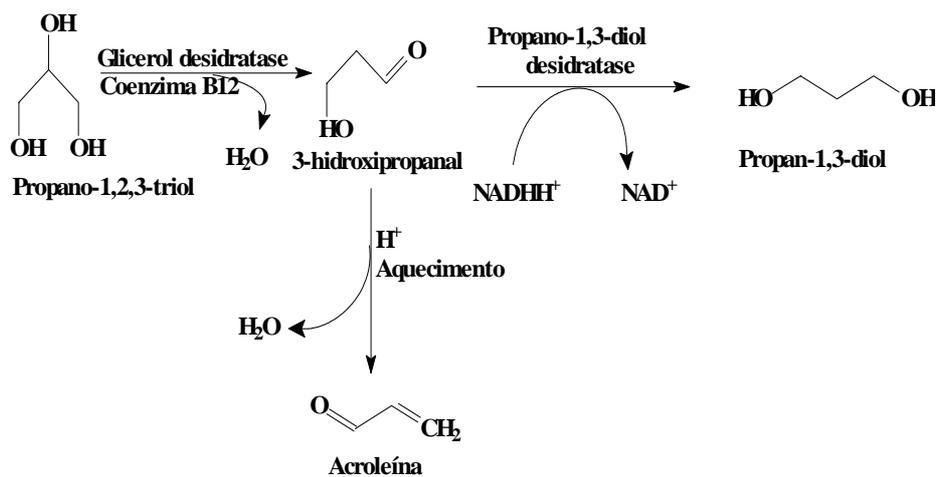
Feron et al. (1991) encontraram concentração máxima de 3,8 µg.g<sup>-1</sup> em vinho tinto. Também detectada em bebidas não-alcoólicas.

Acredita-se que o aroma penetrante e apimentado em bebidas destiladas novas, uísques conhaques ou rum é causada pela acroleína (Nykänen, 1986). A acroleína (2-propenal) é provavelmente formada por bactérias a partir do glicerol ou pela desidratação do glicerol (1,2,3-propanetriol) na presença de ácidos, a quente, quando em contato com superfícies metálicas do destilador (Nykänen, 1986; Nykänen & Nykänen, 1991).

A acroleína é tóxica por todas as vias de exposição, porém, o mecanismo pelo qual produz sintomas tóxicos não é conhecido, embora se saiba que o composto é altamente reativo, causando reações cruzadas a nível do DNA e inibindo a atividade de algumas enzimas (incluindo o citocromo P450 e a glutational-S-transferase) *in vitro* por reação com os grupos sulfidrilo dos locais ativos. Foi também demonstrada a supressão de defesas antibacterianas a nível pulmonar, a liberação de radicais de oxigênio e reação com proteínas (Environmental Protection Agency - EPA, 2003). Pode ser encontrada no ar, na água e em solos próximos de locais usados como depósitos de resíduos perigosos se não devidamente armazenados. Apesar de ser encontrada na água de superfície e no solo, a acroleína é rapidamente evaporada ou inativada por ligações a materiais no solo, sendo assim improvável que prevaleça muito tempo

no ambiente, ou seja, persistência ambiental não é esperada (Environmental Protection Agency - EPA, 2007).

Segundo Sauvageot et al. (2000) nos vinhos o metabolismo de formação da acroleína está associado a bactérias termofermentativas *Bacillus amaracrylus* e *Lactobacillus colinoides*. A produção de acroleína em cidras é comum pela transformação de 3-hidroxiopropanal, responsável pelo aroma de pimenta na bebida. A reação simplificada da conversão do propano-1,2,3-triol em 3-hidroxiopropanal e, posteriormente, a acroleína ocorre em meio ácido na presença de calor, como demonstrado na Figura 4.



**FIGURA 4.** Via metabólica simplificada da formação de acroleína.  
 Fonte: Adaptado de Sauvageot et al. (2000).

#### **10.4 Minerais: Cobre, Chumbo e Arsênio**

A composição mineral da aguardente de cana depende da composição mineral do solo, da cana-de-açúcar e da água utilizada no processo de produção (Vilela et al., 2006a).

A presença do cobre na bebida provém da constituição do material utilizado na construção de alambiques. Esse metal contribui para a eliminação de determinados odores desagradáveis observados em aguardentes de cana destiladas em alambiques feitos com outros materiais, como o aço inox (Cardoso, 2006). A contaminação do chumbo deve-se geralmente a soldas no corpo do alambique. (Vilela et al., 2006a).

Nascimento et al. (1999), ao analisarem aguardentes de cana de várias regiões do país e de outros destilados importados, encontraram 16 espécies de minerais com quantidades significativas de Li, Na, K, Ca, Mg e Cu nas aguardentes de cana de alambique e de coluna. Também foram encontrados íons dos metais pesados Cr, Co e Fe, este último em maior quantidade nas aguardentes de alambique, e em concentrações mínimas Ni, Mn e Zn. A concentração de chumbo mostrou-se preocupante, principalmente nas bebidas importadas.

Amorim et al. (2004), avaliando o teor dos minerais: Pb, As, Al, Sb, Cd, Cr, Ni em 53 amostras de cachaças diferentes, provenientes do Alto Vale do Jequitinhonha – MG observaram que 40 % apresentaram teores entre 101 a 526  $\mu\text{g L}^{-1}$  para o Pb e de 11,0 a 27,7  $\mu\text{g L}^{-1}$  para o As.

Fernandes et al. (2005), ao correlacionarem a composição mineral das aguardentes de cana com a região de origem (Nordeste, Central e Sul) do Brasil, observaram uma certa homogeneidade no perfil das aguardentes analisadas, mas com algumas peculiaridades em relação às três regiões. A Região Nordeste apresentou altos teores de Cu e Pb, e baixos teores de Na, Si, Ca e Mg. O oposto foi observado para as aguardentes da Região Sul, com altos teores de Na, Si e

Mg e baixos teores em Cu e Pb, e para as aguardentes da Região Central, onde ocorreram grandes semelhanças com as da Região Sul, diferenciando-se pela grande concentração de Al, K e Zn.

Vilela et al. (2006b), ao avaliarem o teor de minerais nas etapas do processo de produção de aguardente de cana, observaram que o teor varia conforme o contato com materiais metálicos nas etapas do processo. Para o cobre, o vinho foi a etapa com menor teor, seguido da aguardente e, posteriormente, o vinhoto com o mais alto teor. A concentração de zinco aumentou consideravelmente no vinhoto provavelmente durante a etapa de destilação. Nos materiais de cobre, pode-se encontrar altos teores de zinco (Baird, 2002).

Apesar das pequenas quantidades de cobre que são necessárias, o excesso do elemento na dieta pode ser tóxico devido à sua afinidade com os grupos S-H. Muitas enzimas contêm esse grupo, que é essencial para suas atividades catalíticas, e ele pode inativá-las, podendo dar origem do reflexo incondicional de rejeitar o cobre em forma de vômito. O teor de cobre na dieta alimentar deve ser mantido abaixo de 2 mg por dia (Sargentelli et al., 1996). A mais conhecida enfermidade decorrente dos distúrbios do metabolismo do cobre é a degeneração hepato-lenticular ou doença de Wilson que, à primeira vista, parece se tratar de um caso de hipercupremia.

Algumas resinas possibilitam a retirada do excesso de cobre em aguardente de cana. Lima et al. (2006) concluíram que a resina de troca iônica é melhor para o tratamento de aguardente de cana com excesso de cobre, por ser mais específica na troca de íons de cobre e adsorver os compostos orgânicos essenciais a aguardente. Porém, ela altera a proporção dos alcoóis superiores, aumentando sua adsorção à medida que é utilizada.

Os efeitos carcinogênicos da intoxicação por arsênio (As) estão associados à exposição crônica por vários anos. Os tipos de câncer associados à

exposição crônica são o câncer de pele, pulmão (inalação), próstata, bexiga, rim e fígado (National Research Council - NRC, 1999).

A intoxicação aguda e crônica por arsênio provoca diversas outras patologias não cancerígenas à saúde humana, como as cutâneas (hiperpigmentação, hiperqueratose); gastrintestinais (diarréia, hemorragias gastrintestinais); cardiovasculares (arritmias cardíacas, hipotensão e falha congestiva no coração, problemas no sistema circulatório vascular, levando à gangrena); hematológicos (anemia), pulmonares (fibrose); neurológicos (dores de cabeça, coma); endocrinológicos (problemas no metabolismo de carboidratos e respiração celular); reprodutivos e de desenvolvimento como abortos espontâneos e fetos com baixo peso (Usepa, 2000; WHO, 2001b).

Em 1984, a Organização Mundial de Saúde sugeriu que as águas potáveis deveriam ter no máximo  $50 \mu\text{g.L}^{-1}$  de As. Com base em novas evidências toxicológicas, a OMS estabeleceu, em 1993, a concentração máxima de As em água para  $10 \mu\text{g.L}^{-1}$  (WHO, 2001a). Atualmente, no Brasil, o limite máximo permitido é de  $10 \mu\text{g.L}^{-1}$  (Funasa, 2001).

Uma vez que o chumbo entre em contato com o organismo, esse elemento não sofre metabolização, sendo complexado por macromoléculas, diretamente absorvido, distribuído e excretado. As vias de contaminação podem ser a inalação de fumos e poeiras (mais importante do ponto de vista ocupacional) e a ingestão. Apenas as formas organificadas do metal podem ser absorvidas via cutânea (Alves & Terra, 1983). O chumbo é bem absorvido por inalação e até 16% do chumbo ingerido por adultos podem ser absorvidos. Em crianças, o percentual absorvido através da via digestiva é de 50%. Uma vez absorvido, o chumbo é distribuído para o sangue, no qual tem meia-vida de 37 dias; para os tecidos moles, a meia-vida é de 40 dias, e nos ossos, a meia-vida é de 27 anos, constituindo esse o maior depósito corporal do metal, armazenando 90% a 95% do chumbo presente no corpo (Moreira & Moreira, 2004).

Os contaminantes tanto orgânicos como inorgânicos depreciam a bebida, bem como expõe a saúde do consumidor quando fora dos limites permitidos pela legislação. Assim, o conhecimento técnico-científico e a divulgação desses possibilitam ao produtor a melhoria na qualidade do produto.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, M. L. O. d'. Tecnologia de fabricação da pasta celulósica. In: \_\_\_\_\_ . **Celulose e papel**. 2. ed. São Paulo: Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo/Centro Técnico em Celulose e Papel, 1988. v. 1, p. 45-105.
- ALVES, G. L.; CARDELLO, H. A. M. B.; FARIA, J. B. Análise sensorial da aguardente de cana recém-destilada submetida a diferentes tratamentos. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS, 2., 1997, Campinas, SP. **Anais...** Campinas: FEA-Unicamp, 1997. p. 119.
- ALVES, M. A. B.; TERRA, N. N. Determinação do chumbo no sangue por espectrofotometria de absorção atômica, em indivíduos que operam na distribuição de gasolina, em Santa Maria – RS. **Revista Brasileira de Saúde Ocupacional**, Porto Alegre, v. 42, p. 53-57, 1983.
- AMERINE, M. A.; BERG, H. W.; CRUESS, W. V. **The technology of wine making**. 3. ed. Westport: AVI, 1972. 802 p.
- AMORIM, V. M.; SIEBALD, G. L.; SILVA, J. B. B.; CANUDO, M. H. Análises físico-químicas, cachaça artesanal e espectroscopia de absorção atômica. In: ENCONTRO REGIONAL DA SBQ, 17., 2004, Lavras, MG. **Anais...** Lavras: UFLA, 2004. CD-ROM.
- ANDRADE, L. A. de B. Cultura da cana-de-açúcar. In: CARDOSO, M. das G. (Ed.). **Produção de aguardente de cana**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2006. p. 25-67, 445 p.
- ANDRADE, L. A. B.; ANJOS, I. A.; FIGUEIREDO, P. A. M.; QUINTELA, A. C. R. Utilização de variedades selecionadas de cana-de-açúcar na produção de cachaça de alambique. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 23, n. 217, p. 33-36, 2002.
- AQUARONE, E.; LIMA, U. A.; BORZANI, W.; SCHINIDELL, W. **Biotecnologia industrial**. São Paulo: E. Blucher, 2001. v. 4, 230 p.
- ARESTA, M.; BOSCOLO, M.; FRANCO, D. W. Copper(II) catalysis in cyanide conversion into ethyl carbamate in spirits and relevant reactions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 2819-2824, 2001.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE BEBIDAS. **Cachaça**. Disponível em: <<http://www.abrabe.org.br/cachaca>>. Acesso em: 10 jun. 2008.

AYLOTT, R. I.; COCHRANE, G. C.; LEONARD, M. J.; MACDONALD, L. S.; MACKENZIE, W. M.; MCNEISH, A. S.; WALKER, D. A. Ethyl carbamate formation in grain based spirits: part I: pos-distillation ethyl carbamate formationethyl carbamate formation in maturing grain whisky. **Journal Institute Brew**, v. 96, p. 213-221, 1990.

BAIRD, C. **Química ambiental**. 2. ed. Porto Alegre: Bookman, 2002. 622 p.

BARCELOS, L. V. F.; CARDOSO, M. das G.; VILELA, F. J.; ANJOS, J. P. Teores de carbamato de etila e outros componentes secundários em diferentes cachaças produzidas em três regiões do estado de minas gerais: zona da mata, sul de minas e vale do jequitinhonha. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 4, p. 1009-1011, 2007.

BATTAGLIA, R.; CONACHER, B. S.; PAGE, B. D. Ethyl carbamate in alcoholic beverages and foods: a review. **Food Additives and Contaminants**, London, v. 7, n. 4, p. 477- 496, 1990.

BEATTIE, J. K.; POLYBLANK, G. A. Copper-catalysed oxidation of cyanide by peroxide in alkaline aqueous solution. **Austalian Journal Chemical**, Sydney, v. 48, p. 861-868, 1995.

BERRY, D. R. Alcoholic beverage fermentations. In: LEA, A. G. H.; PIGGOTT, J. R. **Fermented beverage production**. London: Blackie Academic & Professional, 1995. p. 32-44.

BOZA, Y. E. A. G.; HORII, J. Influência da destilação sobre a composição e a qualidade sensorial da aguardente de cana de açúcar. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 18, n. 4, p. 363-370, 1998.

BOZA, Y. E. A. G.; HORII, J. A destilação na obtenção de aguardente de cana-de-açúcar. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v. 33, n. 1, p. 98-105, jan./jun. 1999.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e do Abastecimento. **Decreto nº 2314**, de 4 de setembro de 1997. Regulamenta a Lei de 8918 de 14 de julho de 1994. 1997. Disponível em: <[http://www.agricultura.gov.br/das/ddiv/pdf/decreto\\_2314\\_1997\\_Lei\\_8918\\_1994.pdf](http://www.agricultura.gov.br/das/ddiv/pdf/decreto_2314_1997_Lei_8918_1994.pdf)>. Acesso em: 20 jun. 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Instrução normativa nº 13, de 29 de junho de 2005. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, n. 124, 30 jun. 2005a. Seção I.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Instrução normativa nº 24, de 08 de setembro de 2005. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, 20 set. 2005b. Seção I.

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

CARDOSO, M. das G. Análises físico-químicas de aguardente. In: \_\_\_\_\_. **Produção de aguardente de cana-de-açúcar**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2006. p. 203-232.

CARNACINI, A.; DI STEFANO, R.; RIPONI, C.; ANTONIELLI, A. Effect of wine making process on the volatile compounds of distillates. **Italian Journal of Food Science**, v. 1, n. 4, 1989.

CARVALHO, B. S. **Efeito da temperatura na cinética de morte celular em fermentação alcoólica com reciclo da célula**. 1996. 83 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

CASCUDO, L. C. da. **Prelúdio da cachaça**: etnologia, história e sociologia da aguardente no Brasil. Rio de Janeiro: Itatiaia, 1968. 291 p. (Coleção canavieira, 1).

CLARKE, M.; LEGENDRE, B. R. Qualidade da cana-de-açúcar: impactos no rendimento do açúcar e fatores de qualidade. **STAB, Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 17, n. 6, 1999.

CLETO, F. V. G.; MUTTON, M. J. R. Rendimento e qualidade da aguardente de cana produzida utilizando fermento tratado com ácido e fubá de milho. **STAB, Açúcar e Subprodutos**, Piracicaba, v. 16, n. 2, p. 38-40, nov./dez. 1997.

CLETO, F. V. G.; MUTTON, M. J. R. Rendimento e composição das aguardentes de cana, laranja e uva com utilização de lecitina no processo fermentativo. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 3, p. 577-584, 2004.

COLE, V. C.; NOBLE, A. C. Flavor chemistry and assessment. In: LEA, A. G. H.; PIGGOTT, J. R. **Fermented beverage production**. London: Blackie Academic & Professional, 1995. p. 361-385.

COOK, R.; MCCAIG, N.; MCMILLAN, J. M. B.; LUMSDEN, W. B. Ethyl carbamate formation in grain-based spirits: part III: the primary source. **Journal Institute Brewing**, London, v. 96, p. 233-244, 1990.

DUFOUR, J. P.; MALCORPS, P. Esters synthesis during fermentation: enzyme characterization and modulation mechanism. In: CAMPBELL, I.; PRIEST, F. G. **Proceedings of the fourth evermore conference on malting**. London: The Institute of Brewing, 1995. p. 137-151.

DYER, R. H. Determination of ethyl carbamate in alcoholic beverages using gas chromatography with thermal energy analyzer detection: collaborative study. **Journal AOAC International**, Washington, v. 77, p. 64, 1994.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY – EPA, **Toxicological profile for acrolein**. Atlanta: Public Health Service Agency for toxic Substances and Disease registry, 2007. p. 147.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY–EPA. **Toxicological review of acrolein**: US Environmental Protection Agency, Washington, DC, 2003. p. 99.

FARIA, J. B. **A influência do cobre na qualidade das aguardentes da cana (*Sacharum officinarum* L.)**. 1989. 88 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade de São Paulo, São Paulo.

FERNANDES, A. P.; SANTOS, M. C.; LEMOS, S. G.; FERREIRA, M. C.; NOGUEIRA, A. R. A.; NOBREGA, J. A. Pattern recognition applied to mineral characterization of Brazilian coffees and sugar-cane spirits. **Spectrochimica Acta, Part B**, v. 60, n. 5, p. 717-724, 2005.

FERON, V.; TIL, H. P. de; VRIJER, F.; WOUTERSEN, R. A.; CASSEE, F. R.; BLADEREN, P. J. van. Aldehydes: occurrence, carcinogenic potential, mechanism of action and risk assessment. **Mutation Research**, v. 259, p. 363-385, 1991.

FRANCO, D. W. **Controle de qualidade de aguardentes**. Campinas: FEA/Unicamp, 2001. Resumo.

FRANCO, M. R. B. **Aroma e sabor de alimentos**: temas atuais. São Paulo: Varela, 2004. 246 p.

FUNASA. **Portaria nº 1.469/2000**, de 29 de dezembro de 2000. Aprova o controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Brasília, DF: Fundação Nacional de Saúde, 2001. 32 p.

GALHIANE, M. S. **Análise de aroma em bebidas por cromatografia gasosa de alta resolução**. 1988. 99 f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) - Universidade de São Paulo, São Carlos.

GALLO, C. R.; CANHOS, V. P. Contaminantes bacterianos na fermentação alcoólica: revisão. **STAB Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 9, n. 4/5, p. 35-40, 1991.

GUERAIN, J.; LEBLOND, N. Formation du carbamate d'ethyle et elimination de l'acide cyanhydrique des eaux-de-vie de fruits à noyaux. In: CANTAGREL, R. (Ed.). **Elaboration et connaissance des spiriteux**. Paris: Tec&Doc, 1992. p. 330-338.

GUTIERREZ, L. E. Produção de álcoois superiores por linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* durante a fermentação alcoólica. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 50, n. 3, p. 464-472, 1993.

HIRAYAMA, T.; MIURA, S.; MORI, Y.; UETA, M.; TAGAMI, E.; YOSHIZAWA, T.; WATANABE, T. High-performance liquid chromatographic determination of 2-alkenals in oxidized lipid as their 7-amino-6-methylquinoline derivatives. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 39, p. 1253-1257, 1991.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção agrícola municipal**. 2007. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/pam/2007/comentario.pdf>>. Acesso em: 6 out. 2008.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Levantamento sistemático da produção agrícola do Brasil: confronto das safras de 2007 e 2008 – Brasil**. 2008. Disponível em: <[http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa\\_200803\\_4.shtm](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa_200803_4.shtm)>. Acesso em: 10 jan. 2009.

JERONIMO, E. M.; OLIVEIRA, E. de S.; SOUZA, E. L. R.; SILVA, M. A. S.; SERRA, G. E. Addition of proteic nitrogen during alcoholic fermentation for the production of cachaça. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 65, n. 2, p. 161-168, Mar./Apr. 2008.

KOURKOUTAS, Y.; KANELLADI, M.; KOUTINAS, A. A.; TZIA, C. Effect of fermentation supports on the wine making. **Journal Food Engineering**, v. 69, p. 115-123, 2005.

LANE, R.; SMATHERS, J. Monitoring aldehyde production during frying by reversed-phase liquid chromatography. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v. 74, p. 957-960, 1991.

LAWRENCE, J. F.; PAGE, B. D.; CONACHER, H. B. S. **Advice Environment Science Technology**, v. 23, p. 457, 1990.

LÉAUTÉ, R. Distillation in alambic. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 41, n. 1, p. 90-103, 1990.

LEHTONEN, M.; JOUNELA-ERIKSSON, P. Volatile and nonvolatile compounds in the flavour of alcoholic beverages. In: PIGGOTT, J. R. **Flavour of distilled beverages: origin and development**. Florida: Verlag Chemie International, 1983. p. 64-78.

LIMA, A. B.; CARDOSO, M. das G.; GUERREIRO, M. C.; PIMENTEL, F. A. Emprego do carvão ativado para remoção de cobre em cachaça. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, p. 247-250, 2006.

LIMA, L. R. **Álcool carburente: uma estratégia brasileira**. Curitiba: UFPR, 2002. 248 p.

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

LIMA, U. de A. Aguardentes. In: AQUARONE, E.; BORZANI, W. (Ed.). **Alimentos e bebidas produzidas por fermentação**. São Paulo: E. Blücher, 2001. p. 79-107. (Série biotecnologia industrial).

LIMA, U. de A.; BASSO, L. C.; AMORIM, H. V. Produção de etanol. In: LIMA, U. de A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. (Org.). **Biotecnologia industrial: processos fermentativos e enzimáticos**. São Paulo: E. Blucher, 2001. v. 3, p. 1-43.

MACKENZIE, W. M.; CLYNE, A. H.; MCDONALD, L. S. Ethyl carbamate formation in grain based spirits: part II: the identification and determination of cyanide related species involved in ethyl carbamate formation in Scotch whisky. **Journal Institute Brewing**, London, v. 96, p. 223-232, 1990.

MAIA, A. B. Componentes secundários da aguardente. **STAB**, Piracicaba, v. 12, n. 6, p. 29-34, jul./ago. 1994.

MAIA, A. B.; PEREIRA, A. J. G.; SCHAWBE, W. K. **Segundo curso de tecnologia para produção de aguardente de qualidade**. Belo Horizonte: UFMG; Fundação Cristiano Otoni, 1994. 65 p.

MARQUES, D. M.; PASTORE, G. M. Produção de aromas naturais por microrganismos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 33, n. 1, p. 80-85, 1999.

MASSON, J.; CARDOSO, M. G.; VILELA, F. J.; PIMENTEL, F. A.; MORAIS, A. R.; ANJOS, J. P. Parâmetros físico-químicos e cromatográficos em aguardentes de cana queimada e não queimada. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 6, p. 1805-1810, nov./dez. 2007.

MENDONÇA, A. T.; SCHWAN, R. F.; SANCHES, N. M.; DIAS, D.; WHEALS, A. E. Avaliação fisiológica das leveduras fermentativas de caldo de cana-de-açúcar. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA SALVADOR, 20., 1999, Salvador, BA. **Resumos...** Salvador, 1999. p. 269.

MOREIRA, F. R.; MOREIRA, J. C. A cinética do chumbo no organismo humano e sua importância para a saúde. **Ciência e Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 1, p. 167-181, 2004.

MORRISON, R. T.; BOYD, R. N. **Química orgânica**. 6. ed. Lisboa: PHB, 1992. 1325 p.

MOTA, C. C.; PEPE, I. A. S.; BARBOSA, G. V. S.; CALHEIROS, G. G.; SOUZA, A. J. R. Competição de novas variedades de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) em Alagoas. In: CONGRESSO NACIONAL DA STAB, 6., 1996, Maceió, AL. **Anais...** Maceió, 1996. p. 245-252.

MULLER, C. J.; FUGELSANG, K. C. 3a. 6<sup>a</sup>-dimethylglycoluril, the product of the interaction of urea and diacetyl, as a source of post-bottling ethyl carbamate in wines. **Viticulture and Enology Research Center**, May 1996.

NAGATO, L. A. F.; SILVA, O. A.; YONAMINE, M.; PENTEADO, M. de V. C. Quantitation of ethyl carbamate (EC) by gas chromatography and mass spectrometric detection in distilled spirits. **Alimentaria**, Madrid, n. 311, p. 31-36, 2000.

NASCIMENTO, R. F.; BEZERRA, C. W. B.; FURUYA, S. M. B.; SCHULTZ, M. S.; POLASTRO, L. R.; FRANCO, D. W. Mineral profile of Brazilian cachaças and other international spirits. **Journal of Food and Composition Analysis**, v. 12, p. 17-25, 1999.

NASCIMENTO, R. F.; CARDOSO, D. R.; FRANCO, D. W.; FARIAS, J. B. 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, 1998.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Arsenic in drinking water**. Washington, DC: National Academic, 1999. 310 p.

NYKÄNEN, L. Formation and occurrence of flavor compounds in wine and distilled alcoholic beverages. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 37, n. 1, p. 84-96, 1986.

NYKÄNEN, L.; NYKÄNEN, I. Distilled beverages. In: MAARSE, H. (Ed.). **Volatile compounds in food and beverages**. New York: M. Dekker, 1991. p. 548-580.

OGAWA, Y.; NITTA, A.; UCHIYAMA, H.; IMAMURA, T.; SHIMOI, H.; ITO, K. Tolerance mechanism of the ethanol-tolerant mutant of sake yeast. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 90, n. 3, p. 313-320, 2000.

OLIVEIRA, E. R.; OLIVEIRA, E. C. M. Produção artesanal de cachaça em Minas Gerais: o mito da qualidade da cachaça de Salinas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 17., 2000, Fortaleza, CE. **Resumos...** Fortaleza, 2000. p. 3166.

PACHECO, M. T. B.; SGARBIERI, V. C. Diferentes métodos de concentração de proteína de leveduras e suas implicações nas propriedades funcionais. **Boletim SBCTA**, Campinas, v. 36, n. 2, p. 83-94, 2002.

PATARO, C.; GOMES, F. C. O.; ARAÚJO, R. A. C.; ROSA, C. A.; SCHWAN, R. F.; CAMPOS, C. R.; CLARET, A. S.; CASTRO, H. A. Utilização de leveduras selecionadas na fabricação da cachaça de alambique. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 23, n. 217, p. 37-43, 2002.

- PEREIRA JÚNIOR, N. **Tecnologia de processos**. Manaus: UFAM, 2002. 147 p. Apostila.
- PIGOTT, J. R. (Ed.). **Distilled beverage flavour**. Weinheim: VCA, 1989. 352 p.
- RASOVISKY, E. M. **Álcool destilarias**. Rio de Janeiro: Local, 1979. 376 p. (Coleção canavieira, 12).
- REED, G.; NAGODAWITHANA, T. W. **Yeast technology**. 2. ed. New York: V. N. Reinhold, 1991. 378 p.
- RIFFIKIN, H. L.; WILSON, R.; HOWIE, D.; MULLER, S. Ethyl carbamate formation in the production of pot still whisky. **Journal Institute Brewing**, London, v. 95, n. 2, p. 115-119, 1990.
- ROSE, A. H.; HARRISON, J. S. (Ed.). **The yeasts**. London: Academic, 1970. 560 p.
- SANCHES-PERES, M. F.; SOUSA, S. R.; LALUCE, C. Obtaining strains of *Saccharomyces* tolerant to high temperatures and ethanol. **Methods in Biotechnology**, v. 14, p. 355-367, 2000.
- SARGENTELLI, V.; MAURO, A. E.; MASSABNI, A. C. Aspectos do metabolismo do cobre no homem. **Química Nova**, São Paulo, v. 19, n. 3, p. 290-293, 1996.
- SAUVAGEOT, N.; GOUFFI, K.; LAPLACE, J. M.; AUFRAY, Y. Glycerol metabolism in *Lactobacillus collinoides*: production of 3-hydroxypropionaldehyde, a precursor of acrolein. **International Journal Food Microbiology**, v. 55, n. 1, p. 167-170, Apr. 2000.
- SCHIMIDELL, W.; LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. **Biotechnologia industrial**: engenharia bioquímica. São Paulo: E. Blücher, 2001. v. 2, 560 p.
- SCHWAN, R. F.; CARVALHO, F. P.; DIAS, D. R.; CASTRO, H. A. Fermentação. In: CARDOSO, M. das G. (Ed.). **Produção de aguardente de cana**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2006. 445 p.
- SCHWAN, R. F.; CASTRO, H. A. Fermentação alcoólica. In: CARDOSO, M. das G. (Ed.). **Produção artesanal de aguardente**. Lavras: UFLA, 2001. 264 p.

SEBRAE. **Estudo de viabilidade econômica**: simulação da produção de 60 mil litros de cachaça/safra. Belo Horizonte, 2005. 70 p.

SILVA, C. L. C.; ROSA, C. A.; MAIA, A. B. R. A.; OLIVEIRA, E. S. Qualidade química e sensorial de cachaças produzidas com quatro linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* (floculantes, não-produtoras de H<sub>2</sub>S e de referência). **Boletim CEPPA**, Curitiba, v. 24, n. 2, p. 405-422, jul./dez. 2006.

SILVA, J. S.; JESUS, J. C.; COUTO, S. M. Noções sobre fermentação e produção de álcool na fazenda. In: SILVA, J. S. (Ed.). **Produção de álcool combustível na fazenda e em sistema cooperativo**. Visconde do Rio Branco: Suprema Gráfica e Editora, 2007. v. 1, p. 17-47, 168 p.

STUPIELLO, J. P. A cana-de-açúcar como matéria-prima. In: FUNDAÇÃO CARGILL. **Cana-de-açúcar**: cultivo e utilização. Campinas, 1987. v. 2.

STUPIELLO, J. P. Destilação do vinho. In: MUTTON, M. J. R.; MUTTON, M. A. (Ed.). **Aguardente de cana**: produção e qualidade. Jaboticabal: FUNEP, 1992. p. 67-78.

USEPA. National primary drinking water regulations, arsenic and clarifications to compliance and new source contaminants monitoring: proposed rule. **Federal Register**, v. 65, n. 121, p. 38888-38983, June 2000.

VAHL, M. A survey of ethyl carbamate in beverages, bread and acidified milks sold in Denmark. **Food Additives and Contaminantes**, London, v. 10, n. 5, p. 585-592, 1993.

VALSECHI, O. **Aguardente de cana-de-açúcar**. 4. ed. São Paulo: Livrocere, 1960. 120 p.

VILELA, F. J.; CARDOSO, M. G.; ANJOS, J. C.; MASSON, J. Influência da composição mineral da cana-de-açúcar, água e solo, utilizados no processo produtivo, na composição inorgânica da cachaça. In: CONGRESSO DOS PÓS-GRADUANDOS DA UFLA, 15., 2006, Lavras, MG. **Anais...** Lavras: UFLA, 2006a. CD-ROM.

VILELA, J. F.; CARDOSO, M. G.; ANJOS, J. C.; MASSON, J. Avaliação dos minerais nas etapas do processo de produção de cachaça. In: ENCONTRO REGIONAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA – MG, 20., 2006, São João Del Rei, MG. **Anais...** São João Del Rei: Funrei, 2006b. CD-ROM.

WARD, O. P. **Biotecnia de la fermentación**: principios, procesos y products. Zaragoza: Acribia, 1991. 155 p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Arsenic in drinking water**. 2001a. Disponível em: <<http://www.who.int/inf-fs/en/fact210.html>>. Acesso em: 20 nov. 2008.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **United nations synthesis report on arsenic in drinking water**. Geneva, 2001b. Disponível em: <[http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/Arsenic/ArsenicUNReptoc.htm](http://www.who.int/water_sanitation_health/Arsenic/ArsenicUNReptoc.htm)>. Acesso em: 10 nov. 2008.

WINDHOLZ, M. (Ed.). **The merck index**. Rahway: Merck, 1976. 583 p.

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

ZIMMERLI, B.; SCHLATTER, J. Ethyl carbamate: analytical methodology, occurrence, biological activity and risk assessment. **Mutat. Research**, Amsterdam, n. 259, p. 325, 1991.

ZOECKLEIN, B. W.; FUGELSANG, K. C.; GUMP, B. H.; NURY, F. S. **Análisis e producción de vino**. Zaragoza: Acribia, 2001. 613 p.

## **CAPITULO 2**

### **AVALIAÇÃO DOS TEORES DE CARBAMATO DE ETILA POR CG-EM EM AGUARDENTES DE CANA DO NORTE E SUL DE MINAS GERAIS.**

## 1 RESUMO

MASSON, José. Avaliação dos teores de carbamato de etila por CG-EM em aguardentes de cana do norte e sul de Minas Gerais. In.: **Determinação do carbamato de etila e de acroleína em aguardentes de cana produzidas em Minas Gerais** 2009. Cap. 2, p.52-71. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG\*

O carbamato de etila (CE), também denominado de uretana, é o éster etílico do ácido carbâmico. Estudos com esse composto em animais têm comprovado seu potencial carcinogênico. Neste trabalho, aplicou-se a cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) na determinação do carbamato de etila. As amostras de aguardentes de cana foram coletadas nas regiões norte e sul de Minas Gerais, produzidas em alambiques de pequeno e médio porte. Os valores obtidos para o CE variaram de 22,6 a 980  $\mu\text{g L}^{-1}$ , sendo 29,57% das bebidas com níveis acima do estabelecido na Legislação Brasileira para o carbamato de etila, portanto, impróprias para o consumo. Não foi observada correlação entre os teores de CE, graduação alcoólica, acidez e cobre nas amostras analisadas.

Palavras-chave: cachaça; aguardente de cana; carbamato de etila; análises cromatográficas.

---

\* Comitê Orientador: Maria das Graças Cardoso - UFLA (Orientadora); Augusto Ramalho de Moraes - UFLA; Gilson Alberto Rosa Lima - UFMT (Co-orientadores).

## 2 ABSTRACT

MASSON, José. Evaluation of the contents of ethyl carbamate by GC-MS in sugar cane spirits from northern and southern Minas Gerais. In.: **Determination of ethyl carbamate, acrolein in sugar cane spirits produced in Minas Gerais.** 2009. Cap. 2, p.52-71. Thesis (Doctorate in Food Science) – Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil.\*

Ethyl carbamate (EC) also named urethane is the ethyl ester of carbamic acid. Studies with this compound in animals have shown their carcinogenic potential. In this work, gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) was applied in the determination of ethyl carbamate. The samples of sugar cane spirits were collected in the north and south regions of Minas Gerais produced in small-and medium- sized stills. The values obtained for the EC ranged from 22.6 to 980 mg L<sup>-1</sup>, namely, 29.57% of the beverages with levels above the established in the Brazilian legislation for ethyl carbamate, therefore, unfit for consumption. No correlation was found among the contents of EC, alcohol graduation, acidity and copper in the samples analyzed.

Keywords: Sugar cane spirit; ethyl carbamate; chromatography analyses.

---

\* Guidance Committee: Maria das Graças Cardoso - UFLA (Major Professor); Augusto Ramalho de Moraes – UFLA and Gilson Alberto Rosa Lima – UFMT.

### 3 INTRODUÇÃO

O carbamato de etila (CE), conhecido como uretana, forma-se naturalmente em alguns alimentos fermentados, como pão, iogurte, vinho, cerveja e, principalmente, em bebidas fermento-destilladas, como uísque, aguardente de cana, rum, vodca, grapa e tiquira (Battaglia et al., 1990; Zimmerli & Schlatter, 1991; Vahl, 1993).

Tem-se constatado mundialmente um elevado aumento no consumo de produtos denominados diferentes, processados naturalmente bem como de fontes naturais. A aguardente de cana, bebida tradicional do Brasil está inserindo-se nesse mercado mundial de consumidores por apresentar características peculiares de sabor, entre eles da própria cana-de-açúcar. Os consumidores enfatizam essa diferenciação e hoje a bebida apresenta uma imagem conceituada no exterior, passando a ser mais conhecida pelos consumidores em bares e restaurantes (SESC-SP, 2007). Sendo o terceiro destilado mais consumido no mundo, é importante a caracterização da bebida. Entre os contaminantes que podem estar presentes, destaca-se o carbamato de etila, um potencial carcinogênico.

O Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), órgão normatizador dos padrões e métodos oficiais para análise dos níveis de substâncias presentes na aguardente de cana, estabeleceu o valor de  $150 \mu\text{g L}^{-1}$  como valor máximo na bebida, bem como o prazo até junho de 2010 para adequação e controle desse contaminante (Brasil, 2005a).

A literatura descreve várias técnicas para análise de CE em bebidas alcoólicas. A cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massa é a técnica mais empregada, utilizando colunas capilares e sistemas seletivos de detecção (Nagato et al., 2003). Os detectores de massa apresentam diversas

vantagens em relação a outros detectores, por apresentarem grande seletividade e sensibilidade, além de fornecer informações a respeito dos compostos eluídos da coluna. Isso possibilita a identificação da maioria dos compostos de interesse, principalmente quando se opera no modo SIM (monitoramento seletivo de íons) (Lawrence et al., 1990; Lanças, 1993).

O mecanismo de formação desse contaminante em bebidas alcoólicas ainda não está totalmente elucidado. Já foram relatadas vias possíveis para a formação de carbamato de etila nas bebidas destiladas, geralmente envolvendo a reação entre o etanol e precursores nitrogenados, como uréia (Zimmerli & Schlatter, 1991), fosfato de carbamila (Lawrence et al., 1990) e cianeto, sendo este último considerado um precursor de carbamato de etila durante e após o processo de destilação (Cook et al., 1990).

A não conformidade da bebida quanto a Legislação Brasileira torna-a imprópria para o consumo e conseqüentemente não podendo ser comercializada tanto no mercado interno quanto externo.

Diante do exposto, com o presente trabalho objetivou-se analisar por cromatografia em fase gasosa acoplada ao espectrômetro de massas o carbamato de etila de diferentes amostras da região norte e sul de Minas Gerais.

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Obtenção das amostras**

Foram coletadas aleatoriamente nas regiões norte e sul do estado de Minas Gerais setenta e uma amostras de aguardente de cana. Estas foram obtidas diretamente nos alambiques de pequeno e médio porte, sendo 33 (trinta e três) da região norte e 38 (trinta e oito) da região sul. Dessas, 63 (sessenta e três) amostras foram destiladas em alambiques de cobre, 3 (três) em alambiques de inox e 5 (cinco) em alambiques confeccionados parte em cobre e parte em inox (cuba ou serpentina). Das 71 amostras coletadas, 47 foram destiladas em alambique e serpentina de cobre e capitel com pratos (ALP); 11 em alambique de cobre simples com serpentina de cobre (ALS); 5 em alambique de cobre tipo capelo sem serpentina (ALCSS); 3 em alambique e serpentina de inox com pratos (ALPI); 2 em alambique em inox simples com serpentina em cobre (ALISC); 1 em alambique de cobre simples com serpentina em inox (ALSSI); 1 em alambique de cobre tipo capelo com serpentina em inox (ALCSI) e 1 em alambique de cobre tipo capelo com serpentina em cobre (ALCSC). Na Tabela 5A, traz o percentual de utilização dos aparelhos por região.

### **4.2 Reagentes**

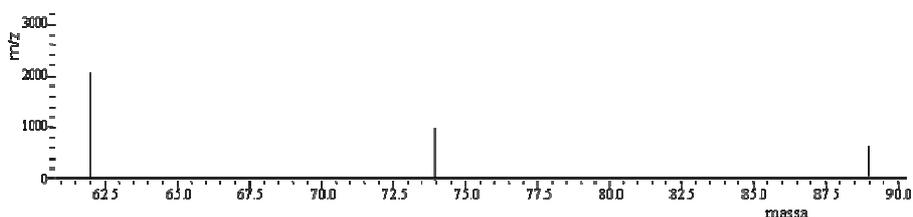
Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico, sendo o carbamato da Acros Organics, o etanol da Merck e a água utilizada purificada pelo sistema Milli-Q (Millipore).

### **4.3 Análises qualitativa e quantitativa**

As análises físico-químicas foram realizadas de acordo com os métodos oficiais de análises para aguardente de cana (Brasil, 2005b) no Laboratório de

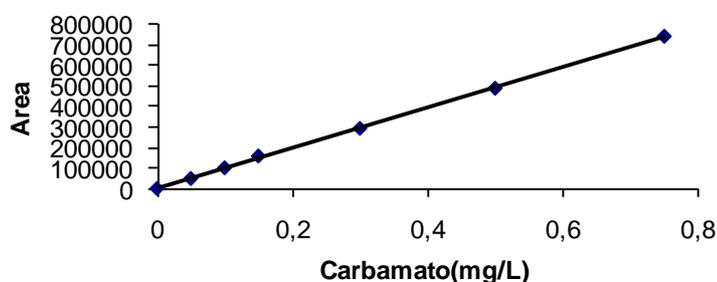
Análises Físico-Químicas de Aguardente (LAFQA) - UFLA/MG. O teor de cobre foi determinado por espectrometria de absorção utilizando aparelho Varian, modelo 17A, equipado com lâmpada de cátodo-oco, intensidade 4 mA, comprimento de onda 324,8 nm e chama de ar acetileno.

A análise do carbamato de etila foi realizada por cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/MS), no Laboratório de Análise de Resíduos Agrotóxicos e de Bebidas Alcoólicas (LABTOX) do Instituto de Tecnologia de Pernambuco e no Laboratório de Análises e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa, empregando o mesmo método de padronização externa e mesmas condições cromatográficas em cromatógrafo Shimadzu GC 17-A, equipado com detector de massas Shimadzu QP-5050A, operando no modo de impacto eletrônico com 70 eV, com monitoramento seletivo do íon  $m/z$  62, Figura1. A coluna cromatográfica capilar de fase polar (polietilenoglicol esterificada) utilizada foi uma DBWAX (60 m x 0,25 mm x 0,50  $\mu\text{m}$  espessura do filme da fase estacionária). Empregou-se a seguinte programação de temperatura para o injetor e interface do detector; 220°C, temperatura inicial para a coluna foi de 90°C (2 min), seguido de um incremento de 10°C  $\text{min}^{-1}$ , até atingir 150°C e, então, elevou a 40°C  $\text{min}^{-1}$ , até 220°C. O volume de injeção automática foi de 2,0  $\mu\text{L}$  no modo “splitless” 1:10 e He como gás carreador com fluxo de 1,5  $\text{mL min}^{-1}$ .



**FIGURA 1.** Espectro de massas do carbamato de etila.

A partir da solução estoque de carbamato de etila ( $10 \text{ mg L}^{-1}$  em etanol 40%), foram preparadas as soluções-padrão ( $0-0,750 \text{ mg L}^{-1}$ ) em solução etanol-água 40%, procurando reproduzir as condições alcoólicas das amostras, cuja média foi de 41,66% v/v em etanol. As curvas analíticas foram obtidas por regressão linear ( $y = 975050x + 2072,7$ ), plotando a área dos picos *versus* concentração Figura 2. O coeficiente de correlação foi igual a 0,9998.



**FIGURA 2.** Curva analítica do padrão de carbamato de etila.

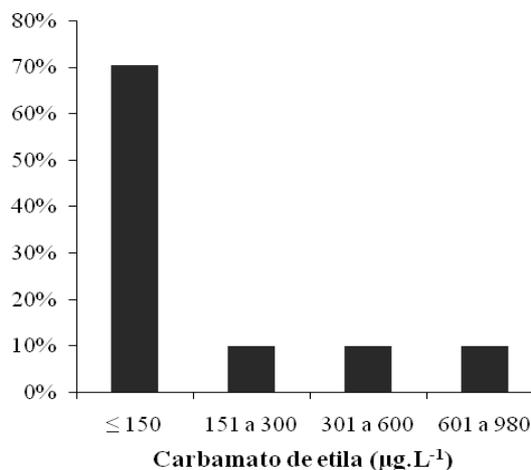
#### 4.4 Análise estatística

Todas as análises foram realizadas em triplicata. Os resultados obtidos foram agrupados por região de origem, processo de produção e submetidos à análise de variância, utilizado o software Sisvar<sup>®</sup> (Ferreira, 2003), Tabelas 2A e 4A, sendo as médias comparadas pelo teste de Skott-knott a 0,05 de confiança e análise descritiva.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Comparação dos teores de CE e cobre entre as regiões norte e sul de Minas Gerais

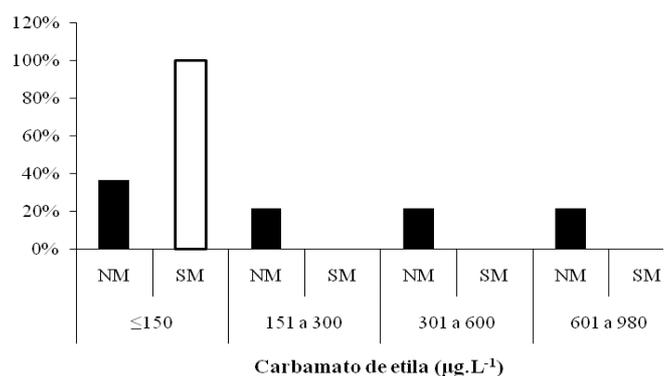
De acordo com os valores obtidos representados na Figura 3, os teores de carbamato de etila para as amostras analisadas apresentaram variação entre as amostras e entre os grupos de amostras, sendo que do total, 50 amostras (70,43%) apresentaram teores igual ou abaixo do limite máximo permitido pela legislação ( $150 \mu\text{g.L}^{-1}$ ). De acordo com a análise estatística descritiva, os teores de carbamato de etila variaram de  $22,6$  a  $980 \mu\text{g.L}^{-1}$ , com média de  $191,51 \mu\text{g.L}^{-1}$ .



**FIGURA 3.** Histograma dos teores de carbamato de etila em aguardentes de cana das regiões norte e sul de Minas Gerais.

Das 33 amostras da região norte, somente 12 (36,36%) aguardentes de cana apresentaram teores iguais ou abaixo do limite máximo permitido e todas

as amostras da região sul apresentaram teores abaixo desse limite, o que pode ser observado pelos dados da Figura 4.



**FIGURA 4.** Histograma dos teores de carbamato de etila para as aguardentes de cana das regiões norte (NM) e sul (SM) de Minas Gerais.

A média dos resultados para carbamato de etila (CE), acidez volátil em ácido acético, cobre e graduação alcoólica das amostras do sul e do norte de Minas Gerais estão apresentados na Tabela 1.

Pelos valores das análises, observa-se que o teor médio encontrado para o carbamato de etila foi maior nas amostras da região norte, estando bem acima do limite máximo permitido pela legislação ( $150 \mu\text{g.L}^{-1}$ ); o inverso ocorreu para o teor médio das amostras produzidas na região sul de Minas Gerais. Andrade-Sobrinho et al. (2002), pesquisando esse contaminante em várias amostras de aguardente de cana de Minas Gerais, encontraram teores médios próximos a  $1.000 \mu\text{g.L}^{-1}$ , ao passo que Barcelos et al. (2007) encontraram valores médio de  $243 \mu\text{g.L}^{-1}$  para cachaças procedentes das regiões Sul, Zona da Mata e Vale do Jequitinhonha de Minas Gerais e, posteriormente, Labanca et al. (2008),

desenvolvendo um trabalho semelhante, observaram teores médios de 893  $\mu\text{g.L}^{-1}$  para aguardentes de cana produzidas ou engarrafadas em Minas Gerais. Nesse trabalho desenvolvido a média encontrada foi de 191,51  $\mu\text{g.L}^{-1}$ .

**TABELA 1.** Resultados das análises em aguardentes de cana agrupadas em função da região de origem, sul (SM) e norte (NM) de Minas Gerais.

<b>Região</b>	<b>CE (<math>\mu\text{g.L}^{-1}</math>)</b>	<b>Acidez volátil (<math>\text{mg.100mL}^{-1}</math> de etanol)</b>	<b>Cobre (<math>\text{mg L}^{-1}</math> de etanol)</b>	<b>Graduação alcoólica (%v/v de etanol a 20°C)</b>
SM	53,34 a	89,96 a	4,64 b	39,80 a
NM	350,60 b	79,12 a	3,01 a	43,82 b

Médias com letras diferentes na coluna diferem entre si pelo Teste Scott-Knott a 0,05.

O teor médio de cobre encontrado foi maior para as aguardentes de cana produzidas no sul de Minas Gerais, as quais apresentaram menores valores para o carbamato de etila, ocorrendo o inverso com as do norte de Minas Gerais, evidenciando que não há correlação do teor de cobre na bebida com carbamato de etila, principalmente após o engarrafamento. Esses dados estão de acordo com Labanca et al. (2008), que estudando a correlação entre os teores de carbamato de etila, graduação alcoólica, pH e teores de cobre, indicaram a não-existência de correlação significativa ao nível de 5%, concordando com as pesquisas de Barcelos et al. (2007), os quais encontraram maior teor de carbamato de etila em aguardentes de cana com menor teor de cobre na bebida.

## 5.2 Influência do destilador no teor de CE na bebida

Os valores descritos na Tabela 2 mostram o teor médio para o carbamato de etila e cobre das aguardentes de cana destiladas em diferentes tipos de destilador.

**TABELA 2.** Concentração média de carbamato de etila e cobre para as aguardentes de cana destiladas em diferentes destiladores.

Congêneres	Tipo de Destilador							
	ALP	ALS	ALCSS	ALPI	ALISC	ALSSI	ALCSI	ALCSC
CE ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	208,17	49,09	128,60	396,66	125,00	960,00	180,00	50,00
Cobre ( $\text{mg L}^{-1}$ )	3,28	5,17	7,20	0,82	3,83	0,36	1,99	19,4

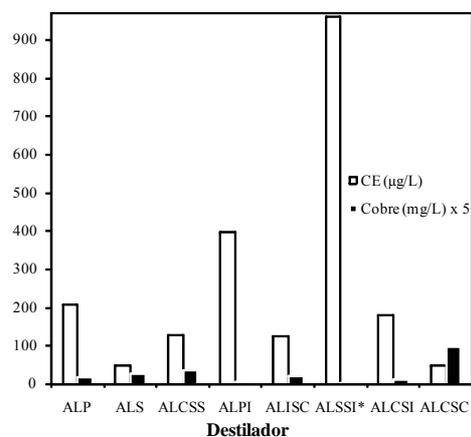
LEGENDA: ALP: Alambique cobre capitel com pratos; ALS: Alambique cobre simples; ALCSS: Alambique capelo sem serpentina; ALPI: Alambique todo em inox com prato; ALISC: Alambique inox simples com serpentina em cobre; ALSSI: Alambique cobre simples serpentina inox; ALCSI: Alambique capelo com serpentina inox; ALCSC: Alambique capelo com serpentina em cobre.

As amostras de aguardentes de cana destiladas em alambiques simples (ALS) apresentaram os menores teores de CE, com mínimo de  $25,1 \mu\text{g L}^{-1}$  e máximo de  $63,0 \mu\text{g L}^{-1}$ , ao passo que para as 47 amostras destiladas em alambiques de cobre contendo pratos no capitel (ALP), foram observados 70,21% de teores de CE abaixo do limite de  $150 \mu\text{g L}^{-1}$ , com variação de  $30,9$  a  $980 \mu\text{g L}^{-1}$ . Para as 5 amostras procedentes de alambiques tipo capelo ou tromba de elefante (ALCSS) (alambiques esses caracterizados por possuírem destilação com baixa temperatura e vazão), 4 estavam dentro dos padrões com valores inferiores a  $150 \mu\text{g L}^{-1}$  e apenas uma apresentou um valor de  $360 \mu\text{g L}^{-1}$ . Como se pôde observar, é possível produzir aguardentes de cana com níveis aceitáveis de CE destiladas em diferentes destiladores; contudo, para alguns autores, o elevado teor desse contaminante pode ser diretamente influenciado pela

condução do processo de destilação. Bruno et al. (2007) observaram grande probabilidade de formação dos níveis de CE em aguardente de cana com a configuração do sistema de destilação e com o próprio processo de destilação. Para esses, a formação de CE é favorecida pelo arraste dos precursores nitrogenados durante a destilação e pelas temperaturas elevadas resultantes de destilação pobre, ou seja, sistemas com desenho errado ou operando com taxas abusivas de refluxo.

Andrade-Sobrinho et al. (2002) encontraram teor médio de CE maior em aguardentes de cana destiladas em colunas, procedentes de vários estados brasileiros, com teores médios de  $630 \mu\text{g L}^{-1}$  (alambique) e  $930 \mu\text{g L}^{-1}$  (coluna).

Na Figura 5 comparam-se os valores médios de CE e cobre em aguardentes de cana em relação ao aparelho destilador em que foram destiladas.



**FIGURA 5.** Histograma dos valores de carbamato de etila e cobre em aguardentes de cana destiladas em: Alambique cobre capitel com pratos (ALP); Alambique cobre simples (ALS); Alambique capelo sem serpentina (ALCSS); Alambique todo em inox com prato (ALPI); Alambique inox simples com serpentina em cobre (ALISC); Alambique cobre simples serpentina inox (ALSSI); Alambique capelo com serpentina inox (ALCSI\* uma amostra) e Alambique capelo com serpentina em cobre (ALCSC).

O teor maior ou menor de cobre não significa menor ou maior teor de carbamato de etila na bebida, pois o produtor pode efetuar a retirada de cobre com resinas de troca iônica após a sua formação. Riffkin et al. (1989) observaram que 20% dos níveis de CE nos recém-destilados são produzidos durante a primeira hora de reação. Posteriormente, realizando um trabalho semelhante, Bruno et al. (2003) obtiveram reduções nos níveis de CE de 272 a  $50 \mu\text{g.L}^{-1}$  (cerca de 80%) ao tratar amostras de aguardentes de cana recém-destiladas por cerca de uma hora com resina seletiva. Observaram que cerca de  $0,8 \text{ mg.L}^{-1}$  de cobre foi o suficiente para promover uma formação completa do CE e, em maiores concentrações, não promoveu nenhum efeito catalisador adicional. Não foi observada correlação entre o carbamato de etila e o cobre presente nas amostras de aguardente de cana Tabelas 1A e 3A do anexo.

## 6 CONCLUSÕES

Das amostras analisadas, 63,63% das aguardentes de cana da região norte de Minas Gerais encontram-se com teores acima do limite de  $150 \mu\text{g.L}^{-1}$  estando fora das especificações do MAPA, para o carbamato de etila, portanto impróprias para o consumo.

Não foi observada correlação significativa entre os teores de CE e graduação alcoólica das amostras analisadas.

Não foi observada correlação significativa entre os teores de CE e cobre nas amostras analisadas.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE-SOBRINHO, L. G.; BOSCOLO, M.; LIMA-NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Carbamato de etila em bebidas alcoólicas: cachaça, tiquira, uísque e grapa. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 6B, p. 1074-1077, 2002.
- BARCELOS, L. V. F.; CARDOSO, M. G.; VILELA, F. J.; ANJOS, J. P. dos. Teores de carbamato de etila e outros componentes secundários em diferentes cachaças produzidas em três regiões do estado de Minas Gerais: zona da mata, sul de minas e vale do Jequitinhonha. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 4, p. 1009-1011, 2007.
- BATTAGLIA, R.; CONACHER, B. S.; PAGE, B. D. Ethyl carbamate in alcoholic beverages and foods: a review. **Food Additives and Contaminantes**, London, v. 7, n. 4, p. 477- 496, 1990.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Instrução normativa nº 13, de 29 de junho de 2005. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, n. 124, 30 jun. 2005a. Seção I.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Instrução normativa nº 24, de 8 de setembro de 2005. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, p. 11, 20 set. 2005b. Seção I.
- BRUNO, S. N. F.; VAITSMAN, D. S.; KUNIGAMI, C. N.; BRASIL, M. G. 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.
- BRUNO, S. N. F.; VAITSMAN, D. S.; KUNIGAMI, C. N.; SANCTOS, M. S.; BRASIL, M. G. Redução dos teores de carbamato de etila em cachaças fluminenses empregando resinas catiônicas. In: LATIN AMERICAN SYMPOSIUM ON FOOD SCIENCE (SLACA), 5., 2003, Campinas, SP. **Resumos...** Campinas, 2003. CD-ROM.
- COOK, R.; MCCAIG, N.; MCMILLAN, J. M. B.; LUMSDEN, W. B. Ethyl carbamate formation in grain-based spirits: part III: the primary source. **Journal Institute Brewing**, London, v. 96, p. 233-244, 1990.

FERREIRA, D. F. **SISVAR**. Versão 4.6, Build 61. Lavras: DEX/UFLA, 2003. Software.

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

LANÇAS, F. M. **Cromatografia em fase gasosa**. São Carlos: Acta, 1993. 245 p.

LAWRENCE, J. F.; PAGE, B. D.; CONACHER, H. B. S. **Advice Environment Science Technology**, v. 23, p. 457, 1990.

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.

RIFFKIN, H. L.; WILSON, R.; HOWIE, D.; MULLER, S. Ethyl carbamate formation in the production of pot still whisky. **Journal of the Institute of Brewing**, London, v. 95, p. 115-119, 1989.

SESC-SP. **Bebidas**. Disponível em:  
<[http://www.sescsp.org.br/sesc/revistas\\_problemas\\_brasileiros](http://www.sescsp.org.br/sesc/revistas_problemas_brasileiros)>. Acesso em: 11 mar. 2008.

VAHL, M. A survey of ethyl carbamate in beverages, bread and acidified milks sold in Denmark. **Food Additives and Contaminantes**, London, v. 10, n. 5, p. 585-592, 1993.

ZIMMERLI, B.; SCHLATTER, J. Ethyl carbamate: analytical methodology, occurrence, biological activity and risk assessment. **Mutat. Research**, Amsterdam, n. 259, p. 325, 1991.

## ANEXOS

### ANEXO A

	<b>Página</b>
TABELA 1A. Correlação dos dados da região norte de Minas (NM)..	70
TABELA 2A. Resumo dos dados estatísticos das amostras da região norte de Minas (NM).....	70
TABELA 3A. Correlação dos dados da região sul de Minas (SM).....	70
TABELA 4A. Resumo dos dados estatísticos das amostras do sul de Minas (SM).....	70
TABELA 5A. Percentual dos aparelhos de destilação utilizados na destilação das amostras analisadas das regiões norte (NM) e sul (SM) de Minas Gerais.....	71

**TABELA 1A.** Correlação dos dados da região norte de Minas (NM).

	Cobre	Acidez	Aldeído	Ésteres	Metanol	Furfural	CE	Acrol.	GR
Cobre	1,0000	0,1931	0,2811	0,1637	0,0585	-0,3323	0,0430	0,0593	0,1541
Acidez	0,1931	1,0000	-0,4433	0,6648	-0,0558	0,4136	0,1631	0,1976	-0,0213
Aldeído	0,2811	-0,4433	1,0000	-0,3663	0,1374	-0,2161	-0,1758	-0,0540	-0,2662
Ésteres	0,1637	0,6648	-0,3663	1,0000	-0,2099	0,4113	0,0708	0,2032	0,0956
Metanol	0,0585	-0,0558	0,1374	-0,2099	1,0000	-0,2399	-0,1665	-0,1685	-0,0527
Furfural	-0,3323	0,4136	-0,2161	0,4113	-0,2399	1,0000	0,1553	0,0525	0,1527
CE	0,0430	0,1631	-0,1758	0,0708	-0,1665	0,1553	1,0000	0,3308	0,0030
Acrol.	0,0593	0,1976	-0,0540	0,2032	-0,1685	0,0525	0,3308	1,0000	-0,0047
GR	0,1541	-0,0213	-0,2662	0,0956	-0,0527	0,1527	0,0030	-0,0047	1,0000

Aldeído = Aldeídos; CE = Carbamato de etila; Acrol. = Acroleína; GR = Graduação alcoólica.

**TABELA 2A.** Resumo dos dados estatísticos das amostras da região norte de Minas (NM).

	Cobre	Acidez	Aldeídos	Ésteres	Metanol	Furfural	CE	Acrolei	GR
Mínima	0.1283	17.8899	5.5373	20.3853	0.0006	0.1800	50.0000	0.3300	35.3800
Média	3.0109	79.1266	18.3281	61.2364	0.0153	2.3813	350.6061	1.2256	43.4185
Mediana	2.0832	83.2740	12.4032	60.4277	0.0135	1.3060	190.0000	0.3300	42.8600
Máxima	8.5859	172.181	89.8165	145.5666	0.0515	20.2000	980.0000	7.3560	49.0900
Desvio padrão	2.2233	40.0661	17.5324	26.8613	0.0114	4.4541	290.3655	1.8803	3.3818

CE = Carbamato de Etila, GR = Graduação Alcoólica.

**TABELA 3A.** Correlação dos dados da região sul de Minas (SM).

	Cobre	Acidez	Aldeído	Ésteres	Metanol	Furfural	CE	Acrol.	GR
Cobre	1,0000	0,5992	-0,0670	0,5103	-0,2346	0,2181	-0,1366	-0,0127	-0,0254
Acidez	0,5992	1,0000	-0,2256	0,9029	-0,1005	0,5499	-0,0234	-0,0526	-0,1445
Aldeído	-0,0670	-0,2256	1,0000	-0,0437	-0,1056	-0,1723	-0,0163	0,1001	0,2301
Ésteres	0,5103	0,9029	-0,0437	1,0000	-0,1722	0,5165	-0,0011	-0,0332	-0,0904
Metanol	-0,2346	-0,1005	-0,1056	-0,1722	1,0000	0,0447	0,0113	0,0838	0,1505
Furfural	0,2181	0,5499	-0,1723	0,5165	0,0447	1,0000	-0,2467	-0,2340	-0,3643
CE	-0,1366	-0,0234	-0,0163	-0,0011	0,0113	-0,2467	1,0000	-0,0137	0,2459
Acrol.	-0,0127	-0,0526	0,1001	-0,0332	0,0838	-0,2340	-0,0137	1,0000	0,1412
GR	-0,0254	-0,1445	0,2301	-0,0904	0,1505	-0,3643	0,2459	0,1412	1,0000

Aldeído = Aldeídos; CE = Carbamato de etila; Acrol. = Acroleína; GR = Graduação alcoólica.

**TABELA 4A.** Resumo dos dados estatísticos das amostras do sul de Minas (SM).

	Cobre	Acidez	Aldeído	Ésteres	Metanol	Furfural	CE	Acrolei	GR
Mínimo	0.8217	17.7683	1.4900	19.9738	0.0136	0.0010	50.0000	0.3300	32.6200
Média	4.6422	89.1767	13.7117	70.2602	0.0720	2.0637	56.9711	1.0024	39.8013
Mediana	3.8394	79.7844	14.2149	58.6582	0.0344	1.7450	50.0000	0.3300	39.9200
Máxima	19.4004	225.150	44.7498	188.3695	0.6720	5.7300	80.0000	10.3920	48.2800
Desvio padrão	3.8906	55.2357	7.1691	43.4702	0.1150	1.5670	9.5326	2.0053	3.3042

**TABELA 5A.** Percentual dos aparelhos de destilação utilizados na destilação das amostras analisadas das regiões norte (NM) e sul (SM) de Minas Gerais.

Região	%							
	ALP	ALS	ALCSS	ALPI	ALISC	ALSSI	ALCSI	ALCSC
NM	66,66	3,03	9,09	9,09	6,06	3,03	3,03	0
SM	65,78	26,31	5,26	0	0	0	0	2,63

### **CAPÍTULO 3**

**TEORES DE ACROLEINA (2-PROPENAL) EM AGUARDENTES DE  
CANA AVALIADOS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA  
EFICÊNCIA (CLAE).**

## 1 RESUMO

MASSON, José. Teores de acroleína (2-propenal) em aguardentes de cana por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). In.: **Determinação do carbamato de etila e de acroleína em aguardentes de cana produzidas em Minas Gerais**. 2009. Cap. 3, p.72-91. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.\*

Neste estudo, foi avaliado o teor de acroleína por HPLC (High Performance Liquid Chromatography) → Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) em 71 amostras de aguardentes de cana procedentes de alambiques de pequeno e médio porte das regiões norte e sul de Minas Gerais. Os teores de acroleína variaram de 0 a 21,97 mg.100 mL<sup>-1</sup> de etanol. Entretanto, não ocorreu diferença significativa ao nível de 5% de significância entre as amostras do norte com as do sul de Minas Gerais. O método desenvolvido para a determinação de acroleína em aguardente de cana foi a derivação com 2,4-dinitrofenilidrazina - DNPH e posterior análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.

Palavras-chave: Aguardente de cana, acroleína, HPLC.

---

\* Comitê Orientador: Maria das Graças Cardoso - UFLA (Orientadora); Augusto Ramalho de Moraes – UFLA e Gilson Alberto Rosa Lima – UFMT (Co-orientadores)

## 2 ABSTRACT

MASSON, José. Contents of acrolein (2-propenal) in sugar cane spirits by high performance liquid chromatography (HPLC). In.: **Determination of ethyl carbamate, acrolein in sugar cane spirits produced in Minas Gerais**. 2009. Cap. 3, p. 72-91. Thesis (Doctorate in Food Science) – Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil.\*

In this study, the content of acrolein was evaluated by HPLC (High Performance Liquid Chromatography) in 71 samples of sugar cane spirits stemming from small and medium sized stills from the north and south regions of Minas Gerais. The contents of acrolein ranged from 0 to 21.97 mg.100 mL<sup>-1</sup> of ethanol. However, no significant difference occurred at the level of 5% of significance between the samples from northern and southern Minas Gerais. The method developed for the determination of acrolein in sugar cane spirit was the derivation with 2,4-dinitrophenylhydrazine - DNPH and subsequent analysis by high performance liquid chromatography.

Keywords: Sugar cane spirit, acrolein, chromatographic analysis.

---

\* Guidance Committee: Maria das Graças Cardoso - UFLA (Major Professor); Augusto Ramalho de Moraes – UFLA and Gilson Alberto Rosa Lima – UFMT.

### 3 INTRODUÇÃO

A competitividade é uma preocupação constante dos organismos econômicos, não sendo diferente no setor do agronegócio, em que o produtor nacional tem que estar preocupado para não perder mercado. Entre os produtos representativos do agronegócio brasileiro, a aguardente de cana está em destaque por ser o Brasil o único país produtor desse destilado no mundo e despertar o interesse sobre o aumento de suas exportações diante da crescente busca por mercados externos.

A aguardente de cana apresenta uma produção de aproximadamente 1,5 bilhão de litros/ano, um faturamento anual de mais de US\$ 600 milhões, com um crescimento esperado de 27% nas exportações, sendo os países europeus os maiores importadores (Sebrae, 2008).

As substâncias álcool metílico (metanol), carbamato de etila (uretana), acroleína (propen-2-al), álcool sec-butílico (2-butanol) e álcool butílico (1-butanol) são considerados contaminantes orgânicos na aguardente de cana pela legislação brasileira (Brasil, 2005). A incidência desses compostos na bebida é comum, podendo influenciar negativamente na sua qualidade. A presença de compostos carbonilados em bebidas alcoólicas está relacionada com sintomas, como náusea, vômito, inquietação, suor, queda na pressão e dores de cabeça (Andrade et al., 1996a). Por esses motivos, o interesse na investigação do teor desses compostos em alimentos e bebidas alcoólicas ou não-alcoólicas tem aumentado (Porretta & Sandei, 1991; Nascimento et al., 1997). Além do efeito à saúde, aldeídos e cetonas afetam as características sensoriais dos alimentos e bebidas. A presença da concentração alta desses contaminantes nesses produtos pode ser um indicador de deterioração, provocada por superaquecimento, ou indicador de contaminação paralela durante a fermentação ou pelo uso de

embalagens compostas por determinados materiais plásticos, ou ainda por processo inadequado de engarrafamento (Andrade, 1996b). A acroleína é extremamente tóxica por todas as vias de administração e tem mostrado características mutagênicas, além de provocar irritação no trato respiratório de animais e humanos (Nouguer & Marty, 1995; Fleet, 2003).

Segundo Sauvageot et al. (2000), nos vinhos, o metabolismo de formação da acroleína está associado a bactérias termofermentativas *Bacillus amarae* e *Lactobacillus colinoides*. A produção de acroleína em cidras é comum pela transformação de 3-hidroxiopropanal, responsável pelo aroma de pimenta na bebida.

Os aspectos negativos são importantes; porém, pode-se salientar que em estudos direcionados à caracterização de bebidas, alguns desses compostos carbonilados são os componentes responsáveis pela qualidade sensorial do produto, ficando evidente a necessidade de conhecer melhor a concentração e a influência desses compostos em alimentos e bebidas, para somarem positivamente e não negativamente no produto final.

A determinação dos valores da acroleína em aguardente de cana faz-se necessário visto que a legislação Brasileira, estabelece o limite máximo de 5 mg 100 mL<sup>-1</sup> de álcool anidro, sendo que acima deste limite a bebida estará imprópria para ser comercializada. Outro fato que deve ser considerado é o pequeno número de estudos com a acroleína em aguardente de cana. A maioria dos estudos limita-se ao formaldeído e acetaldeído.

Diante do exposto, com o presente trabalho objetivou-se caracterizar e quantificar a acroleína presente em diferentes amostras de aguardente de cana da região norte e sul do estado de Minas Gerais.

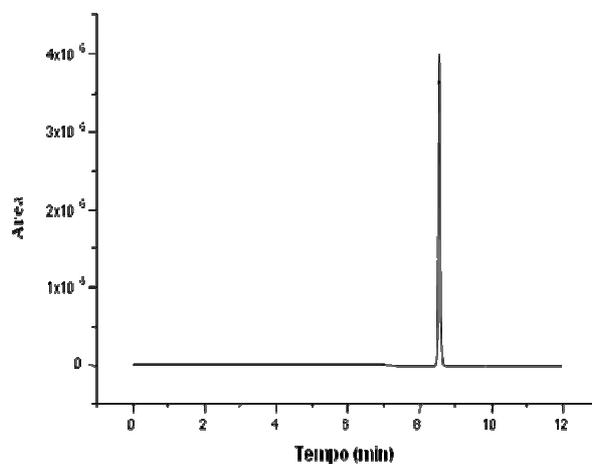
## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Obtenção das amostras

Foram coletadas aleatoriamente nas regiões norte e sul do estado de Minas Gerais setenta e uma amostras de aguardente de cana, as quais foram obtidas diretamente nos alambiques de pequeno e médio porte, sendo 33 (trinta e três) da região norte e 38 (trinta e oito) da região sul. Dessas, 63 (sessenta e três) foram destiladas em alambiques de cobre, 3 (três) em alambiques de inox e 5 (cinco) em alambiques confeccionados parte em cobre e parte em inox (cuba ou serpentina). Das 71 amostras coletadas, 47 foram destiladas em alambique e serpentina de cobre e capitel com pratos (ALP); 11 em alambique de cobre simples com serpentina de cobre (ALS); 5 em alambique de cobre tipo capelo sem serpentina (ALCSS); 3 em alambique e serpentina de inox com pratos (ALPI); 2 em alambique em inox simples com serpentina em cobre (ALISC); 1 em alambique de cobre simples com serpentina em inox (ALSSI); 1 em alambique de cobre tipo capelo com serpentina em inox (ALCSI) e 1 em alambique de cobre tipo capelo com serpentina em cobre (ALCSC).

### 4.2 Reagentes

Os reagentes utilizados foram de grau analítico. O cromatograma do padrão de acroleína (General Purpose Reagent-BDH Limited PODE England) está representado na Figura 1. Os solventes, metanol e acetonitrila, grau HPLC (Merck), 2,4-Dinitrofenilidrazina (Vetec). A água usada foi purificada pelo sistema Milli-Q (Milipore).



**FIGURA 1.** Cromatograma do padrão da 2,4-DNPH de acroleína.

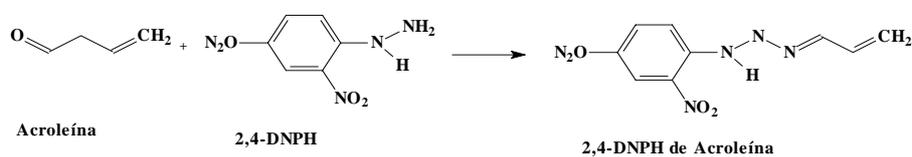
#### **4.3 Purificação da 2,4-Dinitrofenilidrazina**

A 2,4-Dinitrofenilidrazina foi purificada por três vezes sucessivas utilizando 2,0 g em 50 mL de etanol absoluto submetido a banho de água sob agitação constante por aproximadamente 20 minutos. Após a terceira filtração, deixou-se em repouso à temperatura ambiente, até completar a cristalização (cerca de 12 h). Filtrou-se a vácuo.

#### **4.4 Preparação do derivado 2,4-Dinitrofenilidrazina de acroleína**

O derivado 2,4-DNPH de acroleína foi obtido pela reação esquematizada na Figura 3, seguindo a metodologia de Shriner et al. (1983). Preparou-se uma solução com 0,4 g de 2,4-DNPH (purificada) em 2 mL de ácido sulfúrico, adicionando a essa gota a gota 2 mL de água, com agitação até completa solubilização. Em seguida, colocaram-se 10 mL de etanol a 95%. Paralelamente preparou-se a solução da acroleína (0,1 g) em 15 mL de etanol. A solução de 2,4-DNPH recém-preparada foi lançada nessa solução e a mistura resultante

ficou em repouso à temperatura ambiente. A cristalização da 2,4-dinitrofenilidrazona ocorreu em torno de dez minutos. O derivado 2,4-DNPH de acroleína foi isolado por filtração e purificado por recristalização em etanol absoluto, por duas vezes. A pureza foi confirmada pela determinação da temperatura de fusão, Tabela 2A, análise química elementar de C, H, N, Tabela 3A, e análises por HPLC.



**FIGURA 2.** Reação de preparação do derivado de 2,4-DNPH de acroleína.

Para análise quantitativa, a solução-padrão de 2,4-DNPH de acroleína foi obtida pela diluição da solução-estoque (1000 mg.L<sup>-1</sup> em acetonitrila) em etanol-água (45:55 v/v). Seis pontos foram utilizados para obtenção da curva analítica nas concentrações de 0-100 mg.L<sup>-1</sup>.

#### 4.5 Derivação das amostras

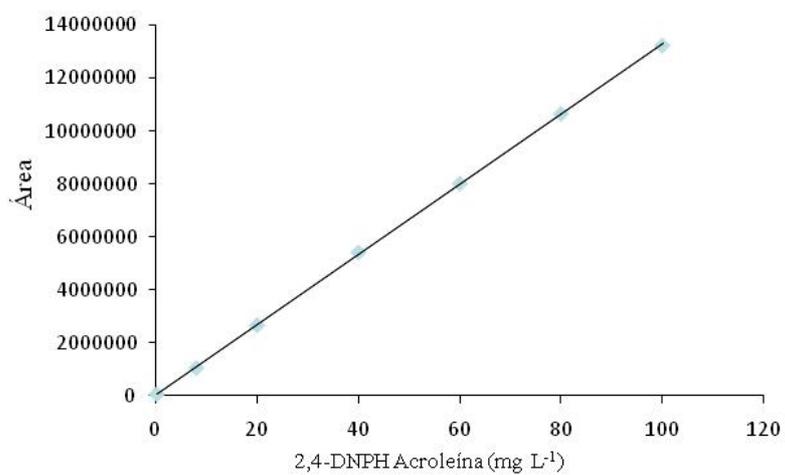
Em um balão volumétrico de 100 mL, preparou-se uma solução dissolvendo 0,4 g de 2,4-dinitrofenilidrazina purificada com acetonitrila. Em um frasco à parte, adicionaram-se na seqüência 1,0 mL da solução de 2,4-dinitrofenilidrazina, 4,0 mL da amostra de aguardente de cana e 50 µL de ácido perclórico (HClO<sub>4</sub>) a 1,0 M. A solução resultante foi agitada e mantida a temperatura ambiente por aproximadamente 45 minutos. As amostras derivadas

foram filtradas em filtros de membranas de polietileno 0,45 µm (Milipore) e 20 µL da solução foi injetado no sistema CLAE para análise.

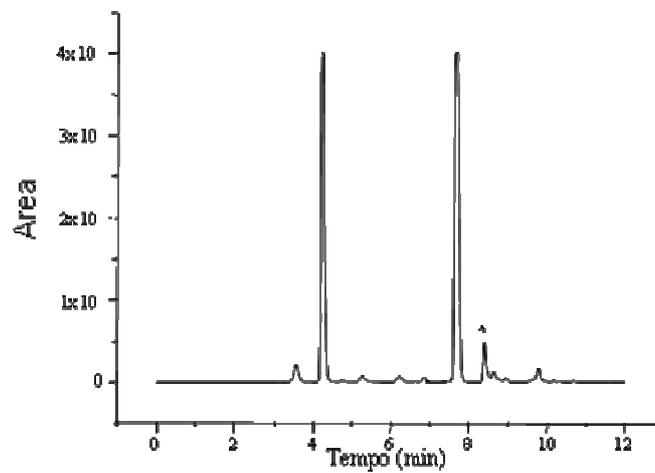
#### **4.6 Análises qualitativa e quantitativa**

Para a quantificação da concentração de acroleína nas amostras de aguardente de cana, utilizou-se a técnica da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), utilizando-se um equipamento Shimadzu UFLC, equipado com duas bombas LC-20AD, injetor automático SIL-20A, forno CTO-20AC, detector com arranjo de diodo (DAD) SPD-M20A e registrador de dados CBM-20A. Para a identificação da acroleína, foi empregada uma coluna SHIM-pack VP-ODS de 250 mm x 4,6 mm, 5 µm, da marca Shimadzu, fluxo de 1 mL/min, gradiente de eluição: metanol-água (70:30 v/v) por 5,0 min; metanol-água (85:15 v/v) em 2,0 min, metanol-água (90:10 v/v) em 2,0 min, metanol-água (70:30 v/v) em 3,0 min.

A conversão quantitativa dos aldeídos nas bebidas alcoólicas destiladas aos derivados 2,4-DNPHs é assegurada por meio de um excesso de 2,4-dinitrofenilidrazina (Lo Coco et al., 1995). A 2,4-DNPH de acroleína nas amostras foi quantificada usando-se o método de padrão externo (0-100 mg L<sup>-1</sup>), com detecção a 365 nm. A curva analítica foi obtida pela regressão linear ( $y = 62105,83 + 133404,61x$ ), plotando a área de pico *versus* concentração, sendo o coeficiente de correlação linear igual a 0,9996, Figura 3. Na Figura, 4 verifica-se o pico correspondente para acroleína identificado em amostra de aguardente de cana.



**FIGURA 3.** Curva analítica obtida da solução de 2,4, DNPH-Acroleína.



**FIGURA 4.** Cromatograma de amostra de aguardente de cana. Com o pico identificado de acroleína.

#### **4.7 Análise estatística**

Os dados referentes aos efeitos dos tratamentos foram submetidos às análises de variância e a testes de comparações múltiplas de médias (Scott & Knott, 1974), utilizando o programa SISVAR<sup>®</sup> (Ferreira, 2003).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pelos valores descritos na Tabela 1, verificam-se os resultados das médias de acroleína, cobre, graduação alcoólica e acidez para as aguardentes de cana para as regiões norte (NM) e sul (SM) de Minas Gerais.

**TABELA 1.** Concentração média de acroleína, graduação alcoólica, cobre e acidez das aguardentes de cana das regiões norte (NM) e sul (SM) de Minas Gerais.

REGIÃO	Acroleína (mg.100 mL <sup>-1</sup> de etanol)	Graduação alcoólica (% em volume de etanol a 20°C)	Cobre (mg.L <sup>-1</sup> )	Acidez (mg.100 mL <sup>-1</sup> de etanol)
NM	2,55a	43,82a	3,01a	79,12a
SM	2,09a	39,82b	4,64b	89,96a

Médias com a mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Scott-Knott ao nível de 0,05.

Analisando os valores acima, observam-se que não ocorreu diferença significativa entre as amostras do norte com as do sul de Minas Gerais; entretanto, o teor de acroleína variou de 0 a 25,97 mg.100 mL<sup>-1</sup> de etanol, com concentração média de 2,30 mg.100 mL<sup>-1</sup>. Das 33 amostras do NM e das 38 amostras do SM, 12,12% e 7,89%, respectivamente, estão acima do limite de 5 mg.100 mL<sup>-1</sup> estabelecido pela Legislação Brasileira (Brasil, 2005). Nascimento et al. (1997) observaram valores para acroleína de 0 a 0,660 mg.100mL<sup>-1</sup> de etanol em 56 amostras de aguardente de cana de várias estados do Brasil. Posteriormente, Nascimento et al. (1998), analisando 35 amostras de aguardente de cana, encontraram um teor médio de 0,094 mg.100 mL<sup>-1</sup> de etanol para a

acroleína, valores bem abaixo daqueles encontrados neste trabalho. Braga (2006) encontrou valores menores que  $0,7 \text{ mg} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$  de etanol para acroleína em aguardentes de cana produzidas com três linhagens de leveduras e temperatura de fermentação controlada (20 e 32°C).

Quanto à graduação alcoólica, as aguardentes de cana da região NM apresentaram teor médio de 43,82% em volume de etanol, com variação de 35,38% a 52,21% em volume de etanol a 20°C, e as da região SM apresentaram teor médio de 39,82%, variando de 32,62 a 48,28% em volume de etanol a 20°C, apresentando um percentual de 23,68% das amostras do SM e 3,03% do NM abaixo do limite mínimo. Portanto, com esses valores pode-se considerar elevada a proporção de bebidas com a graduação alcoólica abaixo do limite mínimo estabelecido, que é de 38% em volume de etanol a 20°C (Brasil, 2005), visto que a graduação alcoólica pode ser controlada facilmente.

Os valores médios encontrados para a concentração de cobre foram de 3,01 (NM) e 4,64  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  (SM), ocorrendo diferença significativa para as aguardentes de cana da região norte e sul, com valores variando de 0,12 a 8,38  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  e 0,96 a 19,40  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , respectivamente, estando 21% do total de amostras acima do limite máximo de 5  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ . Esses valores são maiores do que aqueles encontrados por Fernandes et al. (2007), que variaram de 0,2 a 10,7  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  de cobre em cachaças do sul de Minas Gerais. Nesse mesmo período, Miranda et al. (2007), trabalhando com 94 amostras de diferentes aguardentes de cana, encontraram valores variando de 0 a 12  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , sendo que 15% das amostras estudadas encontravam-se acima do limite.

O cobre na aguardente provém do material dos destiladores fabricados com esse metal ou quando parte do destilador é confeccionada em aço inox e parte em cobre, como a serpentina, ou do tipo coluna em aço inox contendo revestimento em cobre ou telas, tipo filtro de fios de cobre (Masson et al., 2007). Esse metal pode ser proveniente da dissolução do “azinhavre” (carbonato básico

de cobre) que se forma no interior do alambique e partes internas da serpentina (Cardoso, 2006). A ausência de cobre no destilador e mesmo nas colunas de destilação conduz a um efeito organoléptico diferente no produto, apresentando um aroma típico de sulfeto (Nascimento et al., 1998). As boas práticas de produção evitam o seu excesso na bebida.

O teor médio para acidez volátil em ácido acético foi de 79,12 mg.100 mL<sup>-1</sup> de etanol para as amostras do NM e 89,96 mg.100 mL<sup>-1</sup> de etanol para as do SM, sendo que 9,85% do total das amostras apresentaram teor acima do limite máximo permitido de 150 mg.100 mL<sup>-1</sup> de etanol.

A alta acidez em aguardentes de cana pode ser atribuída à contaminação da cana ou do próprio mosto fermentativo por bactérias acéticas e outras, seja na estocagem da cana, ou no próprio caldo da cana, fazendo com que parte do substrato sofra fermentação acética, elevando, assim, a acidez e diminuindo o rendimento da produção de etanol (Cardoso, 2006).

## 6 CONCLUSÕES

Das 71 amostras estudadas, 9,85%; 21,00% e 8,85% apresentaram teores de acroleína, cobre e acidez volátil respectivamente, acima e 26,71% apresentaram graduação alcoólica abaixo do limite mínimo estabelecido pela Legislação Brasileira.

Os teores de acroleína variaram de 0 a 21,97 mg.100 mL<sup>-1</sup> de etanol.

O método analítico desenvolvido para a determinação de acroleína em aguardente de cana foi a derivação com a dinitrofenilidrazina – DNPH e posterior análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, J. B. de; BISPO, M. S.; REBOUÇAS, M. V.; CARVALHO, M. L. S. M.; PINHEIRO, H. L. C. Spectrofluorimetric determination of formaldehyde in liquid samples. **American Laboratory**, v. 28, p. 56-58, 1996a.

ANDRADE, J. B. de; REIS, J. O. N.; REBOUÇAS, M. V.; PINHEIRO, H. L. C. Determination of formaldehyde and acetaldehyde in drinking water and alcoholic beverages by High Performance Liquid Chromatography (HPLC). **Química Analítica**, Madrid, v. 15, p. 144-147, 1996b.

BRAGA, V. S. **A influência da temperatura na condução de dois processos fermentativos para produção de cachaça**. 2006. 90 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Instrução normativa nº 13, de 29 de junho de 2005. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, n. 124, 30 jun. 2005. Seção I.

CARDOSO, M. das G. (Ed.). **Produção de aguardente de cana**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2006. 445 p.

FERNANDES, W. J.; CARDOSO, M. G.; VILELA, F. J.; MORAIS, A. R.; SILVA, V. F.; NELSON, D. L. Physicochemical quality of a blend of domestic cachaças from the south of Minas Gerais. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, p. 257-261, 2007.

FERREIRA, D. F. **SISVAR**. Versão 4.6, Build 61. Lavras: DEX/UFLA, 2003. Software.

FLEET, G. H. Yeast interactions and wine flavor. **Food Science Technology**, v. 86, p. 11, 2003.

LO COCO, F.; CECCON, L.; VALENTINI, C.; NOVELLI, V. Liquid chromatographic determination of 2-furaldehyde and 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde in. **Analytical Chemistry Acta**, v. 306, p. 57, 1995.

MASSON, J.; CARDOSO, M. G.; VILELA, F. J.; PIMENTEL, F. A.;  
MORAIS, A. R.; ANJOS, J. P. Parâmetros físico-químicos e cromatográficos  
em aguardentes de cana queimada e não queimada. **Ciência e Agrotecnologia**,  
Lavras, v. 31, n. 6, p. 1805-1810, nov./dez. 2007.

MIRANDA, M. B. de; MARTINS, N. G. S.; BELLUCO, A. E. S.; HORII, J.;  
ALCARDE, A. R. Qualidade química de cachaças e de aguardentes brasileiras.  
**Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia dos  
Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 4, p. 897-901, out./dez. 2007.

NASCIMENTO, R. F.; CARDOSO, D. R.; LIMA-NETO, B. S.; FRANCO, D.  
W.; FARIA, J. B. Influência do alambique na composição química das  
aguardentes de cana-de-açúcar. **Química Nova**, São Paulo, v. 1, n. 6, p. 735-  
739, 1998.

NASCIMENTO, R. F.; MARQUES, J. C.; LIMA-NETO, B. S.; KEUKELEIRE,  
D.; FRANCO, D. W. Qualitative and high-performance liquid chromatographic  
analysis of aldehydes in Brazilian sugar cane spirits and other distilled alcoholic  
beverages. **Journal of Chromatography A**, v. 782, p. 13, 1997.

NOUGUER, T.; MARTY, J. L. An amperometric bienzyme electrode for  
acetaldehyde detection. **Enzyme Microbiology Technology**, v. 17, p. 453,  
1995.

PORRETTA, S.; SANDEI, L. Determination of 5-(Hydroxymethyl)-2-Furfural  
(HMF) in tomato Products: proposal of a rapid HPLC method and its  
comparison with the colorimetric method. **Food Chemistry**, v. 39, p. 51-57,  
1991.

SHRINER, R. L.; FUSON, R. C.; CURTIN, D. Y.; MORRIL, T. C.  
**Identificação sistemática dos compostos orgânicos**. 6. ed. Rio de Janeiro:  
Guanabara Dois, 1983. 148 p.

SAUVAGEOT, N.; GOUFFI, K.; LAPLACE, J. M.; AUFRAY, Y. Glycerol  
metabolism in *Lactobacillus collinoides*: production of 3-  
hydroxypropionaldehyde, a precursor of acrolein. **International Journal Food  
Microbiology**, v. 55, n. 1, p. 167-170, Apr. 2000.

SCOTT, A. J.; KNOTT, M. A. A cluster analysis method for grouping means in  
the analysis of variance. **Biometrics**, Raleigh, v. 30, n. 3, p. 507-512, 1974.

SEBRAE. **Evolução histórica do mercado de cachaça**. Disponível em:  
<<http://www.sebrae.com.br>>. Acesso em: 20 out. 2008.

## ANEXOS

### ANEXO A

	<b>Página</b>
TABELA 1A Recuperação de acroleína de uma amostra de aguardente de cana em análise por CLAE.....	91
TABELA 2A Determinação do ponto de fusão do derivado 2,4-DNPH acroleína.....	91
TABELA 3A Análise química elementar de 2,4-DNPH acroleína.....	91

**TABELA 1A.** Recuperação de acroleína de uma amostra de aguardente de cana em análise por CLAE.

Amostra	Acroleína		Recuperação (%)
	Conc. na amostra mg.L <sup>-1</sup>	Conc. Adicionada mg.L <sup>-1</sup>	
40	1,55	20	95,33(±2)

Média de três repetições

**TABELA 2A.** Determinação do ponto de fusão do derivado 2,4-DNPH acroleína

Composto	P.F. observado (°C)	P.F. literatura (°C)
<b>2,4-DNPH Acroleína</b>	164,4 ± 4	165

Média de duas repetições; Equipamento BUCHI 535.

**TABELA 3A.** Análise química elementar de 2,4-DNPH acroleína.

Composto	Carbono %		Nitrogênio %		Hidrogênio %	
	Teórico	Prático	Teórico	Prático	Teórico	Prático
2,4-DNPH Acroleína	45,7	46	23,7	22,7	3,4	3,5

Equipamento FLASH EA 1112 Séries CHNS-O ANALYSER – Thermo Eletronic Corporation.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Neste projeto de pesquisa, foram atingidos os objetivos pré-estabelecidos, em razão de demandas apresentadas pelos produtores de aguardente de cana. As informações geradas e divulgadas propiciarão aos produtores conhecimentos para a melhoria na qualidade do produto, o que vem ao encontro dos vários seguimentos da cadeia produtiva de aguardente de cana brasileira e especificamente do Estado de Minas Gerais.

## ANEXO GERAL

**TABELA 1.** Resultados das análises físico-químicas e cromatográficas das amostras de aguardentes de cana.

Amostra	Densidade	Gradação alcoólica	Cobre	Ac. volátil	Alcoóis Sup.	Aldeídos	Ésteres total	Metanol	Furfural	Soma Comp. Sec.	CE	Acroleína
1	0,94924	40,33	0,357	27,076	250,724	16,970	23,140	0,018	0,296	318,226	440	3,708
2	0,9568	35,38	3,663	83,776	192,246	24,577	82,901	0,009	1,306	384,816	48	0,18
3	0,95084	45,03	0,368	147,235	100,522	7,599	92,768	0,007	18,17	366,303	960	2,273
4	0,94973	42,45	1,511	91,872	217,409	9,250	78,515	0,008	3,538	400,595	500	1,70
5	0,9508	39,34	1,273	83,274	231,366	10,837	46,315	0,007	1,423	373,224	70	0,296
6	0,9345	48,63	3,723	48,118	131,249	5,537	26,501	0,002	1,03	212,439	52	0,241
7	0,94509	42,86	1,042	50,956	264,046	10,209	40,489	0,001	0,827	366,529	150	0,264
8	0,94811	45,87	4,651	85,022	207,167	16,143	58,973	0,003	0,265	367,576	360	1,696
9	0,9419	44,63	4,248	87,385	178,125	8,170	76,622	0,001	2,717	353,022	580	2,056
10	0,9469	41,75	4,614	136,383	139,631	15,721	95,356	0,003	1,7	388,795	880	17,537
11	0,95194	41,87	1,648	65,201	215,985	9,647	59,731	0,002	1,41	351,978	700	0,187
12	0,94645	46,92	0,128	106,393	175,027	11,597	89,200	0,003	20,2	402,423	130	4,417
13	0,94772	42,13	7,209	172,181	169,202	9,546	145,566	0,009	3,69	500,196	160	2,719
14	0,9467	41,8	0,206	41,052	204,151	9,486	85,052	0,009	3,1	342,852	100	7,898
15	0,93122	48,16	4,761	51,827	280,837	14,115	76,588	0,009	0,28	423,658	350	0,023
16	0,92922	49,09	8,585	54,023	242,400	39,928	91,432	0,031	0,32	428,136	140	1,02
17	0,93376	47,6	1,994	27,857	222,583	19,280	26,141	0,028	0,34	296,229	180	0,060
18	0,93568	43,39	2,044	127,633	357,836	12,403	60,427	0,028	2,58	560,909	100	0,338

...continua...

“TABELA 1A, Cont.”

19	0,9456	42,15	1,751	102,897	318,152	6,806	57,578	0,029	2,03	487,493	140	0,253
20	0,9423	44,35	2,972	160,045	377,457	9,963	79,160	0,033	1,83	628,488	200	0,402
21	0,9471	41,52	4,086	86,416	168,425	24,832	44,953	0,018	0,54	325,185	800	17,981
22	0,9448	42,9	1,678	72,727	227,207	12,280	64,225	0,026	2,21	378,677	570	0,567
23	0,94611	42,2	5,976	92,417	207,908	22,149	30,539	0,020	0,42	353,455	140	0,118
24	0,93625	47,75	1,418	39,204	244,113	12,457	43,741	0,018	0,44	339,975	710	0,764
25	0,9449	42,84	8,389	101,960	144,620	19,438	39,419	0,017	1,5	306,956	980	0,201
26	0,9496	40,05	1,714	60,374	225,521	11,457	46,603	0,051	1,17	345,178	190	0,860
27	0,9375	47,5	3,895	88,673	221,405	14,907	63,619	0,017	0,79	389,414	270	11,255
28	0,9388	46,29	2,083	62,346	249,188	17,010	63,362	0,010	0,28	392,197	50	2,476
29	0,9414	44,83	1,153	62,636	206,210	11,246	70,382	0,012	1,87	352,358	560	2,440
30	0,9471	42,16	2,538	120,256	190,084	9,653	66,407	0,013	1,44	387,854	190	0,272
31	0,9272	52,21	2,004	35,855	167,538	20,858	49,368	0,017	0,18	273,818	620	0,0
32	0,9436	43,6	2,999	17,889	347,528	89,816	20,385	0,018	0,4	476,038	170	0,0
33	0,9519	38,6	4,665	20,207	220,171	70,924	25,328	0,015	0,29	336,936	80	0,0
34	0,9551	36,47	19,400	192,486	147,553	11,075	146,224	0,013	3,57	500,923	35	0,489
35	0,9466	41,82	3,709	74,605	195,904	9,121	57,383	0,014	1,12	338,149	55	0,020
36	0,9553	36,32	2,620	34,361	179,387	21,624	41,601	0,025	5,21	282,210	60	0,680
37	0,9525	38,24	1,021	32,635	218,262	16,577	36,026	0,025	1,75	305,277	50	0,234
38	0,9428	44,04	3,047	38,964	247,013	11,209	35,317	0,020	1,32	333,846	80	0,246
39	0,94611	42,23	4,819	84,963	224,760	13,948	77,872	0,015	0,52	402,080	45	0,195
40	0,94827	40,96	17,551	188,525	111,534	15,476	142,129	0,015	2,19	459,871	70	0,378
41	0,9575	34,85	4,534	53,715	253,961	9,658	59,933	0,023	2,05	379,342	50	0,340
42	0,9521	38,42	0,821	148,204	176,053	8,176	113,355	0,019	2,44	448,249	80	2,021
43	0,9353	48,28	4,863	61,191	209,323	15,919	49,705	0,021	0,82	337,181	80	1,576
44	0,95303	37,94	4,355	51,396	355,051	1,490	28,668	0,023	1,14	437,770	55	0,175
45	0,9567	35,38	3,848	127,868	188,430	8,394	64,669	0,034	4,96	394,357	48,6	0,797

...continua...

“TABELA 1A, Cont.”

46	0,9451	42,77	3,177	111,246	260,677	4,115	54,565	0,672	4,04	435,316	22,6	0,373
47	0,95163	38,84	5,110	96,395	192,529	9,487	75,402	0,036	2,98	376,832	54,9	0,669
48	0,95702	35,25	6,667	112,851	182,876	14,510	67,504	0,015	3,63	381,387	55,3	0,461
49	0,95392	37,29	9,104	125,502	212,534	4,719	85,899	0,024	2,61	431,291	44,2	2,792
50	0,95179	38,73	8,289	142,989	167,196	9,940	51,986	0,013	3,7	375,827	53,4	0,441
51	0,95702	35,2	4,004	159,545	155,157	16,406	157,300	0,034	3,87	492,313	55,4	0,394
52	0,94892	40,54	5,195	30,784	147,110	20,621	38,377	0,030	0,6	237,524	42,1	0,102
53	0,94175	44,67	5,189	52,384	178,569	17,114	36,878	0,051	1,27	286,267	47,3	0,189
54	0,95257	38,21	0,967	93,902	206,051	9,931	61,676	0,079	1,45	373,090	65,5	1,861
55	0,95179	38,74	1,935	102,684	159,511	14,481	63,171	0,159	1,24	341,248	62,4	0,639
56	0,95027	39,64	1,856	27,547	289,831	9,851	24,009	0,159	1,85	353,249	57	0,255
57	0,94962	40,04	2,891	68,181	214,236	4,903	71,653	0,228	1,67	360,874	65	0,350
58	0,94835	40,81	2,673	49,693	205,683	8,086	40,366	0,031	0,6	304,461	67	0,126
59	0,94973	40	2,049	37,762	263,966	14,866	37,389	0,177	0,33	354,491	59,9	25,971
60	0,96062	32,62	1,998	26,302	308,596	15,174	28,056	0,037	1,74	379,908	40,7	0,0
61	0,95265	38,16	1,021	52,122	185,550	13,115	48,220	0,088	1,83	300,927	73	0,374
62	0,94973	40	2,013	37,765	267,248	14,866	38,522	0,174	0,51	359,083	65	2,51
63	0,95394	41,62	3,829	37,481	238,538	17,366	43,978	0,022	0,001	337,390	49,7	0,034
64	0,95355	37,37	3,307	133,583	183,822	7,358	78,368	0,021	0,95	404,104	41,8	0,129
65	0,93983	45,82	4,195	40,855	228,241	20,285	19,973	0,039	0,1	309,496	30,9	4,106
66	0,94685	41,73	3,118	108,411	154,450	19,374	118,429	0,041	5,73	406,437	33,1	1,894
67	0,94993	39,84	7,112	255,150	137,642	13,667	188,369	0,046	5,05	569,926	25,1	3,57
68	0,94153	44,93	4,162	128,466	162,905	16,770	132,401	0,036	3,03	443,610	38,4	1,405
69	0,94618	42,13	7,075	87,016	206,404	16,971	62,997	0,048	0,7	374,137	46,4	18,392
70	0,94775	41,18	6,915	193,200	171,004	19,633	161,126	0,040	1,8	546,805	63	5,893
71	0,94745	41,37	1,946	17,768	324,431	44,749	30,375	0,169	0,05	417,544	60,1	0,0

Unidades: Conforme Tabela 2, Capítulo I.