



**MANUEL CARLOS MINEZ TÁBUA**

**ESTUDO COMPARATIVO DE AGUARDENTES  
MOÇAMBICANAS E BRASILEIRAS**

**LAVRAS - MG**

**2018**

**MANUEL CARLOS MINEZ TÁBUA**

**ESTUDO COMPARATIVO DE AGUARDENTES  
MOÇAMBICANAS E BRASILEIRAS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, área de concentração em Química e Bioquímica, para a obtenção do título de Doutor.

Orientadora

Dra. Maria das Graças Cardoso

**LAVRAS-MG  
2018**

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

Tábua, Manuel Carlos Minez.

Estudo Comparativo de Aguardentes Moçambicanas e Brasileiras / Manuel Carlos Minez Tábua. - 2018.

153 p. : il.

Orientador(a): Maria das Graças Cardoso.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2018.

Bibliografia.

1. Aguardente de Moçambique. 2. perfil físico-químico. 3. compostos voláteis SPME. I. Cardoso, Maria das Graças. . II.

Título.

**MANUEL CARLOS MINEZ TÁBUA**

**ESTUDO COMPARATIVO DE AGUARDENTES  
MOÇAMBICANAS E BRASILEIRAS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, área de concentração em Química e Bioquímica, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 24 de agosto de 2018

Prof(a). Adelir Aparecida Saczk

Prof (a). Dra. Ana Maria de Resende Machado

Prof. Dr. David Lee Nelson

Prof. Dr. Fabiano Magalhães

Prof. Dr. Márcio Pozzobon Pedroso

UFLA/ MG

CEFET/MG

UFVJ/MG

UFLA/ MG

UFLA/ MG

Dra. Maria das Graças Cardoso  
Orientadora

**LAVRAS-MG**

**2018**

A Deus, pela vida e por mais um grau acadêmico conquistado;  
Aos meus pais Carlos Minez Tábua (*in memorium*) e Maria Alice Roque dos Santos, pelo carinho, compreensão e ensinamentos transmitidos ao longo da minha vida;

À minha esposa Consoladora de Lurdes Azarias Tábua, pelo amor incondicional, carinho e paciência, pelo apoio no suporte da família, durante a minha ausência;

Aos meus filhos, Nobre, Alice, Yulton e Irenio, pelo amor e carinho que tenho por vós, pela paciência e compreensão nos tempos que estive ausente do vosso convívio.

Ao meu tio Nobre dos Santos, fonte de minha inspiração.

Com amor e carinho

DEDICO

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida, proteção, presença e por tudo que tem feito em minha vida;

À Universidade Federal de Lavras, em particular ao Departamento de Ciências do Solo, pela oportunidade concedida na realização da primeira matrícula de Doutorado no Brasil;

Ao Departamento de Química da UFLA (DQI/UFLA), por mais uma oportunidade concedida para a realização deste curso, particularmente à Prof. Dra Maria das Graças Cardoso, por ter apostado em mim e acreditado que eu era capaz;

À Professora Dra. Maria das Graças Cardoso, pelo acolhimento, oportunidade e confiança, orientação, ensinamentos, paciência, apoio e atenção dispensada ao longo deste período de formação;

À Capes, Programa de Estudantes-Convênio de Pós-Graduação (PEC-PG), pela concessão da bolsa de estudos;

À Universidade Pedagógica de Moçambique, na pessoa do Prof. Dr. Rogério José Uthui, Magnífico Reitor, pelo incentivo e a autorização para continuação dos estudos no Brasil;

Aos meus pais, Carlos Minez Tábua (*in memorium*) e Maria Alice Roque dos Santos, pela educação que proporcionaram a mim, convivência, ensinamentos, apoio e pelo incentivo que me deram desde cedo, para que apostasse nos estudos como única fonte de almejar um futuro brilhante na vida;

À minha esposa, Consoladora de Lurdes Azarias Tábua, pelo amor, pela paciência, convivência, apoio, incentivo, compreensão e todo o sacrifício feito durante a minha ausência;

Ao meu tio Nobre Roque dos Santos, pelo apoio moral, incentivo e conselhos sobre a vida e a importância no prosseguimento dos estudos, acreditando sempre que eu seria capaz de chegar longe;

Ao Professor Dr. João José Granate de Sâ e Melo Marques, pela oportunidade e orientação que me proporcionou, no Departamento de Ciências do Solo;

À Professora Adelir Aparecida Saczk, Coordenadora do Curso de Pós-graduação em Agroquímica, pelo apoio e atenção.

Aos professores Ana Maria de Resende Machado, David Lee Nelson e Fabiano Magalhães, por terem aceitado participar na banca de tese;

Ao Professor Felipe Duarte, Lidiany Zacaroni, Wilder Santiago, foi uma honra tê-los como membros da banca de qualificação e sou ainda grato à Lidiany, pelo apoio dado e valiosas contribuições durante a realização das análises no CAPQ da UFLA;

Ao Professor Márcio Pozzobon Pedroso (DQI-UFLA), pelos ensinamentos, amizade e carinho demonstrado durante a formação;

Aos professores do DQI/UFLA que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho;

À Roseni, Ana, Carol, pelo apoio, atenção e simpatia despendida ao longo deste período na Secretaria da Pós-graduação e Secretaria-Geral do DQI;

À Cleusa de Fátima Silva, técnica do Laboratório de Análise Química de Aguardentes, pelo apoio técnico e moral, colaboração na realização de todas as análises durante o período de formação;

À Maria Luísa Teixeira, Anelize e Lucilene, pela ajuda na análise estatística e espectrofotométrica, pelo convívio, incentivo e amizade;

Aos colegas do Laboratório de Análise Química de Aguardente do DQI, Wilder, Gabriel, Renan, Gustavo, Richard, Felipe, Francielle, Rafaela Zenniti, Natalia, pela amizade, convivência e colaboração durante o curso;

Aos colegas do Laboratório de Química Orgânica e Óleos Essenciais, Karen, Alex, Allan, Luana, Maisa, Rafaela Brandão, Rafaela Vieira, Danúbia, Vanúzia, Jéssica, Eduarda, Letícia;

Aos colegas do Laboratório de Mineralogia do DCS, Anderson Araújo, Ediu Carlos, Josemar Lessa, Juliana (em memória), Jeslin, Adnan, Aline, Leandro, Rodrigo, Franciele Lima, Matias Siueia, pelo convívio e amizade;

A todos os funcionários do DQI, DCS, pela convivência durante estes anos de formação;

A todos os colegas da Pós-graduação do DQI/UFLA;

Aos colegas Moises Ngome e Rogério Romão, pela amizade, apoio moral, pela força que me transmitiram durante o período mais difícil desta etapa;

Ao Prof. Dr. André Eduardo Gulube, Antigo Diretor da UP-Massinga, pelo seu parecer favorável, aprovando a minha saída ao Brasil, para a continuação dos meus estudos no nível de Doutorado;

Ao senhor Ivo Rosa de Paula e família, pela amizade, carinho e convivência que proporcionaram, no período da minha formação;

Aos produtores de aguardentes da Manhiça, Mafambisse, Beira (Vila-Massane) Chimoio (Bairro da Soalpo), Massinga (Muvamba), pela cessão das amostras e pela vossa colaboração;

A todos que direta ou indiretamente contribuíram e participaram desta trajetória acadêmica, desde a minha vinda ao Brasil até a conclusão da minha formação no Curso de Agroquímica.



## RESUMO

Em Moçambique, o agronegócio da produção de aguardente vem ganhando espaço entre os pequenos produtores, influenciando a economia local e do país, gerando empregos e rentabilidade. A aguardente é uma bebida alcoólica obtida do mosto fermentado e destilado de cana-de-açúcar ou diferentes matérias-primas (frutas ou tubérculos), com grau alcoólico entre 38% e 54% v/v a 20 °C. No Brasil, a sua composição química e os requisitos de qualidade são subordinados à uma legislação sob responsabilidade do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa). Os objetivos deste trabalho foram analisar a qualidade físico-química de aguardentes produzidas nas regiões Centro e Norte de Moçambique, segundo os Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ's) estabelecidos pela Legislação Brasileira e compará-las com amostras brasileiras, coletado aleatoriamente de diferentes produtores de Minas Gerais/Brasil. As amostras foram coletadas nas regiões de Xinavane, Manhiça, Chokwe, Beira, Mafambisse, Massingae e Chimoiio de Moçambique. Todas as amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Análise Físico-Química de Aguardente do Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras (LAFQA/DQI). Foram avaliados os parâmetros grau alcóolico, acidez volátil, álcoois superiores, aldeídos, ésteres, metanol, furfural, compostos voláteis, glicerol e elementos traço. Os álcoois superiores foram caracterizados e quantificados por cromatografia em fase gasosa e os compostos voláteis, por cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (GC-MS), na Central de Análise e Prospecção Química (CAPQ/DQI/UFLA). Na identificação dos compostos voláteis, empregou-se a técnica de microextração em fase sólida (SPME) por *headspace*. Os resultados mostraram que as aguardentes moçambicanas produzidas com diferentes matérias-primas (cereais, cana-de-açúcar e frutas), comparadas entre si e com as aguardentes brasileiras, apresentaram concentrações muito variadas dos componentes quantificados. Em relação aos padrões exigidos pela Legislação Brasileira para as aguardentes/cachaças, a maior parte das amostras moçambicanas está fora dos limites máximos estabelecidos para grau alcóolico, acidez volátil, furfural, metanol, prejudicando, desse modo, a sua qualidade, ao passo que as aguardentes brasileiras analisadas no presente estudo obedeceram aos Padrões de Identidade e Qualidade, sendo estas criteriosamente controladas pelo Ministério de Agricultura Pecuária e Abastecimento do Brasil. Verificaram-se baixas concentrações de glicerol nas amostras estudadas. Os teores dos metais determinados revelaram uma contaminação das amostras moçambicanas por metais, como cobre (ND a 34,83 mg L<sup>-1</sup>), chumbo (600 a 3660 µg L<sup>-1</sup>), zinco (ND a 23,01 mg L<sup>-1</sup>) e ferro (ND a 0,04 mg L<sup>-1</sup>). Não foi detectada em nenhuma das amostras a presença de cádmio e cromo. Dos resultados obtidos, foram identificados 35 compostos voláteis nas aguardentes moçambicanas, dos quais 19 eram ésteres que contribuem para as características

sensoriais da bebida. Os resultados encontrados para os parâmetros estudados mostraram-se adequados para a finalidade da pesquisa, podendo estimular os produtores sobre as condições de produção e os riscos envolvidos para alcançar uma aguardente de boa qualidade.

Palavras-chave: Aguardente de Moçambique, perfil físico-químico, contaminantes inorgânicos, compostos voláteis, SPME.

## ABSTRACT

In Mozambique, the agribusiness involving the production of distilled spirits has been gaining ground among small producers, influencing the local economy and the country, and generating jobs and profits. The distilled spirit is an alcoholic beverage obtained from fermented and distilled sugarcane must or other raw materials (fruits or tubers), with an alcoholic strength between 38% and 54% v/v at 20 °C. In Brazil, the chemical composition and quality requirements are regulated by the Ministry of Agriculture, Livestock and Food Supply (MAPA). The objectives of this work were to analyze the physicochemical quality of spirits produced in the Central and Northern regions of Mozambique, according to the Identity and Quality Standards (PIQ's) established by Brazilian legislation and to compare them with Brazilian samples, randomly collected from different producers in Minas Gerais, Brazil. The Mozambique samples were collected in the regions of Xinavane, Manhiça, Chokwe, Beira, Mafambisse, Massingae and Chimoio de Moçambique. All the samples were sent to the Laboratory of Physical and Chemical Analysis of Spirits of the Department of Chemistry of the Federal University of Lavras (LAFQA/DQI). These parameters were evaluated: alcohol concentration, volatile acidity, higher alcohols, aldehydes, esters, methanol, furfural, volatile compounds, glycerol and trace elements. The higher alcohols were characterized and quantified by gas chromatography, and the volatile compounds by gas chromatography coupled to a mass spectrometer (GC-MS) at the Center for Chemical Analysis and Prospecting (CAPQ/DQI/UFLA). The solid phase microextraction of the headspace (SPME) was used for the identification of the volatile compounds. The concentrations of the quantified components in the Mozambican spirits produced from different raw materials (cereals, sugar cane and fruits) and in the Brazilian spirits varied greatly. Regarding the standards required by the Brazilian legislation for spirits/cachaças, most Mozambican samples were found to be outside the maximum limits established for alcohol concentration, volatile acidity, furfural, and methanol, whereas Brazilian spirits analyzed in the present study were within the limits of the Identity and Quality Standards, as they are carefully controlled by the Ministry of Livestock, Agriculture and Supply in Brazil. Low concentrations of glycerol were found in the samples studied. Contamination of the Mozambican samples by metals such as copper (ND at 34.83 mg L<sup>-1</sup>), lead (600 to 3660 µg L<sup>-1</sup>), zinc (ND at 23.01 mg L<sup>-1</sup>), and iron (ND at 0.04 mg L<sup>-1</sup>) was found. The presence of cadmium and chromium was not detected in any of the samples. Of the results obtained, 35 volatile compounds were identified in Mozambican spirits, of which 19 were esters, which contribute to the sensorial characteristics of the beverage. The results found for the parameters were adequate for the purpose of the research, which was

to stimulate the producers to improve the conditions of production and to recognize the risks involved in producing a high quality brand of spirits.

**Keywords:** Mozambican spirits, physicochemical profile, inorganic contaminants, volatile compounds, SPME.

## LISTA DE FIGURAS

### PRIMEIRA PARTE

Figura 1. Macrorregiões de Moçambique.....	27
Figura 2. Mosto fermentado .....	41
Figura 3. Diferentes formas de destilação. ....	42
Figura 4. Principais países compradores de cachaça no ano de 2017. ....	46
Figura 5. Fluxograma do processo de produção de aguardente/cachaça. ....	49
Figura 6. Processo de destilação em alambique de cobre.....	56
Figura 7. Processo de destilação em Coluna.....	56
Figura 8. Fórmula estrutural do glicerol.....	62
Figura 9. Produção de Glicerol a partir de DHAP .....	63
Figura 10. Fórmula estrutural do acetaldeído .....	64
Figura 11. Via metabólica de formação de acetaldeído.....	65
Figura 12. Fórmula estrutural do carbamato de etila.....	69
Figura 13. Fórmula estrutural da acroleína.....	72
Figura 14. Fórmula estrutural do furfural e hidroximetilfurfural.....	74
Figura 15. Fórmula estrutural do butan-1-ol e do butan-2-ol. ....	75

### ARTIGO 1

Figure 1. Chromatogram of higher alcohols and metanol.....	104
--	-----

### ARTIGO 2

Figure 1. Representative chromatogram of the volatile compounds of one of the samples analyzed.....	126
---	-----

## LISTA DE TABELAS

### ARTIGO 1

Table 1.	Description of the samples by place of origin and raw material.....	101
Table 2.	Total volatile acidity, aldehydes, copper and ester concentrations of distilled spirits collected in Mozambique and Minas Gerais.....	105
Table 3.	Mean concentrations of ethanol, methanol and higher alcohols in the spirits collected in Mozambique and Brazil.....	108

### ARTIGO 2

Table 1.	Descrimination of the samples by location of origin and raw material used.....	119
Table 2.	Volatile compounds identified in Mozambican spirits samples HS-SPME-GC-MS.....	123
Table 3.	Concentrations (mean $\pm$ standard deviation) of glycerol in the samples studied.....	128
Table 4.	Profile of the trace elements in distilled spirits collected in Mozambique.....	130

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Evolução da produção, exportação e consumo interno do açúcar (toneladas) em Moçambique.....	32
Quadro 2. Padrões de Identidade e Qualidade (PIQs) para Cachaça e Aguardente de cana.....	48
Quadro 3. Limites estabelecidos pelo Canadá para teores de carbamato de etila em bebidas alcólicas.....	70

## LISTA DE ABREVIATURAS

%v/v - porcentagem volume/ volume

µg/L - micrograma por litro

µM- micrômetro

°C - grau Célsius

°GL – grau Gay Lussac

°Brix - grau brix

r - coeficiente de correlação

mL - mililitro

UV-Vis - Espectroscopia de Absorção Molecular na Região do Ultravioleta e Visível

mg - miligrama

mg/L - miligrama por litro

aa - álcool anidro

nm - nanômetro

kg - quilograma

g - grama

ha - hectare



## LISTA DE SIGLAS

Abrabe - Associação Brasileira de Bebidas  
CE - Carbamato de Etila  
Mapa - Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento.  
pH - Potencial Hidrogeniônico  
CG/FID - Gas Chromatography/ Flame Ionization detector  
GC/MS - Gas Chromatography/ Mass Spectrometer  
TCD - Thermal Ionization Detector  
FID - Flame Ionization Detector  
HPLC - High Performance Liquid Chromatography  
TLC - Thin-layer Chromatography  
DNA - Deoxyribonucleic Acid  
RNA - Ribonucleic Acid  
DQI - Departamento de Química  
DCS - Departamento de Ciência de Solo  
Anvisa - Agencia Nacional de Vigilância Sanitária  
ATP - Trifosfato de Adenosina  
NADH - Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo  
OMS - Organização Mundial de Saúde  
OMA - Official Methods of Analysis  
Proagri - Programa Nacional de Desenvolvimento de Agricultura de Moçambique  
FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations  
EUA - Estados Unidos da América  
PIQ's - Padrões de Identidade e Qualidade  
Ibrac - Instituto Brasileiro da Cachaça  
Sebrae - Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas  
INIA - Instituto Nacional de Investigação Agronômica  
MAE - Ministério de Administração Estatal  
MG - Minas Gerais  
INE - Instituto Nacional de Estatística  
IESE - Instituto de Estudos Sociais e Econômicos  
GDM - Governo de Moçambique  
EFSA – European Food Safety Authority  
FMI - Fundo Monetário Internacional  
SADC - Comunidade para o Desenvolvimento da África Austral

Conab - Companhia Nacional de Abastecimento  
Parpa - Plano de Alívio e Redução da Pobreza Absoluta  
TIA- Trabalho de Inquérito Agrícola  
PIB - Produto Interno Bruto  
MTC - Ministério dos Transportes e Comunicações  
ACP - África Caraíbas e Pacífico  
AdX - Açucareira de Xinavane  
FDA - Food and Drug Administration  
SPME - Microextração em Fase Sólida  
SPE - Extração em Fase Sólida  
Tr - Tempo de Retenção  
WHO - World Health Organization  
IARC - International Agency for Research on Cancer  
CAPQ - Centro Analítico para Prospecção de Química  
DHAP - Dihidroxiacetona Fosfato  
ATSDR - Agency for Toxic Substances and Disease Registry

## SUMÁRIO

### PRIMEIRA PARTE

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>22</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>23</b>
2.1 Bebidas Alcoólicas .....	23
2.2 Características naturais de Moçambique.....	25
2.3 Características socioeconômicas de Moçambique .....	29
2.4 Produção de cana-de-açúcar em Moçambique .....	31
2.5 Produção de Aguardente em Moçambique .....	34
2.5.1 Legislação e Mercado .....	36
2.5.2 Consumo de bebidas alcoólicas .....	38
2.5.3 Fermentação e destilação de bebidas alcólicas em Moçambique .....	40
2.5.4 Envelhecimento.....	43
2.6 Produção da Aguardente/cachaça no Brasil .....	43
2.6.1 Processo de Produção.....	49
2.7 Compostos secundários e contaminantes nas aguardentes .....	59
2.7.1 Álcoois superiores.....	60
2.7.1.1 Glicerol.....	62
2.7.1.2 Aldeídos .....	64
2.7.1.3 Ésteres .....	65
2.7.1.4 Ácidos carboxílicos.....	67
2.7.2 Contaminantes orgânicos .....	67
2.7.2.1 Metanol .....	67
2.7.2.2 Carbamato de etila (CE).....	68
2.7.2.2.1 Propostas para a diminuição do carbamato de etila em alimentos e bebidas .....	71

2.7.2.3 Acroleína.....	72
2.7.2.4 Furfural.....	73
2.7.2.5 Butan-1-ol e butan-2-ol.....	75
2.7.3 Contaminantes inorgânicos.....	76
2.7.3.1 Cobre.....	76
2.7.3.2 Arsênio e Chumbo.....	79
2.7.3.3 Cádmio, Cromo e Zinco.....	80
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>83</b>
<b>SEGUNDA PARTE – ARTIGOS.....</b>	<b>96</b>
<b>ARTIGO 1: PHYSICOCHEMICAL AND CHROMATOGRAPHIC PROFILES OF DISTILLED SUGARCANE SPIRITS PRODUCED IN MOZAMBIQUE.....</b>	<b>97</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>98</b>
<b>1. INTRODUCTION.....</b>	<b>99</b>
<b>2. MATERIAL AND METHODS.....</b>	<b>100</b>
2.1 Sample collection.....	100
2.2 Physicochemical analysis.....	101
2.3 Chromatographic Analyzes (GC-FID).....	103
2.3.1 Determination of higher alcohols and metanol.....	103
<b>3. RESULTS AND DISCUSSION.....</b>	<b>104</b>
<b>4. CONCLUSIONS.....</b>	<b>111</b>
<b>ACKNOWLEDGEMENTS.....</b>	<b>112</b>
<b>REFERENCES.....</b>	<b>112</b>
<b>ARTIGO 2: IDENTIFICATION OF VOLATILE COMPOUNDS, QUANTIFICATION OF GLYCEROL AND OF TRACE ELEMENTS IN DISTILLED SPIRITS PRODUCED IM MOZAMBIQUE.....</b>	<b>115</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>116</b>
<b>1. INTRODUCTION.....</b>	<b>117</b>
<b>2. MATERIAL AND METHODS.....</b>	<b>118</b>
2.1 Sample.....	118

2.2 Identification of volatile organic compounds .....	119
2.3 Quantification of glycerol.....	121
2.4 Determination of trace elements .....	121
2.5 Statistical design .....	122
<b>3. RESULTS AND DISCUSSION .....</b>	<b>122</b>
<b>CONCLUSION .....</b>	<b>133</b>
<b>ACKNOWLEDGEMENTS.....</b>	<b>134</b>
<b>REFERENCES .....</b>	<b>134</b>
<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>138</b>
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>139</b>
<b>ANEXO.....</b>	<b>140</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Em Moçambique, a indústria de açúcar é considerada uma história de sucesso, contribuindo com benefícios significativos para o desenvolvimento do país em termos econômicos, sociais e ambientais.

Devido à existência de diversas indústrias açucareiras, criadas a partir da colonização realizada pelos portugueses, a produção de aguardente tornou-se uma prática comum em várias cidades e vilas. Infelizmente, a maioria dos produtores não atendem às exigências da qualidade desta bebida, bem como a sua legislação que, quando dentro dos padrões, apresentam uma massificação, rentabilidade e desenvolvimento desse tipo de agronegócio.

Como forma de dinamizar este agronegócio da aguardente em Moçambique, para que se torne um dos investimentos que poderá crescer no país, há necessidade de se estabelecer uma legislação que cumpra com as exigências dos padrões, para que ela seja considerada como tal e que não ocasione problemas de saúde para os consumidores. Dentre as bebidas destiladas produzidas em Moçambique, encontram-se a Nipa, o Thonthonto e a Nika, produzidas respectivamente nas regiões Central, Sul e Norte do país. Estima-se que existam outras, tendo em conta as diversidades de produção e as características da própria bebida em diferentes regiões de Moçambique.

A deficiência de condições materiais de produção, a falta de capacitação técnica em relação às boas práticas de fabricação e a falta de higiene nos locais de fabricação constituem um entrave para o controle da produção e qualidade da própria bebida. Aliada a isso, está a questão da falta de legislação que regule a fiscalização e padronização dessa atividade.

Em Moçambique, a informação científica sobre a produção de bebidas tradicionais (artesaniais) ainda é muito escassa. Apesar de a cadeia produtiva dessas bebidas não ser homogênea, constata-se que os produtores precisam de

conhecimentos técnicos relacionados às normas e procedimentos, a fim de melhorar a qualidade da sua bebida.

A aquisição do conhecimento científico associa-se ao desenvolvimento de novas tecnologias. Nesse contexto, o estudo da qualidade físico-química das aguardentes de Moçambique, a partir da aplicação de métodos analíticos já padronizados, irá permitir quantificar melhor os componentes existentes nessas bebidas e abrir novas perspectivas para a investigação nessa área no país.

Apesar da importância econômica e social da aguardente produzida em Moçambique, não existem trabalhos científicos no país que abordem o assunto. Sabe-se que a qualidade e o controle da aguardente são características que estão integradas à sua importância; concomitantemente, exigem a realização de análises laboratoriais, visando a conhecer a sua composição tanto inorgânica como orgânica. A produção das aguardentes com qualidade, produzidas em Moçambique, baseando-se nos Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ's) estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA/Brasil), levarão a um produto padronizado, influenciando na economia do país e não causando danos à saúde do consumidor. Assim, os objetivos deste trabalho foram avaliar a qualidade físico-química e identificar os compostos voláteis por cromatografia de aguardentes de diferentes cidades moçambicanas, comparando-as com amostras coletadas aleatoriamente em estabelecimentos do Brasil, seguindo a Legislação Brasileira vigente.

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Bebidas Alcoólicas**

Os primeiros relatos sobre a fermentação vêm dos egípcios antigos, os quais buscavam curar várias moléstias inalando os vapores líquidos aromatizados e fermentados. Posteriormente, os gregos registraram o processo de produção da

*áqua ardens* (*Al Kuhu*), ou melhor, água que pega fogo. Os alquimistas atribuíram à *áqua ardens* propriedades místico-medicinais, sendo essas consideradas um meio de aumentar a longevidade. A expansão do Império Romano levou a aguardente da Europa para o Oriente Médio. Os árabes desenvolveram os primeiros equipamentos para a destilação, similares aos utilizados atualmente. O destilado muda de nome, de *Al Kuhu*, para *Al Raga*, dando origem ao *Arak*, bebida resultante de uma mistura de licores de anis (Sebrae, 2008).

Dados de Montenegro (2009) mostram que, a partir dos séculos XVI e XVII, o mercado de bebidas destiladas começou a crescer no continente europeu com a fabricação de bebidas obtidas do mosto de cereais e frutas: a vodca produzida do centeio; do bagaço das uvas que sobravam da fabricação do vinho produzia-se a *grappa* e o uísque era originado da cevada maltada. No Japão, o saquê foi obtido do arroz e, no Brasil, produziu-se a cachaça utilizando-se a cana-de-açúcar.

O processo de produção de bebidas alcoólicas consiste na transformação de açúcares existentes em alguns produtos (frutas e cereais), em álcool etílico e dióxido de carbono, pela ação de determinados microrganismos, na maioria leveduras. Esse processo é denominado fermentação alcoólica e, como todas as reações bioquímicas, realiza-se por meio da ação de certas enzimas que promovem a transformação das moléculas de açúcar em álcool (LEHNINGER; NELSON; COX, 2011). De acordo com a Lei nº 8.918, de 14/07/1994, a bebida alcoólica é um produto refrescante, aperitivo ou estimulante destinado à ingestão humana no estado líquido, sem finalidade medicamentosa e contendo mais de meio grau Gay-Lussac de álcool etílico potável. (BRASIL, 1994).

O Decreto nº 6.871 de 4/06/2009 do Mapa (BRASIL, 2009), regulamenta a Lei nº 8.918, de 14/07/1994 e classifica as bebidas alcoólicas como bebida alcoólica fermentada (obtida por processo de fermentação alcoólica como a cerveja e vinho); bebida alcoólica destilada (obtida por processo de fermento-



destilação, pelo rebaixamento do teor alcoólico do álcool etílico potável de origem agrícola ou pela padronização da própria bebida alcoólica destilada (como cachaça, rum, uísque e conhaque); bebida alcoólica retificada (obtida por processo de retificação do destilado alcoólico, pelo rebaixamento do teor alcoólico do álcool etílico potável de origem agrícola ou pela padronização da própria bebida alcoólica retificada, como vodca e gim). Com isso, podem-se encontrar aguardentes de frutas como laranja, uva e banana; aguardentes de cereais como cevadas, milho e arroz; aguardentes de raízes e tubérculos como beterraba, mandioca e batata; aguardente de colmos como cana-de-açúcar e bambu.

Tanto a cachaça produzida industrialmente como a de alambique de cobre devem seguir os padrões de identidade e qualidade da bebida, atendendo às disposições legais contidas na Instrução Normativa de nº13, de 30/06/2005, alterada pela Instrução Normativa de nº 58, de 19/11/2007; posteriormente, pela Instrução Normativa de nº 27, de 15/05/2008 e ultimamente pela Instrução Normativa nº 28, de 08/08/2014 do Mapa (BRASIL, 2005a; BRASIL, 2014).

Em Moçambique, o decreto 54/2013 regulamenta a produção e comercialização de bebidas alcoólicas, tendo classificado em: “bebidas alcoólicas fermentadas e depois destiladas” e “bebidas fermentadas e depois filtradas”. A bebida alcoólica seria toda bebida de fabricação industrial ou caseira (tradicional) que, por fermentação, destilação ou adição, contenha um teor alcoólico superior a 0,5% v/v (CONSELHO DE MINISTROS, 2013).

## **2.2 Características naturais de Moçambique**

Moçambique é um país com uma extensa costa de terras baixas que formam uma das maiores planícies costeiras da África, ao Sul do Equador com uma superfície de mais de 200.000 km<sup>2</sup> (INIA, 1993). Está localizado na costa sudeste da África, situado entre os paralelos 10° 27' e 26° 52' de latitude sul e entre os meridianos 30° 12' e 40° 51' de longitude leste. Faz fronteira a norte com a

Tanzânia, a noroeste com o Malawi e a Zâmbia, a oeste com o Zimbabwe e a África do Sul, sendo ao leste banhado pelo Oceano Índico (MAE, 2011).

Tem aproximadamente 799.380 km<sup>2</sup> de território, dos quais cerca de 98% consistem em terra firme e 2% de águas interiores, possuindo atualmente cerca de 24 milhões de habitantes, dos quais 70% vivem em zonas rurais, distribuídos em 11 províncias (estados): quatro na região sul, quatro na região central e três na região norte do país (MAFALACUSSER, 2013). A Figura 1 apresenta a divisão administrativa de Moçambique por macroregiões, sendo a primeira vinculada ao Corredor de Nacala ao norte e localizada entre os paralelos 13°S e 17°S, e abrangendo as províncias de Nampula, Niassa, Cabo Delgado; a segunda, vinculada ao Corredor de Beira no centro e situada entre os paralelos 17°S e 21°S, e abrangendo as províncias de Sofala, Manica, Tete e Zambézia; e a terceira, vinculada ao Corredor de Maputo ao sul, localizada entre os paralelos 21°S e 27°S e abrangendo as províncias de Maputo, Gaza e Inhambane (RONQUIM, 2010).

Figura 1. Macrorregiões de Moçambique



Fonte: RONQUIM, 2010

Em relação à vegetação, essencialmente, destacam-se três tipologias: a floresta densa, floresta aberta e a savana, ao passo que, em regiões costeiras, ocorre o mangal; contudo, a savana predomina em grande parte do território nacional (METIER, 2004).

A morfologia do litoral é caracterizada por áreas baixas, com altitude até cerca de 200 m acima do nível médio do mar. A linha da costa é caracterizada por

extensões intermitentes de praias arenosas, dunas recentes e lagoas e baías costeiras, na zona sul; por extensa e densa vegetação e pântanos de mangal, no centro; por recifes de coral, praias rochosas e ilhas, no norte. Pode-se identificar três zonas hidrogeológicas distintas ao longo da costa moçambicana, que são: (i) costa dunar, característico da zona sul do rio Save, onde as áreas porosas depositadas por agentes eólicos formam um aquífero freático regional. A permeabilidade dos solos diminui da costa para o interior, à medida que os solos se tornam ricos em argila; (ii) planícies aluviais que se desenvolveram ao longo dos principais rios, característicos da zona centro; e (iii) terras vulcânicas, que marcam a fronteira entre o mar e a terra, características da zona norte (HOGUANE, 2007).

A topografia no norte é montanhosa, com orografia acentuada, e planaltos baixos, enquanto o sul é caracterizado por planícies. No norte, a população está mais dispersa, enquanto no sul é distribuída em torno dos centros urbanos. O norte depende da mineração e das culturas agrícolas de exportação e o sul depende mais da indústria, sendo que a agricultura continua a ser a atividade base para a maioria da população moçambicana em toda a extensão do território (MILLENIUM BCP, 2014).

Devido às condições geológicas e climáticas diferenciadas entre as suas regiões, o país apresenta maior predominância de solos argilosos, como os luvissoles. Na região central, apresenta solos do tipo neossolo fluvico, com uma fertilidade elevada ao longo da bacia do rio Zambeze e na região sul encontram-se solos de baixa fertilidade e baixo poder de retenção da água. Contrariamente, ao longo dos vales dos rios Incomati, Limpopo e Save, encontram-se solos com maior fertilidade (MAFALACUSSER, 2013).

O clima de Moçambique varia de subtropical no sul a tropical no centro e norte. A maioria do país recebe anualmente um valor superior a 400 mm de precipitação, sendo que as estações chuvosas decorrem de outubro a abril. Nas

zonas costeiras, a pluviosidade pode atingir patamares de 900 mm por ano. O norte é mais úmido, exceto na região do Alto Zambeze, em Tete, que é mais seco e quente (MILLENNIUM BCP, 2014).

O país possui duas estações bem definidas, a quente e chuvosa entre outubro a março, e a fria e seca entre abril a setembro. A chuva é forte no litoral e nas regiões centro e norte. A precipitação média mensal varia de 78 a 83 mm, sendo os meses de dezembro, janeiro e fevereiro os mais chuvosos, com precipitação mensal de 180,3 mm, e junho, julho e agosto os meses com precipitação mais baixa (13,8 mm mensais). As chuvas são mais frequentes nas zonas de alta altitude, nas regiões norte. O máximo de chuva que pode cair num dia chega a 47 mm nos meses mais chuvosos. As variações nos padrões de circulação oceânica influenciam a precipitação do país (MCSWEENEY; NEW; LIZCANO, 2010).

Cerca de 70% do total da população de Moçambique vivem na zona rural e dedicam-se à agricultura, caracterizada quase que integralmente pela agricultura familiar de subsistência e praticada principalmente pelas mulheres. Aproximadamente 68,2% do território moçambicano (cerca de 540 mil km<sup>2</sup>) é recoberto por savanas tropicais, similares às terras da região de savana da África Subsaariana, a qual é reconhecidamente semelhante aos cerrados brasileiros (BOLFE et al. 2011).

### **2.3 Características socioeconômicas de Moçambique**

Moçambique dispõe de recursos minerais que são tidos como principais fontes de receitas. Entre elas, citam-se a bauxita, ouro e pedras preciosas, além da sua economia sobreviver de extração de gás natural, exploração de madeira e turismo. Outro setor importante para a economia do país concentra-se no cultivo do algodão, de atividades pesqueiras (principalmente a de camarão), agricultura (sobretudo, orientadas para a sobrevivência, com principais produtos, milho,

mandioca, cana-de-açúcar, etc.) e tabaco para a exportação (MILLENIUM BCP, 2014).

Mas, apesar do elevado potencial de crescimento de Moçambique, preveem-se riscos no futuro, particularmente relacionados com a posse da terra e o ambiente. Para isso, uma série de políticas e estratégias foi implementada nos últimos sete anos, em todas as áreas relacionadas às causas da pobreza nos diferentes setores (saúde, agricultura, segurança alimentar, obras públicas, ação social, etc). Porém, a pobreza começa a ser um fator subjacente (IESE, 2010, UNICEF, 2011).

*O plano Quinquenal do Governo (2015-2019) de Moçambique* centra a sua ação governativa à luz do combate à pobreza e à melhoria das condições de vida do povo moçambicano, buscando “*eleva as condições de vida da população através da transformação estrutural da economia, expansão e diversificação da base produtiva*” (GDM, 2014).

Tradicionalmente, a base da alimentação da maioria dos moçambicanos são os cereais e tubérculos (que representam 80% do contributo energético) e alguns legumes, folhas verdes, feijão, amendoim, coco e peixe nas zonas costeiras (FIDALGO et al. 2011). Além de fatores culturais, o consumo alimentar é influenciado por fatores socioeconômicos, como a renda e escolaridade. Os indivíduos com baixa escolaridade e renda têm um consumo mais inadequado de nutrientes, pois esses fatores podem limitar o acesso e a compra de alimentos mais nutritivos (LALLUKKA et al. 2010; MONSIVAIS et al. 2012; PIPLE et al. 2015).

O desemprego e a fraca qualificação da mão de obra têm implicações econômicas e sociais negativas, devido ao fato de a economia ser dependente da utilização de novas tecnologias. A falta de qualificação dificulta a ocupação dos postos de trabalho criados, o que, conseqüentemente, favorece a manutenção de altas taxas de desemprego (CONSELHO DE MINISTROS, 2006).

Segundo o estudo do Millenium bcp (2014), intitulado “*MOÇAMBIQUE: Internacionalização da economia moçambicana*”, nos últimos 10 anos a economia moçambicana tem registado taxas de crescimento robustas, entre 6% e 8%, consistentemente acima da média dos países subsaarianos. Entretanto, de acordo com o Fundo Monetário Internacional (FMI), o dinamismo da atividade em Moçambique deverá continuar a superar o das principais economias africanas, nomeadamente as que pertencem à comunidade para o Desenvolvimento da África Austral (SADC), na qual Moçambique está incluído.

#### **2.4 Produção de cana-de-açúcar em Moçambique**

A cana-de-açúcar constitui uma das principais culturas desenvolvidas no país, e tem registado um crescimento progressivo nos últimos anos, resultado do desenvolvimento das usinas açucareiras do país, dos avultados investimentos realizados pelas usinas açucareiras na sua reabilitação, melhoria de gestão e da eficiência e dos programas de expansão em curso, sobretudo na usina de Xinavane, localizada na província de Maputo, região sul de Moçambique (CEPAGRI, 2010).

A cana-de-açúcar é uma cultura estratégica para Moçambique, pois é a partir dessa que se extrai o açúcar que, por sua vez, contribui significativamente na arrecadação de divisas pela via das exportações, sendo que majoritariamente vai para o mercado europeu. No contexto das exportações nacionais, esse produto se posiciona no quinto lugar, correspondendo em termos monetários a 34% das receitas de exportação dos produtos agrícolas (MTC, 2015).

Moçambique tem uma população de cerca de 24 milhões de habitantes, um produto interno bruto estimado em USD 12 bilhões, um PIB per capita de USD 600 por ano e uma taxa de crescimento de 7% (MTC, 2015). Com isso, a economia moçambicana está em crescimento, contribuindo para o correspondente no consumo global, incluindo o açúcar, perante uma procura mundial do mesmo

produto, também tendencialmente crescente (MTC, 2015). O Quadro 1 mostra a evolução da produção, exportação e consumo interno do açúcar em Moçambique.

Quadro 1. Evolução da produção, exportação e consumo interno do açúcar (toneladas) em Moçambique.

Descrição	2010	2011	2012	2013	2014
Produção	281.726	387.754	396.719	383.126	424.988*
Exportação	107.989	197.419	265.030	317.705	
Consumo Interno	173.737	190.335	131.689	65.421	

Fonte: MTC, 2015. \*Produção estimada

Em Moçambique, o cultivo da cana-de-açúcar foi introduzido no final do século XV, com a chegada dos portugueses liderados por Vasco da Gama, que trouxeram a cana-de-açúcar do sudoeste asiático. Porém, a produção para fins comerciais, teve seu início em 1908, com o estabelecimento das propriedades de cana no Rio Zambeze e no vale do Búzi, região central do país. Em 1914, foram estabelecidos campos de plantação em Xinavane, nas margens do Rio Incomate. Seis anos depois, surgiram os plantios de Marromeu e de Luabo (região central do país), e posteriormente, as plantações de Maragra (sul do país) e as plantações de Mafambisse (centro do país), que tiveram sua implantação no final de década de 1960 (JELSMA; BOLDING; SLINGERLAND, 2010).

Os altos investimentos na indústria açucareira do país tornaram o açúcar o terceiro maior produto de exportação de Moçambique no início da década de 1970, com uma produção média anual de 300.000 toneladas (JELSMA; BOLDING; SLINGERLAND, 2010).

A produção de cana-de-açúcar encontra-se distribuída ao longo de todo o país, correspondendo aproximadamente 1% do total das explorações agrícolas, sendo que grande parte da área ocupada se encontra nas pequenas propriedades.



Quando se fala em produção da cana-de-açúcar em Moçambique, refere-se à produção comercial liderada pelas indústrias de processamento espalhadas pelo país em número de seis, sendo um em estado inoperacional, localizada na Província da Zambézia, três em Sofala, das quais dois se encontram operacionais e dois operacionais na Província de Maputo. A capacidade total instalada é de cerca de 550 mil toneladas (MTC, 2015).

Existem atualmente em Moçambique empresas nacionais que operam no setor canavieiro, nomeadamente a açucareira de Mafambisse, Maragra, Marromeu e Xinavane, desenvolvendo atividade agroindustrial (produção da cana-de-açúcar e processamento do açúcar). A açucareira de Xinavane é a maior empresa do setor no país, inicialmente designada por Incomate Estate. Foi fundada por uma empresa de capital britânico em 1914, e adquirida por uma empresa portuguesa nos anos de 1950. Após a independência, o governo moçambicano passou a gerir 51% das ações (JELSMA; BOLDING; SLINGERLAND, 2010).

O’Laughlin e Ibraimo (2013) mostraram que, em Xinavane e Magude e, atualmente, em Moamba, ocorreu uma rápida expansão da produção da cana-de-açúcar pela empresa Açucareira de Xinavane (AdX). Essa empresa continua se expandindo, não só com a terra, mas também com o surgimento de associações locais. Como consequência, ocorreu uma substituição da produção de comida nas terras férteis para a produção de açúcar, na zona baixa, ao longo do Vale de Incomate, que é uma área fértil, ocupada por plantações de cana-de-açúcar.

Em Moçambique, a Tongaat Hulett está atualmente a explorar as usinas açucareiras de Xinavane e Mafambisse. Com base no investimento na modernização da fábrica e reabilitação da propriedade, os investimentos realizados pela empresa no complexo industrial da AdX aumentaram a capacidade de moenda de cana-de-açúcar. Como consequência desse investimento, para poder abastecer a fábrica com matéria-prima suficiente, a AdX teve que expandir a produção de cana-de-açúcar a partir de uma combinação da produção das suas

próprias terras, das associações de pequenos produtores e de produtores privados independentes. Esses investimentos visavam, essencialmente, a aproveitar a abertura do mercado da União Europeia à colocação a preços preferenciais do açúcar produzido nos países membros do grupo África, Caraíbas e Pacífico (ACP) (O'LAUGHLIN; IBRAIMO, 2013).

O Governo de Moçambique e a usina açucareira de Xinavane estimulam a participação de pequenos agricultores na produção da cana-de-açúcar, com vista a promover o desenvolvimento rural e o crescimento econômico da camada mais pobre, por meio do Programa Nacional de Desenvolvimento Agrícola de Moçambique (PROAGRI). Como elemento para a motivação desses agricultores, é ofertada assistência técnica, incluindo o fornecimento de todos os insumos agrícolas necessários para a produção de cana-de-açúcar (JELSMA; BOLDING; SLINGERLAND, 2010).

## **2.5 Produção de Aguardente em Moçambique**

Em Moçambique, a produção de bebidas destiladas relaciona-se à história da colonização pelos portugueses e pela sua antiga colônia. Segundo Capela (1995), a produção e o consumo do álcool, durante a colonização portuguesa, foi um dos motivos de conflitos entre os portugueses e moçambicanos, em relação ao poder e à autoridade, uma vez que os portugueses já dominavam as técnicas de produção de bebidas destiladas.

A aguardente era um dos elementos culturais para o povo moçambicano e constituía uma identidade cultural e patrimonial; portanto, era necessário construir essa identidade para que não fosse apropriado pelos portugueses. Isso se refletia numa divergência ideológica entre os portugueses e os moçambicanos em matéria de produção de bebidas.

A indústria de bebidas “cafreais” feita por europeus e asiáticos, até o segundo decênio do séc. XX, não apenas criou hábitos e apetência no que diz

respeito ao uso de bebidas alcoólicas, como alterou substancialmente as regras de fabrico e consumo na comunidade aldeã. O vale do Zambeze, Inhambane, Nampula e Quirimbas foram as regiões onde mais cedo se iniciou a produção camponesa de aguardente (MEDEIROS, 1988).

A produção da aguardente vem adquirindo um espaço crescente no mercado moçambicano. Essa bebida apresenta-se como um produto de importância econômica cada vez mais crescente, devido a sua boa aceitabilidade, principalmente para a camada jovem.

A cadeia produtiva encontra-se distribuída em pequenos produtores nas regiões norte, centro e sul e com uma escala de produção muito precária e sem nenhum registro de marcas das aguardentes produzidas. As diferentes formas de produção e o tipo de matéria-prima fazem com que ela tenha uma qualidade diferente em termos de características sensoriais e físico-químicas.

A maior parte da produção é de caráter familiar e com técnicas rudimentares. Ou seja, são famílias que se dedicam à produção da aguardente, sendo o chefe da família (esposo/esposa) o indivíduo que desempenha as atividades de preparo da matéria-prima e processamento, e, na maioria das vezes, a esposa é responsável pela comercialização. Essa forma de produção da aguardente não possui infraestruturas próprias e muito menos o domínio das boas práticas de produção.

Os moçambicanos sempre produziram e consumiram o álcool ao seu bel-prazer. Com a introdução do capitalismo, fixação de portugueses, esses passaram a produzir e importar bebidas da metrópole e introduziam aos poucos no mercado africano. Uma vez que as populações não aderiam ao consumo dessas novas bebidas, a corte portuguesa começou a proibir os moçambicanos de produzir e consumir bebidas caseiras, justificando que os indígenas estavam sempre embriagados e não trabalhavam. Inicia-se assim, uma campanha para pedidos de

instalação de fábricas de cervejas engarrafadas em Lourenço Marques (CAPELA, 1995).

A produção dessas bebidas em Moçambique consiste na fermentação de diversos cereais ou seus farelos simples ou misturados, frutos silvestres ou cultivados e da cana-de-açúcar. Os agentes fermentativos utilizados são levedura, leverina (fermento) ou cereal germinado, seco e, posteriormente, triturado (CASADEI, 1987). De certa forma, também há diferenças quanto à apreciação dessas em relação às outras bebidas alcólicas, recebendo, desse modo, designações diferentes nas referidas regiões; por exemplo, bebidas fermentadas de frutas, cereais e vinho de palma (pombe, Cabhanga, Malcoado, Sura, Ucanhu, Utchema) e bebidas destiladas (Nipa, Xindere, Thonthonto, Katchulima, Ximouana). A adição do açúcar na bebida durante a fermentação é fundamental, com o objetivo de acelerar o processo fermentativo. Muitas vezes, os produtores utilizam como matérias-primas o melaço, cana-de-açúcar, frutas, cereais, como o milho, sorgo, arroz.

### **2.5.1 Legislação e Mercado**

O consumo abusivo de álcool em Moçambique constitui um problema de saúde pública, pois tem afetado um número significativo da população residente nas zonas urbanas e rurais de ambos os sexos. Com isso, o Governo de Moçambique, ao nível do Ministério de Saúde, elaborou uma proposta de lei para o controle da comercialização e do consumo de bebidas alcólicas em Moçambique em 2011. A proposta foi elaborada, objetivando-se reduzir o uso nocivo de bebidas alcólicas, protegendo o indivíduo e a sociedade em geral, de modo que, de maneira contínua e substancial, diminua o impacto desse na saúde e no bem-estar dos moçambicanos; e estabelecer mecanismos necessários de modo a proteger os que não bebem e facilitar o desenvolvimento de programas de assistência às pessoas afetadas pelo uso nocivo de bebidas alcoólicas.

Com a revisão do Código Penal, no ano de 2012, pelo Conselho de Ministros, discutiu-se a necessidade de elaboração de uma lei de criminalização no consumo excessivo de bebidas alcoólicas, uma vez que se constatou ser uma das principais causas de vários acidentes de carro, por causa da condução em estado de embriaguez, das perturbações mentais e comportamentais, do aumento da criminalidade nos bairros e da violência doméstica.

Já em 2013, o Conselho de Ministros decretou a aprovação do regulamento sobre o controle da produção e comercialização de bebidas alcoólicas, tendo dividido as mesmas em: “bebidas alcoólicas fermentadas e depois destiladas” e “bebidas fermentadas e depois filtradas”. A bebida alcoólica seria toda bebida de fabricação industrial ou caseira (tradicional) que, por fermentação, destilação ou adição, contenha um teor alcoólico superior a 0,5% v/v (CONSELHO DE MINISTROS, 2013).

A comercialização das bebidas alcoólicas no país é também um dos grandes problemas, pois ocorre majoritariamente de maneira informal nos bairros, onde a maioria da população é carente, encontrando a venda de bebidas alcoólicas caseiras como sua fonte de sobrevivência. Em alguns casos, o produtor vende a bebida e o comprador, por sua vez, faz a revenda, tornando, assim, difícil a identificação não só da origem da bebida, mas também das condições de produção e do registro da bebida.

A proliferação de empresas produtoras de bebidas destiladas industrialmente sem registro tem sido um dos maiores problemas no mercado de bebidas, aumentando, desse modo, a demanda no consumo dessas bebidas consideradas pela maioria de baixa qualidade, embora seja mais barata e facilmente acessível. Normalmente, algumas são vendidas nos mercados informais, nas zonas periféricas das cidades e nas zonas rurais, criando condições para o aumento de consumo de bebidas destiladas, produzidas artesanalmente (caseiras), assim como industrialmente.

Em Moçambique, ainda não há dados sobre o comércio externo de bebidas alcólicas produzidas em alambique, fato que dificulta a sua inserção no desenvolvimento socioeconômico do país. Um importante instrumento para a prevenção e controle da proliferação de produtores de aguardentes sem garantia de qualidade é o estabelecimento de normas que regem o bom funcionamento dessas indústrias no País. Outro ponto importante a destacar é a necessidade de se conhecer a composição química dessas aguardentes, para que esteja no mercado um produto de qualidade e com padrão definido.

Entretanto, é necessário melhorar a legislação moçambicana no que tange às boas práticas de produção, comercialização e padronização de bebidas alcólicas destiladas e ao estabelecimento de padrões de qualidade dessas, a fim de proteger a saúde dos consumidores.

### **2.5.2 Consumo de bebidas alcoólicas**

Desde os tempos primitivos, o homem sempre teve facilidade em obter o álcool através da fermentação de frutas (SILVA, 2000). Entretanto, devido ao efeito que esse provocava tanto nas mulheres como nos homens, ao longo da história, as sociedades sempre manifestaram a necessidade de criar normas formais e regras informais para o consumo socialmente aceitável (CUNHA FILHO; FERREIRA BORGES, 2004).

O álcool tem um papel importante na vida social cotidiana, estando presente em ocasiões sociais tão diversas como o nascimento de uma criança, casamentos e funerais, assim como na transição entre o trabalho e o lazer, facilitando o intercâmbio social (ANDERSON; GUAL; COLOM, 2005).

Sabe-se que o álcool é uma das mais antigas substâncias inebriantes, utilizada, muitas vezes, com abuso, e que exerce sobre o homem um fascínio de experimentação, levando-o a uma busca de vivências de êxtase sensorial, a uma libertação dele próprio, a uma tentativa de se tornar diferente e atenuar males

físicos e psíquicos, ou a uma necessidade de se superar. As razões para essa procura são muito diversificadas, passando por motivos pessoais, pela socialização, pelo desenvolvimento econômico e pela própria religião (SOUSA, et al. 2008).

Em vários países africanos, as bebidas alcoólicas tradicionais continuam a constituir dimensões ocultas (WHO, 2007). Muito do que é consumido, especialmente nas áreas rurais e zonas pobres urbanas, inclui bebidas de fabricação caseira usando métodos tradicionais de fermentação ou destilação de grãos maltados, frutas, cana-de-açúcar, mel ou seiva de palmeira (WHO, 2007).

Para Barbosa (2004), o consumo não é apenas um processo social que diz respeito a diversas formas de provisão de bens e serviços, mas também a diferentes formas de acesso a esses mesmos bens e serviços. Refletir sobre o ato de consumir é analisar diversas maneiras de interação social entre elementos de dimensão material e imaterial e o próprio indivíduo.

Segundo dados da OMS (2011), o consumo excessivo de álcool em Moçambique é um padrão de consumo de bebidas alcoólicas que excede três bebidas numa ocasião, ou cinco bebidas por dia em pelo menos uma vez por semana. O consumo de baixo risco ou normal é definido como o consumo de não mais uma bebida durante cinco dias por semana.

O consumo de álcool, está estritamente ligado à questões culturais, relacionadas às comemorações, confraternizações, cerimônias religiosas, criando conseqüentemente dependências, pois não tem nada a ver com a condição social do indivíduo, religião, etnia e nem mesmo o gênero, causando sérios problemas para as sociedades. Em Moçambique, é crescente o número de indivíduos que consomem excessivamente o álcool, tanto os homens assim como as mulheres, incluindo mulheres grávidas, que não escapam a esse fenômeno, criando conseqüentemente maior número de dependentes e patologias graves e problemas

de ordem social, estando praticamente expandido para as grandes cidades e arredores.

Padrão et al. (2011) realizaram um estudo em Moçambique com o objetivo de descrever o consumo de álcool, discriminando o comportamento de consumo por divertimento e a variação por semana nos padrões de consumo e para quantificar a relação entre as características sócio-demográficas e a ingestão de álcool. Constataram que 40% dos consumidores relataram que consomem o álcool por divertimento pelo menos uma vez na semana anterior e a prevalência de consumo mostrou que 28,9% eram mulheres e 57,7% homens.

Em relação à ligação entre as características sócio-demográficas e a ingestão do álcool, os dados mostraram que a prevalência de consumo aumentou com a idade e escolaridade entre as mulheres e com a renda entre os homens.

### **2.5.3 Fermentação e destilação de bebidas alcólicas em Moçambique**

Diferentemente do que acontece no processo de fermentação de bebidas alcoólicas no Brasil, onde existem dornas de fermentação, adição de leveduras e controle do °Brix, o processo é praticamente contrário em Moçambique.

O processo de fermentação das bebidas é artesanal, com técnicas rudimentares e material precário. Normalmente, os produtores preparam o material, constituído por tambores de zinco (200 litros) ou tambores plásticos (bombonas), farelo de milho, farelo de arroz, açúcar e a leverina (fermento), e adiciona-se a água. O farelo é obtido após o cereal (milho, arroz, sorgo) ser pilado (descascado), retirando-se o gérmen antes de ser levado para moer (Figura 2). A fermentação ocorre normalmente entre 48 e 72h, período em que começam a surgir espumas no recipiente, que é característico da produção de dióxido de carbono.



Figura 2. Mosto fermentado



Fonte: Do Autor, 2018.

A levedura natural ou sementes processadas são usadas como agentes de fermentação. Após a fermentação, essas bebidas podem ser ou não filtradas e/ou destiladas antes de serem engarrafadas. No caso de bebidas fermentadas-destiladas, denominadas de *Nipa* na região central de Moçambique e *Thonthonto* na região sul, *Katchulima* na região norte, ocorrem muitas vezes uma fermentação natural, onde, por exemplo, as frutas são coletadas e postas ao sol, a fim de desidratá-las. Após a secagem, elas são colocadas num tambor onde se adicionam água e açúcar.

Quando se trata do farelo de milho, esse é colocado em um recipiente e imerso em água por um período mínimo de 5 a 7 dias, para que ocorra a fermentação. Após a fermentação, a mistura é levada para a destilação. No caso da cana-de-açúcar, essa é cortada em pedaços e moída. O caldo extraído é colocado em um recipiente metálico onde irá ocorrer a fermentação, por um período de cinco dias, sendo posteriormente transferido para a serpentina da destilação.

Após a fermentação, o vinho obtido é destilado (Figura 3). É frequente no decorrer da destilação o fracionamento da aguardente em “cabeça”; “coração” e

“cauda”. Normalmente, a primeira destilação é recolhida e separada imediatamente, por ser muito volátil. Essa fração é denominada de *Nsolo* ou *Primeirinha* na região central e *Xindere* na região sul de Moçambique. Em seguida, em um outro recipiente, é recolhido o coração em que o seu teor alcoólico é controlado, atirando um pouco desse para a chama. De acordo com a sua intensidade, tem-se o produto conhecido como aguardente.

Figura 3. Diferentes formas de destilação.



Fonte: Do Autor, 2018.

Diversas bebidas alcoólicas tradicionais variam na composição, ou têm nomes diferentes nas regiões do país. Citam-se, como exemplo, a Nipa, que é uma bebida destilada (aguardente) muito popular tanto na região central, como na região norte do país. É produzida à base de farelo de milho, de fruta e cana-de-açúcar. A sura é uma bebida obtida a partir da fermentação da seiva da palmeira.

Por meio de microrganismos, essa seiva vai sofrer fermentação. A cabhanga é bebida fermentada á base de farelo de milho, água, açúcar e farinha de milho, originário das regiões de Sofala, Manica e Tete. Pombé é uma bebida alcoólica fermentada, produzida com farelo de qualquer cereal, preferencialmente os cereais de mapira (sorgo), mexoeira e milho. Katchulima é uma bebida alcoólica, produzida à base de cana, e o Ukanhu é a bebida alcoólica fermentada, tradicional produzida à base de uma fruta conhecida como canhú; é muito consumida durante o mês de fevereiro. Espreme-se a fruta, retira-se o suco, que é colocado posteriormente num pote ou tambor menor, após se adicionam água e açúcar e deixa-se fermentar por dois dias.

#### **2.5.4 Envelhecimento**

Tal como acontece com as aguardentes brasileiras, em que terminado o processo do destilado, a aguardente ou cachaça recém-destilada é submetida ao processo de envelhecimento. Em Moçambique essa etapa de produção já não acontece, pois toda a aguardente tradicional é guardada ou conservada em tambores plásticos (bombonas), onde diariamente ela é comercializada.

#### **2.6 Produção da Aguardente/cachaça no Brasil**

Um dos investimentos que está em crescimento é o setor do agronegócio da cachaça. O Brasil é um dos principais países produtores de bebidas alcoólicas, sendo que essas influenciam na economia do país. Esse mercado movimenta anualmente milhões de reais em termos de faturamento e geração de empregos e tem crescido nos últimos 5 anos a um ritmo médio de aproximadamente 3 a 5% ao ano. Com relação à aguardente de cana/cachaça, o Brasil é o primeiro produtor mundial com cerca de 800 milhões de litros/ano (ALCARDE, 2017).

De acordo com a legislação brasileira, a bebida alcoólica é um produto refrescante, aperitivo ou estimulante, destinado à ingestão humana no estado líquido, sem finalidade medicamentosa e contendo mais de meio grau *Gay-Lussac* de álcool etílico. As bebidas alcoólicas são geralmente classificadas em dois grandes grupos: fermentadas e destiladas, obtidos por fermentação, sendo que o último passa pelo processo de destilação (AQUARONE et al., 2001).

A produção de cachaça ocorre em todas as regiões do país, havendo a coexistência de dois tipos produtivos: o industrial (coluna) e o alambique (cobre). O primeiro é feito em larga escala e dá origem à *aguardente/cachaça industrial* ou *aguardente/cachaça de coluna*, em que a produção é controlada por grandes empresas; enquanto o segundo é realizada em menor escala, que origina a *aguardente/cachaça de alambique*, anteriormente denominada *cachaça artesanal*, por ser produzida por pequenos produtores utilizando técnicas tradicionais. A aguardente de coluna passa por um processo produtivo mais rigoroso, com padronização e controle, enquanto a aguardente de alambique é conhecida pelas características peculiares de sabor e aroma, em razão do processo ser mais primoroso, fazendo com que o produto ganhe vantagem frente às aguardentes de coluna. Em ambos os processos, podem-se destacar as etapas de obtenção da matéria-prima e preparo do mosto, fermentação, destilação e envelhecimento (CARDOSO, 2013).

A principal diferença entre os dois processos está na etapa de destilação, em que se utilizam colunas, geralmente feitas de aço inox, no processo em larga escala, e alambiques de cobre, no processo em menor escala. Apesar de essas denominações não serem reconhecidas pela legislação, os produtos obtidos pelos dois processos apresentam características químicas e sensoriais distintas. A produção de aguardente de cana e cachaça de alambique é mais comum no estado de Minas Gerais, ao passo que o processo industrial em coluna se concentra no estado de São Paulo (SEBRAE, 2014; SERAFIM et al., 2012).

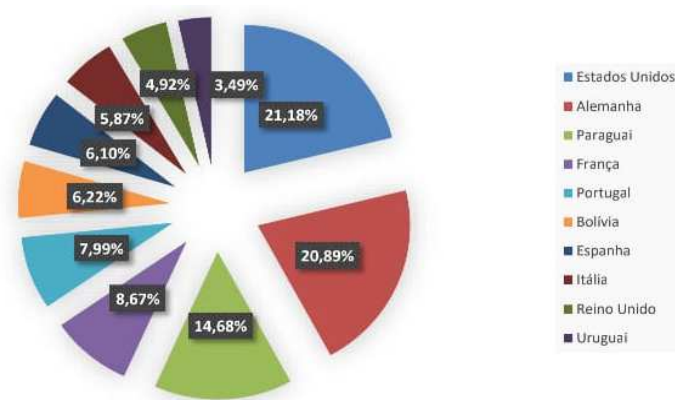
No Brasil, a aguardente/cachaça é produzida em todas as regiões do país e largamente consumida. É produzido aproximadamente 1,7 bilhão de litros por ano. É a quarta bebida destilada produzida mundialmente, perdendo apenas para o *Baijiu*, a *Vodka* e o *Soju*. São Paulo destaca-se como o estado que mais produz cachaça no Brasil, sendo responsável por 44% da produção nacional, seguido de Pernambuco (12%), Ceará (12%), Minas Gerais (8%), Rio de Janeiro (8%), Paraíba (8%) e Paraná (4%). São estimados que existam mais de 40 mil produtores e mais de 5 mil marcas da bebida no Brasil, o que gera um faturamento aproximado de R\$ 600 milhões ao ano (ALCARDE, 2017).

Cerca de 600 mil empregos diretos e indiretos são gerados e aproximadamente 2,5% (225 mil ha) da área cultivada em cana-de-açúcar no Brasil é destinada à produção da bebida. No entanto, a exportação da cachaça ainda é inexpressiva, sendo exportado apenas 1% do total que é produzido para países como Alemanha, Itália, França, EUA e Japão, de forma que praticamente toda a produção é destinada ao mercado nacional (ALCARDE, 2017).

No que diz respeito ao âmbito internacional, dados divulgados pelo (Mapa, 2018) mostram que as exportações da cachaça em 2017, resultaram num faturamento de 15.808.490 (US \$), resultado positivo quando comparado com o ano de 2016, que obteve um faturamento de 13.936.210 (US\$), sendo possível observar um aumento de 11.85%. Dentre os 57 países importadores de cachaça em 2017, destaca-se os Estados Unidos como maior comprador com 2.795.976 (US\$), seguido da Alemanha com 2.757.330 (US\$) e Paraguai com 1.937.738 (US\$). Quando comparado com os dados de 2016, nota-se que os Estados Unidos ultrapassaram a Alemanha, visto que no ano anterior a Alemanha foi a maior compradora, com 2.458.478 (US\$) seguida dos Estados Unidos com 2.251.401 (US\$). O Paraguai permaneceu na terceira colocação nos dois últimos anos com 2.251,401 (US\$) no ano de 2016. Os dez principais importadores de cachaça estão descrito na Figura 4. Em litros, o valor exportado pelo Brasil para os 57 países foi

de 8.74 milhões. Dentre os estados brasileiros exportadores de cachaça em valor (US\$), destacam-se São Paulo, Rio de Janeiro, Pernambuco, Paraná, Ceará, e Minas Gerais, respectivamente, sendo o estado de São Paulo, responsável por 50,41% das exportações no ano de 2017 (Mapa, 2018).

Figura 4. Principais países compradores de cachaça no ano de 2017.



Fonte: MAPA, 2018.

O órgão que se responsabiliza oficialmente pela fiscalização e inspeção da cachaça, mesmo aquela destinada à exportação, é o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa). Sua regulamentação, consta do Decreto Federal 4.851 de 2003, baseado na portaria 371 do Decreto nº 2314, de 04 de setembro de 1997, que dispõe sobre a padronização, classificação, registro, inspeção, produção e a fiscalização de bebidas. Esse decreto complementado pela Instrução Normativa nº13, de 30 de Junho de 2005 e posteriormente pelo MAPA, define *Aguardente de cana*, como sendo a bebida com graduação alcoólica entre 38% e 54% v/v a 20°C, obtida do destilado alcoólico simples de cana-de-açúcar ou pela destilação do mosto fermentado do caldo de cana de açúcar, podendo ser adicionada de açúcares em até 6,0 g L<sup>-1</sup>, expressos em sacarose e *Cachaça* é a denominação típica e exclusiva de aguardente de cana produzida no Brasil, com

graduação alcoólica entre 38% e 48% v/v a 20°C, obtida pela destilação do mosto fermentado do caldo de cana-de-açúcar, com características sensoriais peculiares, podendo ser adicionada de açúcares em até 6,0 g L<sup>-1</sup>, expressos em sacarose (BRASIL, 2005a).

O Quadro 2 apresenta os Padrões de Identidade e Qualidade (PIQs) estabelecidos pelo Mapa (BRASIL, 2005a, 2014).

Quadro 2. Padrões de Identidade e Qualidade (PIQs) para Cachaça e Aguardente de cana.

<b>Componente</b>	<b>Unidade</b>	<b>Limite Mínimo</b>	<b>Limite Máximo</b>
Gradação Alcoólica (Aguardente)	% v/v de álcool etílico a 20c	38	54
Gradação Alcoólica (Cachaça)	% v/v de álcool etílico a 20c	38	48
<b>Componentes secundários</b>			
Acidez volátil, em ácido acético	mg/100mL de álcool anidro	-	150
Ésteres, em acetato de etila	mg/100mL de álcool anidro	-	200
Aldeídos, em aldeídos acético	mg/100mL de álcool anidro	-	30
Furfural + hidroximetilfurfural	mg/100mL de álcool anidro	-	5
Álcoois superiores*	mg/100mL de álcool anidro	-	360
Congêneres**	mg/100mL de álcool anidro	200	650
<b>Contaminantes Orgânicos</b>			
Álcool metílico	mg/100mL de álcool anidro	-	20
Carbamato de etila	µg/L	-	210
Acroleína (2- propenal)	mg/100mL de álcool anidro	-	5
Álcool sec-butilico (Butan-2-ol)	mg/100mL de álcool anidro	-	10
Álcool butílico (butan-1-ol)	mg/100mL de álcool anidro	-	3
<b>Contaminantes Inorgânicos</b>			
Cobre	mg/L	-	5
Chumbo	µg/L	-	20
Arsênio	µg/L	-	100

\*Álcoois superiores: Isobutilico + Isoamilico + Propilico \*\*Congêneres: Acidez volátil+ésteres+aldeído +furfural Fonte: (BRASIL, 2005a; BRASIL, 2014).



### 2.6.1 Processo de Produção

A produção da cachaça envolve as seguintes etapas: colheita da cana, fermentação, destilação, maturação/envelhecimento. A Figura 5 ilustra o fluxograma do processo de produção de aguardente/cachaça.

Figura 5. Fluxograma do processo de produção de aguardente/cachaça.



Fonte: Adaptado de Cardoso, 2013.

A cana-de-açúcar, matéria-prima para a fabricação da cachaça, é uma planta pertencente à classe das monocotiledôneas, família *Poaceae* (Gramineae), gênero *Saccharum* e espécie *Saccharum* spp. A maioria das variedades são híbridas, envolvendo duas ou mais espécies diferentes. As principais espécies conhecidas tiveram origem na Oceania (Nova Guiné) e Ásia (Índia e China). A composição da cana-de-açúcar é muito variável quantitativamente, porém, qualitativamente, ela é semelhante em todas as variedades. A riqueza em sacarose varia de 13% a 18% e o teor de fibra de 7% a 17% (ALCARDE, 2017).

Masson et al (2007), comparando as aguardentes de alambique de cobre obtidas de cana-de-açúcar com e sem queima prévia, concluíram que a queima da palha da cana-de-açúcar proporcionou a exsudação do açúcar, aderindo assim aos colmos os resíduos da combustão, e partículas sólidas do solo, minerais e outros aumentando desse modo a concentração de furfural, podendo contaminar a bebida. Ao longo desse processo, os resíduos que são transferidos para o caldo são indesejáveis para a bebida e reduzem a qualidade da mesma. Para que isso não aconteça, é sempre bom e necessário o uso de uma cana fresca na produção da aguardente de cana.

A colheita da cana reflete todo o trabalho desenvolvido e conduzido no campo ao longo do ciclo da cultura, culminando na entrega da matéria-prima para que ela seja processada e contribua na obtenção de um produto final de qualidade. A cana-de-açúcar destinada à produção da cachaça deve ser cortada bem rente ao solo para evitar infestações de pragas e doenças nas sequeiras remanescentes e emissões de brotações aéreas (SOUZA et al. 2013).

Após a colheita, a cana-de-açúcar é levada para a moagem, onde se faz da extração do caldo, com o auxílio das moendas. O caldo obtido, chamado por alguns de garapa, é constituído de água (65% a 75%), açúcares (11-18%), pequenas quantidades de substâncias nitrogenadas, ceras, lipídios, pectinas, corantes e sais minerais. O pH é pouco ácido (4,0 - 6,0), o que favorece o desenvolvimento de microrganismos (SCHWAN et al. 2013).

A escolha das variedades produtoras de cana-de-açúcar deve ser adaptada às condições climáticas da região onde se encontra instalada a unidade industrial, com finalidade de apresentar elevada produtividade de açúcar por área (NOVAES, 1995).

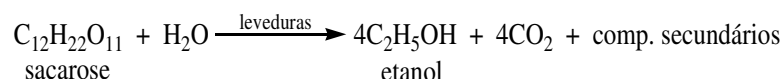
Após ser cortada, a cana deve ser disposta paralelamente em pequenos montes sobre o terreno, sendo transportada para uma área coberta, próxima a seção de moagem. O transporte deve ser feito com cuidado e o mais rápido

possível, procurando evitar tanto danos mecânicos quanto a ação direta da luz solar (SOUZA et al. 2013).

Após a moagem, o caldo obtido passa por um processo de tratamento, com o uso de sistemas de filtração e decantação, visando à limpeza da garapa obtida. O tratamento é importante, pois minimiza ou elimina totalmente inconvenientes que promovem focos de infecções, entupimento de canalizações e bicos de equipamentos, além da formação de produtos indesejáveis para a qualidade da bebida. Esse caldo limpo passa então a ser conhecido como mosto, estando apto para a inoculação das leveduras (VENTURINI FILHO et al., 2010).

A fermentação alcoólica é um processo bioquímico anaeróbico que consiste de reações em que o açúcar e outros compostos presentes no “vinho” (mosto fermentado) são transformados em etanol, CO<sub>2</sub> e outros compostos que serão decisivos para a qualidade do produto (Equação 1). É um processo exotérmico e produz apenas duas moléculas de ATP. Portanto, não é eficaz para a multiplicação celular, mas essencial para a produção de etanol. Ao seu final, ocorre redução da atividade fermentativa, pela deficiência de açúcares, com consequente diminuição da temperatura (SCHWAN et al., 2013).

Equação1.



Fonte: Do Autor, 2018.

A fermentação é uma etapa crítica do processo; porém, a utilização de leveduras selecionadas tem facilitado a sua condução. Nessa etapa, os microrganismos, principalmente a *Saccharomyces cerevisiae*, transformam o açúcar e outros componentes presentes no caldo em etanol, CO<sub>2</sub> e componentes secundários, que são responsáveis pela qualidade e anormalidades do produto final (YOKOYA; OLIVA-NETO, 2003).

Antes de se proceder à fermentação, faz-se necessário o ajuste do teor de açúcar do caldo (°Brix), de forma a atingir o ponto ideal de fermentação, entre 15 e 16 °Brix, através da adição de água potável ao caldo. O caldo muito rico em açúcar acima de 16% está sujeito a uma fermentação com atraso ou incompleta. O fermento encarregado de transformar o açúcar do caldo em álcool possui certo grau de tolerância em relação ao álcool. Como a quantidade de álcool produzida durante a fermentação depende da quantidade de açúcar da garapa, quando este for elevado, o teor do álcool no caldo fermentado aumenta, impedindo que as leveduras continuem a fermentação, mesmo havendo, ainda açúcar para ser transformado em álcool etílico (OLIVEIRA et al. 2005).

Vidal e colaboradores (2013) realizaram pesquisas em relação às linhagens para melhorias do processo de fermentação durante a produção da cachaça. Utilizaram fertilização nitrogenada com sulfato de amônio na fermentação do caldo de cana-de-açúcar e realizaram a análise do perfil aromático no processo de produção de cachaça industrial. Posteriormente, Carvalho et al. (2015), estudaram a influência de uma cultura mista de *S. cerevisiae* e *L. lactis* na qualidade de cachaça e avaliaram a viabilidade do uso do suco de cana de açúcar para obter biomassa de leveduras e bactérias.

Segundo Pataro et al. (2002), a fermentação é a segunda etapa do processo, desempenhando um papel importante na produção de cachaça. Geralmente, o processo fermentativo tem a duração média de 24 horas, com sucessão no uso de inóculo, ou seja, em 24 horas, as leveduras deverão estar depositadas no fundo da dorna, onde será adicionado um novo caldo diluído após o envio do vinho para a destilação. É um processo rápido, comparativamente à outras bebidas.

Durante a fermentação, além do álcool etílico e dióxido de carbono, são produzidas outras substâncias secundárias, como glicerol, ácidos orgânicos (acético, succínico, pirúvico e outros), álcoois superiores, butilenoglicol, acetoina,

acetaldeído etc. Essas substâncias secundárias são responsáveis não só pela qualidade da aguardente, como também pelo excesso e contaminantes da mesma. Os açúcares podem ser transformados também em ácidos carboxílicos (acético, butírico, fórmico e láctico), aldeídos e ésteres indesejáveis, no caso de contaminação da fermentação. Dependendo da qualidade do mosto e da condução da fermentação, pode-se saber quais são as substâncias secundárias presentes, e em que quantidades (SCHWAN et al. 2013).

Dependendo do modo de condução da fermentação, têm-se dois processos fermentativos: fermentação descontínua, conhecida também por fermentação por batelada ou batelada alimentada, e fermentação contínua, conhecida também por processo contínuo. Na fermentação descontínua por batelada, os nutrientes são oferecidos de uma só vez, verificando-se que durante todo o curso da fermentação, nada é adicionado ao sistema, também não ocorre retirada do material durante a fermentação. A fermentação descontínua alimentada, é uma operação em que um ou mais nutrientes necessários ao crescimento celular e ao processo produtivo são adicionados ao biorreator intermitentemente ou continuamente, sem que ocorra retirada do material durante a operação (SCHWAN et al. 2013).

Na fermentação alcoólica, temos três fases; a fase preliminar, que é a inicial, a fase tumultuosa e a fase complementar, que é a final. Na fase preliminar (Fase Lag), geralmente ocorrem uma intensa multiplicação celular, pequeno aumento da temperatura e pouca produção de dióxido de carbono, produção de etanol, células com o poder fermentativo maior, há variação do tempo em função do volume do inóculo e os teores de açúcar estão próximos de 5 °Brix. Nessa etapa, é usado o fermento caipira na maioria das vezes ou então o inóculo é preparado com a utilização de fermentos prensados usados na panificação (SCHWAN et al. 2013).

Na fase tumultuosa, ocorre maior produção de dióxido de carbono (espumas), por causa do alto volume de células no meio que desdobram os

açúcares do mosto em etanol, sendo a fase de maior tempo de duração. Nesta, verifica-se alta concentração do álcool, e a temperatura eleva-se rapidamente; o caldo deve apresentar teores de açúcares próximos de 14 e 16 °Brix, resultando em um processo fermentativo mais lento e incompleto. Nesta fase, ocorre a formação de compostos secundários como álcoois superiores, aldeídos e ésteres (SCHWAN et al. 2013).

Na última fase, observa-se a diminuição da temperatura, a concentração de açúcar chega ao fim, a diminuição da intensidade de produção de dióxido de carbono e, conseqüentemente, alta concentração de etanol, terminando assim a fermentação. A média de duração do processo é de 24 horas, decorrido esse tempo, as leveduras depositam-se no fundo da dorna. O sobrenadante, onde o °Brix deve ser igual à zero, é retirado e levado para a destilação. As leveduras são recicladas com a adição de um novo mosto diluído a uma temperatura em ordem de 30 °C, iniciando novamente o processo (SCHWAN et al. 2013).

São vários os fatores que interferem no rendimento, tais como: pH, tipo de oxigenação, nutrientes, inibidores, a temperatura, pressão, agentes fermentativos, concentração da levedura, contaminação bacteriana, que podem interferir também na eficiência da conversão de açúcar em etanol (LIMA et al. 2014).

As fermentações se desenvolvem numa ampla faixa de valores de pH, sendo a adequada entre 4 e 5 (LIMA et al. 2014). Aumentando-se o pH até 7, observa-se, via de regra, uma diminuição do rendimento em álcool, com aumento da produção de ácido acético (SCHWAN et al. 2013). Os valores de pH dos mostos industriais geralmente se encontram na faixa de 4,5 a 5,5. No processo de fermentação com reutilização da levedura, faz-se seu tratamento com ácido sulfúrico com pH de 2,0 a 3,2 durante aproximadamente uma hora, visando à redução da carga microbiana (LIMA et al. 2014).

Na fermentação, pode-se utilizar dois tipos de fermentos: o fermento selvagem, ou aquele produzido por leveduras. Entre os microrganismos mais eficientes na fermentação, estão as leveduras *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces marcianus* e a bactéria *Zymomonas mobilis*, destacando-se o gênero *Saccharomyces* pela alta produção e tolerância a altas concentrações de etanol (SCHWAN et al. 2013).

Uma vez finalizada a fermentação, o mosto fermentado, também conhecido como vinho, é submetido a destilação para a separação, seleção e concentração dos componentes voláteis (SCHWAN et al. 2013).

A destilação é um método de separação que se baseia no equilíbrio líquido-vapor de misturas. Essa mistura de substâncias voláteis presentes no vinho é transformada em vapor e depois é condensada. Este princípio baseia-se na diferença de temperatura de ebulição, entre a água (100 °C) e do álcool (78,4 °C). A mistura da água e álcool apresenta temperatura de ebulição variável em função do grau alcoólico. O processo realiza-se por meio de calor, que é necessário para a evaporação, e do frio, para a condensação (LIMA et al. 2014).

Quando se trata de uma única substância, o líquido destilado tem a mesma composição do líquido original. Quando se trata de ocorrência conjunta de líquidos imiscíveis, o destilado final é o líquido que tem a temperatura de ebulição mais baixa. No caso de líquidos perfeitamente miscíveis, os vapores destilados se compõem de uma mistura de vapores dos dois, com predominância daquele de maior volatilidade (LIMA et al. 2014).

Os aparelhos de destilação podem ser fabricados com diferentes materiais. Os tradicionais alambiques, conhecidos como artesanais, são construídos, principalmente, de cobre (Figura 6). São utilizados maioritariamente na produção de aguardente em pequena escala. Esse metal é utilizado por apresentar algumas características vantajosas, como a maleabilidade, boa condução térmica, resistência à corrosão e melhoria sensorial da bebida (CARDOSO, 2013).

Figura 6. Processo de destilação em alambique de cobre.



Fonte: <http://www.alambiquessantaefigenia.com.br/2018>

Os destiladores de colunas de aço inoxidável (Figura 7) são utilizados na produção da aguardente em escala industrial, sem a separação do destilado em frações, tratando-se de um processo contínuo de destilação (VEIGA; VIEIRA; MORGADO, 2013).

Figura 7. Processo de destilação em Coluna.



Fonte: <http://www.mapadacachaca.com.br/2018>



Em função do grau de volatilidade, o destilado é dividido em três frações: cabeça, coração e cauda. A fração *cabeça* é constituída pelas substâncias de maior volatilidade, como o metanol, acetaldeído e acetato de etila. É recolhida nos primeiros instantes da destilação correspondendo à 5 e 10% do destilado. A cabeça corresponde a 1% do total do vinho do alambique e possui teor alcoólico superior a 60°GL. A fração *coração* corresponde à verdadeira aguardente, representando 16% do volume total do vinho do alambique, 80% do destilado. A fração *coração* é mais apreciada e possui menor quantidade de substâncias indesejáveis, constituindo a melhor porção do destilado. A *cauda*, última porção do destilado, também conhecida como “água fraca”, corresponde a 3% do volume total do vinho do alambique (CARDOSO, 2013).

Na destilação, a qualidade da aguardente depende fundamentalmente da composição do vinho encaminhado à destilação; da geometria do alambique ou da coluna de destilação, para assegurar um nível de refluxo que permita a separação adequada dos componentes secundários e da habilidade do operador para efetuar os cortes nos momentos adequados. Uma correta separação, durante a destilação das frações cabeça, coração e cauda, contribui para melhorar a qualidade do produto, minimizando os metabólitos tóxicos (MAIA; CAMPELO, 2006).

Após o término do processo da destilação da cachaça, não é aconselhável seu consumo direto, pois sua qualidade pode ser melhorada. Para agregar qualidade à bebida, deve-se proceder ao descanso ou envelhecimento (ALCARDE, 2017).

O envelhecimento é a última etapa e não é obrigatória, mas agrega valor às bebidas, aprimorando a sua qualidade sensorial. A estocagem é feita, preferencialmente, em barris de madeira, onde ainda acontecem reações químicas. É importante que a bebida recém-destilada seja estocada, amaciada, armazenada

ou maturada por um período geralmente de três a seis meses em tonel de madeira o que é necessário para suavizar o aroma e o sabor (MAIA; CAMPELO, 2006).

Existem madeiras neutras, como o jequitibá e o amendoim, que não alteram a cor da cachaça e aquelas que conferem ao destilado um tom amarelado, mudando seu aroma, como, por exemplo, o carvalho, a umburana, o cedro e o bálsamo, entre outras. Cada uma dá um toque especial, deixando a cachaça mais ou menos suave, adocicada e perfumada, dependendo do tempo de envelhecimento (CARDOSO, 2013).

Alcarde, Souza e Belluco (2010), estudando o envelhecimento de bebidas em barris de madeira brasileira, em comparação com o carvalho, verificaram similaridade na composição físico-química global das aguardentes envelhecidas nos barris das diferentes madeiras. A aguardente envelhecida na madeira de carvalho foi a que apresentou a melhor aceitação sensorial. Dentre as madeiras nacionais, ipê-roxo (*Tabebuia heptaphylla*), amendoim (*Pterogyne nitens*), cabreúva (*Mycrocarpus frondosus*), amburana (*Amburana cearensis*) e pereira (*Platycyamus regnelli*) foram aquelas que propiciaram as melhores qualidades sensoriais à aguardente.

Zacaroni et al. (2011) determinaram a concentração de compostos fenólicos em cachaças armazenadas em diferentes barris de madeira. Os autores observaram que as concentrações dos principais compostos extraídos variaram de acordo com as espécies de madeira analisada. Analisando-se os resultados das bebidas em tonel de jatobá, ao se comparar com carvalho, os autores concluíram que as concentrações de compostos fenólicos totais variaram de 0,08 mg L<sup>-1</sup> para uma amostra armazenada em barril de jatobá de 4000 litros em um período de seis meses para 40,9 mg L<sup>-1</sup> de uma amostra envelhecida em um barril de carvalho de 50000 litros, por um período de 48 meses.

Santiago et al. (2014b) compararam e quantificaram compostos fenólicos em aguardentes armazenadas em tonéis de Carvalho (*Quercus* sp) e amburana

(*Amburana Cearensis*). Constataram que, ao passar do tempo de armazenamento, os teores dos 12 compostos fenólicos analisados aumentaram expressivamente, sendo que, as madeiras analisadas apresentaram compostos majoritários diferentes.

## **2.7 Compostos secundários e contaminantes nas aguardentes**

Os compostos secundários são aqueles formados durante a fermentação alcoólica, com exceção do etanol e do dióxido de carbono, sendo esses os produtos majoritários. Os compostos secundários são encontrados em pequenas quantidades e, muitas vezes, são difíceis de ser determinados ou quantificados (CARDOSO, 2013).

A cachaça tem como componentes principais água e etanol, contudo, apresenta baixas concentrações de componentes secundários, que são formados principalmente durante a fermentação alcoólica e selecionados pelo processo de destilação. Tais compostos são pertencentes às classes funcionais dos ácidos, ésteres, aldeídos e álcoois. A cachaça pode ser dividida em fração orgânica e fração inorgânica. A primeira é basicamente constituída de álcoois, aldeídos, ésteres, ácidos carboxílicos, cetonas, carbamato de etila, metanol, furfural e compostos sulfurados. Já a fração inorgânica é constituída principalmente por íons metálicos, tais como alumínio (Al); arsênio (As); cádmio (Cd); cálcio (Ca); chumbo (Pb); cobalto (Co); cobre (Cu); cromo (Cr); ferro (Fe); níquel (Ni) (ZACARONI et al., 2011).

As principais substâncias que oferecem risco para a saúde humana e que podem comprometer a qualidade sensorial de bebidas destiladas podem ter origem orgânica (álcool butílico, álcool sec-butílico, acroleína, carbamato de etila, diacetil e metanol) ou inorgânica (arsênio, chumbo e cobre) (CARDOSO, 2013).

### 2.7.1 Álcoois superiores

Os álcoois compreendem o maior grupo de substâncias voláteis nas bebidas destiladas. São aqueles com mais de dois átomos de carbono, que podem ser formados durante o processo oxidativo ou ser provenientes das transformações dos aminoácidos durante o processo de fermentação.

O etanol é o composto principal da fermentação alcoólica e juntamente com a água, compreendem os dois principais componentes do destilado. Entretanto, ambos pouco influenciam o “*flavour*” ou “*bouquet*” da bebida. O metanol, composto mais simples da classe dos álcoois, também pode ser encontrado na bebida. Sua formação é resultado da degradação da pectina, um polissacarídeo presente nas fibras da cana-de-açúcar e das frutas. Devido à sua toxicidade, sua presença na aguardente é extremamente indesejada (ALCARDE, 2017).

Segundo Cardoso (2013), os álcoois superiores em excesso são formados quando a cana é estocada, para depois ser moída. Outros fatores que contribuem para o aumento da concentração de álcoois superiores em cachaça são a temperatura elevada durante o processo fermentativo e o pH muito ácido. Esses álcoois, assim como os ésteres, em quantidades normais, são responsáveis pelo aroma e sabor característico da bebida.

Os álcoois superiores podem ser formados também pela transformação dos aminoácidos leucina e isoleucina durante a estocagem da cana, ou mesmo quando se utiliza a cana bisada, envelhecida, ou que já passou da hora de corte. Os álcoois com três a cinco átomos de carbono são frequentemente encontrados em bebidas e são conhecidos como óleo fúsel, apresentando um odor característico de flores. Esses álcoois, assim como os aldeídos e ésteres, em quantidades normais, são responsáveis pelo aroma e sabor característico das

bebidas. Os principais álcoois superiores encontrados nas aguardentes/cachaças são os álcoois isoamilico, amilico, isobutilico e propílico (CARDOSO, 2013).

A produção dos álcoois isoamilico, amilico, isobutilico e propílico parece ser uma característica das leveduras em geral e as quantidades produzidas variam com as condições de fermentação, o gênero, a espécie e, provavelmente, a cepa utilizada. Esses álcoois superiores costumam ter grande influência sobre o sabor das bebidas alcoólicas, apresentando odores característicos tradicionalmente associados a elas (VILELA et al. 2007; ALCARDE, 2017).

Os álcoois superiores (isobutílico, propílico e isoamílico) são produzidos pelas leveduras durante a fermentação e contribuem para a caracterização sensorial da bebida. Porém, quando em excesso, podem causar efeitos negativos. A principal via de controle da produção em excesso desses álcoois é a manutenção da temperatura ideal durante a fermentação (28 a 32 °C), fazer o uso de leveduras selecionadas, controle do pH do mosto, assim como evitar intensa oxigenação nos tanques de fermentação e longo tempo de espera para a destilação (CARDOSO, 2013; ALCARDE, 2017).

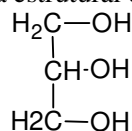
O álcool isoamilico, por exemplo, tem seu odor caracterizado como “uísque” e “malte”, além de “alcoólico”, “vínico”, “banana” e “doce”. Nesse aspecto, deve-se lembrar de que as características de odor dos compostos voláteis dependem de suas concentrações, de forma que quantidades muito elevadas podem modificar características de odor consideradas agradáveis para extremamente desagradáveis (NÓBREGA, 2003).

Santiago et al. (2014a) compararam o perfil físico-químico de cachaças envelhecidas em tonéis de carvalho (*Quercus* sp) e amburana (*Amburana Cearensis*). Os autores observaram que todas as amostras apresentaram quantidades desejáveis de álcoois superiores, reportando que os teores se diferiram quanto à madeira utilizada.

### 2.7.1.1 Glicerol

Dentre os álcoois polihidroxilados, pode-se destacar o propan-1,2,3-triol, conhecido como glicerol (Figura 8). É inodoro, suave, com densidade específica de 1,26 g/cm<sup>3</sup>; pressão de vapor 0,0025 mmHg (50 °C); densidade de vapor 3,17 g/cm<sup>3</sup>; ponto flash maior que 160 °C; temperatura de ebulição 290 °C; temperatura de fusão 17,9 °C; e massa molar de 92,1 g/mol (POSADA et al. 2009).

Figura 8. Fórmula estrutural do glicerol



Fonte: Do Autor, 2018.

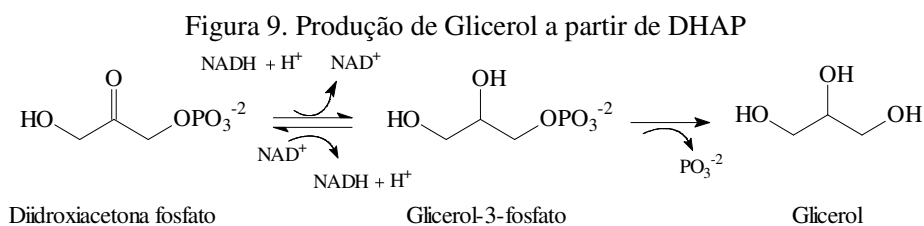
Em bebidas alcoólicas, esse composto é formado em grande quantidade na etapa de fermentação, como produto secundário do metabolismo das leveduras. Em termos de abundância, é o terceiro produto formado em maior quantidade depois do etanol e do gás carbônico. O glicerol é formado principalmente visando à manutenção do equilíbrio redox e à regulação osmótica das células de leveduras, sendo este produzido na via glicolítica a partir da dihidroxiacetona (REMIZE; BARNAVON; DEQUIN, 2001).

O glicerol ocorre naturalmente em formas combinadas, como nos triglicerídeos, em todos os óleos graxos animais e vegetais, sendo isolado quando esses óleos são saponificados com hidróxido de sódio ou potássio, no processo de manufatura de sabões (MORRISON, 2000; MOTA, SILVA, GONÇALVES, 2009).

Na aguardente de cana e em outras bebidas destiladas, grande parte do glicerol proveniente do processo fermentativo é retido durante a destilação devido à elevada temperatura de ebulição do composto (290 °C). Entretanto, devido à sua solubilidade em etanol e polaridade, pode ser levado para a bebida por arraste a

vapor. As concentrações de glicerol em bebidas destiladas são significativamente menores quando comparadas com as concentrações em bebidas fermentadas, como o vinho, por exemplo. Problemas no processo de destilação e adição proposital também podem ser motivos para a presença de glicerol em bebidas destiladas (GARCIA et al. 2010).

O glicerol é produzido a partir da dihidroxiacetona fosfato (DHAP) em um processo de duas etapas. Na primeira, a DHAP é reduzida a glicerol-3-fosfato, em uma reação catalisada pela enzima glicerol-3-fosfato desidrogenase, subseqüentemente a glicerol-3-fosfatase desfosforila o intermediário resultante, dando origem ao glicerol, como mostrado na Figura 9.



Fonte: <https://www.anvisa.gov.br/bebidas,2014>.

Além disso, diferentes microrganismos, como bactérias, leveduras, fungos, algas e alguns protozoários são mencionados na literatura como produtores de glicerol (WANG et al. 2001; TAHERZADEH et al. 2002). A reação de transesterificação de óleos vegetais e gorduras animais no processo de síntese de biodiesel também é outro método utilizado para a obtenção do glicerol, considerado um coproduto da reação (DA SILVA; MACK; CONTIERO, 2009).

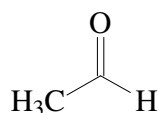
Em condições normais de armazenamento, esse poliálcool apresenta boa estabilidade, facilmente compatível com muitos compostos químicos não tóxicos em seus vários usos para a saúde humana e não apresenta efeitos ambientais negativos (BERTOZZO et al. 2009).

### 2.7.1.2 Aldeídos

Os aldeídos são compostos voláteis, formados durante a fermentação e responsáveis pelo flavour das bebidas. Os aldeídos com até 8 átomos de carbono têm o odor penetrante, muitas vezes enjoativo e indesejáveis em bebidas destiladas. A sua formação tem origem na ação das leveduras durante estágios preliminares do processo de fermentação, tendendo a desaparecer nas etapas finais pela oxidação a ácido acético, formado principalmente durante a aeração excessiva do mosto (CARDOSO, 2013). Os aldeídos têm grande influência sobre o aroma e sabor das bebidas alcólicas. Além disso, vários desses compostos (por exemplo, acetaldeído, furfural) são considerados tóxicos para os seres humanos, sendo associados aos efeitos desagradáveis do consumo excessivo de bebidas alcólicas (sintomas de intoxicação e “ressaca”) (VILELA et al. 2007).

O principal aldeído formado nessa etapa de produção da bebida é o acetaldeído (Figura 10), os demais aldeídos são obtidos provavelmente a partir da oxidação de álcoois superiores. A intoxicação por aldeídos pode levar a sérios problemas relacionados com o sistema nervoso central (CARDOSO, 2013).

Figura 10. Fórmula estrutural do acetaldeído



Acetaldeído

Fonte: Do Autor, 2018.

Vilela et al. (2007) mostram que as cachaças ricas em acetaldeído, provavelmente são originárias de processos de destilação que não separam adequadamente a fração “cabeça” da bebida.

O acetaldeído é um produto primário da fermentação do açúcar pela oxidação do etanol, na presença de um catalizador (Zn/Cu). Também pode ser





acetato de etila é o principal éster encontrado na aguardente de cana, sendo formado por pequenas quantidades de etanol e ácido acético, provenientes do processo de fermentação, e é responsável, quando em quantidades limitadas, pela incorporação de um aroma agradável de frutas, desejável nessa bebida (PEREIRA et al. 2003).

São responsáveis pelo aroma típico, agradável, pungente e suave que a aguardente adquire com o armazenamento e envelhecimento; por isso, contribuem para a formação do buquê. Dentre os ésteres, o acetato de etila é o mais volátil e o mais significativo, correspondendo a 80% do conteúdo total dos ésteres; aparece em maior concentração na cabeça do destilado. Em concentrações acima de 200 mg L<sup>-1</sup>, confere um aroma desagradável à bebida (CARDOSO, 2013). Ésteres acetato, como acetato de etila, acetato de hexila, acetato de isoamila e acetato de 2- feniletila, são reconhecidos como compostos importantes em aroma de vinho e em outras bebidas alcoólicas derivadas de uvas (ROJAS et al., 2001).

Na fermentação alcoólica, por meio do metabolismo secundário intracelular das leveduras formam-se os ésteres alifáticos como é o caso do acetato de etila e butanoato de etila. Já os ésteres gerados através da interconversão dos compostos fenólicos, tais como siringato de etila, e o vanilato de etila, e os ésteres extraídos da madeira (homovanilato de metila e siringato de metila) são consequência do processo de envelhecimento (NASCIMENTO et al. 2009).

O lactato de etila é o segundo éster mais abundante na cachaça, sendo formado pela bactéria *Lactobacillus* spp, que é responsável pela fermentação láctica, favorecida pelo controle deficiente da fermentação alcoólica. A origem dessa bactéria no mosto está associada à própria matéria-prima (cana-de-açúcar, levedura e água) e ao local de produção da bebida. Assim, a presença de lactato de etila constitui um indicador de qualidade de fermentação e, por apresentar-se em concentrações significativas, sua contribuição à fração de ésteres totais não deve ser negligenciada (NASCIMENTO et al. 2009).

#### **2.7.1.4 Ácidos carboxílicos**

Os ácidos carboxílicos são caracterizados pela presença do grupo funcional (-COOH). A presença desse grupo confere aos ácidos carboxílicos, entre outras propriedades, a de serem ácidos fracos em meio aquoso e de apresentarem elevadas temperaturas de ebulição, devido à facilidade com que formam interações intermoleculares do tipo ligações de hidrogênio (SOLOMONS, 1996; HARRIS, 1999).

Os ácidos orgânicos são formados durante a etapa de fermentação do mosto, na qual ocorre a formação de etanol e do gás carbônico como compostos majoritários, por meio do metabolismo da sacarose pelas leveduras. Sua presença no destilado está também relacionada aos cuidados dispensados durante a produção da bebida (SCHWAN et al. 2013).

As proporções dos ácidos nas bebidas alcoólicas são determinadas em grande extensão pela linhagem de levedura e condições de fermentação e, em menor extensão, pelo substrato utilizado (JANZANTTI, 2004).

#### **2.7.2 Contaminantes orgânicos**

##### **2.7.2.1 Metanol**

O metanol é um álcool particularmente indesejável na aguardente. É originado da degradação da pectina, um polissacarídeo presente na cana-de-açúcar e nas cascas de frutas cítricas. A formação do metanol ocorre, principalmente, na etapa de fermentação por hidrólise enzimática ou ácida do grupo metoxila presente nas substâncias pécticas. Sua presença é indesejável na aguardente/cachaça pelas características de toxicidade, mesmo em concentrações baixas (CARDOSO, 2013).

A presença de metanol em aguardentes/cachaças pode estar ligada a uma filtração inadequada do caldo, o que possibilita a presença de bagacilhos no processo fermentativo, cuja pequena quantidade de pectina pode ser degradada (em condições ácidas) dando origem ao metanol. A presença dessa substância nas bebidas alcoólicas é indesejada, pois pode causar sintomas tóxicos, como, por exemplo, dor de cabeça, vertigens e vômitos (VILELA et al. 2007).

No organismo, o metanol é oxidado a ácido fórmico e, posteriormente a dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), provocando uma acidose grave (diminuição do pH do sangue), afetando o sistema respiratório, podendo levar ao coma ou mesmo à morte. Sua ingestão, mesmo que em quantidades reduzidas, por longos períodos de consumo, pode ocasionar cegueira e morte (CARDOSO, 2013).

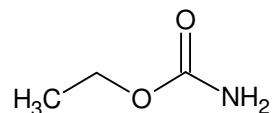
Nos últimos anos, praticamente não se tem encontrado metanol em cachaças, o que demonstra o cuidado dos produtores em filtrar o caldo de cana, antes de ir para as dornas de fermentação. Santiago et al. (2014a) estudando a qualidade de diferentes amostras de cachaças envelhecidas, não obtiveram valores de metanol acima do limite permitido nas cachaças analisadas por eles. Anteriormente, Zacaroni et al. (2011), caracterizaram e quantificaram diferentes contaminantes em aguardentes de cana e não foi detectada a presença deste composto.

#### **2.7.2.2 Carbamato de etila (CE)**

Também conhecido por uretana ou etiluretana, é o éster do ácido carbâmico ( $\text{NH}_2\text{COOC}_2\text{H}_5$ ) (Figura 12) e se apresenta na forma de cristal incolor, inodoro, de sabor salino refrescante e levemente amargo. Apresenta temperatura de fusão entre 48 - 50 °C, temperatura de ebulição de 182 - 184 °C e massa molar de 89,09 g/mol (MERCK et al., 2001). Pode ser encontrado em diversos alimentos e bebidas produzidas por fermentação de microrganismos, tais como o pão,

iogurte, vinho, cerveja e, principalmente, em bebidas fermento-destiladas, como uísque, vodca, rum, graspa, cachaça e tiquira (ANJOS et al., 2011).

Figura 12. Fórmula estrutural do carbamato de etila



Fonte: CARDOSO, 2013.

Inicialmente, foi muito utilizado como hipnótico, anestésico veterinário e também como cossolventes, em algumas sínteses de fármacos. Comercialmente, é utilizado na produção de amino-resinas, co-solventes para pesticidas e fumigantes, e em limpeza e secagem de peças de vestuário. Na área médica, auxilia no tratamento de varizes, leucemia crônica e mieloma múltiplo (HOFFLER et al. 2003).

A ocorrência desse contaminante em bebidas alcoólicas foi observada e quantificada no início de 1985, quando no Canadá, detectaram níveis relativamente altos em aguardentes e outras bebidas (LACHENMEIER, NERLICH, RUBALLA, 2006). Assim, as autoridades do Canadá inicialmente definiram o nível máximo dessa substância para bebidas alcoólicas, em concordância com os padrões do consumo e valor de ingestão diária aceitável (Quadro 3). O Canadá foi o primeiro país a ter uma legislação específica sobre o assunto, se tornando um referencial para os Estados Unidos e a Comunidade Europeia, seguindo assim, o teor máximo deste contaminante estabelecido para as bebidas destiladas (ANDRADE-SOBRINHO et al. 2002).

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

Bebida	Limite máximo ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )
Vinhos	30
Vinhos fortificados	100
Bebidas destiladas	210
Destilados de fruta e licores	400

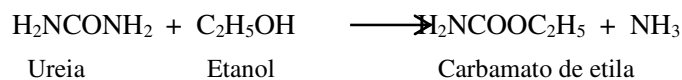
Fonte: (EFSA, 2007; WEBER; SHARYPOV, 2009; BRASIL, 2014).

Nos Estados Unidos, o Food and Drug Administration (FDA) elaborou um plano de redução de níveis de carbamato de etila, sendo os limites para líquidos de até  $125 \mu\text{g L}^{-1}$  e para vinhos de mesa de  $15 \mu\text{g L}^{-1}$  (XU et al. 2012).

O Brasil, sendo um dos maiores produtores de destilados alcoólicos do mundo, torna-se imprescindível o conhecimento dos níveis de ocorrência do carbamato de etila nos destilados e principalmente na cachaça, pois além dos aspectos ligados à saúde pública, a sua presença em concentrações superiores constitui uma barreira para exportações para Europa e América do Norte (CARDOSO, 2013). O Mapa estipulou por meio da Instrução Normativa nº 28 de agosto de 2014 o limite máximo para carbamato de etila de  $210 \mu\text{g L}^{-1}$ .

O CE pode ser formado durante todas as etapas de produção das bebidas, pela reação do etanol com alguns compostos nitrogenados, como ureia, carbamil fosfatos, n-carbamil, aminoácidos, cianetos, entre outros, podendo ser formado durante toda a cadeia produtiva, ou seja, desde o plantio até a destilação, dependendo da concentração dos reagentes, temperatura, pH, luz e tempo de armazenamento (NAGATO et al. 2003). A rota mais comum de produção de CE na fermentação é a reação da ureia com etanol, em meio ácido, que é acelerada exponencialmente em temperaturas elevadas, (EQUAÇÃO 2).

Equação 2



### 2.7.2.2.1 Propostas para a diminuição do carbamato de etila em alimentos e bebidas

A existência de vários precursores (ureia, arginina, citrulina e n-carbamil fosfatos, cianeto, cianato e glicosídeos cianogênicos), diferentes mecanismos e os fatores envolvidos na sua formação, faz com que não exista ainda uma metodologia única para prevenir e/ou reduzir os teores de CE em bebidas (ZIMMERLI; SCHLATTER, 1991; WEBER; SHARYPOV, 2009).

Apesar da não existência oficial da metodologia para redução de CE, algumas ações preventivas têm sido propostas para evitar a formação de carbamato de etila em bebidas alcoólicas, tais como: medidas de boas práticas de fabricação (uso de matérias-primas de boa qualidade, higienização adequada durante a fermentação e o armazenamento e controle das condições de destilação), controle da irradiação da luz e redução do tempo de armazenamento, buscando evitar a liberação de cianeto (LACHENMEIER et al. 2005; CARDOSO, 2013).

Em alimentos fermentados, uma solução para a redução nos teores de CE encontrada foi diminuir a concentração dos seus possíveis precursores (citrulina, arginina, entre outros), por meio da utilização de cepas de leveduras selecionadas que produziram baixas concentrações de uréia durante a fermentação (SCHEHL et al. 2005; WEBER; SHARYPOV, 2009).

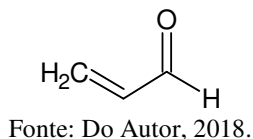
A bidestilação também tem sido um procedimento muito comum para remover carbamato de etila de bebidas alcoólicas destiladas, em virtude de sua baixa volatilidade em soluções alcoólicas (GALINARO; FRANCO, 2011).

### 2.7.2.3 Acroleína

O 2-propenal, também conhecido como acroleína, é um líquido que varia de incolor a amarela, com odor desagradável, apimentado e irritante às narinas. Apresenta temperatura de ebulição de 53 °C, é solúvel em água, podendo ser formada pela desidratação do glicerol durante o processo fermentativo, associado a bactérias termofermentativas, como ocorre em vinhos (AZEVEDO et al. 2007). É uma substância altamente tóxica encontrada em alimentos, bebidas e no meio ambiente, principalmente nas cidades e zonas industriais, onde é considerada como um composto irritante para as vias respiratórias (ATSDR, 2007).

Também conhecida como 2-propenal (Figura 13), é um aldeído etilênico altamente eletrofílico, apresenta-se na forma de um líquido amarelo com odor penetrante e picante e sabor amargo. A temperatura de fusão é -87,7 °C, pressão de vapor é de 200 mmHg a 17,5 °C. É solúvel em água, etanol, éter dietílico e acetona, muito inflamável e polimeriza com facilidade, tratando-se, portanto, de uma substância bastante reativa, o que a torna muito instável. Uma vez absorvida por um organismo, a acroleína reage diretamente com ácidos, amins primárias e secundárias encontradas em proteínas e ácidos nucleicos (GARAI-IBABE et al. 2008).

Figura 13. Fórmula estrutural da acroleína



A presença de acroleína em alimentos e em bebidas é indesejável, por ser extremamente tóxica, além de apresentar características mutagênicas, podendo provocar irritação no trato respiratório de animais e humanos (CARDOSO, 2013).



Machado et al (2012) quantificaram a acroleína em cachaças provenientes de cana-de-açúcar com adubação nitrogenada, utilizando 2,4 DNPH como agente derivatizante, e a análise subsequente por HPLC. Na quantificação da acroleína, o método apresentou sensibilidade e obteve o coeficiente de correlação de 0,99974. As concentrações de acroleína variaram entre 1,30 a 5,20 mg 100 mL<sup>-1</sup> de álcool anidro. Posteriormente, Masson et al. (2012), encontraram valores que variaram de não detectado a 21,97 mg 100 mL<sup>-1</sup> de álcool anidro em 71 amostras analisadas, sendo que 9,85% das amostras apresentaram concentrações acima do limite estabelecido. Santiago et al. (2012) avaliaram e quantificaram a acroleína em seis amostras de aguardentes de cana-de-açúcar armazenadas em diferentes madeiras. Os resultados obtidos mostram que os valores de concentração de acroleína variaram de não detectado até 6,57 mg/100 mL de álcool anidro. Observaram que destas, três apresentaram valores de acroleína e apenas uma apresentou acima do limite exigido pela legislação.

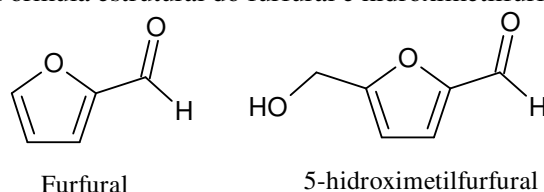
Os sinais e sintomas decorrentes da exposição por inalação de acroleína podem incluir irritação do nariz, garganta e pulmões, edema pulmonar, hemorragia pulmonar e morte. Exposição via oral pode resultar em desconforto gastrointestinal, vômitos, úlcera ou hemorragia; e a exposição cutânea ao vapor ou líquido podem causar irritação dos olhos, como lacrimejamento e vermelhidão, e ulceração e necrose da pele (AZEVEDO et al. 2007; FAROON et al. 2008).

#### **2.7.2.4 Furfural**

O furfural é um aldeído heterocíclico e aromático, conhecido também como 2-furfural, 2-furanocarboxialdeído, furaldeído, 2-furanaldeído, fural e furfuraldeído (Figura 14). Esse composto é incolor, inflamável, apresenta odor de amêndoas e quando exposto ao oxigênio do ar sofre oxidação tornando-se castanho-avermelhado. Apresenta temperatura de fusão -39 °C e pressão de vapor

13,5 mmHg a 55 °C, é solúvel em água, etanol, éter, acetona e clorofórmio (RIBEIRO et al., 2012).

Figura 14. Fórmula estrutural do furfural e hidroximetilfurfural



Fonte: Do Autor, 2018.

O furfural e o hidroximetilfurfural, cuja presença é indesejável na bebida, resultam da decomposição química de carboidratos. A alta temperatura associada ao baixo pH do mosto acarreta a desidratação dos açúcares e hidrólise de polissacarídeos dos bagacilhos (celulose, hemicelulose, pectina e outros) formando 2-furfural (furfural) e 5-hidroximetil-2-furfural (hidroximetilfurfural). As pentoses formam furfural como principal produto de degradação, enquanto as hexoses formam hidroximetilfurfural. Outros fatores, como a queima e requeima da cana, o envelhecimento da bebida sob condições irregulares, a adição de caramelo e pirogenização da matéria orgânica depositada no fundo dos alambiques, também podem contribuir para o aumento no teor destes componentes (MASSON et al. 2007; ZACARONI et al. 2011).

O furfural pode ser considerado um indicador de deterioração de alimentos e bebidas, tais como suco de laranja, suco de uva, bebidas destiladas, vinho, leite, mel, cereais, cerveja e vinhos envelhecidos em barril de madeira. Esse aldeído cíclico é o principal produto da degradação de carboidratos em meio ácido, como as pentoses (xilose e arabinose) (EFSA, 2004).

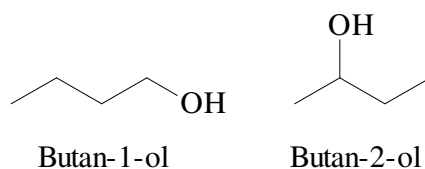
Nas bebidas envelhecidas, os carboidratos provenientes do tratamento térmico (tostagem) da madeira dos barris não são fermentados pelas leveduras, e sofrem hidrólise ácida, produzindo furano e furfural (PEREIRA et al. 2011).

A presença do furfural em cachaça é monitorada pela Instrução Normativa nº 13 de 30/6/ 2005, do Mapa que estabelece o limite máximo de 5 mg/100 mL de álcool anidro (BRASIL, 2005b).

#### 2.7.2.5 Butan-1-ol e butan-2-ol

Esses álcoois são formados na fermentação em decorrência da contaminação pela bactéria *Clostridium acetobutylicum* apresentando toxicidade alta, quando comparada ao etanol. A Instrução Normativa de junho de 2005 incluiu na lista dos PIQ's de aguardente de cana e cachaça essas duas substâncias que fazem parte dos álcoois superiores: butan-1-ol butan-2-ol, (FIGURA 15), mas que devem ser quantificados, separadamente.

Figura 15. Fórmula estrutural do butan-1-ol e do butan-2-ol.



Fonte: Do Autor, 2018.

Com o intuito de pesquisar esses contaminantes, Penteado e Masini (2009) analisaram 33 amostras de aguardentes artesanais e industriais produzidas em quatro estados do Brasil. Observaram uma grande variação na concentração dos álcoois superiores dessas bebidas e com consequente heterogeneidade das características sensoriais. Neste estudo, foram identificados e quantificados, entre outros, butanol-1 e butanol-2, presentes nas amostras e em concentrações

superiores ao estabelecido por lei, que são 3,0 e 10,0 mg 100 mL<sup>-1</sup> de álcool anidro, respectivamente.

### **2.7.3 Contaminantes inorgânicos**

Os contaminantes inorgânicos que são quantificados e estão dentro dos Padrões de Identidade e Qualidade das aguardentes são os íons metálicos, como o Cu<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup>, As<sup>2+</sup>, sendo o cobre o mais encontrado, devido à sua presença nos destiladores empregados na produção de cachaça de alambique.

A contaminação dos solos com espécies metálicas tóxicas mais conhecidas como metais pesados tem ocorrido em decorrência com o uso indiscriminado de insumos agrícolas e do avanço da atividade industrial ilegal. Os poluentes liberados por resíduos industriais contêm quantidades apreciáveis de metais alumínio, cromo, cádmio, cobre, arsênio, chumbo, ferro e manganês (ALI et al. 2011).

#### **2.7.3.1 Cobre**

O cobre em excesso é um componente indesejável na aguardente. A presença desse metal se deve ao fato do cobre utilizado na confecção do alambique. Acredita-se que esse metal contribua para a eliminação de determinados odores desagradáveis, observados em aguardentes destiladas em alambiques confeccionados com outros materiais, como o aço inox e vidro, onde o produto final contém compostos sulfurados e a bebida resultante apresenta baixa qualidade sensorial (FARIA, et al. 2003).

A contaminação por cobre na cachaça deve-se principalmente à dissolução da parede interna do alambique pelos componentes da aguardente durante o processo de destilação. O carbonato básico de cobre [CuCO<sub>3</sub>Cu(OH)<sub>2</sub>], conhecido como “azinhavre”, é formado no interior do alambique e,

principalmente, nas partes internas da serpentina. Esse carbonato é solubilizado pelos vapores ácidos produzidos durante a destilação, e por arraste, conduz à contaminação do produto final por íons de cobre. A primeira destilação deve ser feita com água, de modo a eliminar todos os resíduos de cobre e ingredientes utilizados na limpeza (CARDOSO, 2013).

O teor máximo de cobre permitido pela legislação é de 5 mg L<sup>-1</sup> de cachaça, sendo desejável sua total eliminação (BRASIL, 2005a). Durante a destilação, esse composto seria dissolvido e arrastado pelos vapores alcoólicos ácidos, contaminando a cachaça. O cobre é um metal essencial para as plantas e animais; porém, pode se transformar em um problema em função da sua bioacumulação, permanecendo no organismo e gerando possíveis reações tóxicas (COZZOLINO, 2007).

A toxicidade do cobre para os organismos vivos está diretamente relacionada com a capacidade que esse metal possui de se ligar às enzimas, em especial, àquelas cuja atividade depende de grupamentos amina e sulfidrilas, uma vez que o cobre, assim como outros metais tóxicos, tem uma afinidade grande por ligantes doadores de elétrons, contendo oxigênio e enxofre. Além disso, os ácidos nucleicos podem ser alvos de ação tóxica do cobre (VIEIRA; MENDONÇA, 2005).

O cobre é um metal encontrado em carnes, cereais, em muitos vegetais, nozes e frutos do mar. O seu conteúdo total no organismo de um adulto saudável, tende a variar entre 100 a 150 mg, encontrando-se maior parte desse no fígado, que junto com os músculos e os ossos, contém cerca de 50 a 75% do total do cobre. Segundo Azevedo et al. (2003), o excesso de cobre solúvel no organismo humano (hipercupremia) pode ser tóxico pela afinidade deste com grupos S-H de muitas proteínas e enzimas, causando doenças como epilepsia, melanomas, artrite reumatoide e doenças psiquiátricas.

Apesar de apresentar baixa toxicidade, quando o cobre é absorvido em grandes quantidades, pode causar vários problemas para a saúde humana, como câimbras, vômitos, anemia, inflamações, destruição da vitamina C, doença de Wilson e doenças na artéria coronária (PINTO et al. 2005).

Masson et al. (2007), avaliando a quantidade de cobre presente em aguardentes produzidas em Minas Gerais, verificaram que houve diferenças significativas nas aguardentes de cana, com valores que variaram de 0,12 a 8,38 mg.L<sup>-1</sup> e 0,96 a 19,40 mg.L<sup>-1</sup>, nas regiões norte e sul, respectivamente, correspondendo 21% do total de amostras acima do limite estabelecido pela legislação brasileira.

Lima et al. (2006), analisando a influência do carvão ativado (compósito) e resina de troca iônica, constaram que tanto o carvão ativado quanto o compósito carvão tratado com óxido de ferro extraíram, além do cobre, quantidades significativas de compostos indispensáveis à qualidade da cachaça. Assim, recomendam que esses adsorventes devem ser empregados com cautela, para que compostos orgânicos responsáveis pelo aroma e sabor da cachaça não sejam também removidos em quantidades que venham a depreciar a bebida. Os autores observaram que a resina de troca iônica mostrou-se melhor para o tratamento de cachaça com excesso de cobre, por ser mais específica na troca de íons como o cobre e não adsorver tanto os compostos orgânicos, essenciais à cachaça.

Estudando a cinética e a isoterma de adsorção de cobre em caulinitas, Duarte et al. (2014) avaliaram a qualidade físico-química da cachaça antes e após a adsorção. Concluíram que as caulinitas K01, K03 e K04 apresentaram capacidade máxima de adsorção do metal, 97, 95 e 90%, respectivamente. Nos resultados das análises físico-químicas, todos os parâmetros da amostra-controle estavam dentro dos limites exigidos pela legislação, exceto para os aldeídos e cobre. Após a adsorção com as argilas estudadas, a cachaça apresentou uma redução dos mesmos e, para alguns parâmetros, não houve diferenças

significativas. Pelos resultados da análise multivariada, com a primeira e a segunda componente principal, foi possível descrever 87% dos dados e pôde-se constatar que todas as amostras diferiram-se do controle quanto aos parâmetros analisados. Assim, as argilas analisadas podem futuramente, após mais estudos, serem utilizadas na remoção do cobre da cachaça.

### **2.7.3.2 Arsênio e Chumbo**

O chumbo e o arsênio ocorrem devido à contaminação nos equipamentos, solo e água, os quais se acumulam no organismo humano. O arsênio tem efeito carcinogênico e pode estar presente na bebida devido a certas embalagens ou oriundos de soldas de ligas metálicas endurecidas. São compostos venenosos e acumulativos (CARDOSO, 2013).

O arsênio é classificado como agente carcinogênico para o ser humano e, desde a sua descoberta, esse elemento foi utilizado de várias formas, contaminando o meio ambiente. O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa) estabelece concentração máxima de arsênio em cachaça de  $100 \mu\text{g L}^{-1}$  (BRASIL, 2005a).

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

O elemento chumbo possui dois estados de oxidação ( $\text{Pb}^{2+}$  e  $\text{Pb}^{4+}$ ), ocorrendo no ambiente principalmente na valência  $2^+$ , e seus compostos são, na

maioria, pouco solúveis em água. Existem duas classes de compostos de chumbo: os inorgânicos, que são os formados por sais e óxidos de chumbo, e os orgânicos, que são o chumbo tetraetila e o chumbo tetrametila. Uma vez absorvidos, todos os compostos inorgânicos atuam no organismo da mesma forma. Os compostos orgânicos são lipossolúveis e podem ser absorvidos pela pele e por via respiratória (ATSDR, 2007).

Segundo Moreira e Moreira (2004), o chumbo é um elemento tóxico não essencial que se acumula no organismo. Na sua interação com a matéria viva, o chumbo apresenta tanto características comuns a outros metais pesados quanto a algumas peculiaridades. Como esse metal afeta virtualmente todos os órgãos e sistemas do organismo, os mecanismos de toxicidade propostos envolvem processos bioquímicos fundamentais, que incluem a habilidade do chumbo de inibir a ação do cálcio e de interagir com proteínas.

A presença de concentrações elevadas desse metal resulta em prejuízo para a saúde humana, podendo causar inicialmente falta de apetite, gosto metálico na boca, desconforto muscular, mal-estar, dor de cabeça e cólicas abdominais fortes (SCHOENINGER; DE CAMPOS, 2011).

Os relatos sobre a contaminação de chumbo em bebidas vêm desde a antiguidade, quando esse metal era utilizado na confecção de utensílios domésticos, como taças e vasos usados no acondicionamento do vinho (KABATA-PENDIAS; MUKHERJEE, 2007).

### **2.7.3.3 Cádmio, Cromo e Zinco**

O cádmio está entre os elementos mais tóxicos existentes na natureza (AL-KEDHAIRY; AL-ROKAYAR; AL-MISUED, 2001).



O cádmio é liberado no ar, terra e água por meio de indústrias metalúrgicas, adubação de culturas e descartes de resíduos que o contém.

Áreas próximas às minas de metais ferrosos e fundições frequentemente apresentam acentuada contaminação (IPCS, 2011).

Ele é um elemento não nutriente para os vegetais ou animais; porém, é facilmente absorvido pelas raízes das plantas e acumulado nas partes aéreas em concentrações que podem criar riscos à cadeia alimentar. A absorção é maior em solos de pH mais baixo. Portanto, processos que acidificam o solo, como as chuvas ácidas, promovem um incremento na concentração média do cádmio em produtos alimentares (IPCS, 2011).

O consumo de alimentos contaminados por esse elemento, constitui a fonte de exposição para humanos. A acumulação de Cd no organismo pode causar câncer de pulmão e próstata, induzir à disfunção renal, osteomalacia e deficiências reprodutivas (GARCÍA-RICO; LEYVA-PERES; JARA-MARINI, 2007). Devido às suas características cancerígenas, a EFSA (2012) estabeleceu uma IDR de 2,5 µg/Kg de peso corporal (EFSA, 2012).

O cromo é um dos principais poluentes lançados pelas indústrias. As principais fontes de contaminação ambiental de cromo são os curtumes, a indústria galvânica e os fertilizantes. A utilização de fertilizantes, além de possibilitar o rápido crescimento da planta, como por exemplo, a cana-de-açúcar, facilita o controle do processo de erosão.

No entanto, a utilização desses fertilizantes e herbicidas contendo diferentes concentrações de cromo são os principais pontos negativos do cultivo de cana-de-açúcar (LABRA et al. 2010).

O zinco é encontrado tanto em alimentos de origem animal quanto vegetal; porém, quando derivado de carnes, geralmente é mais biodisponível que o derivado de cereais; a absorção é influenciada por fatores dietéticos e inibida por fitato, teores elevados de fibra, cobre, oxalato, ferro e estanho, mas é

potencializada pela proteína animal. A diminuição de sua absorção pode ocorrer devido a doenças intestinais, e o aumento de sua excreção, por hiperzinciúria decorrente de patologias renais (PRASAD, 1996).

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

As consequências da sua ausência no organismo podem provocar retardo no crescimento e desenvolvimento, ocorrência de diarreia e inflamação intestinal, atraso na maturação sexual, demora na cicatrização de feridas, perda de peso, dentre outras (MAFRA; COZZOLINO, 2004).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALAMBIQUE SANTA EFIGENIA. Disponível em: <http://www.alambiquessantaefigenia.com.br/equipamentos/index.php> . Acesso em 02 de Agosto de 2018.

ALCARDE, A.R. **Cachaça: Ciência, tecnologia e arte**. 2ª ed, São Paulo: Blucher, 2017. 96p.

ALCARDE, A. R.; SOUZA, P. A.; BELLUCO, A. E. S. Aspectos da composição química e aceitação sensorial da aguardente de cana-de-açúcar envelhecida em tonéis de diferentes madeiras. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, n. 1, p. 226-232, maio 2010.

ALI, Q. et al. Genetic variability for grain yield and quality traits in chickpea (*Cicer arietinum* L.). **Int. J. Agro Vet. Med. Sci.**, v. 5, n. 2, p. 201-208, 2011.

AL-KEDHAIRY, A. A.; AL-ROKAYAR, S. A.; AL-MISUED, F. A. Cadmium toxicity and cells stress response. **Pakistan Journal of Biology Sciences**, v. 1, n. 1, p. 1046-1049, 2001.

ANDERSON, P.; GUAL, A.; COLOM, J. Álcool e Cuidados de Saúde Primários. **Recomendações Clínicas para a Detecção e Intervenções Breves**. Barcelona (2005), Disponível em: <<http://www.phepa.net>>. Acesso em 20 de julho de 2018.

ANDRADE SOBRINHO, L. G. et al. Carbamato de etila em bebidas alcoólicas (cachaça, tiquira, uísque e grapa). **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 6B, p. 1074-1077, 2002.

ANDRADE-SOBRINHO, et al . Teores de carbamato de etila em aguardentes de cana e mandioca. **Química Nova**, v. 32, n. 1, p. 116-119, [s.n], 2009.

ANJOS, J. P. et al. Identificação do carbamato de etila durante o armazenamento da cachaça em tonel de carvalho (*Quercus* sp) e recipiente de vidro. **Química Nova**, São Paulo, v. 34, n. 5, p. 874-878, 2011.

AQUARONE, E. et al. **Biotecnologia industrial: Biotecnologia Industrial na produção de alimentos**. 1 ed. São Paulo: Editora Blucher, v. 4, 2001. 525 p.

ATSDR - Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological profile for acrolein. In: *U.S. Department of Health and Human Services*, 2007.

AZEVÊDO, L. et al. Efeito da presença e concentração de compostos carbonílicos na qualidade de vinhos. **Química Nova**, v. 30, n. 8, p. 1968-1975, 2007.

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

BAIRD, C. **Química ambiental**. Trad. M.A.L. Recio e L.C.M. Carrera. 2. ed. Porto Alegre: Bookman, 2002.

BARBOSA, L. **Sociedade de Consumo**. Rio de Janeiro: Jorge Zahar Ed. 2004. 49 p.

BERTOZZO, F.; JORGE, L. J.; LARA, A. C. C. Glicerina: Um resíduo da produção de biodiesel. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PLANTAS OLEAGINOSAS, ÓLEOS, GORDURAS E BIODIESEL, 6, 2009. Montes Claros. **Anais eletrônicos**, 2009.

BOLFE, E. L. et al. **WebGis Moçambique**: organização das bases de dados espaciais para a plataforma GeoServer. Campinas: Embrapa Monitoramento por Satélite, 2011.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 28**, de 08 de agosto de 2014.

BRASIL. Decreto nº 6871, de 04 de junho de 2009. Lei nº 8.918. MAPA - Ministério da Agricultura e abastecimento. **Diário Oficial da União**, 14 jul. 1994. Seção 1, p. 5,5.

BRASIL. Normativa nº 13, de 29 de junho de 2005. MAPA- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 13, de 29 de junho de 2005. **Diário Oficial da União. Brasília**, 30 Jun. 2005a.

BRASIL, Instrução normativa n. 24, de 08 de setembro de 2005. MAPA- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Diário Oficial da União**. 20 set. 2005 b. Seção 1, p. 11.

BRASIL. Casa Civil. Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994. **Diário Oficial da União**, 15 jul. 1994.

CAPELA, J. **O álcool na Colonização do Sul do Save 1860 – 1920**. Maputo: Litografia Ach. Brito. 1995.

CARDOSO, M. G. **Produção de aguardente de cana**. 3ª ed. Lavras: Editora UFLA, v. 340, ISBN: 9788581270272, 2013.

CARVALHO, F. P. et al. Interaction of *Saccharomyces cerevisiae* and *Lactococcus lactis* in the fermentation and quality of artisanal cachaça. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá v. 37, n.1, p. 51-60, Jan./Mar. 2015.

CASADEI, E. Bebidas alcoólicas tradicionais de Moçambique alguns aspectos toxicológicos. **Curso Intensivo sobre Ecotoxicología y Seguridad Química**. ECO, 1987.

CEPAGRI. Centro de Promoção da Agricultura. Ministério de Agricultura. Maputo. Disponível em: < <http://muliquela.blogspot.com.br/2011/03/pela-primeira-vez-em-35-anos.html>>. Acesso em 25 dez. 2010.

CONSELHO DE MINISTROS (DO GOVERNO DE MOÇAMBIQUE). **Decreto número 54/2013 de criação do Regulamento de produção e comercialização de bebidas alcoólicas**. República de Moçambique, 2013.

CONSELHO DE MINISTROS. **Estratégia de Emprego e Formação Profissional em Moçambique 2006 – 2015**. República de Moçambique. Maputo. 2006. Disponível em: <[http://www.ilo.org/dyn/legosh/en/f?p=14100:503:757621642697::NO:503:P503\\_REFERENCE\\_FILE\\_ID:169192:NO](http://www.ilo.org/dyn/legosh/en/f?p=14100:503:757621642697::NO:503:P503_REFERENCE_FILE_ID:169192:NO)> Acesso em: 10 de julho de 2018.

COZZOLINO, S. M. F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. 2ª. ed., Mannole, 2007.

CUNHA FILHO, H.; FERREIRA-BORGES, C. **Usos, abusos e dependências. Alcoolismo e Toxicodependência**. 1 ed. Lisboa: Climepsi Editores, 2004.

DUARTE, F. C. et al. Removal of copper in cachaças using clays. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 38, n. 4, p. 382-389, July/Aug, 2014.

EFSA - European Food Safety Authority. **Cadmium dietary exposure in the European population**. Disponível em: <<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/2551>> Acesso em 10 janeiro de 2012.

EFSA. **Ethyl carbamate and hydrocyanic acid in food and beverages. Scientific opinion of the panel on contaminants.** EFSA J 551:1–44, 2007.

EFSA - EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food on a request from the Commission related to Furfural and Furfural Diethylacetal. **EFSA Journal**, v. 67, p. 1-27, Parma, Italy, 2004.

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

FAROON, O. et al. Acrolein Health Effects. **Toxicology and Industrial Health**, v. 24, n. 7, p. 447-490, Aug. 2008.

FIDALGO, L. et al. Nutrition Country Profile: Republic of Mozambique. **Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)**, 2011.  
Disponível em: <<ftp://ftp.fao.org/ag/agn/nutrition/ncp/moz.pdf>>. Acesso em 10 de julho de 2018.

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

GARAI-IBABE, G. et al. Glycerol metabolism and bitterness producing lactic acid bacteria in cidermaking. **International Journal of Food Microbiology**, v. 121, p. 253–261, 2008.

GARCIA, A. C. et al. Análise de glicerol em aguardentes de cana de açúcar: desenvolvimento de método por HPLC-DAD. **33ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2010.

GARCÍA-RICO, L.; LEYVA-PEREZ, J.; JAR A-MARINI, M. E. Content and daily intake of copper, zinc, lead, cadmium, and mercury from dietary supplements in Mexico. **Food and Chemical Toxicology**, v. 45, p. 1599–1605, 2007.

GDM - Governo de Moçambique. **Estratégia nacional de desenvolvimento (2015-2035)**. Maputo, Julho de 2014.

HARRIS, D.C. **Quantitative chemical analysis**. 5ª ed. Nova Iorque: W. H. Freeman. Appendix G (acid dissociation constants), p. 15-26. 1999.

HOFFLER, U. et al. Cytochrome P450 2E1 (CYP2E1) is the principal enzyme responsible for urethane metabolism: comparative studies using CYP2E1-null and wild-type mice. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 305, n. 2, p. 557-564, May, 2003.

HOGUANE, A. M. Perfil Diagnóstico da Zona Costeira de Moçambique, In: **Revista de Gestão Costeira Integrada** v. 7, n. 1, p. 69-82, 2007.

IESE – Instituto de Estudos Econômicos e Sociais. Proteção Social, Abordagens, Desafios e Experiências para Moçambique. **Comunicações apresentadas na II conferência do Instituto de Estudos Econômicos e Sociais, IESE**, Maputo, 2010.

INIA. Instituto Nacional de Investigação Agronómica. Os Solos das Províncias de Maputo e Gaza. In: **Série Terra e Água: Comunicação**, n. 76, Maputo: Departamento de Terra e Água, 1993.

IPCS- **International Programme on Chemical Safety**. Cadmium. 2011  
Disponível em: <<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc/134.htm>>.  
Acesso em 26 de Julho de 2018.

JANZANTTI, N. S. Compostos voláteis e qualidade de sabor da cachaça. **Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos)**. Universidade Estadual de Campinas. – Campinas, SP: [s.n.], 2004.

JELSMA, I.; BOLDING, A.; SLINGERLAND. M. Smallholder Sugarcane Production Systems in Xinavane, Mozambique. **Report from the Field. Netherlands: Wageningen University**, p. 79, nov., 2010.

KABATA-PENDIAS, A.; MUKHERJEE, A. B. **Trace elements from soil to human**. New York: Springer Science & Business Media, 2007.

LABRA, M. et al. The combined toxic and genotoxic effects of chromium and volatile organic contaminants to *Pseudokirchneriella subcapitata*. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 213, n. 1-4, p. 57-70, nov., 2010.

LACHENMEIER, D.W. et al., Retrospective trends and current status of ethyl carbamate in German stone-fruit spirits. **Food Additive and Contaminant**, v. 22, n. 5, p. 397-405, 2005.

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

LALLUKKA, T.; PITKANIEMI, J.; RAHKONEN, S. et al. The association of income with fresh fruit and vegetable consumption at different levels of education. *European Journal of Clinic Nutrition*, v. 64, p. 324-327, 2010.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica**. 5 ed. Porto Alegre: Artmed, 2011.

LIMA, U. A. et al. **Biotecnologia Industrial: Processos Fermentativos e Enzimáticos**. São Paulo: Editora Edgard Blücher, v. 3, p.1-43, 2014.

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

MACHADO, A. M. R. et al. Experimental design methodology to optimize the solid phase microextraction procedure prior to GC/MS Determination of Ethyl Carbamate in Samples of Homemade Cachaça. **Analytical Letters**, v. 45, n. 10, p. 1143-1155, 2012.

MAE, Ministério da Administração Estatal; MF Ministério das Finanças; MPD Ministério da Planificação e Desenvolvimento. **Fundo Distrital de Desenvolvimento** – Manual de procedimentos. Maputo, Moçambique: 22 Mar. 2011.

MAFALACUSSER, J. M. The Status of Soil Resources in Mozambique. In: FAO's GLOBAL PARTNERSHIP LAUNCH FOR EASTERN AND SOUTHERNAFRICA, March, 2013 Nairobi. **Anais**. Disponível em: <[http://www.fao.org/fileadmin/user\\_upload/GSP/docs/South\\_east\\_partnership/Mozambique.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/GSP/docs/South_east_partnership/Mozambique.pdf)>.

MAFRA, D.; COZZOLINO, S.M.F. Importância do zinco na nutrição humana. **Revista de Nutrição**, v. 17, n. 1, p. 79 -87, 2004.

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



MAPA DA CACHAÇA. Disponível em:  
<<http://www.mapadacachaca.com.br/artigos/os-diferentes-processos-de-producao-da-cachaca/>>. 2018.

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Informações sobre exportações da cachaça**. Agrostat. Disponível em:  
<<http://indicadores.agricultura.gov.br/agrostat/index.htm>>. Acesso em 18 de Julho de 2018.

MASSON, J. et al. Determination of acrolein, ethanol, volatile acidity, and copper in different samples of sugarcane spirits. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 32, p. 569-572, 2012.

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

MCSWEENEY, C.; NEW, M.; LIZCANO, G. UNDP Climate Change Country Profiles: Mozambique. p. 48. 2010.

MEDEIROS, E. **Bebidas moçambicanas de fabrico caseiro**. Arquivo Histórico de Moçambique, 5edição, p.112. 1988.

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

METIER. Perfil da descentralização em Moçambique: por uma governação descentralizada (1975-2003). Maputo: **METIER**, 2004.

MILLENNIUM BCP. MOÇAMBIQUE: **Internacionalização da Economia Moçambicana**. Lisboa. Junho, 2014. Disponível em: <<http://www.ppa.pt/wp-content/uploads/2014/06/05-Estudo-Moçambique-Elaborado-por-Millennium-bcp>>. Acesso em 27 de junho de 2018.

MONTENEGRO, M. **Uma breve história da cachaça brasileira**. Da colônia aos dias atuais. São Paulo. p. 72, 2009.

MONSIVAIS, P.; AGGARWAL, A.; DREWNOWSKI, A. Are socioeconomic disparities in diet quality explained by diet cost? **Journal of Epidemiology and Community Health**, v. 66, n. 6, p. 530–535, 2012.

MOREIRA F. R.; MOREIRA J. C. Os efeitos do chumbo sobre o organismo humano e seu significado para a saúde. **Rev Panam Salud Publica**. v, 15, n. 2, p. 119–29, 2004.

MORRISON, L. R. Glicerol. In: KIRK, R. E.; OTHMER, D. F, OTHMER, D. F. **kirk-othmer: Encyclopédia of chemical technology**. New York. Wiley. Doi: [10.1002/0471238961.0712250313151818.a01](https://doi.org/10.1002/0471238961.0712250313151818.a01), 2000.

MOTA, C. J. A.; SILVA, C. X. X.; GONÇALVES, V. L. C. Gliceroquímica: novos produtos e processos a partir da glicerina de produção de biodiesel. **Química Nova**, v. 32. n. 3, p. 639-648, mar, 2009.

MTC, Ministério dos Transportes e Comunicações, Análise sectorial e Avaliação de Oportunidades de Investimento no Corredor de Desenvolvimento de Maputo (cdm), **Projeto ancora**, Maio de 2015.

NAGATO, L. A. F. et al., Carbamato de etila em bebidas alcoólicas. **Bol. SBCTA**, Campinas, v. 37, n. 1, p. 40-47, 2003.

NASCIMENTO, E. S. P. et al. Comparação de técnicas de determinação de ésteres em cachaça. **Química Nova**, v. 32, n.9, p. 2323-2327, 2009.

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

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

O’LAUGHLIN, B.; IBRAIMO, Y. A Expansão da Produção de Açúcar e o Bem-Estar dos Trabalhadores Agrícolas e Comunidades Rurais em Xinavane e Magude. **Cadernos IESE n° 12P**. Maputo, IESE, 2013.

OLIVEIRA, C. R. et al. Cachaça de alambique: Manual de boas práticas ambientais de produção. **Convênio de Cooperação Técnica SEAPA/SEMAD/AMPAQ/FEAM /IMA**, p. 72, 2005.

OMS - Organização Mundial de Saúde. Mozambique. Socioeconomic Context. **United Nations**. 2011.

PADRÃO, P. et al. Alcohol consumption in Mozambique: regular consumption, weekly pattern and binge drinking. **Drug and Alcohol Dependence**, v. 115, n. 1-2, p. 87-93, May, 2011.

PATARO, C. et al. Utilização de leveduras selecionadas na fabricação da cachaça de alambique. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 23, n. 217, p. 37-43, 2002.

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

PIPLE, J. et al. Food Choices and Consequences for the Nutritional Status: Insights into Nutrition Transition in an Hospital Community. **Plos One**, v. 10, n. 11, p. 1-9, 2015.

PEREIRA, V. et al. Evolution of 5-hydroxymethylfurfural (HMF) and furfural (F) in fortified wines submitted to overheating conditions. **Food Research International**, v. 44, n. 1, p. 71-76, Jan. 2011.

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

PINTO, F. G. et al. Determinação de cobre e zinco em cachaça por espectrometria de absorção atômica com chama usando calibração por ajuste de matriz. **Revista Analytica**, São Paulo, n. 17, p. 48-50, Jun/Jul 2005.

POSADA, J. A. et al. Bioglicerol como matéria prima para la obtención de productos de valor agregado (Bioglycerol as raw material to obtain added value products). In: Cardona C.A. (org). Avances investigativos en la producción de Biocombustibles (Researching advances for biofuels production). **Manizales: Ed. Universidad Nacional de Colombia sede Manizales**. p. 103-127, 2009.

PRASAD, A. S. Zinc deficiency in women, infants and children. **Jour Am Coll of Nutrition**, v. 15, n. 2, p. 113-20. 1996.

REMIZE, F.; BARNAVON, L.; DEQUIN, S. Glycerol export and glycerol-3-phosphate dehydrogenase, but not glycerol phosphatase, are rate limiting for glycerol production in *Saccharomyces cerevisiae*. **Metabolic engineering**, v. 3, n. 4, p. 301-312, 2001.

RIBEIRO, P. R. et al. Furfural - Da biomassa ao laboratório de química orgânica. **Química Nova**, v. 35, n. 5, p. 1046–1051, 2012.

ROJAS, V. et al. Studies on acetate ester production by non-Saccharomyces wine yeasts. **International Journal of Food Microbiology**, v. 70, n. 3, p. 283-289, Nov, 2001.

RONQUIM, C. C. Solos e potencialidades agrícolas em Moçambique: o caso da região do corredor de Nacala. **Agência Brasileira de Cooperação**, Abril, 2010.

SANTIAGO, W. D. et al. Comparação do perfil físico-químico de cachaças envelhecidas em tonéis de carvalho (*Quercus* sp) e amburana (*Amburana cearensis*). **E-xacta** (Belo Horizonte), v. 7, n. 2, p. 17-29, 2014a.

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

SANTIAGO, W. D. et al. Perfil físico-químico e quantificação de compostos fenólicos e acroleína em aguardentes de cana-de-açúcar armazenadas em tonéis de diferentes madeiras. **Revista Científica, Jaboticabal**, v. 40, n. 2, p. 189-197, 2012.

SCHEHL, B. et al. Effect of the stone content on the quality of plum and cherry spirits produced from mash fermentations with commercial and laboratory yeast strains. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 53, n. 21, p. 8230-8238, 2005.

SCHOENINGER, M. S. C. F.; DE CAMPOS V. Teores de cobre e chumbo e grau alcoólico de aguardentes coloniais comercializadas na região do alto vale do Itajaí1. **Revista Caminhos**, Rio do Sul v. 2, n. 4, p. 27-37, Jul/Set, 2011.

SCHWAN, R. F. et al. Fermentação. In: CARDOSO, M. G. **Produção de aguardente de cana**. 2. ed. Lavras: Editora UFLA, 2013, 340p.

SEBRAE. **Potencial da cachaça brasileira**. 2014. Disponível em: <<http://www.sebrae.com.br>>. Acesso em 28 de junho de 2018.

SEBRAE. Cachaça artesanal: Relatório completo. In: **Estudo de mercado**, 2008.

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

SILVA, V. A. D. Ambiente e desenvolvimento: Efeitos do Álcool Etílico e da Desnutrição. **Mundo & Vida**. v. 2, 2000.

DA SILVA, G. P.; MACK, M.; CONTIERO, J. Glicerol: A promising and abundant carbon source for industrial microbiology. **Biotechnology advances**. v. 27, n. 1, p. 30-39, Jan/ Feb, 2009.

SOLOMONS, T. W. G. **Química Orgânica 2**. 6. ed. Trad. H. Macedo. Rio de Janeiro: LTC, p. 91-96, 1996.

SOUSA, F. et al. **O Consumo de Bebidas Alcoólicas na População Escolar Juvenil**. 1. ed. GAIM. Janeiro 2008. Disponível em: <[http://www.gaim.pt/publicacoes/pub\\_2/Livro\\_Final.pdf](http://www.gaim.pt/publicacoes/pub_2/Livro_Final.pdf)>. Acesso em 24 de Julho de 2018.

SOUZA, L. M et al. Produção de Cachaça de Qualidade. **Casa do Produtor**, Piracicaba, p. 72, ESALQ, 2013.

TAHERZADEH, J.M.; ADLER, L.; LIDEN, G. Strategies for enhancing fermentative production of glycerol – a review. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 31, n. 1-2, p 53-66, July, 2002.

UNICEF. Pobreza Infantil e Disparidades em Moçambique, **Maputo, Moçambique**, 2011.

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

VEIGA, C. F. M.; VIEIRA, J. R.; MORGADO, I. F. **Diagnóstico da cadeia produtiva da cana-de-açúcar do estado do Rio de Janeiro: relatório de pesquisa**. Rio de Janeiro: FAERJ, SEBRAE/RJ, 2013.

VENTURINI FILHO W. G. et al. **Bebidas alcoólicas: Ciência e Tecnologia**. São Paulo: Blucher, 2010.

VIDAL, E.E. et al. Influence of nitrogen supply on the production of higher alcohols/ esters and expression of flavour-related genes in cachaça fermentation. **Food Chemistry**, v.138, n. 1, p.701-708, May, 2013.

VIEIRA, D. A.; MENDONÇA, J. K. A. Avaliação da contaminação com cobre na cachaça produzida na região da estrada de ferro-orizona no estado de Goiás, 2005. Disponível em: <<http://www.prp.ueg.br/06v1/conteudo/pesquisa/ini-cien/eventos>>. Acesso em 20 de julho de 2018.

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

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

WANG, Z. X. et al. Glicerol production by microbial fermentation: A review. **Biotechnology advances**, v.19, n. 3, p. 201-203, June, 2001.

WHO. Harmful use of alcohol in the WHO African Region: Situation analysis and perspectives (AFR/RC57/14), Brazzaville, **World Health Organization, Regional Office for Africa**, 2007.

WHO - World Health Organization. **United nations synthesis report on arsenic in drinking water**. Geneva, 2001.

WEBER, J. V.; SHARYPOV, V. I. Ethyl carbamate in foods and beverages: a review. **Environmental Chemistry Letters**, Heidelberg, v. 7, n. 3, p. 233-247, 2009.

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

YOKOYA, F.; OLIVA-NETO, P. Características da flocculação de leveduras por *Lactobacillus Fermentum*. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v. 22, n. 1, p. 12-16, 2003.

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

ZIMMERLI, B.; SCHLATTER, J. Ethyl carbamate: analytical methodology, occurrence, formation, biological activity and risk assessment. **Mutation Research**, v. 259, p. 325-350, 1991.

## **SEGUNDA PARTE – ARTIGOS**



**ARTIGO 1: PHYSICOCHEMICAL AND  
CHROMATOGRAPHIC PROFILES OF  
DISTILLED SUGARCANE SPIRITS PRODUCED  
IN MOZAMBIQUE**

**Publicado:**

TÁBUA, M. C. M.; CARDOSO, M. G.; SANTIAGO, W. D. GONÇALVES, G. S.; BARBOSA, R. B.; LUNGUINHO, A. S.; OLIVEIRA, R. E. S.; D'AVILA, G. B.; MAGALHÃES, M. L.; NELSON, D. L. **American Journal of Plant Science**, v. 9, n. 4, p. 617-627, March 2018.

## **ABSTRACT**

Knowledge of the chemical composition of Mozambican spirits is extremely important because the studies of potentially toxic compounds have been a determinant factor in quality control. The objectives of this work were to analyze and physicochemically characterize distilled sugarcane spirits and other raw materials from Mozambique on the basis of the standards established by the Brazilian Ministry of Agriculture, Livestock and Food Supply (MAPA). The samples came from five provinces of southern and central Mozambique, provided by the owners of the stills in the localities of Manhiça, Xinavane, Chókwe, Massinga, Mafambisse, Beira and Chimoio. The four samples from Brazil were randomly collected from different regions of Minas Gerais. The parameters analyzed were ethanol, methanol, higher alcohols, aldehydes, volatile acidity, furfural, esters and copper concentrations. The Mozambican spirits produced from different raw materials, compared to Brazilian spirits, contained very variable concentrations of the components analyzed. Mozambican spirits are of much lower quality than Brazilian beverages and are not suitable for consumption.

Keywords: Mozambican liquor, Quality, Distilled alcoholic beverages.

## 1. INTRODUCTION

Sugar cane spirits are produced in Mozambique by small producers in the the Northern, Central and Southern regions. The scale of production is very precarious and without any registration of trademarks. The different forms of production and the types of raw material result in a variable qualities in terms of flavor and aroma, so the products receive different designations in said regions. Producers often use molasses and cereals such as corn, sorghum or rice as their raw materials.

Most of the production of spirits is of a family nature employing rudimentary techniques. These families are dedicated to the production of sugarcane spirits, the head of the family is the individual who performs the activities of preparation and processing of the raw material, and often the spouse is responsible for the commercialization.

In some localities in the southern and central regions of Mozambique, spirits are produced for the sustenance of the families. Therefore, it is necessary for these producers to have a certain knowledge of new production technologies and the methods of transformation of raw material available for producing quality spirits. The production of alcoholic beverages in Mozambique consists of the fermentation of several cereals or their simple or mixed brans, wild and cultivated fruits and sugarcane, using yeast, leverine or dried and ground germinated cereal as fermentative agents [1]. The objectives of this work were to analyze and characterize physicochemically sugarcane spirits and other raw materials from Mozambique on the basis of the standards established by the Brazilian Ministry of Agriculture, Livestock and Supply.

## 2. MATERIAL AND METHODS

### 2.1 Sample collection

The samples were collected from five provinces of southern and central Mozambique, including the localities of Manhiça, Xinavane, Chókwe, Massinga, Mafambisse, Beira and Chimoio, and they were provided by the owners of the stills, in the period between August 2016 and the period of May 2017. The District of Manhiça is located between the parallels  $24^{\circ} 58' 49''$  and  $25^{\circ} 35' 46''$  south latitude and between the meridians  $32^{\circ} 30' 51''$  and  $33^{\circ} 08' 14''$  long. The town of Xinavane lies between the parallels  $25^{\circ} 0' 34''$  south latitude and between  $32^{\circ} 45' 04''$  east longitude. The district of Chókwe is georeferenced between parallels  $24^{\circ} 05'$  and  $24^{\circ} 48'$  latitude South and  $32^{\circ} 33'$  and  $33^{\circ} 35'$  east longitude. The Massinga district is located between the parallels  $22^{\circ} 39'$  and  $23^{\circ} 31'$  South latitude and the meridians  $34^{\circ} 54'$  and  $35^{\circ} 36'$  east longitude. The district of Mafambisse is located between the parallels  $19^{\circ} 32' 57''$  south latitude and between  $34^{\circ} 37' 28''$  east longitude. For the Beira district, it is georeferenced between the parallels  $19^{\circ} 50' 36''$  south latitude and between  $34^{\circ} 50' 20''$  east longitude. And the district of Chimoio is located between the parallels  $19^{\circ} 06' 59''$  south latitude and between  $33^{\circ} 28' 59''$  east longitude.

The four samples from Brazil were randomly collected from different regions of the state of Minas Gerais, Brazil. All the samples were identified by regions of origin and sent to the Laboratory of Quality Analysis of Spirits (LAQA), Department of Chemistry, Federal University of Lavras. The characteristics of the samples, as well as the region of origin, the alcohol concentration, and the raw material used in its production are presented in Table 1.

**Table 1.** Description of the samples by place of origin and raw material.

<b>Sample</b>	<b>Origin</b>	<b>Raw Material</b>	<b>Type of still</b>	<b>Alcohol Concentration (% v/v)</b>
1	Manhiça	Cane	Alambic	40.49
2	Manhiça	Cane	Alambic	47.38
3	Xinavane	Cane	Alambic	41.58
4	Xinavane	Cane	Alambic	40.08
5	Chokwe	Cashew	Alambic	20.8
6	Chokwe	Cashew	Alambic	20.96
7	Massinga	Nuts	Alambic	56.1
8	Massinga	Nuts	Alambic	55.8
9	Mafambisse	Cane	Alambic	35.2
10	Mafambisse	Cane	Alambic	37.06
11	Beira	Cereal	Alambic	21.3
12	Chimoio	Cereal	Alambic	58.1
13	Chimoio	Cereal	Alambic	21.58
14	Minas Gerais	Cane	Alambic	38.31
15	Minas Gerais	Cane	Alambic	40.08
16	Minas Gerais	Cane	Alambic	44.09
17	Minas Gerais	Cane	Alambic	40.15

## 2.2 Physicochemical analysis

The physicochemical analyses were performed at the Laboratory for the Analysis of Spirit Quality, Department of Chemistry, Federal University of Lavras according to the methods recommended by the Ministry of Agriculture, Livestock and Supply (MAPA) [2]. The samples were redistilled and stored in sealed glass

bottles under refrigeration. All the analyses were performed in triplicate. The parameters analyzed by the respective analytical methods are described below:

The alcohol concentration was determined by densitometry, and the result was expressed in percent volume. The samples were redistilled, and the alcohol content was determined by measurements at 20 °C with the aid of a digital hydrometer (DensiMat Gilbertini).

The volatile acidity was determined by volumetric titration. The volatile acids were extracted by steam distillation using a Gilbertini Electronic Enochimico Distiller. The acids obtained were titrated with 0.1 M NaOH in the presence of 1% phenolphthalein as an indicator. The results were expressed in grams of acetic acid per 100 mL of sample.

Aldehydes were analyzed by direct titration of the SO<sub>2</sub> formed by the reactions involved in the analysis with 0.05 M iodine. The amount of aldehyde was expressed in grams of acetaldehyde per 100 mL of sample [2].

The determination of furfural was accomplished by means of spectrophotometric readings at 520 nm (Shimadzu UV-1601 PC) and by comparison of the absorbance observed in the beverage samples with those of a calibration curve previously constructed with standard solutions of ethanol and furfural. The alcoholic strength of the distillate was corrected to 50° GL. The results were expressed as milligrams of furfural in 100 mL of anhydrous ethanol.

Esters were determined by titration of the carboxylic acid esters obtained by transesterification of the beverages. The concentrations were expressed in grams of ethyl acetate per 100 mL of ethanol.

Copper was determined by two procedures: I) The Official MAP method. Copper analysis was performed by spectrophotometric (Shimadzu UV-1601 PC) measurements at 546 nm that were compared with the absorbance values of a calibration curve previously constructed using copper sulfate as the primary standard. The colorimetric reactions were performed on cachaças prior to

redistilling. The results were expressed in mg/L of anhydrous ethanol. II) Analysis by atomic absorption. The concentrations of copper (Cu) were determined by Flame Atomic Absorption Spectrometry, using the Varian Spectr AA 110 Atomic Absorption Spectrophotometer. The analytical curve was obtained using Merck standards at the following concentrations: 0.5; 1.0; 2.0; 4.0; 8.0 mg L<sup>-1</sup>. All the evaluations were performed at the wavelength of 324 nm for copper using a hollow cathode lamp. For the preparation of the samples, the method n° 11 of the Manual of Methods of Analysis of Beverages and Vinegars proposed by MAPA [2] was employed. The samples were evaporated in a water bath at 85 °C, 50 mL of the sample to be analyzed up to a volume of 10 mL. After evaporation, the sample was removed from the water bath and allowed to cool for a period of 2 hours until it reached room temperature. The sample was transferred to a 50 mL volumetric flask, the volume was completed with distilled water, and the direct reading was performed in the atomic absorption apparatus. The results obtained were expressed in mg L<sup>-1</sup> and compared with the levels permitted by the Brazilian Legislation [3].

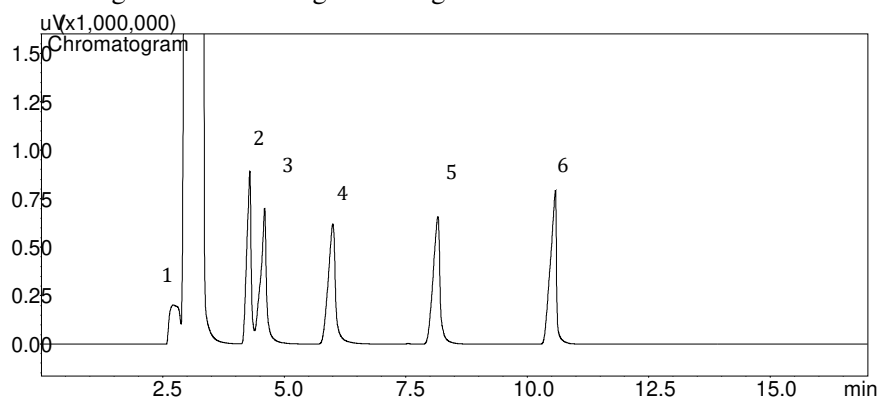
## **2.3 Chromatographic Analyzes (GC-FID)**

### **2.3.1 Determination of higher alcohols and metanol**

A model GC 2010 gas chromatograph (GC) with automatic injection and a flame ionization detector (FID) were used in the Laboratory of the Central Analytical for Chemistry Prospecting (CAPQ) of the Department of Chemistry of the Federal University of Lavras. The column employed for analysis of the higher alcohols (propane-1-ol, butan-1-ol, butan-2-ol, and 3-methylbutan-1-ol) and methanol was the DB- Shimadzu polyethylene glycol (30 m x 0.25 mm x 0.25 µm) column. The injection occurred at 150 °C and detection at 170 °C. The injected volume was 1.0 µL. The split ratio was 1:10. The entrainment gas was helium with a linear velocity of 1.4 mL.min<sup>-1</sup>. In this method, the analytical curves

were constructed from previously known concentrations at certain concentration ranges by means of dilutions of the stock solution of each alcohol analyzed. The results were obtained from the regression equations and the correlation coefficients of the standard curve (Figure 1).

Figure 1. Chromatogram of higher alcohols and methanol.



1\_ Metanol; 2\_ Butan-2-ol; 3\_ Propan-1-ol; 4\_ Álcool isobutílico; 5\_ Butan-1-ol; 6\_ Álcool isoamílico.

### 3. RESULTS AND DISCUSSION

The mean values for the volatile acidity, aldehyde, copper and ester concentrations are listed in Table 2.



Table 2. Total volatile acidity, aldehydes, copper and ester concentrations of distilled spirits collected in Mozambique and Minas Gerais.

Sample	Volatile acidity (mg 100 mL <sup>-1</sup> aa)	Aldehydes (mg 100 mL <sup>-1</sup> aa)	Copper (mg L <sup>-1</sup> )	Ésters (mg 100 mL <sup>-1</sup> aa)
1	465.560 c*	34.563 e*	ND	63.741 c
2	185.783 h*	22.622 g	ND	35.428 d
3	267.458 g*	60.426 d*	ND	53.259 d
4	279.340 f*	32.195 f	1.550 e	82.892 c
5	509.594 b*	114.749 a*	ND	151.456 a
6	520.087 a*	114.487 a*	ND	150.364 a
7	34.134 n	21.385 g	ND	39.476 d
8	34.269 n	21.874 g	ND	36.583 d
9	162.968 i*	32.852 f*	7.617 a*	36.258 d
10	182.868 h*	35.124 e*	5.981 b	62.060 c
11	387.290 e*	102.026 b*	ND	119.972 b
12	94.532 k	14.598 i	ND	67.397 c
13	392.432 d*	99.113 c*	ND	77.176 c
14	15.381 o	12.114 j	0.213 g	20.446 d
15	113.941 j	16.945 h	0.725 f	86.858 c
16	53.454 m	17.371 h	4.377 c	45.121 d
17	62.367 l	10.128 k	2.257 d	27.493 d

The means followed by the same letter in the columns do not differ from one another by the Scott Knott test at the 5% probability level. Results with an asterisk (\*) are beyond the limits of the Standards for Identity and Quality [3].

The mean value for the volatile acid content of Mozambican spirits was 76%, which presented a volatile acidity level greater than that permitted by MAPA (150 mg 100 mL<sup>-1</sup> aa), with the exception of samples 7, 8 and 12, which presented values of 34.134, 34.269 and 94.532 mg 100 mL<sup>-1</sup> aa, respectively, and were

within the limits established by Brazilian legislation [3]. The same is not true of samples of Brazilian spirits, all of which were within the legal limits, ranging from 15.38 to 113.94 mg 100 mL<sup>-1</sup> aa. For Cardoso [4], the high acidity present in spirits/cachaças can be attributed to the contamination of the raw material or of the wine itself by acetic and other bacteria, resulting from an excessive rest period between the fermentation process and the distillation or a lack of hygiene throughout the production chain, especially during fermentation. Contamination causes the substrate to undergo acetic fermentation, which increases the acidity and diminishes the yield of ethanol.

Among the Mozambican spirits analyzed, 69.2% were outside the limits permitted by MAPA for the aldehyde concentration. Only spirits 2, 7, 8 and 12, with concentrations of 22.62, 21.38; 21.87 and 14.59 mg 100 mL<sup>-1</sup> aa were within the limits established by MAPA (30 mg 100 mL<sup>-1</sup>); the other spirits contained concentrations greater than that established by the Brazilian legislation. The aldehyde concentration ranged from 14.59 to 114.74 mg 100 mL<sup>-1</sup> aa. All the Brazilian spirits were within the legal limits, ranging from 10.12 to 17.37 mg 100 mL<sup>-1</sup> aa.

Methanol and acetaldehyde are compounds that are characteristic of the head fraction because they are substances that are very volatile [4,5]. For Serafim et al. [6], aldehydes are compounds responsible for the definition and consequent separation of the group of compounds referred to as the head fraction because this compound is volatile.

Therefore, the moment of making the cuts of the fractions to avoid contamination of the fraction "heart" by an excess of organic contaminants that are harmful to human health is very important. According to Pereira [7], the distillation process is important for separating the volatile components (water, ethanol, methanol, higher alcohols, acetic acid, esters, aldehydes, carbon dioxide, etc.) from the fixed or non-volatile components, which are solids (yeast cells,

minerals, organic and inorganic acids). The volatile compounds are distilled according to their boiling temperatures, alcohol/water affinity and alcohol content in the distillation vapor, which favors the differentiation of the chemical composition of each fraction collected during the distillation of the beverage.

The mean concentrations of the esters were all within the limits required by Brazilian legislation (200 mg 100 mL<sup>-1</sup>), with levels varying from 27.493 to 151.456 mg 100 mL<sup>-1</sup> aa. Among the Mozambican spirits numbers 2, 3, 7, 8 and 9, no significant differences in their ester contents were observed when compared with Brazilian spirits 14, 16 and 17.

The formation of the esters occurs during distillation and in the aging process via a direct chemical reaction between acids and alcohols, but on a much smaller scale than the enzymatic pathway [8]. In samples of cachaça analyzed by Vilela et al. [9], no ester concentrations were observed to be beyond the established limits, but this result was to be expected because the samples were freshly distilled. The mean concentrations of higher alcohols, furfural, ethanol and methanol in the spirits analyzed are listed in Table 3.

Table 3. Mean concentrations of ethanol, methanol and higher alcohols in the spirits collected in Mozambique and Brazil.

Sample	Furfural (mg 100 mL <sup>-1</sup> aa)	Ethanol (% v/v)	Metanol (mg 100 mL <sup>-1</sup> aa)	Higher alcohols (mg 100 mL <sup>-1</sup> aa)
1	6.903 h*	30.490 c	1.909 d	212.799 g
2	3.531 i	47.380 b	2.893 d	245.080 e
3	6.635 h*	41.585 b	1.449 d	265.538 d
4	10.246 g*	40.080 b	1.571 d	225.425 f
5	26.183 b*	20.815 d	129.012 c*	166.481 i
6	27.024 a*	20.960 d	131.224 c*	169.255 i
7	2.854 j	56.105 a*	0.799 d	206.734 h
8	14.336 f*	55.885 a*	0.784 d	207.989 h
9	19.161 d*	35.265 b	1.071 d	307.013 b
10	16.035 e*	37.060 b	0.665 d	278.397 c
11	25.754 b*	21.305 d	173.296 b*	344.597 a
12	6.366 h*	58.145 a*	0.920 d	202.806 h
13	23.420 c*	21.585 d	191.855 a*	340.600 a
14	0.287 k	38.310 b	0.000 d	154.850 j
15	0.633 k	40.080 b	0.000 d	171.575 i
16	0.640 k	44.095 b	0.000 d	155.059 j
17	0.696 k	40.155 b	0.000 d	167.352 i

The means followed by the same letter in the columns do not differ from one another by the Scott-Knott test at the 5% probability level. Results with an asterisk (\*) are outside the limits of Identity and Quality [3].

The furfural concentrations in Mozambican spirits ranged from 2.85 to 27.02 mg 100 mL<sup>-1</sup> aa. Only samples 2 and 7 (15.38%) were within the legal limits, and the remaining samples (84.6%) were outside the limits established by the MAPA, which is 5 mg 100 mL<sup>-1</sup> of anhydrous alcohol. All the Brazilian spirits analyzed in this study contained furfural concentrations within the legal limits, and no significant difference between the spirits was found.

Research conducted by Zacaroni et al. [10] on contaminants of Brazilian spirits showed that the concentrations obtained for furfural varied from 4.28 to 39.78 mg 100 mL<sup>-1</sup> aa, these values being higher than the limit established by the MAPA. Previously, Masson et al. [11] compared samples of alembic sugarcane spirits produced with burned and unburned sugar cane and found that the sugar cane spirits contained 8.80 mg 100 mL<sup>-1</sup> aa furfural, a value above the legal limit. The authors concluded that the burning of sugarcane straw caused a significant increase in the furfural contents of the samples analyzed. This increase might be related to the presence of residual sugars, polysaccharides from bagasse, weak fermentation and excessive heat in the distillation boiler. According to the author, contamination of the beverage by furfural occurs because it is formed by the degradation of pentoses during the fermentation, distillation and aging stages of the beverage.

The mean alcohol concentrations observed in the spirits studied ranged from 20.81% to 58.14% v/v. Samples 2, 3, 4, 14, 15, 16 and 17 contained concentrations within the legal limits (38.0% to 54.0%); but those of samples 7, 8, 12 were above the established limits (56.10, 55.88 and 58.14% v/v, respectively). The alcohol concentrations in the remaining samples were below the limits required by the legislation.

There were no significant differences among the samples 2, 3, 4, 9, 10, 14, 15, 16 and 17. This fact demonstrated that a high correlation of the type of raw material used with the alcoholic grade existed. In relation to samples with low alcoholic strength, several factors might have exerted an influence, such as the raw material used, inadequate cuts, and incorrect fermentation, among other factors. According to Cantão et al. [12], one of the possible causes for an alcohol concentration below the permitted limit for spirits/cachaça is the use of a long delay before distillation of the wort. This procedure causes losses by evaporation

of the alcohol. In addition, another important factor is the cut of the head, heart and tail fractions in the distillation step.

Bogusz Jr. et al. [13] reported that the reduction of the alcohol content can also result from the accentuated addition of water to the distillate during the standardization of the spirits to obtain a better yield of the product. Later, Damasceno et al. [14] investigated the alcohol content and volatile acidity in samples of artisanal cachaças from the state of Minas Gerais, Brazil, and found that four samples of cachaças analyzed had values below 38 °GL and could not be classified as spirits. For Zacaroni et al. [10], storage conditions of the beverage, such as moisture, temperature and porosity of the barrel, or incorrect cutting during the distillation step might be related to the low alcohol content of said samples.

The mean methanol concentrations in the Mozambican spirits ranged from 0.66 to 191.85 mg 100 mL<sup>-1</sup> aa, of which nine samples (69.23%) were within the required limits, and four (30.77 %) samples contained concentrations higher than that established by the MAPA (20 mg 100 mL<sup>-1</sup> aa), with significant differences among them. The concentrations of methanol in the Brazilian samples were within the legal limits. The data corroborate those found by Zacaroni et al. [10], who studied different types of Brazilian spirits and detected no methanol. This observation implies that the wort was probably filtered before distillation.

Methanol is an undesirable alcohol in the beverage because of its high toxicity. It is formed by the degradation of pectin, a polysaccharide present in sugarcane, during the processing and fermentation [7]. In the body, methanol is oxidized to formic acid and, subsequently, to carbon dioxide, causing a serious acidosis (lowering the pH of the blood) and affecting the respiratory system, which can lead to coma and even death. Ingestion, even in small quantities, over long periods can lead to blindness and death [4,17].

The mean values for the sum of the concentrations of the higher alcohols in the spirits studied ranged from 154.85 to 344.59 mg 100 mL<sup>-1</sup> aa, meaning that they were within the maximum limits (360 mg 100 mL<sup>-1</sup> aa) established by Brazilian legislation. The lowest concentrations were found in the Brazilian samples. The presence of higher alcohols in alcoholic beverages improves the taste and aroma, but an excess has an inverse effect, that is, it is related to malaise, such as headaches, nausea and muscle weakness.

Miranda et al. [15], Santiago et al. [18], evaluated cachaças stored in wooden casks, submitted to treatment with radiation for a period of 390 days, and observed the influence of the aging process, with a slight increase in the concentration of higher alcohols as a function of the aging time. Their results disagree with those found in the present study. The amount of higher alcohols in spirits/cachaças is influenced by the composition of the medium, temperature, aeration level and the strain of yeast. The synthesis of higher alcohols is stimulated by oxygen, and it is directly related to the growth rate of the yeast [4,16]. The formation of higher alcohols can also be influenced by the process and type of equipment used during distillation [4].

#### **4. CONCLUSIONS**

The Mozambican spirits produced with different raw materials contained very variable concentrations of the components analyzed when compared to one another and the Brazilian spirits. With regard to the limits required by Brazilian legislation for spirits/cachaças, most Mozambican samples contained concentrations greater than the maximum limits established for alcohol, volatile acidity, furfural, and metanol. These findings in Mozambican spirits suggest that improvements in their production must be made, which means that the difficulties of the producers in controlling the production system to ensure the quality of the beverage for consumers must be overcome.

## ACKNOWLEDGEMENTS

The authors express their gratitude to the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ), the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), and the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) for financial support and scholarships granted.

## REFERENCES

- [1] CASADEI, Enrico. (1987) "**Tradicional Mozambican Alcoholic Beverages and Some Toxiological Aspects?**" *Intensive Course on Ecotoxicology and Chemical Safety*. ECO.
- [2] BRASIL. (2005a) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 24, of setember 08, 2005. Approves the Operational Manual for Beverages and Vinagers.
- [3] BRASIL. (2005) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 13, of June 29, 2005. Diário Oficial da União. Brasília, June 30, 2005.
- [4] CARDOSO, M. G. (2013) **Produção de aguardente de cana.** (Production of distilled sugarcane spirits). 3. ed. Lavras: Editora UFLA, 340p. ISBN: 9788581270272.
- [5] ALCARDE et al. (2010) **Aspectos da composição química e aceitação sensorial da aguardente de cana-de-açúcar envelhecida em tonéis de diferentes madeiras.** (Aspects of the chemical composition and sensorial acceptance of distilled sugarcane spirits aged in casks of different types of wood). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.30, p. 226-232.
- [6] SERAFIM, F. A. T. et al. (2012) **Comparação do perfil químico entre cachaças de um mesmo vinho destiladas em alambiques e em colunas.** (Comparison of the chemical profile between cachaças from the same wort



distilled in alambics and through columns). *Química Nova*, São Carlos, v. 35, n. 7, p. 1412-1416.

[7] PEREIRA, N. E.; CARDOSO, M. G.; AZEVEDO, S. M.; MORAIS, A. R.; FERNANDES, W.; AGUIAR, P. M. (2003) **Compostos secundários em cachaças produzidas no Estado de Minas Gerais.** (Secondary compounds in cachaças produced in the state of Minas Gerais). *Ciência e Agrotecnologia*, v. 27, p. 1068-1075.

[8] NÓBREGA, I. C. C. (2003) **Análise dos compostos voláteis da aguardente de cana por concentração dinâmica do Headspace e cromatografia gasosa- espectrometria de massas.** (Analysis of the volatile compounds from distilled sugarcane spirits by dynamic headspace concentration and gas chromatography-mass spectrometry). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 23, p. 210-212.

[9] VILELA, F. J. et al. (2007) **Determinação das composições físico-químicas das cachaças do Sul de Minas Gerais e de suas misturas.** (Determination of the physicochemical compositions of the cachaça from the south of Minas Gerais and their blends). *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 31, n. 4, p. 1089-1094.

[10] ZACARONI, L. M. et al. (2011) **Caracterização e quantificação de contaminantes em aguardentes de cana.** (Characterization and quantification of the contaminants in distilled sugarcane spirits). *Química Nova*, São Paulo, v.34, p. 320-324.

[11] MASSON, J. et al. (2007) **Parâmetros físico-químicos e cromatográficos em aguardentes cana queimada e não queimada.** (Physicochemical and chromatographic parameters for distilled spirits from burned and unburned sugar cane). *Ciência e Agrotecnologia*, v.31, n.6, p.1805-1810.

[12] CANTÃO et al. (2010) **Avaliação e remoção de cobre em aguardentes de cana pela utilização dos aluminossilicatos: zeólita e bentonita.** (Evaluation and removal of copper from distilled sugarcane spirits through the use of aluminum silicates: zeolite and bentonite). *Ciência e Agrotecnologia*, v. 34, n. 5, p. 1109-1115.

- [13] BOGUSZ, J. R. S.; MONTANO M. A.; GARBIN, R. (2005) **Níveis de cobre em amostras de cachaça produzidas na região.** (Levels of copper in samples of cachaça produced in the region). *Brasil Ciência Rural*, v.35, n.6.
- [14] DAMASCENO et al. (2013) **Teor alcoólico e acidez volátil em amostras de cachaça artesanal comercializadas no Vale do Jequitinhonha-MG.** (Alcohol content and volatile acidity in samples of alambic cachaça commercialized in the Jequitinhonha Valley, MG.) *Revista Multitexto*, v. 2, n. 01.
- [15] MIRANDA et al. (2006) **Estudo do efeito da irradiação gamma ( $^{60}\text{Co}$ ) na qualidade da cachaça e no tonel de envelhecimento.** (Study of the effect of gamma-radiation ( $60^\circ\text{C}$ ) on the quality of cachaça and the aging cask). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.26, n. 4.
- [16] MAIA et al. (2006) **Tecnologia da Cachaça de Alambique.** (Technology of Alambic Cachaça). Belo Horizonte: Sebrae/MG; Sindbebedas, p.129.
- [16] RODRIGUES, L. M. A.; et al. (2014) **Aged Sugarcane Spirit: Quantitation of Phenolic Compounds, Antibacterial and Antioxidant Activity.** *American Journal of Plant Sciences*, v.05, p. 2935-3942.
- [17] SANTIAGO, W. D.; et al. (2014) **Comparison and Quantification of the Development of Phenolic Compounds during the Aging of Cachaça in Oak (*Quercus* sp) and Amburana (*Amburana cearensis*) Barrels.** *American Journal of Plant Sciences*, v.05, p.3140-3150.
- [18] CASADEI, Enrico. (1987) **"Traditional Mozambican Alcoholic Beverages and Some Toxiological Aspects?."** *Intensive Course on Ecotoxicology and Chemical Safety*. ECO.

**ARTIGO 2: IDENTIFICATION OF VOLATILE  
COMPOUNDS, QUANTIFICATION OF  
GLYCEROL AND OF TRACE ELEMENTS IN  
DISTILLED SPIRITS PRODUCED IN  
MOZAMBIQUE**

## ABSTRACT

Distilled spirits, in addition to satisfying the legal requirements with respect to its composition, must possess a sensorial quality capable of satisfying its consumers. The present work describes the analysis of volatile compounds, trace elements and glycerol in thirteen samples of Mozambican spirits collected in different regions of the country. Extraction of volatile components was accomplished using the headspace SPME technique, the quantification of glycerol was achieved by UV/Vis spectroscopy and the determination of trace elements by atomic absorption spectrometry. Of the 35 volatile compounds identified, 19 were esters, where in ethyl hexanoate, ethyl octanoate, ethyl nonanoate, ethyl decanoate, ethyl laurate, ethyl hexadecanoate, ethyl tetradecanoate, ethyl benzenepropanoate, 3-methylbutyl acetate and isoamyl alcohol were the predominant compounds found in the different samples, contributing to the characteristics and aroma of the beverages. As for glycerol, concentrations below  $5 \text{ mg L}^{-1}$  were observed in all samples studied. The samples were found to be contaminated by metals such as copper, lead and zinc. In addition, the results provided information on the quality of Mozambican spirits regarding some aspects related to the determination of metals and glycerol. This information might stimulate producers to be more attentive to the conditions of production and the risks involved in achieving good quality spirits.

**Keywords:** Mozambican spirits, SPME, inorganic contaminants, volatile compound.

## 1. INTRODUCTION

Distilled alcoholic beverages are distinguished from one another by the presence of secondary components that form a "bouquet" characteristic of each beverage. These compounds, together with ethyl alcohol, are formed during the fermentation, distillation and aging processes and cause changes in the organoleptic character of the beverages. Contaminating compounds in the beverage can be found in the final product, and they are the principal agents responsible for the toxic, carcinogenic and changes in the characteristic properties of the beverages, which depreciate the quality of the drink.

Distilled spirits are a complex beverage composed of different compounds. Alcohols, aldehydes, carboxylic acids, esters, hydrocarbons and carbonyl compounds with three or more carbon atoms are among the secondary compounds. The presence of these compounds in fermented-distilled beverages is common because they are formed during normal metabolism of microorganisms or through reactions involving compounds produced during fermentation, distillation and aging (Cardoso, 2013).

Flavor is an important factor in the selection of foods and beverages and determines consumer acceptance of the product. Volatile compounds, along with the other organic compounds, are present in foods in small amounts, and are responsible for the characteristic flavor. The volatile compounds present in alcoholic beverages, which influence the characteristic flavor, can originate from the raw material used in the manufacture and remain unchanged during the fermentation, distillation and aging process (Santiago et al., 2016).

Glycerol has a positive contribution to sensory characteristics, such as texture, flexibility, viscosity and higher concentrations in wine. It contributes to the sweet taste of wine (Lubbres et al., 2001). Because of the positive sensory effects in wine, several countries add this substance to mask eventual defects in

the beverages. Therefore, monitoring has been performed as a form of quality control (Moro et al., 2007). In addition to contamination by organic compounds, heavy metals can also be present in distilled beverages if the materials used are not adequate.

The objective of this work was to identify the volatile compounds using gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS), to quantify the glycerol by a colorimetric method and trace elements (copper, lead, cadmium, chromium, iron and zinc) by atomic absorption spectrometry (AAS) in different Mozambican spirits and, after wards, compare the results to the limits established by Brazilian legislation.

## **2. MATERIAL AND METHODS**

### **2.1 Sample**

The samples were collected in five provinces of southern and central Mozambique in the Manhiça, Xinavane, Chókwe, Massinga, Mafambisse, Beira and Chimoio districts in August 2016 and May 2017. The Manhiça district is located between the parallels 24°58'49" and 25°35'46" South latitude and between the meridians 32°30'51" and 33°08'14" East longitude. The locality of Xinavane lies at the parallel 25°0'34" South and at 32°45'04" East. The Chókwe district is georeferenced between parallels 24°05' and 24°48' South and 32°33 and 33°35' East. The Massinga district is located between the parallels 22°39' and 23°31' South and the meridians 34°54' and 35°36' East. The district of Mafambisse is located at the parallel 19°32'57" South and at 34°37'28" East. The city of Beira is georeferenced at the parallel 19°50'36" South and at 34°50'20" East, and the city of Chimoio is located at the parallel 19°06'59" South and at 33°28'59" East. All the samples were identified by region of origin and sent to the Laboratory for Quality Analysis of Spirits (LAQA), Department of Chemistry, Federal University of Lavras, Lavras, MG, Brazil. The characteristics of the samples, as well as the

region of origin, the alcohol concentration and the raw material used in its production are presented in Table 1.

Table 1. Discrimination of the samples by location of origin and raw material used.

Sample	Origin	Raw material	Type	Alcohol Conc. (% v/v)
1	Manhiça	Cane	Alembic	40.49
2	Manhiça	Cane	Alembic	47.38
3	Xinavane	Cane	Alembic	41.58
4	Xinavane	Cane	Alembic	40.08
5	Chokwe	Cashew	Alembic	20.80
6	Chokwe	Cashew	Alembic	20.96
7	Massinga	Nuts	Alembic	56.10
8	Massinga	Nuts	Alembic	55.80
9	Mafambisse	Cane	Alembic	35.20
10	Mafambisse	Cane	Alembic	37.06
11	Beira	Cereal	Alembic	21.30
12	Chimoio	Cereal	Alembic	58.10
13	Chimoio	Cereal	Alembic	21.58

## 2.2 Identification of volatile organic compounds

The analyses of the volatile compounds in the spirits produced in different regions of Mozambique were achieved on a gas chromatograph coupled to a mass spectrometer GC-MS QP2010 Plus (Shimadzu, Japan) and equipped with an AOC-5000 automatic injector for liquids and gases (Shimadzu, Japan), a split/splitless injection port and an SLBTM column (5% phenyl, 95% dimethylsiloxane), 30 m × 0.25 mm × 0.25 μm. The oven temperature was programmed from 35 °C to 240 °C at a rate of 4 °C min<sup>-1</sup>. The carrier gas used was He 5.0 with a flow rate of 1.78 ml min<sup>-1</sup>. The injector temperature was maintained at 270 °C and operated in 1:4 split mode. The compounds were

detected by mass spectrometry at 70 eV in the scan mode (29 to 600 Da). The temperature of the detector interface and the ion source remained at 240 °C and 200 °C, respectively. The filament was switched on at 1.75 minutes.

Extractions of volatile components were performed using solid phase microextraction (SPME) of the headspace. Samples were diluted to a concentration of 10%. After dilution, aliquots of 4 mL of the samples were added in a 20 mL vial, with an extraction temperature of 45 °C, extraction time of 50 minutes and desorption time of 3 minutes. The extraction was performed using the Divinylbenzene, Carboxen, and Polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS) fiber with 30-50 µm Supelco brand film. This fiber was previously conditioned for 1 h at 270 °C according to specifications of the manufacturer.

Compounds were identified by comparing the mass spectra obtained with the GC-MS spectral library (Wiley 8 and FFNSC 1.2). The experimental retention indices were calculated and compared with indices reported in the literature (Adams, 2007; NIST, 2013). Linear alkane standards were used to calculate the retention index of each compound in the sample represented in the CG-MS system. Retention times of the samples were used as the reference standard for calculating the final retention time of the compound. For comparison, similarities above 75% were considered. The equation below represents the calculation of the retention time of the compound identified.

$$\text{LRI} = 100 \times \left( \frac{T_c - T_n}{T_{n+1} - T_n} + n \right)$$

where LRI=linear retention index;  $T_c$  = retention time of the compound of interest;  $T_n$  = retention time of the hydrocarbon anterior to compound of interest;  $T_{n+1}$  - retention time of the subsequent hydrocarbon;  $n$  = number of carbons of the previous hydrocarbon.



### **2.3 Quantification of glycerol**

Glycerol was determined by the colorimetric method used by Amerine and Ough (1980) and by Bortoletto, Corrêa and Alcarde (2016), in which spectrophotometric measurements in the visible region of the spectrum were made. The method is based on the oxidation of glycerol by periodate ions to form formaldehyde, which reacts with acetylacetone in ammoniacal medium to form 3,5-diacetyl-1,4-dihydrolutidine, a yellow substance. The compound formed can be quantified by measuring the absorbance at 410 nm. The readings were performed on a Shimadzu UV-1601 PC spectrophotometer, and the concentrations were calculated with the aid of an analytical curve previously constructed with standard solutions of glycerol at concentrations of 7.5, 15.0, 22.5, 30.0, 45.0, 60.0, and 90.0 mgL<sup>-1</sup>. The determination coefficient (R<sup>2</sup>) of the linear regression equation for the seven-point analytical curve ( $y = 0.025x - 0.1092$ ) was 0.996, indicating linearity between compound concentration and absorbance. Results were expressed in milligrams of glycerol/liter (mg L<sup>-1</sup>).

### **2.4 Determination of trace elements**

Copper, lead, iron, zinc, cadmium and chromium were determined by Flame Atomic Absorption Spectroscopy using a Varian model Spectr AA 110 Atomic Absorption Spectrophotometer. The analytical curve was constructed using Merck standards in the following concentrations: copper [0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0 mg L<sup>-1</sup>], iron [1.0; 2.0; 4.0; 8.0; 12.0 mg L<sup>-1</sup>], zinc [0.25, 0.50, 1.00, 2.00, 4.00 mg L<sup>-1</sup>], lead [2.0; 4.0; 6.0; 8.0 mg L<sup>-1</sup>]. The determinations were performed at the wavelength of 324.7 nm for copper; 248.3 nm for iron; 213.9 nm for zinc and 217.0 nm for lead, using a hollow cathode lamp. The determinations were performed in triplicate.

For the preparation of samples, method No. 11 of the Manual of Methods of Analysis of Beverages and Vinegars proposed by MAPA (Brasil, 2005) was followed. The results were expressed in mg L<sup>-1</sup> and compared to the parameters described by the Brazilian Legislation (IN n° 13, dated 29/6/2005 of MAPA) (Brasil, 2005).

### **2.5 Statistical design**

The completely randomized design (CRD) was used. The obtained glycerol data were submitted to analysis of variance, and the means were compared by the Schott-Knott test at the 95% confidence level using the SISVAR (Ferreira, 2011) statistical program.

## **3. RESULTS AND DISCUSSION**

The volatile compounds identified by GC-MS and their respective retention times are listed in Table 2. A heterogeneity in the samples was observed. Of the 35 compounds detected, 19 were identified in the different samples of spirits analyzed, including different classes of chemical compounds.

Table 2. Volatile compounds identified in Mozambican spirits samples HS-SPME-GC-MS.

N°	Compounds	Rt(min)	ELRI	TLRI	SAMPLES												
					1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1	3-Methyl-butan-1-ol <sup>alc</sup>	3.415	x	723	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
2	Hexanal <sup>ald</sup>	4.531	802	801											X		X
3	Ethylbutanoate <sup>es</sup>	4.558	803	802	X												
4	4-Methyl-pentan-1-ol <sup>alc</sup>	5.597	840	830					X	X							
5	Ethyl 2-methylbutanoate <sup>es</sup>	5.761	846	850						X							
6	3-Methyl-pentanol-1 <sup>alc</sup>	5.820	848	850					X	X							
7	Ethyl 3-methylbutanoate <sup>es</sup>	5.891	851	856						X							
8	3-Methylbutyl acetate <sup>es</sup>	6.589	876	867			X	X		X	X						
9	1-Octen-3-ol <sup>alc</sup>	10.114	983	978											X		X
10	Ethylhexanoate <sup>es</sup>	10.682	1000	997	X		X	X		X	X	X	X		X	X	X
11	Ethyl 2-hydroxy-4-methylpentanoate <sup>es</sup>	13.014	1063	1060					X	X							
12	Octan-1-ol <sup>alc</sup>	13.469	1075	1063						X	X				X		X
13	1,1-Diethoxy hexane <sup>ac</sup>	13.994	1089	1092											X	X	
14	Nonanal <sup>ald</sup>	14.580	1105	1100											X		X
15	1,3-Dioxepane, 2-pentadecyl <sup>ac</sup>	14.852	1112	-											X		X
16	3-Nonen-1-ol <sup>alc</sup>	16.441	1156	1157											X		X
17	2-Nonenal <sup>ald</sup>	16.601	1160	1168											X		X
18	EthylBenzoate <sup>es</sup>	17.085	1173	1170					X	X					X		X
19	Nonan-1-ol <sup>alc</sup>	17.150	1175	1172	X	X									X	X	X
20	3-Ethyl-phenol <sup>h</sup>	17.169	1176	1168	X	X											
21	Menthol <sup>alc</sup>	17.256	1178	1179		X	X	X					X	X			
22	Ethyl octanoate <sup>es</sup>	17.857	1194	1197	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
23	Decan-1-ol <sup>alc</sup>	20.674	1274	1272							X	X					

24	Ethylnonanoate <sup>es</sup>	21.311	1293	1292							X	X				X
25	Ethylbenzenepropanoate <sup>es</sup>	23.105	1347	1350					X	X						
26	Ethylcinamate <sup>es</sup>	24.014	1374	-	X	X										
27	β-Damascenone <sup>k</sup>	24.091	1376	1387	X	X	X	X							X	
28	E-4-Ethyl decenoate <sup>es</sup>	24.142	1378	-							X	X				
29	Ethyl 9-decanoate <sup>es</sup>	24.349	1384	1386	X		X	X								
30	Ethyldecanoate <sup>es</sup>	24.655	1394	1395	X	X						X		X	X	X
31	Ethyllaurate <sup>es</sup>	30.684	1593	1595	X	X	X	X								
32	Ethyl dodecanoate <sup>es</sup>	30.695	1593	1594	X	X										
33	Isopentyldecanoate <sup>es</sup>	32.111	1644	1653	X	X	X	X								
34	Ethyltetradecanoate <sup>es</sup>	36.181	1794	1793	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		X
35	Ethylhexadecanoate <sup>es</sup>	41.144	1989	1992	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

Rt - Retention time; ELRI - Estimated linear retention index; TLRI - Theoretical linear retention index

alc - alcohol, es - ester, ald - aldehydes, ac - acetal, h - hydrocarbon, k - ketone

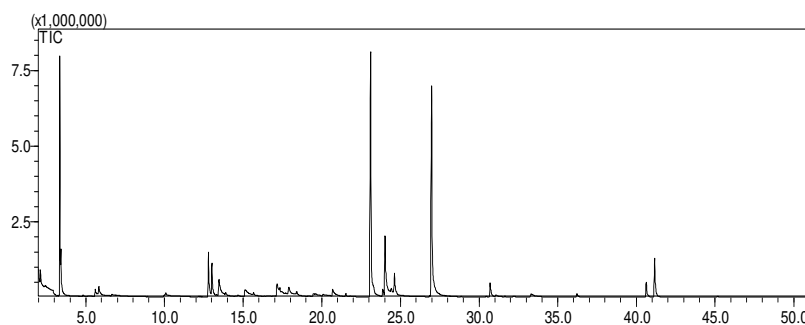
The esters ethyl hexanoate, ethyl octanoate, ethyl nonanoate, ethyl decanoate, ethyl benzenepropanoate, ethyl laurate, ethyl hexadecanoate, ethyl tetradecanoate and the alcohols 3-methylbutan-1-ol, octan-1-ol and nonan-1-ol presented the most intense peaks in almost all the samples, corroborating the work of (Santiago et al., 2016), (Zacaroni et al., 2017) and (Nóbrega, 2003).

The compounds Ethyl octanoate, Ethyl hexadecanoate and 3-Methylbutan-1-ol were present in all samples. Samples 11 and 13 showed a similar volatile composition, since they had in common 14 compounds.

$\beta$ -damascenone was identified in samples 1,2,3,4 and 10. These samples refer to the drink that was obtained from sugar cane. Brazilian legislation does not set limits for the presence of ketones in cachaças, but it is known that this group of chemical compounds is important for the sensorial quality of beverages; the norisoprenoids class, specifically the ionone group, which can increase the fruity aroma in wines, are significant even in low concentrations (Crupi et al., 2010). Despite their low concentrations, ionone group have been identified as the most potent floral-fruity odorants in cachaça (De Souza, et al., 2006). These substances can also be produced after the distillation of tequila as degradation products or from carotenoids (Prado-Jaramilo et al., 2015).

The Figure 1 represents the chromatogram of the volatile compounds of a brandy (sample X) collected in Mozambique obtained by SPME in the GC-MS. It is observed three compounds that stand out, mainly. This profile predominates in most samples.

Figure 1. Representative chromatogram of the volatile compounds of one of the samples analyzed.



Legend: C18-3-methyl-butan-1-ol; Ethyl C 31 -2-hydroxy-4-methylpentanoate; C9-octan-1-ol; C10-nonan-1-ol; Ethyl C13-octanoate; Ethyl C15-3-phenylpropanoate; Ethyl C11-3-phenyl-2-propenoate; C4-ethyl decanoate; C12-ethyl dodecanoate; Ethyl C33-9-hexadecenoate; C 12 -hexadecanoate.

The high concentrations of the esters in the group of volatile compounds contributes to the aroma of the fruit-flavored distillates (Silva et al., 2000). According to (Nóbrega, 2003), the most volatile component in the spirits is ethanol, but it is one of the volatile components of least importance in the definition of aroma because its aroma is not very noticeable. Ethanol, as well as other very volatile compounds ethyl acetate, acetaldehyde or propanol were not identified in the samples because of they eluted before 1.75 min (solvent cut of the mass spectrometer to avoid filament damage). However, compounds such as aldehydes, higher alcohols (propyl, butyl and amyl) and esters, although present in lower concentration than ethanol, have more pronounced flavor characteristics and, therefore, a great impact on the aroma of the beverage.

Nonato et al., (2001) extracted volatile compounds by SPME with polyacrylate fiber (PA) and detected a large number of compounds. Of the 38 compounds that were identified, 11 were esters. Santiago et al., (2016) extracted volatile compounds from the headspace of cachaças aged in different woods employing SPME with a PDMS/DVB fiber. They identified 51 compounds by

GC/MS, of which 20 were esters. Nóbrega (2003) identified volatile compounds relevant to the aroma of cachaça using the adsorbent Tenax-TA, a method of extraction of volatiles never before tested for cachaça to obtain a dynamic concentration of the volatile compounds present in the headspace of cachaça. They identified and quantified approximately 100 compounds, of which 22 were esters and alcohols, responsible for the taste and aroma of the beverages.

Bento et al., (2015), studying cachaça from the state of Pernambuco, Brazil, identified 30 volatile compounds, mainly esters, using the dynamic vacuum headspace strategy. Zacaroni et al. (2017) extracted volatile compounds from the headspace of cachaças by SPME using a DVB/CAR/PDMS fiber and identified 14 compounds, of which 10 were esters.

Nascimento et al. (2009) reported that the esters present in the distilled beverages come from two different sources: those formed during fermentation by the intercellular secondary metabolism of the yeasts, such as ethyl acetate and ethyl butanoate, and those generated through the interconversion during aging. In the latter case, ethyl syringate and ethyl vanillate are mentioned. The authors evaluated 57 brands of cachaça qualitatively and quantitatively, and found that esters of acetic, octanoic, decanoic and dodecanoic acids were present in higher concentrations in cachaça, and 90-95% of the total area of the 14 esters identified were formed from acetic acid.

The data obtained in this study corroborate the research described by Nascimento et al. (2009), Zacaroni et al. (2017), Nóbrega (2003) and Nonato et al. (2001). Of the esters identified, most were related to the principal acids and alcohols that were identified in this work; ethyl octanoate, ethyl nonanoate, ethyl decanoate, ethyl dodecanoate, and 3-methylbutyl acetate. 1,1-Diethoxyhexane was also quantified, corroborating the results of Zacaroni et al. (2017) and Nóbrega (2003), who observed its presence in cachaças. Alcohols are important for the flavor of cachaça because of their characteristic odors. They also act as

solvents for other aromatic substances, interfering in the limits of odor of alcoholic beverages (Morreira et al., 2012).

The compounds 3-methyl-butan-1-ol, menthol, octan-1-ol and 1-octen-3-ol were found in larger quantities in samples of Mozambican spirits than in Brazilian cachaça. These results differ from those found by Santiago et al., (2016), Zacaroni et al., (2017) and Nonato et al., (2001), who identified isoamyl, isobutyl and propyl alcohols as the principal constituents of the class of alcohols in Brazilian cachaças.

The mean concentrations of glycerol and the standard deviations obtained for samples of Mozambican spirits are presented in Table 3. The glycerol concentrations ranged from 4.33 to 4.56 mg L<sup>-1</sup>, which are under the limit established on the Brazilian legislation and were lower than those reported in the literature for Brazilian samples. The different types of raw material and the types of fermentation employed and distillation in the production of the spirits might have contributed to the low concentrations of this compound.

Table 3. Concentrations (mean ± standard deviation) of glycerol in the samples studied.

<b>Sample</b>	<b>Glycerol (mg L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Standard deviation</b>
<b>1</b>	4.56a	0.05
<b>2</b>	4.47b	0.02
<b>3</b>	4.47b	0.03
<b>4</b>	4.48b	0.03
<b>5</b>	4.45c	0.02
<b>6</b>	4.45c	0.02
<b>7</b>	4.52a	0.05
<b>8</b>	4.45c	0.02
<b>9</b>	4.33d	0.03
<b>10</b>	4.54a	0.04
<b>11</b>	4.40c	0.03
<b>12</b>	4.43c	0.01
<b>13</b>	4.42c	0.01

The means followed by the same letter do not differ by the Schott-Knott test at a level of 5% of probability.



Bortoletto, Correa and Alcarde (2016) evaluated the glycerol content in cachaças aged in different types of wood casks and found average concentrations of glycerol of 15.73 mg L<sup>-1</sup> in aged cachaças and 1.39 mg L<sup>-1</sup> in newly distilled cachaça that was employed as a control. They observed a lower concentration of this compound in the recently distilled cachaça than in the aged spirits, possibly because of reactions that occurred during aging that led to the increase in the concentration of this compound. Gervasio et al. (2002) determined the levels of glycerol in samples of distilled sugarcane spirits. They found concentrations of 36.3 to 2150 mg L<sup>-1</sup> for cane spirits, which are much higher than those obtained in the present study.

According to Garcia et al. (2014), problems in the distillation process might also be reasons for the presence of glycerol in distilled beverages. The concentrations of glycerol in these beverages are significantly lower than those encountered in fermented beverages, such as wine because of the low volatility of glycerol.

The formation of the glycerol can interfere with the fermentation process in an unfavorable way because it is formed via the same route of synthesis as ethanol, and the two pathways compete with each other for the coenzyme NADH. Thus, the synthesis of glycerol is inversely proportional to that of ethanol (Wanget al. 2001). After the fermentation process, some glycerol is carried over during distillation because of its polarity and solubility in water and ethanol. According to Lima et al. (2001), glycerol is a molecule synthesized by yeast to maintain cellular redox equilibrium, which is altered during the formation of organic acids and biomass.

The results of the determination of the trace elements of spirits collected in different regions of Mozambique are presented in Table 4 Normative Instruction n° 13 of 06/29/2005 determines that the maximum concentration of copper ions should be 5.0 mg L<sup>-1</sup> for spirits. However, the results obtained ranged

from non-detectable to 34.83 mg L<sup>-1</sup> in the samples analyzed. Samples from the Xinavave and Mafambisse regions corresponded to 21.4% of the spirits that contained copper, and the concentrations in the Mafambisse samples (9 and 10) were statistically greater than the others and different from each other; sample 9 contained the highest copper concentration. There was a significant difference between the two regions, and the samples were beyond the limits required by the Brazilian legislation (Brasil, 2005).

Table 4. Profile of the trace elements in distilled spirits collected in Mozambique.

Sample	Copper (mg L <sup>-1</sup> )	Lead (µg L <sup>-1</sup> )	Zinc (mg L <sup>-1</sup> )	Iron (mg L <sup>-1</sup> )	Cadmium (mg L <sup>-1</sup> )	Chromium (mg L <sup>-1</sup> )
1	ND	1720b	ND	ND	ND	ND
2	ND	2970a	ND	ND	ND	ND
3	ND	1760b	ND	ND	ND	ND
4	7.473c	1680b	5.476c	ND	ND	ND
5	ND	2630a	1.469d	0.045 <sup>a</sup>	ND	ND
6	ND	1680b	ND	ND	ND	ND
7	ND	2200b	ND	ND	ND	ND
8	ND	2150b	ND	ND	ND	ND
9	34.834a	940c	23.014a	ND	ND	ND
10	28.104b	600c	19.268b	ND	ND	ND
11	ND	3660a	0.081e	ND	ND	ND
12	ND	2280b	ND	ND	ND	ND
13	ND	1550b	ND	ND	ND	ND

The means followed by the same letter in the columns do not differ by the Schott-Knott test at the level of 5% of probability, ND= not detected in mg L<sup>-1</sup>.

Miranda et al., (2008) evaluated the physicochemical profile of spirits aged in oak barrels over a period of 390 days and observed that 15% of the samples contained copper concentrations of 12 mg L<sup>-1</sup>, this value being greater than the established limit (5 mg L<sup>-1</sup>). Subsequently, Marinho et al., (2009) analyzed six samples of alembic cachaças and found concentrations of 8.80 mg L<sup>-1</sup> for two of the samples. This value was higher than that allowed by Brazilian legislation (5

mg L<sup>-1</sup>). The results obtained by these authors corroborate those found for the samples from the Xinavave and Mafambisse regions in the present study, which are also higher than the legal limit.

Masson et al., (2007) evaluated the quality of 24 spirits produced in Minas Gerais and verified that there were significant differences in the copper concentrations of sugarcane spirits, wherein values ranged from 0.12 to 8.38 mg L<sup>-1</sup> and from 0.96 to 19.40 mg L<sup>-1</sup> in the northern and southern regions, respectively. These samples corresponded to 21% of the total samples with values greater than the legal limit.

When studying the kinetics and isotherm of copper adsorption using kaolinites, Duarte et al., (2014) evaluated the physicochemical quality of the cachaça before and after the adsorption. The maximum adsorption capacity of the metal was obtained with K01, K03 and K04 kaolinite (97%, 95% and 90%, respectively). In the results of the physicochemical analysis, all the parameters of the control sample were within the legal limits, except for aldehydes and copper. After the adsorption with the clays, a decrease in the concentrations of these contaminants in the cachaças was observed, although there were no significant differences for some parameters.

According to Cardoso et al. (2013), sanitizing the still is essential to prevent contamination with copper. The authors recommend that a preliminary distillation with lemon juice containing 5L of the juice for 100L of water be performed. This solution will remove the basic copper carbonate from the alembic, especially that existing inside the condensing coil. It is known that, unfortunately, many producers do not utilize this preventive measure and end up using adsorbent substances, such as ion exchange resins or activated charcoal, for the removal of the excess copper from the beverage. However, secondary compounds can also be removed in this process. Thus, in the case of the contamination of Mozambican spirits by copper, the lack of hygiene during the production and distillation

processes and the material used in the construction of the still are the main factors that could be influencing the concentrations of copper observed in this study.

The concentrations of lead observed in this work ranged from  $600 \mu\text{g L}^{-1}$  to  $3660 \mu\text{g L}^{-1}$  in the samples analyzed. Brazilian legislation determines the maximum limit of  $200 \mu\text{g L}^{-1}$ , which means that all the samples were contaminated with this metal concentrations well above the legal limit.

Schoeninger and Franciane (2011) evaluated lead levels in nineteen Brazilian spirit samples, obtained concentrations ranging from  $154 \mu\text{g L}^{-1}$  to  $1900 \mu\text{g L}^{-1}$ , and found that only four samples (21.05%) contained concentrations below  $200 \mu\text{g L}^{-1}$ . Menezes et al., (2008) determined that three samples contained levels of  $79 \mu\text{g L}^{-1}$ ,  $184 \mu\text{g L}^{-1}$  and  $161 \mu\text{g L}^{-1}$ , these being below the legal limit ( $200 \mu\text{g L}^{-1}$ ).

The concentrations measured in samples of spirits collected in different regions of Mozambique were greater than the limits permitted by the Brazilian legislation and diverged from the values found in the studies conducted with Brazilian spirits. Most plants absorb minerals from roots or aerial parts. In this case, the presence of lead in the samples of Mozambican spirits might have been the result of contamination during fertilization or from soil contaminated by this metal because of the proximity of the cane fields to the highways (Moreira and Moreira, 2004).

Only five of the 13 samples analyzed contained measurable levels of zinc, which represented 38.4%, and these values ranged from  $0.08 \text{ mg L}^{-1}$  to  $23.01 \text{ mg L}^{-1}$ . The IN n°13 (Brasil, 2005) does not establish a maximum limit for this metal, but it is known that, according to the WHO recommendation, its concentration should be  $5 \text{ mg L}^{-1}$  in drinking water because higher concentrations can cause depression of the immune system and gastric symptoms (Pinto et al., 2005). There was a significant difference between the samples originating from different regions; the samples collected in Mafambisse contained the highest

concentrations of zinc. The presence of zinc in Mozambican spirits might come from the material used in the preparation of the stills and the coils in the distillation stages.

Studies carried out by (Souza et al., 2010) on cachaças produced in the state of Rio de Janeiro found zinc concentrations ranging from non-detectable to 2.07 mg L<sup>-1</sup>. Pinto et al. (2005) analyzed 52 samples of cachaça, and the concentrations of zinc obtained ranged from non-detectable to 3.64 mg L<sup>-1</sup>, which does not exceed the maximum limit established by the World Health Organization (WHO) for water. Vilela et al. (2006), evaluating the mineral content in the stages of the sugarcane spirit production process, observed that the content varies according to the contact with the metallic materials in the process stages. The authors observed a higher concentration of zinc during the distillation stage because of the material used in the construction of the still.

Regarding the analysis of iron in Mozzarella spirits, only sample 5 contained this metal (0.045 mg L<sup>-1</sup>). There is no limit required by Brazilian legislation for the concentration of this metal in distilled spirits. Studies performed by Nascimento et al., (1999) with 79 samples of cachaça reported that the average levels of iron found were between 0.11 mg L<sup>-1</sup> and 0.35 mg L<sup>-1</sup>. According to these authors, iron, when present in certain concentrations, can alter the sensory characteristics of the beverage. The cadmium and chromium metals were not detected in the spirits collected in the regions of Mozambique.

## **CONCLUSION**

Volatile compounds belonging to the classes of alcohol, ester, aromatic hydrocarbon, acetal and aldehyde were identified in the 13 samples of spirits produced in different regions of Mozambique from different raw materials, with esters being the predominant compounds. In the analyzed samples, low concentrations of glycerol were found, and no significant concentrations were

detected for the trace elements zinc, iron, cadmium and chromium, whereas concentrations outside the legal limits were observed for copper and lead.

## ACKNOWLEDGEMENTS

The authors wish to express their gratitude to the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ), the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), and the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) for financial support, scholarships and a PVNS fellowship.

## REFERENCES

- Adams RP (2007) *Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry*, 4 rd ed., Allured Publishing Corporation, Illinois.
- Amerine MA and Ough CS (1980) *Methods for analysis of musts and wines*, 2 rd ed., John Wiley & Sons, New York.
- Bento WAS, Navarro DAF, Paim AP and Lavorante AF (2015) Controle de qualidade e distinção da região de produção das cachaças no estado de Pernambuco. *Revista Analytica* 76:61-68.
- Bortoletto AM, Corêa AC and Alcarde AR (2016) Fattyacid profile and glycerol concentration in cachaças aged in different Wood barrels. *Journal of the Institute of Brewing* 122(2): 293-298.
- Brasil (2005) Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, Instrução Normativa nº 13, of June 29, 2005.
- Cardoso M G (2013) *Produção de Aguardente de Cana*, 3rd ed., Editora UFLA, Lavras.
- Crupi P, Coletta A and Antonacci D (2010) Analysis of carotenoids in grapes to predict norisoprenoid varietal aroma of wines from Apulia. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58(17): 9647-9656.

De Souza MDCA, Vásquez P, Del Mastro NL, Acree TE and Lavin EH (2006) Characterization of Cachaça and Rum Aroma. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(2): 485-488.

Duarte FC, Cardoso MG, Magrioti ZM, Santiago WD, Mendonça JGP and Rodrigues LMA (2014) Remoção de cobre em cachaça usando argilas. *Ciência e Agrotecnologia* 38(4): 382-389.

Ferreira DF (2011) SISVAR: a computer statistic analysis system. *Ciência e Agrotecnologia* 35(6): 1039-1042.

Gervasio APG, Borges EP, Zagato EAG and Reis BF (2002) Potentiometric flow injection determination of glycerol in distilled spirits. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 50(1): 74-77.

Lima VF and Merçon F (2001) Metais pesados no ensino de química. *Química Nova* 33(4): 199-205.

Lubbers S, Verret C and Voilley A (2001) The effect of glycerol on the perceived aroma of a model wine and a white wine. *LWT- Food Science and Technology* 34: 262-265.

Marinho AV, Pereira JR de M and Dantas MI de S (2009) Avaliação da acidez volátil, teor alcoólico e de cobre em cachaças artesanais. *Estudos* 36(4): 785-793.

Masson J, Cardoso MG, Vilela FJ, Pimentel FA, Moraes AR and Anjos JP (2007) Parâmetros físico-químicos e cromatográficos em aguardentes de cana queimada e não queimada. *Ciência e Agrotecnologia* 31(6): 1805-1810.

Menezes RFF et al. (2008) Determinação de teores de chumbo em cachaça, II Congresso Norte-Nordeste de Química, João Pessoa, Brasil, CD ROM.

Miranda MB, Martins NGS, Belluco AES, Horri J and Alcarde AR (2008) Perfil físico- de aguardente durante envelhecimento em toneis de carvalho. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 28: 84-89.

Moreira FR and Moreira J C (2004) Os efeitos do chumbo sobre o organismo humano e seu significado para a saúde. *Revista Panamericana de Salud Pública* 15(2): 119-129.

Moreira RFA, Netto CC and Maria CAB de (2012) A fração volátil das aguardentes de cana produzidas no Brasil. *Química Nova* 35(9): 1818-1826.

Moro E, Majocchi R, Ballabio C, Molfino S and Restani PA (2007) Rapid and simple method for simultaneous determination of glycerol, fructose and glucose in wine. *American Journal of Enology and Viticulture* 58: 279-282.

Nascimento ESP, Cardoso DR and Franco DW (2009) Comparação de técnicas de determinação de ésteres em cachaça. *Química Nova* 32(9): 2323-2327.

Nascimento RF, Bezerra CWB, Furuya SMB, Schultz M, Polastro LR, Neto BSL and Franco DW (1999) Mineral profile of Brazilian cachaças and other international spirits. *Journal of Food Composition and Analysis* 12(1): 17-25.

Nist (2013) Chemistry Webook-National Institute of Standards and Technology. Available from: <http://webbook.nist.gov/chemistry/> (last accessed November 2017).

Nóbrega ICC (2003) Análise dos compostos voláteis da aguardente de cana por concentração dinâmica do “headspace” e cromatografia gasosa-espectrometria de massas. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 23(2): 210-216.

Nonato EA, Carazza F, Silva FC, Carvalho CR and Cardeal ZL (2001) A head spacesolid-phase microextraction method for the determination of some secondary compounds of Brazilian sugar cane spirits by gás chromatography. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 49(8): 3533-3539.

Pinto FG, Rocha SS, Canuto MH, Siebald HGL and Silva JBB (2005) Determinação de cobre e zinco em cachaça por espectrometria de absorção atômica com chama usando calibração por ajuste de matriz. *Revista Analytica* 17: 48-50.

Prado-Jaramilo N, Estarrón-Espinosa M, Escalona-Buendía H, Cosío-Ramirez R and Martin-del-Campo ST (2015) Volatile compounds generation during different stages of the Tequila production process. A preliminary study. *LWT- Food Science and Technology* 61(2): 471- 483.

Santiago WD, Cardoso MG, Santiago JA, Teixeira ML, Barbosa RB, Zacaroni LM, Sales PF and Nelson DL (2016) Physicochemical profile and determination of volatile compounds in cachaça stored in new oak (*Quercus* sp.), amburana (*Amburana cearensis*), jatoba (*Hymenaeaecarbouril*), balsam



(Myroxylonperuiferum) and peroba (Paratecoma peroba) casks by SPME-GC-MS. *Journal of the Institute of Brewing* 122(4): 624-634.

Schoeninger MS and Campos VF (2011) Teores de cobre e chumbo e grau alcoólico de aguardentes coloniais comercializadas na região do alto vale do Itajaí. *Revista Caminhos* 27(4): 27-37.

Serafim FAT, Keukeleire D de and Franco DW (2014) Evaluation of Glycerol Profiles in Sugarcane Spirits (Cachaças). *Journal of the Brazilian Chemical Society* 26(1): 57-63.

Silva ML, Macedo AC, and Malcata FX (2000) Review: steam distilled spirits from fermented grape pomace. *Food science and technology international* 6(4): 285 - 300.

Souza L M, Ferreira KS and Passoni LC (2010) Teores de minerais em cachaças produzidas na região norte do estado do rio de janeiro. *Alimentos e Nutrição* 21(4): 625-631.

Vilela JF et al. (2006) Avaliação dos minerais nas etapas do processo de produção de cachaça, *Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química – MG*, São João Del Rei, MG, Brasil, CD ROM.

Wang ZX, Zhugea J, Fanga H and Priorb BA (2001) Glycerol production by microbial fermentation: a review. *Biotechnology Advances* 19(3): 201-223.

Zacaroni LM, Sales PF, Cardoso MG, Santiago WD and Nelson DL (2017) Response surface optimization of SPME extraction conditions for the analysis of volatile compounds in Brazilian sugar cane spirits by HS-SPME-GC-MS. *Journal of the Institute of Brewing* 123(2): 226–231.

## **CONCLUSÃO**

As aguardentes moçambicanas produzidas com diferentes matérias-primas, quando comparadas com as aguardentes brasileiras, apresentaram teores dos seus componentes fora dos padrões estabelecidos pela Legislação Brasileira. Foram identificados a presença de compostos voláteis e também a contaminação por elementos traço nas aguardentes moçambicanas.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Os dados das análises das aguardentes moçambicanas obtidos neste trabalho, sugerem melhorias na sua produção, mostrando a dificuldade dos produtores no que diz respeito ao controle do sistema de produção. Assim novos trabalhos podem estimular os produtores sobre as condições de produção e os riscos envolvidos na produção objetivando-se obter uma aguardente de boa qualidade.

O trabalho pode ser um protótipo para novas pesquisas e trabalhos de extensão junto das universidades, aos órgãos governamentais e aos produtores, servindo de indicação da composição de outras aguardentes produzidas em Moçambique, estimulando desse modo, produtores e pesquisadores a desenvolverem trabalhos nessa área.

## **ANEXO**

### **ANEXO A - Análises físico-químicas de aguardente/cachaça**

Para a avaliação da qualidade das aguardentes de cana/cachaças e para que os objetivos propostos sejam atingidos, serão efetuadas as análises físico-químicas, por cromatografia em fase gasosa, cromatografia em fase gasosa acoplada (GC) a espectrometria de massas (GC/MS) e por cromatográfica líquida de alta eficiência com detector de fluorescência (HPLC) das amostras de acordo com os Métodos de Análise de Bebidas Fermentadas, Destiladas, Não Alcoólicas e de Vinagre (Brasil, 2005b).

#### **1. Exame organoléptico**

O exame organoléptico será realizado observando os parâmetros: partículas em suspensão (resíduos sólidos de qualquer espécie), coloração, limpidez, através de um transluminador de luz branca.

#### **2. Análise do extrato seco**

A análise do extrato seco será efetuada por meio de métodos gravimétricos. Uma alíquota de 25mL será evaporada lentamente em banho-maria a 100°C até a evaporação completa dos voláteis, levando à estufa a 100°C por 30 minutos, resfriando em dessecador e medindo a massa do resíduo sólido em balança analítica com precisão de  $\pm 0,001\text{g}$

#### **3. Teor alcoólico**

O teor alcoólico das aguardentes será determinado destilando-se 250mL da amostra e posteriormente será medido o grau alcoólico a 20°C utilizando densímetro digital DensiMat Gibertini.

#### **4. Acidez volátil**

A acidez volátil será determinada por meio da destilação por arraste de vapor dos ácidos voláteis, utilizando-se o destilador eletrônico enoquímico da marca Gibertini. O destilado obtido será titulado por meio da titulação ácido-base. Os resultados destas análises serão expressos em miligramas de ácido acético por 100mL de álcool anidro.

#### **5. Determinação de aldeídos**

Os aldeídos serão dosados por métodos iodométricos, titulando-se o SO<sub>2</sub> produzido durante a sequência de reações envolvidas neste tipo de análise. A quantidade de aldeídos presentes nas amostras será expressa em miligramas de aldeído acético por 100mL de álcool anidro.

#### **6. Determinação de ésteres**

Os ésteres presentes nas cachaças serão determinados pela titulação dos ácidos carboxílicos obtidos por transesterificação dos ésteres presentes na bebida. A quantidade total destes ésteres será expressa em miligramas de acetato de etila por 100mL de álcool anidro.

#### **7. Determinação dos álcoois superiores**

A quantidade total de álcoois superiores será determinada por medidas espectrofotométricas efetuadas na região visível do espectro (540nm). Esta quantificação será realizada pela comparação dos valores de absorbância referentes às amostras com uma curva analítica previamente construída, utilizando-se uma mistura de álcoois superiores solubilizados em solvente água/etanol.

## **8. Furfural**

A quantificação de furfural será realizada por meio das leituras espectrofotométricas na região visível do espectro (520nm), utilizando-se um espectrofotômetro Shimadzu – UV – 160 1PC. As quantidades de furfural serão determinadas por comparação das absorvâncias observadas nas amostras de aguardentes de cana e cachaças com valores de absorvâncias obtidas de uma curva analítica construída com soluções padrão etanol/furfural, contendo quantidades conhecidas de furfural. As quantidades de furfural são expressas em g/mL de álcool anidro.

## **9. Determinação de metanol**

O metanol será quantificado por medidas espectrofotométricas, efetuadas a 575nm e comparadas com valores de absorvâncias estabelecidos através de uma curva analítica construída com soluções padrão etanol/metanol, contendo quantidades conhecidas de metanol.

## **10. Determinação de cobre**

A quantificação do cobre será realizada por meio de medidas espectrofotométricas na região visível do espectro. Estas medidas serão efetuadas a 546nm. As quantidades de cobre serão determinadas por meio de comparação das absorvâncias observadas nas amostras de cachaça com valores de absorvância referentes a uma curva analítica previamente construída, utilizando-se sulfato de cobre como padrão primário.

## **11. Métodos cromatográficos para caracterização de substâncias voláteis.**

A determinação da quantidade total dos álcoois superiores presentes nas cachaças será efetuada, por medidas espectrofotométricas. Pretende-se também neste projeto, quantificar estes e outros componentes da bebida, utilizando

técnicas de cromatografia gasosa, que permitem a separação e quantificação de cada composto. A concentração das substâncias submetidas a este tipo de análise será determinada por comparação das áreas referentes a cada componente da mistura analisada, apresentadas nos cromatogramas, com valores encontrados em uma curva analítica previamente construída, utilizando-se padrões.

## **12. Carbamato de etila**

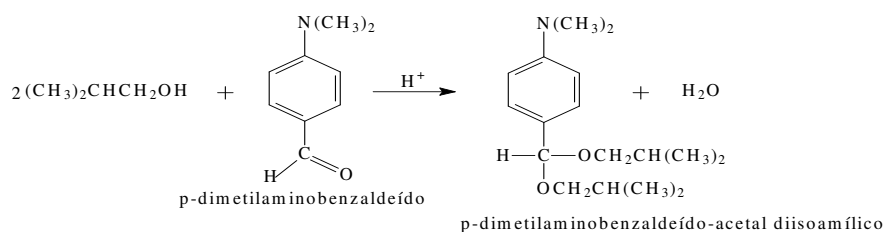
A quantificação do carbamato de etila presente nas cachaças pode ser efetuada por GG/MS ou HPLV/DFL.

## ANEXO B – Reações referentes aos parâmetros físico-químicos

### 1. Álcoois superiores

Um dos métodos oficiais de determinação de álcoois superiores em bebidas envolve a reação prévia, em meio ácido, entre o p-dimetilaminobenzaldeído e os álcoois superiores presentes, formando um composto colorido em absorve a 540 nm, conforme apresentado na Figura 1B. Nesta reação os álcoois reagem por adição à carbonila do aldeído, em meio ácido com formação de acetais. A quantificação é baseada na curva analítica construída com uma solução de álcool isoamílico.

Figura 1B. Reações envolvidas na análise de álcoois superiores

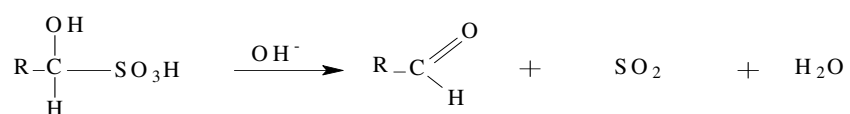
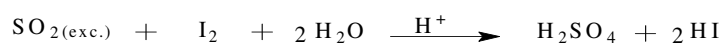
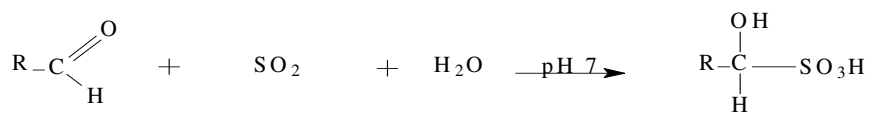


### 2. Aldeídos

O método baseia-se na reação de adição, com ataque nucleofílico do íon bissulfito à carbonila do aldeído seguido da ligação do próton ao oxigênio carbonílico. Por se tratar de uma reação reversível em meio ácido e em meio alcalino, trabalha-se inicialmente com solução tamponante a pH neutro. O bissulfito em excesso reage com iodo, em meio fortemente ácido (pH 2,0), para impedir a dissociação dos compostos 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 2B).



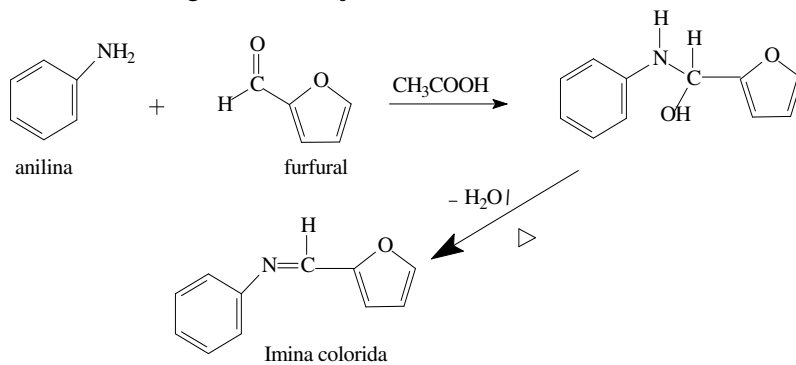
Figura 2B. Reações envolvidas na análise de aldeídos



### 3. Furfural

A determinação do furfural baseia-se na reação entre aminas e aldeídos ou cetonas formando um composto denominado imina. A imina formada entre furfural e anilina, em meio ácido, absorve em 520 nm, como mostrado na Figura 3B. A quantificação de furfural é feita por meio da curva analítica do padrão.

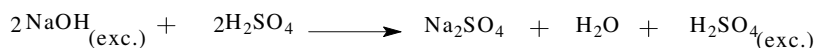
Figura 3B. Reações envolvidas na análise de furfural



#### 4. Ésteres

A quantificação dos ésteres é feita a partir da hidrólise alcalina destes, presentes na cachaça, seguida da titulação dos ácidos liberados com solução padronizada de hidróxido de sódio, demonstrado na Figura 4B.

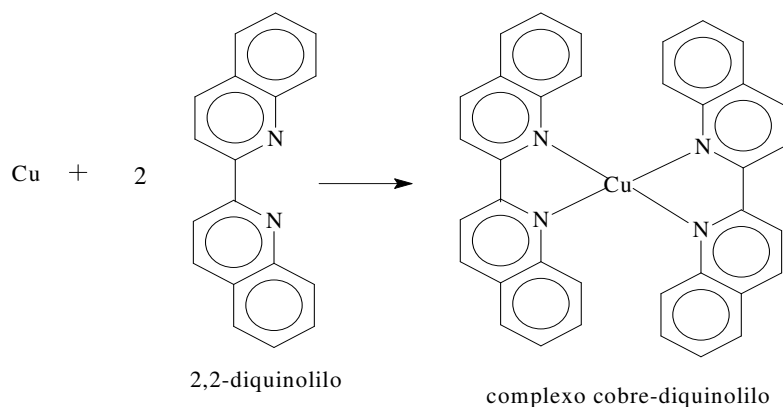
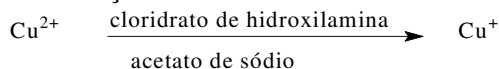
Figura 4B. Reações envolvidas na análise de ésteres



#### 5 Cobre

A análise de cobre ocorre após redução do  $\text{Cu}^{2+}$  presente na bebida a  $\text{Cu}^{1+}$  formando posteriormente um complexo colorido com a solução de 2,2 diquinolilo em álcool isoamílico (Figura 5B). As leituras são realizadas em espectrofotômetro a 546 nm.

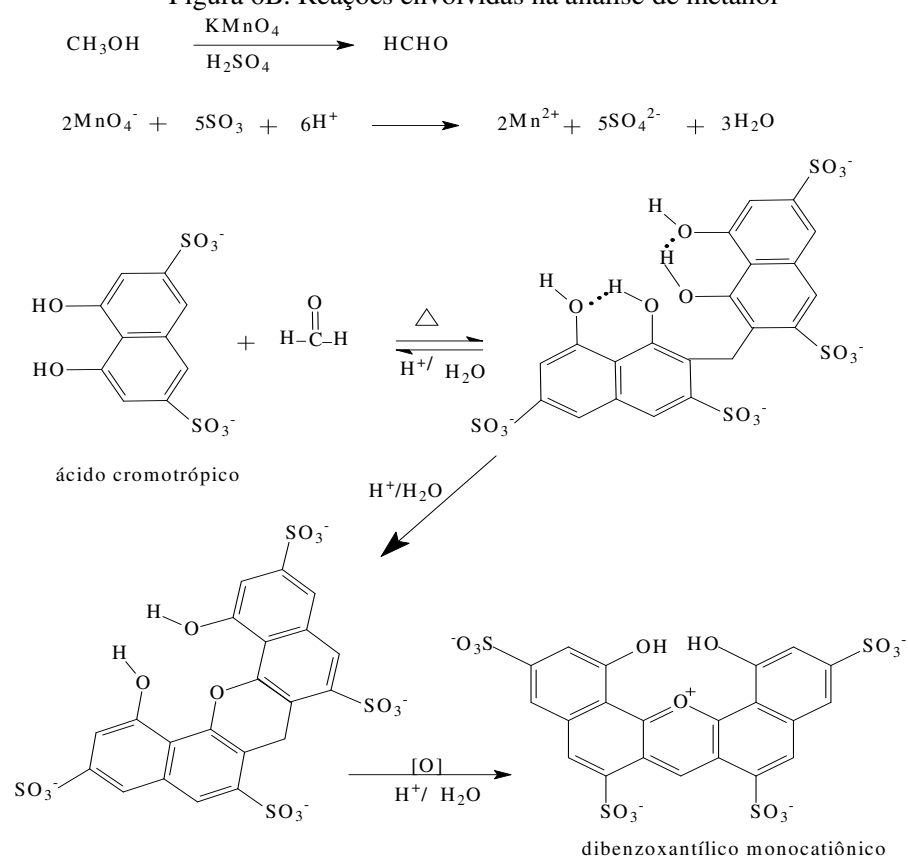
Figura 5B. Reações envolvidas na análise de cobre



## 6. Metanol

O método espectrofotométrico do ácido cromotrópico em meio de ácido sulfúrico concentrado se destaca no contexto analítico por apresentar grande sensibilidade e alta seletividade. Nesse método, o metanol oxida o formaldeído, que reage com o ácido cromotrópico em meio sulfúrico concentrado produzindo um composto colorido (dibenzoxantílica monocatiônica) que tem seu máximo de absorção a 575 nm. A quantificação é realizada por construção de curva analítica (Figura 6B).

Figura 6B. Reações envolvidas na análise de metanol



### ANEXO C - Cromatogramas de algumas amostras analisadas

Figura 1C. Cromatograma de compostos voláteis da amostra 1 de aguardente moçambicana obtido por GC/MS e seu respectivo espectro.

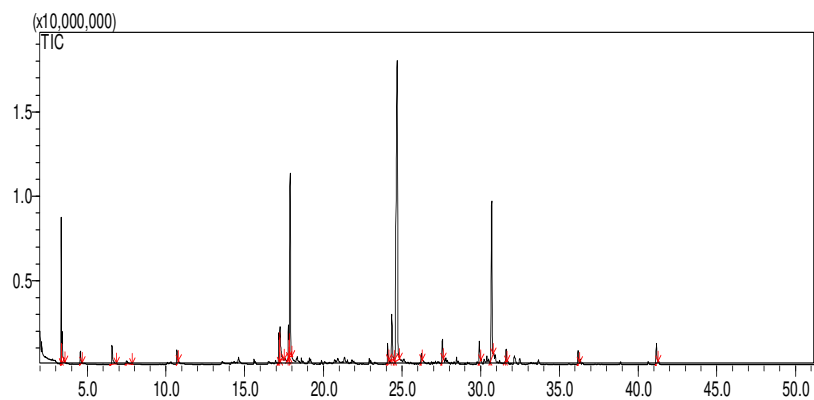


Figura 2C. Cromatograma de compostos voláteis da amostra 3 de aguardente moçambicana obtido por GC/MS e seu respectivo espectro.

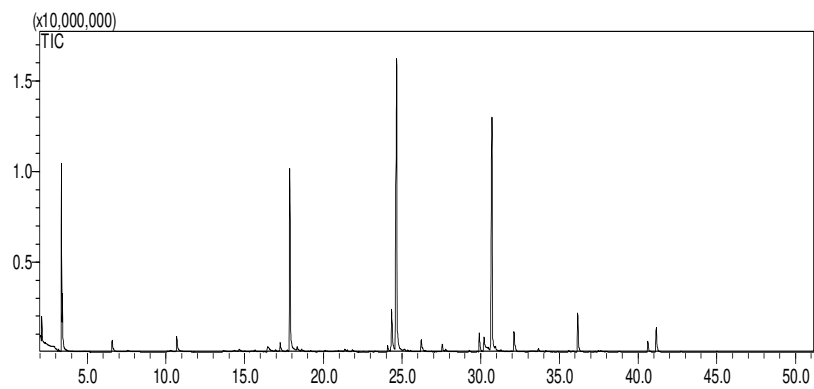


Figura 3C. Cromatograma de compostos voláteis da amostra 5 de aguardente moçambicana obtido por GC/MS e seu respectivo espectro.

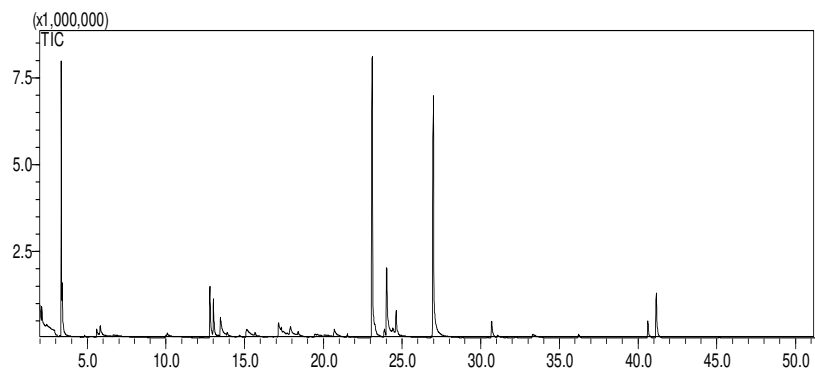


Figura 4C. Cromatograma de compostos voláteis da amostra 6 de aguardente moçambicana obtido por GC/MS e seu respectivo espectro.

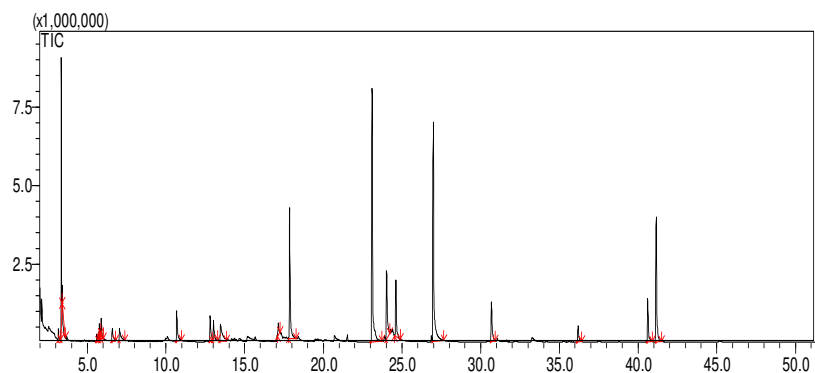


Figura 5C. Cromatograma de compostos voláteis da amostra 9 de aguardente moçambicana obtido por GC/MS e seu respectivo espectro.

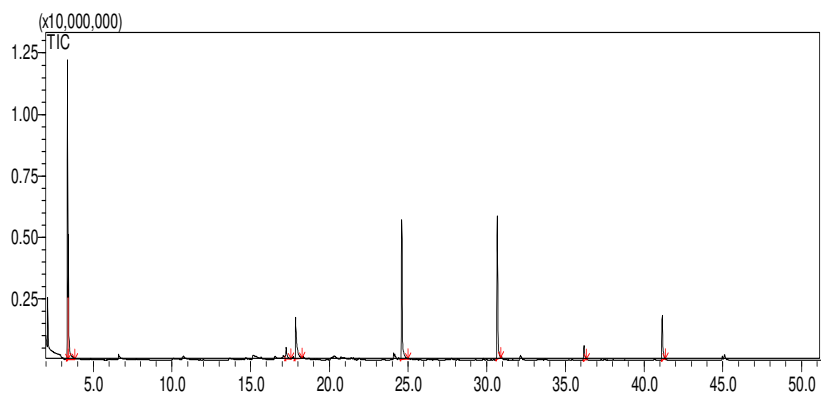
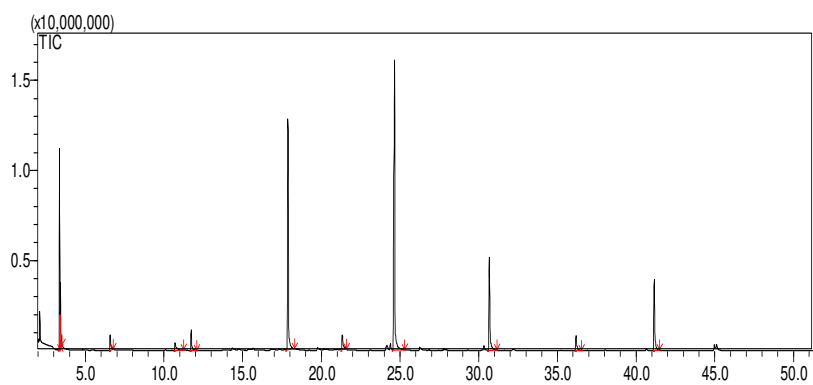


Figura 6C. Cromatograma de compostos voláteis da amostra 12 de aguardente moçambicana obtido por GC/MS e seu respectivo espectro.



## ANEXO D - Espectros de massa dos compostos voláteis majoritários

Figura 1D. Decanoato de etila

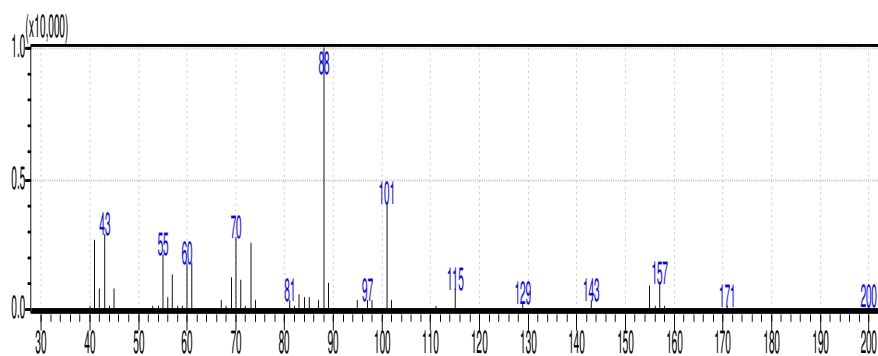


Figura 2D. Hexanal

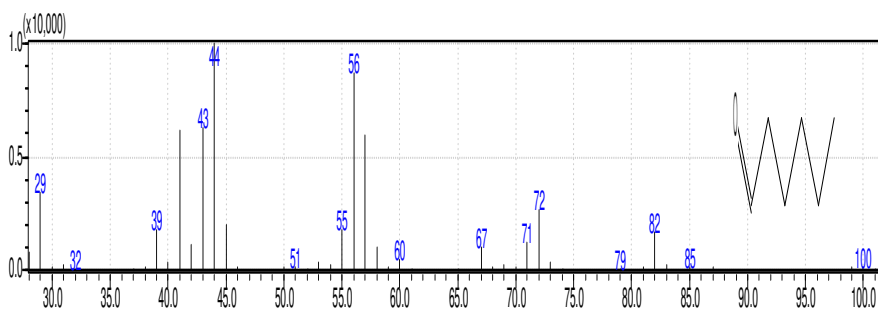


Figura 3D. Laurato de etila

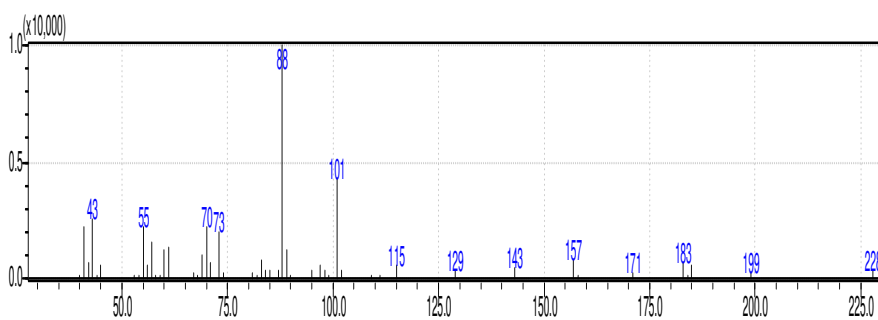


Figura 4D. Hexadecanoato de etila

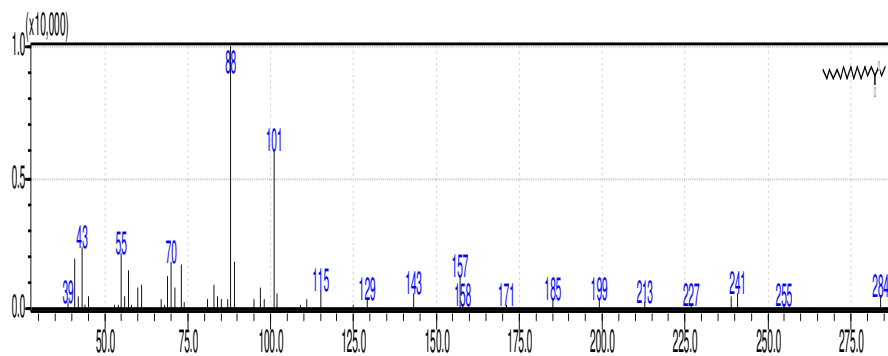


Figura 5D. 3-metil-butanol-1

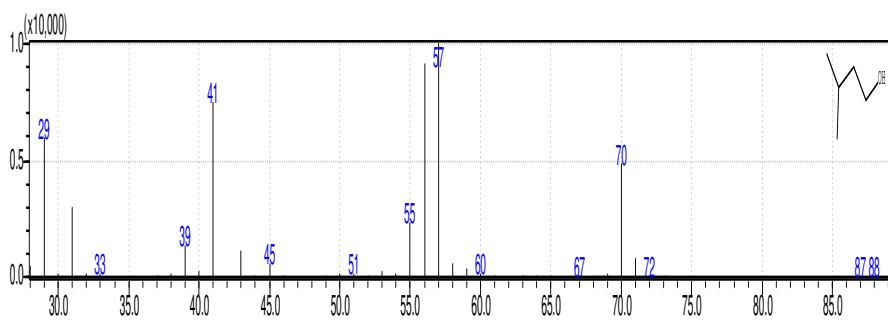




Figura 6D. Benzenopropoato de etila

