

BRENDA NERES TARGINO

**INFLUÊNCIA DA VARIEDADE DE CANA-DE-AÇÚCAR E DO TIPO DE
FERMENTO NA QUALIDADE DA CACHAÇA DE ALAMBIQUE**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Ciência e Tecnologia de Alimentos,
para obtenção do título de *Magister
Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2009

BRENDA NERES TARGINO

**INFLUÊNCIA DA VARIEDADE DE CANA-DE-AÇÚCAR E DO TIPO DE
FERMENTO NA QUALIDADE DA CACHAÇA DE ALAMBIQUE**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Ciência e Tecnologia de Alimentos,
para obtenção do título de *Magister
Scientiae*.

APROVADA: 04 de dezembro de 2009.

Prof. Frederico José Vieira Passos
(Coorientador)

Prof. José Benício Paes Chaves
(Coorientador)

Prof^a. Valéria Monteze Guimarães

Prof. José Antônio Marques Pereira

Prof. Paulo Henrique Alves da Silva
(Orientador)

A sabedoria é um paradoxo. O homem que mais sabe é aquele que mais reconhece a vastidão de sua ignorância.

Frederic Nietzsche

A Deus.

Ofereço.

*Aos meus amados pais,
Ubirajara e Auxiliadora,
pelo infinito amor, apoio
carinho e compreensão.*

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida, pela minha saúde, por me guiar e carregar no colo nas horas mais difíceis e pela oportunidade de recomeçar a cada dia com a certeza de que nunca estarei sozinha porque “tudo posso naquele que me fortalece”.

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade da realização deste curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

Ao meu pai Ubirajara Neres Souza pelo amor incondicional, educação, respeito, apoio e incentivo em todos os momentos da minha vida.

A minha mãe Maria Auxiliadora Targino pelo amor incondicional, educação, carinho, compreensão, amizade, respeito, paciência, apoio, incentivo em todos os momentos da minha vida assim como pelas valiosíssimas orações.

A minha querida tia Graça pelos anos de companheirismo, amizade, carinho, paciência e apoio.

Ao meu querido e maravilhoso irmão Maurício Neres Targino pelo amor e amizade.

Ao grande amor da minha vida, Humberto Moreira Húngaro pelo amor, carinho, paciência, cumplicidade, auxílio, respeito, incentivo e companheirismo em todos os momentos...sem você tudo teria sido tão mais difícil...palavras não são suficientes para expressar tudo o que sinto por você... Amo muito você!

Ao Professor Paulo Henrique Alves da Silva pela orientação, atenção e apoio em todos os momentos deste curso.

Aos Professores Coorientadores Frederico José Vieira Passos e José Benício Paes Chaves pelo auxílio, ensinamentos e participação na banca examinadora.

Ao Professor José Antônio Marques Pereira por ter permitido o uso da prensa de seu alambique para a moagem da cana-de-açúcar e participação na banca examinadora.

A Professora Valéria Monteze Guimarães pelas sugestões e participação na banca examinadora.

Ao Professor Márcio Henrique Pereira Barbosa por ter cedido as variedades de cana utilizadas neste experimento.

A amiga Claudia Vieira pelo carinho, respeito, amizade, palavras de apoio, conselhos, risadas e por todos os momentos bons e ruins compartilhados durante essa jornada.

Aos amigos aqui representados por Iva, Priscilla, Valéria, Nayla, Márcia Cavalcante, Jussara, Márcia Ávila, Mayra, Mariana, Carol, Adriana, Solange, Rafael e Johnson pelos momentos vividos juntos durante este período da minha vida.

A professora de graduação e amiga Dra. Ana Flávia Santos Coelho pela amizade, incentivo, apoio, oportunidade e confiança em minha capacidade. Obrigada por acreditar em mim e por ter me impulsionado para esta caminhada.

Aos amigos Bruno Chacon e Nivio Santana pela amizade, apoio e ensinamentos proporcionados durante nosso pouco tempo de convivência juntos.

A Raísa Araújo e Thaís Busque pela amizade e ajuda durante o experimento.

A todos os funcionários do Departamento de Tecnologia de Alimentos em especial ao Ademir pelo auxílio no laboratório durante esta caminhada.

Aos colegas do curso de pós-graduação e de laboratório do Departamento de Tecnologia de Alimentos que direta e indiretamente me ajudaram nessa caminhada.

A todos os meus amigos, de perto e de longe, de curta e de longa data, pela companhia, pelas palavras de ânimo e apoio, pelo afeto, pela alegria constante... por serem realmente "amigos". Vocês serão sempre essenciais, únicos e especiais.

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram,

meus sinceros agradecimentos.

BIOGRAFIA

Brenda Neres Targino, filha de Ubirajara Neres Souza e Maria Auxiliadora Targino, nasceu em Açailândia, Maranhão, no dia 22 de Dezembro de 1984.

Em Julho de 2007 graduou-se em Engenharia de Alimentos pela Fundação Universidade Federal do Tocantins, Campus de Palmas, em Palmas, Tocantins.

Em Agosto de 2007, ingressou no curso de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, Minas Gerais.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE FIGURAS	xiii
RESUMO	xv
ABSTRACT	xvi
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 Breve histórico sobre Cachaça.....	3
2.2 Definição e legislação	6
2.3 Produção de cana-de-açúcar no Brasil	8
2.4 Processo de produção de cachaça	13
2.5 Leveduras utilizadas na produção de cachaça.....	15
2.5.1 <i>Fermentação alcoólica</i>	19
2.6 Compostos voláteis presentes na cachaça	25
2.6.1 <i>Ácidos orgânicos</i>	25
2.6.2 <i>Ésteres</i>	26
2.6.3 <i>Aldeídos</i>	27
2.6.4 <i>Álcoois superiores</i>	28
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	31
3.1 Material experimental	31
3.1.1 <i>Variedades de cana-de-açúcar</i>	31
3.1.2 <i>Fermentos</i>	32
3.2 Procedimento experimental.....	34
3.3 Métodos.....	35
3.3.1 <i>Ativação dos fermentos</i>	35
3.3.2 <i>Determinação de sólidos solúveis e açúcares redutores totais no mosto e vinho</i>	36
3.3.3 <i>Determinação do teor alcoólico do mosto, vinho e cachaça</i>	36
3.3.4 <i>Determinação da acidez volátil do mosto, vinho e cachaça</i>	37
3.3.5 <i>Determinação de compostos voláteis por cromatografia gasosa</i>	37
3.3.6 <i>Determinação do fator de conversão de substrato em etanol</i>	38
3.3.7 <i>Determinação da eficiência da fermentação</i>	38
3.4 Delineamento experimental.....	39

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
4.1 Avaliação do processo fermentativo.....	40
4.1.2 <i>Produção de etanol</i>	40
4.1.2 <i>Produção de acidez volátil</i>	43
4.1.3 <i>Teor de sólidos solúveis</i>	46
4.1.4 <i>Teor de açúcares redutores totais</i>	49
4.1.5 <i>Rendimento e eficiência das fermentações alcoólicas</i>	52
4.1.6 <i>Taxa de recuperação de etanol nas destilações</i>	53
4.2 Avaliação físico-química das cachaças	54
4.2.1 <i>Teor de etanol</i>	54
4.2.2 <i>Teor de acidez volátil</i>	56
4.2.3 <i>Teor de aldeídos totais</i>	58
4.2.4 <i>Teor de ésteres</i>	60
4.2.5 <i>Teor de álcoois superiores</i>	63
5. CONCLUSÕES.....	70
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Limites máximos de contaminantes orgânicos (mg/100 mL de álcool anidro) e inorgânicos (mg/L) na cachaça.	7
Tabela 2. Composição centesimal de cana de açúcar madura normal e sadia.	12
Tabela 3. Produção dos diversos produtos da fermentação alcoólica, em g/100g de glicose metabolizada de acordo com varias fontes e para diferentes eficiências fermentativas.	24
Tabela 4. Características agroindustriais, morfológicas e de tolerância a doenças e pragas de duas variedades de cana-de-açúcar recomendadas para produção de cachaça.	32
Tabela 5: Resumo da Análise de Variância para teor alcoólico ao final do processo fermentativo.	42
Tabela 6: Média de teor alcoólico expressas em % de etanol v/v para cada tipo de fermento ao final do processo fermentativo.....	43
Tabela 7: Resumo da Análise de Variância para acidez volátil ao final do processo fermentativo.	45
Tabela 8: Média de acidez volátil para cada tipo de fermento ao final do processo fermentativo.	45
Tabela 9: Resumo da Análise de Variância do teor de sólidos solúveis ao final do processo fermentativo.	49
Tabela 10: Teor de açúcares redutores totais expressos em % presentes no mosto das variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280 e para cada fermento pelo método do DNS no inicio e fim do processo fermentativo.	49
Tabela 11: Resumo da Análise de Variância do teor de açúcares redutores totais ao final do processo fermentativo.	51
Tabela 12: Média da concentração de açúcares redutores totais ao final do processo fermentativo para cada fermento.	51
Tabela 13. Correlação de Pearson (r) entre os parâmetros acidez volátil, teor alcoólico e sólidos solúveis (Brix) de amostras de mosto de duas	

variedades de cana-de-açúcar fermentado por diferentes tipos de fermento.....	52
Tabela 14: Rendimento e eficiência das fermentações conduzidas com fermentos caipiras, selecionados e mistos nas variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280.	52
Tabela 15: Taxa de recuperação de etanol nas destilações para cada tipo de fermento e variedade de cana-de-açúcar.....	54
Tabela 16: Resumo da Análise de Variância do teor alcoólico nas cachaças produzidas com fermentos caipiras, selecionados e mistos e com as variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280.	55
Tabela 17: Concentração de etanol expressos em % v/v presentes nas cachaças produzidas com os fermentos caipiras, selecionados e mistos e com as variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280.	55
Tabela 18: Resumo da Análise de Variância do teor de acidez volátil nas cachaças produzidas com fermentos caipiras, selecionados e mistos e com as variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280.	56
Tabela 19: Acidez volátil expressa em mg de ácido acético. 100 mL ⁻¹ álcool anidro presentes nas cachaças produzidas com os fermentos caipiras, selecionados e mistos e com as variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280.....	56
Tabela 20: Médias para acidez volátil expressas em mg de ácido acético.100 mL ⁻¹ álcool anidro.....	57
Tabela 21: Resumo da Análise de Variância para análise do teor de aldeídos totais nas cachaças produzidas com fermentos caipiras, selecionados e mistos e com as variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280.	59
Tabela 22: Médias para aldeídos totais expressos em mg de acetaldeído.100 mL ⁻¹ álcool anidro 100mL álcool anidro.....	59
Tabela 23: Concentração de aldeídos totais expressa em mg de acetaldeído/100mL álcool anidro (AA) presente nas aguardentes produzidas com os fermentos caipiras, selecionados e mistos e com as variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280.	60

Tabela 24: Resumo da Análise de Variância do teor de ésteres totais nas aguardentes de cana produzidas com fermentos caipiras, selecionados e mistos e com as variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280.	61
Tabela 25: Médias para ésteres totais expressos em mg de acetato de etila/ 100mL álcool anidro.	61
Tabela 26: Concentração de ésteres totais expressa em mg de acetato de etila /100mL álcool anidro (AA) presentes nas aguardentes produzidas com os fermentos caipiras, selecionados e mistos e com as variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280.	62
Tabela 27: Resumo da Análise de Variância do teor de álcoois superiores nas aguardentes de cana produzidas com fermentos caipiras, selecionados e mistos e com as variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280.	63
Tabela 28: Médias para álcoois superiores (soma dos álcoois isoamílico, isobutílico e 1-propanol) expressos em mg de álcoois superiores. 100 mL ⁻¹ álcool anidro.	64
Tabela 29: Concentração de álcoois superiores (soma dos álcoois isoamílico, isobutílico e 1-propanol) expressa em mg/100mL álcool anidro (AA) presente nas cachaças produzidas com os fermentos caipiras, selecionados e mistos e com as variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280.	64
Tabela 30: Resumo da Análise de Variância do teor de álcool isoamílico nas aguardentes de cana produzidas com fermentos caipiras, selecionados e mistos e com as variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280.	66
Tabela 31: Médias para álcool isoamílico expressos em mg de álcool isoamílico. 100 mL ⁻¹ álcool anidro.	66
Tabela 32: Resumo da Análise de Variância do teor de álcool isobutílico nas cachaças produzidas com fermentos caipiras, selecionados e mistos e com as variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280.	67
Tabela 33: Médias para álcool isobutílico expressos em mg de álcool isobutílico. 100mL ⁻¹ álcool anidro.	67

Tabela 34: Resumo da Análise de Variância do teor de álcool 1-propanol nas aguardentes de cana produzidas com fermentos caipiras, selecionados e mistos e com as variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280.	68
---	----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação esquemática do metabolismo de hexoses e dissacarídeos nas leveduras.	20
Figura 2: Teor alcoólico produzido pelos fermentos caipiras nos mostos das variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280 durante o tempo de fermentação.	40
Figura 3: Teor alcoólico produzido pelos fermentos selecionados nos mostos das variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280 durante o tempo de fermentação.	41
Figura 4: Teor alcoólico produzido pelos fermentos mistos nos mostos das variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280 durante o tempo de fermentação.	41
Figura 5: Acidez volátil produzida pelos fermentos caipiras nos mostos das variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280 durante o tempo de fermentação.	43
Figura 6: Acidez volátil produzida pelos fermentos selecionados nos mostos das variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280 durante o tempo de fermentação.	44
Figura 7: Acidez volátil produzida pelos fermentos mistos nos mostos das variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280 durante o tempo de fermentação.	44
Figura 8: Consumo de substrato expressos em °BRIX pelos fermentos caipiras nos mostos das variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280 durante o tempo de fermentação.	47
Figura 9: Consumo de substrato expressos em °BRIX pelos fermentos selecionados nos mostos das variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280 durante o tempo de fermentação.	47
Figura 10: Consumo de substrato expressos em °BRIX pelos fermentos mistos nos mostos das variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280 durante o tempo de fermentação.	48

Figura 11: Produção de álcool isoamílico pelos fermentos caipiras, selecionados e mistos nas variedades de cana RB 85-5536 e SP 80-3280.	65
Figura 12: Produção de álcool isobutílico pelos fermentos caipiras, selecionados e mistos nas variedades de cana RB 85-5536 e SP 80-3280.	66
Figura 13: Produção de álcool 1-propanol pelos fermentos caipiras, selecionados e mistos nas variedades de cana RB 85-5536 e SP 80-3280.	68

RESUMO

TARGINO, Brenda Neres. M. Sc. Universidade Federal de Viçosa, Dezembro de 2009. **Influência da variedade de cana-de-açúcar e do tipo de fermento na qualidade da cachaça de alambique.** Orientador: Paulo Henrique Alves da Silva. Coorientadores: Frederico José Vieira Passos e José Benício Paes Chaves.

A variedade de cana-de-açúcar tem sido considerada como uma etapa importante para o processo de produção de cachaça. A escolha do fermento também é considerada importante visto que a qualidade da bebida está diretamente relacionada à qualidade do vinho obtido pela fermentação que será submetido à destilação. Este trabalho teve como objetivo avaliar a produção de cachaça de alambique a partir das variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280 e verificar a influência dos fermentos caipiras, selecionados e mistos na qualidade deste tipo de bebida. Observou-se que as variedades de cana-de-açúcar avaliadas no presente estudo se adequam à produção de cachaça de alambique e não afetam significativamente a qualidade do produto final. A variedade de cana-de-açúcar não influenciou a concentração dos compostos voláteis avaliados, exceto para concentração de acidez volátil enquanto o tipo de fermento influenciou todos eles, exceto o teor alcoólico e a concentração de 1-propanol nas cachaças. Os fermentos FS1, FS2, FC1, FC2, FM1 e FM2 apresentaram os melhores resultados para a maioria dos fatores avaliados, sendo relacionados à produção de cachaça de qualidade. Houve correlação negativa significativa entre o teor alcoólico e a acidez volátil e entre o teor alcoólico e o teor de sólidos solúveis das amostras de vinho das duas variedades de cana-de-açúcar fermentado por diferentes tipos de fermento ao final da fermentação. Entretanto, observou-se correlação positiva significativa entre teor de sólidos solúveis e acidez volátil das amostras ao final da fermentação. Os fermentos caipiras FC1 e FC2 apresentaram eficiência da fermentação alcoólica acima de 90%. A alta eficiência da fermentação obtida por estes fermentos indica que existe a necessidade de uma melhor caracterização destes fermentos em estudos complementares quanto a critérios quantitativos do processo de fermentação a fim de selecionar leveduras portadoras de características tecnológicas desejáveis e com potencial de comercialização para a produção de cachaça.

ABSTRACT

TARGINO, Brenda Neres. M. Sc. Universidade Federal de Viçosa, December 2009. **Influence of sugar cane variety and yeast type on traditional Brazilian cachaça quality.** Adviser: Paulo Henrique Alves da Silva. Co-Advisers: Frederico José Vieira Passos and José Benício Paes Chaves.

The variety of sugar cane has been considered an important step toward the production of cachaça. The choice of yeast is also considered important as the beverage quality is directly related to the quality of the wine obtained by fermentation to be submitted to distillation. The aim of this study was to evaluate the production of traditional Brazilian cachaça using two varieties of sugar cane RB85-5536 and SP80-3280 and compare the yeast strains, natural, selected and mixed used for its production. It was observed that the varieties of sugar cane evaluated in this study are suitable for the production of cachaça and not significantly affect final product quality. The variety of sugar cane did not influence the concentration of volatile compounds evaluated, except for concentration of volatile acidity while yeast type has influenced all of them except the alcohol content and the concentration of 1-propanol in cachaça. Yeasts FS1, FS2, FC1, FC2, FM1 and FM2 showed the best results for most of the factors evaluated being related with the production of cachaça quality. A significant negative correlation between alcohol content and volatile acidity and between alcohol content and the soluble solids from the wine samples of two varieties of sugar cane fermented by different yeasts at the end of fermentation. However, there was a significant positive correlation between soluble solids and volatile acidity of the samples at the end of fermentation. Yeasts FC1 and FC2 showed efficiency of alcoholic fermentation above 90 %. The high efficiency of fermentation obtained by these yeasts indicates that there is a need for better characterization of natural yeasts in further studies as quantitative criteria of the fermentation process to select yeasts carrying desirable technological characteristics and potential of marketing for the production of cachaça.

1. INTRODUÇÃO

Cachaça é uma bebida genuinamente brasileira, produzida praticamente em todo o país. É considerada a bebida destilada mais consumida no Brasil e a terceira mais consumida no mundo. É um produto de importância econômica crescente e de grande mercado nacional por ser considerada exótica e de sabor especial, justificando assim, a necessidade de se conhecer sua composição química, para que esteja disponível no mercado um produto de qualidade e padronizado pelas normas do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

Cachaça é definida como uma bebida fermento-destilada, com graduação alcoólica que varia entre 38 a 48 % em volume, a 20 °C, obtida do destilado alcoólico simples de cana-de-açúcar ou pela destilação do mosto fermentado do caldo de cana-de-açúcar. Cachaça de alambique é a bebida proveniente de sistema de destilação em alambique de cobre ou em aparelho destilador composto pela predominância de cobre. A produção de cachaça de alambique tem merecido destaque na economia dos Estados de Minas Gerais, São Paulo e Pernambuco.

A cachaça, assim como outras bebidas fermento-destiladas, tem como principal característica o teor alcoólico superior ao de bebidas fermentadas. Além dos seus componentes principais, água e etanol, apresenta, ainda que em baixas concentrações, componentes secundários, também chamados compostos voláteis ou congêneres, formados principalmente durante a fermentação alcoólica e selecionados pelo processo de destilação e pela etapa de maturação do destilado. Tais componentes são os principais responsáveis pelo sabor característico destas bebidas e determinantes de sua qualidade.

A demanda por bebidas destiladas de melhor qualidade e mais seguras em relação ao conteúdo de congêneres é cada vez mais crescente e por isso a produção de aguardente procura vincular-se à qualidade, com o propósito de ampliar o seu consumo e atingir um público consumidor mais exigente, bem como aumentar a possibilidade de exportação. Na produção de cachaça a qualidade deve ter início na parte agrícola, desde cuidados com o solo, a escolha e o plantio da variedade apropriada de cana-de-açúcar, passando por

todas as etapas de fabricação (fermentação, destilação e envelhecimento) até a comercialização do produto final.

A variedade de cana-de-açúcar perfeita, produtiva e tolerante a todas as doenças e pragas não existe. Dessa forma, procura-se utilizar as variedades que apresentam menores riscos de perdas econômicas em determinado local ou ambiente de produção. Atualmente, as variedades de cana-de-açúcar comerciais em distribuição foram obtidas para a produção de açúcar e álcool, não existindo, portanto, variedades especialmente selecionadas para a produção de cachaça.

A fermentação pode ser considerada um dos principais pontos críticos do processo de fabricação de cachaça, uma vez que os compostos de aroma e sabor que caracterizam a bebida são formados nesta etapa. Diversas pesquisas têm sido realizadas nos últimos anos em toda a cadeia produtiva da cachaça com o intuito de melhorar a qualidade do produto e auxiliar o produtor: seleção de variedades de cana-de-açúcar, aspectos fermentativos, seleção de leveduras, aperfeiçoamento do processo de destilação, madeiras mais adequadas para envelhecimento do produto, dentre outras.

A produção de cachaça envolve uma série de variáveis importantes para a padronização do seu processo produtivo. A escolha da variedade de cana-de-açúcar mais adequada ao clima e solo da região que será cultivada é uma variável que tem sido considerada importante para produção da cachaça de alambique. A escolha do fermento também é importante visto que a qualidade da bebida está diretamente relacionada à qualidade do vinho obtido pela fermentação e submetido à destilação. Sendo assim, este trabalho teve o objetivo de avaliar o efeito de diferentes tipos de fermento e a influência de variedades de cana-de-açúcar no processo de fermentação alcoólica, na produção e na qualidade da cachaça de alambique.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Breve histórico sobre Cachaça

Os primeiros registros de obtenção da aguardente (*Ácqua ardens*) datam dos anos 23 a 79 d.C. pelos gregos. Os alquimistas atribuíram propriedades místico-medicinais à aguardente que então passou a ser chamada de água da vida (*Eau de vie*) ou elixir da longevidade. A aguardente chegou ao Oriente Médio pela força da expansão do Império Romano e os árabes disseminaram a técnica da destilação pelo Velho e Novo Mundo (CARVALHO, 2001). Esta tecnologia de produção espalhou-se pelo mundo inteiro, no entanto, cada país utilizava uma matéria-prima diferente para destilação. Na Itália, a uva era utilizada para fazer a *grappa*; na Alemanha a cereja deu origem ao *kirsch*; na Escócia a cevada deu origem ao uísque; na Rússia o centeio deu origem à vodka; na China e Japão, o saquê originou-se do arroz; em Portugal o bagaço de uva originou a bagaceira (AMPAQ, 2009; GALINARO, 2006; VENTURINE FILHO, 2005).

A cana-de-açúcar chegou ao Brasil trazida da ilha da Madeira pelos portugueses em meados do século XVI. Nos engenhos descobriram que o vinho da cana conhecido como “garapa azeda”, líquido resultante dos tachos de rapadura, servia de alimento para os animais. Os escravos passaram a tomar esta bebida inicialmente apenas fermentada e começaram a destilar este líquido, chamando-o de “cagaça”, daí o nome cachaça (CASSINI, 2004). Com o aprimoramento da produção, a cachaça passou a atrair muitos consumidores, saindo da senzala e introduzindo-se nas mesas dos senhores de engenho e nas casas portuguesas, passando a ter importância econômica para o Brasil colônia (CARVALHO, 2001).

Atualmente, produzida em todo o país, a cachaça é a bebida alcoólica mais consumida depois da cerveja. O Estado de São Paulo é o principal produtor, prevalecendo a produção da cachaça industrial, enquanto que em Minas Gerais, segundo Estado produtor, prevalece a produção de cachaça artesanal (ANDRADE et al., 2002).

Os primeiros passos para o desenvolvimento da consciência de qualidade na produção de cachaça já foi dado pelos órgãos legisladores. O Ministério da Agricultura com o apoio da Associação Brasileira de Bebidas (ABRABE) lançou em 1997 o Programa Brasileiro de Desenvolvimento da Aguardente de Cana (PBDAC) com o objetivo de regularizar os mais de 30 mil alambiques clandestinos no país, que produziam cachaça sem nenhum controle de qualidade. Este projeto, extinto em 2006, visava valorizar a indústria de aguardente como importante fonte de arrecadação de divisas para o País e geradora de milhares de empregos diretos e indiretos (SESCSP, 2007; VILELA, 2005; CARVALHO, 2001; SILVA, 1995). Além de propor soluções para os problemas, o programa tinha, ainda, o objetivo de capacitar tecnologicamente os produtores, principalmente os que produzem em pequena escala, e organizá-los com vistas a melhorar a qualidade da bebida e abrir novos mercados.

Nos últimos anos a cachaça adquiriu uma imagem muito boa no exterior e começou a ser mais conhecida pelos consumidores em bares e restaurantes. Durante o período em que o PBDAC existiu, o número de empresas exportadoras passou de 19 para 114 – com vendas para mais de 50 países –, e o volume de cachaça comercializado no exterior saltou de 5 milhões para 12 milhões de litros (SESCSP, 2007).

Em Minas Gerais o Decreto Estadual 42.644 de 5 de junho de 2002 dispõe sobre as condições gerais de produção da cachaça de alambique, desde o preparo do solo para o plantio da cana-de-açúcar até a venda do produto engarrafado. Esse decreto mineiro é, sem dúvida, um importante instrumento para que a produção de cachaça de alambique de qualidade se desenvolva. O consumidor terá assim a garantia de contar com um produto de qualidade, seguindo padrões internacionais (VILELA, 2005; CARVALHO, 2001).

Em 1993, foi criado no Estado de Minas Gerais o programa Pró-Cachaça (decreto nº 34.645), visando promover a qualidade e a imagem da aguardente mineira. Por meio da criação da Associação Mineira de Produtores de Aguardente de Qualidade (AMPAQ), o programa pode funcionar como órgão fiscalizador e também como fonte de apoio aos fabricantes, realizando cursos e

seminários, além de fornecer informações sobre novas tecnologias e pesquisas (MARTINHO e SANTOS, 1997; PATARO, et al., 1998).

O PBDAC deu lugar ao Instituto Brasileiro da Cachaça (IBRAC) cujo principal objetivo é, por meio da união do setor, promover, ordenar institucionalmente e colaborar com as autoridades competentes no controle e regulamentação da cachaça, da aguardente de cana e de outras bebidas derivadas da cachaça ou da aguardente de cana para assegurar o cumprimento da legislação nacional além de promover pesquisas, estudos e projetos voltados ao aperfeiçoamento e à melhoria da qualidade dos processos de produção (IBRAC, 2009).

Segundo dados divulgados pelo Instituto Brasileiro da Cachaça (IBRAC) as exportações de cachaça cresceram aproximadamente 18 % em valor, ultrapassando os US\$ 16 milhões e tiveram um crescimento de 20 % em volume. Em 2008 foram exportados US\$ 16.418.978,00 (11.092.088 litros) para aproximadamente 60 países. Ressalta-se que o volume exportado corresponde a menos de 1 % do volume produzido. Atualmente, o setor de cachaça gera 650 mil empregos diretos e indiretos no país, movimentando internamente US\$ 1 bilhão por ano, sendo São Paulo, Pernambuco, Ceará, Minas Gerais e Paraíba os principais Estados produtores. No quesito consumo, os principais apreciadores da bebida concentram-se em São Paulo, Pernambuco, Rio de Janeiro, Ceará, Bahia e Minas Gerais (ALVES, 2009). Cerca de 4 mil marcas são comercializadas no Brasil e estima-se que existam 40 mil produtores (IBRAC, 2009), sendo que destes, 25 mil são artesanais, que em sua maioria, vendem sua produção às indústrias. A produção industrial representa cerca de 95 % do total produzido (CARVALHO NETTO, 2007). Um dos maiores entraves para aumento da participação e sobrevivência dessas empresas no mercado é a alta carga tributária a qual o setor está sujeito. Essa alta carga tributária tem um impacto devastador para o setor, principalmente para micro e pequenas empresas e contribui para o aumento da informalidade (ALVES, 2009).

2.2 Definição e legislação

Um grupo de especificações dentro de determinados limites ou tolerâncias que devem ser atingidos são denominados de padrões de identidade e qualidade que por sua vez, determinam a qualidade dos produtos. A inexistência destes padrões e a falta de controle de qualidade na produção de aguardente de cana-de-açúcar eram umas das principais barreiras para comercialização desta bebida no mercado externo (CARVALHO, 2001; CHAVES, 1998). No Brasil, a qualidade da cachaça e aguardente de cana é regulamentada pela Instrução Normativa nº 13, de 29 de junho de 2005 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento que aprova o “Regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para aguardente de cana e cachaça” (BRASIL, 2005) e pelo Decreto Federal nº 6871, de 4 de junho de 2009, que dispõe sobre a padronização, classificação, registro, inspeção, produção e fiscalização de bebidas (BRASIL, 2009).

Segundo a legislação brasileira, a denominação aguardente de cana se refere à bebida com graduação alcoólica de 38 a 54 % em volume, a 20 °C, obtida do destilado alcoólico simples de cana-de-açúcar ou pela destilação do mosto fermentado do caldo de cana-de-açúcar (*Saccharum spp*), podendo ser adicionada de até seis gramas por litro de açúcar expressos em sacarose. Quando a adição de açúcar for superior a 6 g e inferior a 30 g por litro, o produto terá sua denominação acrescida da expressão “adoçada” (BRASIL, 2005).

Cachaça se refere à denominação típica e exclusiva da aguardente de cana produzida no Brasil com graduação alcoólica de 38 a 48 % em volume, a 20 °C, obtida pela destilação do mosto fermentado do caldo de cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*), podendo ser adicionada de até seis gramas por litro de açúcares expressos em sacarose (BRASIL, 2005).

A composição química e os requisitos de qualidade para a cachaça no Brasil são, portanto fixados pela Instrução Normativa nº 13, cujos coeficientes de congêneres, ou seja, o somatório dos componentes voláteis “não álcool” não poderá ser inferior a 200 mg.100 mL⁻¹ e não superior a 650 mg.100 mL⁻¹ de álcool anidro, observando os seguintes limites máximos para cada componente: 150 mg.100 mL⁻¹ de álcool anidro para acidez volátil (expressa

em ácido acético), 200 mg.100 mL⁻¹ de álcool anidro para ésteres totais (expresso em acetato de etila), 30 mg.100 mL⁻¹ de álcool anidro de aldeídos totais (expresso em aldeído acético), 5 mg.100 mL⁻¹ de álcool anidro de furfural + hidroximetilfurfural e 360 mg de álcoois superiores por 100 mL de álcool anidro (expressos pela soma dos álcoois n-propílico, isobutílico e isoamílico) (BRASIL, 2005). São fixados também limites máximos para contaminantes orgânicos e inorgânicos, conforme mostrado na Tabela 1.

Tabela 1. Limites máximos de contaminantes orgânicos (mg.100 mL⁻¹ de álcool anidro) e inorgânicos (mg/L) na cachaça.

Composto	Limite máximo
Álcool metílico (metanol)	20
Carbamato de etila	0,15
Acroleína (2-propenal)	5
Álcool séc-butílico (2-butanol)	10
Álcool n-butílico (1-butanol)	3
Cobre (Cu)	5
Chumbo (Pb)	0,2
Arsênio (As)	0,1

Fonte: BRASIL, 2005.

Após a destilação, a cachaça pode ser envelhecida em tonéis de madeira, como parte importante do processo para a melhora das características sensoriais, como ocorre com outras bebidas fermento-destiladas, tais como uísque e rum. Esta etapa, no entanto, é opcional, de acordo com a legislação brasileira. A aguardente de cana será denominada envelhecida, quando contiver pelo menos 50 % de aguardente de cana envelhecida em tonéis de madeira, com capacidade máxima de 700 litros, por pelo menos um ano, podendo ser adicionada de caramelo para padronização da cor (BRASIL, 2005).

Uma aguardente de cana de boa qualidade está relacionada ao enquadramento deste produto aos padrões de identidade e qualidade previstos pela legislação brasileira. A regulamentação da qualidade desta bebida é feita

com base em características já relatadas tais como acidez volátil, ésteres, aldeídos, álcoois superiores e furfural que possuem valores máximos permitidos. Além do etanol e da água, a aguardente contém pequena quantidade de dezenas de compostos orgânicos denominados compostos voláteis ou compostos secundários, que são incorporados à bebida ao longo de todo o processo produtivo e a natureza e proporção dos mesmos é determinada, pelas características da matéria-prima, da fermentação, da destilação e do envelhecimento (LIMA, 1992). Portanto, de acordo com a legislação em vigor, cachaças serão consideradas aprovadas e próprias para consumo desde que obedeçam aos limites estabelecidos para os principais grupos de componentes comuns a este tipo de bebida, assim como para o cobre e o metanol, seus eventuais contaminantes (JANZANTTI, 2004).

Diversas substâncias são encontradas na cachaça. Algumas apresentam características indesejáveis como o formaldeído, o carbamato de etila e o furfural, potencialmente carcinogênicos. Estes compostos fazem parte da fração orgânica da bebida e sua produção pode ser influenciada pela variedade da cana-de-açúcar, pela condução da fermentação, pelo método de destilação e pelo envelhecimento (CARDOSO, 2006; SIEBALD et al., 2002).

2.3 Produção de cana-de-açúcar no Brasil

A cana-de-açúcar é uma das principais culturas agrícolas do Brasil, servindo como matéria-prima para a produção de açúcar, álcool combustível, aguardente e alimentação animal (BARBOSA, 2005). É originária da Nova Guiné e foi levada para a Europa e África pelos árabes, na época das invasões. A cultura de cana-de-açúcar não prosperou na Europa e foi levada para a ilha da Madeira pelos portugueses e para as ilhas Canárias pelos espanhóis. Na América, a cana-de-açúcar encontrou excelentes condições para seu desenvolvimento. No Brasil, há indícios de que a cana-de-açúcar seja cultivada desde muito antes do descobrimento, mas a cultura só se desenvolveu quando surgiram os engenhos e as plantações foram feitas com mudas trazidas pelos portugueses (FERNANDES, 2005).

É uma planta da família Gramineae, apresenta uma larga escala de adaptação sendo cultivada principalmente em regiões situadas entre os paralelos 35° N e 35° S. As variações climáticas brasileiras possibilitam duas épocas de colheitas anuais, uma no norte-nordeste, de setembro a abril e a outra no centro-sul, de junho a dezembro (FERNANDES, 2005; ALFONSI, et al., 1987).

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar. Segundo dados da União da Indústria de Cana-de-açúcar (UNICA) juntamente com o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), as usinas brasileiras chegaram a processar 495.794.424 toneladas de cana-de-açúcar na safra 07/08 sendo a região centro-sul responsável pelo processamento de 431.184.748 toneladas. O nordeste e sudeste são as regiões brasileiras que apresentam maior potencial produtivo e nelas os Estados de Alagoas e São Paulo os que mais se destacam na produção de cana-de-açúcar (PRATI e CAMARGO, 2008).

A matéria-prima utilizada para a fabricação da cachaça é a cana-de-açúcar. A escolha da variedade de cana-de-açúcar é a etapa mais importante e de menor custo para o produtor de cachaça, sendo a base que sustenta todas as demais tecnologias de produção e processamento da matéria-prima. As variedades assumem papel decisivo na produtividade da cultura e conseqüentemente possibilitam produzir cana-de-açúcar de qualidade e com menor custo (SILVEIRA et al., 2002).

Normalmente, a seleção da variedade de cana-de-açúcar é feita dentre as variedades existentes para produção de açúcar e álcool, visando a obtenção daquelas que possam ser utilizadas na produção de cachaça de alambique, pois geralmente uma variedade que é indicada para produção de açúcar e álcool, também pode ser indicada para produção de cachaça (MACÊDO, 2009; CARDOSO, 2006; FERNANDES, 2005; ANDRADE et al., 2002).

Um detalhe importante na produção de cachaça que deve ser levado em consideração é a época de safra. Em Minas Gerais, a safra normalmente tem início em maio e se estende até dezembro. Sendo assim, é muito importante trabalhar com variedades de cana-de-açúcar que possuam ciclos de maturação diferentes, que cubram todo o período de safra, ou seja, cana de maturação precoce (colhidas em maio/junho), cana de maturação média (colhidas em

julho/agosto/setembro) e cana de maturação tardia (colhidas em outubro/novembro/dezembro), para obter sempre uma matéria-prima em boa condição de moagem (madura). O uso de pelo menos três variedades de ciclos de maturação diferentes é essencial para a produção de cachaça artesanal com rendimentos satisfatórios e maior lucratividade (MACÊDO, 2009; FERNANDES, 2005; ANDRADE et al., 2002).

Algumas variedades indicadas para a produção de cachaça em Minas Gerais como RB835054, RB765418, RB835486, SP80-1842, SP80-1816, RB928064, SP79-1011, RB855536 e RB867515 têm sido introduzidas em algumas regiões do Estado pela Universidade Federal de Viçosa (UFV) desde 1990. Dentre outras, são características desejáveis numa variedade de cana-de-açúcar para produção de cachaça artesanal: maior rendimento de colmos por hectare; alto teor de sacarose; teor de fibra médio (11 a 12 %); resistência às principais doenças (mosaico, carvão e ferrugem); resistência às principais pragas (broca-do-colmo); fácil despalha; resistência ao tombamento; boa adaptação a diferentes tipos de solo e clima; ausência de florescimento; baixa isoporização; boa brotação de soqueiras; ausência de rachaduras; rápido crescimento inicial e fechamento; ausência de joçal (pilosidade) e período de utilização industrial longo (MACÊDO, 2009; ANDRADE et al., 2002).

Um bom manejo do canavial é importante para assegurar sua produtividade e persistência. O manejo correto do canavial implica corte na época ideal de colheita, na altura ideal de corte e principalmente nos tratamentos culturais que lhe são dispensados. Dentre eles, destacam-se a adubação (orgânica e química de manutenção), a irrigação e o controle de plantas invasoras (braquiária) quando necessário. As condições climáticas têm influência marcante na maturação e, sob condições de alta umidade no solo e de elevada temperatura atmosférica a cana-de-açúcar tem o seu crescimento intensificado, enquanto que em condições contrárias, aumenta a concentração de sacarose com conseqüente redução do teor de açúcares redutores (CARDOSO, 2006).

O cultivo de variedades híbridas, melhoradas geneticamente, menos exigentes, mais resistentes às doenças e muito mais produtivas predomina no Brasil (FERNANDES, 2005). Toda variedade de cana-de-açúcar é identificada por uma sigla, acompanhada de um número. A sigla refere-se ao local de

origem da variedade (país, estado, cidade ou estação experimental). Os dois primeiros números referem-se ao ano em que a variedade foi obtida e não ao ano de lançamento. Os números restantes correspondem à série que deu origem ao clone (intrínseco de cada órgão de melhoramento) (ANDRADE et al., 2002). As variedades que possuem a sigla RB (República do Brasil), produzidas pelo Programa Nacional de Melhoramento da Cana-de-açúcar (PLANALSUCAR), coordenado pelas universidades públicas federais de ensino superior e a sigla SP (São Paulo), produzidas pela Cooperativa de Produtores de Açúcar e Álcool do Estado de São Paulo (COOPERSUCAR) são as que mais se destacam no setor (FERNANDES, 2005; ANDRADE et al., 2002).

A extração do caldo de cana-de-açúcar para a produção de cachaça é feita por esmagamento direto nas moendas. O maior ou menor rendimento em cachaça está ligado à eficiência na extração do caldo. Tecnicamente, todo líquido suscetível de fermentar é denominado mosto. Após moagem, o caldo de cana é filtrado para retirar parte das impurezas em suspensão como terra e bagacilhos.

O caldo obtido pela moagem da cana-de-açúcar é constituído de água entre 78 e 86 %, sacarose entre 11 e 18 %, açúcares redutores entre 0,2 e 1,0 %, cinzas entre 0,3 e 0,5 % e compostos nitrogenados entre 0,5 e 1,0 % e normalmente apresenta valores de pH entre 5,2 e 6,8 (LIMA, 2001). Os compostos orgânicos não açúcares são constituídos de substâncias nitrogenadas (proteínas, aminoácidos, etc.), gorduras, ceras, pectinas, ácidos (málico, succínico, etc.), e de matérias corantes (clorofila, sacaretina e antocianina) (JERONIMO, 2004). A Tabela 2 apresenta a composição do caldo de cana, com uma alta concentração de sacarose, que corresponde de 70 a 90 % de seus sólidos solúveis. A composição química da cana-de-açúcar é muito variável quantitativamente, porém, qualitativamente ela é semelhante em todas as variedades. Essa composição é influenciada pelo clima, solo, adubação, estágio de desenvolvimento da cultura, variedade, dentre outros (CARDOSO, 2006).

Muitas vezes, para um melhor rendimento industrial, o caldo de cana é modificado para que seja adequado ao desenvolvimento das leveduras alcoólicas. Estas modificações podem ser efetuadas por meio da suplementação nitrogenada e/ou de fosfato, magnésio, manganês, cobalto e

vitaminas (na forma de farelo de arroz ou de trigo) ou mesmo da correção do teor de sólidos solúveis (°Brix) do caldo por meio de diluição e da manutenção da temperatura em torno de 30 °C (FARIA, 1995).

Tabela 2. Composição centesimal de cana de açúcar madura normal e sadia.

Elementos	Concentração (%)
Água	74,5 (65 - 75)
Açúcares	14 (12 - 18)
Sacarose	12,5 (11 - 18)
Glicose	0,9 (0,2-1,0)
Levulose	0,6 (0,0-0,6)
Fibras	10 (8 - 14)
Celulose	5,5
Lignina	2
Pentosana (xilana)	2
Goma de cana (arabana)	0,5
Cinzas	0,5
Sílica (SiO ₂)	0,25
Potássio (K ₂ O)	0,12
Sódio (Na ₂ O)	0,01
Cálcio (CaO)	0,02
Magnésio (MgO)	0,01
Ferro (Fe ₂ O ₃)	traços
Fósforo (P ₂ O ₅)	0,07
Sulfatos (SO ₃)	0,02
Cloretos (Cl)	traços
Matérias Nitrogenadas	0,4 (0,30-0,60)
Nitrogênio total	0,06
Ácido aspártico	0,4 (0,30-0,60)
Ácido nítrico	0,01
Amoníaco	traços
Corpos xânticos	traços
Gorduras e ceras	0,20 (0,15-0,25)
Substâncias pécticas, gomas e mucilagem	0,20 (0,15-0,25)
Materiais corantes	não dosados

Fonte: CARDOSO (2006).

2.4 Processo de produção de cachaça

Após a moagem da cana-de-açúcar e separação do bagaço, o caldo extraído é submetido a uma filtração ou decantação para separação do bagacilho. O caldo pronto para fermentar, denominado mosto, é colocado para fermentar em recipientes próprios, as dornas (MALTA, 2006). A fermentação ideal do mosto ocorre na concentração de teor de sólidos solúveis em torno de 14 a 16 °Brix. Teores de sólidos solúveis acima de 16 °Brix podem acarretar fermentações mais lentas e frequentemente incompletas. A duração média de um processo fermentativo é de 24 horas. Em geral, a fermentação é conduzida pelo sistema convencional em batelada e consiste em se colocar o inóculo e todo o meio a ser fermentado na dorna de fermentação (PATARO et al., 2002).

O processo fermentativo inicia logo que a levedura entra em contato com o mosto e é dividido em três fases: fase preliminar ou pré-fermentação, caracterizada pela adaptação das leveduras e multiplicação celular; fase de fermentação principal ou tumultuosa, com desprendimento abundante de gás carbônico e produção de etanol e fase de fermentação complementar ou pós fermentação, onde se observa redução da atividade fermentativa (JANZANTTI, 2004).

Depois de terminada a fermentação do mosto, este é chamado de vinho, que após sedimentado é destilado. O vinho de cana é constituído principalmente de água e etanol além de alguns compostos secundários como ácidos, álcoois, ésteres, dentre outros em concentrações diminutas, mas que caracterizam sensorialmente a bebida (LIMA, 1999).

A destilação é um processo físico que permite separações químicas. Consiste da passagem da fase líquida de uma substância ou mistura, sob aquecimento, ao estado gasoso (ebulição), que em seguida, retorna ao estado líquido por meio de resfriamento (condensação) (CARDOSO, 2006). Os vários compostos voláteis presentes no vinho, destilam conforme o ponto de ebulição, afinidade com o álcool ou água e o teor alcoólico no vapor durante a destilação (LÉAUTÉ, 1990).

No Brasil há dois tipos de sistemas de produção de aguardente: o sistema artesanal ou de destilação em alambique e o sistema industrial ou de destilação em coluna de destilação contínua (NOVAES, 2002; CHAVES e

PÓVOA, 1992). A maior parte das aguardentes de cana produzidas em sistemas artesanais é destilada em equipamentos de cobre. Destaca-se a possibilidade de seleção e aproveitamento de maior quantidade de compostos secundários, geralmente associando teores residuais de cobre e acidez acima dos limites permitidos.

Os sistemas industriais caracterizam-se por utilizarem colunas de destilação, em processo contínuo, reguladas para produzirem uma bebida padronizada e que atenda prioritariamente aos parâmetros da legislação. Originam aguardentes de cana geralmente com excesso de aldeídos e presença de hidrocarbonetos (NOVAES, 2002). Em função da maior capacidade de produção e menor riqueza de compostos secundários as aguardentes de cana obtidas pelo sistema industrial são comercializadas por preço inferior àquelas obtidas artesanalmente, e são melhores para serem consumidas em misturas ou coquetéis (CAMPELO, 2002; ESTANISLAU et al., 2002).

O produto da destilação do vinho em sistema de produção de aguardente artesanal é dividido em três frações: destilado de cabeça, coração e cauda (LIMA, 2001). De acordo com Maia (1994), a separação das três frações do destilado é feita por meio de “cortes”. Nesta etapa, a qualidade da cachaça depende da composição do vinho a ser destilado; da geometria do alambique e da habilidade do operador para efetuar os cortes nos momentos adequados. Entretanto, existem muitas dúvidas por parte dos produtores em saber qual o critério a ser adotado na separação destas frações (VILELA, 2005).

O destilado de cabeça, obtido na fase inicial de destilação, contém altos teores de componentes secundários que se tornam indesejáveis dependendo de sua quantidade (CARDOSO, 2006). O teor alcoólico desta fração é alto devido à volatilidade do etanol presente no vinho. A separação desta fração poderá ser realizada pelo recolhimento de 1 a 5 % do volume total do vinho, pelo recolhimento de 5 a 8 % do total do destilado, pois depende da geometria do aparelho, ou quando o alcoômetro marcar 60 % de etanol (RODRIGUES FILHO e OLIVEIRA, 1999; MAIA et al., 1994).

O destilado de coração é a fração que corresponde à cachaça propriamente dita, devendo apresentar teor alcoólico dentro dos padrões

exigidos pela legislação. Inicia-se o recolhimento após a separação do destilado de cabeça, cujo volume foi pré-determinado anteriormente. Esta fração representa um volume correspondente a até 16 % do volume total do vinho ou a 80% do volume total do destilado. O limite do recolhimento desta fração ocorre quando o teor alcoólico do destilado recolhido atinge o valor pré-estabelecido para a cachaça, acrescido de 1 a 2 % v/v, para compensar futuras perdas, caso se opte pelo armazenamento em barris ou mesmo o envelhecimento da bebida (RODRIGUES FILHO e OLIVEIRA, 1999; MAIA et al., 1994).

A última fração coletada corresponde à cauda, também chamada de água fraca, onde se concentram alguns ácidos e furfural. Corresponde a 3 % do volume total do vinho, 15 % do destilado ou quando o teor alcoólico da fração atinge 14 % v/v. A partir daí, o recolhimento do etanol da vinhaça é antieconômico (RODRIGUES FILHO e OLIVEIRA, 1999; MAIA et al., 1994). As frações de cabeça e cauda devem ser descartadas. (CARDOSO, 2006; FURTADO, 1995).

Bizelli (2000) estudou a caracterização físico-química de aguardentes de cana-de-açúcar produzidas em sistema artesanal comparativamente ao de redestilação. Observou-se variações marcantes na acidez total, volátil e fixa (mg de ácido acético/100mL de álcool anidro), respectivamente, de 43,95 para 17,95; de 42,60 para 17,00; e de 1,35 para 0,92. O teor de cobre reduziu de 2,67 para 0,32 mg/L; o teor de aldeídos totais reduziu de 21,11 para 15,80 mg.100 mL⁻¹ de álcool anidro; o teor de ésteres totais reduziu de 20,26 para 9,74 mg.100 mL⁻¹ de álcool anidro e o teor de álcoois superiores totais reduziu de 397,17 para 349,33 mg.100 mL⁻¹ de álcool anidro. Não se observou variações relevantes na densidade real, grau alcoólico e extrato seco das aguardentes.

2.5 Leveduras utilizadas na produção de cachaça

Leveduras são fungos pertencentes às classes dos Ascomicetos Basidiomicetos ou Deuteromicetos. São normalmente unicelulares, apresentam forma oval, elíptica ou arredondada. Possuem parede celular rígida, membrana

citoplasmática e as organelas geralmente encontradas em eucariotos, tais como núcleo, mitocôndria e retículo endoplasmático. Para o seu desenvolvimento e sobrevivência, as leveduras necessitam de carbono, principalmente na forma de carboidratos e estes nas formas de mono ou dissacarídeos. Quanto ao ambiente, as leveduras se desenvolvem numa faixa ampla de temperatura, sendo que o intervalo ótimo situa-se entre 20 e 30 °C. Em relação ao pH, os limites estão entre 2,2 e 8,0. Estes microrganismos também apresentam elevada resistência osmótica (VENTURINI FILHO e MENDES, 2003).

É longa a história de associação das leveduras ao desenvolvimento da civilização. As leveduras têm uma grande diversidade de aplicações industriais, como por exemplo, na indústria de alimentos e bebidas, e são também fornecedoras de enzimas, proteínas e compostos químicos. Recentemente, a importância industrial das leveduras também se estendeu ao setor da saúde (biosensores, bioterapêutica, biofarmácia), estando ainda presentes na área ambiental, como por exemplo, no tratamento de efluentes industriais (BARBOSA et al., 2005; PINHEIRO, 2004; WALKER, 1998).

As leveduras têm a vantagem de serem organismos unicelulares de rápido crescimento e de fácil manipulação genética. A família das leveduras engloba cerca de 500 espécies conhecidas pelo homem com diversas atividades metabólicas. Dentre elas destacam-se como produtoras de etanol, espécies do gênero *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces*, *Pichia*, dentre outras. A espécie mais importante de levedura alcoólica é a *Saccharomyces cerevisiae*, que possui um largo espectro de utilização, sendo empregada na produção de pães, bebidas (vinho e cerveja), etanol, etc. Sua biomassa pode ser recuperada como subproduto de fermentação e transformada em levedura seca, que se constitui em matéria-prima para a fabricação de ração animal ou suplemento vitamínico para o homem (VENTURINI FILHO e MENDES, 2003; WALKER, 1998). No entanto, as leveduras da espécie *Saccharomyces* são das poucas leveduras fermentativas que são capazes de crescer em condições de anaerobiose, enquanto que leveduras fermentativas dos gêneros *Kluyveromyces* e *Candida* necessitam de quantidades substanciais de oxigênio para o seu metabolismo (PINHEIRO, 2004).

As leveduras utilizadas na fabricação de aguardente são linhagens de *Saccharomyces cerevisiae*. Nas fermentações espontâneas, um grande número de gêneros pode estar envolvido, como *Candida*, *Hansenula*, *Rhodotorula*, *Kluyveromyces*, *Kloeckera* e *Pichia*. Entretanto, *Saccharomyces cerevisiae* é a espécie predominante (PATARO et al., 2000; MORAIS et al., 1997).

Na produção de cachaça, o termo “pé de cuba” é geralmente utilizado para designar o volume inicial de massa de fermento (inóculo) que é adicionado ao mosto para que a fermentação se realize. Os principais tipos de fermento utilizados para se preparar um pé de cuba são o natural ou “caipira”, o prensado (leveduras de panificação) e as leveduras selecionadas. Na produção de cachaça de alambique a fermentação espontânea ou natural é a mais utilizada. O uso do fermento prensado ou de padaria é proibido pela legislação mineira (MINAS GERAIS, 2001), embora a legislação federal não proíba a sua utilização.

O preparo artesanal do fermento natural iniciador, também chamado fermento “caipira” é usualmente feito a partir da mistura de caldo de cana-de-açúcar diluído, suplementado com nutrientes como farelo de arroz, fubá, canjiquinha, farinha de milho ou soja, dentre outros cereais, com adição de suco de limão ou laranja para ajuste do pH (entre 4 e 5). São feitas adições diárias de caldo de cana-de-açúcar até se atingir um volume de cerca de 20% do volume útil da dorna de fermentação, num período que pode durar entre oito e quinze dias; em diversos casos, o prazo chega a ser de 25 a 30 dias. Neste período as leveduras se reproduzem e o volume de massa celular aumenta e desta forma, o inóculo é obtido a partir da fermentação espontânea do caldo de cana por leveduras selvagens principalmente *Saccharomyces cerevisiae* e bactérias naturalmente presentes no caldo da cana-de-açúcar, nos equipamentos e nas dornas de fermentação (CARVALHO NETTO, 2007; MALTA, 2006; VILELA, 2005; RIBEIRO, 2002; LIMA, 1999; NÓBREGA, 1994).

A microbiota natural é constituída por leveduras que estão presentes principalmente na cana-de-açúcar, ar e solo. Durante a propagação do fermento natural para a produção de cachaça artesanal, a atividade microbiana promove a acidificação do mosto e leva a um aumento na concentração alcoólica, acarretando o desaparecimento de algumas espécies de leveduras.

Essas mudanças de pH no mosto e no conteúdo alcoólico, junto com a alta concentração de açúcar (devido à adição diária de caldo de cana), influenciam a seleção de espécies de leveduras prevalentes na produção de cachaça (MORAIS et al., 1997; PATARO et al., 2000).

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* é reconhecida como uma espécie resistente a altas concentrações de etanol (12 a 15 % v/v), elevadas temperaturas, baixos valores de pH, que hidrolisa oligossacarídeos, como a maltotriose e a maltotretose para a produção e transformação em etanol, além de tolerar alta concentração de açúcar (osmotolerante) (VILA NOVA, 2008; GUIMARÃES, 2005; PATARO et al., 2000).

A utilização de leveduras selecionadas tem sido pesquisada visando um aumento da produtividade, vantagens tecnológicas e melhoria das características sensoriais da cachaça (GUERRA et al., 2001; OLIVEIRA, 2001; PATARO et al., 2000; MENDONÇA, 1999). Muito esforço tem sido feito no sentido de se obter linhagens de leveduras adequadas à fermentação alcoólica industrial, não apenas por procedimentos clássicos de melhoramento genético, como também por abordagens mais sofisticadas como a técnica do DNA recombinante, mas poucos são os relatos de seu emprego em escala industrial (FIALHO, 2000; BASSO et al., 1993).

As indústrias de vinhos e cervejas, já há um tempo têm utilizado levedura selecionada (*S. cerevisiae*) para a produção destas bebidas devido a suas características como iniciar rapidamente a fermentação, utilização eficiente dos açúcares presentes e tolerância ao etanol, dentre outras. Nas grandes destilarias brasileiras de álcool e mesmo em pequenas fábricas, já é comum o uso de fermentos selecionados no início da safra, mas ainda há um grande número de fábricas que trabalha com leveduras de panificação prensadas e com fermentos naturais caipiras. (FIALHO, 2000).

As leveduras utilizadas na produção de bebidas alcoólicas devem apresentar algumas características como iniciar a fermentação rapidamente, possuir boa taxa de fermentação, possuir relativa resistência a baixos valores de pH, possuir alta tolerância a altas concentrações de etanol e bom rendimento; devem produzir a melhor concentração e balanço de compostos secundários desejáveis para a qualidade da bebida, apresentar estabilidade

genética e ao fim da fermentação, serem facilmente removidas do meio por floculação ou centrifugação (OLIVEIRA, 2001; FIALHO, 2000).

2.5.1 Fermentação alcoólica

A maior parte das necessidades energéticas de uma célula microbiana destina-se à síntese de macromoléculas necessárias à sua sobrevivência e reprodução. A maior parte da energia utilizada pelas células provém da energia química contida na molécula de adenosina trifosfato (ATP). O metabolismo das leveduras refere-se à assimilação e desassimilação bioquímica dos nutrientes pelas células, o que por sua vez engloba todos os passos das reações enzimáticas, assim como a sua regulação. No processo de degradação, conhecido como catabolismo, os substratos são degradados pelas células, produzindo intermediários, poder redutor (sob a forma de NADH e NADPH) e energia (ATP). No processo de biossíntese, conhecido como anabolismo, as células utilizam os produtos intermediários, o poder redutor e a energia que produziram para geração de novas células. O conjunto dos processos de anabolismo e catabolismo é conhecido como metabolismo (BARBOSA, et al., 2005; WALKER, 1998; ROCHA, 1996).

Os açúcares representam a maior fonte de carbono e energia para a fisiologia celular. Dentre todos os carboidratos, a glicose é o substrato preferencial e ponto de partida para a maioria das vias metabólicas. O primeiro passo na utilização de qualquer açúcar por uma levedura normalmente é a passagem intacta do açúcar através da membrana celular ou a sua hidrólise fora da membrana celular, seguida pela entrada na célula de alguns ou todos seus produtos de hidrólise (CARVALHO et al., 2008; ROCHA, 1996). A maltose e a maltotriose são exemplos de açúcares que passam intactos através da membrana celular, enquanto a sacarose é hidrolisada por uma enzima extracelular, sendo seus produtos (glicose e frutose) metabolizados pela célula (ALMEIDA e SILVA, 2005).

A sacarose é hidrolisada extracelularmente pela enzima invertase e as hexoses resultantes são subseqüentemente transportadas por transportadores de hexoses. Uma vez no meio intracelular, as hexoses obtidas por meio da

hidrólise da sacarose são convertidas em glicose-6-fosfato, a partir do qual se produz o piruvato, através das enzimas da glicólise (WALKER, 1998). Na Figura 1 apresenta-se um esquema simplificado do metabolismo de uma hexose e de um dissacarídeo qualquer, que pode ser transportado para o interior da célula intacto ou após hidrólise prévia.

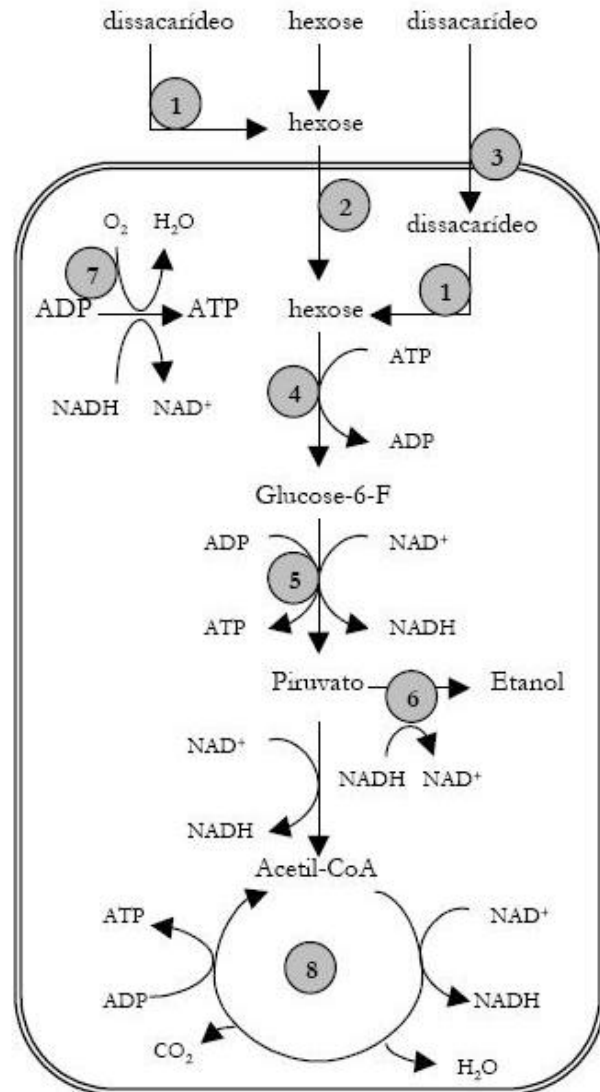


Figura 1. Representação esquemática do metabolismo de hexoses e dissacarídeos nas leveduras.

1. Dissacarídeo; 2. Transportador da hexose; 3. Transportador do dissacarídeo; 4. Conversão da hexose em glicose-6-fosfato; 5. Enzimas glicolíticas; 6. Piruvato descarboxilase e álcool desidrogenase; 7. Respiração mitocondrial; 8. Ciclo dos ácidos tricarboxílicos.

Fonte: Pinheiro (2004).

A descrição detalhada das vias metabólicas dos açúcares simples encontra-se em diversas obras da literatura. Durante este processo metabólico, produz-se energia (ATP) e equivalentes reduzidos (NADH) (PINHEIRO, 2004; ROCHA, 1996). A energia, sob a forma de ATP, poderá ser utilizada na realização de diversos trabalhos fisiológicos (absorção, excreção, e outros) e biossintéticos, necessários à manutenção da vida, crescimento e multiplicação para perpetuação da espécie (LIMA, 2001). O NADH produzido durante a glicólise pode ser oxidado a NAD⁺ através da conversão do piruvato em etanol, ou através da oxidação pelo oxigênio na cadeia respiratória. No processo da respiração, o piruvato é convertido em dióxido de carbono e água no ciclo dos ácidos tricarboxílicos (ciclo de *Krebs* ou ciclo do ácido cítrico). Durante este processo, produzem-se equivalentes redox para a produção de ATP (PINHEIRO, 2004).

Ambos os processos metabólicos, fermentativo e respiratório, são muito importantes em processos industriais. A fermentação é essencial para a produção de dióxido de carbono e etanol, enquanto a respiração favorece a produção de biomassa. O etanol e o gás carbônico resultantes da fermentação constituem tão somente produtos de excreção das leveduras, sem utilidade metabólica para a célula em anaerobiose (CARDOSO, 2006; LIMA, 2001). Entretanto, o etanol, bem como outros produtos de excreção (como o glicerol e ácidos orgânicos como succínico, acético e outros) podem ser oxidados metabolicamente, gerando mais ATP e biomassa, mas apenas em condição de aerobiose (WALKER, 1998).

As principais vias metabólicas envolvidas na obtenção dos intermediários necessários à síntese celular são a via EMP (Embden-Meyerhof-Parnas), a via HMP (hexose monofosfato), o ciclo TCA (ciclo dos ácidos tricarboxílicos) e o ciclo do glioxilato (PINHEIRO, 2004). A glicose e a frutose são transportadas para o interior da célula por difusão facilitada e através de uma fosforilação, as hexoses intracelulares entram então num mecanismo glicolítico. Numa primeira fase, em condições de aerobiose e baixa concentração de açúcar, a glicose sofre uma glicólise pela via EMP a piruvato, com produção de energia sob a forma de ATP. O piruvato é depois oxidado no ciclo dos ácidos tricarboxílicos a dióxido de carbono e água. Esta via metabólica converte apenas 70 a 94 % da glicose em piruvato. O restante é

metabolizado pela via das fosfato-pentoses (HMP) que tem um papel importante na produção de poder redutor na forma de NADPH, mas que produz apenas metade da energia produzida através da via EMP. As reações desta via são diferentes, mas o produto final também é o piruvato (ROCHA, 1996).

Dos fatores ambientais que regulam o metabolismo respiratório e fermentativo em células de leveduras, a disponibilidade de glicose e oxigênio é o mais descrito pela literatura e está diretamente relacionado a diversos fenômenos de regulação metabólica (PINHEIRO, 2004; WALKER, 1998). Nas leveduras, as vias bioquímicas podem ser reguladas a vários níveis. Nestes níveis, podem ser incluídas a síntese enzimática (indução, repressão, desrepressão de genes), a atividade enzimática (ativação alostérica, inibição de isoenzimas) e a distribuição celular (localização na mitocôndria das enzimas respiratórias) (WALKER, 1998).

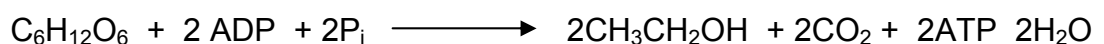
No caso de algumas leveduras, entre elas a *Saccharomyces cerevisiae*, em presença de glicose e mesmo em condições estritamente aeróbias, o metabolismo é do tipo fermentativo. Esse comportamento metabólico é provocado por um efeito conhecido como efeito *Crabtree* ou repressão catabólica. Em outras palavras, o efeito *Crabtree* pode ser definido como a ocorrência de fermentação alcoólica em condições aeróbias, na presença de excesso de açúcar. Esse efeito se pronuncia em condições onde a concentração de glicose ultrapassa um valor limite. O mecanismo responsável pela repressão catabólica pode ser bastante complexo, entretanto, alguns estudos mostram que ocorre principalmente através do forte efeito repressivo da glicose sobre a atividade de enzimas respiratórias e também, possivelmente, pela inibição da expressão genética de enzimas constituintes da via respiratória, fazendo com que parte do piruvato que não pode ser oxidado pelo ciclo dos ácidos tricarbóxicos seja reduzido a etanol pelo processo fermentativo (BAKKER et al., 2001).

Um outro efeito conhecido como efeito *Pasteur*, aplica-se à indução da respiração pelo oxigênio, com a concomitante diminuição da atividade fermentativa das células. Contudo, este fenômeno só pode ser observado com pequenas concentrações de glicose, menos de 5 mM, em culturas de levedura *Saccharomyces cerevisiae*, ou em condições de limitação de determinados nutrientes, e está associado a um decréscimo da afinidade do consumo do

açúcar em condições aeróbias (WALKER, 1998; BARNETT, 1997; FIECHTER *et al.*, 1981). Em outras palavras, o efeito *Pasteur* consiste na inibição do metabolismo redutivo pela respiração, o que leva a uma menor utilização da glicose pela levedura em situações aeróbias do que em situações anaeróbias. Se a concentração de glicose disponível é elevada, o efeito *Pasteur* é inibido, favorecendo a ocorrência do efeito *Crabtree*. Por este motivo, o efeito *Crabtree* é muitas vezes designado de efeito contra-*Pasteur* (WALKER, 1998).

A principal diferença entre o efeito *Pasteur* e o efeito *Crabtree* é que no primeiro, observa-se a tendência da levedura respirar em meios anaeróbios, enquanto no segundo, constata-se que a levedura pode fermentar mesmo na presença de oxigênio. É sabido que a glicose e a frutose em elevadas concentrações reprimem a respiração da levedura alcoólica. Dessa forma, a respiração pela levedura apenas é possível na presença de oxigênio e baixa concentração de açúcar; em todas as outras possibilidades ambientais, a célula deverá fermentar preferencialmente (CARVALHO *et al.*, 2008; NOGUEIRA e VENTURINE FILHO, 2005).

A glicose é convertida a piruvato pela via glicolítica e o piruvato é convertido em etanol e CO₂ em um processo de dois passos. No primeiro passo, o piruvato sofre a descarboxilação em uma reação irreversível catalisada pela piruvato descarboxilase. Esta reação é uma descarboxilação simples e não envolve oxidação do piruvato. No segundo passo, através da ação da álcool desidrogenase, o acetaldeído é reduzido a etanol, com o NADH, fornecendo poder redutor. A equação geral da fermentação alcoólica é (LEHNINGER, 1995):



Estima-se que 5% do açúcar metabolizado pela levedura seja desviado para gerar produtos secundários de fermentação resultando num rendimento de 95 % de etanol quando utilizados mostos sintéticos. Já em condições industriais, nas quais fatores físicos, químicos e microbiológicos afetam a levedura, rendimentos de 90 % normalmente são obtidos, o que implica em desvios de 10 % do açúcar processado para a formação de outros produtos que não o etanol (LIMA, 2001).

O rendimento da fermentação pode variar dependendo do tipo de fermento utilizado. Nóbrega (1994) ao trabalhar com dois tipos de fermentos (caipira e prensado) inoculados em mostos de caldo de cana-de-açúcar, verificou que a fermentação natural, usando fermento caipira, durou 61 horas de fermentação, possuindo o dobro do período de tempo de fermentação em relação à fermentação induzida, que durou 33 horas de fermentação, utilizando fermento prensado, possibilitando então um aumento na quantidade de produtos secundários, o que pode ser favorável, dentro de certos limites quando tratamos de qualidade sensorial em bebidas alcoólicas.

Com base na estequiometria resumida da reação de fermentação alcoólica pode-se calcular o equivalente em açúcar consumido para formação de cada um dos produtos da fermentação, incluindo a biomassa (Tabela 3). Dessa forma, 180 g de glicose produzem 92 g de etanol e 88 g de gás carbônico. O rendimento ideal da fermentação vem da relação em que 100 g de glicose formariam 51,11 g de etanol e 48,89 g de CO₂. Considerando-se a densidade do etanol a 20 °C como 0,789 g.mL⁻¹, as 100 g de glicose forneceriam 64,7 mL de etanol (NÓBREGA, 1994).

Diversos fatores, físicos (temperatura, pressão osmótica), químicos (pH, oxigenação, nutrientes minerais e orgânicos, inibidores) e microbiológicos (espécie, linhagem e concentração da levedura, contaminação bacteriana), afetam o rendimento da fermentação. Geralmente, as quedas na eficiência fermentativa decorrem de uma alteração na estequiometria do processo, levando à maior formação de produtos secundários (especialmente glicerol e ácidos orgânicos) e biomassa (LIMA, 2001).

Tabela 3. Produção dos diversos produtos da fermentação alcoólica, em g.100 g⁻¹ de glicose metabolizada de acordo com várias fontes e para diferentes eficiências fermentativas.

Produto da Fermentação	Pasteur 95 %	Jackman (1987) 90-95 %	Basso et al. (1996) 85-92 %
Etanol	48,5	45,0 – 49,0	43,0 – 47,0
Gás Carbônico	46,4	43,0 – 47,0	41,0 – 45,0
Glicerol	3,3	2,0 – 5,0	3,0 – 6,0
Ácido succínico	0,6	0,5 – 1,5	0,3 – 1,2
Ácido acético	-	0,0 – 1,4	0,1 – 0,7
Óleo fúsel	-	0,2 – 0,6	-
Butilenoglicol	-	0,2 – 0,6	-
Biomassa (massa seca)	1,2	0,7 – 1,7	1,0 – 2,0

Fonte: Lima (2001)

As leveduras não são micro-organismos muito exigentes em termos nutricionais e cuja necessidade depende das condições do meio e do modo de crescimento. O crescimento das leveduras está diretamente relacionado com a presença de todas as substâncias necessárias à síntese de material celular e à produção de energia durante a biossíntese. As substâncias que compõem o meio de cultura devem estar em proporção com as que constituem as células. A quantidade e o tipo de nutrientes necessários às células variam de acordo com a respectiva estirpe de levedura (BOZE *et al.*, 1992).

2.6 Compostos voláteis presentes na cachaça

A fermentação alcoólica é a principal etapa do processo de produção de aguardente de cana, pois é a fase na qual são produzidos os principais componentes químicos da bebida, pela ação direta ou indireta da levedura e de outros microrganismos atuantes nesta fase. A produção destes compostos pode ser influenciada não somente pela qualidade da matéria-prima, mas também pelas condições de assepsia nas operações de moagem e filtragem e, sobretudo, pela condução do processo fermentativo (CHERUBIN, 1998).

2.6.1 Ácidos orgânicos

A acidez de uma cachaça é de grande importância, constituindo um fator de qualidade, uma vez que durante a produção da bebida, os ácidos orgânicos voláteis reagem com os álcoois presentes, aumentando a formação dos ésteres, que são um dos constituintes responsáveis pelo aroma, além de conferir corpo às bebidas destiladas (JERÔNIMO 2004; CHERUBIN, 1998).

O conteúdo de ácidos orgânicos é expresso pela acidez volátil, fixa ou total, sendo esta última a soma das duas anteriores. Os ácidos orgânicos voláteis são os mais comuns em bebidas destiladas. Além do ácido acético e láctico, que são subprodutos normais da fermentação alcoólica, estão presentes os ácidos fórmico, butírico, propiônico e outros em quantidades pequenas. Os ácidos fixos são principalmente o tartárico, cítrico e málico

(NÓBREGA, 1994). O ácido acético é quantitativamente predominante e sua concentração varia de 60 a 95 % da acidez total. O excesso de acidez promove sabor indesejado e ligeiramente “agressivo” em aguardente de cana, depreciando a qualidade da bebida (JANZANTTI, 2004; CHERUBIN, 1998). As proporções dos ácidos nas bebidas alcoólicas são determinadas em grande extensão pela linhagem da levedura e condições de fermentação e, em menor extensão, pelo substrato utilizado (JANZANTTI, 2004). *Sacharomyces cerevisiae* na presença de oxigênio pode converter até 30 % do açúcar do mosto em ácido acético (BATISTA, 2008).

Frequentemente, quantidades elevadas de acidez são associadas a práticas de estocagem inadequada da cana e contaminações do mosto com bactérias acéticas, decorrente de um tempo excessivo entre o processo de fermentação e a destilação (BATISTA, 2008; CARDOSO, 2006; FARIA, 1989). Com o envelhecimento, a aguardente apresenta um aumento de acidez devido a fatores como incorporação de ácidos existentes na madeira (ácido tânico, ácido gálico) à bebida estocada e oxidação de etanol a ácido acético (CARVALHO, 2001).

Vilela et al. (2007) avaliando a composição físico-química de cachaças adquiridas no Sul de Minas encontrou duas amostras com teor acima do permitido pela legislação sendo que uma delas apresentou um teor de acidez volátil muito elevado (288,55 mg.100 mL⁻¹ de álcool anidro). Em estudo realizado por Silva (2008) a acidez volátil das cachaças apresentou-se fora dos padrões legais exigidos pela legislação para 9 (29 %) de 31 amostras analisadas. Miranda et al. (2008) avaliando o perfil químico de aguardentes envelhecidas concluíram que todas as amostras avaliadas estavam dentro dos padrões exigidos pela legislação.

2.6.2 Ésteres

Os ésteres são numericamente o maior grupo de compostos de aroma em bebidas destiladas, sendo oriundos da fermentação, da destilação e do envelhecimento. Tanto a quantidade como as proporções relativas são de grande importância para a percepção do aroma das bebidas, pois os ésteres

conferem aromas característicos, até mesmo quando presentes em baixa concentração e possuem papel fundamental nas características de aroma. A maior parte dos ésteres é constituída por ésteres de etila, formados durante a fermentação e destilados junto com o etanol. Estas reações ocorrem porque o etanol pode reagir com ácidos derivados do ácido pirúvico, como ácido lático e acético, bem como ácidos orgânicos de cadeias curtas (butírico, caprótico, caprílico, cáprico e láurico) (JANZANTI, 2004; JERÔNIMO, 2004).

Vários fatores interferem na síntese de ésteres, tais como a estirpe da levedura, a composição do meio, aeração (inibe a formação de ésteres) e temperatura (BERRY, 1995; PEDDIE, 1990). O principal éster da cachaça é o acetato de etila, o qual em pequenas concentrações incorpora um aroma de frutas à bebida, que é desejável e agradável. Em quantidades excessivas, porém, confere aroma indesejável e enjoativo (CARDOSO, 2006; JERÔNIMO, 2004; PEREIRA et al., 2003; MAIA, 1994).

Pereira et al. (2003) avaliando amostras de cachaça concluíram que em relação aos ésteres, expressos em acetato de etila, todas as amostras analisadas estavam em conformidade com a legislação brasileira. Resultado semelhante foi encontrado por Miranda et al. (2008), Vilela et al. (2007) e Bogusz Junior et al. (2006).

2.6.3 Aldeídos

Os aldeídos, principalmente o acetaldeído, são co-produtos normais da fermentação alcoólica e representam a fração mais volátil encontrada nas bebidas alcoólicas, sendo a maioria formada durante estágios preliminares do processo de fermentação, tendendo a desaparecer nas etapas finais, desde que o mosto sofra aeração. A formação de aldeídos depende da levedura, assim como das condições de fermentação (PEREIRA et al., 2003; YOKOYA, 1995; PIGGOTT, 2003). São intermediários da formação dos álcoois formados pela descarboxilação de oxoácidos, ou então pela oxidação dos respectivos álcoois como ocorre com o furfural e o hidroximetilfurfural (CARDOSO, 2006).

De modo geral, os aldeídos com até oito átomos de carbono têm aromas penetrantes, geralmente enjoativos, afetam o aroma das bebidas alcoólicas e

por isso são considerados indesejáveis. A formação desses aldeídos não possui ocorrência restrita na fermentação. O acetaldeído, por exemplo, em fermentações normais aparece no mosto durante as primeiras horas, porém diminui sua concentração ao longo da fermentação, podendo praticamente desaparecer no final do processo por meio da oxidação a ácido acético (BATISTA, 2008; CARVALHO, 2001). O acetaldeído é encontrado em maior quantidade nas bebidas alcoólicas, constituindo mais de 90 % do conteúdo de aldeídos em uísque, conhaque e rum (NYKANEN, 1986).

Os aldeídos, embora sejam constituintes normais em vinhos e destilados, podem produzir modificações indesejáveis sobre o aroma deles (CURVELO-GARCIA, 1988). Quando presentes no produto final, em excesso, podem provocar náuseas, vômitos, cefaléia, decréscimo da pressão cardíaca e taquicardia (BOGUSZ JUNIOR et al., 2006).

Outro aldeído importante em bebidas destiladas é a acroleína (2-propenal), formada pela desidratação do glicerol durante a destilação. Sua presença em aguardente de cana é indesejável devido ao seu forte odor pungente (CHERUBIN, 1998). A intoxicação por aldeídos pode levar a sérios problemas relacionados com o sistema nervoso central (CARDOSO, 2006).

Em estudo realizado por Pereira et al. (2003) duas amostras (4,44 %) das 45 amostras de cachaça analisadas apresentaram-se acima dos padrões estabelecidos pela legislação brasileira para aldeídos totais. Miranda et al. (2008) avaliando o perfil químico de aguardentes envelhecidas não encontraram amostras acima do permitido pela legislação. Em pesquisa realizada por Miranda et al. (2007), das 94 marcas de cachaça avaliadas, 16 estavam em desacordo com os padrões legais vigentes para teor de aldeídos totais.

2.6.4 Álcoois superiores

Os álcoois superiores são conhecidos também como óleo fúsel e formam quantitativamente o maior grupo de compostos responsáveis pelo aroma e sabor das bebidas alcoólicas (NYKANEN e NYKANEN, 1991). Os principais álcoois produzidos pelas leveduras, além do etanol, são álcoois que

possuem mais de dois carbonos em sua cadeia como 1-propanol, butanol, isobutanol, 2-metilbutanol, 3-metilbutanol, hexanol e 2-feniletanol. Após o etanol, o álcool isoamílico é o principal álcool sintetizado durante a fermentação e dependendo da natureza da bebida, pode perfazer 40 a 70 % do total da fração de óleo fúsel (JANZANTTI, 2004). Os principais álcoois superiores encontrados nas aguardentes de cana são amílico, isoamílico, propanol, isobutanol, isopropanol e butanol. Os álcoois hexílico, heptílico e otilico estão presentes em mínimas quantidades (LIMA, 1964).

A produção de álcoois superiores parece ser uma característica das leveduras em geral, e as quantidades produzidas variam com o gênero, espécie e provavelmente com a linhagem utilizada e também com as condições de fermentação. Os álcoois superiores são formados a partir do desvio do metabolismo dos aminoácidos pelas leveduras, ocasião em que o cetoácido envolvido é descarboxilado a aldeído com posterior redução a álcool superior. Com o aumento do número de carbonos o aroma modifica-se substancialmente e os álcoois ficam oleosos; alguns lembram aroma de flores (CARDOSO, 2006). A quantidade formada é influenciada pela composição do meio (concentração de açúcar, pH, concentração e tipo de fonte de nitrogênio), pela temperatura, pelo grau de aeração durante a fermentação além da linhagem da levedura. A formação de álcoois superiores é maior quando a fermentação for mais demorada, resultante da atividade de fermento mais fraco. Opostamente aos ésteres, a síntese de álcoois superiores é estimulada por oxigênio e está relacionada linearmente ao crescimento da levedura (GIUDICI et al., 1990).

Semelhante ao metanol e etanol, os álcoois superiores apresentam propriedades biológicas, sendo depressores do sistema nervoso central. Entretanto não provocam acidose nem lesão na retina (MAIA, 1994). A presença de altos teores de álcoois superiores, principalmente de 1-propanol, está associado a aguardente de qualidade sensorial inferior. Sugere-se haver uma ligação entre sintomas como dor de cabeça, náusea e fraqueza muscular quando se consome em excesso bebidas alcoólicas com quantidades elevadas de álcoois superiores (CARVALHO, 2001).

De 45 amostras de aguardente analisadas por Pereira et al. (2003), 7 amostras (15,6 %) apresentaram álcoois superiores fora dos padrões exigidos pela legislação. Já Vilela et al. (2007) concluíram que nenhuma das amostras

avaliadas apresentou concentração superior ao limite estabelecido pela legislação para álcoois superiores. Em pesquisa realizada por Miranda et al. (2007), de 94 marcas de cachaça avaliadas, apenas 4 estavam em desacordo com os padrões legais vigentes para teor de álcoois superiores.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material experimental

3.1.1 Variedades de cana-de-açúcar

Neste trabalho, utilizou-se as variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280 para a produção de cachaça por serem variedades que apresentam características favoráveis à sua utilização na produção de açúcar e álcool, sendo assim, podem ser utilizadas na produção de cachaça, e também por serem variedades indicadas para plantio na região de Viçosa, cuja topografia acidentada exige do produtor maior cuidado no manejo e conservação do solo.

As variedades foram produzidas na estação experimental de cana-de-açúcar da Universidade Federal de Viçosa (UFV) e adquiridas no final de setembro de 2008. Foram colhidas apresentando um teor médio de sólidos solúveis de 23 °Brix e moídas em moenda elétrica de um único terno no mesmo dia da colheita. O caldo extraído foi filtrado em filtro de nylon com aro de plástico para remoção de impurezas como terra e bagacilho e armazenado em galões de polietileno de 20 L e garrafas de polietileno tereftalato (PET), devidamente higienizados e armazenados em câmara fria a $-8\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ no Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA) da UFV durante 3 meses até a sua utilização.

A colheita das canas-de-açúcar e os processos de moagem e armazenamento do caldo foram realizados em dias diferentes para cada variedade, SP80-3280 e RB85-5536, com intervalo de uma semana entre si. Algumas características das variedades de cana-de-açúcar RB85-5536 e SP80-3280 encontram-se na Tabela 4.

O caldo de cana-de-açúcar foi descongelado, colocando-o à temperatura de refrigeração por 12 horas, filtrado utilizando-se filtro de nylon com aro de plástico, diluído com água destilada à concentração de 14 °Brix e submetido à fermentação alcoólica por 3 tipos de fermento: caipira, selecionado e misto (caipira + selecionado).

Tabela 4. Características agroindustriais, morfológicas e de tolerância a doenças e pragas de duas variedades de cana-de-açúcar recomendadas para produção de cachaça.

Características	Variedades	
	RB 85-5536 ¹	SP 80-3280 ²
Produtividade(1)	alta	alta
Maturação(2)	média	média
Teor de sacarose(1)	alto	alto
Colheita	jun - set	jun - ago
Exigência/fertilidade dos solos(3)	média	média
Brotação de soca(4)	boa	boa
Tombamento(5)	raro	pouco
Sensibilidade a herbicidas	ausente	média
Ferrugem(6)	tolerante	tolerante
Carvão(6)	tolerante	tolerante
Broca/podridões(6)	intermediária	suscetível

(1) Características agroindustriais: Alto ou Bom, Médio e Baixo ou Ausente; (2) Maturação: Precoce, Média e Tardia; (3) Exigência em fertilidade de solos: Alta, Média e Baixa; (4) Brotação de soca sob condições de pisoteio, Perfilhamento, Fechamento de entrelinhas (referem-se à velocidade de crescimento e sombreamento do solo minimizando a mato-competição): Bom, Médio e Regular; (5) Tombamento dos colmos está relacionado com o hábito de crescimento da planta, o qual varia de ereto a decumbente: Frequente, Pouco e Raro; (6) Doenças e complexo broca/podridões: Tolerante, Intermediária e Suscetível.
 Fonte: Silveira et al, 2002¹; Macedo et al, 2009².

3.1.2 Fermentos

Neste trabalho foram utilizados três tipos de fermento para a produção de cachaça: fermentos caipiras, fermentos selecionados e fermentos mistos (caipira + selecionado).

Foram utilizados três fermentos caipiras fornecidos por pequenos produtores de cachaça dos municípios de Santa Cruz do Escalvado - MG e Raul Soares - MG. Para o preparo de cada fermento, um recipiente de plástico de capacidade de 100 L foi devidamente higienizado. Em um recipiente à parte foi misturado manualmente o farelo de arroz e fubá (cerca de 50 g de cada), adicionado de suco de limão (cerca de 4 limões) para ajuste do pH (entre 4 e 5). Foi feita uma pasta com estes ingredientes, que foi acondicionada em um saco limpo de algodão bem amarrado, e este saco foi preso no fundo do recipiente de plástico. Adicionou-se sobre a pasta fixada no recipiente 25 L de

caldo de cana-de-açúcar proveniente de uma planta madura, fresca e sadia, à aproximadamente 8 °Brix e 26 °C. O recipiente foi coberto com um pano de algodão limpo e úmido e incubado à temperatura ambiente (25 °C ± 2 °C). Foram feitas adições diárias de caldo de cana-de-açúcar em média com o mesmo teor de sólidos solúveis que o caldo de cana inicial durante aproximadamente 15 dias. Após esse período, os fermentos foram enviados para o Laboratório de Produção e Controle de Qualidade de bebidas (LPQB) do DTA/UFV e identificados como FC1, FC2 e FC3, provenientes de produtores distintos de cachaça da região.

Os fermentos selecionados foram adquiridos em empresas especializadas em ingredientes e insumos para a indústria de bebidas. As linhagens utilizadas neste experimento foram Maurivin BP-725 (FS1), Mauriferm Y-904 (FS2) e Saflager W-34/70 (FS3) todos próprios para fermentações alcoólicas, porém mais adequados para outros substratos. O fermento Saflager W-34/70 é constituído por uma estirpe de *Saccharomyces cerevisiae* de alta sedimentação isolada na Alemanha e utilizada no mundo inteiro na indústria cervejeira. O fermento Maurivin BP-725 é constituído por uma estirpe de *Saccharomyces cerevisiae* tolerante a altas concentrações de etanol e de alta sedimentação utilizada para produção de vinho. O fermento Mauriferm Y-904 é constituído por uma estirpe de *Saccharomyces cerevisiae* altamente tolerante a temperaturas elevadas e indicada para produção de vinhos em geral. Essas variedades foram escolhidas com o objetivo de avaliar a sua adaptação ao caldo de cana-de-açúcar como substrato e verificar a qualidade das bebidas obtidas a partir do vinho proveniente de suas fermentações.

Os fermentos mistos foram preparados com proporções de 60 % em peso úmido (massa úmida de células) de fermento caipira e 40 % em peso úmido (massa úmida de células) de fermento selecionado. A massa úmida de células foi obtida a partir da centrifugação a 1000 X g durante 15 minutos do vinho resultante das fermentações da ativação dos fermentos descrito em 3.3.1. A proporção total de fermento caipira foi composta por 20 % em peso úmido (massa úmida de células) de cada um dos fermentos mencionados anteriormente (FC1, FC2 e FC3) perfazendo o total de 60 % e cada um dos fermentos selecionados (FS1, FS2 e FS3) constituía os 40 % restante da

massa úmida de células. Os fermentos mistos foram identificados como FM1 (caipiras + FS3), FM2 (caipiras + FS2) e FM3 (caipiras + FS1), de acordo com o fermento selecionado que fazia parte de sua composição.

As cachaças foram obtidas da fração coração dos destilados de vinho de cana-de-açúcar provenientes das fermentações realizadas com os fermentos caipiras, selecionados e mistos e as variedades de cana RB85-5536 e SP80-3280. Os processos de fermentação e destilação foram conduzidos nos Laboratórios de Pesquisa e Qualidade de Bebidas (LPQB) e de Biomoléculas e Bioprocessos do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa - UFV.

3.2 Procedimento experimental

A fermentação dos mostos foi conduzida em batelada e em escala de laboratório utilizando balões de vidro com capacidade para 3 litros, cobertos com *parafilm* possuindo um pequeno orifício para liberação de CO₂ e para coleta de amostra. Ao volume de mosto de 2,5 litros foram inoculados 1,0 % em peso úmido dos fermentos previamente ativados nos caldos de cana das duas variedades de cana selecionadas para o experimento como descrito no item 3.2.1.

As fermentações foram conduzidas em incubadora BOD Nova Ética, na temperatura de 28 °C ± 2 °C e foi feito o acompanhamento do processo fermentativo pela medição do consumo de substrato, formação de produto e acidez volátil em intervalos de tempo (0, 24, 48 e 57 horas) durante a evolução da fermentação. Após a obtenção do caldo de cana fermentado (vinho), a destilação foi realizada em escala de laboratório utilizando um alambique de cobre com capacidade para 3 litros da marca Santa Efigênia. O volume de destilado foi calculado em função do volume e teor alcoólico do vinho (v/v) e da concentração de álcool esperada na cachaça. Os produtos da destilação foram divididos em frações de cabeça, coração e cauda. Os primeiros 10 % de destilado foram recolhidos como cabeça, os 80 % de destilado posterior foram recolhidos como coração e os últimos 10 % destilados foram recolhidos como

cauda. As destilações foram conduzidas em batelada e foram conduzidas de forma lenta sendo que o menor tempo de destilação obtido foi de 2 horas.

As frações coração de destilado obtidas foram analisadas em cromatografia gasosa em relação aos principais compostos voláteis presentes: ésteres totais expressos em acetato de etila, aldeídos totais expressos em acetaldeído e álcoois superiores, expressos pela soma dos álcoois isoamílico, isobutílico e 1-propanol.

3.3 Métodos

3.3.1 Ativação dos fermentos

Os três fermentos naturais (caipiras) foram coletados pelos próprios produtores dos municípios de Santa Cruz do Escalvado e Raul Soares, Minas Gerais, nas condições citadas no item 3.1.2 e enviados ao LPQB e armazenados em câmara fria à $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ até sua utilização. Inicialmente, 20 % v/v de fermento foram ativados em 2 L de caldo de cana da variedade RB 85-5536 a 14 °Brix, incubados a $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 h e em seguida foram adicionados 2 L da variedade de cana SP 80-3280 na mesma concentração de sólidos solúveis e incubados por mais 24 h na mesma temperatura. Após esse tempo, o mosto fermentado foi separado do fermento decantado retirando-se o sobrenadante de forma que não fosse feito nenhum movimento que provocasse a suspensão do fermento decantado e este por sua vez, foi centrifugado a 1000 X g, a fim de se obter uma massa úmida de células. Os fermentos selecionados foram ativados conforme citado anteriormente, entretanto a concentração de fermento liofilizado utilizada foi apenas 1 % m/v.

Os fermentos mistos foram compostos em combinações apresentadas no item 3.1.2 nas proporções de 60 % m/v de fermento caipira e 40 % m/v de fermento selecionado. Os fermentos caipiras e selecionados utilizados para esta composição foram os mesmos citados no item 3.1.2 e a sua ativação também ocorreu conforme este item. Cada fermento foi ativado em um balão separado, foram centrifugados e as proporções a serem utilizadas preparadas no momento da sua utilização nos ensaios.

3.3.2 Determinação de sólidos solúveis e açúcares redutores totais no mosto e vinho

O acompanhamento da atenuação dos sólidos solúveis no mosto foi feito por refratometria, utilizando um refratômetro portátil com escala de 0 a 32 °Brix, a partir de alíquotas do sobrenadante obtido da centrifugação do mosto e vinho. Uma gota de amostra foi disposta sobre o prisma do equipamento e este foi colocado contra a luz para se ter a leitura do teor de sólidos solúveis, expresso em graus Brix.

O teor de açúcares redutores totais no mosto (tempo inicial da fermentação) e vinho (tempo final da fermentação) foi determinado pelo método do ácido 3,5-dinitrossalicílico DNS (MILLER, 1959) após hidrólise ácida da sacarose presente no meio com 1 mL de HCl (ácido clorídrico) segundo metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2004). O procedimento experimental consistiu em adicionar num tubo de ensaio, 1 mL de amostra previamente hidrolisada a 3 mL de reagente DNS, agitar em agitador de tubos tipo *vortex* e colocar os tubos num banho em ebulição durante 5 min. Após resfriamento, adicionou-se 16 mL de água destilada e leu-se a absorbância a 540 nm em espectrofotômetro Thermospectronic Biomate 5. Para o branco substituiu-se a amostra por água destilada e seguiu-se o mesmo procedimento. A concentração de sacarose foi determinada recorrendo a uma curva de calibração que relacionava absorbância e concentração de sacarose hidrolisada.

3.3.3 Determinação do teor alcoólico do mosto, vinho e cachaça

A determinação do teor alcoólico do mosto, vinho e cachaça foi feita de acordo com as normas do Instituto Adolfo Lutz (2004). Alíquotas do mosto e vinho nos tempos 0, 24, 48 e 57 horas de fermentação foram centrifugadas a 1000 X g por 10 minutos e em seguida 100 mL do sobrenadante foi destilado em destilador eletrônico Gibertini em função própria para este fim. As amostras de cachaça foram apenas destiladas em destilador eletrônico. O destilado foi analisado por picnometria para determinação da densidade relativa da amostra

a 20 °C. A tabela densidade x grau alcoólico disponível no manual do próprio aparelho foi consultada e o teor alcoólico determinado em % v/v de acordo com a densidade relativa da amostra.

3.3.4 Determinação da acidez volátil do mosto, vinho e cachaça

A acidez volátil do mosto, vinho e cachaça foi determinada por titulometria com utilização de solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 mol.L⁻¹. Alíquotas do mosto e vinho nos tempos 0, 24, 48 e 57 horas de fermentação foram centrifugadas a 1000 X g por 10 minutos. Em seguida, 20 mL de amostra (mosto, vinho e cachaça) foram destilados por arraste de vapor em destilador eletrônico Gibertini conforme descrito em manual de utilização do aparelho e titulados com NaOH utilizando três gotas de fenolftaleína como indicador (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2004).

3.3.5 Determinação de compostos voláteis por cromatografia gasosa

As amostras de cachaça foram analisadas por um cromatógrafo a gás da marca Shimadzu, modelo 17A, com detector de ionização de chama (GC-FID), coluna capilar Supelco PAG (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm). Os gases utilizados foram hélio, ar sintético e hidrogênio, todos com alto grau de pureza (99, 999 %). As condições cromatográficas foram as seguintes: a programação da temperatura da coluna no forno teve temperatura inicial de 35 °C por 5 minutos, aumentando 10 °C por minuto até 100 °C, permanecendo nesta temperatura por 10 minutos, aumentando 10 °C por minuto até 180 °C; temperatura do injetor de 180 °C, temperatura do detector de 200 °C; vazão do gás de arraste (He) de 1 mL.min⁻¹; vazão da chama (H₂) de 20 mL.min⁻¹; vazão do ar sintético de 175 mL.min⁻¹ e razão de divisão *split* 2. A cromatografia gasosa foi utilizada para quantificação de acetaldeído, acetato de etila, álcool isoamílico, álcool isobutílico e 1-propanol. A identificação destes compostos voláteis foi feita pela comparação dos tempos de retenção dos compostos com os picos da amostra e do padrão, injetados nas mesmas condições. As

amostras de aguardente foram injetadas diretamente, conforme feito em estudos anteriores de análise cromatográfica de cachaça (YOKOTA, 2002; ANDRADE-SOBRINHO et al., 2002; LABANCA, 2004).

3.3.6 Determinação do fator de conversão de substrato em etanol

O fator de conversão de substrato em etanol expressa a quantidade de etanol formada por unidade de açúcar consumido. Foi determinado segundo Hiss (2001).

$$Y_{p/s} = \frac{P - P_0}{S_0 - S}$$

Em que:

P = massa de etanol final (g)

P₀ = massa de etanol inicial (g)

S = massa de substrato residual no meio (final) (g)

S₀ = massa de substrato total adicionada ao meio (inicial) (g)

A determinação da concentração de etanol presente no mosto durante e ao final da fermentação foi realizada em volume (% v/v). Para o cálculo do rendimento, converteram-se os valores para massa (% m/v), utilizando para o cálculo o valor da densidade do etanol à 20 °C, ou seja, 0,789 g.cm⁻³. Considerando esta transformação de unidades juntamente com o valor médio de açúcar consumido durante a fermentação, foi possível determinar o rendimento da fermentação alcoólica.

3.3.7 Determinação da eficiência da fermentação

A eficiência do processo fermentativo foi determinada segundo Hang et al. (1981):

$$\text{Eficiência (\%)} = \frac{[\text{álcool}] \text{ produzido}}{[\text{álcool teórico}] \text{ a partir de açúcares consumidos}} \times 100$$

(0,511g/g)

3.4 Delineamento experimental

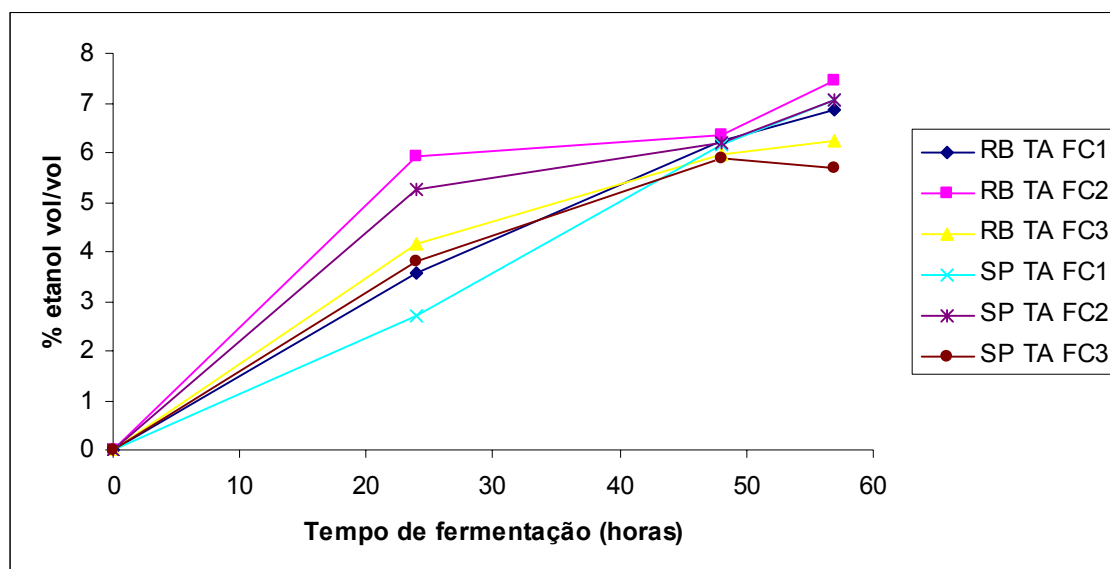
O experimento foi realizado em esquema fatorial (9x2) em delineamento inteiramente casualizado, em que se avaliou nove tipos de fermentos (3 fermentos caipiras, 3 fermentos selecionados e 3 fermentos mistos) e duas variedades de cana-de-açúcar (RB 85-5536 e SP 80-3280) em duas repetições. Os dados foram analisados por meio de análise de variância (teste F) e as médias foram comparadas pelo teste de Duncan, adotando-se o nível de significância de 5 %. Os dados foram analisados por meio do programa SAS (Statistical Analysis System) versão 9.1 licenciado para Universidade Federal de Viçosa.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Avaliação do processo fermentativo

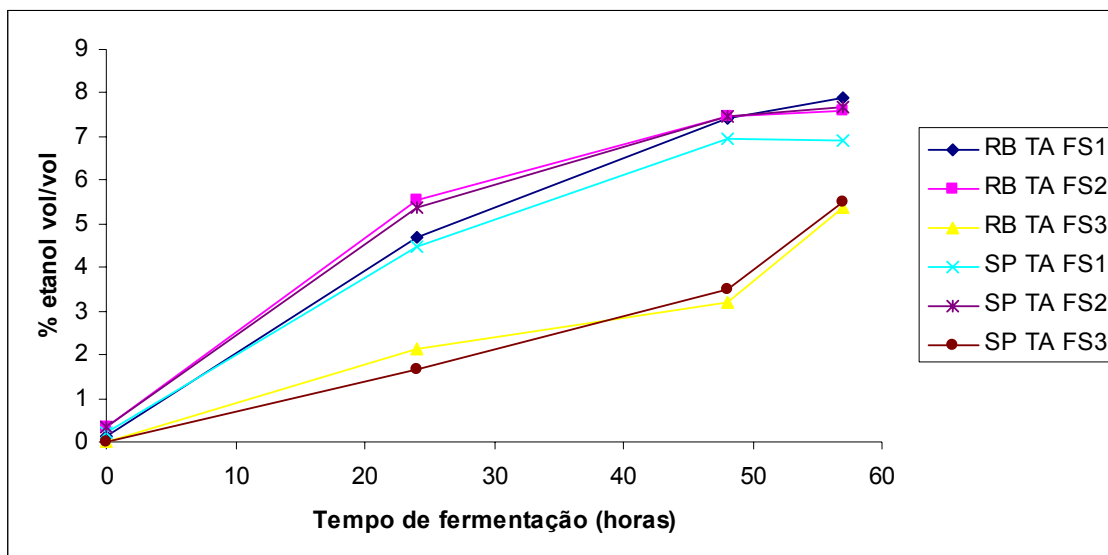
4.1.2 Produção de etanol

A produção de etanol pelos fermentos caipiras, selecionados e mistos nos caldos das variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280 pode ser observada nas Figuras 2, 3 e 4. Observou-se que os mostos das variedades de cana-de-açúcar utilizadas neste estudo, fermentados pelos três tipos de fermento, apresentaram teores alcoólicos finais variando de 5,4 % a 7,9 % v/v. Resultados semelhantes foram encontrados por Nóbrega (1994) que observou teores alcoólicos na faixa de 7 % em mostos obtidos com fermentos selecionados e caipiras, após respectivamente, 33 e 61 horas de fermentação. A produção de etanol por leveduras normalmente se encontra na faixa de 5 a 10 % v/v (LIMA, 2001; NÓBREGA, 1994), cuja variação de concentração foi observada no presente estudo assim como em outros trabalhos encontrados na literatura.



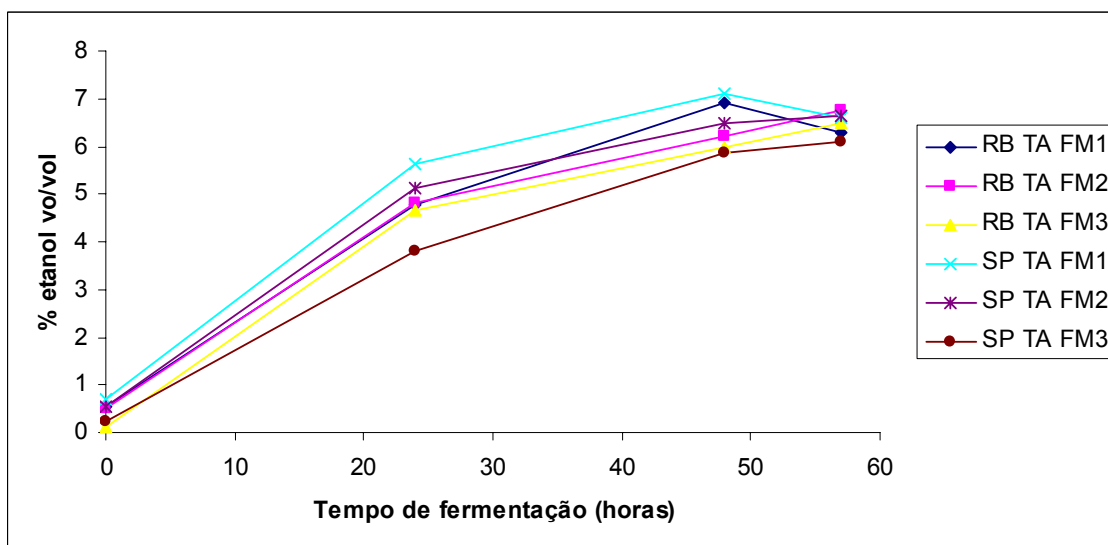
* Médias de duas repetições para cada variedade de cana-de-açúcar.

Figura 2: Teor alcoólico produzido pelos fermentos caipiras nos mostos das variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280 durante o tempo de fermentação.



* Médias de duas repetições para cada variedade de cana-de-açúcar.

Figura 3: Teor alcoólico produzido pelos fermentos selecionados nos mostos das variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280 durante o tempo de fermentação.



* Médias de duas repetições para cada variedade de cana-de-açúcar.

Figura 4: Teor alcoólico produzido pelos fermentos mistos nos mostos das variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280 durante o tempo de fermentação.

Silva et al. (2008) realizaram 16 fermentações alcoólicas de caldo de cana-de-açúcar utilizando fermento selecionado e encontraram valores de etanol variando entre 6 e 9 % v/v. Em outro estudo realizado por Silva et al.

(2009), os autores realizaram fermentações alcoólicas de caldo de cana-de-açúcar utilizando leveduras de diferentes procedências e encontraram teores alcoólicos ao final da fermentação que durou mais de 70 horas entre 5,4 e 9,2 % v/v. O tempo de fermentação dos processos naturais pode variar de 16 horas a mais de dois dias (NÓBREGA, 1994), estando o tempo de fermentação utilizado neste estudo condizente com os processos naturais de produção de aguardente.

As médias de produção de etanol ao final da fermentação apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) para os diferentes tipos de fermento utilizados (Tabela 5). Observou-se a formação de cinco grupos distintos de médias segundo o teste de Duncan (Tabela 6), onde a maior média para teor alcoólico foi obtida pelo fermento selecionado FS2 (7,63 %) e a menor média pelo fermento selecionado FS3 (5,44 %). Esses resultados podem ser explicados em função do fermento FS2 ser uma estirpe de *Saccharomyces cerevisiae* selecionada para a produção de vinhos em geral com altas concentrações de etanol e o fermento FS3 ser constituído por uma estirpe de *Saccharomyces cerevisiae* selecionada para produção de cerveja. Assim, a seleção de micro-organismos destinados à produção de cachaça é uma etapa importante do processo produtivo, pois se pode aumentar o rendimento e a produtividade.

Em relação à variedade de cana não houve diferenças significativas ($p > 0,05$) quanto à produção de etanol ao final da fermentação (Tabela 5). A média de etanol obtida pela fermentação da variedade de cana-de-açúcar RB 85-5536 foi 6,78 % e a média de etanol obtida pela fermentação da variedade de cana-de-açúcar SP 80-3280 foi 6,58 % ao final do processo fermentativo.

Tabela 5: Resumo da Análise de Variância para teor alcoólico ao final do processo fermentativo.

FV	GL	QM
FERMENTO	8	2,04*
VARIEDADE	1	0,35
FERMENTO*VARIEDADE	8	0,17
RESÍDUO	18	0,19

* Significativo a 5% de probabilidade.

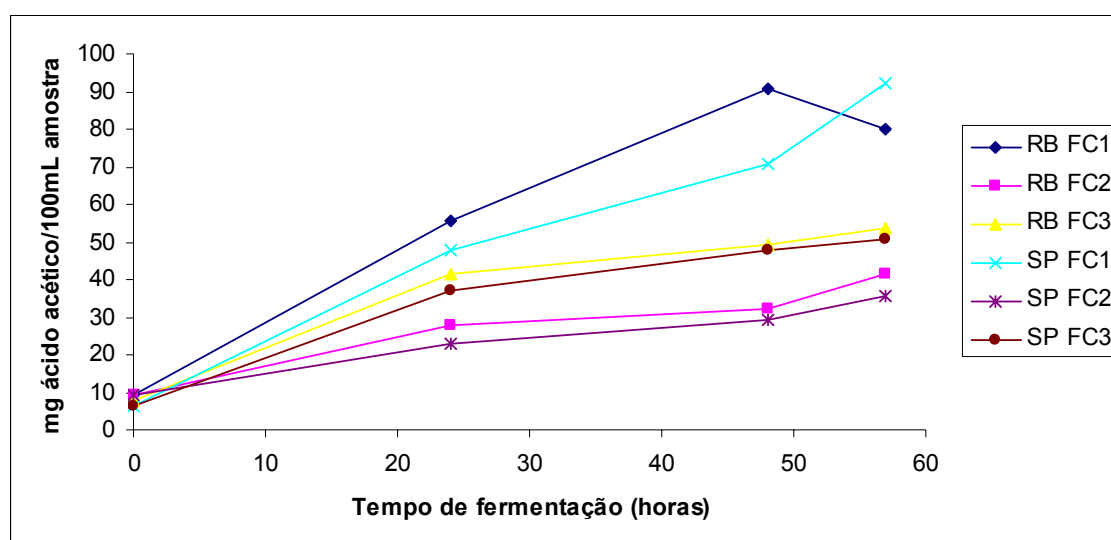
Tabela 6: Média de teor alcoólico expressas em % de etanol v/v para cada tipo de fermento ao final do processo fermentativo.

Média	Fermento
7,63	FS2 ^a
7,41	FS1 ^{ab}
7,24	FC2 ^{ab}
6,95	FC1 ^{abc}
6,72	FM2 ^{bc}
6,46	FM1 ^{cd}
6,29	FM3 ^{cd}
5,96	FC3 ^{de}
5,44	FS3 ^e

*Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Duncan.

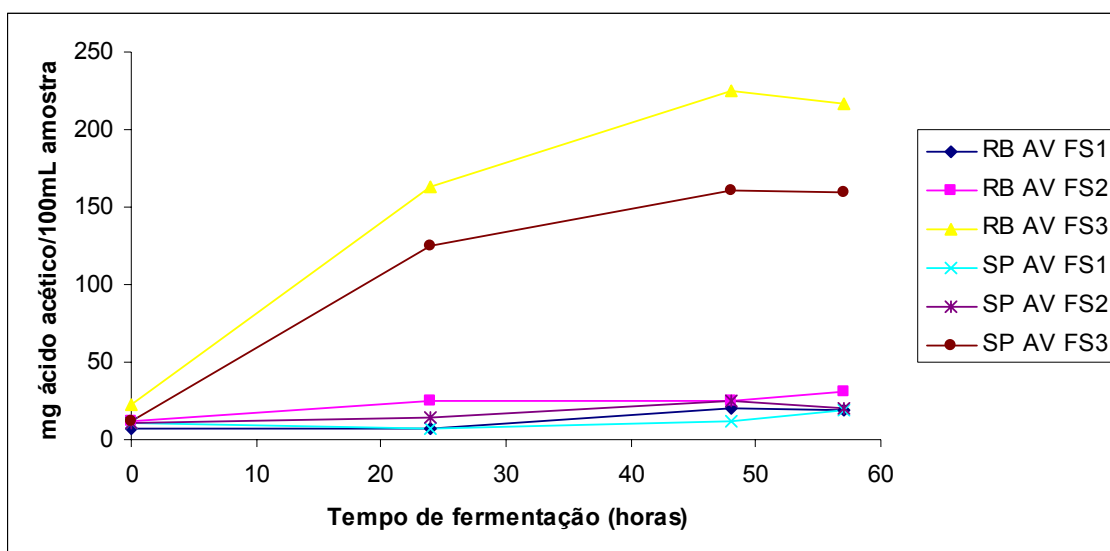
4.1.2 Produção de acidez volátil

A produção de acidez volátil pelos fermentos caipiras, selecionados e mistos nos caldos das variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280 durante o tempo de fermentação pode ser observada nas Figuras 5, 6 e 7. As médias do teor de acidez volátil dos mostos ao final da fermentação variaram de 18,47 a 216,45 mg de ácido acético.100 mL⁻¹ de amostra.



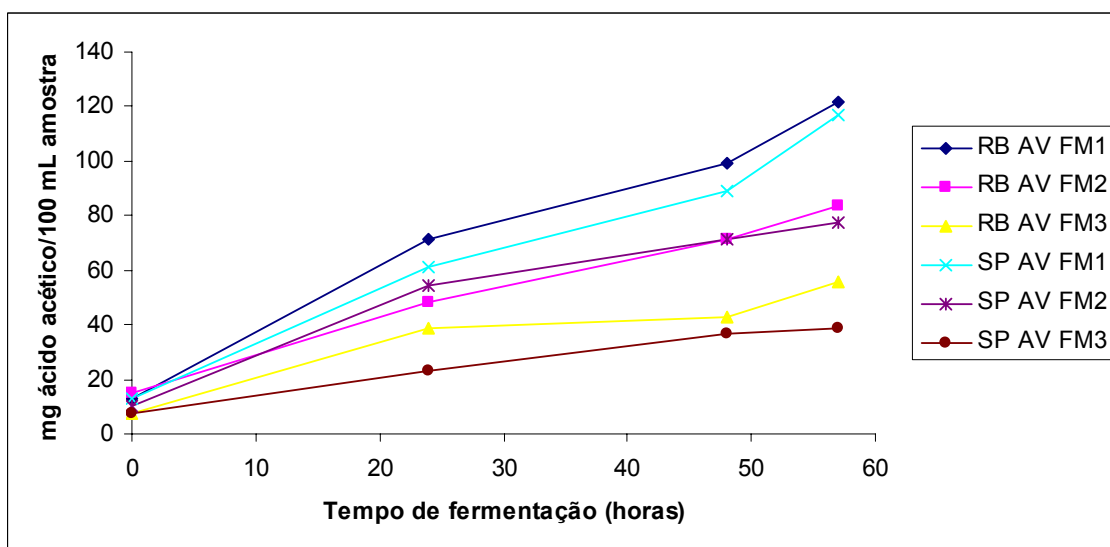
* Médias de duas repetições para cada variedade de cana-de-açúcar.

Figura 5: Acidez volátil produzida pelos fermentos caipiras nos mostos das variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280 durante o tempo de fermentação.



* Médias de duas repetições para cada variedade de cana-de-açúcar.

Figura 6: Acidez volátil produzida pelos fermentos selecionados nos mostos das variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280 durante o tempo de fermentação.



* Médias de duas repetições para cada variedade de cana-de-açúcar.

Figura 7: Acidez volátil produzida pelos fermentos mistos nos mostos das variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280 durante o tempo de fermentação.

As médias do teor de acidez volátil produzido nos mostos ao final do processo fermentativo diferiram estatisticamente entre si ($p < 0,05$) para os tipos de fermento e variedades de cana-de-açúcar utilizadas neste experimento

(Tabela 7). Observou-se a formação de cinco grupos distintos de médias (Tabela 8) entre os tipos de fermento. O fermento selecionado FS3 apresentou maior média (187,93 mg.100 mL⁻¹ amostra) para acidez volátil e o fermento selecionado FS1 a menor média (18,47 mg.100 mL⁻¹ amostra) para acidez volátil. As variedades de cana-de-açúcar formaram dois grupos distintos, sendo que a variedade RB 85-5536 apresentou a maior média (77,92 mg.100 mL⁻¹ amostra) e a variedade SP 80-3280 a menor média (67,71 mg.100 mL⁻¹ amostra) para acidez volátil.

Tabela 7: Resumo da Análise de Variância para acidez volátil ao final do processo fermentativo.

FV	GL	QM
FERMENTO	8	11555,31*
VARIEDADE	1	938,2*
FERMENTO*VARIEDADE	8	371,22
RESÍDUO	18	186,76

* Significativo a 5% de probabilidade.

Tabela 8: Média de acidez volátil para cada tipo de fermento ao final do processo fermentativo.

Média	Fermento
187,93	FS3 ^a
119,2	FM1 ^b
86,18	FC1 ^c
80,44	FM2 ^c
52,33	FC3 ^d
46,94	FM3 ^d
38,48	FC2 ^{ed}
25,39	FS2 ^e
18,47	FS1 ^e

*Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Duncan.

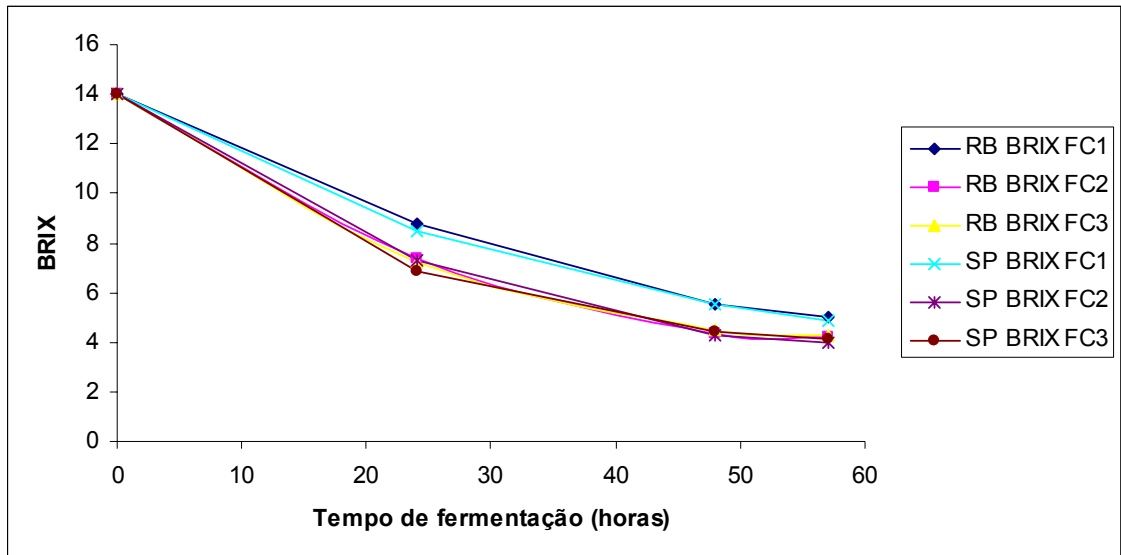
Resultados muito inferiores aos encontrados neste estudo foram observados por Nóbrega (1994), que produziu aguardentes a partir de fermentos caipira e selecionado. Esse autor observou que as aguardentes produzidas com fermento caipira, após 61 horas de fermentação, apresentaram acidez volátil de, aproximadamente, 8 mg.100 mL⁻¹ de amostra e as

aguardentes produzidas com fermento selecionado, após 33 horas de fermentação apresentaram acidez volátil de, aproximadamente, $4 \text{ mg} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$ de amostra. Entretanto, resultados semelhantes foram observados por Silva et al. (2009) que realizaram fermentações alcoólicas de caldo de cana-de-açúcar para a produção de cachaça e verificaram que após 70 horas de fermentação, a acidez volátil dos mostos variou de 52,2 a $91 \text{ mg} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$ de amostra.

Os ácidos orgânicos são subprodutos excretados pelas leveduras durante a fermentação. Normalmente, uma alta acidez é consequência de má condução da fermentação já que a alta acidez pode ser devido à contaminação do mosto por bactérias acéticas, que utilizam o etanol para seu metabolismo, convertendo-o em ácido acético (CARDOSO, 2006). A contaminação do mosto pode ter sido a causa para o fermento selecionado FS3 ter apresentado elevada acidez e produzido conseqüentemente, o menor teor alcoólico final obtido pelos fermentos utilizados neste experimento.

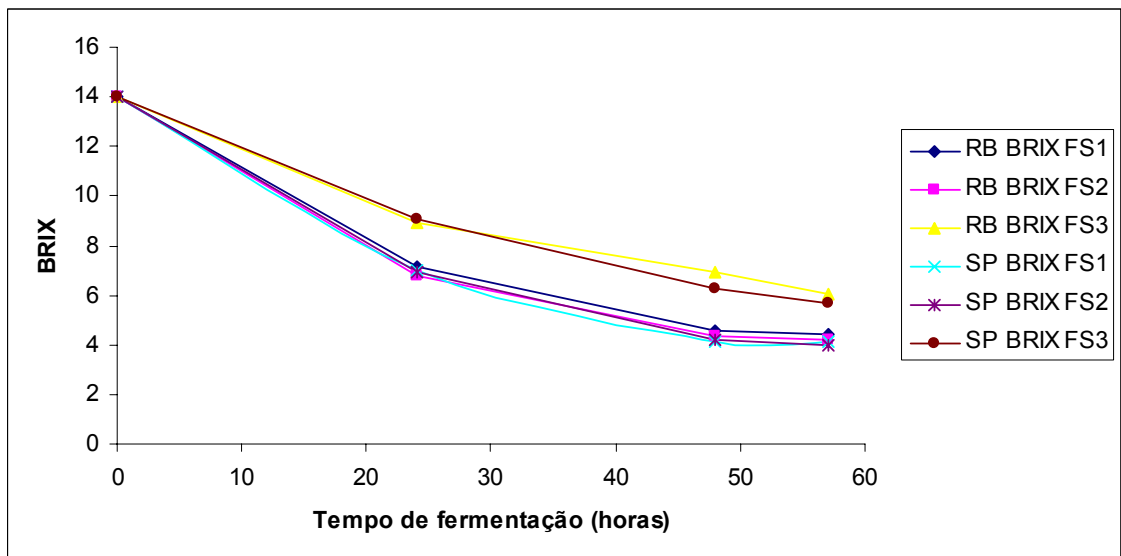
4.1.3 Teor de sólidos solúveis

O consumo de sólidos solúveis pelos fermentos caipiras, selecionados e mistos nos mostos das variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280 durante o processo fermentativo pode ser observada nas Figuras 8, 9 e 10. A maioria dos mostos fermentados apresentou teores finais de sólidos solúveis próximos a $4 \text{ }^\circ\text{Brix}$. Resultados semelhantes foram encontrados por Carvalho et al. (2008) que observaram, com a utilização de um refratômetro, o consumo progressivo dos açúcares presentes no caldo de cana-de-açúcar durante as 100 primeiras horas de fermentação havendo completa estagnação em $4 \text{ }^\circ\text{Brix}$. Entretanto, valores muito inferiores foram encontrados por Nóbrega (1994) que acompanhou o consumo de açúcares durante as fermentações de mostos de caldo de cana-de-açúcar utilizando um sacarímetro e este, ao final das fermentações, ficou em torno de 0,6 e $0,7 \text{ }^\circ\text{Brix}$ para fermentação natural e induzida, respectivamente.



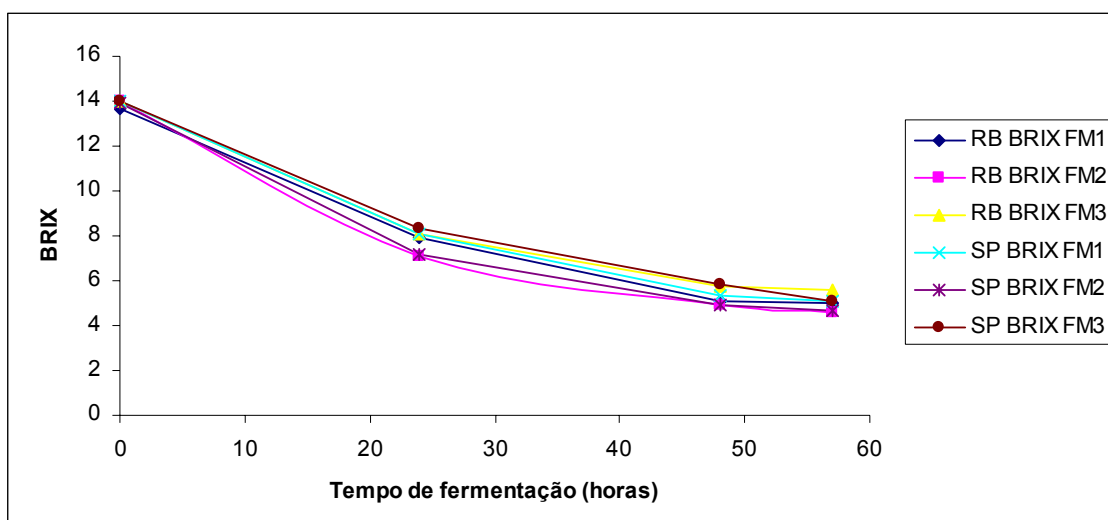
* Médias de duas repetições para cada variedade de cana-de-açúcar.

Figura 8: Consumo de substrato expressos em °Brix pelos fermentos caipiras nos mostos das variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280 durante o tempo de fermentação.



* Médias de duas repetições para cada variedade de cana-de-açúcar.

Figura 9: Consumo de substrato expressos em °Brix pelos fermentos seleccionados nos mostos das variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280 durante o tempo de fermentação.



* Médias de duas repetições para cada variedade de cana-de-açúcar.

Figura 10: Consumo de substrato expressos em °Brix pelos fermentos mistos nos mostos das variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280 durante o tempo de fermentação.

O acompanhamento da atenuação da fermentação por meio da concentração de sólidos solúveis não é a forma mais indicada para este fim uma vez que o álcool interfere na medida do Brix, porém esta medida é útil para o acompanhamento do consumo de substrato na linha de produção, pois é uma medida de resultado imediato. Normalmente, espera-se que a fermentação alcoólica acuse atenuação completa (0 °Brix) em um período de 24 a 36 h (LIMA, 2001). Entretanto, este comportamento não foi observado no presente trabalho. Acredita-se que a utilização de um mosto mais diluído, suplementado com vitaminas e sais minerais e inoculado com uma maior carga de fermento previamente adaptado ao mosto, contribuiria para se obter um comportamento de fermentação mais próximo do esperado.

Observou-se que a interação entre as fontes de variação fermento e variedade de cana-de-açúcar foi significativa ($p < 0,05$) (Tabela 9). O efeito do fermento sobre a concentração de açúcares redutores totais depende da variedade de cana-de-açúcar utilizada.

Tabela 9: Resumo da Análise de Variância do teor de sólidos solúveis ao final do processo fermentativo.

FV	GL	QM
FERMENTO	8	1,52*
VARIEDADE	1	0,32*
FERMENTO*VARIEDADE	8	0,04*
RESÍDUO	18	0,003

* Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

4.1.4 Teor de açúcares redutores totais

O teor de açúcares redutores totais presentes no mosto de cana-de-açúcar das duas variedades utilizadas neste experimento no início da fermentação variou de 14,16 a 14,78 % m/v enquanto que o teor de açúcares redutores totais presentes no mosto no final da fermentação variou de 1,57 a 3,53 % m/v (Tabela 10).

Tabela 10: Teor de açúcares redutores totais expressos em % presentes no mosto das variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280 e para cada fermento pelo método do DNS no início e fim do processo fermentativo.

Tipo de fermento	Variedade de cana	Média início fermentação	Média final fermentação
FA	RB	14,64	3,53
FA	SP	14,42	3,30
FB	RB	14,46	2,71
FB	SP	14,47	2,66
FC	RB	14,66	2,80
FC	SP	14,78	2,49
FD	RB	14,48	1,93
FD	SP	14,44	1,58
FE	RB	14,44	2,07
FE	SP	14,48	1,57
FF	RB	14,46	3,10
FF	SP	14,57	3,38
FM1	RB	14,65	3,45
FM1	SP	14,34	3,01
FM2	RB	14,16	2,96
FM2	SP	14,38	2,99
FM3	RB	14,40	2,78
FM3	SP	14,27	3,19

*Média de duas repetições.

Cleto e Mutton (2004) produziram aguardentes a partir de mostos de cana, uva e laranja. Utilizando metodologia Somogyi-Nelson para determinação da concentração de açúcares redutores totais os autores obtiveram média 13,8 % para mosto de uva, 13,9 % para mosto de laranja e 14 % para mosto de cana.

Realizando um teste t pareado, observou-se que houve diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as médias obtidas pela determinação do teor de sólidos solúveis por refratometria e pela determinação de açúcares redutores totais pelo método do DNS. A média obtida pela diferença dos métodos foi 1,971 com erro padrão de 0,571 e coeficiente de variação de 26,23 %.

Silva et al. (2003) realizaram um estudo comparativo de métodos de determinação de açúcares redutores e totais em mel. Esses autores observaram que nenhum dos 10 métodos avaliados, incluindo Lane Eynon e DNS diferiram entre si ao nível de 5 % probabilidade nas determinações de açúcares totais. Demiate et al. (2002) realizaram a comparação de métodos colorimétrico e titulométrico para determinação de açúcares em alimentos e observaram que não houve diferenças estatísticas ao nível de 1 % de probabilidade em relação aos métodos de Somogyi-Nelson e Lane Eynon para determinação de açúcares redutores.

Observou-se que a interação entre as fontes de variação fermento e variedade de cana-de-açúcar foi significativa ($p < 0,05$) (Tabela 11). O efeito do fermento sobre a concentração de açúcares redutores totais depende da variedade de cana-de-açúcar utilizada. Realizando a decomposição da interação observou-se a formação de diferentes grupos de médias relacionando o tipo de fermento e a variedade de cana-de-açúcar pelo teste t (Tabela 12).

Na tabela 13, estão apresentados os valores do coeficiente de correlação de *Pearson* (r) entre as concentrações finais de acidez volátil, teor alcoólico e teor de sólidos solúveis ($^{\circ}$ Brix) de amostras de mosto das duas variedades de cana-de-açúcar fermentadas por diferentes tipos de fermento.

Observou-se correlação negativa significativa entre acidez volátil e teor alcoólico das amostras de mosto das duas variedades de cana-de-açúcar fermentado por diferentes tipos de fermento ao final do processo fermentativo, indicando que as fermentações que atingiram um teor alcoólico mais elevado

apresentaram uma concentração de acidez volátil menor, provavelmente devido à realização de uma fermentação com poucos problemas relacionados à contaminação microbiana do mosto por bactérias acéticas. O decréscimo do teor de sólidos solúveis correlacionou-se inversamente com o teor alcoólico, indicando que as fermentações que mantiveram um teor de sólidos solúveis mais elevado ao final do processo fermentativo apresentaram um teor alcoólico menor, provavelmente devido à menor eficiência de conversão de substrato em produto. Entretanto, observou-se correlação positiva significativa entre teor de sólidos solúveis e acidez volátil das amostras, indicando que as fermentações com teor de sólidos solúveis final mais elevado apresentaram também acidez volátil mais elevada. Este resultado indica que pode ter ocorrido uma inibição das leveduras no processo de fermentação e que as bactérias contaminantes não utilizaram sólidos solúveis como substrato para produção de ácido.

Tabela 11: Resumo da Análise de Variância do teor de açúcares redutores totais ao final do processo fermentativo.

FV	GL	QM
FERMENTO	8	1,4471*
VARIEDADE	1	0,1488*
FERMENTO*VARIEDADE	8	0,1020*
RESÍDUO	18	0,0320

* Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 12: Média da concentração de açúcares redutores totais ao final do processo fermentativo para cada fermento.

Tipo de fermento	Variedade de cana	Média
FC1	RB	3,53 ^a
FC1	SP	3,3 ^a
FC2	RB	2,71 ^{fg}
FC2	SP	2,66 ^{fg}
FC3	RB	2,80 ^{efg}
FC3	SP	2,48 ^g
FS1	RB	1,92 ^{hi}
FS1	SP	1,58 ⁱ
FS2	RB	2,07 ^h
FS2	SP	1,57 ⁱ
FS3	RB	3,10 ^{bcd}
FS3	SP	3,38 ^{abc}
FM1	RB	3,45 ^{ab}
FM1	SP	3,01 ^{cdef}
FM2	RB	2,96 ^{def}
FM2	SP	2,99 ^{def}
FM3	RB	2,78 ^{efg}
FM3	SP	3,19 ^{abcd}

*Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t.

Tabela 13. Correlação de Pearson (r) entre os parâmetros acidez volátil, teor alcoólico e sólidos solúveis (Brix) de amostras de mosto de duas variedades de cana-de-açúcar fermentado por diferentes tipos de fermento.

	AV	TA	BRIX
AV	1	-0,63*	0,79*
TA		1	-0,56*
BRIX			1

AV: acidez volátil (mg .100 mL⁻¹ de amostra); TA: teor alcoólico (mg .100 mL⁻¹ de amostra); Brix: teor de sólidos solúveis.

* p<0,05

4.1.5 Rendimento e eficiência das fermentações alcoólicas

O rendimento das fermentações foi calculado em função do teor alcoólico produzido em relação ao teor de açúcar consumido. O rendimento dos processos fermentativos variou de 0,37 a 0,50 g.g⁻¹, ou seja, de 37 a 50 g de etanol obtidos de 100 g de açúcar fermentado (Tabela 14).

Tabela 14: Rendimento e eficiência das fermentações conduzidas com fermentos caipiras, selecionados e mistos nas variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280.

Tipo de fermento	Variedade de cana	ΔS (g)*	ΔP (g)*	Yp/s (g/g)	Eficiência fermentação (%)	Média eficiência fermentação (%)
FC1	RB	11,11	5,40	0,49	95,18	89,29
FC1	SP	11,12	5,56	0,50	97,88	
FC2	RB	11,75	5,87	0,50	97,76	
FC2	SP	11,81	5,56	0,47	92,09	
FC3	RB	11,85	4,92	0,42	81,23	
FC3	SP	12,30	4,50	0,37	71,57	
FS1	RB	12,56	6,12	0,49	95,42	83,77
FS1	SP	12,86	5,28	0,41	80,38	
FS2	RB	12,37	5,73	0,46	90,61	
FS2	SP	12,91	5,76	0,45	87,36	
FS3	RB	11,37	4,25	0,37	73,22	
FS3	SP	11,20	4,33	0,39	75,65	
FM1	RB	11,20	5,29	0,47	92,41	84,08
FM1	SP	11,32	4,60	0,41	79,49	
FM2	RB	11,20	4,74	0,42	82,86	
FM2	SP	11,39	4,59	0,40	78,98	
FM3	RB	11,62	4,95	0,43	83,34	
FM3	SP	11,08	4,95	0,45	87,42	

*Média de duas repetições.

Como mencionado no item 2.5.1, na fermentação alcoólica os principais produtos obtidos são o etanol e o dióxido de carbono em proporções equimolares. Esse mecanismo foi quantificado pela primeira vez por Gay-Lussac, onde 100 g de glicose rendem 51,1 g de etanol e 48,9 g de dióxido de carbono. O rendimento teórico de 51,1 % em massa é conhecido como coeficiente de Gay-Lussac e é o dado básico para o cálculo da eficiência da fermentação. A eficiência calculada em função do rendimento teórico variou de 71,57 a 97,88 % neste estudo. A média para eficiência das fermentações para os fermentos caipiras foi 89,29 %, para os fermentos selecionados foi 83,77 % e para os fermentos mistos foi 84,08 %. Carvalho et al. (2008) encontraram rendimento de 0,41 g.g⁻¹ e eficiência de 80,4 % para fermentação alcoólica de mosto de cana-de-açúcar para produção de cachaça enquanto Silva et al. (2008) encontraram eficiências que variaram de 86,64 a 94,45 % também para fermentações alcoólicas de mosto de cana-de-açúcar, resultados estes, semelhantes aos encontrados neste estudo.

4.1.6 Taxa de recuperação de etanol nas destilações

A eficiência da destilação pode ser definida como o volume de etanol coletado em relação aquele estimado como presente no vinho a ser destilado. A eficiência das destilações foi calculada admitindo-se um rendimento em torno de 10 % de cachaça em relação ao volume de vinho destilado que variou de 1500 a 1800 mL, sendo o volume total de destilado recolhido em torno de 15 % do volume inicial de vinho. A eficiência das destilações variou de 50,66 a 98,97 % e o teor alcoólico do destilado variou de 35,66 a 50,79 % (Tabela 15).

Resultados semelhantes foram encontrados por Boza (1996) que estudou a influência da condução da destilação sobre a composição e a qualidade sensorial da aguardente de cana e verificou que o teor alcoólico do destilado variou de 45,59 a 62,66 % e que a eficiência da destilação variou de 58,90 a 86,70 %. Em outro estudo, Carvalho et al. (2008) encontraram eficiência da destilação de mosto de cana-de-açúcar para produção de cachaça de 98 %.

Tabela 15: Taxa de recuperação de etanol nas destilações para cada tipo de fermento e variedade de cana-de-açúcar.

Fermento	Variedade	Álcool vinho (% v)	Álcool destilado (% v)	Volume destilado	Taxa de recuperação destilação (%)
FC1	RB	6,85	42,59	238,00	84,68
FC1	SP	7,05	42,58	260,00	94,90
FC2	RB	7,44	42,47	272,00	95,32
FC2	SP	7,05	42,27	277,00	91,82
FC3	RB	6,24	41,33	248,00	92,04
FC3	SP	5,70	47,92	229,00	93,15
FS1	RB	7,90	42,47	255,00	94,05
FS1	SP	6,93	45,36	229,00	96,86
FS2	RB	7,60	39,76	262,00	88,20
FS2	SP	7,66	41,11	277,00	92,34
FS3	RB	5,39	50,79	100,00	60,98
FS3	SP	5,49	35,66	117,00	50,66
FM1	RB	6,31	41,05	230,00	91,18
FM1	SP	6,81	44,56	242,00	98,97
FM2	RB	6,78	34,60	242,00	73,98
FM2	SP	6,66	41,03	100,00	91,12
FM3	RB	6,50	42,29	220,00	94,18
FM3	SP	6,08	41,86	228,00	92,94

*Média de duas repetições.

4.2 Avaliação físico-química das cachaças

As cachaças produzidas no Laboratório de Pesquisa e Qualidade de Bebidas foram avaliadas quanto ao teor alcoólico, acidez volátil e compostos voláteis como aldeídos totais, ésteres totais e álcoois superiores. As amostras foram comparadas quanto ao limite estabelecido pela legislação brasileira para aguardente de cana e cachaça.

4.2.1 Teor de etanol

Não houve diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as amostras de aguardente produzidas com os fermentos caipiras, selecionados e mistos e com as variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280 para concentração de etanol (Tabela 16). Observou-se que as médias do teor alcoólico das amostras variaram de 38,06 a 54,96 % v/v e que as médias de 6 (33,33 %) amostras foram superiores aos padrões exigidos pela legislação

brasileira para teor alcoólico (Tabela 17). Os valores permitidos pela legislação são de 38 a 48 % v/v de etanol para cachaça e 38 a 54 % para aguardente.

Resultados semelhantes de teor alcoólico em amostras de cachaças foram observados em outros trabalhos. Silva et al. (2006) produziram quatro cachaças em escala de laboratório a partir de diferentes linhagens de leveduras *S. cerevisiae* que apresentaram teores alcoólicos que variaram de 39 a 40 % v/v. As cachaças produzidas por Jerônimo (2004) com uma linhagem de *S. cerevisiae* apresentaram teor alcoólico dentro dos limites exigidos pela legislação variando de 39 a 44 % v/v.

Tabela 16: Resumo da Análise de Variância do teor alcoólico nas cachaças produzidas com fermentos caipiras, selecionados e mistos e com as variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280.

FV	GL	QM
FERMENTO	8	35,13
VARIEDADE	1	21,19
FERMENTO*VARIEDADE	8	37,81
RESÍDUO	18	26,27

* Significativo a 5% de probabilidade.

Tabela 17: Concentração de etanol expressos em % v/v presentes nas cachaças produzidas com os fermentos caipiras, selecionados e mistos e com as variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280.

Tipo de fermento	Variedade de cana	Média teor alcoólico*	Desvio padrão	CV (%)
FC1	RB	46,40	3,59	7,74
FC1	SP	46,22	0,04	0,08
FC2	RB	47,16	4,33	9,19
FC2	SP	48,51	2,07	4,27
FC3	RB	45,85	6,46	14,10
FC3	SP	50,99	5,35	10,50
FS1	RB	47,23	0,57	1,20
FS1	SP	49,33	0,03	0,06
FS2	RB	44,28	2,31	5,22
FS2	SP	49,93	1,83	3,67
FS3	RB	51,00	5,73	11,25
FS3	SP	38,06	14,95	40,34
FM1	RB	45,33	3,71	8,19
FM1	SP	48,77	3,19	6,54
FM2	RB	39,21	3,36	8,57
FM2	SP	44,86	5,91	13,18
FM3	RB	50,36	5,37	10,66
FM3	SP	54,96	1,48	2,69

*Média de duas repetições.

4.2.2 Teor de acidez volátil

Quanto ao teor de acidez volátil, as fontes de variação fermento e variedade de cana-de-açúcar apresentaram valores significativos a 5 % de probabilidade (Tabela 18). Observou-se que todas as médias encontraram-se dentro dos padrões exigidos pela legislação brasileira para acidez volátil embora a média para o fermento misto FM2 e variedade de cana-de-açúcar RB 85-5536 tenha apresentado valor elevado (144,23 mg.100 mL⁻¹ álcool anidro), próximo ao valor máximo permitido pela legislação que é de 150 mg.100 mL⁻¹ de álcool anidro (Tabela 19).

Tabela 18: Resumo da Análise de Variância do teor de acidez volátil nas cachaças produzidas com fermentos caipiras, selecionados e mistos e com as variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280.

FV	GL	QM
FERMENTO	8	3394,024*
VARIEDADE	1	3884,665*
FERMENTO*VARIEDADE	8	885,576
RESÍDUO	18	567,227

* Significativo a 5% de probabilidade.

Tabela 19: Acidez volátil expressa em mg de ácido acético. 100 mL⁻¹ álcool anidro presentes nas cachaças produzidas com os fermentos caipiras, selecionados e mistos e com as variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280.

Tipo de fermento	Variedade de cana	Média acidez volátil*	Desvio padrão	CV (%)
FC1	RB	84,08	29,96	35,64
FC1	SP	83,25	4,65	5,58
FC2	RB	42,82	8,55	19,97
FC2	SP	38,11	1,63	4,27
FC3	RB	99,86	59,19	59,27
FC3	SP	34,18	4,52	13,24
FS1	RB	29,36	4,96	16,90
FS1	SP	21,84	4,40	20,15
FS2	RB	31,20	3,29	10,53
FS2	SP	18,51	0,68	3,67
FS3	RB	81,76	4,93	6,03
FS3	SP	74,28	22,89	30,82
FM1	RB	84,19	17,11	20,33
FM1	SP	82,23	5,38	6,54
FM2	RB	144,23	67,87	47,06
FM2	SP	64,79	6,02	9,29
FM3	RB	40,19	8,61	21,41
FM3	SP	33,51	7,02	20,95

*Média de duas repetições.

Avaliando as médias pelo teste de Duncan a 5 % de probabilidade, observou-se a formação de três grupos distintos de médias (Tabela 20) sendo que o fermento misto FM2 apresentou a maior média (104,51mg.100 mL⁻¹ álcool anidro) e o fermento selecionado FS2 a menor média (24,85 mg. 100 mL⁻¹ álcool anidro) para acidez volátil, expressos em ácido acético.

Tabela 20: Médias para acidez volátil expressas em mg de ácido acético.100 mL⁻¹ álcool anidro.

Média	Fermento
104,51	FM2 ^a
83,67	FC1 ^a
83,21	FM1 ^a
78,02	FS3 ^a
67,02	FC3 ^{ab}
40,47	FC2 ^{bc}
36,85	FM3 ^{bc}
25,6	FS1 ^c
24,85	FS2 ^c

*Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Duncan.

Alguns ácidos orgânicos excretados no meio de fermentação são derivados de vias intermediárias, como por exemplo, o acético, málico e succínico. O ácido acético, que é o ácido orgânico predominantemente excretado no meio de crescimento, é produzido pela oxidação do acetaldeído, com remoção de hidrogênio, na reação oposta à redução normal do acetaldeído a etanol (JANZANTTI, 2004). O grau de acidez das cachaças constitui fator de qualidade, pois durante a produção desta bebida, os ácidos reagem com os álcoois presentes e aumentam a formação de ésteres (LIMA, 2001).

Observou-se correlação positiva significativa ($p < 0,05$), por meio da avaliação do coeficiente de correlação de Pearson ($r = 0,54$), entre a acidez volátil obtida nas amostras de mosto de cana-de-açúcar ao final da fermentação e acidez volátil das amostras de cachaça, o que indica que amostras de mosto fermentado com elevada acidez volátil levam à produção de cachaça com maior teor deste analito.

Segundo Cardoso (2006), a acidez volátil é um composto secundário que depende do processo fermentativo, e o controle dos fatores estirpe da levedura utilizada, pureza da fermentação, tempo e temperatura da fermentação, manejo do mosto e principalmente higienização dos equipamentos e utensílios são essenciais para minimizar a ocorrência de alta acidez nas aguardentes. O excesso de acidez promove sabor indesejado e ligeiramente “agressivo” em aguardente de cana, depreciando a qualidade da bebida (CHERUBIN, 1998).

Valores de acidez volátil semelhantes aos encontrados neste estudo foram obtidos por Silva et al. (2006) que avaliaram a produção de aguardentes a partir de 4 linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* isoladas de alambiques do estado de Minas Gerais e observaram que todas as linhagens apresentaram valores de acidez volátil abaixo do limite máximo permitido pela legislação brasileira. O maior valor de acidez foi encontrado na cachaça obtida com a linhagem UFMGA 1240 (148,8 mg.100 mL⁻¹ álcool anidro) e o menor valor na cachaça proveniente da linhagem UFMGA 1207 (12,1 mg.100 mL⁻¹ álcool anidro). Já nas cachaças produzidas por Jerônimo (2004) utilizando uma linhagem de *S. cerevisiae*, o teor de acidez volátil apresentou grande variação, de cerca de 7 a 365 mg.L⁻¹ em ácido acético. Entretanto, Silva et al. (2009), que também avaliaram amostras de cachaça produzidas em laboratório a partir de leveduras isoladas de diferentes regiões do estado de Minas Gerais por meio de cromatografia gasosa encontraram apenas 1 amostra (9 %) cuja concentração ultrapassou o limite permitido pela legislação brasileira e foi bastante superior às demais amostras analisadas (671,86 mg.100 mL⁻¹ de álcool anidro).

4.2.3 Teor de aldeídos totais

De acordo com a análise de variância, as médias para tipo de fermento diferiram estatisticamente entre si ($p < 0,05$) (Tabela 21). Observou-se a formação de dois grupos distintos de médias sendo que o fermento selecionado FS3 apresentou a maior média (148,48 mg.100 mL⁻¹ álcool anidro)

e o fermento misto FM2 a menor média (10,19 mg.100 mL⁻¹ álcool anidro) para aldeídos totais (Tabela 22).

Tabela 21: Resumo da Análise de Variância para análise do teor de aldeídos totais nas cachaças produzidas com fermentos caipiras, selecionados e mistos e com as variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280.

FV	GL	QM
FERMENTO	8	7544,47*
VARIEDADE	1	643,53
FERMENTO*VARIEDADE	8	290,10
RESÍDUO	18	920,57

* Significativo a 5% de probabilidade.

Tabela 22: Médias para aldeídos totais expressos em mg de acetaldeído.100 mL⁻¹ álcool anidro 100mL álcool anidro.

Média	Fermento
148,08	FS3 ^a
47,76	FC2 ^b
39,09	FC3 ^b
33,21	FS1 ^b
26,04	FS2 ^b
14,2	FM2 ^b
12,9	FM1 ^b
10,8	FC1 ^b
10,19	FM3 ^b

*Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Duncan.

Observou-se ainda que seis amostras, ou seja, 33,33 % das amostras apresentaram valores acima do permitido pela legislação (30 mg.100 mL⁻¹ álcool anidro) para aldeídos. Observou-se também que as médias para o fermento selecionado FS3 foram as mais altas para ambas as variedades de cana-de-açúcar, apresentando valores maiores que 130 mg.100 mL⁻¹ álcool anidro (Tabela 23). O aldeído é um composto que diminui a qualidade da cachaça e, quando ingerido, interfere no sistema nervoso central, portanto é importante quantificá-lo, sendo que sua concentração deverá ser a mínima possível. Os aldeídos são comuns no processo inicial da fermentação, tendendo a desaparecer no final. A causa do excesso de aldeídos nas

cachaças pode ser uma indicação de oxidação espontânea (VILELA et al., 2007; PEREIRA et al., 2003). Das amostras de aguardente produzidas em laboratório avaliadas por Silva et al. (2009), aproximadamente 64 % apresentaram-se em desacordo com o padrão máximo permitido pela legislação brasileira para aldeídos, sendo que uma amostra elaborada com fermento selecionado apresentou valor de 178,60 mg.100 mL⁻¹ álcool anidro, concentração ainda maior que as encontradas neste estudo.

Tabela 23: Concentração de aldeídos totais expressa em mg de acetaldeído/100mL álcool anidro (AA) presente nas aguardentes produzidas com os fermentos caipiras, selecionados e mistos e com as variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280.

Tipo de fermento	Variedade de cana	Média acetaldeído*	Desvio padrão	CV (%)
FC1	RB	5,49	2,41	43,92
FC1	SP	16,11	2,07	12,86
FC2	RB	26,55	1,97	7,43
FC2	SP	68,97	60,12	87,18
FC3	RB	39,81	21,48	53,95
FC3	SP	38,37	25,92	67,55
FS1	RB	38,01	7,00	18,42
FS1	SP	28,41	3,29	11,57
FS2	RB	28,71	7,36	25,64
FS2	SP	23,37	2,96	12,67
FS3	RB	133,58	14,38	10,77
FS3	SP	162,57	106,74	65,65
FM1	RB	13,82	3,71	26,88
FM1	SP	11,99	4,21	35,15
FM2	RB	10,00	4,88	48,82
FM2	SP	18,39	3,52	19,16
FM3	RB	8,24	0,48	5,87
FM3	SP	12,13	4,15	34,20

*Média de duas repetições.

4.2.4 Teor de ésteres

Segundo a análise de variância, as médias para tipo de fermento foram significativas a 5 % de probabilidade (Tabela 24). Observou-se a formação de dois grupos distintos de médias, sendo que o fermento selecionado FS3 formou um grupo apresentando a maior média (10,57 mg.100 mL⁻¹ álcool anidro) e os

outros fermentos formaram outro grupo sendo que o fermento caipira FC2 apresentou a menor média (6,58 mg.100 mL⁻¹ álcool anidro) (Tabela 25).

Tabela 24: Resumo da Análise de Variância do teor de ésteres totais nas aguardentes de cana produzidas com fermentos caipiras, selecionados e mistos e com as variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280.

FV	GL	QM
FERMENTO	8	5,352*
VARIEDADE	1	0,006
FERMENTO*VARIEDADE	8	2,208
RESÍDUO	18	2,033

* Significativo a 5% de probabilidade.

Tabela 25: Médias para ésteres totais expressos em mg de acetato de etila/ 100mL álcool anidro.

Média	Fermento
10,568	FS3 ^a
7,869	FS2 ^b
7,691	FC1 ^b
7,641	FM1 ^b
7,446	FM2 ^b
7,412	FS1 ^b
7,186	FC3 ^b
6,821	FM3 ^b
6,577	FS2 ^b

*Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Duncan.

Observou-se que nenhuma das amostras apresentou valores acima do permitido pela legislação (200 mg.100 mL⁻¹ álcool anidro) para ésteres totais expressos em acetato de etila (Tabela 26). Observou-se ainda que as médias para todos os fermentos, embora condizentes com a legislação brasileira, apresentaram valores considerados muito baixos, variando de 6 a 12 mg.100 mL⁻¹ álcool anidro, característica que pode ser explicada pelo fato de todas as aguardentes produzidas e avaliadas serem recém destiladas e a concentração deste composto tender a aumentar durante o envelhecimento.

Tabela 26: Concentração de ésteres totais expressa em mg de acetato de etila /100mL álcool anidro (AA) presentes nas aguardentes produzidas com os fermentos caipiras, selecionados e mistos e com as variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280.

Tipo de fermento	Variedade de cana	Média acetato de etila*	Desvio padrão	CV (%)
FC1	RB	7,57	0,65	8,58
FC1	SP	7,81	0,01	0,14
FC2	RB	7,15	0,30	4,17
FC2	SP	6,01	1,01	16,73
FC3	RB	7,04	0,72	10,17
FC3	SP	7,33	1,22	16,70
FS1	RB	7,92	0,28	3,52
FS1	SP	6,91	0,40	5,74
FS2	RB	8,49	1,64	19,33
FS2	SP	7,25	0,06	0,79
FS3	RB	8,73	0,15	1,69
FS3	SP	12,41	5,00	40,28
FM1	RB	7,63	1,25	16,41
FM1	SP	7,65	0,69	9,02
FM2	RB	7,60	0,50	6,53
FM2	SP	7,29	0,46	6,29
FM3	RB	6,97	1,58	22,59
FM3	SP	6,67	0,40	6,04

*Média de duas repetições.

Silva et al. (2006) avaliando aguardentes produzidas com diferentes linhagens de leveduras, também encontraram valores baixos de ésteres totais, variando de 9,70 a 32,30 mg.100 mL⁻¹ álcool anidro para ésteres em acetato de etila. Os autores explicaram que este fato se deve à separação da fração cabeça (10%) na destilação, a qual contém a maior concentração de ésteres, principalmente, acetato de etila e outros compostos com baixo ponto de ebulição como acetaldeído e metanol. Silva et al. (2009) avaliando amostras de cachaça produzidas com fermentos isolados de diferentes regiões de Minas Gerais concluíram que em relação aos ésteres, expressos em acetato de etila, todas as amostras analisadas estavam em conformidade com a legislação brasileira. Oliveira et al. (2005) também encontraram valores de acetato de etila entre 9,4 a 36,5 mg.100 mL⁻¹ álcool anidro em 10 cachaças produzidas com diferentes linhagens de leveduras em batelada única. Em pesquisa realizada por Jerônimo (2005), os teores de acetato de etila nas cachaças produzidas

com uma linhagem de *S. cerevisiae* ficaram entre 10,46 e 134,01 mg.100 mL⁻¹ de álcool anidro.

Os ésteres são considerados compostos importantes na qualidade sensorial da cachaça. São compostos que contribuem para o aroma frutado no *bouquet* das bebidas alcoólicas. O limite para detecção de odor dos ésteres é baixo e varia entre 0,2 ppm para o acetato de isoamila a 17 ppm para o acetato de etila. Podem ser detectados em concentrações muito baixas, porém só comprometem o aroma das bebidas em concentrações muito elevadas, pois, conferem aroma indesejável e enjoativo (MAIA, 1994). Em vinhos, o acetato de etila que é o mais abundante éster das bebidas alcoólicas, em concentrações abaixo de 200 mg.L⁻¹ parece apresentar sabor agradável, mas em concentrações maiores está associado com característica de deterioração (COLE e NOBLE, 1995).

4.2.5 Teor de álcoois superiores

As médias para tipos de fermento diferiram estatisticamente entre si ($p < 0,05$) pela análise de variância (Tabela 27). Realizando o teste de médias, verificou-se a formação de três grupos distintos de médias (Tabela 28). Observou-se que nenhuma das amostras apresentou valores acima do permitido pela legislação (360 mg.100 mL⁻¹ álcool anidro) para álcoois superiores (Tabela 29).

Tabela 27: Resumo da Análise de Variância do teor de álcoois superiores nas aguardentes de cana produzidas com fermentos caipiras, selecionados e mistos e com as variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280.

FV	GL	QM
FERMENTO	8	11966,86*
VARIEDADE	1	10,53
FERMENTO*VARIEDADE	8	1448,69
RESÍDUO	18	1290,98

* Significativo a 5% de probabilidade.

Tabela 28: Médias para álcoois superiores (soma dos álcoois isoamílico, isobutílico e 1-propanol) expressos em mg de álcoois superiores. 100 mL⁻¹ álcool anidro.

Média	Fermento
283,62	FS1 ^a
181,34	FS2 ^b
150,72	FC1 ^{bc}
142,7	FM2 ^{bc}
134,63	FM1 ^{bc}
131,76	FC3 ^{bc}
131,54	FM3 ^{bc}
114,68	FC2 ^c
95,98	FS3 ^c

*Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Duncan.

Tabela 29: Concentração de álcoois superiores (soma dos álcoois isoamílico, isobutílico e 1-propanol) expressa em mg/100mL álcool anidro (AA) presente nas cachaças produzidas com os fermentos caipiras, selecionados e mistos e com as variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280.

Tipo de fermento	Variedade de cana	Média álcoois superiores*	Desvio padrao	CV(%)
FC1	RB	143,67	48,48	33,75
FC1	SP	157,77	57,36	36,35
FC2	RB	135,56	40,73	30,05
FC2	SP	93,79	25,65	27,34
FC3	RB	136,53	39,62	29,02
FC3	SP	126,99	38,84	30,59
FS1	RB	283,93	91,75	32,31
FS1	SP	283,31	90,75	32,03
FS2	RB	207,08	60,81	29,37
FS2	SP	155,59	45,50	29,25
FS3	RB	60,66	13,77	22,70
FS3	SP	131,29	35,65	27,15
FM1	RB	147,82	49,49	33,48
FM1	SP	121,45	38,53	31,73
FM2	RB	125,17	38,23	30,54
FM2	SP	160,22	54,07	33,75
FM3	RB	131,40	43,14	32,83
FM3	SP	131,68	44,98	34,16

*Médias de duas repetições.

De acordo com Yokoya (1995), a formação de álcoois superiores é maior quando o fermento apresenta atividade fraca, ocasionando demora no

processo fermentativo. Os teores dos álcoois superiores, 1-propanol, isobutílico e álcool isoamílico formam quantitativamente o maior grupo de compostos responsáveis pelo aroma e sabor das bebidas alcoólicas.

A produção do álcool isoamílico pelos fermentos caipiras, selecionados e mistos pode ser observada na Figura 11. A concentração de álcool isoamílico determinada por cromatografia gasosa variou de 35,27 a 190,95 mg.100 mL⁻¹ álcool anidro nas cachaças produzidas com os três tipos de fermento e as duas variedades de cana utilizadas neste experimento.

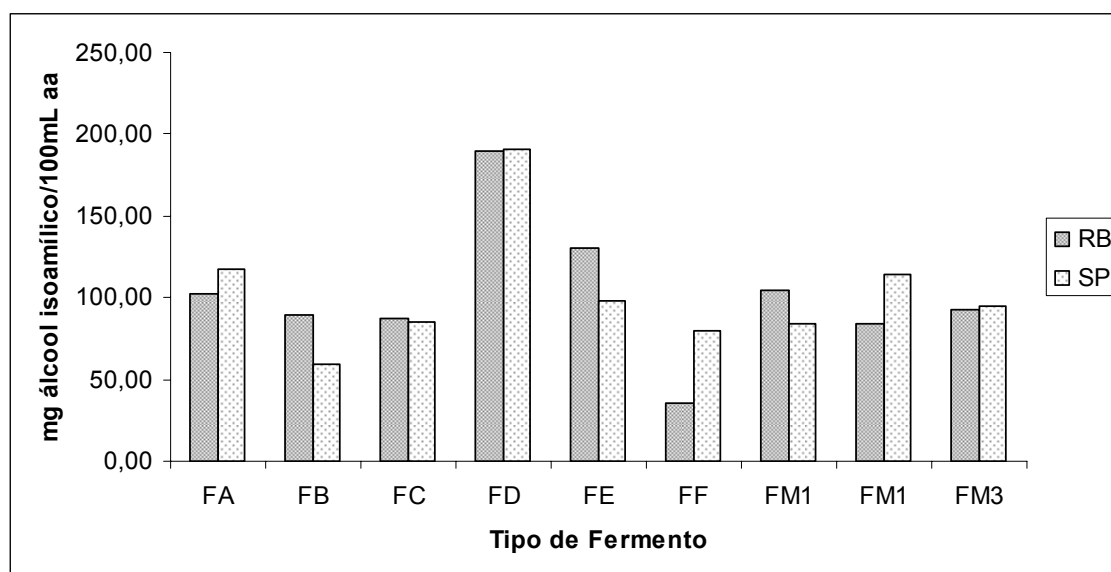


Figura 11: Produção de álcool isoamílico pelos fermentos caipiras, selecionados e mistos nas variedades de cana RB 85-5536 e SP 80-3280.

As médias do teor de álcool isoamílico diferiram estatisticamente entre si ($p < 0,05$) (Tabela 30). Observou-se a formação de três grupos distintos de médias sendo que o fermento selecionado FS1 apresentou a maior média (190,54 mg.100 mL⁻¹ álcool anidro) e o fermento selecionado FS3 apresentou a menor média (57,29 mg.100 mL⁻¹ álcool anidro) de álcool isoamílico (Tabela 31).

A produção do álcool isobutílico pelos fermentos pode ser observada na Figura 12. As médias das concentrações de álcool isobutílico determinadas por cromatografia gasosa variaram de 17,13 a 86,62 mg.100 mL⁻¹ álcool anidro nas

cachaças produzidas com os três tipos de fermento e as duas variedades de cana utilizadas neste experimento.

Tabela 30: Resumo da Análise de Variância do teor de álcool isoamílico nas aguardentes de cana produzidas com fermentos caipiras, selecionados e mistos e com as variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280.

FV	GL	QM
FERMENTO	8	5618,06*
VARIEDADE	1	4,11
FERMENTO*VARIEDADE	8	675,96
RESÍDUO	18	637,92

* Significativo a 5% de probabilidade.

Tabela 31: Médias para álcool isoamílico expressos em mg de álcool isoamílico. 100 mL⁻¹ álcool anidro.

Média	Fermento
190,54	FS1 ^a
113,87	FS2 ^b
110,21	FC1 ^b
99	FM2 ^{bc}
93,97	FM1 ^{bc}
93,42	FM3 ^{bc}
86,06	FC3 ^{bc}
73,92	FC2 ^{bc}
57,29	FS3 ^c

* Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Duncan.

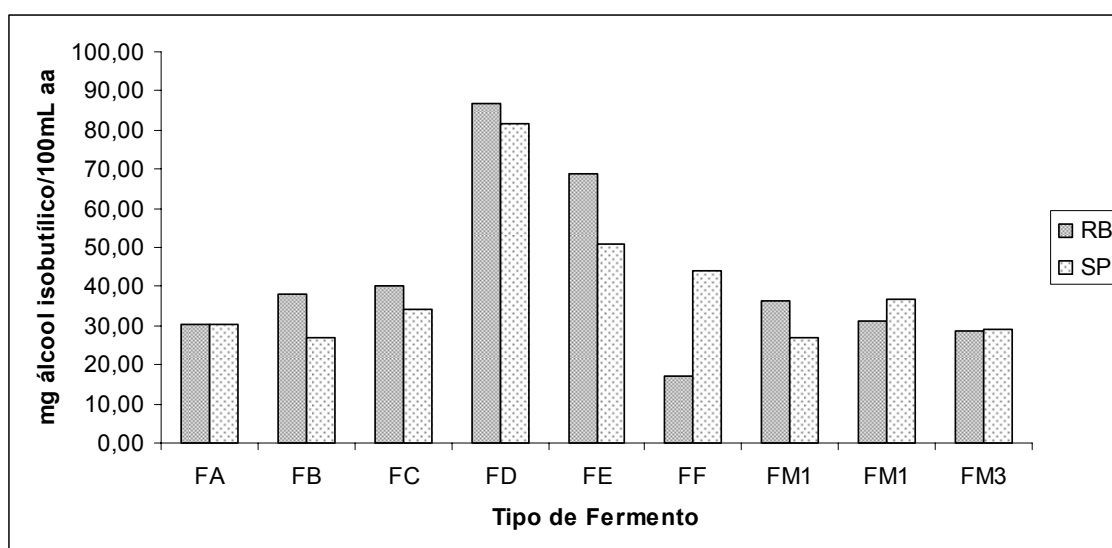


Figura 12: Produção de álcool isobutílico pelos fermentos caipiras, selecionados e mistos nas variedades de cana RB 85-5536 e SP 80-3280.

As médias do teor de álcool isobutílico diferiram estatisticamente entre si ($p < 0,05$) (Tabela 32). Observou-se a formação de três grupos distintos de médias sendo que fermento selecionado FS1 apresentou a maior média (84,08 mg.100 mL⁻¹ álcool anidro) e o fermento misto FM3 apresentou a menor média (28,96 mg.100 mL⁻¹ álcool anidro) de produção de álcool isobutílico (Tabela 33).

Tabela 32: Resumo da Análise de Variância do teor de álcool isobutílico nas cachaças produzidas com fermentos caipiras, selecionados e mistos e com as variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280.

FV	GL	QM
FERMENTO	8	1403,07*
VARIEDADE	1	28,35
FERMENTO*VARIEDADE	8	163,39
RESÍDUO	18	137,64

* Significativo a 5% de probabilidade.

Tabela 33: Médias para álcool isobutílico expressos em mg de álcool isobutílico. 100mL⁻¹ álcool anidro.

Média	Fermento
84,08	FS1 ^a
59,91	FS2 ^b
37,17	FC3 ^c
33,89	FM2 ^c
32,45	FC2 ^c
31,58	FM1 ^c
30,56	FS3 ^c
30,41	FC1 ^c
28,96	FM3 ^c

*Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Duncan.

A produção de 1-propanol pelos fermentos pode ser observada na Figura 12. As médias da concentração de 1-propanol determinada por cromatografia gasosa variou de 6,79 a 10,83 mg.100 mL⁻¹ álcool anidro nas aguardentes produzidas com os três tipos de fermento e as duas variedades de cana utilizadas neste experimento. Não houve diferenças significativas entre as médias do teor de 1-propanol produzido pelos fermentos caipiras, selecionados

e mistos nas variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280 (Tabela 34). A maior média foi obtida pelo fermento caipira FC1 (10,09 mg.100 mL⁻¹ álcool anidro) e a menor média foi obtida pelo fermento selecionado FS2 (7,56 mg.100 mL⁻¹ álcool anidro). Para variedade de cana, a maior média foi obtida pela variedade SP 80-3280 (8,86 mg.100 mL⁻¹ álcool anidro) e a menor média pela variedade. RB 85-5536 (8,84 mg.100 mL⁻¹ álcool anidro).

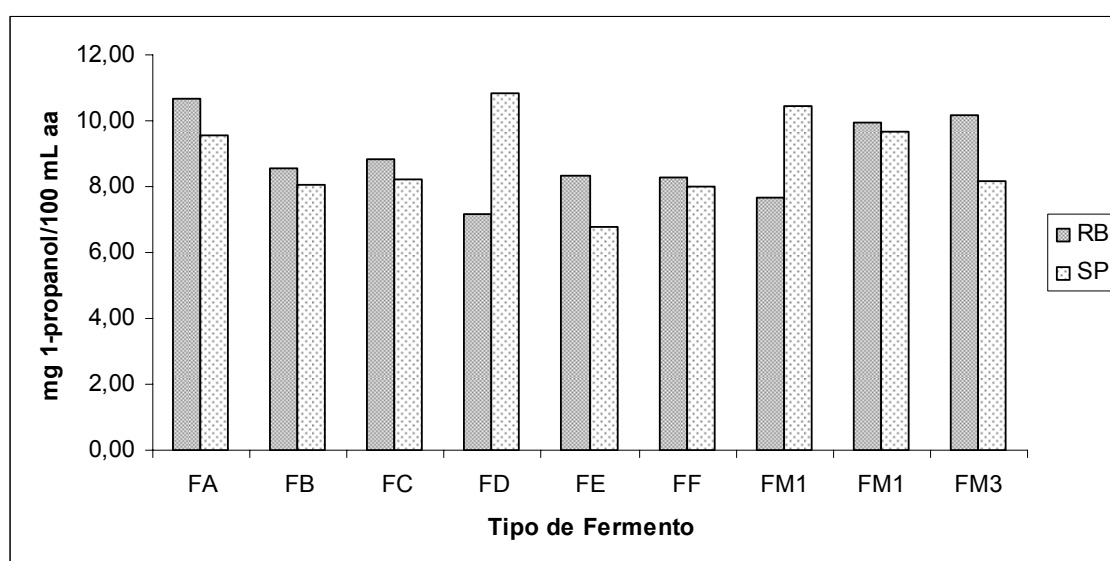


Figura 13: Produção de álcool 1-propanol pelos fermentos caipiras, selecionados e mistos nas variedades de cana RB 85-5536 e SP 80-3280.

Tabela 34: Resumo da Análise de Variância do teor de álcool 1-propanol nas aguardentes de cana produzidas com fermentos caipiras, selecionados e mistos e com as variedades de cana-de-açúcar RB 85-5536 e SP 80-3280.

FV	GL	QM
FERMENTO	8	2,603
VARIEDADE	1	0,002
FERMENTO*VARIEDADE	8	3,694
RESÍDUO	18	2,871

* Significativo a 5% de probabilidade.

A proporção dos álcoois superiores produzidos pelas linhagens estudadas por Silva et al. (2006) variou de 10,40 a 36,36 mg.100 mL⁻¹ álcool

anidro para 1-propanol, de 25,40 a 147,30 mg.100 mL⁻¹ álcool anidro para isobutílico, de 70,90 a 266,60 mg.100 mL⁻¹ álcool anidro para álcool isoamílico e de 110,70 a 263,10 mg.100 mL⁻¹ álcool anidro para álcoois superiores totais. Todos os compostos secundários das cachaças enquadraram-se nos limites estabelecidos pela legislação brasileira, com exceção dos álcoois superiores na cachaça obtida com a linhagem UFMGA 1207 (450 mg.100 mL⁻¹ álcool anidro).

O álcool isoamílico foi encontrado em maior proporção em relação aos 3 álcoois superiores estudados (isoamílico, isobutílico e 1-propanol) por Silva et al. (2009) variando de 59 % a 76 % do somatório dos 3 compostos compreendendo concentrações entre 184,45 e 328,86 mg/100 mL de álcool anidro. Giudici et al. (1990) estudaram a capacidade de produção de álcoois superiores em 100 linhagens *S. cerevisiae* e observaram diferenças significativas na produção dos mesmos nas linhagens testadas e afirmaram que se trata de uma característica individual de cada linhagem.

5. CONCLUSÕES

As variedades de cana-de-açúcar RB85-5536 e SP80-3280 influenciaram apenas a concentração de açúcares reductores totais e acidez volátil do vinho de cana-de-açúcar ao final do processo de fermentação e não influenciaram nenhum componente das amostras de cachaça, sendo que as amostras de vinho produzidas com a variedade RB85-5536 apresentaram as maiores médias para essas variáveis. Dessa forma, ambas as variedades de cana-de-açúcar avaliadas no presente estudo podem ser utilizadas para produção de cachaça de alambique sem prejuízo para qualidade do produto final, podendo ser fator de diversificação para a lavoura de cana-de-açúcar em função de maior grau de adaptação entre uma variedade e/ou outra às características da região de plantio e ao sistema de produção.

Os diferentes tipos de fermento influenciaram significativamente a maioria das variáveis avaliadas neste estudo, tanto no mosto fermentado quanto na cachaça, com exceção do teor alcoólico e da concentração de 1-propanol nas amostras de cachaça. O efeito do tipo de fermento sobre a composição físico-química das cachaças não depende da variedade de cana-de-açúcar utilizada.

Os fermentos selecionados FS1 e FS2, os fermentos caipiras FC1 e FC2 e os fermentos mistos FM1 e FM2, produziram amostras de vinho que apresentaram em média baixa acidez volátil e 6 a 7 % de etanol ao final da fermentação. As amostras de cachaça produzidas com esses fermentos apresentaram-se dentro dos padrões legais vigentes em relação à maioria dos itens avaliados. O fermento selecionado FS2 mostrou-se o mais viável dentre os fermentos utilizados neste experimento para produção de cachaça de alambique na região de Viçosa-MG, indicando que a seleção de leveduras para utilização em processos fermentativos pode contribuir para a melhoria da qualidade da cachaça de alambique.

Neste estudo, foi observada eficiência da fermentação alcoólica acima de 90% para os fermentos caipiras FC1 e FC2 indicando que existe a necessidade de uma melhor caracterização destes fermentos em estudos complementares quanto a parâmetros cinéticos e outros critérios quantitativos do processo de fermentação a fim de selecionar leveduras portadoras de

características tecnológicas desejáveis e com potencial de comercialização para a produção de cachaça.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRABE - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE BEBIDAS. **Cachaça**. Disponível em: <[http:// www.abrabe.org.br](http://www.abrabe.org.br)>. Acesso em 22/08/2008.

ALFONSI, R. R. et al. Condições climáticas para cana-de-açúcar. In: PARANHOS, S. B. (Coord.). **Cana-de-açúcar: cultivo e utilização**. Campinas, Fundação Cargil, 1987, v. 1, p. 42-55.

ALMEIDA E SILVA, JB. Cerveja. In: Venturini Filho, G. W. **Tecnologia de Bebidas**, p.347-380. Edgar Blücher, Brasil, 2005.

ALVES, M. **Revista Envasador**. Ed. 40. Guia de fornecedores, 2009.

AMPAQ – ASSOCIAÇÃO MINEIRA DOS PRODUTORES DE CACHAÇA DE QUALIDADE. **Historia da cachaça**. Disponível em: <<http://www.ampq.com.br>>. Acesso em 02/07/1009.

ANDRADE. L. A. B. de; ANJOS, I. A. dos; FIGUEIREDO, P. A. M. de; QUINTELA, A. C. R. Utilização de variedades selecionadas de cana-de-açúcar na produção de cachaça de alambique. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 23, n. 217, p.33-36, 2002.

ANDRADE-SOBRINHO, L.G.; BOSCOLO, M.; LIMA-NETO, B.S.; FRANCO, D.W.; Carbamato De Etila Em Bebidas Alcoólicas (Cachaça, Tiquira, Uísque E Grapa). **Química Nova**, Vol. 25, No. 6B, 1074-1077, 2002.

BAKKER, B. M.; OVERKAMP, K. M.; van MARIS, A. J. A.; KÖTTER, P.; LUTTIK, A. H.; van DIJKEN, J. P.; PRONK, J. T. Stoichiometry and compartimentation of NADH metabolism in *Saccharomyces cerevisiae*. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 25, p. 15 – 37, 2001.

BARBOSA, E. A. **Avaliação fitotécnica de cinco variedades de cana-de-açúcar para o município de Salinas-MG**. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista - BA, 2005.

BARBOSA, H. R.; TORRES, B. B.; colaboração FURLANETO, M. C. **Microbiologia básica**. São Paulo: Ed. Atheneu, 2005. 196p.

BARNETT, J. A. Introduction: A Historical Survey of the study of yeasts. In: **Yeast Sugar Metabolism**. Zimmermann, F.K., Entian, K.D. (eds), Technomic, USA, 1-30, 1997.

BASSO, L.C.; OLIVEIRA, A. J.; ORELLI, V. F. D. M.; CAMPOS, A. A.; GALLO, C. R.; AMORIM, H. V. Dominância das leveduras contaminantes sobre linhagens industriais avaliadas pela técnica de cariotipagem. In: **STAB**, 5, 1993, Águas de São Pedro, SP, Anais...Águas de São Pedro, STAB, 1993, p. 246-250.

BATISTA, F. R. M. **Estudo do processo de destilação alcoólica contínua: Simulação de plantas industriais de produção de álcool hidratado, álcool neutro e cachaça.** Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. Campinas - SP. 2008.

BERRY, D. R. Alcoholic beverage fermentations. In: LEA, A. G. H., PIGGOTT, J. R. **Fermented Beverage Production** 1.ed. London: Blackie Academic & Professional, 1995. cap.2, p. 32-44.

BIZELLI, L.C. **Influência da condução da dupla destilação nas características físico-químicas e sensoriais da aguardente de cana.** Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba - SP, 2000.

BRASIL. **Decreto nº 6871, de 4 de junho de 2009.** Regulamenta a Lei nº 8918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 05/06/2009. Seção 1, p. 20.

BRASIL. **Instrução normativa nº 13, de 29 de junho de 2005.** Aprova o regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para aguardente de cana e para cachaça. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 30/06/2005. Seção 1, p. 3.

BOGUSZ JUNIOR, S., KETZER, D. C. M., GUBERT, R., ANDRADES, L., GOBO, A. B. Composição química da cachaça produzida na região noroeste do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 4, p. 793-798, out.-dez. 2006.

BOZA, Y. E. A. G. **Influência da condução da destilação sobre a composição e a qualidade sensorial da aguardente de cana.** Dissertação (Mestrado). Escola Superior de Agricultura “Luis de Queiroz” – Universidade de São Paulo. Piracicaba – SP, 1996.

BOZE, H., MOULIN, G., GALZY, P. Production of Food and Fodder Yeasts. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 12, n. 1/2, p. 65-86, 1992.

CAMPELO, E. A. P. Agronegócio da cachaça de alambique de Minas Gerais: panorama econômico e social. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 23, n. 217, p. 7-18, 2002.

CARDOSO, M. G. **Produção artesanal de aguardente.** Lavras: UFLA, 2006.

CARVALHO, W.; CANILHA, L.; ALMEIDA e SILVA, J. B. Cinética da fermentação e balanço de massa da produção de cachaça artesanal. **Brazilian Journal of Food Technology**, VII BMCFB, dez. 2008.

CARVALHO, S. A. **Efeito do envelhecimento em tonéis de três espécies de madeira sobre a qualidade sensorial de aguardente de cana-de-açúcar.** Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG, 2001.

CARVALHO NETTO, O. V. **Identificação de bactérias contaminantes de fermento de cachaça por sequenciamento do gene 16S rDNA**. Dissertação (Mestrado). Escola Superior de Agricultura Luis de Queiroz, Piracicaba - SP, 2007.

CASSINI, C. E. B. **Produção de aguardente de cana-de-açúcar por células imobilizadas**. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. Campinas – SP, 2004.

CHAVES, J.B.P. **Manual Técnico CPT: Cachaça – Produção Artesanal de Qualidade**. Viçosa – MG, 1998.

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

CHERUBIN, R. A. **Efeitos da adição de benzoato de sódio na fermentação alcoólica para produção de aguardente de cana-de-açúcar (*Saccharum spp*)**. Dissertação (Mestrado). Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba – SP, 1998.

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

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

CURVELO-GARCIA, A. S. **Controle de qualidade dos vinhos. Química Enológica**, Lisboa, Instituto da Vinha e do Vinho. 1988. 245 p.

DEMIATE. I. M.; WOSIACKI, G.; CZELUSNIACK, C.; NOGUEIRA, A. Determinação de açúcares redutores e totais em alimentos. Comparação entre método colorimétrico e titulométrico. **Ciências Exatas e da Terra, Ciências Agrárias e Engenharias**, v. 8, n. 1, p. 65-78, 2002.

ESTANISLAU, M.L.L.; CANÇADO JUNIOR, F.L.; PAIVA, B.M. Mercado atual e potencial da cachaça. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 23, n. 217, p. 19-24, 2002.

FARIA, J. B. Dispositivo para eliminação do cobre contaminante das aguardentes. **Patente Brasil**. PI 8206688. 28 de nov. de 1989.

FARIA, J. B. Sobre a produção de aguardente de cana. **Engarrafador Moderno**, n. 40, p. 9-16, 1995.

FERNANDES, O. W. B. **Avaliação de variedades de cana-de-açúcar para produção de cachaça artesanal e a interferência dos resultados no**

comportamento do produtor na região de Salinas-MG: uma contribuição extensionista. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica - RJ, 2005.

FIALHO, C.J. **Identificação de *Saccharomyces cerevisiae* por técnicas moleculares (PCR e PFGE) em uma fermentação de caldo de cana-de-açúcar.** Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Lavras. Lavras, 2000.

FIECHTER, A., FUHRMANN, G. F., KAPPELI, O. Regulation of glucose metabolism in growing yeast cells. **Adv. Microbiol. Phys.**, v. 22, p. 123 - 183, 1981.

FURTADO, S.M.B. **Avaliação sensorial descritiva de aguardente de cana: Influência da composição em suas características sensoriais e correlação entre as medidas sensoriais e físico-químicas.** Tese (Doutorado). Universidade Estadual de Campinas. Campinas – SP, 1995.

GALINARO, C. A. **Distinção entre cachaça produzida com cana-de-açúcar queimada e não queimada.** Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo. São Carlos – SP, 2006.

GIUDICI, P.; ROMANO, P.; ZAMBONELLI, C. A biometric study of higher alcohol production in *Saccharomyces cerevisiae*. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 36, p. 61-64, 1990.

GUERRA, J.B.; ARAÚJO, R.A.C.; PATARO, C.; FRANCO, G.R.; MOREIRA, E.S.A.; MENDONÇA-HAGLER, L.C., ROSA, C.A. Genetic diversity of *Saccharomyces cerevisiae* strains during the 24 h fermentative cycle for the production of the arthisanal Brazilian cachaça. **Letters in Applied Microbiology**, v. 33, p. 106-111, 2001.

GUIMARÃES, T. M. **Isolamento, identificação e seleção de cepas de levedura *Saccharomyces cerevisiae* para elaboração de vinhos.** Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Paraná. Curitiba – PR, 2005.

HANG, Y. D.; LEE, C. Y.; WOODAMS, E. E.; COOLEY, H. J. Production of Alcohol from Apple Pomace. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 42, n. 6, p. 1128 – 1129, dez., 1981.

HISS, H. In: SCHMIDELL, W. (Coord.); LIMA, U.A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. **Biotechnologia Industrial: Engenharia bioquímica.** São Paulo: Edgard Blücher, v. 2, p. 93-122, 2001.

IBRAC – INSTITUTO BRASILEIRO DA CACHACA. Disponível em <<http://www.ibrac.net>>. Acesso em 02/07/2009.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos.** Coord. ZENEON, O. PASCUET, N. S. Edição IV. São Paulo, 2004.

JANZANTTI, N. S. **Compostos voláteis e qualidade de sabor da cachaça.** Tese (Doutorado). Universidade Estadual de Campinas. Campinas – SP, 2004.

JERONIMO, E. M. **O nitrogênio protéico na fermentação alcoólica e sua influência na qualidade da cachaça.** Tese (Doutorado). Universidade Estadual de Campinas. Campinas – SP, 2004.

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

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

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica.** 2ª ed. Simões AA, Lodi, WRN. São Paulo, Sarvier, p. 570-585, 1995.

LIMA, U. A. **Estudo dos principais fatores que afetam os componentes do coeficiente não álcool das aguardentes de cana.** Tese (Concurso efetivo ao cargo de professor catedrático). Escola Superior de Agricultura Luís de Queiroz. Piracicaba – SP, 1964.

LIMA, U. A. **Aguardente: fabricação em pequenas destilarias.** 1ª ed. Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, 1999. 187 p.

LIMA, U.A. Aguardentes. In: AQUARONE, E. (Coord); BORZANI, W.; SCHMIDELL, W.; LIMA, U.A.; **Biotecnologia Industrial: Alimentos e bebidas produzidos por fermentação.** São Paulo: Edgard Blücher, v. 4. p. 145-182, 2001.

LIMA, U.A. Produção Nacional de aguardentes e potencialidade dos mercados internos e externos. In: MUTTON, M.J.R., MUTTON, M.A. **Aguardente de cana: produção e qualidade.** Jaboticabal, Editora Unesp, p. 151-163, 1992.

MACÊDO, G A. R.; SILVEIRA, L. C. I.; ANDRADE, L. A. B.; COSTA, E. L.; OLIVEIRA, S. ; MATTER, U. F. Variedades de cana-de-açúcar para a produção de cachaça de alambique. **Informe Agropecuário,** Belo Horizonte, v. 30, n. 248, p. 20-24, jan./fev., 2009.

MAIA, A. B. R. Componentes voláteis da cachaça. **Sociedade Tecnologia Álcool e Bebidas,** Piracicaba, v. 12, n. 6, p. 29-34, 1994.

MAIA, A. B. R. A.; PEREIRA, A. J. G.; SCHWABE, W. T. **Tecnologia para produção de aguardente de qualidade.** Belo Horizonte: Fundação Cristiano Otoni, 1994. 74 p.

MALTA, H. L. **Estudos de parâmetros de propagação de fermento (*Saccharomyces cerevisiae*) para produção de cachaça de alambique.**

Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte – MG, 2006.

MARTINHO, D.B., SANTOS, S. Apoio governamental incentiva produção de cachaça. **Drinking – Informativo do Mercado de Bebidas**. Ano 6, n. 16, 1997.

MENDONÇA, A. T. **Identificação e estudo das características fisiológicas de *Saccharomyces cerevisiae* presentes em fermentação espontânea de caldo de cana-de-açúcar**. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Lavras. 1999.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, 31, 3, 426-428, 1959.

MINAS GERAIS. **Lei 13.949 de 11 de julho de 2001**. Estabelece o padrão de identidade e as características do processo de elaboração da cachaça artesanal de Minas e dá outras providências. Disponível em <<http://www.almg.gov.br>> Acesso em 27 de julho de 2009.

MIRANDA, M. B., MARTINS, N. G. S., BELLUCO, A. E. S., HORII, J., ALCARDE, A. R. Perfil físico-químico de aguardente durante envelhecimento em tonéis de carvalho. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 28 (Supl.): 84-89, dez. 2008.

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

MORAIS, P. B.; ROSA, C. A., LINARDI, V. R.; PATARO, C.; MAIA, A. B. R. A. Short communication: characterization and succession of yeast populations associated with spontaneous fermentations during the production of brazilian sugar-cane aguardente. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Oxford, v.13, p. 241-243, 1997.

NÓBREGA, I. C. da C. **Características de qualidade de aguardentes de cana comerciais e comparação entre dois processos de fermentação**. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 1994.

NOVAES, F.V. Cachaça de alambique x aguardente “industrial”. **Engarrafador Moderno**, São Paulo, p.46-49, 2002.

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

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

OLIVEIRA, E. S. **Características fermentativas, formação de compostos voláteis e qualidade da aguardente de cana obtida por linhagens de leveduras isoladas de destilarias artesanais.** Tese (Doutorado). Universidade Estadual de Campinas. Campinas – SP, 2001.

OLIVEIRA, E. S.; CARDELLO, H. M.; JERÔNIMO, E. M.; SERRA, G. E. The influence of different yeasts on the fermentation, composition and sensory quality of cachaça. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 21, p. 707-715, 2005.

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

PATARO, C.; GUERRA, J.B; PETRILLO-PEIXOTO, M.L ; MENDONÇA-HAGLER, L.C; LINARDI, V.R e ROSA, C.A. Yeast communities and genetic polymorphism of *Saccharomyces cerevisiae* strains associated with artisanal fermentation in Brazil. **Journal of Applied Microbiology**, v. 89, p. 24-31, 2000.

PATARO, C., SANTOS, A., CORREA, S.R., MORAIS, P.B., LINARDI, V.R., ROSA, C.A. Physiological characterization of yeasts isolated from artisanal fermentation in an aguardente distillery. **Revista de Microbiologia**, v. 29, p. 104-108, 1998.

PEREIRA, N. E.; CARDOSO, M. das G.; AZEVEDO, S. M. de; MORAIS, A. R. de; FERNANDES, W.; AGUIAR, P. M. Compostos secundários em cachaças produzidas no estado de Minas Gerais. **Ciência agrotécnica**, Lavras, v. 27, n. 5, p. 1068-1075, set./out., 2003.

PEDDIE, H. A. B. Ester formation in brewery fermentations. **Journal of the Institute of Brewing**, London, v.96, p.327-331, sept.-oct., 1990.

PINHEIRO, R. I. C. **Estudo do efeito da pressão na fisiologia de leveduras.** Tese (Doutorado). Universidade do Minho. Braga - Portugal. 2004.

PIGGOTT, J. R. (Eds.). **Fermented Beverage Production.** New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers, chapter 15, p. 335-363, 2003.

PRATI, P.; CARMARGO, G. A. Características do caldo de cana e sua influência na estabilidade da bebida. **Bioengenharia**, Campinas, v. 2, n. 1, p. 037-044, jan-abr, 2008.

RIBEIRO, J. C. G. M. **Fabricação Artesanal de Cachaça Mineira.** 2 ed. Belo Horizonte: O Lutador, 2002. 223 p.

ROCHA, C. M. R. **Optimização de estratégias de alimentação para identificação de parâmetros de um modelo de fermento de padeiro.** 1996. Tese (Doutorado). Universidade do Minho. Braga - Portugal, 1996.

RODRIGUES FILHO, A.; OLIVEIRA, R. N. **Tecnologia de produção de cana-de-açúcar e cachaça de Minas de qualidade**. Belo Horizonte: EMATER-MG, 1999.

SAS. **Statistical Analytical System**. SAS Institute Inc., SAS Campus Drive: Cary, North Carolina, USA, Version 9.1.

SESCSP. Brinde a cachaça. **Revista Problemas Brasileiros**, nº380, mar-abr, 2007. Disponível em www.sescsp.org.br. Acesso em 06/06/2009.

SIEBALD, H. G. L.; CANUTO, M. H.; LIMA, G. M.; SILVA, L. B. B. Alguns aspectos toxicológicos da cachaça. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 23, n. 217, p. 59-62, 2002.

SILVA, P. H.; SANTOS, J. O.; ARAÚJO, L. D.; FARIA, F. C.; PEREIRA, A. F.; OLIVEIRA, V. A.; VICENTE, M. A.; BRANDÃO, R. L. Avaliação cromatográfica de compostos voláteis de cachaças produzidas com leveduras de diferentes procedências. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 1, p. 1-7; jan-mar, 2009.

SILVA, P. H. A. Physical-chemical and sensory evaluation of Brazilian sugar cane distilled alcoholic beverage. In: BRYCE, J. H.; PIGGOT, J. R.; STEWART, G. G. **Distilled Spirits: Production, technology and innovation**. Nottingham University Press. The Institute of Brewing and Distilled Scottish Section, 2008.

SILVA, J. A.; DAMASCENO, B. P. G. L.; SILVA, F. L. H.; MADRUGA, M. S.; SANTANA, D. P. Aplicação da metodologia de planejamento fatorial e análise de superfícies de resposta para otimização da fermentação alcoólica. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1073-1077, 2008.

SILVA, C. L. C.; ROSA, C. A.; MAIA, A. B. R. A.; OLIVEIRA, E. S. **Qualidade química e sensorial de cachaças produzidas com quatro linhagens de *saccharomyces cerevisiae* (floculantes, não-produtoras de H₂S e de referência)**. B.CEPPA, Curitiba, v. 24, n. 2, p. 405-422, jul./dez., 2006.

SILVA, R. N.; MONTEIRO, V. N.; ALCANFOR, J. D. X.; ASSIS, E. M.; ASQUIERI, E. R. Comparação de métodos para a determinação de açúcares redutores e totais em mel. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 3, 2003.

SILVA, C.A.B. (coord.). **Produção de aguardente de cana**. Série Perfis Agroindustriais, n. 4. Brasília: Ministério da Agricultura, Abastecimento e da Reforma Agrária, Secretaria do Desenvolvimento Rural. 30p, 1995.

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

VENTURINI FILHO, W. G. **Tecnologia de Bebidas**. São Paulo: Edgar Blücher, 2005.

VENTURINI FILHO, W. G.; MENDES, B. P. **Tecnologias, Usos e Potencialidades de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas**. Série Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas, v. 3, cap. 19, Fundação CARGILL, 2003.

VILA NOVA, M. X. **Análise das leveduras do mosto da fermentação alcoólica de alambiques artesanais produtores de cachaça em Pernambuco**. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Pernambuco, Recife - PE, 2008.

VILELA, F. J.; CARDOSO, M. G.; MASSON, J.; ANJOS, J. P. Determinação das composições físico-químicas de cachaças do sul de Minas Gerais e de suas misturas. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 31, n. 4, p. 1089-1094, jul./ago., 2007.

VILELA, A. F. **Estudo da adequação de critérios de Boas Práticas de Fabricação na avaliação de fábricas de cachaça de alambique**. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia. Belo Horizonte - MG, 2005.

WALKER, GM. Yeast Metabolism. In: **Yeast Physiology and Biotechnology** ed. John Wiley & Sons, pp. 203-264, West Sussex, England, 1998.

YOKOTA, S. R. C.; **Qualidade Sensorial e Físico-Química de Cachaças Envelhecidas em Recipientes de Carvalho e de Algumas Madeiras Brasileiras**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa. Viçosa – MG, 2002.

YOKOYA, F. **Fabricação da Aguardente de Cana**. Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia “André Tosello”. Campinas: Série Fermentações Industriais, n. 2, p. 92, 1995.

(UNICA, 2009) **Dados de produção de cana**. Disponível em <http://www.unica.com.br/dadosCotacao/estatistica/>. Acesso em 09/06/2009.