



**GABRIEL BISCOTTO D' AVILA**

**ARMAZENAMENTO DE AGUARDENTE DE  
CANA/CACHAÇA DE ALAMBIQUE EM TONÉIS DE AÇO  
INOXIDÁVEL POR PERÍODO DE 20 ANOS**

**LAVRAS - MG**

**2019**

**GABRIEL BISCOTTO D' AVILA**

**ARMAZENAMENTO DE AGUARDENTE DE CANA/CACHAÇA DE ALAMBIQUE  
EM TONÉIS DE AÇO INOXIDÁVEL POR PERÍODO DE 20 ANOS**

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

Orientadora

Dra. Maria das Graças Cardoso

**LAVRAS - MG**

**2019**

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

DAVILA, GABRIEL BISCOTTO.

Armazenamento de aguardente de cana/cachaça de alambique  
em tonéis de aço inoxidável por período de 20 anos / GABRIEL  
BISCOTTO DAVILA. - 2019.

72 p. : il.

Orientador(a): Maria das Graças Cardoso.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2019.  
Bibliografia.

1. Vida de prateleira. 2. Maturação de destilados. 3.  
Contaminantes. I. Cardoso, Maria das Graças. II. Título.

**GABRIEL BISCOTTO D' AVILA**

**ARMAZENAMENTO DE AGUARDENTE DE CANA/CACHAÇA DE ALAMBIQUE  
EM TONÉIS DE AÇO INOXIDÁVEL POR PERÍODO DE 20 ANOS**

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

APROVADA em 29 de agosto de 2019.

Prof.<sup>a</sup> Dra. Ana Maria de Resende Machado \_\_\_\_\_ CEFE-MG

Prof.<sup>a</sup> Dra. Adelir Aparecida Saczk \_\_\_\_\_ UFLA

Dra. Lidiany Mendonça Zacaroni Lima \_\_\_\_\_ UFLA

Prof. Dr. Wilder Douglas Santiago \_\_\_\_\_ UFLA

Prof. Dr. Leonardo Milani Avelar Rodrigues \_\_\_\_\_ UFOB

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

**LAVRAS – MG**

**2019**

*A minha família.*

*A todos os produtores, pesquisadores, estudantes, estudiosos e apreciadores de  
cachaça/aguardente de cana-de-açúcar e todos os envolvidos na cadeia produtiva do  
destilado brasileiro.*

*A todos a quem esta publicação se fizer útil.*

***Dedico***

## AGRADECIMENTOS

A Deus e toda a ajuda espiritual que recebi.

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

À Universidade Federal de Lavras por toda estrutura, pessoal competente e suporte a seus alunos. Ao Programa de pós-graduação em Ciência dos Alimentos da UFLA, bem como ao Departamento de Ciência dos Alimentos e ao Departamento de Química.

Obrigado, professora Dra. Maria da Graças Cardoso, pela oportunidade, orientação, amizade, ensinamentos, enorme compreensão e paciência.

Ao Engenho Boa Vista, à Cachaça Século XVIII, e ao senhor Fernando Chaves e toda a sua família por colaborar gentilmente com esta pesquisa, com amostras e atenção.

À professora Dra. Ana Maria de Resende Machado, do Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais; professora Dra. Adelir Aparecida Saczk, Dra. Lidiany Mendonça Zacaroni Lima, professor Dr. Wilder Douglas Santiago, do Departamento de Química da UFLA; e professor Dr. Leonardo Milani Avelar Rodrigues, da Universidade Federal do Oeste da Bahia, que aceitaram fazer parte da banca de defesa deste trabalho e fazer valiosas contribuições.

Obrigado, Cleusa e todos os amigos e colegas do Laboratório de Qualidade de Aguardente e Óleos Essenciais, aos que já passaram por aqui e aos que continuam seguindo seu caminho nesta instituição. Obrigado pela amizade, companheirismo, atenção, dedicação e ajuda na condução dos experimentos e correções dos trabalhos.

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

A todos que tive o prazer de conhecer e conviver e aprender ou ensinar algo que nos levou adiante. Todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho, muito obrigado.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

## RESUMO

Cachaça é a bebida genuinamente brasileira, fermentada e destilada, que pode ser envelhecida em barris de madeira ou armazenada em tonéis de aço inoxidável. Seu consumo em território nacional é explicado por razões históricas e culturais. Há alguns poucos produtores que deixam-na maturar por anos em recipientes de aço inoxidável, material inerte, visando agregar valor e qualidade ao seu produto. Os objetivos deste trabalho foram caracterizar físico-química e cromatograficamente cachaças/aguardentes de cana-de-açúcar de safras de diferentes anos armazenadas em tonéis de aço inoxidável, no período de 1996 a 2016. Foram coletadas 15 amostras, diretamente do produtor, localizado na cidade de Coronel Xavier Chaves (Minas Gerais, Brasil). O perfil físico-químico e cromatográfico das amostras foi verificado conforme os padrões de identidade e qualidade, segundo a Instrução Normativa 13/2005 do MAPA, incluindo a verificação de contaminantes orgânicos (butan-1-ol, butan-2-ol, metanol, carbamato de etila), inorgânicos (Cu, Cd, Cr, Pb, Zn, Fe); e identificação de compostos orgânicos voláteis, por SPME-GC-MS. As bebidas apresentaram perfis físico-químicos distintos, com 05 amostras fora dos padrões para alguns destes parâmetros: aldeídos, furfural, congêneres, grau alcoólico e butan-1-ol. Todas as amostras apresentaram baixo teor de carbamato de etila, sendo a concentração média máxima encontrada de  $51,47 \mu\text{g L}^{-1}$ . Não foi detectada a presença dos metais ferro, chumbo, cádmio ou cromo. Zinco e cobre foram encontrados em pequenas quantidades. Foram detectados e identificados 16 compostos orgânicos voláteis na aguardente de cana-de-açúcar/cachaça, importantes para o aroma e sabor da bebida. A vida de prateleira de aguardente de cana/cachaça de alambique é de 20 anos, pois permanece com suas características físico-químicas no armazenamento em recipientes de aço inoxidável.

**Palavras-chave:** Vida de prateleira. Maturação. Qualidade. Contaminantes. Metais pesados.

## ABSTRACT

Cachaça is a genuinely Brazilian beverage, fermented and distilled, which can be aged in wooden barrels or stored in stainless steel barrels. Its consumption in the national territory is explained by historical and cultural reasons. There are a few producers that let it mature for years in stainless steel containers, inert material, in order to add value and quality to their product. The objectives of this work were to characterize physicochemically and chromatographically sugar cane spirits / cachaças from different years, stored in stainless steel vats, from 1996 to 2016. 15 samples were collected, directly from the producer, located in the city of Coronel Xavier Chaves (Minas Gerais, Brazil). The physical-chemical and chromatographic profile of the samples was verified according to identity and quality standards, according to MAPA Normative Instruction 13/2005, including the verification of organic contaminants (butan-1-ol, butan-2-ol, methanol, ethyl carbamate), inorganic (Cu, Cd, Cr, Pb, Zn, Fe); and identification of volatile organic compounds, by SPME-GC-MS. The drinks presented different physical-chemical profiles, with 05 samples out of the standards for some of these parameters: aldehydes, furfural, congeners, alcoholic degree and butan-1-ol. All samples had low ethyl carbamate content, with the maximum mean concentration found being  $51.47 \mu\text{g L}^{-1}$ . The presence of the metals iron, lead, cadmium or chromium was not detected. Zinc and copper were found in small amounts. 16 volatile organic compounds were detected and identified in sugarcane / cachaça spirit, which are important for the aroma and flavor of the drink. The shelf life of cane spirit / cachaça is still 20 years, as it remains with its physical and chemical characteristics when stored in stainless steel containers.

**Keywords:** Shelf life. Maturation. Quality. Contaminants. Heavy metals.

## Lista de Quadros e Tabelas

Quadro 1–	Padrões de Identidade e Qualidade (PIQs) da aguardente de cana-de-açúcar e da cachaça.....	29
Tabela 1 –	Concentrações médias de glicerol (mg/L) e o grau alcoólico (° GL) nas amostras analisadas.....	46
Tabela 2 –	Concentrações dos compostos secundários encontrados nas bebidas analisadas.....	49
Tabela 3 –	Concentrações médias de álcoois superiores e dos contaminantes butan-1-ol, butan-2-ol e metanol nas amostras analisadas .....	52
Tabela 4 –	Valores médios de extrato seco (g/L) e concentração de cobre (mg/L) nas amostras analisadas .....	54
Tabela 5 –	Concentrações de carbamato de etila (CE) nas amostras de bebidas, expressos em $\mu\text{g L}^{-1}$ .....	56
Tabela 6 –	Concentração média dos metais Cd, Cr, Pb, Zn e Fe (mg/L) encontrada nas amostras analisadas.....	58
Tabela 7 –	Identificação dos compostos orgânicos voláteis das amostras dos diferentes lotes das bebidas analisadas.....	60

## Lista de Figuras

Figura 1 –	Fluxograma do processo produtivo da cachaça de alambique .....	17
Figura 2 –	Espacialização dos estabelecimentos produtores de cachaça e de aguardente no Brasil.....	22
Figura 3 –	Esquema simplificado das vias metabólicas da fermentação alcoólica ....	27
Figura 4 –	Fórmula estrutural do carbamato de etila. ....	28
Figura 5.1 –	Alambique de cobre .....	38
Figura 5.2 –	Alambique de cobre .....	38
Figura 5.3 –	Tanques de aço inoxidável (304) para armazenamento das bebidas.....	39
Figura 6 –	Reação de 9-xantidrol com carbamato de etila, sob condições ácidas, para formação do composto fluorescente carbamato de etil xantil.....	44
Figura 7 –	Reações envolvidas na análise de glicerol.....	45

## SUMÁRIO

1	Introdução.....	12
2	Referencial teórico.....	14
2.1	Mercado produtor de aguardente de cana e cachaça.....	14
2.2	A cana-de-açúcar, o processo de produção de cachaça/aguardente e a qualidade da bebida.....	18
2.3	Compostos secundários e contaminantes orgânicos.....	24
2.3.1	Impacto da composição volátil no aroma e sabor da bebida.....	30
2.4	Contaminantes inorgânicos.....	31
2.5	Aço inoxidável .....	34
3	Material e métodos.....	37
3.1	Coleta de amostras.....	37
3.2	Delineamento estatístico.....	39
3.3	Análises físico-químicas.....	39
3.3.1	Teor alcoólico.....	40
3.3.2	Extrato seco.....	40
3.3.3	Acidez.....	40
3.3.4	Aldeídos.....	40
3.3.5	Furfural .....	41
3.3.6	Ésteres.....	41
3.3.7	Cobre.....	42
3.3.8	Metanol e álcoois superiores .....	42
3.4	Determinação dos compostos voláteis .....	42

3.5	Determinação do carbamato de etila.....	43
3.6	Determinação de glicerol .....	44
3.7	Quantificação de metais .....	45
4	Resultados e discussão.....	46
4.1	Teor alcoólico e glicerol.....	46
4.2	Compostos secundários.....	48
4.3	Metanol e álcoois superiores.....	52
4.4	Extrato seco e cobre.....	54
4.5	Carbamato de etila.....	55
4.6	Metais.....	57
4.7	Compostos voláteis.....	60
5	Conclusão.....	63
6	Referências .....	64

## 1 INTRODUÇÃO

A cachaça é a bebida genuinamente brasileira, fermentada e destilada, que pode ser envelhecida em barris de madeira ou armazenada em tonéis de aço inoxidável. Seu consumo em território nacional é explicado por razões históricas e culturais, tendo em vista que o surgimento da bebida coincide com o processo de colonização do Brasil. Devido às suas características sensoriais agradáveis e por estar disponível em diversas faixas de preço e estabelecimentos comerciais, esta bebida está acessível a todas as pessoas, maiores de idade, de todas as camadas sociais.

Sua cadeia produtiva tem se aprimorado em seus mercados, para alcançar mais consumidores dentro e fora do Brasil, contando, inclusive, com o apoio de agentes governamentais como a Secretaria de Comércio Exterior (SECEX) e Câmara Setorial de Cachaça, ligada ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

Quando colocada em recipientes de madeira, a cachaça sofre reações químicas e extrai alguns compostos da madeira incorporando características sensoriais diferenciadas, como sabor, aroma e coloração, que são fatores que agregam valor ao produto. Por outro lado, o aço inoxidável é um material inerte e quando a cachaça é deixada em recipientes desse material, não extrai nenhum composto de sua superfície, não sofre alterações de coloração e nem realiza trocas gasosas ou reações químicas com o ambiente; havendo apenas reações entre seus próprios componentes, como álcoois e ácidos que reagem e resultam em ésteres.

Tal procedimento não caracteriza envelhecimento da bebida, independentemente do tempo pelo qual permaneceu no recipiente ou o seu tamanho, mas sim, um processo de armazenamento, maturação, ou um “amaciamento”, em que os componentes da cachaça reagem naturalmente entre si, tornando-a mais agradável ao paladar e dando destaque aos aromas e sabores primários da cana-de-açúcar e secundários do processo de fermentação (ALCARDE; SOUZA; BELLUCO, 2010).

Não existe um tempo médio padrão para o armazenamento da cachaça em inox, porém, há produtores que deixam-na maturar por poucos meses apenas, enquanto que outros, deixam-na por anos, acreditando que isso agrega valor e qualidade ao seu produto. Nesse período, podem ocorrer reações entre os congêneres secundários, formando novos compostos que provavelmente irão diferenciá-la de uma bebida recém destilada e lhe agregarão valor.

Os compostos denominados congêneres fazem parte da constituição da cachaça e compõem o Padrão de Identidade e Qualidade (PIQ's) da bebida, sendo definidos e regulamentados pela Instrução Normativa n. 13, de 2005 do MAPA. Entre eles, estão ésteres,

aldeídos, álcoois e ácidos orgânicos. Além dos congêneres, essa legislação determina os níveis máximos de contaminantes que podem estar presentes no destilado, como metanol, carbamato de etila, cobre e chumbo, entre outros, cujo excesso, no organismo humano, pode provocar e agravar doenças. A partir da determinação dos PIQ's é possível assegurar a qualidade e segurança da bebida produzida, sendo esses, fundamentais para a saúde do consumidor.

Os objetivos deste trabalho foram caracterizar físico-química e cromatograficamente cachaças/aguardentes de cana-de-açúcar de safras de diferentes anos, armazenadas em tonéis de aço inoxidável, no período de 1996 a 2016, e, conseqüentemente, avaliar a vida de prateleira desses produtos durante o referido período.

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 Mercado produtor de aguardente de cana e cachaça**

A cadeia produtiva da cachaça tem se inovado e vem se aprimorando em seus mercados, para alcançar mais consumidores dentro e fora do Brasil, contando, inclusive, com o apoio de agentes governamentais como a Secretaria de Comércio Exterior (SECEX) e Câmara Setorial de Cachaça, ligada ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Atualmente, a Cachaça é exportada para mais de 60 países e, no ano de 2018, o Brasil exportou 8,4 milhões de litros de cachaça, 3,8% a menos que em relação a 2017, quando 8,7 milhões de litros foram exportados. Porém, o volume exportado não representa o potencial do setor de cachaça e há estimativas de que menos de 1% do volume produzido anualmente no Brasil seja exportado (IBRAC, 2019).

Tendo em vista a dimensão do setor, presente em praticamente todas as unidades da federação, a quantidade de estabelecimentos produtores e a aceitação que o produto tem obtido no exterior, considera-se que existe um bom potencial para a expansão das suas exportações, seja mediante a inclusão de novos estabelecimentos e marcas, seja em termos do incremento do volume exportado ou, principalmente, mediante a agregação de valor ao produto (IBRAC, 2019; PAIVA et al., 2017).

A implantação, a manutenção e o aperfeiçoamento de políticas públicas para o crescimento e a diversificação da pauta exportadora são fundamentais para a cachaça, que é a primeira Indicação Geográfica do Brasil, o que garante a exclusividade do uso do termo por produtos brasileiros em mercados como a Colômbia, México e Estados Unidos (IBRAC, 2019; SORATTO; VARVAKIS; HORII, 2007).

No momento, há cerca de 1,5 mil produtores nacionais, instalados em todas as regiões nacionais, registrados no MAPA. Ao longo dos últimos anos, o setor tem enfrentado inúmeros desafios, como promover o aumento das suas exportações, a inserção de micro e pequenas empresas no mercado internacional, e o reconhecimento internacional como bebida genuína e exclusiva do Brasil (IBRAC, 2019).

As atividades de padronização, registro e fiscalização da produção de bebidas no Brasil competem ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, através da Coordenação-Geral de Vinhos e Bebidas, do Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Vegetal, da Secretaria de Defesa Agropecuária e dos serviços de fiscalização localizados nas

Superintendências Federais de Agricultura, Pecuária e Abastecimento nas Unidades da Federação (BRASIL, 2019; CARDOSO, 2013).

A atividade de padronização é executada por meio da definição de padrões oficiais de identidade e qualidade das bebidas produzidas no país. Ela tem por objetivo a delimitação de parâmetros e características objetivas para a definição e denominação das bebidas, protegendo consumidores de práticas abusivas, garantindo a segurança das bebidas e promovendo a regulação do mercado. Nestes padrões estão previstos parâmetros analíticos, como o conteúdo alcoólico ou quantidade de açúcares adicionados, matérias-primas obrigatórias, métodos de produção autorizados, níveis de contaminantes, entre outras disposições fundamentadas nas práticas mundialmente adotadas pelas cadeias produtivas e em estudos científicos (BRASIL, 2019; CARDOSO, 2013).

Contaminantes são substâncias que não são adicionadas intencionalmente aos alimentos. Eles podem ocorrer naturalmente ou se formar durante a fabricação, manuseio, armazenamento, processamento ou distribuição dos alimentos. Os contaminantes também podem ser trazidos para os alimentos por meio da água, do ar ou do solo (ANVISA, 2017).

O registro é uma etapa de licenciamento administrativo que habilita previamente o estabelecimento a desempenhar as suas atividades, sendo verificadas a capacidade técnica e as condições higiênico-sanitárias do estabelecimento que se propõe a elaborar bebidas. O registro de produtos visa cadastrar a composição da bebida, sua denominação, marca e demais informações junto à base de dados, visando o controle pelo Mapa (BRASIL, 2019; SORATTO; VARVAKIS; HORII, 2007). Em março de 2019, a concessão de registros de produtos foi automatizada e desde então, a frequência de registros de produtos quase que dobrou, passando de 1,8 registros de cachaça e aguardente por dia em 2018 para 3,7 registros por dia (BRASIL, 2019).

A fiscalização nos estabelecimentos é desempenhada pelos Auditores Fiscais Federais Agropecuários lotados nos serviços de fiscalização, localizados nas superintendências em cada uma das Unidades da Federação. As fiscalizações são realizadas levando-se em conta critérios de risco apresentados pelas diversas atividades, os tipos de bebidas produzidos, o porte dos estabelecimentos e a amplitude de distribuição desses produtos. Durante estas fiscalizações, verifica-se o cumprimento da legislação em vigor, que estabelece os critérios higiênico-sanitários que os estabelecimentos devem cumprir, sendo coletadas amostras de produtos para controle do atendimento aos parâmetros estabelecidos nos padrões de identidade e qualidade (BRASIL, 2019; CARDOSO, 2013).

A automação de registros teve como consequência a desburocratização da relação com os produtores e agilizou a prestação de serviços à sociedade, liberando a força de trabalho dos auditores fiscais para tarefas como as fiscalizações de estabelecimentos e o combate à clandestinidade (BRASIL, 2019).

No Brasil, os produtores de cachaça totalizam 951 estabelecimentos registrados, com o estado de Minas Gerais liderando a lista, bem acima dos demais, com 421 registros, seguido por São Paulo, com 126; Espírito Santo (74); Rio de Janeiro (50) e Rio Grande do Sul (49). Em um patamar mais baixo, alinham-se Paraíba (34), Pernambuco (34), Bahia (30), Paraná (26) e Santa Catarina (24), fechando os dez estados com mais estabelecimentos produtores de cachaça registrados no Brasil (BRASIL, 2019).

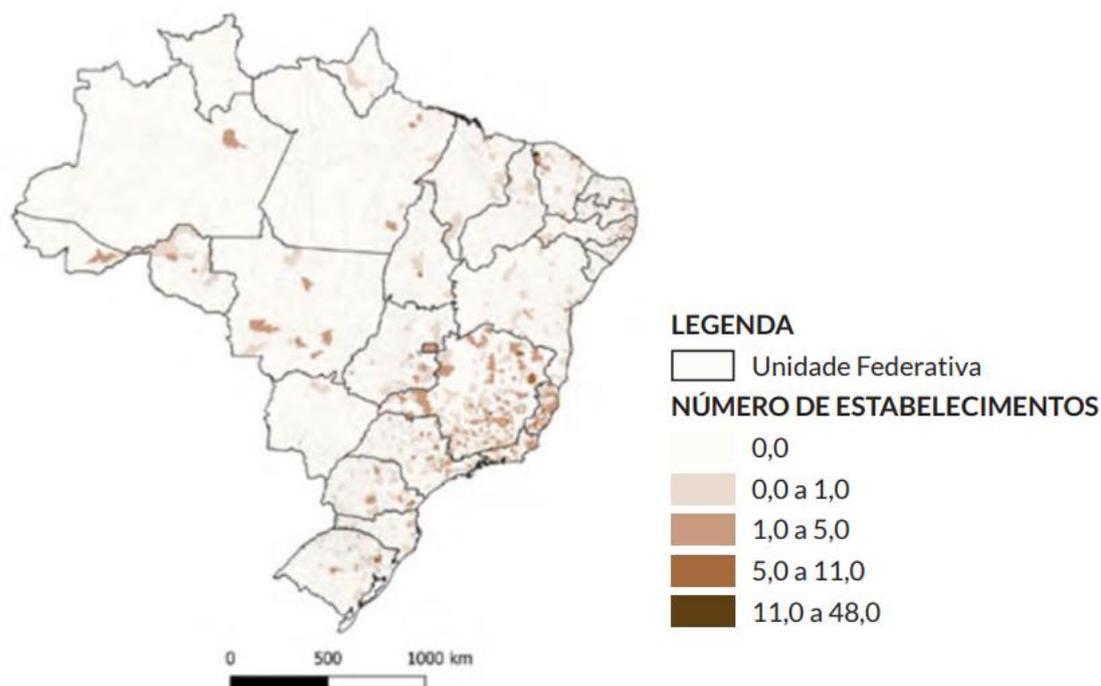
A cidade de Belo Horizonte possui um número bastante elevado de estabelecimentos (19), quase o dobro do segundo colocado, São Roque do Canaã (ES, com 10 estabelecimentos) e, ainda, o estado de MG abrange 4 (quatro) dos 10 (dez) municípios com mais produtores de cachaça. Salinas (MG), Paraty (RJ), Coronel Xavier Chaves (MG), Areia e Campina Grande (PB) são historicamente produtores de cachaça (BRASIL, 2019).

Já os registros para aguardente têm números diferentes. Minas Gerais é o estado com a maior quantidade de produtores de aguardente de cana registrados no MAPA, totalizando 155 registros, seguido pelo estado do Ceará (105), logo após São Paulo (81), Rio Grande do Sul (42), Espírito Santo (40), Pernambuco (36), Paraná (28), Santa Catarina (26), Bahia (15) e Mato Grosso (14). No total, são 611 estabelecimentos registrados como produtores de aguardente (BRASIL, 2019).

Convém esclarecer que esses são os números de produtores registrados, mas o número de produtos e marcas registradas é bem maior, pois cada produtor pode possuir mais de um produto e mais de uma marca registradas. Não menos importante, existem muitos outros produtores que produzem e comercializam cachaça e aguardente na informalidade e, uma vez que não são fiscalizados e nem contribuem com impostos, seus produtos são considerados como clandestinos (BRASIL, 2019).

A produção de cachaça e de aguardente está distribuída por todo o país, conforme é mostrado na Figura 1. Alguns locais tradicionais possuem forte concentração, mostrando que esta atividade apresenta grande importância cultural e econômica nas localidades onde está inserida (BRASIL, 2019).

Figura 1 - Espacialização dos estabelecimentos produtores de cachaça e de aguardente no Brasil.



Fonte: Brasil (2019).

Paiva et al. (2017) observaram que o fluxo das exportações de cachaça no Brasil está relacionado com a atuação do Estado no sentido da criação de políticas e dispositivos legais voltados à promoção e valorização da bebida ao mercado externo, sobretudo os Decretos nº 4.062/2001 e nº 4.851/2003, bem como a criação da Câmara Setorial da Cadeia Produtiva da Cachaça, em 2005. Analisando o período de 1997 até 2015, os autores evidenciaram um aumento nas exportações de cachaça, sendo a bebida negociada em 98 países (com destaque para a Alemanha), aumentando o faturamento dos produtores de 21 estados brasileiros, especialmente os de São Paulo, Pernambuco, Rio de Janeiro, Paraná e Minas Gerais.

A cachaça é caracterizada como uma bebida com potencial de consumo em países distribuídos em todos os continentes. Todavia, ressalta-se a concentração das transações em certos mercados, a baixa representatividade das exportações frente ao total de cachaça produzido no país e o predomínio da comercialização da cachaça industrial no mercado externo.

Porém, apesar do sucesso internacional e grande potencial comercial ainda a ser explorado pelo destilado brasileiro, a intensa carga tributária desestimula a produção e a exportação do destilado, especialmente da cachaça de alambique. É sugerida uma política orientada ao reajuste da carga tributária e incentivos fiscais às exportações, assistência aos

produtores, e investimento na promoção e ressignificação da imagem da cachaça, destacando sua sofisticação e identidade próprias do Brasil e de seus fabricantes (PAIVA et al., 2017).

## **2.2 A cana-de-açúcar, o processo de produção de cachaça/aguardente e a qualidade da bebida**

O colmo da cana-de-açúcar é a matéria-prima para produção de cachaça. É constituído de fibra (celulose, hemicelulose e lignina) e caldo, composto de água e açúcares dissolvidos (sacarose, glicose e frutose), e também, em pequenas quantidades (cerca de 2%), proteínas, aminoácidos, gorduras, ceras, ácidos málico, succínico e aconítico, pigmentos clorofila e antocianina, e minerais como sílica, potássio, fósforo, cálcio, sódio, ferro, magnésio, cloro, alumínio e enxofre. Todos os componentes do colmo da cana têm sua importância específica no processo produtivo da aguardente. Os açúcares são convertidos majoritariamente em etanol e gás carbônico, e os demais componentes orgânicos e inorgânicos são fontes de nutrientes e vitaminas para as células de leveduras responsáveis pela fermentação alcoólica, enquanto o bagaço, isto é, as fibras, pode ser queimado para obtenção de energia (ALCARDE, 2017).

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 seja processada e então, obtido 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).

No estado de São Paulo (SP), a Lei da Queima da Cana (Lei nº 11.241/2002), estabelece a gradativa redução da queima de canaviais até sua extinção, em 2021 para áreas mecanizáveis (maiores que 150 hectares e declividade menor ou igual a 12%); e até 2031 para as áreas não-mecanizáveis (menores que 150 hectares ou declividade maior que 12%) e os locais com estruturas de solo que impedem a mecanização (SÃO PAULO, 2002)

A queima da cana, além de causar danos ambientais como poluição atmosférica, espalhamento de fuligem e risco ao ecossistema, prejudica ainda a qualidade da aguardente com ela produzida. Masson e colaboradores (2007), comparando as aguardentes de alambique obtidas de cana-de-açúcar com e sem queima prévia, oriundas de um mesmo processo de produção (fermentação, destilação e equipamentos), concluíram que a queima do palhicho da cana-de-açúcar propiciou um aumento significativo na concentração de furfural; não

influenciando significativamente na concentração dos demais componentes (álcoois superiores, ésteres, aldeídos, cobre, acidez volátil e metanol), nas aguardentes estudadas.

Após a colheita, a cana-de-açúcar é levada para a moagem, onde se faz a extração do caldo, através 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).

Recomenda-se que a cana seja cortada no início do dia e processada neste mesmo dia, não ultrapassando o intervalo de 24 horas, pois do contrário, haverá o favorecimento da microbiota contaminante na matéria-prima, interferindo no processo de fermentação e comprometendo a qualidade do produto final (CARDOSO, 2013). A cana, como todo produto vegetal recém-colhido, é também perecível.

O processo de fermentação alcoólica para produção de aguardente é iniciado com a adição de uma suspensão inicial de leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*), chamada de pé-de-cuba ou fermento (ALCARDE, 2017).

A fermentação é uma etapa crítica do processo. 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 (SCHWAN et al. 2013).

Muitos produtores de aguardente de pequeno e médio porte no Brasil, utilizam o fermento selvagem, também popularmente chamado de caipira, para produzirem a bebida. Ele é constituído por células de leveduras que já estão naturalmente adaptadas ao ambiente de cultivo da cana e de produção de aguardente, sendo encontradas nas superfícies do colmo, das folhas, no solo da cultura e no ar (ALCARDE, 2017).

Como fonte de nutrientes para as leveduras, são utilizados farelo de milho (fubá) e ou farelo de arroz (MENDONÇA et al., 2016). Alcarde et al. (2012), relata que em muitos casos o processo fermentativo para produção de aguardente ainda é empírico, utilizando leveduras selvagens, isto é, aquelas trazidas do campo com a própria cana. A ocorrência de diferentes espécies e linhagens de leveduras, além de bactérias que também podem realizar fermentação, pode interferir negativamente na qualidade do produto final, pois a utilização deste tipo de inóculo pode proporcionar fermentações aleatórias, a depender da quantidade e da qualidade dos microrganismos presentes no caldo. Diferentes cepas de levedura, mesmo que sejam da

espécie *Saccharomyces cerevisiae*, produzem bebidas que apresentam composições químicas distintas.

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 diluição do caldo com água potável, caso ele esteja com teor de açúcares elevado, ou adição de sacarose, caso esteja pobre em açúcares (OLIVEIRA et al. 2005).

Logo que a etapa de fermentação é finalizada, o mosto fermentado, também conhecido como vinho é submetido à destilação para a separação, seleção e concentração dos componentes voláteis (SCHWAN et al. 2013). No processo de destilação em alambiques de cobre, o destilado é dividido em três frações: cabeça, coração e cauda. A fração cabeça é constituída pelas substâncias de maior volatilidade como o metanol e acetaldeído. É recolhida nos primeiros instantes da destilação correspondendo a 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 cauda é a última fração, também chamada de água fraca, corresponde a 3% do volume total do mosto ou 15% do destilado (CARDOSO, 2013).

As frações podem ser separadas com base no teor alcoólico (RECHE et al., 2007) e o principal objetivo dessa separação é assegurar que a cachaça apresente baixa ou nenhuma concentração de substâncias nocivas à saúde humana e compostos que diminuam a qualidade sensorial da bebida, bem como apresentar concentrações aceitáveis de etanol e de componentes que contribuam para o sabor e aroma da cachaça (DIAS, 2013).

Segundo Cardoso (2013), o processo de destilação é importante para separar os componentes voláteis (água, etanol, metanol, álcoois superiores, ácido acético, ésteres, aldeídos, gás carbônico, entre outros) dos componentes fixos ou não voláteis, que são sólidos do mosto, células de leveduras, minerais, ácidos orgânicos e inorgânicos. Esses compostos se destilam pela temperatura de ebulição, afinidade com álcool/água e teor alcoólico no vapor da destilação, e ainda possibilitam a diferenciação da composição química de cada fração coletada durante a destilação da bebida.

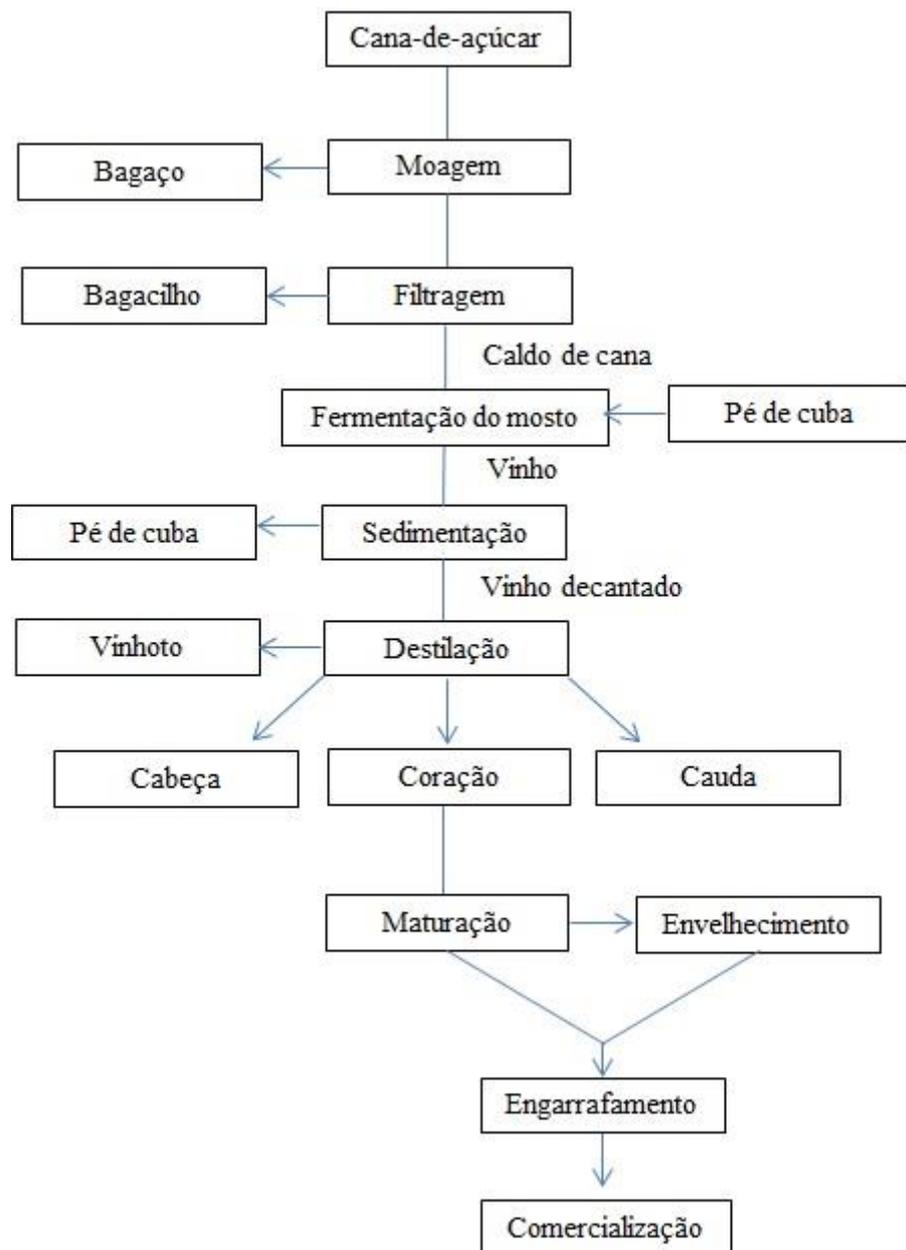
Antes de ser destilado, o caldo de cana fermentado, também chamado de vinho, é uma mistura líquida bastante complexa que contém substâncias líquidas, sólidas e gasosas dissolvidas. O etanol é o principal componente líquido do vinho, com 5 a 8% (v/v) e a água é a substância presente em maior quantidade - cerca de 89 a 92% (v/v). Ao ser destilado, cada componente volátil desse vinho será mais facilmente destilado de acordo com três critérios:

solubilidade em álcool ou água, variação da temperatura de ebulição e teor alcoólico na fase de vapor durante a destilação (BRUNO, 2012).

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 à maturação ou envelhecimento (ALCARDE, 2017). Maia e Campelo (2006) recomendam 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.

A Figura 2 apresenta um esquema das principais etapas e o fluxo de produção de cachaça em alambique.

Figura 2 - Esquema do processo produtivo da cachaça de alambique.



Fonte: adaptado de CARDOSO (2013).

Após a destilação e descarte das frações cabeça e cauda, recolhe-se o coração, que é a cachaça propriamente dita. Esta pode ser maturada em tonéis de inox ou de madeira. Todavia, poucos são os produtores que deixam seus destilados maturarem em recipientes que não são de madeira, como o aço inox, por períodos superiores a alguns meses. Poucas são as pesquisas da bebida nesses recipientes, por períodos superiores a um ano, para avaliar sua estabilidade, qualidade e possíveis riscos para o consumidor.

Cardoso et al. (2003), avaliaram a influência do material do equipamento de destilação sobre perfil químico das aguardentes de cana-de-açúcar provenientes de dispositivos de destilação contendo porcelana, alumínio, cobre e aço, através de técnicas cromatográficas líquida de alta eficiência (HPLC) e gasosa (GC-FID) e analisaram os resultados pela análise dos componentes principais (PCA). Os autores verificaram que as amostras coletadas dos dispositivos de aço têm uma similaridade próxima às amostras dos dispositivos de cobre em relação aos compostos analisados. Em contraste, as amostras de dispositivos de alumínio e porcelana diferiam umas das outras e dos outros dois grupos. Houve uma alta contribuição de íons sulfato e metanol nas amostras das colunas de alumínio. A diferenciação entre amostras de cobre e aço foi afetada pelo teor de dimetilsulfeto (DMS) e ésteres que foram maiores nas amostras de coluna de aço.

A produção de bebidas destiladas do caldo de cana fermentado tem influência significativa na economia de várias regiões no Brasil. Para garantir a segurança para consumo humano e também para agregar valor a esses produtos, é imperativo aplicar técnicas de controle. Além das técnicas instrumentais convencionais de análise de alimentos e bebidas (por exemplo, volumetria e gravimetria), técnicas de análise multivariada e quimiométricas têm sido aplicadas em laboratórios ao redor do mundo visando a redução de dados, reconhecimento de padrões, análise de agrupamentos (cluster), classificação e quantificação de dados, a discriminação entre amostras, verificação de adulteração, tendências nas características sensoriais, bem como relações entre informações químicas e as origens geográficas (OLIVEIRA et al., 2019).

O estabelecimento produtor deve estar apto a verificar regularmente a qualidade da matéria-prima, operações de fabricação e dos produtos elaborados ou manipulados, mantidos sempre no local e à disposição da fiscalização. É conveniente que os registros sejam realizados por lote, que se compreende como sendo a quantidade de um produto obtida em um ciclo de fabricação, identificada por número, letra ou combinação dos dois, e cuja característica principal é a homogeneidade (BOTELHO, 2013). Logo, pode-se dizer que uma quantidade de aguardente/cachaça, por exemplo, 10.000 litros, produzida em determinado ano e armazenada em um recipiente de material apropriado, configura como um lote.

Vários pontos devem ser levados em consideração para aqueles que pretendem produzir suas bebidas com uma qualidade superior. Entre eles está a importância de uma definição precisa dos pontos de corte de cada fração para a qualidade final do produto, já que a contaminação do “coração” com outras frações pode resultar em diferenças na concentração de importantes compostos orgânicos e inorgânicos (OLIVEIRA et al., 2019).

A aguardente de cana/cachaça que apresenta uma coloração incolor, quando armazenada em recipientes que não agreguem cor à bebida poderá ser designada “prata” ou “clássica” ou “tradicional” (BRASIL, 2005a). Popularmente chama-se essa aguardente de pura, branca, transparente, mas esses termos não estão previstos na legislação, sendo considerados termos vulgares (BRASIL, 2019).

De acordo com a Instrução Normativa de nº 13, de 30/06/2005 (BRASIL, 2005a), **Aguardente de cana-de-açúcar** é 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. **Cachaça** é a denominação típica e exclusiva da 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.

A legislação veda o uso de corantes de qualquer tipo, extrato, lascas de madeira ou outras substâncias para correção ou modificação da coloração original do produto armazenado ou envelhecido ou do submetido a estes processos, com exceção do corante caramelo para correção e ou padronização da cor da aguardente envelhecida apenas (BRASIL, 2005a).

### 2.3 Compostos secundários e contaminantes orgânicos

As etapas do processo de fabricação da cachaça dão origem a formação de diversos compostos. Esses, denominados secundários, são compostos orgânicos voláteis que conferem características sensoriais peculiares à cachaça, como o aroma e o sabor, em que a quantidade e a natureza química desses componentes dependem da matéria-prima, da fermentação, da destilação e do armazenamento ou envelhecimento. Os compostos secundários devem ser formados em quantidades aceitáveis para obter uma bebida com qualidade. Porém, pode ocorrer também uma formação excessiva desses compostos, gerando desde problemas sensoriais até riscos à saúde do consumidor (CARDOSO, 2013).

Grande parte desses compostos são formados durante a fermentação alcoólica. Nessa etapa, os açúcares do caldo de cana são consumidos pela microbiota do meio e dois produtos principais são formados: álcool etílico (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH) e dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>). Mas também são formados outros componentes em pequenas quantidades, tais como ácidos carboxílicos,

metanol, ésteres, aldeídos e álcoois superiores, que podem influenciar positivamente ou negativamente a qualidade da bebida (CARDOSO, 2013).

Os ácidos carboxílicos são compostos normalmente produzidos durante a fermentação, sendo produzidos por leveduras ou bactérias provenientes de contaminação. O ácido acético pode ser formado por meio da conversão do açúcar na presença de oxigênio e do levedo *Saccharomyces cerevisiae* (PEREIRA et al., 2003; CARDOSO, 2013). O ácido lático não é produzido pelas leveduras, estando associado ao desenvolvimento de bactérias lácticas contaminantes da fermentação (ALCARDE, 2017).

A contaminação do mosto por bactérias acéticas pode ocorrer por diversos fatores, desde a obtenção da matéria-prima, durante a estocagem da cana e após a moagem, e mesmo após a fermentação, quando a destilação do vinho não é realizada logo após o final do processo fermentativo. Além disso, durante o processo fermentativo, deve-se evitar a areação do mosto, uma vez que o aumento de oxigênio faz com que o levedo transforme o açúcar em ácido acético, em vez de etanol. A presença de ácidos em pequena quantidade é de grande importância para a qualidade da bebida, uma vez que, durante sua produção, os ácidos reagem com os álcoois presentes, aumentando a formação de ésteres, porém em grandes concentrações, os ácidos impõem características sensoriais desagradáveis à cachaça/aguardente, promovendo um sabor indesejável e agressivo, que prejudicam a qualidade da bebida (CARDOSO, 2013).

Os aldeídos são compostos que podem ser formados durante o processo de fermentação pela ação das leveduras em estágios preliminares no processo fermentativo. Os principais aldeídos presentes nas aguardentes de cana são o acetaldeído, o formaldeído e o propen-2-al (acroleína), formados pela oxidação de álcoois superiores. Alguns aldeídos formados são contaminantes orgânicos, tais como o furfural, hidroximetilfurfural e prop-2-enal. Os aldeídos causam um odor pungente (agressivo) na bebida, mas podem reagir com álcoois e ter como resultado os acetais, cujo efeito sensorial é uma diminuição desse odor (CARDOSO, 2013; ALCARDE, 2017).

A formação de 2-furfural (furfural) e 5-hidroximetil-2-furfural (hidroximetilfurfural) pode estar relacionada com a alta temperatura associada ao baixo pH do mosto, acarretando a desidratação dos açúcares e hidrólise de polissacarídeos dos bagacilhos (celulose, hemicelulose, pectina e outros). As pentoses formam furfural como principal produto de degradação, enquanto as hexoses formam hidroximetilfurfural. Outros fatores, como 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; CARDOSO, 2013).

Os ésteres são uma classe de compostos presentes na cachaça que contribuem para a formação do aroma. A formação dos ésteres ocorre principalmente no processo fermentativo, através da reação de esterificação entre pequenas quantidades de etanol e ácidos carboxílicos provenientes do metabolismo das leveduras. Em baixas concentrações, os ésteres proporcionam um aroma agradável de frutas; porém, em quantidades elevadas, confere à bebida um sabor enjoativo e indesejado. Esses compostos também podem ser formados no processo de envelhecimento pela interconversão dos compostos fenólicos, tais como siringato de etila e vanilato de etila, e outros que são extraídos da madeira, como o homovanilato de metila e o siringato de metila (VICHI et al., 2007; CARDOSO, 2013; SANTIAGO et al., 2015).

Álcoois que possuem mais de dois átomos de carbono são denominados álcoois superiores e são frequentemente encontrados em bebidas destiladas. Esses compostos constituem, quantitativamente, o maior grupo de substâncias voláteis nas bebidas destiladas a quem também se atribui odor característico de flores e, juntamente com os ésteres, são responsáveis pelo *flavour*. Em níveis elevados, os álcoois superiores podem prejudicar e desvalorizar as características da bebida. Esse excesso é chamado de óleo fusel. Os principais álcoois superiores encontrados em cachaças são os álcoois isoamílico (3-metilbutan-1-ol), amílico (pentan-1-ol), isobutílico (2-metilpropan-1-ol) e propílico (propano-1-ol) (VILELA et al. 2007; CARDOSO, 2013; ALCARDE, 2017).

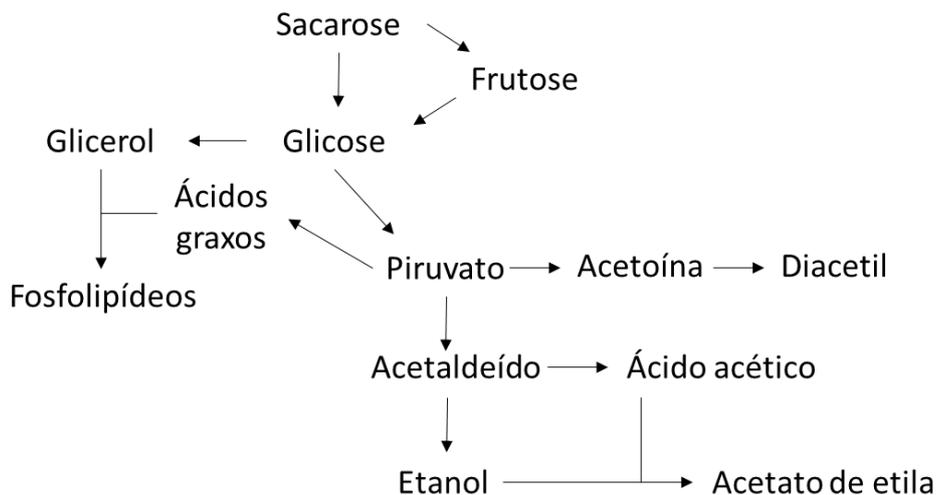
Alguns álcoois superiores podem ser prejudiciais à saúde do consumidor e são considerados contaminantes orgânicos pela legislação vigente (BRASIL, 2005a). A presença dos álcoois butílico e sec-butílico, que podem ser formados durante a fermentação, vem em decorrência da contaminação pela bactéria "*Clostridium acetobutylicum*" e sua toxicidade é relativamente alta, quando comparada ao etanol. Essa contaminação pode ser reduzida com a aplicação de Boas Práticas de Fabricação (BPF), principalmente evitar deixar a cana-de-açúcar próxima a estábulos e locais de ordenha (MAIA; CAMPELO, 2006; CARDOSO, 2013).

O glicerol (propan-1,2,3-triol) é um álcool poliidroxilado, inodoro, suave, possui massa molar de 92,1 g/mol, com densidade específica de 1,26 g/cm<sup>3</sup>; pressão de vapor 0,0025 mmHg (50 °C); temperatura de ebulição 290 °C e temperatura de fusão 17,9 °C (POSADA et al. 2009). Em bebidas alcoólicas, o glicerol 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 (REMIZE; BARNAVON; DEQUIN, 2001).

As células de leveduras produzem glicerol com a finalidade de manutenção do equilíbrio redox e regulação osmótica (REMIZE; BARNAVON; DEQUIN, 2001). Sua produção acontece na via glicolítica (FIGURA 3), a partir da diidroxiacetona 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.

Figura 3 – Esquema simplificado das vias metabólicas da fermentação alcoólica.



Fonte: Alcarde (2017).

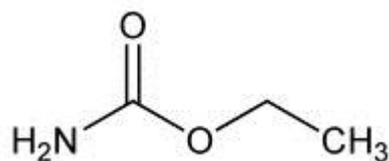
As concentrações de glicerol em bebidas destiladas são significativamente menores quando comparadas com as concentrações em bebidas fermentadas, como o vinho, por exemplo. Isso ocorre porque grande parte do glicerol proveniente do processo fermentativo fica retido durante a destilação devido à elevada 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. Problemas no processo de destilação e adição proposital também podem ser motivos para a presença de glicerol em bebidas destiladas, e pode lhes conferir um sabor adocicado (GARCIA et al. 2010).

Além dos constituintes já mencionados, alguns compostos orgânicos são considerados contaminantes. O metanol é um álcool que contém apenas um átomo de carbono e sua presença na bebida está associada a degradação da pectina, um polissacarídeo presente na cana-de-

açúcar, matéria-prima da produção da cachaça. A molécula de pectina corresponde a um polímero formado pela associação de centenas de moléculas de ácido galacturônico, que possuem fragmentos de moléculas de metanol, as quais são liberadas durante a fermentação, através das reações de hidrólise ácida ou enzimática (ZACARONI et al., 2011). A ingestão de metanol, mesmo em pequenas quantidades pode ocasionar cegueira ou mesmo a morte. Isso ocorre devido, ao metanol ser oxidado a ácido fórmico no organismo e, posteriormente, a CO<sub>2</sub>, provocando uma acidose grave (diminuição do pH sanguíneo), afetando o sistema respiratório, podendo levar ao coma e até mesmo à morte (CARDOSO, 2013).

Entre os contaminantes orgânicos, o carbamato de etila (CE) (FIGURA 4) vem sendo largamente estudado. Esse é um composto carcinogênico encontrado naturalmente em baixas concentrações em diferentes bebidas alcoólicas e em alguns alimentos fermentados (ANDRADE-SOBRINHO et al., 2002).

Figura 4 – Fórmula estrutural do carbamato de etila.



Fonte: The Merck Index Online.

Porém, devido à sua natureza tóxica e à sua presença constante em bebidas alcoólicas, tornou-se importante a sua caracterização e quantificação; por isso, faz-se necessário o conhecimento dos níveis de sua ocorrência, pois além dos aspectos ligados à saúde pública, sua presença, em concentrações elevadas, constitui, também, uma barreira para exportação (LACHENMEIER et al, 2010; CARDOSO, 2013; SANTIAGO et al, 2017).

Apesar de amplamente estudado, as vias de formação do carbamato de etila ainda não estão bem elucidadas. Sabe-se que em bebidas destiladas, a via de formação mais provável é através da reação do etanol com grupo cianeto originado da decomposição de glicosídeos cianogênicos presentes na matéria-prima (NÓBREGA, et al., 2011; GALINARO, et al., 2015; MENDONÇA et al., 2016; SANTIAGO, et al., 2017; FANG, et al., 2018; CRAVO et al., 2019).

Apesar da não existência oficial 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, 2005; CARDOSO, 2013).

Os compostos secundários que compõem os Padrões de Identidade e Qualidade (PIQs) para a aguardente de cana-de-açúcar e cachaça, estabelecidos pela legislação brasileira, conforme a Instrução Normativa nº 13, de 29 de junho de 2005 (BRASIL, 2005a), estão listados no Quadro 1.

Quadro 1 - Padrões de Identidade e Qualidade (PIQs) da aguardente de cana-de-açúcar e da cachaça

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

\*Álcoois superiores: isobutílico + isoamílico + propílico

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

Fonte: (BRASIL, 2005a).

### 2.3.1 Impacto da composição volátil no aroma e sabor da bebida

A fração volátil das aguardentes de cana tem importante papel sobre a qualidade e aceitação desse tipo de bebida. As formas como se conduz a colheita da cana-de-açúcar, a fermentação, a destilação e o envelhecimento da aguardente são determinantes da composição qualitativa e quantitativa da fração volátil dessas bebidas alcoólicas. Os materiais usados nesses processos também têm grande influência sobre a composição química desse tipo de matriz (aguardente) (MOREIRA et al., 2012).

Água e etanol não têm contribuição eficaz para o aroma das aguardentes de cana, apesar de serem os principais componentes dessa bebida. Todavia, há vários compostos secundários encontrados no destilado que têm grande participação no aroma e sabor das mesmas, sendo os álcoois, ácidos e ésteres os grupos mais abundantes, enquanto aldeídos, cetonas, acetais e fenólicos constituem os grupos minoritários (MOREIRA et al., 2012; ZARCARONI et al., 2017).

Durante a destilação, compostos voláteis, incluindo ácidos graxos de cadeia curta, são liberados no líquido alcoólico de acordo com sua temperatura de ebulição e afinidade ao etanol. Já os ácidos graxos de cadeia longa (com mais de oito átomos de carbono), por apresentarem maior temperatura de ebulição, se encontram na cauda, fração que deve ser desprezada (MOREIRA et al., 2012; CARDOSO, 2013).

Congêneres voláteis e ácidos graxos de cadeia curta (de três a cinco átomos de carbono) são produzidos por leveduras durante a fermentação alcoólica. A via bioquímica da levedura gera glicerol, ácidos graxos, ésteres, aldeídos, álcoois e cetonas. Os ácidos graxos sintetizados a partir de piruvato e outros  $\alpha$ -cetoácidos, que são ativados pela coenzima A (CoA), formam derivados de acetil-CoA. A síntese de ácidos graxos e outros ácidos orgânicos ocorre através do metabolismo intermediário de aminoácidos a partir do  $\alpha$ -cetoácidos e do metabolismo de carboidratos no ciclo de Krebs (MOREIRA et al., 2012).

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).

O acetato de etila e o lactato de etila são os ésteres majoritários. Aldeídos como o acetaldeído, a acroleína e o furfural podem contribuir negativamente para o sabor dessas bebidas alcoólicas. O sulfeto de dimetila, muitas vezes presentes na cachaça de coluna, é prejudicial para o sabor e aroma das mesmas. Por outro lado, acetais como o 1,1-dietóxi-etano

podem contribuir positivamente para o aroma das aguardentes, em função de suas características sensoriais e do efeito que sua produção tem sobre a diminuição dos níveis de certos aldeídos (MOREIRA et al., 2012).

O octanoato de etila, o 2-feniletanol e o 3-metil-butanol são odorantes importantes para o aroma da bebida. Os compostos fenólicos, como vanilina e eugenol, por exemplo, também provocam alterações sensoriais importantes nas aguardentes envelhecidas e podem ser usados como marcadores do envelhecimento e da autenticidade dessas bebidas (MOREIRA et al., 2012).

Santiago et al. (2016) monitoraram os compostos voláteis na cachaça durante o processo de produção (frações de destilado) e durante o armazenamento em recipientes de cinco madeiras, através da técnica de microextração em fase sólida, utilizando-se a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (SPME-GC-MS). 51 compostos que são importantes para o sabor da cachaça foram detectados pelos autores, sendo que os principais compostos encontrados nesse estudo foram álcoois, ácidos, ésteres e sesquiterpenos.

Zacaroni e colaboradores (2017) investigaram a extração de compostos voláteis de aguardente de cana-de-açúcar, utilizando a metodologia de superfície de resposta. Os autores avaliaram os parâmetros de temperatura de extração, tempo de extração e tempo de dessorção. Concluíram que as condições otimizadas foram temperatura de extração igual a 45 °C, tempo de extração de 50 minutos e tempo de dessorção correspondente a 100 segundos. Os autores conseguiram identificar 10 moléculas de um total de 14 compostos orgânicos voláteis extraídos da aguardente, usando microextração em fase sólida por headspace com cromatografia gasosa e espectrometria de massas (headspace solid phase microextraction with gas chromatography and mass spectrometry – HS-SPME-GC-MS). Os ésteres e os álcoois foram os principais compostos encontrados na bebida; observaram que o composto majoritário presente no destilado foi o 3-metilbutanol, seguido pelo decanoato de etila.

## **2.4 Contaminantes inorgânicos**

A concentração de metais em muitas bebidas alcoólicas pode ser um parâmetro significativo que afeta seu consumo e conservação. Esses podem trazer efeitos negativos às bebidas, como deterioração do produto, consequências sensoriais e até mesmo riscos à saúde do consumidor. Mas também podem haver alguns efeitos positivos, como a remoção de maus odores e sabores, participação em processos fermentativos, fornecimento de vias para a ingestão

de alguns minerais essenciais e utilidade para fins de autenticação (IBANEZ et al., 2008; IZAH et al., 2004).

O Regulamento Técnico Mercosul sobre Limites Máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos estabelece como critério geral que “os níveis de contaminantes inorgânicos nos alimentos deverão ser os mais baixos possíveis, devendo prevenir-se a contaminação do alimento na fonte, aplicar a tecnologia mais apropriada na produção, manipulação, armazenamento, processamento e envase, de forma a evitar que um alimento contaminado seja comercializado ou consumido” (BRASIL, 2013).

Os metais que contaminam as bebidas alcoólicas, chegam até elas em diferentes estágios e através de várias fontes, incluindo matérias-primas, preparação, tipo de processo de produção e equipamentos, engarrafamento, envelhecimento/armazenamento e adulteração. A transferência de metal do equipamento de processo, como tanques e dornas, para o produto, pode ser evitada pelo uso de aço de alta qualidade (FERNÁNDEZ-LÓPEZ et al., 2018; IBANEZ et al., 2008).

Vários íons metálicos podem ser absorvidos do solo circundante por plantas das quais uma bebida alcoólica é preparada. O tipo de solo, tratamentos agroquímicos (por exemplo, o uso de pesticidas e fungicidas) e a poluição ambiental circundante têm implicações no conteúdo mineral de muitas bebidas. Pesticidas, fungicidas e fertilizantes contendo compostos de cádmio (Cd), cobre (Cu), manganês (Mn), chumbo (Pb) e zinco (Zn) podem derivar no aumento do conteúdo desses metais na bebida alcoólica. O cobre na cerveja vem, principalmente, de matérias-primas, enquanto que no uísque, apenas uma pequena percentagem do teor final de cobre tem sua origem na matéria-prima do destilado (IBANEZ et al., 2008).

Metais em bebidas alcoólicas são frequentemente determinados por técnicas de absorção ou emissão atômica, e geralmente, necessitam de uma etapa de pré-tratamento, já que as bebidas alcoólicas são matrizes aquosas complexas que contêm uma ampla variedade de compostos orgânicos e tais técnicas devem ser sintonizadas para os compostos orgânicos não interfiram nas análises (PYRZYNSKA, 2007; IBANEZ et al., 2008).

Fernandes et al. (2013) observaram uma redução no teor de cobre de cachaças que permaneceram por até 96 horas em copos de pedra-sabão (esteatito), indicando que o material do copo adsorveu o elemento nas primeiras 72 horas de contato e sendo isto, possivelmente, relacionado à composição da rocha que apresenta carbonatos de cálcio e elementos calcófilos até atingir a saturação dos carbonatos presentes na superfície dos recipientes, limitando a

adsorção de cobre. Tal fato revela uma oportunidade para a possível utilização da pedra-sabão para compor filtros para a remoção ou redução desse metal em cachaças de alambique.

A presença de íons metálicos no organismo humano é essencial, mas existe uma linha muito fina entre seus efeitos benéficos e tóxicos nos processos celulares (Wojtunik-Kulesza et al., 2019).

O cobre em excesso no corpo humano pode causar-lhe problemas de saúde, como hemólises, vômito, irritação gastrintestinal, diarreia, convulsão e sérias disfunções hepáticas, provocando principalmente, o desenvolvimento da doença de Wilson (COFFEY et al., 2013). Por isso, várias alternativas têm sido propostas para redução ou eliminação desse na cachaça, como a utilização de filtros de carvão ativado, resina de troca iônica e adsorventes naturais apresentando um resultado satisfatório no controle desse contaminante (LIMA et al., 2009; DUARTE et al., 2014; ZACARONI et al., 2015b).

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 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 ou imitar a ação do cálcio e de interagir com proteínas. Em níveis de exposição moderada (ambiental e ocupacional), um importante aspecto dos efeitos tóxicos do chumbo é a reversibilidade das mudanças bioquímicas e funcionais induzidas (MOREIRA & MOREIRA, 2004; MENEZES et al., 2008).

O cádmio é um metal pesado tóxico que possui meia-vida longa e se acumula nos sistemas vivos. Os efeitos tóxicos, após a exposição incluem retardo de crescimento e toxicidade do sistema orgânico, sendo a toxicidade nos rins e no fígado mais relatada em organismos superiores. No nível molecular, esse metal leva à produção de espécies reativas de oxigênio, dano ao DNA e inibição da reparação do DNA (ZHANG & REYNOLDS, 2019).

No organismo humano, o ferro tem duas funções principais: o transporte de moléculas de oxigênio através da hemoglobina, que corresponde a 65-70% de todo o ferro no corpo; e o armazenamento de oxigênio nos músculos, através da mioglobina. Esse elemento é necessário para o bom funcionamento dos organismos de todos os mamíferos. Tendo em conta o caráter exógeno do ferro e sua excreção específica, seu fornecimento contínuo ao corpo é essencial. Em alguns casos, quando a quantidade do elemento é insuficiente, as reservas de ferro no corpo são usadas. Essa situação pode levar a alterações perigosas no corpo, causando distúrbios, por

exemplo, anemia. Também existem situações em que a sobrecarga de ferro pode ser problemática (WOJTUNIK-KULESZA et al., 2019).

O zinco é tão importante quanto o ferro no organismo humano, estando associado a enzimas e a biossíntese de proteínas, além de desempenhar um papel antioxidante. O desequilíbrio de zinco (uma concentração baixa ou alta no organismo) tem uma influência negativa em todo o corpo, resultando em distúrbios significativos que levam a anormalidades corporais. A deficiência de zinco é um problema que afeta aproximadamente 50% da população global. Um atributo positivo do zinco é que o elemento não pode ser acumulado no organismo, pois qualquer excesso significativo é removido (WOJTUNIK-KULESZA et al., 2019).

Os compostos contendo cromo são difundidos no ambiente. Esse metal de transição possui 7 estados de oxidação (0 – VI), sendo os estados metálico (Cr (0)), trivalente (Cr (III)) e hexavalente (Cr (VI)) os estados mais comuns e, portanto, os mais prevalentes encontrado no ambiente (DESMARIAS & COSTA, 2019).

O cromo trivalente é encontrado naturalmente nas rochas e no solo e é facilmente absorvido pelas plantas. Por esse meio, o Cr (III) pode entrar na cadeia alimentar e fazer parte da dieta humana. Também está presente em muitos alimentos e produtos de suplementação, porém, as evidências sobre o benefício nutricional são conflitantes, o que poderia sugerir que os humanos o absorvem suficiente apenas da dieta e que não é necessária suplementação extra (DESMARIAS & COSTA, 2019).

O cromo hexavalente é um metal carcinogênico amplamente reconhecido que é disperso pelo ambiente a partir de fontes pontuais antropogênicas. Processos industriais, como refino de metal, cromagem, produção de aço inoxidável, curtimento de couro e produção de corantes químicos, todos usam cromo, e são amplamente responsáveis pela liberação de Cr (VI) no ar. Ele está classificado no grupo 1 com múltiplos mecanismos complexos pelos quais desencadeia o desenvolvimento do câncer (DESMARIAS & COSTA, 2019)

## **2.5 Aço inoxidável**

O uso de materiais metálicos para contato com alimentos, seja em embalagens, revestimentos, utensílios, tampas e/ou equipamentos, obedecem a um regulamento técnico estabelecido na Resolução RDC nº 20, de 22 de março de 2007, publicada no Diário Oficial da União, em 26 de março de 2007. Por essa resolução, os materiais metálicos utilizados não podem ceder aos alimentos substâncias indesejáveis tóxicas ou contaminantes em quantidades

que representem risco para a saúde humana e nem ocasionar modificações inaceitáveis na composição dos alimentos ou nas suas características sensoriais (BRASIL, 2007).

As propriedades do aço inoxidável permitem que equipamentos fabricados em aço possam atender a toda a cadeia produtiva de alimentos, desde o processamento, passando pelo armazenamento e distribuição, chegando ao final da cadeia com as mesmas qualidades de quando saiu da fábrica. É inerte à maior parte dos compostos liberados pelos alimentos em produção, inclusive aditivos químicos; oferece segurança aos alimentos, em razão da facilidade de limpeza e da manutenção de higiene; e alta resistência mecânica, resistindo às variações de temperatura e sendo muito superior a qualquer outro tipo de material, a exemplo de plásticos, alumínio ou equipamentos de ferro (ABINOX, 2018).

O aço inoxidável (stainless steel) é uma liga metálica altamente resistente à corrosão, sofrendo apenas oxidação superficial, em diversos ambientes, especialmente na atmosfera. São classificados como aços de alta liga por conterem uma concentração de elementos liga em sua composição superior a 10%. É uma liga à base de ferro, cuja característica anticorrosiva é resultante do cromo como elemento liga predominante (de 10,5% a 26%, em massa), além da presença até 22% de Ni. A adição de molibdênio (Mo) também melhora a resistência à corrosão (TELLES, 2003).

Além da resistência à corrosão, o aço inoxidável também apresenta a propriedade de ser um material polido (ou seja, liso e sem poros em sua microestrutura), de modo a dificultar a deposição de alimentos, evitando crescimento microbiano. Todas essas características permitem a proteção do equipamento e a não contaminação do alimento processado nele (FELLOWS, 2018).

O aço inoxidável não corresponde a um único tipo de material, mas sim, a vários tipos de ligas metálicas, que podem ser divididos e classificados em cinco categorias, a depender de suas microestruturas, composição química, propriedades mecânicas e resistência a corrosão. As categorias, segundo o Instituto Americano de Ferro e Aço (American Iron and Steel Institute - AISI), são: austenítico, ferrítico, martensítico, endurecíveis por precipitação e duplex (CAETANO, 2016).

Os variados tipos de aços inoxidáveis austeníticos se dividem nas séries 200 e 300. A série 300 apresenta o aço com composição de 16 a 25% de cromo, e 7 a 22% de níquel, além de outros elementos liga e menores quantidades. A série 200, contém a concentração de níquel reduzida para até 6%, e existe o acréscimo de manganês, em até 15%. O aço 304 é muito utilizado na indústria de alimentos, devido à combinação de custo relativamente baixo e de

resistência à corrosão, evitando a contaminação dos produtos no interior dos equipamentos. Também são conhecidos pela grande resistência à fadiga mecânica e por serem suscetíveis a deformação a frio (TELLES, 2003).

O aço inoxidável tipo 304, já foi também conhecido como 18-8, com base na composição de níquel e cromo da liga (18% Cr e 8% Ni). Porém, com o desenvolvimento de novos materiais e novas ligas, a nomenclatura foi modernizada (SILVA e MEI, 2011). Além do aço AISI 304, os aços 304L, 316, 316L e 317 também são os mais usados e recomendados para a indústria de alimentos, devido a menor susceptibilidade à corrosão, porém possuem maior custo (PÓVOA, 2017).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Coleta de amostras

As 15 amostras foram gentilmente disponibilizadas pelo Engenho Boa Vista, localizado na cidade de Coronel Xavier Chaves, estado de Minas Gerais (MG), onde foram diretamente coletadas. Elas estavam armazenadas em tanques de aço inoxidável (tipo 304) nos últimos 20 anos. Cada tonel continha a bebida produzida em cada ano, constituindo um lote por ano. O engenho está entre os mais antigos em funcionamento no Brasil.

Todos os tanques eram semelhantes entre si, com capacidade de 2000 litros, e ficavam mantidos dentro de um galpão, com paredes de pedra, sob as mesmas condições de temperatura, iluminação e atmosfera. A variedade da cana utilizada para produzir a bebida foi a CO421, colhida e processada em até 24 horas. O produtor não realiza a queima do canavial.

A fermentação foi desenvolvida e conduzida com fermento selvagem, em dornas de aço inoxidável e pelo mesmo mestre alambiqueiro. A unidade produtora opera com somente um alambique de cobre, aquecido a fogo direto, com capacidade para receber 600 litros de caldo fermentado por batelada. São produzidos, aproximadamente, 30000 litros de aguardente durante a safra.

Antes da coleta, foi retirada uma pequena quantidade do conteúdo de cada tanque (lote) e logo após, foram recolhidos dois litros de cada tanque, como amostra. Foram disponibilizadas amostras dos lotes de 1996 a 2015 e de dois lotes de 2016.

Todas as amostras foram identificadas com a data e horário da coleta e tempo em que permaneceram armazenadas (lote). As amostras foram encaminhadas para o Laboratório de Análise de Qualidade Aguardente do Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras – UFLA, para realização das análises físico-químicas e cromatográficas. Todas as análises foram realizadas em triplicatas.

Pelas Figuras 5.1 a 5.3 é possível observar o aparelho de destilação (alambique) e os tanques de inox de formato cilíndrico onde os lotes de bebidas estavam armazenados.

Figura 5.1 – Alambique de cobre.



Fonte: Do autor.

Figura 5.2 – Alambique de cobre.



Fonte: Do autor.

Figura 5.3 – Tanques de aço inoxidável (304) para armazenamento das bebidas.



Fonte: Do autor.

### 3.2 Delineamento estatístico

Os tratamentos foram constituídos pelos tempos de armazenamento, em anos, sendo que as amostras foram coletadas dentro de cada tonel por ano. O esquema experimental adaptado a essa situação foi do tipo variação entre e variação dentro. Os dados dos resultados das análises foram normalizados pelo método Box-Cox (1964), e então, avaliados pelo teste de Scott-Knott (1974), com 95% de confiança, com auxílio do software estatístico R (R-CORE TEAM, 2017), para verificar se havia diferença significativa entre as amostras (lotes) em cada parâmetro analisado.

### 3.3 Análises físico-químicas

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

Inicialmente, as amostras foram redestiladas em triplicatas, em destilador de vidro, e acondicionadas em frascos de vidro hermeticamente fechados e mantidos sob refrigeração até

o momento de cada análise. Para cada triplicata, foram utilizados 250 mL de cachaça, redestilados, até que fossem recuperados 3/4 desse volume, usados para determinar o teor alcoólico, álcoois superiores, aldeídos, furfural, ésteres e metanol. A determinação de acidez volátil, extrato seco e cobre foram realizados sem a redestilação da cachaça.

### **3.3.1 Teor alcoólico**

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

### **3.3.2 Extrato seco**

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

### **3.3.3 Acidez**

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

### **3.3.4 Aldeídos**

Foram analisados pelo método titulométrico direto com iodo  $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ , titulando o  $\text{SO}_2$  formado por meio das reações envolvidas na análise. Os aldeídos reagem com íons bissulfito (em excesso), em pH neutro em um meio tamponado. Em meio fortemente ácido, o bissulfito em excesso reage com o iodo para impedir a dissociação do composto aldeído-bissulfito, que é estável em pH 2,0. O bissulfito, que está combinado com o aldeído, é titulado com a solução de iodo, após ser liberado em meio alcalino (pH 9,0). A quantidade de aldeídos presente nas amostras foi expressa em gramas de aldeído acético por 100 mL da amostra ou por 100 mL de álcool anidro.

### 3.3.5 Furfural

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

Antes da leitura de furfural no espectrofotômetro, o grau alcoólico da cachaça redestilada foi corrigido para 50 °GL. A reação colorimétrica ocorre entre o furfural e a anilina, em meio ácido, resultando em um produto colorido (imina), que é então analisado. Os resultados obtidos foram comparados com os de uma curva analítica (construída a partir de soluções com concentrações conhecidas de furfural) e expressos em miligrama de furfural por 100 mL de álcool anidro.

### 3.3.6 Ésteres

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

### 3.3.7 Cobre

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

### 3.3.8 Metanol e álcoois superiores

Foram determinados pela técnica de cromatografia em fase gasosa, empregando-se a metodologia proposta por Vilela et al. (2007), na Central de Análises e Prospecção Química (CAPQ).

Utilizou-se um cromatógrafo gasoso Shimadzu (GC2010), autoamostrador AOC-20i, detector de ionização de chama e coluna DB-WAX (30 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu\text{m}$ ) com Split 1:10. A temperatura do injetor e detector foram de 150 °C e 170 °C, respectivamente. A rampa de aquecimento empregada foi de 1 °C  $\text{min}^{-1}$  de 55 °C até 70 °C, totalizando 17 min. Utilizou-se como gás de arraste Hélio (5.0) com fluxo de 1,4 mL  $\text{min}^{-1}$ .

A quantificação dos álcoois superiores (butan-1-ol, butan-2-ol, 3-metilbutan-1-ol, 2-metilpropan-1-ol, propan-1-ol) e metanol, foram feitas por padronização externa, partindo de uma solução estoque na concentração de 4 g  $\text{L}^{-1}$  em etanol 40%.

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

### 3.4 Determinação dos compostos voláteis

A identificação dos compostos voláteis foi realizada por cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS), na CAPQ, seguindo a metodologia descrita por Zacaroni et al., 2017. Foi utilizado um cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro de massas GC-MS QP2010 Plus (Shimadzu, Japan) equipado com injetor automático para líquidos e gases AOC-5000 (Shimadzu, Japan), injetor split/splitless e coluna SLB™ (5% fenil- 95% dimetilsiloxano) 30 m × 0.25 mm × 0.25 µm. A programação da temperatura do forno foi de 35 °C até 240 °C, com uma rampa de aquecimento de 4 °C min<sup>-1</sup>. O gás de arraste utilizado foi He 5.0, com um fluxo de 1,78 mL min<sup>-1</sup>. A temperatura do injetor foi mantida a 270 °C e operado no modo split 1:4. Os compostos foram detectados por espectrometria de massas por impacto de elétrons a 70 eV, no modo scan (40 a 500 Da). A temperatura da interface do detector e da fonte de íons permaneceram a 240 °C e 200 °C, respectivamente. O filamento foi ligado em 1,75 min.

A técnica de microextração em fase sólida (SPME) por headspace foi realizada para as extrações dos voláteis. As amostras foram diluídas a uma concentração de 10% com relação ao teor alcoólico. Após a diluição, alíquotas de 4 mL das amostras foram adicionadas em vials de 20 mL, com temperatura de extração de 45 °C, tempo de extração de 50 minutos e tempo de desorção de 3 minutos. A extração foi realizada utilizando a fibra DVB/CAR/PDMS (Divinylbenzene, Carboxen, and Polydimethylsiloxane) com 50-30µm de espessura de filme da marca Supelco. Essa fibra foi previamente condicionada por 1h a 270 °C, conforme especificações.

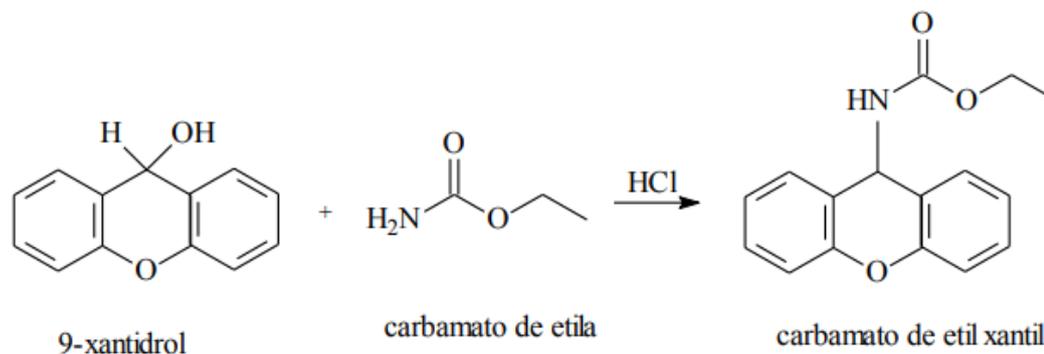
Pelos espectros de massas obtidos, foram identificados os compostos por comparação dos mesmos com a biblioteca espectral do GC-MS (Wiley 8 e FFNSC 1.2). Foram calculados os índices de retenção experimentais, os quais foram comparados com índices relatados na literatura (ADAMS, 2017; NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY, NIST, 2013). Para a comparação, foram consideradas similaridades acima de 70% e os índices experimentais foram calculados utilizando uma série homóloga de alcanos.

### **3.5 Determinação do carbamato de etila**

A análise do carbamato de etila foi realizada por derivação prévia da amostra e analisada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) de acordo com metodologias propostas por Anjos et al. (2011), Machado et al (2013) e Santiago et al (2017). A derivação ocorre pela

reação de 9-xantidrol com o carbamato de etila, na presença de ácido clorídrico, resultando em um composto fluorescente, que será analisado pelo detector (FIGURA 6).

Figura 6 – Reação de 9-xantidrol com carbamato de etila, sob condições ácidas, para formação do composto fluorescente carbamato de etil xantil.



Fonte: Anjos (2011)

As análises foram realizadas em um cromatógrafo líquido de alta eficiência Shimadzu, equipado com duas bombas de alta pressão modelo LC-6AD, um detector de fluorescência (FLD) modelo RF-10AXL, degaseificador modelo DGU-20A3, interface modelo CBM-20A e injetor automático com autoamostrador modelo SIL-10AF. As separações foram realizadas empregando-se uma coluna Agilent - Zorbax Eclipse AAA (4,6 x 150 mm, 5 $\mu$ m) conectada a uma pré-coluna Agilent - Zorbax Eclipse AAA (4,6 x 12,5 mm, 5 $\mu$ m).

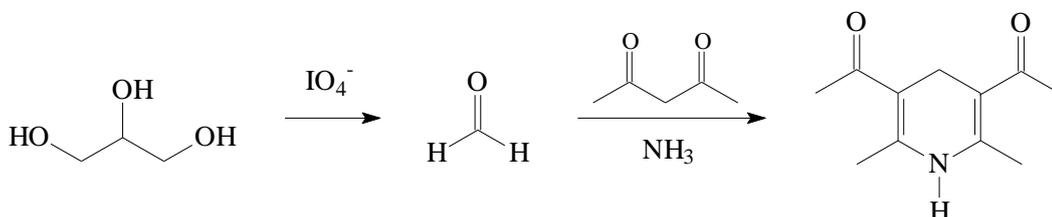
A quantificação do carbamato de etila foi realizada utilizando o método de padronização externa. Os comprimentos de onda de excitação e emissão empregados foram 233 e 600 nm, respectivamente. O fluxo utilizado em toda a análise foi de 0,75 mL min<sup>-1</sup> e o volume injetado das amostras e do padrão foi de 20  $\mu$ L. A fase móvel foi composta por solução de acetato de sódio 20 mmol L<sup>-1</sup> (Solvente A) e acetonitrila (Solvente B). A eluição foi realizada em sistema do tipo gradiente: 0 a 5 min (40-60% B); 5 a 10 min (60-70% B); 10 a 18 min (70-80% B); 18 a 19,5 min (80-90% B); 19,5 a 25 min (90-40% B); 25 a 30 min (40% B).

### 3.6 Determinação de glicerol

O glicerol foi determinado pelo método colorimétrico utilizado por Bortoletto, Corrêa e Alcarde (2016), no qual foram realizadas medidas espectrofotométricas na região visível do espectro. O método é baseado na oxidação do glicerol por íons periodato para formar formaldeído, que reage com acetilacetona em meio amoniacal para formar 3,5-diacetil-1,4-

dihidrolutidina, uma substância amarela (FIGURA 7). O composto formado pode ser quantificado medindo a absorbância a 410 nm.

Figura 7 – Reações envolvidas na análise de glicerol.



Fonte: Lunguinho (2018).

As leituras foram realizadas em um espectrofotômetro PC Shimadzu UV-1601 e as concentrações foram calculadas com o auxílio de uma curva analítica, previamente construída com soluções padrão de glicerol nas concentrações de 7,5; 15; 22,5; 30; 45; 60 e 90 mg/L, totalizando sete pontos na curva.

### 3.7 Quantificação de metais

A quantificação dos metais chumbo, ferro, zinco, cádmio e cromo foi determinada por Espectroscopia de Absorção Atômica de chama usando um espectrofotômetro Varian Spectr AA 110 Atomic Absorption. As curvas analíticas foram construídas utilizando soluções padrão nas seguintes concentrações: ferro (1,0; 2,0; 4,0; 8,0; 10,0 mg/L), zinco (0,25; 0,50; 1,00; 1,50; 3,00 mg/L), chumbo (2,0; 4,0; 6,0; 8,0 mg/L), cromo (0,5; 1,0; 2,5; 5 mg/L), cádmio (0,5; 1,0; 2,0; 3,0mg/L). As leituras e determinações foram realizadas nos seguintes comprimento de onda: 248,3 nm para ferro; 213,9 nm para zinco, 217,0 nm para chumbo e 228,8 nm para cádmio, usando uma lâmpada catódica oca. Todas as leituras foram realizadas em triplicatas.

Para a preparação das amostras, seguiu-se o método nº 11 do Manual de Métodos de Análise de Bebidas e Vinagres proposto pelo MAPA (BRASIL, 2005b), que consiste na evaporação de alíquotas de 50 mL em banho-maria a 85 °C até um volume de 10 mL. Após a evaporação, a amostra foi resfriada a temperatura ambiente e transferida para um balão volumétrico de 50 mL, onde o volume foi completado com água destilada. Os resultados foram expressos em mg/L e comparados aos parâmetros descritos pela Legislação Brasileira (IN nº 13, de 29/6/2005 do MAPA) (BRASIL, 2005a).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Teor alcoólico e glicerol

Pelos dados descritos na Tabela 1, observa-se que entre as amostras analisadas, a amostra **D**, produzida no ano 2000, encontra-se com o teor alcoólico de 36,68 °GL, fora dos padrões para cachaça e para aguardente, estabelecidos pelo MAPA. Para que o lote, ao qual esta amostra pertence, possa ser comercializado legalmente, é necessário que ele seja misturado com outro lote de teor alcoólico mais alto, que resulte em um “blend” de teor alcoólico final superior a 38 °GL, que é o teor mínimo estabelecido pelo Ministério.

As amostras **A, B, C, E, F, G, H, J, L, N1**, possuem teor alcoólico normais para cachaça, entre 38 e 48 °GL, sendo consideradas como tal. As amostras **I, K, M, N2** possuem teor alcoólico superior a 48 °GL, sendo consideradas aguardentes de cana, cujo valor estabelecido pelo MAPA é compreendido entre 38 e 54 °GL.

Tabela 1 - Concentrações médias de glicerol (mg/L) e o grau alcoólico (° GL) nas amostras analisadas.

AMOSTRA/ANO	Glicerol	Grau alcoólico
A/1996	ND	39,51±0,16 i
B/1998	ND	41,97±0,05 h
C/1999	ND	43,13±0,27 g
D/2000	ND	<b>36,68±0,09 j</b>
E/2001	ND	41,84±0,03 h
F/2002	ND	44,47±0,01f
G/2003	ND	41,71±0,04 h
H/2008	ND	44,46±0,02 f
I/2010	ND	48,38±0,08 c
J/2011	ND	47,10±0,03 d
K/2012	ND	49,31±0,01 b
L/2014	ND	46,76±0,03 e
M/2015	ND	49,49±0,01 b
N1/2016	ND	47,17± 0,01d
N2/2016	ND	<b>51,38±0,01 a</b>
<b>Limite</b>	-	<b>38-45<sup>1</sup></b> <b>38-54<sup>2</sup></b>

\*As médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem significativamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade. <sup>1</sup> Limite para cachaça (BRASIL, 2005a). <sup>2</sup> Limite para aguardente de cana (BRASIL, 2005a). Fonte: Do autor (2019)

Observou-se que as amostras diferem muito entre si com relação ao grau alcoólico (etanol), uma vez que foram coletadas diretamente dos tanques de armazenamento. Perdas de álcool podem ter ocorrido em razão da formação de ésteres, oxidação e/ou evaporação parcial do álcool no espaço vazio dentro do tanque.

Miranda e colaboradores (2006) relatam que vários parâmetros físico-químicos das cachaças têm suas concentrações modificadas durante o armazenamento, devido à evaporação parcial do etanol e da água, sendo comuns perdas de álcool em torno de 3 a 4% ao ano.

Para determinar a concentração de glicerol nas amostras, o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) da equação de regressão linear para a curva analítica ( $y = 0,0247x - 0,0515$ ) foi de 0,9978, indicando linearidade entre a concentração do composto e a absorvância. Os resultados foram expressos em miligramas de glicerol por litro (mg/L).

Não foi encontrada a presença de glicerol nessas amostras, dentro da faixa de trabalho utilizada, isto é, pode ser que as amostras contenham glicerol, mas em uma concentração inferior à menor concentração da curva analítica, de 7,5 mg/L.

Isto sugere que os compostos, naturalmente presentes na aguardente de cana, reagem muito pouco ou muito lentamente entre si para formarem glicerol e esse composto não pode aparecer em quantidades consideráveis após passar por armazenamento em recipientes de aço inoxidável, mesmo por um longo período de 20 anos. Além dos anos de armazenamento, as amostras são de lotes diferentes e todas apresentaram baixas concentrações de glicerol, indicando que as etapas do processo agroindustrial do produtor em questão, não é fonte de grandes quantidades de glicerol.

Destilados puros, normalmente, exibem baixas concentrações de glicerol devido à alta temperatura de ebulição da molécula (290 °C). Por outro lado, quando armazenados em madeiras, podem ser geradas maiores concentrações de glicerol pela transesterificação de triglicerídeos de madeira com etanol, produzindo ésteres etílicos de ácidos graxos e glicerol livre, durante o processo de maturação e envelhecimento (LEE et al., 2001; BORTOLETTO et al., 2016).

Gervasio et al. (2002) determinaram os níveis de glicerol em amostras de cachaça e encontraram concentrações que variaram de 36,3 a 2150 mg/L, muito superiores às obtidas no presente estudo. Os autores, porém, não especificaram o tipo de cachaça analisada, se nova ou envelhecida.

Garcia et al. (2015) provaram que concentração média de glicerol em amostras de cachaças envelhecidas foi cerca de 10 vezes maior em relação às das cachaças não envelhecidas.

As amostras desses autores, armazenadas em reservatórios de aço inoxidável, que não tiveram contato com um casco de madeira, apresentaram as menores concentrações médias de glicerol, 1,4 mg/L.

Bortoletto, Corrêa e Alcarde (2015) avaliaram a presença de glicerol em cachaças envelhecidas em diferentes tipos de madeira e compararam com a cachaça destilada fresca antes do envelhecimento (controle). A concentração média de glicerol nas cachaças envelhecidas foi 15,73 mg/L e o controle apresentou 1,39 mg/L. Os autores alegaram que o contato da cachaça com a superfície interna do barril de madeira está aliado à quantidade de glicerol incorporada à bebida.

Esses resultados corroboram com os encontrados neste presente trabalho e reforçam a evidência de que cachaças e aguardentes de cana que não passaram por envelhecimento em madeiras, não devem conter grandes concentrações de glicerol, podendo esse critério ser utilizado para detecção de possíveis fraudes nesses tipos de bebidas. Não há, na legislação brasileira, um limite máximo ou mínimo para a concentração de glicerol em cachaça e aguardente de cana.

O glicerol é formado durante a etapa de fermentação do caldo de cana, assim como o etanol, porém seu rendimento é inversamente proporcional ao do etanol, já que suas vias de formação competem pela coenzima NADH. Sua finalidade é manter o equilíbrio redox celular das leveduras, que é alterado durante a formação de ácidos orgânicos e biomassa (WANG et al. 2001).

## **4.2 Compostos secundários**

Os compostos secundários são aqueles presentes nas bebidas, que não são contaminantes e conferem a ela importantes características de sabor e aroma. Na Tabela 2, estão representadas as concentrações médias de acidez volátil, furfural, aldeídos, ésteres, e o coeficiente total de congêneres encontrados nas amostras de cada ano de produção analisadas.

Tabela 2 - Concentrações dos compostos secundários encontrados nas bebidas analisadas.

AMOSTRA	Acidez <sup>1</sup>	Furfural <sup>1</sup>	Aldeídos <sup>1</sup>	Ésteres <sup>1</sup>	Congêneres <sup>1 2</sup>
A/1996	83,95±0,35 c	<b>5,03±0,03</b> a	7,16±0,61 h	30,19±0,13 e	272,91±1,73 f
B/1998	143,69±0,16 a	2,32±0,05 b	10,97±0,22 e	55,48±3,55 b	343,69±2,90 c
C/1999	72,25±6,24 d	1,95±0,07 c	15,93±0,48 c	58,08±0,71 d	294,67±18,62 f
D/2000	19,19±1,71 h	1,35±0,02 d	3,91±0,25 j	6,19±0,81 g	<b>198,49±5,76</b> g
E/2001	69,66±1,46 e	1,14±0,01 d	8,66±0,01 g	31,22±0,83 e	258,17±2,46 f
F/2002	20,34±0,00 h	0,94±0,06 e	12,90±0,55 d	21,07±1,36 f	<b>193,18±1,42</b> g
G/2003	59,03±1,49 f	1,81±0,14 c	6,15±0,80 i	34,03±0,81 e	268,76±2,95 f
H/2008	73,47±3,70 d	0,63±0,02 e	11,20±0,01e	42,79±2,06 d	286,73±4,42 e
I/2010	68,55±0,11 e	1,57±0,03 c	10,45±0,38 e	53,99±0,65 b	291,61±1,35 e
J/2011	113,73±1,19 b	0,80±0,71e	8,17±0,35g	75,96±2,51 a	371,90±4,64 b
K/2012	76,42±0,01 d	1,35±0,16 d	19,28±0,32 b	47,22±0,70 c	280,18±8,18 e
L/2014	32,24±0,02 g	0,52±0,01 e	15,33±0,53c	31,57±0,76 e	263,98±2,72 f
M/2015	77,16±3,28 d	1,41±0,13 d	19,97±0,49 b	47,04±2,52 c	308,02±5,00 d
N1/2016	79,90±0,01 c	0,71±0,07 e	<b>39,67±0,70</b> a	52,37±1,28 b	437,44±2,43 a
N2/2016	30,48±0,34 g	0,64±0,05 e	9,37±0,05 f	29,58±0,06 e	286,18±4,63 e
<b>Limite*</b>	<b>150,0</b>	<b>5,0</b>	<b>30,0</b>	<b>200,0</b>	<b>200 - 650</b>

<sup>1</sup> (mg/100 mL de álcool anidro). <sup>2</sup> acidez volátil + ésteres + aldeídos + furfural + álcoois superiores. As médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem significativamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade. \*BRASIL, 2005a. Fonte: Do autor (2019).

A acidez volátil exerce grande influência na percepção sensorial do consumidor, sendo a responsável pela conhecida sensação de queimação, em concentrações elevadas. As amostras analisadas diferiram bastante entre si, estatisticamente, e apresentaram valores médios de acidez que variaram de 19,19±1,71 até 143,69±0,16 mg/100 mL de álcool anidro (amostras **D/2000** e **B/1998**, respectivamente), quando o limite máximo deste parâmetro é de 150 mg/100 mL de álcool anidro. Uma acidez elevada também pode causar um aumento da concentração de cobre na bebida, já que sais do metal, oriundos das paredes internas do aparelho de destilação, são mais solúveis em vapores ácidos.

O ácido acético encontra-se em maior quantidade nas frações finais da destilação, pois sua destilação inicia durante a destilação da fração coração, em razão de sua solubilidade em água e por sua temperatura de ebulição ser maior que a da água (RECHE e FRANCO, 2009). A presença desses compostos ácidos, porém, em pequena quantidade, é de grande importância para a qualidade da bebida, uma vez que, durante sua produção, os ácidos reagem com os álcoois presentes, aumentando a formação de ésteres (CARDOSO, 2013).

A amostra **A/1996** apresentou uma concentração média de furfural de 5,03±0,03 mg/100 mL de álcool anidro, sendo o maior valor encontrado, porém estando estatisticamente dentro do limite máximo permitido, de 5,0 mg/100 mL de álcool anidro. O menor valor encontrado foi de 0,52 ± 0,01 mg/100 mL de álcool anidro (amostra L/2014) e as amostras **D**, **E**, **K**, **M** não

diferiram significativamente entre si quanto a concentração desse composto, segundo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade. As amostras (**B, H, I**) e (**C, L**) também não diferiram entre si, pelo mesmo teste.

Concentrações elevadas de furfural no destilado são relacionadas ao uso de cana queimada para produzi-lo e aumento de temperatura na etapa de destilação, conforme estudos de Masson e colaboradores (2007).

Cardoso (2013) e Santiago et al. (2014) relatam ainda que o furfural está presente em grande quantidade na fração cauda, juntamente com outros compostos indesejáveis. Essa fração possui baixa graduação alcoólica.

O furfural é resultante da decomposição química de carboidratos e pode ser formado em diferentes etapas do processo de produção da cachaça, como a pirogenização da matéria orgânica depositada no fundo dos alambiques ou mesmo durante o envelhecimento da bebida por meio da ação de ácidos sobre pentoses e seus polímeros (hemiceluloses), que podem estar presentes nos recipientes de madeira utilizados no armazenamento (MASSON et al., 2007; AZEVEDO et al., 2007; ZACARONI et al., 2011).

As concentrações de aldeídos encontradas variaram de  $3,91 \pm 0,25$  (amostra **D/2000**) até  $39,67 \pm 0,70$  mg/100 mL de álcool anidro (amostra **N1/2016**), superando o limite máximo permitido de 30,0 mg/100 mL de álcool anidro. Os aldeídos são compostos característicos da fração cabeça, pois são substâncias que apresentam volatilidade significativamente alta (ALCARDE; SOUZA; BELLUCO, 2010; CARDOSO, 2013). Logo, pode ter havido erro no corte da fração cabeça para a fração coração. A oxidação a partir dos aldeídos leva à formação de ácidos orgânicos e de acetal. O equilíbrio entre acetal e aldeídos é, particularmente, importante para um aroma específico, pois, aldeídos, frequentemente têm odor desagradável e pungente, enquanto os acetais são agradáveis e frutados (PIGGOT e CONNER, 2003; MIRANDA et al., 2008).

Duarte et al. (2014) observaram uma alta redução dos aldeídos e do cobre em cachaças que continham esses dois compostos, fora dos limites máximos permitidos pela legislação, após o processo de adsorção por argilas caulinita, sem, contudo, observarem alteração significativa dos demais parâmetros de identidade e qualidade da bebida. Os autores propuseram que fossem realizados mais estudos para o emprego da argila para redução dos componentes aldeídos e cobre, já que o material argila existe em abundância e apresenta um baixo custo.

As concentrações de ésteres variaram de  $6,19 \pm 0,81$  (amostra **D/2000**) até  $75,96 \pm 2,51$  mg/100 mL de álcool anidro (amostra **J/2011**). Os ésteres são uma classe de compostos voláteis

muito importantes para o sabor e aroma da bebida e apresentam o limite máximo permitido de 200,0 mg/100 mL de álcool anidro. Conforme já foi mencionado, os ésteres são formados por meio da reação entre os álcoois e os ácidos orgânicos presentes na bebida, sendo o acetato de etila o componente majoritário desse grupo de substâncias, e o responsável pelo aroma agradável das bebidas (FARIA et al., 2003; PARAZZI et al., 2008).

Mesmo armazenada por vários anos, as amostras que ficaram confinadas em aço inoxidável não alcançaram concentrações tão elevadas de ésteres, de forma que os ésteres presentes são aqueles produzidos nas etapas de fermentação e destilação e também resultados de reações entre álcoois e ácidos já presentes no destilado. Por outro lado, quando as bebidas passam por envelhecimento em madeira, tendem a apresentar maiores concentrações de ésteres. Santiago et al. (2014) encontraram concentrações de ésteres em cachaças armazenadas em tonel amburana que evoluíram de 51,241 a 101,031 mg/100 mL álcool anidro. Reações do álcool com componentes da madeira resultam no aumento da concentração de ésteres, além daqueles gerados nas etapas de fermentação e destilação (SANTIAGO et al., 2017).

Os congêneres representam a soma das concentrações de acidez volátil, ésteres, aldeídos, furfural e álcoois superiores, e devem respeitar um limite mínimo de 200 mg/100 mL de álcool anidro. O limite máximo para os congêneres é de 650 mg/100 mL de álcool anidro.

As amostras **D/2000** e **F/2002**, não atingiram o limite mínimo necessário de congêneres, apresentando  $198,49 \pm 5,76$  e  $193,18 \pm 1,42$  mg/100 mL de álcool anidro, respectivamente. Chama atenção o fato de que a amostra **D/2000** também não alcançou o limite mínimo de etanol e apresentou as menores concentrações de aldeídos, ésteres e acidez volátil dentre todas as amostras.

A amostra que apresentou o maior conteúdo de congêneres foi a amostra **N1/2016**,  $437,44 \pm 2,43$  mg/100 mL de álcool anidro, porém, ainda bem distante de alcançar o limite máximo, de 650 mg/100 mL de álcool anidro.

Os álcoois superiores, ésteres, aldeídos e ácidos, são responsáveis pela formação do sabor e do aroma, compondo, assim, o chamado “flavour” ou “bouquet” da cachaça (PEREIRA et al., 2003; ALCARDE; SOUZA; BELLUCO, 2010; CARDOSO, 2013).

### 4.3 Metanol e álcoois superiores

As concentrações médias de álcoois superiores e dos contaminantes butan-1-ol, butan-2-ol e metanol encontradas nas amostras analisadas e os respectivos anos de produção estão representadas na Tabela 3.

Tabela 3 - Concentrações médias de álcoois superiores e dos contaminantes butan-1-ol, butan-2-ol e metanol nas amostras analisadas.

AMOSTRA/ANO	Álcoois Superiores <sup>1</sup>	Butan-1-ol <sup>1</sup>	Butan-2-ol <sup>1</sup>	Metanol <sup>1</sup>
A/1996	146,58±0,94 g	<b>4,07±0,08</b> a	2,21±0,00 b	1,92±0,01b
B/1998	<b>131,24±0,45</b> h	2,99±0,05 c	1,97±0,00 d	1,80±0,02c
C/1999	146,47±1,49 g	2,52±0,10 d	2,13±0,04 c	1,74±0,01d
D/2000	167,86±6,02 e	1,37± 0,02 g	2,02± 0,01d	<b>2,86±0,16</b> a
E/2001	147,49±0,24 g	2,39±0,01 e	1,89± 0,02e	1,81±0,02 c
F/2002	137,93±0,58 h	2,18±0,03 f	2,12± 0,02c	1,71±0,01 e
G/2003	167,74±0,42 e	<b>3,54±0,05</b> b	2,14± 0,00c	1,84±0,02 c
H/2008	158,64±0,42 f	0,74±0,01 j	<b>ND</b>	1,68±0,01 e
I/2010	157,05± 1,75 f	1,14±0,05 h	1,91± 0,01e	1,57±0,02g
J/2011	173,25± 2,05 d	0,79±0,04 j	2,27± 0,06b	1,74±0,02d
K/2012	135,91± 8,80 h	0,80±0,02 j	1,47± 0,03f	1,51±0,02h
L/2014	184,32± 1,88 c	0,77±0,03 j	<b>ND</b>	1,87±0,02b
M/2015	162,43± 1,82 f	0,72±0,02 j	2,08±0,00 c	1,64±0,01 f
N1/2016	<b>264,79± 2,96</b> a	0,65±0,01 j	4,76±0,02a	<b>ND</b>
N2/2016	216,11±4,28 b	0,92±0,01 i	1,22± 0,01g	<b>ND</b>
<b>Limite*</b>	<b>360,00</b>	<b>3,00</b>	<b>10,00</b>	<b>20,00</b>

Álcoois superiores = soma dos álcoois (propílico + isoamílico + isobutílico). <sup>1</sup> (mg/100 mL de álcool anidro). ND – não detectado. As médias seguidas de mesma letra minúscula, em cada linha, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade. \*BRASIL, 2005a. Fonte: Do autor (2019).

Em relação ao conteúdo de álcoois superiores, as concentrações encontradas variaram de 131,24±0,45 (amostra **B/1998**) até 264,79±2,96 mg/100 mL de álcool anidro (amostra **N1/2016**), sendo que as maiores quantidades de álcoois superiores são observadas nas bebidas armazenadas por menos tempo (2014, 2015 e 2016). Não diferiram significativamente entre si as amostras **A, C e E; B, F e K; D e G; H, I e M**, segundo o teste de Scott-Knott, 95% de confiança. Nenhuma amostra chegou perto de atingir o limite máximo permitido de 360 mg/100 mL de álcool anidro.

O limite máximo de butan-1-ol (álcool butílico) em cachaças e aguardente de cana é de 3,0 mg/100 mL de álcool anidro, valor que foi ultrapassado em 35,67% pela amostra **A** (1996), e em 18% pela amostra **G** (2003), apresentando concentração média de 4,07±0,08 e 3,54±0,05

mg/100 mL de álcool anidro, respectivamente. As amostras de 2011 a 2016, apresentaram as menores concentrações de butan-1-ol e sem diferença significativa, segundo o teste de Scott-Knott, 95% de confiança.

O limite máximo de butan-2-ol (álcool sec-butílico) é de 10 mg/100 mL de álcool anidro e os valores encontrados nas amostras variaram de desde não detectado (amostras **L** e **H**) a  $4,76 \pm 0,02$  mg/100 mL de álcool anidro (amostra **N1**). A amostra **N1** foi produzida com o caldo de uma cana colhida em estágio de maturação anterior às demais.

A formação dos álcoois superiores pode ser explicada pelo seu arraste por vapores hidroalcoólicos, durante o processo de destilação. A quantidade de álcoois superiores em cachaças é influenciada pela composição do meio, temperatura, nível de aeração e, também, pela linhagem da levedura, sendo a síntese de álcoois superiores estimulada pelo oxigênio e diretamente relacionada com a taxa de crescimento da levedura. Isso pode explicar a concentração elevada de butan-1-ol encontrada nas amostras **A** e **G**. O butan-1-ol e butan-2-ol são álcoois superiores, mas classificados como contaminantes orgânicos, formados por bactérias acetobutílicas, quando a cana fica estocada para depois ser moída. Transformações dos aminoácidos durante o processo de fermentação, devido à baixa atividade das leveduras, às altas temperaturas e ao baixo pH do mosto, resultam em maior formação de álcoois superiores. (CARDOSO, 2013).

O limite máximo estabelecido para o metanol é de 20 mg/100 mL de álcool anidro. Todas as amostras apresentaram concentrações inferiores a esse limite, com valores que variaram de não detectado até  $2,86 \pm 0,16$  mg/100 mL de álcool anidro. Esse resultado comprova que houve um tratamento do caldo de cana eficaz, como filtros e decantadores, para remoção do bagacilho (rico em pectina) e de outras impurezas que poderiam atrapalhar o rendimento da fermentação.

Os bagacilhos são ricos em substâncias pécticas, polímeros de ácido galacturônico com grau variável de metoxilação. A atuação de enzimas pécticas das leveduras libera o metanol. No organismo, o metanol é oxidado a ácido fórmico e, posteriormente, a  $\text{CO}_2$ , provocando acidose (diminuição do pH sanguíneo) e afetando o sistema respiratório, podendo levar ao coma e até mesmo à morte (CARDOSO, 2013).

#### 4.4 Extrato seco e cobre

Na Tabela 4 estão representados os valores médios de extrato seco e das concentrações de cobre na bebida.

Tabela 4 - Valores médios de extrato seco (g/L) e concentração de cobre (mg/L) nas amostras analisadas.

AMOSTRA/ANO	Extrato seco	Cobre
A/1996	1,37± 0,00 a	1,96±0,00h
B/1998	1,07± 0,01b	2,86±0,03e
C/1999	0,24±0,01 g	1,41±0,03j
D/2000	0,61±0,01 d	<b>0,16±0,011</b>
E/2001	0,30±0,00 f	3,47±0,08b
F/2002	0,49±0,01 e	1,05±0,01k
G/2003	0,83±0,00 c	2,34±0,03g
H/2008	0,12±0,00 i	3,07±0,00d
I/2010	0,16±0,04 h	2,74±0,04f
J/2011	0,17±0,03 h	2,76±0,01f
K/2012	0,23±0,01 g	3,10±0,02d
L/2014	0,12±0,00 i	1,44±0,03j
M/2015	0,08±0,01 i	3,21±0,02c
N1/2016	0,10±0,00 i	<b>4,09±0,03a</b>
N2/2016	0,10±0,00 i	1,96±0,03i
<b>Limite*</b>	<b>6,0</b>	<b>5,0</b>

As médias seguidas de mesma letra minúscula, em cada linha, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade. \*BRASIL, 2005a. Fonte: Do autor (2019).

Embora os valores médios de extrato seco tenham diferido muito entre si, estatisticamente, observa-se uma quantidade pequena em todas as amostras, variando de 0,1 a 1,37 g/L.

Esses valores baixos já eram esperados, uma vez que a bebida não foi adicionada de sacarose e nem teve contato com recipientes de madeira, fatos que acarretam em um acúmulo de sólidos solúveis no destilado.

Observa-se que não há um limite máximo ou mínimo para o extrato seco na Instrução Normativa n. 13 de 2005, mas sim um limite máximo de sacarose (açúcar) de até 6 g/L para cachaça/aguardente de cana; e um limite compreendido entre 6 a 30 g/L de sacarose para cachaça/aguardente de cana adoçada, devendo ser essa discriminação informada no rótulo. A sacarose, quando presente na bebida, é encontrada nessa análise como parte dos sólidos solúveis.

Nenhuma das amostras apresentou teores de cobre que ultrapassasse o permitido pela legislação vigente. Isso evidencia que o produtor realiza uma limpeza eficaz de seu equipamento e mantém o cobre em suas bebidas em níveis seguros. Apenas as amostras armazenadas desde 2010 e 2011; 2008 e 2012 não apresentaram diferença significativa em relação ao teor de cobre.

A presença desse metal se deve, principalmente, à dissolução do carbonato básico de cobre  $[\text{Cu}_2(\text{OH})_2\text{CO}_3]$  presente nas paredes internas do alambique, pelos vapores ácidos da bebida. O teor de cobre mais elevado pode ser causado por uma acidez alta no destilado, uma vez que o ácido acético solubiliza o cobre metálico oxidado do alambique, transportando-o para a bebida (BOZA e HORII, 2001; BORTOLETTO et al., 2015). A contaminação pode ser evitada, fazendo uma cuidadosa higienização dos alambiques nas safras e entressafras, utilizando água e limão na primeira destilação, na proporção de 5 litros de suco de limão para 100 litros de água, ou utilizando filtros com adsorventes (CARDOSO, 2013).

Logo, para controlar a concentração de cobre no produto final, além de uma rigorosa assepsia do equipamento, é necessário também controlar a fermentação para que bactérias não prevaleçam e elevem a acidez na bebida.

#### **4.5 Carbamato de etila**

Na Tabela 5, estão representados os resultados das médias das concentrações de carbamato de etila presentes nas amostras de aguardentes, separados por ano de produção/safra.

Tabela 5 – Concentrações de carbamato de etila (CE) nas amostras de bebidas, expressos em  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

Amostra	CE
<b>A/1996</b>	<b>51,47±0,93 a</b>
B/1998	33,66±0,01 d
<b>C/1999</b>	<b>37,74±1,08 c</b>
D/2000	31,22±0,02 e
E/2001	31,44±0,52 e
<b>F/2002</b>	<b>37,16±0,87 c</b>
<b>G/2003</b>	<b>41,15±0,35 b</b>
H/2008	34,45±0,70 d
I/2010	18,36±0,10 g
J/2011	13,90±0,64 h
K/2012	14,50±1,15 h
L/2014	29,36±2,03 e
M/2015	21,78±1,02 f
<b>N1/2016.1</b>	<b>&lt;LQ j</b>
<b>N2/2016.2</b>	<b>9,24±0,06 i</b>
<b>Limite*</b>	<b>210</b>

As médias seguidas de mesma letra minúscula, em cada linha, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade. LQ: limite de quantificação. \*BRASIL, 2005a. Fonte: Do autor (2019).

Pelos dados apresentados na Tabela 5, observa-se que a maior concentração de carbamato de etila foi detectada na amostra **A** ( $51,47\pm 0,93 \mu\text{g L}^{-1}$  – ano 1996), a mais antiga, e as menores nas amostras **N1** e **N2** (abaixo de LQ e  $9,24\pm 0,06 \mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente), ambas do ano de 2016. Em todas as amostras, os teores de carbamato de etila mantiveram-se, consideravelmente, abaixo do valor máximo permitido pela legislação brasileira para aguardente, de  $210 \mu\text{g L}^{-1}$  (BRASIL, 2014).

Anjos e colaboradores (2011), buscando identificar e quantificar carbamato de etila, por HPLC-FLD, em cachaças armazenadas em tonéis de carvalho e garrafas de vidro ao longo de 12 meses, observaram que a concentração do contaminante, nesse período, variou de não detectado (<LD) a  $17,46 \mu\text{g L}^{-1}$  no tonel de madeira, e de não quantificável até  $18,51 \mu\text{g L}^{-1}$  no vidro. Em ambas as situações, a concentração de carbamato de etila sofreu um aumento significativo.

Zacaroni et al. (2015a), avaliando o efeito da luz sobre a concentração de carbamato de etila em cachaças armazenadas por até 6 meses, na presença e na ausência de luz, observaram que sua concentração decresceu, em algumas amostras que foram mantidas no escuro, a partir do segundo mês de armazenamento, sendo que, dentre essas, algumas ficaram abaixo do limite de quantificação, inclusive. Os autores afirmaram que a diminuição observada da concentração

de carbamato, pode estar relacionada a reações de substituição no carbono acila. Concluíram que a luz influenciava, significativamente, a presença do contaminante orgânico na matriz.

A separação eficiente das frações cabeça, coração e cauda, durante a destilação da cachaça de alambique, é uma boa prática para se obter a bebida com níveis aceitáveis de carbamato de etila, tendo em vista que a fração cabeça tem maior teor alcoólico e o CE é mais solúvel em etanol que em água (ANJOS et al., 2011). Todas as amostras avaliadas neste trabalho foram provenientes da fração de coração.

Mendonça e colaboradores (2016) encontraram concentrações médias de CE, nas frações coração da cachaça recém-destilada, de  $9,89 \mu\text{g L}^{-1}$  na bebida produzida por leveduras selvagens na presença de farelo de arroz e  $9,84 \mu\text{g L}^{-1}$  na bebida produzida por leveduras selvagens na presença de uma mistura de farelo de milho e farelo de arroz. Porém, na bebida produzida por leveduras selvagens e na bebida produzida por leveduras selecionadas, ambas na presença de farelo de milho apenas, detectaram a presença de carbamato de etila, mas não foi possível sua quantificação.

Os autores também investigaram o carbamato de etila, durante o armazenamento da fração coração obtida e a única bebida em que o CE não foi quantificada, durante os seis meses de armazenamento, foi aquela produzida com farelo de milho e armazenada em um recipiente de vidro.

No presente trabalho, todas as amostras analisadas foram produzidas a partir de fermento natural, empregando-se o farelo de milho, e utilizando-se apenas a fração coração. Observou-se que as amostras **N1** e **N2** (produzidas em 2016) apresentaram concentrações abaixo do limite de quantificação e de  $9,24 \mu\text{g L}^{-1}$  para o carbamato de etila, respectivamente. Esses valores são idênticos aos encontrados por Mendonça e colaboradores (2016), quando analisaram e quantificaram o carbamato de etila em cachaças armazenadas em vidro por 06 meses.

#### **4.6 Metais**

A concentração de metais, em muitas bebidas alcoólicas, pode ser um parâmetro significativo que afeta seu consumo e conservação, e por isso devem ser, cuidadosamente, monitorados e regulados (IBANEZ et al., 2008).

Além do cobre, as amostras de bebidas foram ainda analisadas quanto à presença dos metais cádmio, cromo, chumbo, zinco, e ferro, através da técnica de Absorção Atômica. Os resultados estão apresentados na Tabela 6 e expressos em mg/L.

Tabela 6 - Concentração média dos metais Cd, Cr, Pb, Zn e Fe (mg/L) encontrada nas amostras analisadas.

AMOSTRA/ANO	Cd	Cr	Pb	Zn	Fe
A/1996	ND	ND	ND	0,1	ND
B/1998	ND	ND	ND	0,3	ND
C/1999	ND	ND	ND	ND	ND
D/2000	ND	ND	ND	ND	ND
E/2001	ND	ND	ND	0,9	ND
F/2002	ND	ND	ND	0,1	ND
G/2003	ND	ND	ND	0,4	ND
H/2008	ND	ND	ND	0,5	ND
I/2010	ND	ND	ND	0,1	ND
J/2011	ND	ND	ND	0,2	ND
K/2012	ND	ND	ND	ND	ND
L/2014	ND	ND	ND	ND	ND
M/2015	ND	ND	ND	ND	ND
N1/2016	ND	ND	ND	ND	ND
N2/2016	ND	ND	ND	ND	ND
<b>Limite</b>	<b>0,02*</b>	<b>0,1**</b>	<b>0,2***</b>	<b>5**</b>	<b>-</b>

ND não detectado. \*BRASIL, 2013 \*\*BRASIL, 1965. \*\*\*BRASIL, 2005a. Fonte: Do autor (2019).

Não foram verificadas as presenças dos metais cádmio, cromo, chumbo e nem ferro, dentro da faixa de trabalho utilizada. O zinco foi encontrado em 8 das 15 amostras, em concentrações que variaram de 0,1 a 0,9 mg/L.

A Instrução Normativa n. 13 de 2005 reconhece como contaminantes inorgânicos de aguardente/cachaça apenas o cobre (Cu), o chumbo (Pb) e o arsênio (As), e esses não devem estar presentes em quantidades superiores a 5,0 mg/L; 0,2 mg/L e 0,1 mg/L, respectivamente.

Já para os outros compostos inorgânicos analisados neste trabalho, há o limite máximo permitido em bebidas alcoólicas fermento-destiladas, segundo a legislação brasileira, de 0,02 mg/L para o cádmio (Cd) (Brasil, 2013); 0,1 mg/L para o cromo (Cr) (o mesmo limite para qualquer alimento) e 5 mg/L para o zinco (Zn) (BRASIL, 1965).

Quintaes (2000) cita, que já foi documentado, que os utensílios de inox podem transferir ferro e cromo, como sendo dois nutrientes essenciais à população. Os sintomas da deficiência de cromo incluem a intolerância à glicose, seguida de anormalidades no metabolismo glicídico e lipídico, além de desordens nervosas.

Schoeninger e Franciane (2011) avaliaram os níveis de chumbo em dezenove amostras de aguardente e encontraram concentrações que variaram de 154 µg/L (0,154 mg/L) a 1900 µg/L (1,9 mg/L), sendo que, apenas quatro amostras (21,05%) continham concentrações abaixo de 200 µg/L (0,2 mg/L).

As contaminações por chumbo e arsênio em cachaças e aguardentes podem ocorrer devido ao material de construção e solda dos equipamentos ou pelo solo e pela água (ALCARDE, 2017). A OMS orienta a concentração não superior a 5 mg/L de zinco em água potável, pois maiores concentrações podem causar depressão do sistema imunológico e sintomas gástricos (PINTO et al., 2005).

Souza et al. (2010), investigando cachaças produzidas no estado do Rio de Janeiro, encontraram concentrações de zinco na bebida variando de não detectáveis a 2,07 mg/L. Pinto et al. (2005) analisaram 52 amostras de cachaça e as concentrações de zinco obtidas variaram de não detectável a 3,64 mg/L, que não excede o limite máximo estabelecido pela Organização Mundial da Saúde (OMS) para água. Vilela et al. (2006), avaliando o teor mineral nas etapas do processo de produção da aguardente, observaram que o teor mineral variava de acordo com o contato com os materiais metálicos nas etapas do processo. Uma maior concentração de zinco foi notada, durante o estágio de destilação, devido ao material utilizado na construção do alambique.

Não há limite exigido pela legislação brasileira para a concentração de ferro (Fe) em bebidas alcoólicas fermento-destiladas. Em estudo realizado por Nascimento et al. (1999) com 79 amostras de cachaça, foi relatado que os teores médios de ferro encontrados foram entre 0,11 mg/L e 0,35 mg/L. Segundo esses autores, o ferro, quando presente em determinadas concentrações, pode alterar as características sensoriais da bebida.

Tábua (2018) investigou bebidas destiladas de diferentes regiões de Moçambique e encontrou contaminação nas amostras moçambicanas por metais, como cobre (ND a 34,83 mg/L), chumbo (600 a 3660 mg/L), zinco (ND a 23,01 mg/L) e ferro (ND a 0,04 mg/L). O autor atribui a presença desses metais às falhas de higiene do processo e dos equipamentos e às características do solo e da própria matéria-prima utilizada. Mas em contraste com o presente trabalho, não foi detectada a presença de cádmio ou cromo em nenhuma das amostras daquele país africano.

## 4.7 Compostos voláteis

Na Tabela 7, estão representados os valores de tempo de retenção e índice de retenção dos compostos voláteis identificados por SPME-GC-MS e seus respectivos tempos e índices de retenção. Pelos resultados, observa-se que alguns compostos estão presentes em todas as amostras dos diferentes lotes analisados; são eles: octanoato de etila; decanoato de etila; dodecanoato de etila e hexadecanoato de etila. Pode-se dizer que esses compostos são originados da cana-de-açúcar e das etapas de fermentação e destilação do processo produtivo, porque foram encontrados em todas as amostras e conservados nas bebidas durante o armazenamento.

Tabela 7 – Identificação dos compostos orgânicos voláteis das amostras dos diferentes lotes das bebidas analisadas.

Tr	Composto	I.R. lit. <sup>1</sup>	I.R. exp.	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	N
10.688	Hexanoato de etila	997	1000	x	x	x		x	x									
13.389	1,1-dietoxipropano	-	1073											x		x	x	x
17.709	(1,4-dimetil-pent-2-enil)-benzeno	-	1190					x			x	x	x	x		x		
17.712	Butanoato de hexila	1191	1191						x									
17.863	Octanoato de etila	1196	1195	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
18.327	Trimetiltetraidronaftaleno	-	1208	x				x	x	x	x	x	x	x		x		x
20.291	Icosanoato de etila	-	1264	x														
24.386	Dec-9-enoato de etila	-	1386					x	x									
24.623	Decanoato de etila	1395	1393	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
25.366	(1R,4E,9S)-4,11,11-trimetil-8-metilidenobicyclo[7.2.0]undec-4-eno	1417	1416										x					
25.533	Endo-8-hidroxi-cicloisolongifileno	-	1421		x	x		x	x	x	x							
29.740	3,7,11-trimetildodeca-1,6,10-trien-3-ol	1561	1561	x		x	x		x	x					x	x		
30.676	Dodecanoato de etila	1594	1593	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
30.842	Hexadecano	1600	1598	x														
32.138	Decanoato de isopentila	-	1644					x	x		x				x	x	x	x
36.193	Tetradecanoato de etila	1795	1794			x		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Total de compostos por amostra				8	5	7	4	10	11	7	8	7	6	7	6	9	6	7

Tr - tempo de retenção, em minutos. I.R. lit. – índice de retenção da literatura. I.R. exp. – índice de retenção experimental. <sup>1</sup> ADAMS, 2017. <sup>2</sup> FLAVORNET, 2004. Fonte: Do autor (2019).

Pelos dados obtidos, foi possível identificar os voláteis importantes para o aroma das cachaças, sendo encontrados 9 ésteres entre os 16 compostos encontrados e identificados.

O hexanoato de etila foi observado apenas em amostras **A, B, C, E, F**, isto é, produzidas nos anos de 1996, 1998, 1999, 2001 e 2002, e armazenadas desde então, assim como o composto endo-8-hidroxi-cicloisolongifileno, cuja presença foi observada nas amostras **B, C, E, F, G, H**, dos anos 1998, 1999, 2001, 2002, 2003 e 2008. Por outro lado, o composto 1,1-dietoxipropano foi encontrado apenas nas amostras **K, M, N1, N2**, isto é, produzidas em 2012, 2015 e ambas as amostras de 2016, assim como o 9,12-octadecadienoato de etila (9Z,12Z)- que foi observado em amostras produzidas a partir de 2008.

Alguns compostos tiveram suas presenças observadas isoladamente, como o butanoato de hexila, presente apenas na amostra **F/2002**; icosanoato de etila (amostra **A/1996**); dec-9-enoato de etila observado nas amostras **E/2001** e **F/2002**; (1R, 4E, 9S)-4,11,11-trimetil-8-metilideno biciclo [7. 2, 0] undec-4-ene, também conhecido como beta-cariofileno, foi observado somente na amostra **I/2010**. Os demais compostos identificados apareceram de forma aleatória entre as amostras.

Santiago et al. (2016) encontraram o composto 3,7,11-trimetildodeca-1,6,10-trien-3-ol na amostra de cachaça envelhecida em madeira jatobá e considerou esse composto para diferenciá-la das demais amostras envelhecidas em outros quatro tipos de madeira testadas. No presente estudo, 3,7,11-trimetildodeca-1,6,10-trien-3-ol foi observado em sete das 15 amostras analisadas, porém, de maneira aleatória, contrariando o descrito por Santiago et al. (2016), uma vez que essas bebidas foram armazenadas em aço inox. Logo, este composto é formado na etapa de fermentação e/ou destilação, etapas anteriores ao envelhecimento.

Zacaroni et al. (2017) identificaram 10 moléculas de um total de 14 compostos orgânicos voláteis extraídos da aguardente, usando HS-SPME-GC-MS, a mesma técnica do presente estudo, e observaram que o composto presente na maior intensidade no destilado foi o 3-metilbutan-1-ol, seguido pelo decanoato de etila. Esses dois compostos também apareceram nas bebidas armazenadas em aço inoxidável avaliadas neste estudo.

Moreira et al. (2012) encontraram o acetal 1,1-dietóxi-etano, o éster octanoato de etila e o álcool 3-metil-butanol, que consideraram como odorantes importantes para o aroma da bebida envelhecida. Nas bebidas armazenadas em aço inoxidável, foram encontrados o 1,1-dietóxi-propano e o octanoato de etila.

Nóbrega (2003) identificou compostos voláteis relevantes ao aroma da cachaça, utilizando adsorvente Tenax-TA e a identificação e quantificação foram realizadas por meio

GC-MS, em que foram identificados cerca de 100 compostos, mas os autores consideraram de importância relevante para o aroma e o sabor da bebida, apenas 22 compostos, entre ésteres e álcoois. Nonato et al. (2001) extraíram compostos voláteis do headspace da cachaça por SPME com fibra PA e identificaram por GC-MS. Os autores detectaram 38 compostos, dos quais 11 eram ésteres. Bento et al. (2015) identificaram cerca de 30 compostos voláteis em cachaças produzidas no estado de Pernambuco, sendo a maioria ésteres, fazendo uso da técnica de headspace dinâmico a vácuo e identificação por GC-MS. Este trabalho corrobora com esses autores, pois foram encontrados ésteres e álcoois, importantes para as características sensoriais do destilado.

Entre os 16 compostos identificados no presente trabalho, destacam-se aqueles com características sensoriais importantes para o “bouquet” da bebida, como o aroma descrito como característico de fruta/creme (1,1-dietoxietano), casca de maçã (hexanoato de etila e butanoato de etila), uva (decanoato de etila) e cera (hexadecanoato de etila) (FLAVORNET, 2004). Foi encontrada uma média de 11 compostos orgânicos voláteis por amostra. Esses compostos, juntamente com outros encontrados na bebida, mesmo aqueles não identificados, demonstram a complexidade da matriz.

## 5 CONCLUSÃO

Os diferentes lotes (anos de produção e tempo de armazenamento) das cachaças/aguardentes analisadas apresentaram valores distintos quanto aos parâmetros de identidade e qualidade.

Apesar do aço inoxidável ser uma liga metálica à base de ferro, não foi detectada a presença desse metal nas amostras, mesmo após 20 anos de armazenamento. Os metais cádmio, cromo e chumbo, também não foram detectados. O metal zinco foi detectado em 8 das 15 amostras, em concentração igual ou inferior a 0,9 mg/L. O metal cobre foi encontrado em quantidades permitidas pela legislação.

O armazenamento da bebida em tonéis de inox, pelo período de até 20 anos, não sugere um padrão de formação, principalmente de contaminantes, mas mantém a sua qualidade.

Foram detectados e identificados 16 compostos orgânicos voláteis na aguardente de cana-de-açúcar/cachaça, usando HS-SPME-GC-MS, que são importantes para o aroma e sabor da bebida.

No armazenamento da bebida por 20 anos, ela permanece com suas características físico-químicas de identidade e qualidade. Então, tem-se um tempo de prateleira de 20 anos para o produto aguardente de cana/cachaça de alambique.

## 6 REFERÊNCIAS

ABINOX – Associação Brasileira do Aço inoxidável. **Por que o aço inox é preferido na indústria alimentícia?** São Paulo, 19 fev. 2018. Disponível em: <https://www.abinox.org.br/site/agenda-inox-noticias-detalhes.php?cod=5824&q=Por+que+o+a%25C3%25A7o+inox+%25C3%25A9+preferido+n+a+ind%25C3%25BAstria+aliment%25C3%25ADcia%253F>. Acesso em 15 jul. 2019.

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry**. 4.1 ed. Illinois: Allured, 2017.

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, 2010.

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

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

AMERINE, M. A.; OUGH, C. S. **Methods for analysis of musts and wines**. New York: John Wiley, 1980.

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

ANJOS, 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, 874-878, 2011.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Alimentos. Brasil recebe Codex Alimentarius de Contaminantes**. Abr. 2017. Disponível em: <[http://portal.anvisa.gov.br/resultado-de-busca?p\\_p\\_id=101&p\\_p\\_lifecycle=0&p\\_p\\_state=maximized&p\\_p\\_mode=view&p\\_p\\_col\\_id=column-1&p\\_p\\_col\\_count=1&\\_101\\_struts\\_action=%2Fasset\\_publisher%2Fview\\_content&\\_101\\_assetEntryId=3363363&\\_101\\_type=content&\\_101\\_groupId=219201&\\_101\\_urlTitle=brasil-recebe-codex-alimentarius-de-contaminantes&inheritRedirect=true](http://portal.anvisa.gov.br/resultado-de-busca?p_p_id=101&p_p_lifecycle=0&p_p_state=maximized&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_count=1&_101_struts_action=%2Fasset_publisher%2Fview_content&_101_assetEntryId=3363363&_101_type=content&_101_groupId=219201&_101_urlTitle=brasil-recebe-codex-alimentarius-de-contaminantes&inheritRedirect=true)>. Acesso em: 18 Set. 2019.

AZEVEDO, L. C. et al. Efeito da presença e concentração de compostos carbonílicos na qualidade de vinhos. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 8, p. 1968, 2007.

BORTOLETTO, A. M.; SILVELLO, G. C.; ALCARDE, A. R. Chemical and microbiological quality of sugar cane juice influences the concentration of ethyl carbamate and volatile congeners in cachaça. **Journal of the Institute of Brewing**, London, v. 121, n. 2, p. 251-256, 2015.

BENTO, W. A. S. et al. Controle de qualidade e distinção da região de produção das cachaças no estado de Pernambuco. **Revista Analytica**: a revista da instrumentação e controle de qualidade, São Paulo, n. 76, p. 61-68, abr./maio 2015.

BORTOLETTO, A.M.; CORREA, A.C.; ALCADE, A.R. Fatty acid profile and glycerol concentration in cachaças aged in different wood barrels. **Journal of the Institute of Brewing**, London, v. 122, n. 2, 2016.

BOTELHO, M. S. B. Aspectos legais para a produção de cachaça no âmbito de competência do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. In: CARDOSO, M. G. **Produção de aguardente de cana**. 3. ed. Lavras: Editora UFLA, 2013. 340 p.

BOX, G. E. P.; COX, D. R. An Analysis of Transformations. **Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)**, Vol. 26, No. 2, pp. 211-252. 1964.

BOZA, Y.; HORII, J. Influência do grau alcoólico e da acidez do destilado sobre o teor de cobre na aguardente de cana. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 18, n. 1, 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **A Cachaça no Brasil: Dados de registro de Cachaças e Aguardentes / Secretaria de Defesa Agropecuária**. – Brasília: MAPA/AECE, 2019. 27 p.

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

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada nº 42 de 29 de Agosto de 2013. Dispõe sobre o Regulamento Técnico MERCOSUL sobre Limites Máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos. **Diário Oficial [da] União** de 30 Ago. 2013, Seção 1, Página 33. 2013.

BRASIL. Resolução RDC nº20, de 22 de março de 2007. Aprova o "Regulamento Técnico sobre Disposições para Embalagens, Revestimentos, Utensílios, Tampas e Equipamentos Metálicos em Contato com Alimentos". **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 26 mar. 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 13, de 29 de junho de 2005. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, DF, 30 jun. 2005, Seção 1, p. 3. 2005a.

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

BRASIL. Resolução RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004. Dispõe sobre regulamento técnico de boas práticas para serviços de alimentação. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 16 de set. 2004.

BRASIL. Decreto nº 4.062, de 21 de dezembro de 2001. Define as expressões "cachaça", "Brasil" e "cachaça do Brasil" como indicações geográficas e dá outras providências. **Diário Oficial [da] União**, 26 dez. 2001. Seção 1, p. 4.

BRASIL. Decreto nº 4.851, de 02 de outubro de 2003. Altera dispositivos do Regulamento aprovado pelo Decreto n 2.314, de 4 de setembro de 1997, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. **Diário Oficial [da] União**, 03 out. 1994. Seção 1, p. 6.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Decreto nº 55.871, de 26 de março de 1965. **Diário Oficial [da] União**. Poder Executivo, Brasília, DF, 09 de abril de 1965.

BRUNO, S. N. F. Destilação – distillation of brazilian sugar cane spirits (cachaças). **Revista Internacional do Conhecimento Online**, v. 3, n. 5, 2012. Disponível em: <<http://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/33759.pdf>>. Acesso em: 10 dez. 2015.

CAETANO, G. Q. **Soldagem similar de aços inoxidáveis ferríticos e austeníticos pelo processo de “friction stir welding”**. 2016. 170 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Metalúrgica) – Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2016.

CARDOSO, D. R. et al. Influência Do Material Do Destilador na Composição Química de Aguardentes de Cana. Parte II. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 26, n. 2, p. 165–169, 2003.

CARDOSO, M. G. Produção de aguardente de cana. 3. ed. Lavras: Editora UFLA, 2013. 340p.

COFFEY, A. J. et al. A genetic study of Wilson’s disease in the United Kingdom. **Brain**, [s.l.], v. 136, n. 5, p.1476-1487, Mar. 2013.

CRAVO, F. et al. Composition of Cachaças Produced from Five Varieties of Sugarcane and the Correlation of the Presence of Dhurrin in the Cane with That of Ethyl Carbamate in the Product. **American Journal of Plant Sciences**, v. 10, p. 339-350, 2019.

DESMARIAS, T. L.; COSTA, M. Mechanisms of chromium-induced toxicity. **Current Opinion in Toxicology**, v. 14, p. 1-7, 2019.

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

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

FANG, F. et al. Evaluation of ethyl carbamate formation in Luzhou-flavor spirit during distillation and storage processes. **Food Bioscience**, v. 23, p. 137–141, 2018.

FARIA, J. B. et al. Evaluation of brasilian woods as an alternative to oak for cachaças aging. **European Food Research and Technology**, New York, v. 218, n. 1, p. 83-87, 2003.

FELLOWS, P. J. **Tecnologia do processamento de alimentos: princípios e prática**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2018. 922 p.

FERNANDES, I. da C. et al. Níveis de contaminantes inorgânicos em cachaças da região do Quadrilátero Ferrífero armazenadas em copos in natura de esteatito (pedra-sabão). **Química Nova**, São Paulo, v. 36, n. 9, p. 1360-1365, 2013.

FERNÁNDEZ-LÓPEZ, L. et al. Direct determination of copper and zinc in alcoholic and non-alcoholic drinks using high-resolution continuum source flame atomic absorption spectrometry and internal standardization. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 147, p. 21-27, 2018.

FLAVORNET by Terry Acree & Heinrich Arn. <http://www.flavornet.org> © Datu Inc., 2004.

GALINARO, C.A. et al. Cyanate as an active precursor of ethyl carbamate formation in sugar cane spirit. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 63, n. 33, p. 7415-7420, 2015.

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.

GARCIA, A. C. et al. Evaluation of Glycerol Profiles in Sugarcane Spirits (Cachaças). **J. Braz. Chem. Soc.**, São Paulo, v. 26, n. 1, p. 57-63, 2015.

GERVASIO, A. P. G. et al. Potentiometric flow injection determination of glycerol in distilled pirits. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 50, n. 1, p. 74-77, 2002.

IBANEZ, J. G. et al. Metals in alcoholic beverages: A review of sources, effects, concentrations, removal, speciation, and analysis. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, n. 8, p. 672– 683, 2008.

INSTITUTO BRASILEIRO DA CACHAÇA. **Secex e IBRAC criam “Aprendendo a Exportar Cachaça”**. Brasília: IBRAC, 2019. Disponível em: <<http://www.ibrac.net/index.php/noticias/noticias-do-ibrac/516-secex-e-ibrac-criam-aprendendo-a-exportar-cachaca>>. Acesso em: 24 jun. 2019.

IZAH, S. et al. A review of heavy metal concentration and potential health implications of beverages consumed in Nigeria. **Toxics**, v. 5, n. 1, p. 1, 2017.

KAFETZOPOULOS, D. P.; PSOMAS, E. L.; KAFETZOPOULOS, P. D. Measuring the effectiveness of the HACCP food safety management system. **Food control**, v. 33, n. 2, p. 505-513, 2013.

LACHENMEIER, D. W. et al. Cancer risk assessment of ethyl carbamate in alcoholic beverages from Brazil with special consideration to the spirits cachaça and tiquira. **BMC Câncer**, v. 10, n. 266, p. 1-15, 2010.

LEE, K.-Y. M. et al. Origins of flavour in whiskies and a revised flavour wheel: a review. **Journal of the Institute of Brewing**, Londres, v. 107, n. 5, p. 287-313, 2001.

LIMA, V. F.; MERÇON, F. Metais pesados no ensino de química. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 4, p. 199-205, 2011.

- LIMA, A. B. et al. Efeito de substâncias empregadas para remoção de cobre sobre o teor de compostos secundários da cachaça. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 4, p. 845-848, 2009.
- LUNGUINHO, A. S. **Quantificação de glicerol e carbamato de etila e qualidade Físico-química de aguardentes de cana de alambique e de coluna**. 2018. 58 p. Monografia (Licenciatura em Química). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2018.
- MACHADO, A. M. R. et al. Determination of ethyl carbamate in cachaça produced from copper stills by HPLC. **Food Chemistry**, London, v. 138, n. 2-3, p. 1233-1238, 2013.
- MAIA, A.B.R.A.; CAMPELO, E.A.P. **Tecnologia da Cachaça de Alambique**. Belo Horizonte: Sebrae/MG; Sindbebidas, p. 129, 2006.
- MASSON, J. et al. Parâmetros físico-químicos e cromatográficos em aguardentes de cana queimada e não queimada. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 6, p. 1805-1810, 2007.
- MENDONÇA, J. G. P. et al. Determination of ethyl carbamate in cachaças produced by selected yeast and spontaneous fermentation. **Journal of the Institute of Brewing**, Londres, v. 122, n. 1, p. 63-68, 2016.
- MENEZES, R. F. F. et al. Determinação de teores de chumbo em cachaça, **II Congresso Norte-Nordeste de Química**, João Pessoa, Brasil, CD ROM, 2008.
- MIRANDA, M. B. et al. Perfil físico-químico de aguardente durante envelhecimento em tonéis de carvalho. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, p.84-89, dez. 2008.
- MIRANDA, M. B.; HORII, J.; ALCARDE, A. R. Estudo do efeito da irradiação gamma ( $^{60}\text{Co}$ ) na qualidade da cachaça e no tonel de envelhecimento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 4, p. 772-778, 2006.
- MOREIRA, F. R.; MOREIRA, J. C. Os efeitos do chumbo sobre o organismo humano e seu significado para a saúde. **Revista Panamericana de Salud Pública**. v. 15, n. 2, p. 119-129, 2008.
- MOREIRA, R. F. A.; NETTO, C. C.; MARIA, C. A. B. de. A fração volátil das aguardentes de cana produzidas no Brasil. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 35, n. 9, p. 1819-1826, 2012.
- NASCIMENTO R. F. et al. Mineral profile of Brazilian cachaças and other international spirits. **Journal of Food Composition and Analysis**. v. 12, n. 1, p. 17-25, 1999.
- NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY. Chemistry webbook. 2013. Disponível em: <<http://webbook.nist.gov/chemistry>>. Acesso em: 20 Jul. 2019.
- NÓBREGA, I. C. C. et al. Ethyl carbamate in cachaça (brazilian sugarcane spirit): extended survey confirms simple mitigation approaches in pot still distillation. **Food Chemistry**, Londres, v. 127, n. 3, p. 1243–1247, 2011.

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.

NONATO, E. A. et al. A headspace solid-phase microextraction method for the determination of some secondary compounds of Brazilian sugar cane spirits by gas chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v. 49, n. 8, p. 3533-3539, July 2001.

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.

OLIVEIRA, S. et al. Overview of Analytical Techniques Associated with Pattern Recognition Methods in Sugarcane Spirits Samples. **Critical reviews in analytical chemistry**, p. 1-11, 2019.

PAIVA, A. L. de et al. Fluxo das Exportações Brasileiras de Cachaça: traços da influência do Estado no setor. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 55, n. 4, p. 733-750, 2017.

PARAZZI, C. et al. Avaliação e caracterização dos principais compostos químicos da aguardente de cana de açúcar envelhecida em tonéis de carvalho (*Quercus* sp.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 1, p. 193-199, 2008.

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.

PIGGOT, J. R.; CONNER, J. M. Whiskies. In: LEA, A. G. H.; PIGGOT, J. R. (Ed.). **Fermented beverage production**. 2. ed. New York: Klumer Academic/Plenum, 2003.

PIMENTEL GOMES, F. **Curso de Estatística Experimental**. 13<sup>a</sup> ed. Piracicaba: Nobel, p. 316-33, 1990.

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**. n. 17, p. 48-50, 2005.

PORTUGAL, C. B. et al. How native yeasts may influence the chemical profile of the Brazilian spirit, cachaça. **Food research international**, v. 91, p. 18-25, 2017.

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.

PÓVOA, P. V. N. **Aço inoxidável como material para equipamentos da indústria de alimentos**. 2017. 38 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Química) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2017.

PYRZYNSKA, K. Chemical speciation and fractionation of metals in wine. **Chemical Speciation and Bioavailability**. v. 19, p. 1–8, 2007

QUINTAES, K. D. Utensílios para alimentos e implicações nutricionais. **Rev. Nutr.** Campinas, v. 13, n. 3, p. 151-156, 2000.

R CORE TEAM. **A Language and Environment for Statistical Computing**, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2017. URL <https://www.R-project.org/>.

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

RECHE, R. V. et al. Influence of Type of Distillation Apparatus on Chemical Profiles of Brazilian Cachaças. **J. Agric. Food Chem.** v. 55, n. 16, p. 6603-6608, 2007.

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.

SANTIAGO, W. D. et al. Determination of ethyl carbamate in cachaça stored in newly made oak, amburana, jatobá, balsa and peroba vats and in glass containers. **Journal of the Institute of Brewing**, Londres, v. 123, p. 572-578, 2017

SANTIAGO, W. D. et al. Physicochemical Profile and Determination of Volatile Compounds in Cachaça Stored in New Oak (*Quercus* sp.), Amburana (*Amburana Cearensis*), Jatoba (*Hymenaeae Carbouril*), Balsam (*Myroxylon Peruiferum*) and Peroba (*Paratecoma Peroba*) Casks by SPME-GC-MS. **Journal of the Institute of Brewing**, Londres, v. 122, p. 624-634, 2016.

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

SÃO PAULO. Lei 11241/02 | Lei nº 11.241, de 19 de setembro de 2002. Governo do Estado. Disponível em < <https://governo-sp.jusbrasil.com.br/legislacao/94008/lei-11241-02>>. Acesso em 07 jul 2019.

SCHOENINGER, M. S.; CAMPOS, V. F. Teores de cobre e chumbo e grau alcoólico de aguardentes coloniais comercializadas na região do alto vale do Itajaí. **Revista Caminhos**. v. 27, n. 4, p. 27-37, 2011.

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

SILVA, A. L. C.; MEI, P. R. **Aços e Ligas Especiais**. 3 ed. [S.1.]: EDGARD BLUCHER, 2011.

SORATTO, A. N.; VARVAKIS, G.; HORII, J. A certificação agregando valor à cachaça do Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Lavras, v. 27, n. 4, p. 681-687, 2007.

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

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

TÁBUA, M. C. M. **Estudo Comparativo de Aguardentes Moçambicanas e Brasileiras**. 2018. 153 p. Tese (Doutorado em Agroquímica). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2018.

TELLES, P.S. **Materiais e equipamentos de processo**. 6. ed. Rio de Janeiro: Interciência, 2003.

THE MERCK INDEX: an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals. 13. ed. Whitehouse Station, NJ: Merck, 2001.

THE MERCK INDEX ONLINE. Disponível em: <<https://www.rsc.org/merck-index>>. Acesso em: 05 Nov 2019.

VICHI, S. et al. Volatile and semi-volatile components of oak wood chips analysed by accelerated solvent extraction coupled to gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS). **Food Chemistry**, London, v. 102, n. 4, p. 1260-1269, 2007.

VILELA, J. F. et al. Avaliação dos minerais nas etapas do processo de produção de cachaça, **Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química – MG**, 2006.

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

WANG, Z. X. et al. Glycerol production by microbial fermentation: a review. **Biotechnology Advances**. v. 19, n. 3, p. 201-223, 2001.

WOJTUNIK-KULESZA, K.; ONISZCZUK, A.; WAKSMUNDZKA-HAJNOS, M. An attempt to elucidate the role of iron and zinc ions in development of Alzheimer's and Parkinson's diseases. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 111, p. 1277-1289, 2019.

YOKOYA, F.; OLIVA-NETO, P. Características da floculação 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.

ZACARONI, L. M. et al. Effect of light on the concentration of ethyl carbamate in cachaça stored in glass bottles. **Journal of The Institute of Brewing**, London, v. 121, p. 238– 243, 2015a.

ZACARONI, L. M. et al. Natural clay and commercial activated charcoal: Properties and application for the removal of copper from cachaça. **Food Control**, Guildford, v. 47, p. 536-544, Jan. 2015b.

ZACARONI, L. M. et al. 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**, Londres, v. 123, n. 2, p. 226-231, 2017.

ZHANG, H.; REYNOLDS, M. Cadmium exposure in living organisms: A short review. **Science of The Total Environment**, v. 678, p. 761-767, 2019.