

**TEORES DE CARBAMATO DE ETILA E  
OUTROS COMPONENTES SECUNDÁRIOS  
EM DIFERENTES AGUARDENTES  
PRODUZIDAS EM MINAS GERAIS**

**LUCIENE VIANA FERREIRA BARCELOS**

**2006**

**LUCIENE VIANA FERREIRA BARCELOS**

**TEORES DE CARBAMATO DE ETILA E OUTROS COMPONENTES  
SECUNDÁRIOS EM DIFERENTES AGUARDENTES PRODUZIDAS EM  
MINAS GERAIS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de  
Lavras como parte das exigências do Programa de  
Pós-graduação “Stricto Sensu” em Ciência dos  
Alimentos, para a obtenção do título de “Mestre”.

Orientadora

Profa. Dra. Maria das Graças Cardoso

LAVRAS  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2006

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

Barcelos, Luciene Viana Ferreira.

**Teores de carbamato de etila e outros congêneres em  
diferentes aguardentes produzidas em minas gerais.** -- Lavras :  
UFLA, 2006. 63p. : il.

Orientadora: Maria das Graças Cardoso.  
Dissertação (Mestrado) - UFLA.  
Bibliografia.

1. Aguardente. 2. Característica físico-química. 3. Carbamato de etila.  
I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-663.53

**LUCIENE VIANA FERREIRA BARCELOS**

**TEORES DE CARBAMATO DE ETILA E OUTROS COMPONENTES  
SECUNDÁRIOS EM DIFERENTES AGUARDENTES PRODUZIDAS EM  
MINAS GERAIS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de  
Lavras como parte das exigências do Programa de  
Pós-graduação “Stricto Sensu” em Ciência dos  
Alimentos, para a obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 22 de fevereiro de 2006

Prof. Dr. Luiz Antônio de Bastos Andrade UFLA

Prof. Dra. Adelir Aparecida Saczk UFLA

Prof. Dr. Carlos José Pimenta UFLA

Profa. Dra. Maria das Graças Cardoso

UFLA

(Orientadora)

LAVRAS

MINAS GERAIS – BRASIL

Ao meu esposo, Julliano, pelo incentivo, apoio e muita torcida pelo meu sucesso,

**OFEREÇO**

À minha filha, Rafaella, pelo carinho, apoio e compreensão.

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

A DEUS, pelo dom da vida e por mais essa vitória.

À minha família, que sempre apoiou e acreditou em mim.

A minha orientadora, Dra. Maria das Graças Cardoso, pela orientação, amizade, confiança e profissionalismo, minha eterna gratidão.

Ao co-orientador, Dr. Walcleé de Carvalho Melo, pela amizade e colaboração no trabalho.

Ao Prof. Dr. Douglas Wagner Franco, pela grande colaboração na realização da parte experimental deste trabalho no que se refere às análises de carbamato de etila.

Ao Programa de Pós-Graduação, aos professores e funcionários do Departamento de Ciência dos Alimentos.

Aos professores, técnicos e alunos do Departamento de Química da UFLA, pela oportunidade de realização da pesquisa.

Aos colegas e amigos do laboratório, José Masson, Fabiane, Jeancarlo e Cleuza, pela boa convivência e auxílio na condução dos experimentos.

Ao amigo Fernando, pela fundamental colaboração na execução das análises e, principalmente, pelo companheirismo e dedicação.

Aos demais colegas, Rafaela, Vanisse, Flávio, Alcilene, Luis Gustavo, Lidiany, Stefânia, Milene, Luciana, Juliana, Fabiana, Ana Paula e Nilmar, pela amizade fortalecida.

Em especial, minha gratidão aos produtores de cachaça do estado de Minas Gerais, pelo fornecimento das amostras.

A todos que colaboraram, direta e indiretamente, para a realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	<b>i</b>
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	<b>ii</b>
<b>LISTA DE SIGLAS</b> .....	<b>iii</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>v</b>
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>3</b>
2.1 Aguardente.....	3
2.2 Caracterização da aguardente e da cachaça .....	4
2.3 Aspectos de identidade e qualidade da aguardente.....	5
2.4 Processo de produção da aguardente .....	9
2.4.1 Matéria-prima .....	11
2.4.2 Fermentação e destilação .....	12
2.4.3 Componentes secundários da aguardente .....	15
2.4.3.1 Carbamato de etila .....	20
2.4.3.2 Ocorrência e legislação do carbamato de etila.....	21
2.4.3.3 Formação do carbamato de etila .....	23
2.4.3.3 Toxicidade do carbamato de etila .....	28
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>29</b>
3.1 Análises físico-químicas .....	29
3.2 Análises cromatográficas .....	32
3.3 Análises estatísticas .....	33
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>34</b>
4.1 Grau alcoólico.....	34
4.2 Acidez volátil.....	35

4.3 Álcool superior .....	36
4.4 Aldeídos .....	37
4.5 Ésteres .....	38
4.6 Metanol .....	39
4.7 Furfural .....	40
4.8 Cobre.....	42
4.9 Carbamato de etila .....	43
<b>5 CONCLUSÕES.....</b>	<b>45</b>
<b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>46</b>
<b>7 ANEXOS.....</b>	<b>53</b>

## LISTA DE TABELAS

		<b>Página</b>
TABELA 1	Padrões de identidades da aguardente de cana-de-açúcar (Brasil, 1974).....	06
TABELA 2	Padrões de identidade da aguardente de cana-de-açúcar e cachaça (Brasil, 2005b).....	08
TABELA 3	Teores de carbamato de etila encontrados em alimentos fermentados .....	22
TABELA 4	Limites estipulados pelo Canadá para teores de carbamato de etila encontrados em bebidas alcoólicas.....	22
TABELA 5	Média dos teores de grau alcoólico nas aguardentes das regiões analisadas.....	34
TABELA 6	Média dos teores de acidez volátil nas aguardentes das regiões analisadas.....	35
TABELA 7	Média das concentrações de álcool superior nas aguardentes das regiões analisadas.....	36
TABELA 8	Média das concentrações de aldeídos nas aguardentes das regiões analisadas.....	38
TABELA 9	Média das concentrações de ésteres nas aguardentes das regiões analisadas.....	39
TABELA 10	Média das concentrações de metanol nas aguardentes das regiões analisadas.....	40
TABELA 11	Média das concentrações de furfural nas aguardentes das regiões analisadas.....	41
TABELA 12	Média das concentrações de cobre nas aguardentes das regiões analisadas.....	42
TABELA 13	Média das concentrações de carbamato de etila nas aguardentes das regiões analisadas.....	43

## LISTA DE FIGURAS

	<b>Página</b>
FIGURA 1 Fluxograma de produção da aguardente de cana.....	10
FIGURA 2 Estrutura do furfural.....	17
FIGURA 3 Estrutura do 5-hidroximetilfurfural (HMF).....	17
FIGURA 4 Estrutura química do carbamato de etila .....	20

## LISTA DE SIGLAS

°GL	Grau Gay-Lussac (% v/v)
FDA	Food And Drug Administration
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
ABRABE	Associação Brasileira de Bebidas
LAFQA	Laboratório de Análises Físico-Químicas de Aguardente
DQI	Departamento de Química

## RESUMO

Barcelos, Luciene Viana Ferreira. **Teores de carbamato de etila e outros componentes secundários em diferentes aguardentes produzidas em Minas Gerais.** 2006. 63 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras – MG.\*

Minas Gerais é considerado o estado com maior produção de aguardente artesanal e seus produtores estão buscando, cada vez mais, novas tecnologias e ferramentas para tornar seu produto mais competitivo no mercado. Paralelamente a este esforço, pesquisas têm sido realizadas para contribuir para este avanço. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade de aguardentes de três diferentes regiões do estado de Minas Gerais. Foram avaliadas as concentrações de carbamato de etila e outros componentes como grau alcoólico, acidez volátil, álcool superior, aldeídos, ésteres, metanol, furfural e cobre. As amostras de aguardentes foram analisadas segundo os padrões de identidade e qualidade estabelecidos pela legislação vigente no Brasil. As análises físico-químicas foram realizadas no Laboratório de Análise Físico-Química de Aguardente (LAFQA/DQI) da Universidade Federal de Lavras. Os teores de carbamato de etila foram determinados por cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas e foi realizada no Laboratório de Química da Aguardente, Instituto de São Carlos, Universidade de São Paulo. As concentrações de carbamato de etila variaram de amostra para amostra e de região para região. Os valores obtidos variaram de não detectado a 643,5 µg/L, com apenas uma região não atendendo à legislação vigente (150 µg/L). Entretanto, novos trabalhos envolvendo um maior número de amostras devem ser conduzidos na região. A maioria dos componentes das aguardentes estudadas apresentaram-se dentro dos limites determinados pela legislação vigente.

---

\* Comitê Orientador: Maria das Graças Cardoso – UFLA (Orientadora); Walclée de Carvalho Melo – UFLA (Co-orientador).

## ABSTRACT

BARCELOS, Luciene Viana Ferreira. **Carbamate ethyl substance and other subsidiary compounds in different spirits produced in Minas Gerais.** 2006. 63p. Dissertation (Master in Food Science) – Federal University of Lavras – Minas Gerais, Brazil.\*

Minas Gerais is considered the most productive state of artisanal spirits, its manufacturers are seeking more and more new implements and technologies to make their product more suitable to the market. Similarly, researches have been carried out aiming contribute to this progress. Thus, this work had as a goal, to evaluate the quality of spirits in three different regions in Minas Gerais state. It was analyzed the carbamate ethyl concentrations and other compounds, as wellas, alcoholic degree, volatile acidity, superior alcohol, aldehyde, steres, methanol, furfural and copper. The samples of spirits were analyzed according the patterns of identily and quality established by the legislation in Brazil. The physic chemical analyses were carried out at the physic chemical analysis laboratory of spirits (LAFQA/DQI) at Federal University of Lavras. The carbamate ethyl substances were determined by gaz chromatography coupled to spectrometer of masses and performed in the chemical larb of spirits, São Carlos institute, São Paulo university. The concentrations of carbamate ethyl varied frou one sample to another and from a region to another. The values obtained varied from non detected at  $643,5 \mu\text{gL}^{-1}$ , with only one region not following the legislation ( $150 \mu\text{gL}^{-1}$ ). However further studies with several samples should be carried out in the region. Most of compounds of the studied spirits were present into the limits established by the legislation.

---

\* Guidance Committer: Maria das Graças Cardoso - UFLA (adviser); Walclée de Carvalho Melo – UFLA (co-adviser).

## 1 INTRODUÇÃO

A aguardente, bebida genuinamente brasileira produzida praticamente em todo o país, é a terceira bebida destilada mais consumida no mundo e a primeira no Brasil, segundo Associação Brasileira de Bebidas - ABRABE (2005)\*.

Os produtores, motivados pela competição na conquista do mercado interno e externo, estão procurando, cada vez mais, agregar valor ao produto, obter reconhecimento internacional e aumentar as exportações. São vários os países que adquirem o produto brasileiro, tendo a Alemanha, Portugal e os Estados Unidos sido os que mais importaram aguardente do Brasil em 2004.

Como a aguardente está no ranking das melhores bebidas e de grande aceitação no mercado nacional e internacional, a necessidade de se conhecer a composição físico-química, tanto inorgânica (metais e outros), como orgânica (componentes secundários), é muito importante.

Entre os componentes secundários, o carbamato de etila (CE) vem sendo largamente estudado. É um carcinogênico encontrado naturalmente em baixas concentrações em diferentes bebidas alcoólicas e em alguns alimentos fermentados. Por isso, faz-se necessário o conhecimento dos níveis de sua ocorrência, pois, além dos aspectos ligados à saúde pública, sua presença em concentrações superiores a  $0,150 \text{ mgL}^{-1}$  constitui também uma barreira para exportação (Lima-Neto e Franco, 1994).

Estudos vêm sendo realizados para conhecer a origem e a influência deste composto na qualidade da bebida, além do desenvolvimento de técnicas para sua quantificação e controle. Sendo assim, o presente trabalho objetivou avaliar a qualidade de aguardentes de três regiões do estado de Minas Gerais,

---

\* Associação Brasileira de Bebidas-ABRABE, 2005. Comunicação Pessoal, 2005.

quais sejam, Zona da Mata, Sul de Minas e Vale do Jequitinhonha, comparando-se os teores de carbamato de etila e outros componentes secundários, de região para região.

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 Aguardente**

No Brasil, a produção de aguardente a partir de cana-de-açúcar, conhecida como cachaça, remonta ao período da colonização, confundindo-se com a própria história do nosso país. Segundo fontes documentais dos anos de 1762 e 1817, eram obtidos dois tipos de bebida destilada; uma provinha do caldo de cana fermentado e se chamava aguardente de cana e a outra era obtida a partir do que restava nas caldeiras dos engenhos e era chamada aguardente de mel ou cachaça (Zeron, 2000).

A produção de aguardente é de 1,3 bilhão de litros por ano. Existem, atualmente, mais de 5 mil marcas registradas e cerca de 30 mil produtores em todo o país. Segundo Moraes (2001), 70% da aguardente é consumida pura no Brasil. As exportações representam apenas 1% da produção total e os principais países importadores são Alemanha, Portugal e Estados Unidos. Em 2003, a exportação foi de 5,2 milhões de litros da bebida e, em 2004, aumentou para 10,2 milhões de litros (Brasil, 2005a).

Atualmente, o mercado mundial e também o brasileiro de melhor poder aquisitivo estão ávidos por produtos denominados “naturais”. O produto artesanal tem maior apelo comercial, permitindo ao micro, pequeno e médio produtor a chance de atingir um público consumidor de aguardente mais refinado e exigente. Este se distingue da parcela de consumidores tradicionais de aguardentes industrializadas, por consumirem o produto sem misturas, reverenciando a importância de seu paladar, sendo imprescindível, portanto, que ele apresente qualidade.

O aumento do consumo de aguardente e a possibilidade de exportação exigem que o processo de fabricação dessa bebida seja baseado em práticas criteriosamente determinadas, para a obtenção de um produto padronizado e com qualidade comprovada, nos aspectos físico-químicos e sensoriais (Azevedo et al., 2003).

O mercado consumidor está cada vez mais exigente, pois a produção de aguardente no Brasil está buscando uma imagem fortemente vinculada à qualidade da bebida. Os pequenos e médios produtores estão colocando no mercado aguardentes de qualidade, agregando valor ao seu produto, objetivando abrir espaço para os consumidores diferenciados e exportação do produto.

## **2.2 Caracterização da aguardente e da cachaça**

A aguardente é a segunda bebida alcoólica mais consumida no Brasil, perdendo apenas para a cerveja. O estado de São Paulo é o maior produtor de aguardente industrial, mas o de Minas Gerais, o quinto produtor nacional, é o mais especializado na produção de aguardente artesanal, obtida, principalmente, em pequenos alambiques (Azevedo et al., 2003).

Aguardente de cana é a bebida que possui uma graduação alcoólica de 38% a 54% em volume, a 20°C, obtida de destilado simples de cana-de-açúcar (*Saccharum spp*), ou pela destilação do mosto fermentado de cana-de-açúcar, podendo ser adicionada de açúcares até 6 g L<sup>-1</sup>. A aguardente de cana envelhecida refere-se à bebida que contiver, no mínimo, 50% de aguardente de cana envelhecida em recipiente de madeira apropriado, com capacidade máxima de 700 litros, por um período não inferior a um ano (Brasil, 2005b).

Cachaça é a denominação típica e exclusiva da aguardente de cana produzida no Brasil com graduação alcoólica de 38% a 48% em volume, a 20°C

e com características sensoriais peculiares, podendo ser adicionada de açúcares até 6 g L<sup>-1</sup> (Brasil, 2002).

A aguardente de cana-de-açúcar é dividida em dois tipos principais: a caninha industrial, produzida em larga escala em colunas de destilação contínua, por grandes indústrias de destilação e a aguardente artesanal, destilada em menor volume em alambiques localizados em propriedades rurais. A maior fatia da produção nacional é a da caninha industrial. A aguardente tradicional e artesanal ocupa um espaço que não chega a 20% da produção total de aguardentes no Brasil (Sebrae, 2001).

### **2.3 Aspectos de identidade e qualidade da aguardente**

A avaliação da aguardente é feita baseando-se na legislação brasileira (BRASIL, 1974), devendo atender os padrões de identidade e qualidade descrito na Tabela 1.

O teor alcoólico deve ser entre 38% a 54% v/v, à temperatura de 20°C como padrão; a soma dos componentes voláteis (aldeídos, ácidos, ésteres e álcoois superiores) não pode ser inferior a 200 mg/100mL de álcool anidro.

É possível encontrar na aguardente a presença de açúcares, principalmente a sacarose. Salienta-se, portanto, que a aguardente normal ou natural não tem açúcar, sendo adicionado após a destilação, no ato do engarrafamento. A aguardente que contiver açúcar superior a 6,0 gL<sup>-1</sup> terá sua denominação acrescida da expressão adoçada (Ribeiro, 2002).

**TABELA 1.** Padrões de identidade da aguardente de cana-de-açúcar (Brasil, 1974).

Componente	Unidade	Limite	
		Mínimo	Máximo
Graduação alcoólica	% em volume de álcool etílico a 20 °C	38	54
Sacarose, em açúcar refinado, cristal, invertido ou glicose	gL <sup>-1</sup>	6,0	30,0
Acidez volátil, em ácido acético	mg/100 mL álcool anidro	-	150,0
Ésteres, em acetato de etila	mg/100 mL álcool anidro	-	200,0
Aldeídos, em aldeído acético	mg/100 mL álcool anidro	-	30,0
Furfural	mg/100 mL álcool anidro	-	5,0
Álcoois superiores	mg/100 mL álcool anidro	-	300,0
Congêneres *	mg/100 mL álcool anidro	200,0	650,0
Álcool metílico	mg/100 mL álcool anidro	-	20,0
Cobre	mgL <sup>-1</sup>	-	5,0
Extrato seco	gL <sup>-1</sup>	-	6,0 **
Partículas em suspensão (resíduo sólido de qualquer espécie)	-	ausentes	ausentes

\*Congêneres = (acidez volátil + ésteres + aldeídos + furfural + álcoois superiores)

\*\*Aguardente de cana “adoçada” = máximo 30,0 gL<sup>-1</sup>

De acordo com a Instrução Normativa nº 13, de 30 de junho de 2005 (Brasil 2005 b), a concentração máxima de álcoois superiores permitida é de 360mg 100 mL<sup>-1</sup> de álcool anidro, e não mais 300 mg 100 mL<sup>-1</sup>, favorecendo a

conformidade de aguardentes anteriormente consideradas fora dos padrões legais do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA).

Atualmente, a cachaça deve atender aos requisitos descritos na Tabela 2.

Segundo 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 brasileira.

Uma boa aguardente não deve possuir, em sua composição, teores não permitidos de substâncias que possam ser nocivas ao consumidor, mesmo quando estas não prejudiquem as propriedades sensoriais da bebida (cor, aroma e sabor). Assim, ela deve ser submetida aos controles de qualidade químico e sensorial. Uma bebida quimicamente aprovada, mas cujos atributos sensoriais não agradem ao consumidor, estará fadada ao insucesso. Por outro lado, uma bebida de excelente qualidade sensorial pode apresentar em sua composição substâncias indesejáveis, em teores elevados, e não serem detectados pelo apreciador (Isique et al., 2002).

**TABELA 2.** Padrões de identidade da aguardente de cana-de-açúcar e da cachaça (Brasil, 2005b).

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

\* Álcoois superiores = (isobutílico + propílico)

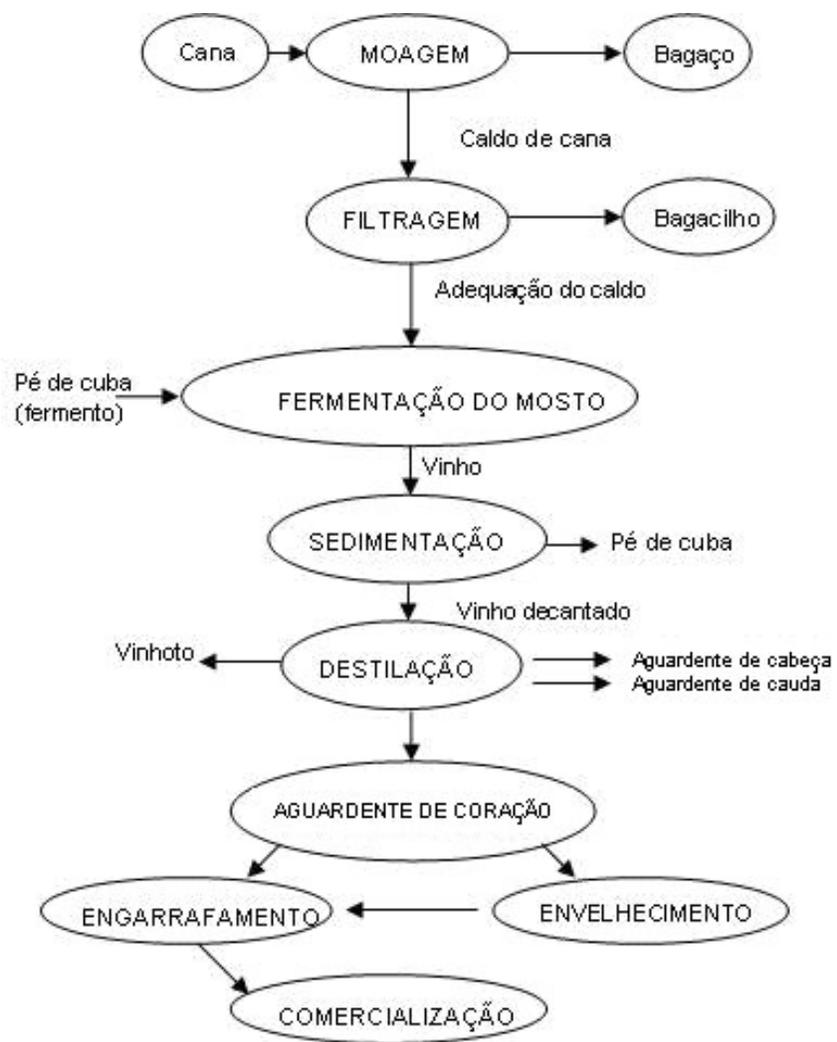
\*\* Congêneres = (acidez volátil + ésteres + aldeídos + furfural + álcoois superiores)

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

## **2.4 Processo de produção da aguardente**

A produção de aguardente inicia-se com a obtenção do caldo de cana, pela trituração da cana nas moendas. Após a moagem, o caldo é filtrado e decantado para retirada das impurezas (Cardoso, 2001). Este é, então, levado ao processo de fermentação por batelada e inoculação por corte, que consiste na inoculação de uma dorna com o fermento e, quando a fermentação atinge um estágio apropriado, transfere-se metade do conteúdo para uma dorna vazia (corte de dorna). Em seguida, completa-se o volume das duas dornas com o caldo a ser fermentado (Aquarone et al., 1983). Este é o método mais utilizado pelos produtores de aguardente artesanal.

O fluxograma representado na Figura 1 ilustra, de maneira simplificada, todo o processo de produção da aguardente de cana.



**FIGURA 1.** Fluxograma de produção da aguardente de cana.

### 2.4.1 Matéria-prima

A cana-de-açúcar, uma das gramíneas mais cultivadas nas regiões tropicais e subtropicais é pertencente à classe das monocotiledôneas, família Poaceae (Gramineae), gênero *Saccharum* e espécie *Saccharum spp.* O nome 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, resultantes de cruzamentos entre diferentes espécies de plantas (atualmente, conhecidas e catalogadas, existem trinta espécies). As principais espécies conhecidas têm origem na Oceania (Nova Guiné) e Ásia (Índia e China) (Andrade, 2001).

O Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar do mundo, com uma área plantada de aproximadamente 5 milhões de hectares. Os principais estados produtores são São Paulo, Alagoas, Paraná, Pernambuco e Minas Gerais, responsáveis por 80% da produção nacional. A produtividade brasileira média está em torno de  $68,5 \text{ t x ha}^{-1}$ , e São Paulo deteu o maior índice médio, que é de  $82 \text{ t x ha}^{-1}$  (Única, 2004). A produtividade média do país gira em torno de  $78,0 \text{ t ha}^{-1}$  (Agrianual, 2005).

Dados de FNP (2004) indicam que a safra de cana-de-açúcar de 2004/2005 foi de 387,2 milhões de toneladas e a estimativa para 2005/2006 é de 398,8 milhões de toneladas, ou seja, um aumento de 2,9%. A previsão da produção da safra de 2013/2014 é de 547 milhões de toneladas, permanecendo concentrada na região Centro-Sul.

Novaes (1995) afirma e descreve que não há variedades de cana que sejam específicas à produção de aguardente, pois as pequenas diferenças na sua composição físico-química muito provavelmente não teriam qualquer influência na qualidade final da bebida. Segundo este autor, as variedades de cana devem ser adaptadas às condições edafoclimáticas da região onde se encontra instalada

a unidade industrial, com a finalidade de apresentar elevada produtividade de açúcar por área.

Andrade et al. (2002) recomendam que as mudas devem ser adquiridas, preferencialmente, de viveiros de usinas e destilarias, instituições de pesquisa ou ensino na área de Ciências Agrárias, a fim de se plantar um material sadio, de alto vigor e pureza varietal. Na impossibilidade, devem-se retirar mudas dos canaviais de primeiro corte, bem desenvolvidos e sadios.

De acordo com Brieger (1968), a cana-de-açúcar deve ser colhida e industrializada quando atingir teores mínimos de açúcares, suficiente para permitir a sua extração e transformação em produtos comerciais, como a aguardente e outros. Novaes (1997) relata que a matéria-prima destinada à produção de aguardente com boas características sensoriais deve ser de excelente qualidade, estar no ponto de maturação, apresentar boas condições fitossanitárias, sem deterioração, não passar pela queima no campo e, se possível, não ter contato com o solo após o corte.

#### **2.4.2 Fermentação e destilação**

São vários os fatores que interferem na qualidade das bebidas alcoólicas destiladas, tais como matéria-prima, fermentação, método de condução do processo fermentativo, destilação, envelhecimento, etc. No entanto, as leveduras e as condições de fermentação têm sido apontadas como os fatores que mais influenciam no sabor das bebidas alcoólicas (Suomailainen & Lehtonen, 1979; Lehtonen & Jounela-Ericksson, 1983).

Segundo Gutierrez (1993), no processo de produção de aguardente, é na etapa da fermentação alcoólica que são produzidos os principais componentes químicos da bebida, pela ação direta ou indireta da levedura e de outros microrganismos atuantes nesta fase. O processo fermentativo consiste,

basicamente, no desdobramento dos açúcares do mosto, com formação, principalmente, de álcool etílico e gás carbônico, além dos produtos secundários, que são formados em menores quantidades. Dentre os compostos secundários estão metanol, aldeídos, ácidos orgânicos, ésteres e álcoois superiores, alguns destes responsáveis pelo aroma e sabor da aguardente.

A levedura, nas condições anaeróbicas, metaboliza os açúcares do mosto transformando-os em álcool etílico, gás carbônico e pequenas quantidades de glicerol, ácido succínico, entre outros compostos. Se houver contaminação bacteriana, os açúcares podem resultar em ácidos carboxílicos (acético, fórmico, butírico e láctico), aldeídos e ésteres. Estes, além de causarem redução no rendimento alcoólico, provocam alterações nas propriedades sensoriais da aguardente, com conseqüente depreciação do produto (Yokoya, 1995; Schwan et al., 2001).

Após a fermentação, o mosto fermentado é levado à destilação em alambiques, cujo destilado apresenta uma composição química mais rica em compostos voláteis do que a fração líquida remanescente, obtendo-se uma aguardente de 38% a 54% v/v a 20°C de teor alcoólico.

Os aparelhos de destilação usados na obtenção de bebidas destiladas são, na maioria, construídos com cobre, metal bem maleável, bom condutor de calor, resistente ao desgaste físico, apresentando grande influência na formação de sabor e aroma do produto. As reações entre os congêneres e as superfícies de cobre do destilador são especialmente importantes. Estas são capazes de remover ou modificar muitos congêneres desagradáveis presentes. Acredita-se que o metal atue como catalisador de reações de oxi-redução, 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 a conseqüente remoção de sulfetos orgânicos e mercaptanas (Yokoya, 1995).

Pesquisas de Maia (1994) mostraram que, na destilação em batelada, ocorrida em alambique simples, distinguem-se, usualmente, três frações destiladas: o “destilado de cabeça”, correspondente às primeiras frações recolhidas na saída do alambique; o “destilado de coração”, que é a porção destilada correspondente à aguardente e o “destilado de cauda”, ou “água fraca”, que é a última porção destilada, obtida quando a destilação não é interrompida após a obtenção do destilado do coração. Segundo este mesmo autor, a qualidade da aguardente depende, fundamentalmente, da composição do vinho encaminhado à destilação, da geometria do alambique e da habilidade do operador para efetuar os cortes nos momentos adequados. É importante ressaltar que a fração mais volátil (cabeça) é freqüentemente separada das demais. Essa fração contém muitos compostos do aroma, sendo rica, principalmente, em acetaldeído, dióxido de enxofre e acetato de etila, compostos considerados como atribuidores de impacto sensorial negativo, bem como a presença do carbonato de cobre ( $\text{CuCO}_3$ ).

A aguardente de “coração” constitui a segunda porção da destilação, tendo como constituintes principais o etanol e os compostos secundários, que caracterizam a aguardente. Na última fração, encontram-se produtos menos voláteis que o álcool etílico, como ácidos graxos e álcoois superiores de cadeia longa, que devem permanecer no vinhoto (Cardoso, 2001).

Sabe-se que, após a destilação, a aguardente ainda não está pronta para o consumo, pois apresenta um buquê irregular. Há necessidade de um período de descanso de dois ou três meses para completar a sua qualidade, sendo guardada em recipientes apropriados, em local fresco protegido, evitando altas temperaturas (Chaves, 1998).

### 2.4.3 Componentes secundários da aguardente

Os principais componentes das bebidas destiladas são o etanol e a água, além de uma série de outros compostos voláteis, que destilam juntos. Apesar de representarem porcentagem bem menor do que os dois componentes maiores, aqueles conferem às diferentes aguardentes suas características peculiares, como aroma e sabor, os quais, juntamente com os componentes maiores, irão definir e caracterizar o chamado “flavour” da bebida. (Faria, 1989; Maia, 1994).

De acordo com a Instrução Normativa nº 13, de 30 de junho de 2005, (Brasil 2005b), foram definidas quantidades máximas permitidas de alguns contaminantes anteriormente não mencionados, como carbamato de etila ( $150 \mu\text{g L}^{-1}$ ), acroleína ( $5 \text{ mg } 100 \text{ mL}^{-1}$  de álcool anidro), álcool sec-butílico ( $10 \text{ mg } 100 \text{ mL}^{-1}$  de álcool anidro), álcool butílico ( $3 \text{ mg } 100\text{mL}^{-1}$  de álcool anidro), chumbo ( $200 \mu\text{g L}^{-1}$ ) e arsênio ( $100 \mu\text{g L}^{-1}$ ). O prazo máximo para adequação e controle dos contaminantes da aguardente, com início na data da publicação, é de 3 anos, com exceção do carbamato de etila, que é de 5 anos.

A acidez de uma aguardente, assim como todos os congêneres, é de grande importância, constituindo um fator de qualidade, uma vez que, durante sua produção, os ácidos reagem com os álcoois presentes, aumentando a formação dos ésteres. Estes são um dos constituintes responsáveis pelo aroma. O excesso de acidez promove sabor indesejado e ligeiramente “agressivo” em aguardente de cana, depreciando a qualidade da bebida (Cherubin, 1998).

Pesquisas de Nykänen & Nykänen (1991) relataram que os principais ácidos presentes em bebidas destiladas são fórmico, acético, propiônico, butírico, hexanóico, decanóico, láurico, mirístico e succínico. O ácido acético é quantitativamente predominante e sua concentração varia de 60% a 95% da acidez total. Este é um co-produto normal da fermentação alcoólica. A alta acidez presente em aguardentes pode ser atribuída à contaminação da cana ou do

próprio mosto fermentativo por bactérias acéticas e outras, seja no armazenamento da cana ou no próprio caldo de cana, fazendo com que parte do substrato sofra fermentação acética, elevando-se a acidez e diminuindo-se o rendimento na produção de etanol (Cardoso, 2001).

Durante a fermentação alcoólica, pequena parte do etanol reage intracelularmente com o ácido acético, formando acetato de etila. Da mesma forma, outros álcoois produzidos intracelularmente reagem, em parte, com o ácido acético, formando outros ésteres. O principal éster da aguardente é o acetato de etila, o qual, em pequenas concentrações, incorpora um aroma de frutas à bebida, que é desejável e agradável. Em quantidades excessivas, porém, confere aroma indesejável e enjoativo (Maia, 1994).

Os aldeídos são compostos resultantes da oxidação parcial ou desidrogenação de álcoois primários. Até oito átomos de carbono apresentam aromas penetrantes, geralmente enjoativos, considerados indesejáveis em bebidas destiladas. Acima de dez átomos de carbono, apresentam aroma agradável. (Maia, 1994).

Trabalhos de Nykänen (1986) relataram que a formação de aldeídos depende da levedura, assim como das condições de fermentação. De odor penetrante, afetam o aroma das bebidas alcoólicas. Entre os compostos carbonílicos, o acetaldeído é encontrado em maior quantidade nas bebidas alcoólicas, constituindo mais de 90% do conteúdo de aldeídos em uísque, conhaque e rum.

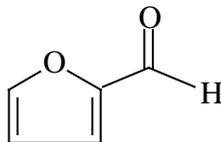
Outro aldeído importante presente em bebidas destiladas é a acroleína (2-propenal), formada pela desidratação do glicerol durante a destilação. Sua presença em aguardente de cana é indesejável devido ao seu forte odor pungente (Gutierrez, 1993, citado por Cherubin, 1998).

Segundo Cardoso (2001), o furfural e o 5-hidroximetilfurfural podem estar presentes no caldo de cana quando a colheita é precedida da queima da

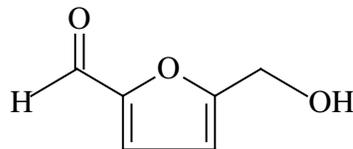
cana-de-açúcar. A queima provoca desidratação de uma fração dos açúcares presentes.

Recentemente, pesquisas de Masson (2005) relataram que a desidratação térmica dos açúcares é uma reação de grande relevância nos alimentos; são catalisadas por ácidos ou bases e muitas são de  $\beta$ -eliminação. As pentoses formam furfural (Figura 2) como principal produto de degradação, já as hexoses formam 5-hidroximetilfurfural (HMF) (Figura 3) e outros compostos.

Os álcoois superiores são compostos com mais de dois átomos de carbono formados durante o processo oxidativo e são vulgarmente conhecidos como óleo fúsel ou óleo de cana. Estes são provenientes, em grande parte, das transformações dos aminoácidos durante o processo de fermentação (Galhiane,1988).



**FIGURA 2.** Estrutura do furfural



**FIGURA 3.** Estrutura do 5-hidroximetilfurfural (HMF).

Com o aumento do número de átomos de carbonos, o aroma modifica-se e os álcoois tornam-se oleosos. Alguns deles lembram fortemente aroma de flores. Esse excesso de óleo diminui o valor comercial e a qualidade da aguardente (Maia, 1994).

Segundo Chaves & Pova (1992), os álcoois superiores devem acompanhar, proporcionalmente, os ésteres em uma bebida de boa qualidade. Em uma aguardente de ótima qualidade a relação álcoois superiores/ésteres se aproxima da unidade. A formação desses álcoois é maior quando a fermentação ocorre com leveduras de baixa atividade.

O metanol é um álcool particularmente indesejável na aguardente, originando-se da degradação da pectina, um polissacarídeo presente na cana-de-açúcar. A molécula de pectina é um composto formado pela associação de centenas de moléculas de ácido galacturônico, que possuem fragmentos de moléculas de metanol, as quais são liberadas durante o processo de fermentação (Cardoso, 2001). Deve-se evitar, na fermentação, a presença de sucos ou polpas de frutas ricas em pectina, como laranja, limão, maçã, abacaxi e outras (Potter, 1980; Windholz, 1976).

O metanol é altamente tóxico para o homem. Devido à menor velocidade de oxidação, a intoxicação pode ser precedida por um período latente e assintomático que pode durar de 8 à 36 horas. No organismo, o metanol é oxidado a ácido fórmico e, posteriormente, a  $\text{CO}_2$ , provocando acidose grave, o que faz com que ocorra a diminuição do pH sanguíneo, afetando o sistema respiratório, podendo levar ao coma e até à morte. (Cardoso, 2001).

O cobre é outro componente indesejável na aguardente. A presença deste metal se deve ao cobre utilizado na confecção do alambique. Acredita-se que este metal contribua com a não apresentação de determinados odores desagradáveis, observados em aguardentes destiladas em alambiques confeccionados com outros materiais como aço inox e vidro, onde o produto

final contém compostos sulfurados e a bebida resultante apresenta baixa qualidade organoléptica (Faria, 2003).

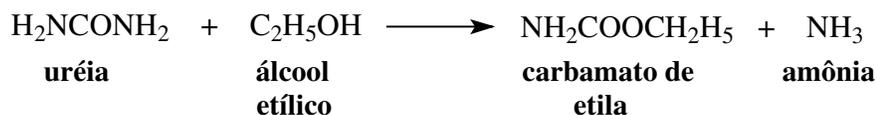
Os teores elevados de cobre indicam falta de higienização do alambique, principalmente durante as entressafras. Durante o processo de destilação forma-se o azinhavre (carbonato básico de cobre) na superfície do metal. Este é solubilizado pelos vapores ácidos produzidos durante a destilação e por arraste, levando à contaminação da bebida por íons cobre. A primeira destilação deve ser feita com água, de modo a eliminar todos os resíduos de cobre e ingredientes usados na limpeza (Lima Neto et al. 1994). Segundo Bizelli et al. (2000), alternativas como a bidestilação da aguardente, podem ser utilizadas, permitindo a redução dos teores de cobre na aguardente. De modo geral, uma assepsia criteriosa dos alambiques após o término diário do procedimento de alambicagem, quando bem feito, tende a reduzir consideravelmente os problemas de presença de cobre nas aguardentes.

O carbamato de etila (CE) é um carcinógeno encontrado naturalmente em baixas concentrações em diferentes bebidas alcoólicas e em alguns alimentos fermentados. Em bebidas destiladas, como aguardente de cana, são encontradas quantidades desde 5 até  $1.000\mu\text{gL}^{-1}$  e, ocasionalmente, excedem a  $1.000\mu\text{gL}^{-1}$  em alguns tipos de bebidas destiladas (Battaglia et al., 1990; Dennis et al., 1989; Ough, 1976a; Vahl, 1993; Zimmerli & Schlatter 1991).

Segundo Nagato et al. (2000), nas aguardentes de cana brasileiras foram encontradas quantidades muito elevadas de CE, variando desde  $100\mu\text{gL}^{-1}$  a  $1500\mu\text{g/L}$ , teores muito acima do limite estabelecido na legislação internacional.

### 2.4.3.1 Carbamato de etila

O carbamato de etila ( $\text{NH}_2\text{COOC}_2\text{H}_5$ ) (Figura 4), uretana ou etiluretana é o éster do ácido carbâmico e se apresenta na forma de cristal incolor, inodoro, de sabor salino refrescante e levemente amargo. Apresenta ponto de fusão entre  $48^\circ\text{C}$  e  $50^\circ\text{C}$ , ponto de ebulição entre  $182^\circ\text{C}$  e  $184^\circ\text{C}$  e peso molecular 89,09 g/mol (Merck, 2001). Inicialmente, foi muito utilizado como hipnótico, anestésico e também como co-solvente, em algumas sínteses de fármacos (Schlatter e Lutz, 1990). É muito solúvel em água, álcoois, éter, cetonas, ésteres e solventes clorados. A solução aquosa é neutra. Pode ser sintetizado por aquecimento de uréia com álcool etílico sob pressão (equação 1).

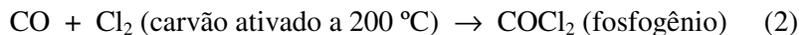


**EQUAÇÃO 1.** Preparação do carbamato de etila.

Industrialmente, é produzido a partir do fosfogênio, da uréia ou da cianamida. Utilizando-se fosfogênio, que é um gás altamente tóxico, o processo inicia-se com uma reação entre o monóxido de carbono e o cloro, conforme reações das equações 2, 3 e 4 (Morrisson & Boyd, 1992).



**FIGURA 4.** Estrutura química do carbamato de etila.



ou pela reação da uréia com etanol, conforme a equação 4 (Aresta et al., 2001).



#### **2.4.3.2 Ocorrência e legislação do carbamato de etila**

Os teores encontrados de carbamato de etila mais elevados estão associados às diversas bebidas alcoólicas. Excetuando-se o gim e a vodka, todas as outras bebidas destiladas apresentam valores de carbamato de etila muito mais altos do que em vinhos e em cervejas.

Pesquisas de Battaglia et al. (1990) encontraram valores elevados de carbamato de etila em aguardentes de frutas como cereja, damasco ou ameixa, variando desde 0,1 até 12,0mgL<sup>-1</sup>.

Em alimentos fermentados, foi detectada a presença de carbamato de etila, conforme alguns exemplos apresentados na Tabela 3. Ao contrário dos pesticidas da classe do carbamato, a presença de carbamato de etila em alimentos como pão, vinho, iogurte, queijo, cerveja e, principalmente, em bebidas alcoólicas, ocorre de forma natural (Ough, 1976 a e b).

Estudos realizados por Conacher et al. (1987) indicaram que, no ano de 1985, o FDA canadense chamou a atenção internacional para o carbamato de etila, pelo fato da sua presença em bebidas alcoólicas. Baseando-se nos fatos encontrados, a partir de então, foram fixados níveis de tolerância (Tabela 4) para a presença deste em alimentos e bebidas alcoólicas.

Posteriormente, Canas et al. (1994) relataram que os níveis de carbamato de etila diferem em cada tipo de bebida alcoólica. Estas instruções foram e têm sido utilizados como referência em outros países, que não têm uma legislação específica sobre este assunto. Contudo, a indústria alimentícia está, cada vez mais prestando atenção para manter o nível do carbamato de etila o mais baixo possível em seus produtos.

**TABELA 3.** Teores de carbamato de etila encontrados em alimentos fermentados.

<b>Produto</b>	<b>Nº de amostras</b>	<b>Faixa (<math>\mu\text{g mL}^{-1}</math>)</b>
Iogurtes	1	1
	9	<1
Molho de soja	1	4,4
	18	3-78
Pães	4	0,7-1,7
	9	<5
	22	1,2-2,9

Fonte: Conacher et al (1987).

**TABELA 4.** Limites estipulados pelo Canadá para teores de carbamato de etila em bebidas alcoólicas.

<b>Bebida</b>	<b>Limite (<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>
Vinhos de mesa	30
Vinhos fortificados	100
Bebidas destiladas	150
Licores de frutas	400

Fonte: Conacher et al (1987).

A comparação entre os teores de carbamato de etila em bebidas alcoólicas brasileiras com aqueles limites estabelecidos pelo Canadá é inevitável, em função de ser este o único país, até o momento, a possuir legislação sobre o assunto e ser considerado como referencial (Boscolo, 2002).

#### **2.4.3.3 Formação do carbamato de etila**

- **Ocorrência em vinhos**

O carbamato de etila é uma substância química que se forma naturalmente no vinho durante o processo de fermentação do suco de fruta.

Na verdade, ele pode ser formado por diferentes vias, dependendo da natureza do alimento a ser considerado e dos precursores disponíveis na matéria-prima ou que venham a ser disponibilizados (Zimmerli & Schlatter, 1991).

Pesquisas desenvolvidas por Muller e Fugelsang (1996) relataram que os principais precursores para formação de carbamato de etila em vinhos são a uréia, arginina e citrulina. Segundo estes autores, quando a uréia reage com o álcool etílico após a fermentação, há produção de carbamato de etila.

Trabalhos realizados por pesquisadores do *Food And Drug Administration* (FDA) revelaram que conhaques de frutas importados continham os níveis mais altos de carbamato de etila, oscilando um pouco menos do que 1200 ppb, seguido pelo saquê, com quase 300 ppb e, posteriormente, o Bourbon, com 150 ppb. Os vinhos produzidos a partir da uva apresentavam níveis de carbamato de etila em torno de 13 ppb, porém, os vinhos de sobremesa, tais como de cereja e de licores, apresentavam uma média de quase 15 ppb.

Para Ough (1976 a e b), diversas mudanças no cultivo da uva e na produção do vinho podem baixar os níveis do carbamato de etila. Vinhedos fortemente fertilizados tendem a produzir uvas que contêm altos níveis de

arginina, levando, assim, a níveis mais altos de uréia e, conseqüentemente, a um aumento de carbamato de etila.

A uréia é uma fonte de nitrogênio para as leveduras. No passado, era freqüentemente adicionada à dorna de fermentação, porém, atualmente sabe-se que não é aconselhável, pois este composto pode reagir com o etanol, produzindo carbamato de etila. Mesmo quando não adicionada, a uréia pode ser produzida durante o processo fermentativo, devido ao metabolismo das leveduras. Os aminoácidos são também possíveis precursores de carbamato de etila, como, por exemplo, a arginina, cuja degradação pelas leveduras produz ornitina e uréia. Portanto, a presença de aminoácidos também é indesejável no produto final (Polastro et al., 2001). Pesquisas de Field & Lang (1988) e de Tegmo-Larsson & Spittler, (1990) indicaram que os fatores que mais influenciam na formação do carbamato de etila em vinhos são luz, temperatura e pH.

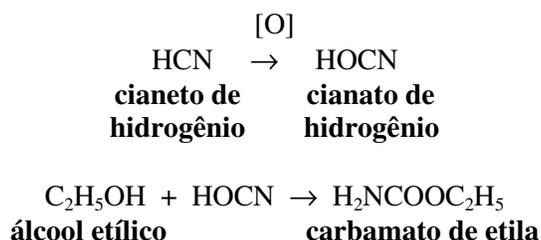
Pesquisas com vinho e aguardentes de frutas fermentadas indicaram que é possível reduzir o nível de carbamato de etila, reduzindo o nível dos agentes precursores, selecionando a qualidade do fermento, controlando a condição de fermentação e ajustando o pH da massa fermentativa com sulfato de cobre (Nout, 2004).

O uso da enzima ácido-urease foi testada em diferentes amostras de vinho. Para a redução de uréia, utilizaram-se diferentes condições de pH, temperatura e tempo. Concluíram que, com a diminuição da uréia, houve redução da formação de carbamato de etila nesses produtos (Ough & Trioli, 1988; Fujinawa et al., 1990; Kodama et al., 1994).

• **Ocorrência em bebidas alcoólicas**

Pesquisas desenvolvidas com bebidas destiladas, como o uísque, mostraram que vários compostos presentes no próprio destilado estão envolvidos na reação com álcool etílico e na formação de carbamato de etila. Entre estas, citam-se o ácido cianídrico e espécies químicas contendo cianeto, além de substâncias com grupamentos carbonila vicinais (Aylott et al.,1990; Mackenzie et al.,1990).

Os autores relataram que o primeiro passo envolve a oxidação do cianeto a cianato, este reagindo com álcoois, forma-se o éster carbâmico.(equação 5).

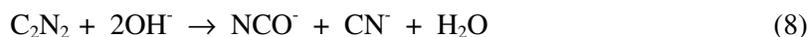
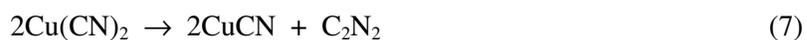


**EQUAÇÃO 5.** Formação de carbamato de etila.

Devido aos altos teores de carbamato de etila encontrados em aguardentes de frutas como ameixa, cereja e damasco, (0,5 - 5,0mgL<sup>-1</sup>), muitos experimentos têm sido realizados em bebidas para se conhecer o mecanismo e a origem dos precursores desta reação. Estudos iniciais indicaram que o problema não está somente na fermentação ou durante a destilação, mas, no armazenamento da bebida (Battaglia et al., 1990).

Estudos recentes mostraram uma tendência à correlação entre o teor de carbamato de etila e o material do alambique, indicando a participação do cobre na sua formação (Aresta et al., 2001). A formação de carbamato de etila em destilados pode ocorrer antes, durante e depois do processo de destilação. A formação antes da destilação deve ocorrer pelas mesmas vias que ocorrem em vinhos, mas, sua contribuição para o produto final não é considerável, uma vez que o carbamato de etila tem um ponto de ebulição de 183°C e o processo de destilação remove quase todo o carbamato formado (Boscolo, 2002).

O íon cianeto tem sido apontado como o mais importante precursor de carbamato de etila em destilados. Dois mecanismos químicos foram propostos por Mackenzie et al. (1990), como os mais prováveis para a sua formação. O primeiro é baseado na complexação do cianeto por Cu (II), proveniente do aparelho destilador, seguido pela oxidação a cianogênio e com subsequente desproporcionamento a cianato (eq. 6-9). O cianato pode reagir com etanol para formar carbamato de etila (eq. 9). O cobre, provavelmente, é liberado a partir do aparelho de destilação, sobre a corrosão.



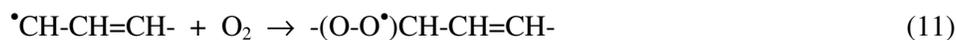
Diferentes espécies de complexos cianeto-Cu (I) foram encontradas em aparelhos de destilação de uísques, como CuCN, Cu(CN)<sub>2</sub><sup>-</sup>, Cu<sub>2</sub>(CN)<sub>3</sub><sup>-</sup> e Cu<sub>3</sub>(CN)<sub>4</sub><sup>-</sup>, dando suporte à idéia de que a formação de carbamato de etila também pode começar mesmo durante o processo de destilação.

O segundo mecanismo químico 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, como descrito nas equações 10 a 18 (Aresta et al., 2001).

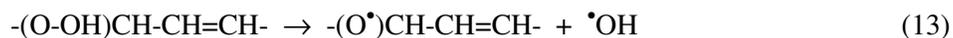
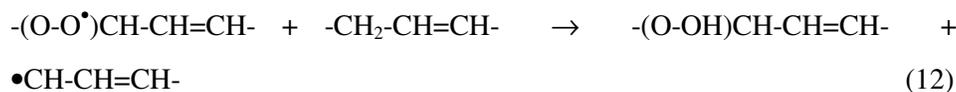
Iniciação



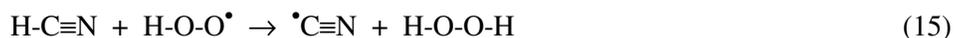
Propagação



Auto-oxidação



Formação de carbamato de etila



Os fatores que influenciam a formação de carbamato de etila em destilados são pH, luz, teor de etanol, temperatura e concentração de íons Cu (II) na bebida. Muitos fatores ainda merecem atenção na elucidação dos mecanismos que resultam na formação de carbamato de etila a partir de precursores nitrogenados em destilados.

Boscolo (2002) estudou a interferência do O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> dissolvidos na bebida na formação de carbamato de etila e investigou o papel do íon Cu (II)

como catalisador para a conversão do cianato a carbamato de etila, independentemente do precursor nitrogenado. Observaram correlação positiva para o íon cianeto e a presença do carbamato de etila em cachaças. Também foi comprovado que a formação de carbamato de etila aumenta com a temperatura.

#### **2.4.3.3 Toxicidade do carbamato de etila**

A carcinogênese provocada pelo carbamato de etila foi estudada por Iark Monographs (1974) que verificou que, quando o composto foi administrado oralmente em camundongos, iniciou-se um processo de desorganização celular cutânea.

Posteriormente, Kail (1990) e Schlatter & Lutz (1990) observaram que, utilizando o carbamato de etila em testes de toxicidade com animais, percebeu-se que este foi causador de adenomas pulmonares, papilomas de pele, linfomas malignos, hepatomas, carcinomas mamários, tumores de ovários, hemangiomas hepáticos e tumores melanóticos de pele e de íris, entre outros.

Com o objetivo de avaliar o possível risco do carbamato de etila presente em bebidas para o homem, Schmahl et al. (1997) realizaram experimentos com ratos (Sprague-Dawley) e camundongos (NMRI). Utilizaram doses de carbamato de etila bem menores que as utilizadas em outras experiências, da ordem de 0,1 a 12,5 mg/kg de peso corpóreo por dia, administradas na água de beber durante dois anos. Concluíram que a frequência de animais com tumores malignos aumentou diretamente com o aumento das doses, começando com 500µg/kg/dia para ratos e 100µg/kg/dia para camundongos.

Baseando-se nestes resultados e em outros, existe um consenso de que o teor de carbamato de etila em alimentos deve ser o menor possível.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 13 amostras de aguardentes de cana obtidas em diferentes regiões do estado de Minas Gerais, sendo cinco da região Sul de Minas, quatro da região Zona da Mata e quatro da região Jequitinhonha, todas produzidas artesanalmente na safra de 2004. As amostras coletadas foram provenientes de aguardentes novas, coletando-se a fração nobre, o coração. Estas foram levadas ao Laboratório de Análises Físico-Químicas de Aguardente (LAFQA), do Departamento de Química (DQI) da Universidade Federal de Lavras para a procedência das análises. As amostras de aguardentes foram analisadas segundo os padrões de identidade e qualidade em vigor, que se encontram na Tabela 2. A maioria dos reagentes utilizados era de grau analítico.

#### 3.1 Análises físico-químicas

As análises físico-químicas foram realizadas no LAFQA, segundo metodologia estabelecida pelo MAPA (Brasil, 2005b). Foram analisados: teor alcoólico, exame organoléptico, acidez volátil, extrato seco, cobre, álcool superior, aldeídos, ésteres, metanol e furfural, todas realizadas em triplicata, como descrito a seguir.

**Teor alcoólico:** foi determinado utilizando-se 250 mL da amostra, destilando-se cerca de  $\frac{3}{4}$  do volume inicial e completando-se para 250 mL com água destilada. O teor alcoólico foi obtido a partir de medidas a 20°C, com auxílio de um alcoômetro e os resultados foram expressos em % v/v de etanol.

**Exame organoléptico:** foi realizado observando-se os parâmetros partículas em suspensão (resíduos sólidos de qualquer espécie), coloração e limpidez, por meio de um transluminador de luz branca.

**Acidez volátil:** foi determinada por meio da extração dos ácidos voláteis, utilizando-se técnicas de arraste por vapor de água. O extrato obtido foi titulado por meio de métodos de titulação ordinários. Os resultados destas análises foram expressos em gramas de ácido acético para 100 mL de amostra ou para 100 mL de álcool anidro.

**Análise do extrato seco:** foi efetuada por meio de métodos gravimétricos. Uma alíquota de 25 mL foi evaporada lentamente em banho-maria, a 95°C durante 3 horas consecutivas. Depois, levou-se o material à estufa a 100°C por 30 minutos, resfriando-o em dessecador e pesando-se o resíduo sólido em balança analítica. Os resultados dessas análises foram expressos em gramas de extrato seco por litro de amostra.

**Cobre:** a quantificação do cobre presente nas aguardentes foi realizada por meio de absorção atômica em espectrofotômetro de absorção atômica Varian AA – 175, com gás combustível acetileno e ar como suporte, lâmpada de cátodo oco, fenda 0,2, comprimento de onda 324,8 nm, voltagem 460 V e amperagem 3. As quantidades de cobre foram determinadas por meio de comparação das leituras observadas nas amostras de aguardente, com valores das leituras referentes a uma curva analítica previamente construída. A quantidade de cobre foi expressa em miligrama de cobre por litro de amostra.

**Álcoois Superiores:** a quantidade total de álcoois superiores foi determinada por meio de medidas espectrofotométricas efetuadas na região visível do espectro

(540 nm). Esta quantificação foi realizada comparando-se os valores de absorvância referentes às amostras com uma curva analítica previamente construída, utilizando-se uma mistura de álcoois superiores solubilizada em solvente água/etanol, cujas reações estão mostradas no Anexo A, Figura 1A. A quantidade total de álcoois superiores foi expressa em miligrama para 100 mL de álcool anidro.

**Aldeídos:** os aldeídos foram dosados por meio de métodos iodimétricos, titulando-se o SO<sub>2</sub> produzido durante a seqüência de reações utilizadas neste processo (Anexo A, Figura 2 A). A quantidade de aldeídos presente nas amostras foi expressa em gramas de aldeído acético para 100 mL de amostra ou para 100 mL de álcool anidro.

**Ésteres:** os ésteres foram determinados por meio da titulação dos ácidos carboxílicos obtidos por trans-esterificação dos ésteres presentes nas amostras de aguardente (Anexo A, Figura 3 A). A quantidade total destes ésteres foi expressa em gramas de acetato de etila para 100 mL de amostra ou para 100 mL de álcool anidro.

**Metanol:** o metanol foi quantificado por meio de medidas espectrofotométricas, realizadas na região visível (575 nm) e comparadas com valores de absorvâncias estabelecidos por meio de uma curva analítica construída com soluções padrão etanol/metanol, contendo quantidades conhecidas de metanol, cujas reações estão mostradas no Anexo A, Figura 4A. A quantidade de metanol foi expressa em mL de metanol, para 100 mL de álcool anidro.

**Furfural:** a quantificação de furfural foi realizada por meio de medidas espectrofotométricas na região visível do espectro (520 nm). As quantidades de

furfural foram determinadas por comparação das absorbâncias observadas nas amostras de cachaça com valores de absorbâncias obtidas de uma curva analítica construída com soluções padrão etanol/furfural, contendo quantidades conhecidas de furfural. A dosagem do furfural foi feita com o destilado corrigido a 50°GL. As quantidades de furfural foram expressas em miligrama de furfural para 100 mL de álcool anidro.

### **3.2 Análises cromatográficas**

A análise de carbamato de etila foi realizada no Laboratório de Química da Aguardente, Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo.

Foi utilizado um cromatógrafo Shimadzu GC 17-A, equipado com detector de massas Shimadzu QP-5050A, operando no modo de impacto eletrônico com 70 eV, com o monitoramento de íon seletivo  $m/z$  62, por ser o mais empregado nas determinações de carbamato de etila (Clegg & Frank, 1988). A coluna cromatográfica capilar de fase polar (polietilenoglicol esterificada) utilizada foi uma HP-FFAP (50m x 0,2 mm x 0,33  $\mu$ m espessura do filme da fase estacionária). Empregou-se a seguinte programação de temperatura para o forno: 90°C (2 min.), levada 10°C/min até 150°C (0 min.) e, então, elevada a 40°C/min., até 230°C (10 min.). As temperaturas do injetor e da interface do detector foram de 250°C e 230°C, respectivamente. O volume de injeção foi de 2,0  $\mu$ m no modo “splitless”. Gás de arraste: He com fluxo de 1,5 mL  $\text{min}^{-1}$ .

Foi utilizado, para quantificação, o método de padrão externo, construindo-se curvas analíticas pelo método de regressão linear por mínimos quadrados.

### **3.3 Análises estatísticas**

Com os dados obtidos, realizou-se a análise de variância e as médias de cada região foram comparadas pelo teste t LSD, com  $\alpha = 5$ .

Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa SISVAR (Ferreira, 2003).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises físico-químicas e suas respectivas análises estatísticas estão apresentados para cada congênere separadamente.

### 4.1 Grau alcoólico

Os valores médios de graduação alcoólica encontrados para as regiões estudadas variaram de 40,80% a 44,75%v/v e apresentam-se todos dentro dos limites determinados pela legislação vigente (Brasil, 2005b). Pela análise estatística, pode-se perceber que a região Sul de Minas apresentou diferença significativa para a região do Jequitinhonha, que não apresentou diferença significativa para a região da Zona da Mata.

**TABELA 5:** Média dos teores de grau alcoólico nas aguardentes das regiões analisadas.

Região	Graduação Alcoólica (%V/V)
Sul de Minas	40,80 a
Zona da Mata	43,25 a b
Jequitinhonha	44,75 b

Os valores seguidos de mesma letra não apresentam diferença significativa, a 5% de probabilidade, segundo o teste de t (LSD).

As aguardentes da região do Sul de Minas apresentaram valores médios de graduação alcoólica menores que as aguardentes do Jequitinhonha. Este fato

pode estar ligado às condições climáticas, à matéria-prima e às tradições culturais de produção de aguardente do Sul de Minas, que produzem aguardentes com grau alcoólico menor.

#### 4.2 Acidez volátil

Os valores médios dos teores de acidez volátil apresentaram grande variação e não apresentaram diferença significativa para as regiões, estando todos eles abaixo do limite máximo de  $150 \text{ mg.100mL}^{-1}$  (Brasil, 2005b). Isso pode ter ocorrido porque os altos teores de acidez volátil estão relacionados com vários fatores, como a contaminação por bactérias acéticas do mosto ou da cana, corte inadequado da fração cabeça, contaminação do pé-de-cuba ou aeração excessiva do mosto, falta de higienização durante as entressafras e práticas específicas de cada produtor.

**TABELA 6:** Média dos teores de acidez volátil nas aguardentes das regiões analisadas.

<b>Região</b>	<b>Acidez Volátil (mg.100ml<sup>-1</sup> aa)</b>
Sul de Minas	46,95 a
Zona da Mata	111,01 a
Jequitinhonha	38,87 a

Os valores seguidos de mesma letra não apresentam diferença significativa, a 5% de probabilidade segundo o teste de t (LSD).

O alto teor de acidez volátil é prejudicial à qualidade da bebida, pois, durante o período de aeração das leveduras, formam-se ácidos graxos que são altamente indesejáveis. Seu arraste durante a destilação acarreta turvação e aromas desagradáveis (Schwan & Castro, 2001).

Uma das maneiras de se evitar altos teores de acidez volátil é evitar a aeração do mosto, durante a fermentação, já que o aumento de oxigênio faz com que o lêvedo transforme o açúcar em ácido acético em vez de etanol. Deve-se também proceder à destilação o mais breve possível, a fim de evitar a proliferação de bactérias acéticas.

### 4.3 Álcool superior

Os valores médios das concentrações de álcool superior das aguardentes analisadas apresentaram-se todos dentro dos padrões da legislação vigente (Brasil, 2005b). A média das concentrações encontradas para a região Sul de Minas apresentou diferença significativa para a região Jequitinhonha e não apresentou diferença significativa para a região Zona da Mata.

**TABELA 7:** Média das concentrações de álcool superior nas aguardentes das regiões analisadas.

<b>Região</b>	<b>Álcool Superior (mg.100ml<sup>-1</sup> Etanol)</b>
Sul de Minas	176,58 a
Zona da Mata	221,90 a b
Jequitinhonha	235,12 b

Os valores seguidos de mesma letra não apresentam diferença significativa, a 5% de probabilidade segundo o teste de t (LSD).

Esta diferença pode ser devido à diferença de temperatura das regiões Sul e Jequitinhonha, que influencia, principalmente, na fermentação. Isso está de acordo com os resultados encontrados por Leauté (1990), que sugere que os álcoois superiores são produtos metabólicos decorrentes de crescimento de leveduras e aproveitamento de aminoácidos como fonte de nutrientes amoniacais. Dependem grandemente das condições do meio de fermentação, da quantidade e viabilidade do inóculo, da temperatura e do teor alcoólico final do vinho, entre outros fatores. Dependendo do equipamento e do processo de destilação, o teor no produto final pode variar bastante, tendendo a acumular até oito vezes o teor no vinho.

Os álcoois superiores não apresentam um problema constante na produção de aguardente e a sua presença é importante na oleosidade, sabor e aroma da bebida. Em uma aguardente de boa qualidade, os álcoois superiores e ésteres devem estar presentes em uma proporção bem equilibrada. À medida que a cadeia carbônica dos álcoois aumenta, estes podem tornar-se oleosos, modificando o aroma da aguardente, lembrando fortemente aroma de flores, desvalorizando a bebida (Cardoso, 2001).

#### **4.4 Aldeídos**

Os valores médios de aldeídos apresentaram-se todos dentro dos limites estabelecidos pela legislação vigente (Brasil, 2005b). Não houve diferença significativa para as regiões analisadas. Os valores encontrados são relativamente baixos e satisfatórios, já que o aldeído é um composto que deprecia a qualidade da bebida, além de ser nocivo ao sistema nervoso central (Merck Index, 2001).

**TABELA 8:** Média das concentrações de aldeídos nas aguardentes das regiões analisadas.

<b>Região</b>	<b>Aldeído (mg.100ml<sup>-1</sup> Etanol)</b>
Sul de Minas	13,74 a
Zona da Mata	8,57 a
Jequitinhonha	9,85 a

Os valores seguidos de mesma letra não apresentam diferença significativa, a 5% de probabilidade, segundo o teste de t (LSD)

Os aldeídos são co-produtos normais da fermentação alcoólica. A formação deste tipo de composto é resultado da ação de leveduras durante os estágios preliminares do processo de fermentação, tendendo a desaparecer nas etapas finais, desde que o mosto sofra uma pequena aeração. Os demais aldeídos são obtidos, provavelmente, a partir da oxidação de álcoois superiores provenientes da degradação de aminoácidos gerados pela hidrólise de proteínas (Novaes, 1974; Yokoya, 1995)

Para se evitar quantidades excessivas de aldeídos, é importante uma pequena aeração do mosto e o corte correto da fração cabeça (Cardoso 2001).

#### **4.5 Ésteres**

Os valores médios de ésteres apresentaram-se todos dentro dos limites estabelecidos pela legislação vigente (Brasil, 2005b). Não houve diferença significativa para as regiões analisadas. Os ésteres são compostos importantes para a formação do “flavour” da bebida e a sua formação se dá, principalmente, durante o processo de maturação e envelhecimento.

O acetato de etila, principal éster da aguardente, pode ser produto tanto da reação de esterificação entre o etanol e o ácido acético, quanto ser produto da fermentação (Faria et al., 2003).

**TABELA 9:** Média das concentrações de ésteres nas aguardentes das regiões analisadas.

<b>Região</b>	<b>Ésteres (mg.100ml<sup>-1</sup> Etanol)</b>
Sul de Minas	29,98 a
Zona da Mata	65,10 a
Jequitinhonha	22,31 a

Os valores seguidos de mesma letra não apresentam diferença significativa, a 5% de probabilidade, segundo o teste de t (LSD).

#### **4.6 Metanol**

Os valores das concentrações médias de metanol são bastante pequenos para as três regiões. Houve diferença significativa entre as regiões Sul de Minas e Jequitinhonha, tendo esta última apresentado valor um pouco maior que a primeira. Uma alta concentração de metanol é extremamente preocupante, já que este produto é bastante tóxico ao organismo, podendo causar morte por acidulose grave (Merck Index; 2001).

**TABELA 10:** Média das concentrações de metanol nas aguardentes das regiões analisadas.

<b>Região</b>	<b>Metanol (mg.100ml<sup>-1</sup> Etanol)</b>
Sul de Minas	0,06 a
Zona da Mata	0,08 a b
Jequitinhonha	0,12 b

Os valores seguidos de mesma letra não apresentam diferença significativa, a 5% de probabilidade, segundo o teste de t (LSD).

O metanol presente na aguardente é formado, principalmente, pela degradação da pectina, um polissacarídeo presente na cana-de-açúcar. Este composto chega até as dornas de fermentação devido à má filtragem do caldo. A pectina é formada pela associação de centenas de moléculas de ácido galacturônico, que, quando hidrolizadas, liberam moléculas de metanol (Valsechi, 1960).

#### **4.7 Furfural**

Os valores médios encontrados para a concentração de furfural nas regiões analisadas estavam todos dentro dos padrões determinados pela legislação vigente (Brasil, 2005b). Houve diferença significativa entre as regiões Jequitinhonha com Sul de Minas e Zona da Mata. As concentrações encontradas para Sul de Minas e Zona da Mata são bastante pequenas; já para a região do Jequitinhonha, a concentração foi um pouco maior. O furfural é indesejável e nocivo ao organismo e, quando presente, reduz a qualidade da bebida.

**TABELA 11:** Média das concentrações de furfural nas aguardentes das regiões analisadas.

<b>Região</b>	<b>Furfural (mg.100ml<sup>-1</sup> Etanol)</b>
Sul de Minas	0,27 a
Zona da Mata	0,20 a
Jequitinhonha	1,02 b

Os valores seguidos de mesma letra não apresentam diferença significativa, a 5% de probabilidade, segundo o teste de t (LSD).

Sabendo, a priori, que todas as aguardentes coletadas foram produzidas com cana não queimada, pode-se inferir que todo este furfural é proveniente de um processo fermentativo. A maior concentração de furfural na região do Jequitinhonha pode estar relacionada com a maior temperatura ocorrida nesta região, já que, de acordo com Maia (1994), citado por Masson (2005), 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. Estes são 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 furfural e hidroximetilfurfural (HMF), respectivamente (Figuras 2 e 3).

#### 4.8 Cobre

Os valores médios encontrados para a concentração de cobre nas regiões analisadas apresentam-se todos dentro dos padrões determinados pela legislação vigente (Brasil, 2005b). Houve diferença significativa entre os valores encontrados para Zona da Mata e para Jequitinhonha.

O cobre é proveniente da solubilização do “azinhavre” (carbonato básico de cobre) que se forma no interior do alambique e, principalmente, nas partes internas da serpentina. (Cardoso, 2001).

**TABELA 12:** Média das concentrações de cobre nas aguardentes das regiões analisadas.

<b>Região</b>	<b>Cobre (mg.L<sup>-1</sup>)</b>
Sul de Minas	1,25 a b
Zona da Mata	2,52 b
Jequitinhonha	0,82 a

Os valores seguidos de mesma letra não apresentam diferença significativa, a 5% de probabilidade, segundo o teste de t (LSD).

Este metal é importante em pequenas quantidades na bebida, retirando os odores desagradáveis. Porém, em elevadas concentrações é indesejável, pois é prejudicial à saúde humana, sendo, portanto, fundamental sua quantificação (Faria, 2003).

O controle da quantidade de cobre pode ser feito com uma boa higienização do alambique no momento da destilação, para evitar contaminações

com o metal. Outra alternativa é o uso de filtros à base de resinas de troca iônica, mas, deve-se tomar o devido cuidado para que a resina não retire também os compostos que dão o sabor característico das aguardentes (Lima, 2005).

#### 4.9 Carbamato de etila

Observa-se que as concentrações de carbamato de etila encontradas no Sul de Minas e na Zona da Mata apresentaram valores dentro dos limites determinados pela legislação vigente (Brasil, 2005b). A concentração de encontrada na região Jequitinhonha é preocupante, já que trata-se é um composto cancerígeno. Contudo são necessários estudos que possibilitem o controle da formação durante o processo produtivo possibilitando a sua eliminação.

**TABELA 13:** Média das concentrações de carbamato de etila nas aguardentes das regiões analisadas.

Região	Carbamato de Etila ( $\mu\text{g/L}$ )
Sul de Minas	54,70 a
Zona da Mata	30,78 a
Jequitinhonha	645,18 b

Os valores seguidos de mesma letra não apresentam diferença significativa, a 5% de probabilidade, segundo o teste de t (LSD).

Uma grande variedade das concentrações de carbamato foi observada, variando de não detectado a valores próximos a  $700 \mu\text{gL}^{-1}$ . O fato de algumas amostras não apresentarem quantidades detectáveis deste composto indica que é

possível produzir aguardente em alambique de cobre sem a presença de quantidades altas de carbamato de etila.

Entre os possíveis fatores para a alta concentração de carbamato de etila estão o pH do mosto, a luz, a concentração dos reagentes, a temperatura e o tempo de armazenamento (Battaglia et al., 1990).

A maior concentração de carbamato de etila foi encontrada nas aguardentes com menor teor de cobre, contrariando o proposto por Aresta et al. (2001) e Andrade-Sobrinho et al. (2002), que sugerem que a formação deste composto está ligada à presença de cobre na bebida. Estudos realizados por Labanca (2004) não indicaram correlação entre teores de cobre e carbamato de etila.

## 5 CONCLUSÕES

Dentre as amostras estudadas, apenas uma da região do Vale do Jequitinhonha apresentou maior concentração de carbamato de etila, o que torna necessário uma atenção especial para a identificação e controle deste composto. Entretanto, novos trabalhos envolvendo um maior número de amostras devem ser conduzidos na região.

As concentrações dos componentes secundários, grau alcoólico, álcool superior, ésteres, metanol, furfural e cobre, as concentrações encontradas para a região da Zona da Mata apresentaram valores intermediários entre Sul e Jequitinhonha, representando uma faixa de transição entre elas.

As aguardentes da região Sul de Minas foram as que apresentaram todos os resultados de acordo com a legislação vigente.

O conhecimento aprimorado da composição da aguardente oferecerá subsídios para executar programas de controle dos componentes secundários que apresentaram maior problema para cada região.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIANUAL 2005. Anuário da agricultura brasileira: a potência do álcool nos próximos dez anos. São Paulo: FNP Consultoria e Comércio, 2005.

ANDRADE, L.A.de B. Cultura da cana-de-açúcar. In: CARDOSO, M. das G. (Ed.). **Produção artesanal de aguardente**. Lavras: UFLA, 2001.

ANDRADE, L.A.B. et al. 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.

ANDRADE-SOBRINHO, L.G. et al. Carbamato de etila em bebidas alcoólicas (Cachaça, Tiquira, Uísque e Grapa). **Química Nova**, São Paulo, v.25, p.1074, 2002.

AQUARONE, E.; BORZANI, W.; LIMA, U.A. **Alimentos e bebidas produzidos por fermentação**. São Paulo: E. Blucher, 1983. v.5, 243p.

ARESTA, M.; BOSCOLO, M.; FRANCO, D.W. Copper (II) catalysis in cyanide conversion into ethyl carbamate in spirits and relevant reactions. **Journal Agricultural Food Chem.**, v.6, n.49, p.2819-2824, 2001.

AYLOTT, R.I. et al. Ethyl carbamate formation in grain based spirits. Part I: Post-distillation ethyl carbamate formation in a maturing grain whisky. **Journal Inst. Brew.**, London, v.96, n.4, p.213-221, 1990.

AZEVEDO, S.M. et al. Levantamento da contaminação por cobre nas cachaças de cana-de-açúcar produzidas em Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.27, n.3, p.618-624, 2003.

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

BIZELLIL, C.; RIBEIRO, C.A.F.; NOVAES, F.V. Dupla destilação da cachaça: teores de acidez total e de cobre. **Scientia Agrícola**, v.57, n.4, p.623-27, 2000.

BOSCOLO, M. **Caramelo e carbamato de etila em aguardente de cana: ocorrência e quantificação**. 2002. 100p. Tese (Doutorado em Química Analítica)-Instituto de Química de São Carlos, São Carlos, SP.

BRASIL. Leis, decretos, etc. Instrução Normativa nº 13 de 29 de junho de 2005. **Diário Oficial da União**, Brasília, 30 de junho de 2005b.

BRASIL. Leis, decretos, etc. Decreto nº 4.072 de 03 de janeiro de 2002. **Diário Oficial da União**, Brasília, 04 de janeiro de 2002.

BRASIL. Leis, decretos, etc. Portaria nº 371 de 18 de setembro de 1974. **Diário Oficial da União**, Brasília, 19 de setembro de 1974.

BRASIL. Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior. <[http://aliceweb.desenvolvimento.gov.br/consulta\\_nova/consulta.asp?tip\\_consulta=ImpNCM&titulo\\_p=Importação%20Brasileira&titulo\\_s=1996%20a%202005](http://aliceweb.desenvolvimento.gov.br/consulta_nova/consulta.asp?tip_consulta=ImpNCM&titulo_p=Importação%20Brasileira&titulo_s=1996%20a%202005)>. Acesso em: 12 jul. 2005a.

BRIEGER, F.O. Início da safra. Como determinar a maturação. **Boletim Informativo Copereste**, Ribeirão Preto, n.4,p.1-3,abr.1968.

CANAS, B.J. et al. Determination of ethyl carbamate in alcoholic beverages and soy sauce by gas chromatography with mass selective detection: collaborative study. **J.A.O.A.C.Int.**, Washington, v.77, n.6, p.1530-1536, 1994.

CARDOSO, M. das G. Análises físico-químicas de aguardente. In: CARDOSO, M. das G. (Ed.). **Produção de aguardente de cana**. Lavras: UFLA, 2001. 264p.

CHAVES, J.B.P. **Cachaça**: produção artesanal de qualidade. Viçosa: CPT. 1998. (Manual Técnico).

CHAVES, J.B.P.; POVOA, M.E.B. A qualidade da aguardente de cana-de-açúcar. In: MUTTON, M.J.R.; MUTTON, M.A. **Cachaça**: produção e qualidade. Jaboticabal: FUNEP, 1992, p.93-132.

CHERUBIN, R.A. **Efeitos da adição de benzoato de sódio na fermentação alcoólica para produção de aguardente de cana-de-açúcar (Saccharum spp)**. 1998. 70p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)-Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.

CLEEG, B.S.; FRANK, R. **Journal Agricultural Food Chem.**, v.36, p.502, 1998.

CONACHER, H.B.S. et al. Capillary column gas chromatographic determination of ethyl carbamate in alcoholic beverages with confirmation by gas chromatography/mass spectrometry. **Journal Association of Anal. Chem.** v.70, n.4, p.749-751, 1987.

DENNIS, M.J. et al. Investigation of ethyl carbamate levels in some fermented foods and alcoholic beverages. **Food Addit. Contam.**, London, v.6, n.3, p.383-389, 1989.

FARIA, J.B. **A influência do cobre na qualidade das aguardentes de cana (Saccharum officinarum L.)**. 1989. 93p. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos)-Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.

FARIA, J.B. O defeito sensorial das aguardentes de cana destiladas na ausência de cobre. In: FRANCO, M.R.B. (Ed.). **Aroma e sabor de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 2003.

FARIA, J.B. et al. (Ed.). **Fermented beverage production**. 2.ed. New York: Klumer Academic/Plenum, 2003. Cap.15, p.335-363.

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

FIELD, K.J.; LANG, C.M. Hazards of urethane (ethyl carbamate): a review of the literature. **Lab. Animal**, Huntingdon, v.22, n.3, p.255-262, 1988.

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

FUJINAWA, S. et al. Application of an acid urease to wine: determination of trace urea in wine. **Journal Food Science**, Chicago, v.55, n.4, p.1018-1022/1038, 1990.

GALHIANE, M.S. **Análise de aroma em bebidas por cromatografia gasosa de alta resolução**. 1988. 99p. Dissertação - Instituto de Química e Física de São Carlos. Universidade de São Paulo, SP.

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

IARC monographs on the evaluation carcinogenic risk of chemicals to man. Geneve, World Health Organization International Agency for Research on câncer, 1986. v.41, p.222.

ISIQUE, W.D.; LIMA-NETO, B.S.; FRANCO, D.W. A qualidade da cachaça, uma opinião para discussão. **O Engarrafador Moderno**, p.32-36, jul. 2002.

KAIL, K. Effects of nutrition on the induction, prevention and management of neoplasia. **Journal Naturopathic Med.**, v.1, n.1, p.1-19, 1990.

KODAMA, S. et al. Urea contribution to ethyl carbamate formation in comercial wines during storage. **Americam Jounal Enol. Vitic.**, Davis, v.45, n.1, p.332-335, 1994.

LABANCA, R.A. **Teores de carbamato de etila, cobre e grau alcoólico em aguardentes produzidas em Minas Gerais**. 2004. 66p. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos)-Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

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

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

LIMA, A. de J.B. **Avaliação do emprego de substâncias adsorventes na melhoria da qualidade de cachaça com excesso de cobre**. 2005. 62p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica e Agrobioquímica)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

LIMA NETO, B.S. et al. O cobre em aguardentes brasileiras: sua quantificação e controle. **Química Nova**, São Paulo, v.17, p.220-223,1994.

LIMA-NETO, B.S.; FRANCO, D.W. **Engarrafador Moderno**, v.33, p.05, 1994.

MACKENZIE, W.M.; CLYNE, A.H.; MACDONALD, 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 grain whisky. **Journal Inst. Brew.**, London, v.96, n.4, p.223-232, 1990.

MAIA, A.B.R.A. Componentes secundários da aguardente: **Stab Açúcar, Álcool e Subprodutos**, v.12, n.6, p.29-33, 1994.

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

**Merck Index**. 13 ed. Ed. S. Budavari. Merck and Co. Inc., Rahway. NJ.2001.

MORAES, F.V. Como controlar a qualidade da cachaça. **Engarrafador Moderno**, v.10, n.85, p.24-29, maio 2001.

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

MULLER, C.J.; FUGELSANG, K.C. 3a. 6a-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. et al. Quantitation of ethyl carbamate (EC) by gas chromatography and mass spectrometric detection in distilled spirits. **Alimentaria**, Madrid, n.311, p.31-36, 2000.

NOUT, M.J.R. Fermented foods and food safety. **Food Res. Int.**, v.27, p.291-298, 2004.

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

NOVAES, F.V. **Produção e qualidade da aguardente de cana**. Piracicaba: ESALQ, 1995. 27p. Apostila.

NOVAES, F.V. Em nome da qualidade da aguardente de cana. **O Engarrafador Moderno**, v.7, n.46, p.68-73, jan./fev. 1997.

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.

OUGH, C.S. Ethylcarbamate in fermented beverages and foods. I. Naturally occurring ethylcarbamate. **Journal Agricultural Food Chem.**, v.24, p.323-328, 1976a.

OUGH, C.S. Ethylcarbamate in fermented beverages and foods. II. Possible formation of ethylcarbamate from diethyl dicarbonate addition to wine. **Journal Agricultural Food Chem.**, v.24, p.328-331, 1976b.

OUGH, C.S.; TRIOLI, G. Urea removal from wine by an acid urease. **American Journal Enol. Vitic.**, Davis, v.39, n.4, p.303-307, 1988.

POLASTRO, L.R. et al. Compostos nitrogenados em bebidas destiladas: cachaça e tiquira. **Ciência Tecnologia dos Alimentos**, n.21, v.1, p.179-182, 2001.

POTTER, N.N. **Food science**. Westport: Avi, 1980. 653p.

Presidência da República. Decreto Lei n.4.072 Brasília (03-01-02).

RIBEIRO, J.C.G.M. **O lutador fabricação artesanal da cachaça mineira**. 3.ed., 2002. p.1-223.

SCHLATTER, J.; LUTZ, W.K. The carcinogenic potential of ethyl carbamate (urethane): risk assessment at human dietary exposure levels. **Food Chem. Toxicol.**, v.28, p.205-211, 1990.

SCHMAHL, D.; PORT, R.; WAHRENDORF, J. A dose-response study on urethane carcinogenesis in rats and mice. **International Journal Cancer**, Geneve, v.19, n.1, p.77-80, 1997.

SCHWAN, R.F. et al. Microbiology and physiology of cachaça (aguardente) fermentations. **Antonie van Leeuwenhoek**, Holanda, v.79, p.89-96, 2001.

SCHWAN, R.F.; CASTRO, H.A. Fermentação alcoólica. In: CARDOSO, M. das G. (Ed.). **Produção artesanal de aguardente**. Lavras: UFLA, 2001.

Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas- SEBRAE-MG. **Diagnóstico da cachaça de Minas Gerais**. Belo Horizonte, MG, 2001. 259p.

SUOMAILAINEN, H.; LEHTONEN, M. The production of aroma compounds by yeast. **Journal of the Institute of Brewing**, London, n.85, p.149-156, 1979.

TEGMO-LARSSON, I.M.; SPITTLER, T.D. Temperature and light effects on ethyl carbamate formation in wine during storage. **Journal Food Science**, v.55, n.4, p.1166-1167/1169, 1990.

ÚNICA. Disponível em: [http://www.unica.com.br/pages/coletivas\\_2004\\_03\\_29.asp](http://www.unica.com.br/pages/coletivas_2004_03_29.asp). Acesso em: 19 abr.2004.

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

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

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

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

ZERON, C.A. (Org.). **Equipamentos, usos e costumes da casa brasileira**. 1. Alimentação. São Paulo: EDUSP/Imprensa Oficial/Museu da Casa Brasileira, 2000. p.56-58. Fichário Ernani Silva Bruno.

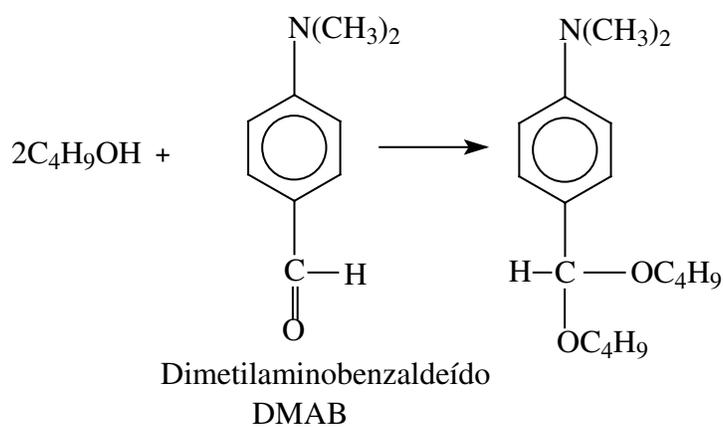
ZIMMERLI, B.; SCHLATTER, J. Ethyl carbamate: analytical methodology, occurrence, biological activity and risk assessment. **Mutat. Res.**, Amsterdam, n.259, p.325-350, 1991.

## 7 ANEXOS

<b>ANEXO A</b>		<b>Página</b>
FIGURA 1A	Reação que ocorre na análise físico-química de álcoois superiores em aguardente.....	54
FIGURA 2A	Reações que ocorrem na análise físico-química de aldeídos em aguardente.....	55
FIGURA 3A	Reações que ocorrem na análise físico-química de ésteres na aguardente.....	56
FIGURA 4A	Reações que ocorrem na análise físico-química do metanol em aguardente.....	57

## Álcoois superiores

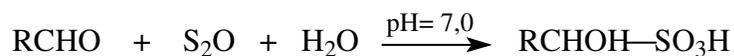
A reação colorimétrica de álcoois superiores (Figura 1A) envolve a formação da substância colorida pela interação do hidrocarboneto insaturado com o aldeído cíclico em presença de ácido sulfúrico concentrado. Por ser este um método colorimétrico, é necessária a construção da curva padrão, utilizando uma solução de álcoois isoamílico e isobutílico e fazendo as leituras em espectrofotômetro, em um comprimento de onda de 540 nm.



**FIGURA 1A** Reação que ocorre na análise físico-química de álcoois superiores.

## Aldeídos

O método baseia-se na reação de aldeídos com íons bissulfitos (em excesso) em meio tamponado a pH neutro. O bissulfito em excesso reage com iodo, em meio fortemente ácido (pH 2,0), para impedir a dissociação do composto aldeído-bissulfito, que é estável neste pH. Finalmente, o bissulfito que está combinado com o aldeído é liberado em meio alcalino (pH 9,0), sendo titulado com a solução de iodo (Figura 2A).



O  $\text{SO}_2$  em excesso reage com  $\text{I}_2$  em meio ácido



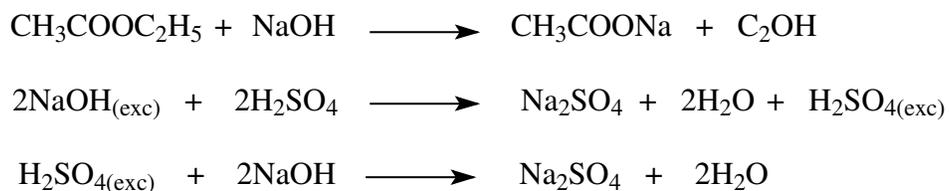
Em meio alcalino, o aldeído é então determinado



**FIGURA 2A** Reações que ocorrem na análise físico-química de aldeídos em aguardente.

## Ésteres

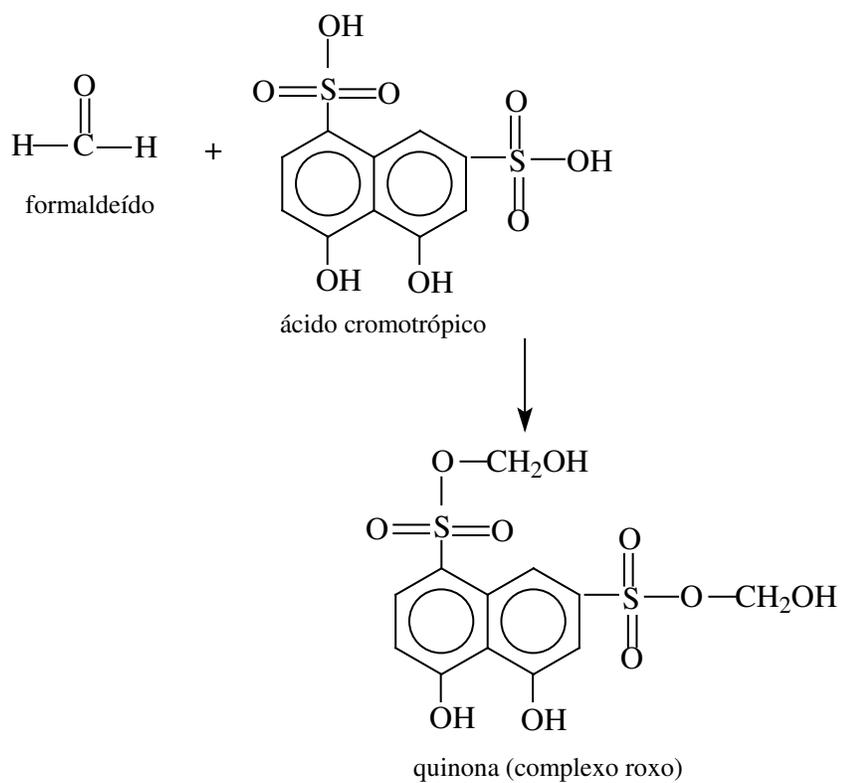
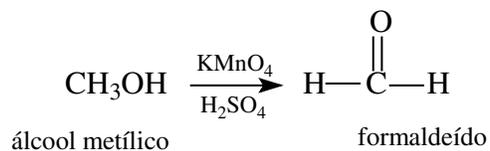
A quantificação dos ésteres é feita a partir da hidrólise alcalina destes, presentes na aguardente, seguida da titulação dos ácidos liberados com solução padronizada de hidróxido de sódio (Figura 3A).



**FIGURA 3A** Reações que ocorrem na análise físico-química de ésteres na aguardente.

## Metanol

A determinação do metanol em aguardentes baseia-se na sua oxidação a formaldeído, o qual reage com o ácido cromotrópico em presença de ácido sulfúrico concentrado, formando um composto colorido (Figura 4A). A leitura foi realizada em um espectrofotômetro com comprimento de onda de 575 nm.



**FIGURA 4A** Reações que ocorrem na análise físico-química do metanol em aguardente.

<b>ANEXO B</b>	<b>..</b>	<b>Página</b>
TABELA 1B	Análise de variância dos valores de grau alcoólico das aguardentes estudadas.....	59
TABELA 2B	Análise de variância dos valores de acidez das aguardentes estudadas.....	59
TABELA 3B	Análise de variância dos valores de álcool superior das aguardentes estudadas.....	60
TABELA 4B	Análise de variância dos valores de aldeídos das aguardentes estudadas.....	60
TABELA 5B	Análise de variância dos valores de ésteres das aguardentes estudadas.....	61
TABELA 6B	Análise de variância dos valores de metanol das aguardentes estudadas.....	61
TABELA 7B	Análise de variância dos valores de furfural das aguardentes estudadas.....	62
TABELA 8B	Análise de variância dos valores de cobre das aguardentes estudadas.....	62
TABELA 9B	Análise de variância dos valores de carbamato das aguardentes estudadas.....	63

**TABELA 1B** Análise de variância dos valores de grau alcoólico das aguardentes estudadas.

<b>Tabela de análise de variância</b>					
<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>Fc</b>	<b>Pr&gt;Fc</b>
AMOST.NO	2	36.007692	18.003846	2.890	0.1022
erro	10	62.300000	6.230000		
Total corrigido	12	98.307692			
CV (%) =	5.84				
Média geral:	42.7692308	Número de observações:		13	

**TABELA 2B** Análise de variância dos valores de acidez das aguardentes estudadas.

<b>Tabela de análise de variância</b>					
<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>Fc</b>	<b>Pr&gt;Fc</b>
AMOST.NO	2	12851.756539	6425.878270	2.217	0.1596
erro	10	28980.868068	2898.086807		
Total corrigido	12	41832.624608			
CV (%) =	83.85				
Média geral:	64.1998462	Número de observações:		13	

**TABELA 3B** Análise de variância dos valores de álcool superior das aguardentes estudadas.

<b>Tabela de análise de variância</b>					
<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>Fc</b>	<b>Pr&gt;Fc</b>
AMOST.NO	2	8649.340492	4324.670246	3.831	0.0582
erro	10	11288.741249	1128.874125		
Total corrigido	12	19938.081741			
CV (%) =	16.11				
Média geral:	208.5373846	Número de observações:		13	

**TABELA 4B** Análise de variância dos valores de aldeídos das aguardentes estudadas.

<b>Tabela de análise de variância</b>					
<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>Fc</b>	<b>Pr&gt;Fc</b>
AMOST.NO	2	66.624790	33.312395	1.531	0.2629
erro	10	217.551539	21.755154		
Total corrigido	12	284.176328			
CV (%) =	42.59				
Média geral:	10.9517692	Número de observações:		13	

**TABELA 5B** Análise de variância dos valores de ésteres das aguardentes estudadas.

<b>Tabela de análise de variância</b>					
<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>Fc</b>	<b>Pr&gt;Fc</b>
AMOST.NO	2	4242.944214	2121.472107	1.974	0.1895
erro	10	10749.635613	1074.963561		
Total corrigido	12	14992.579827			
CV (%) =	85.32				
Média geral:	38.4259231	Número de observações:		13	

**TABELA 6B** Análise de variância dos valores de metanol das aguardentes estudadas.

<b>Tabela de análise de variância</b>					
<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>Fc</b>	<b>Pr&gt;Fc</b>
AMOST.NO	2	0.007730	0.003865	2.755	0.1114
erro	10	0.014031	0.001403		
Total corrigido	12	0.021761			
CV (%) =	45.51				
Média geral:	0.0823077	Número de observações:		13	

**TABELA 7B** Análise de variância dos valores de furfural das aguardentes estudadas.

<b>Tabela de análise de variância</b>					
<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>Fc</b>	<b>Pr&gt;Fc</b>
AMOST.NO	2	1.708212	0.854106	25.979	0.0001
erro	10	0.328768	0.032877		
Total corrigido	12	2.036980			
CV (%) =	37.79				
Média geral:	0.4797692	Número de observações:		13	

**TABELA 8B** Análise de variância dos valores de cobre das aguardentes estudadas.

<b>Tabela de análise de variância</b>					
<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>Fc</b>	<b>Pr&gt;Fc</b>
AMOST.NO	2	6.313003	3.156501	2.757	0.1113
erro	10	11.450215	1.145021		
Total corrigido	12	17.763218			
CV (%) =	70.76				
Média geral:	1.5121538	Número de observações:		13	

**TABELA 9B** Análise de variância dos valores de carbamato das aguardentes estudadas.

<b>Tabela de análise de variância</b>					
<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>Fc</b>	<b>Pr&gt;Fc</b>
AMOST.NO	2	1001888.541049	500944.270525	234.582	0.0000
erro	10	21354.752920	2135.475292		
Total	12	1023243.293969			
corrigido					
CV (%) =	20.18				
Média geral:	229.0215385	Número de observações:		13	