

Universidade Estadual de Campinas
Faculdade de Engenharia de Alimentos
Departamento de Ciências de Alimentos

Compostos Voláteis e Qualidade de Sabor da Cachaça

Natália Soares Jazantti

Farmacêutica Bioquímica

Dra. Maria Regina Bueno Franco

Orientadora

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, para a obtenção do título de Doutor em Ciência de Alimentos.

Campinas, São Paulo

2004

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA F.E.A. – UNICAMP

J269c Janzanti, Natália Soares
Compostos voláteis e qualidade de sabor da cachaça / Natália
Soares Janzanti. – Campinas, SP: [s.n.], 2004.

Orientador: Maria Regina Bueno franco
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1.Cachaça. 2.Sabor. 3.Cromatografia gasosa.
4.Olfatometria. 5.Espectometria de Massas. I.Franco, Maria
Regina Bueno. II.Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Engenharia de Alimentos. III.Título.

BANCA EXAMINADORA

Dra. Deborah H. M. Bastos
membro

Dra. Deborah dos Santos Garruti
membro

Dr. Fernando Valadares Novaes
membro

Dra. Helena Maria André Bolini
membro

Dr. João Bosco Faria
membro

Dra. Maria Aparecida A. P. da Silva
membro

Dra. Maria Regina Bueno Franco
membro

*O valor de um ideal pode ser medido
pela quantidade de sacrifícios que
você é capaz de fazer por ele. (Golsworthy)*

*Aos meus pais, Maria José e Naur,
irmãos Náira, Naur e Níele,
e sobrinhos Victor Luís, Clara e Pedro Henrique,
dedico.*

Aos que partiram.....
“Longe é um lugar que não existe. Sempre estaremos juntos.”
dedico.

Agradecimentos

A Deus, que sempre esteve guiando meu caminho, protegendo-me e não deixando que os "pequenos" obstáculos fizessem com que desistisse desta conquista;

A Dra. Maria Regina Bueno Franco, pela orientação, paciência, amizade, exemplo de profissionalismo e ética, que me ensinou, além "da arte do aroma", que com alegria os problemas podem ser enfrentados com mais facilidade;

A Direção da Faculdade de Engenharia de Alimentos, do Departamento de Ciências de Alimentos e do Laboratório de Análise de Alimentos, pela oportunidade e facilidades concedidas na execução deste trabalho;

Aos colegas de mestrado e de Doutorado pela colaboração científica, apoio e companheirismo;

A Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara - Unesp, na pessoa do Prof. João Bosco Faria, possibilitando à realização da parte sensorial;

A Profa. Helena Maria A. Bolini pela orientação na parte sensorial;

Aos provadores do teste de aceitação e da análise descritiva quantitativa pela paciência e colaboração;

A Magali, Domingos e Bárbara que me acolheram por tanto tempo em sua casa durante a realização da parte sensorial e mais, que me consideraram, desde o primeiro dia, como membro da família, meu muito obrigado é pouco;

A Renata, Mara, Paulo Sérgio e a turma de 2000 de Alimentos de Araraquara pela amizade e pela colaboração durante a minha estadia em Araraquara;

Ao Laboratório de Enologia da Espanha, na pessoa do Prof. Juan Cacho Palomar, pela realização da parte instrumental, bem como a orientação exemplar do Prof. Vicente Ferreira e o auxílio no laboratório do Prof. Ricardo López;

Aos amigos espanhóis e "estrangeiros", que foram muitos, os quais compartilhei belos momentos na Espanha. Em especial no laboratório ao Ricardo, Marga, Lina, Natália, Jorge e Laura. E fora dele: Muna, Andrés, Cristobal, Isumi, Miguel, Carmem, Conchi, Trini, Tomas, Ignácio, Jose Luis.....;

Aos membros da banca examinadora pela participação e valiosas sugestões;

A Profa. Maria Aparecida A. P. da Silva pela colaboração nas análises estatísticas e inúmeros estímulos;

A Profa. Delia Rodriguez-Amaya pela oportunidade concedida na realização da monitoria e pelas correções do inglês;

As Deborahs (Deborah Bastos e Deborah Garruti), uma que conheci no mestrado e a outra no doutorado, que sempre souberam ser minhas irmãs e amigas, e eternas apaixonadas pela área de aroma;

Aos amigos que foram se somando à área de aroma e porque não de ácidos graxos durante os anos: Gisele, Neiva, Betânia, Selma, Roger, Karina e Suzi;

A Família Kawashima e Queiroz pela amizade fraternal, risadas e comilanças

Aos meus amigos Ceci, Fabio, Fabiana, Andréa pelas longas e longas conversas descontraídas;

Aos primos Joice e Bernadino que me acolheram por um longo tempo em sua casa;

Aos meus sobrinhos Victor Luís, Clara e Pedro Henrique que continuam fazendo meus dias mais alegres e felizes, aprendo muito com vocês;

Aos meus irmãos Náira, Naur e Niéle que sempre me apoiaram;

Acima de qualquer coisa, aos meus pais, que sempre acreditaram que este dia ia acontecer, e fizeram de tudo e mais um pouco, para que ele fosse de total realização (felicidade!!!);

A todos aqueles que direta ou indiretamente colaboraram para que esse trabalho e que num lapso de "emoção" me esqueci: **MUITO OBRIGADA!!**

Nunca esquecerei estes anos vividos na Unicamp e quantas pessoas maravilhosas e especiais que conheci.

ÍNDICE GERAL

ÍNDICE DE FIGURAS	xii
ÍNDICE DE TABELAS	xiii
RESUMO GERAL	1
SUMMARY	3
INTRODUÇÃO GERAL	5
Capítulo 1: Revisão bibliográfica	7
1. METODOLOGIA DA PESQUISA DO SABOR	9
1.1. Métodos de Isolamento dos Compostos Voláteis	9
1.2. Separação dos Compostos Voláteis	12
1.3. Identificação dos Compostos Voláteis	12
1.4. Avaliação Sensorial	13
2. CACHAÇA	15
2.1. Definição	15
2.2. Produção da Cachaça: Matéria-prima, Fermentação, Destilação e Envelhecimento	16
2.2.1. Matéria-prima	18
2.2.2. Fermentação	18
2.2.3. Destilação	21
2.2.4. Envelhecimento	23
2.3. Compostos Voláteis Presentes em Bebidas Alcoólicas e na Cachaça	25
2.3.1. Ésteres	25
2.3.2. Alcoois	26
2.3.3. Ácidos Orgânicos	27
2.3.4. Aldeídos	28
2.3.5. Outros compostos voláteis	29
2.4. Análise Química da Cachaça	30
2.5. Contaminantes e Defeitos na Cachaça	35
2.6. Análise Sensorial da Cachaça	37
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40
Capítulo 2: Análise dos compostos voláteis da cachaça por extração em fase sólida	47
RESUMO	49
ABSTRACT	49
1. INTRODUÇÃO	49
2. MATERIAL E MÉTODO	51
2.1. Material	51
2.2. Métodos	51
2.2.1. Reagentes e padrões	51
2.2.2. Procedimento geral para a extração dos compostos voláteis em polímero Lichrolut EN	51
2.2.3. Condições cromatográficas de análise	52
2.2.4. Estabelecimento dos parâmetros testados do método de extração	52
2.2.4.1. Porcentagem de diluição da amostra de cachaça para máxima recuperação dos compostos voláteis	52

2.2.4.2. Volume mínimo de solvente para a eluição dos compostos voláteis	52
2.2.4.3. Solvente de eluição	53
2.2.4.4. Volume de ruptura	53
2.2.5. Teste de recuperação	53
2.2.6. Análise sensorial da representatividade do extrato	53
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
4. CONCLUSÕES	59
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60

Capítulo 3: Identificação e quantificação dos compostos odoríferos da cachaça por CG-EM e CG-olfatometria (AEDA) 63

RESUMO	65
ABSTRACT	65
1. INTRODUÇÃO	66
2. MATERIAL E MÉTODOS	67
2.1. Material	67
2.2. Métodos	68
2.2.1. Reagentes e padrões	68
2.2.2. Extração dos Compostos Voláteis da Cachaça para Análise por CG-Olfatometria (AEDA)	68
2.2.3. CG-Olfatometria (AEDA)	68
2.2.4. Análise Quantitativa dos Compostos Voláteis	69
2.2.4.1. Compostos majoritários (CG-DIC)	69
2.2.4.2. Compostos minoritários (CG-EM)	70
2.2.5. Confirmação da Identidade do Composto	70
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	71
4. CONCLUSÕES	79
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	79

Capítulo 4: Composição de voláteis das principais cachaças comercializadas em Campinas 83

RESUMO	85
ABSTRACT	85
1. INTRODUÇÃO	86
2. MATERIAL E MÉTODOS	87
2.1. Material	87
2.2. Métodos	87
2.2.1. Reagentes e padrões	87
2.2.2. Análise quantitativa dos compostos voláteis da cachaça	88
2.2.2.1. Compostos majoritários (CG-DIC)	88
2.2.2.2. Compostos minoritários (CG-EM)	89
2.2.3. Confirmação da identidade do composto	89
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	90
4. CONCLUSÕES	99
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	99

Capítulo 5: Compostos voláteis importantes para a qualidade sensorial das cachaças comercializadas em Campinas 101

RESUMO	103
ABSTRACT	104
1. INTRODUÇÃO	105
2. MATERIAL E MÉTODOS	106
2.1. Material	106
2.2. Métodos	106
2.2.1. Análise sensorial	106
2.2.1.1. Análise de aceitação das amostras de cachaça	106
2.2.1.2. Análise descritiva quantitativa	108
2.3. Análise Estatística	110
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	110
3.1. Teste de Aceitação	110
3.2. Análise Descritiva Quantitativa	115
3.2.1. Recrutamento e pré-seleção dos provadores	115
3.2.2. Terminologia descritiva	115
3.2.3. Treinamento e seleção de provadores	117
3.2.4. Caracterização sensorial das amostras	117
3.3. Relações entre os Voláteis presentes nas Cachaças e os Perfis Sensoriais	121
4. CONCLUSÕES	134
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	134
CONCLUSÕES GERAIS	137
ANEXOS	139

ÍNDICE DE FIGURAS

Capítulo 2: *Análise dos compostos voláteis da cachaça por extração em fase sólida*

- Figura 1:** Porcentagem de extração acumulada de alguns compostos voláteis da cachaça com o aumento do volume de solvente (diclorometano) 55
- Figura 2:** Efeito do aumento do volume de solução de cachaça 20% de etanol (v/v) na área relativa de alguns compostos voláteis 56
- Figura 3:** Porcentagem de recuperação dos compostos voláteis com o aumento do volume de solução de cachaça 20% v/v de etanol 57
- Figura 4:** Cromatograma dos compostos voláteis da cachaça extraídos por extração em fase sólida 59

Capítulo 3: *Identificação e quantificação dos compostos odoríferos da cachaça por CG-EM e CG-olfatometria (AEDA)*

- Figura 1:** Cromatograma dos compostos voláteis da cachaça obtido por extração com solvente e analisado por CG-DIC 72
- Figura 2:** Cromatograma dos compostos voláteis da cachaça obtido por extração em fase sólida e análise por CG-EM 72
- Figura 3:** Compostos voláteis odoríferos de cachaça detectados pela técnica de CG-olfatometria (AEDA), a) cromatograma e b) aromagrama 76

Capítulo 4: *Composição de voláteis das principais cachaças comercializadas em Campinas*

- Figura 1:** Contribuição, em porcentagem, das diferentes classes químicas à composição das cachaças ... 97
- Figura 2:** Histogramas do conteúdo total das diferentes classes químicas ($\mu\text{g/L}$) nas amostras comerciais de cachaça 98

Capítulo 5: *Compostos voláteis importantes para a qualidade sensorial das cachaças comercializadas em Campinas*

- Figura 1:** Ficha de avaliação das cachaças para o teste de aceitação 107
- Figura 2:** Representação gráfica dos resultados de aceitação de cachaça em relação ao aroma 112
- Figura 3:** Representação gráfica dos resultados de aceitação de cachaça em relação ao sabor 112
- Figura 4:** Representação gráfica dos resultados de aceitação de cachaça em relação à impressão global 113
- Figura 5:** Representação gráfica dos resultados de cachaças do teste de atitude de compra 113
- Figura 6:** Ficha de avaliação dos atributos das cachaças 116
- Figura 7:** Representação gráfica dos resultados da Análise Descritiva Quantitativa para as cachaças ... 118
- Figura 8:** Análise dos Componentes Principais (ACP) das quatro cachaças 120
- Figura 9:** Análise dos componentes principais para a classe dos ésteres 122
- Figura 10:** Análise dos componentes principais para a classe dos ésteres 123
- Figura 11:** Análise dos componentes principais para a classe dos álcoois 125
- Figura 12:** Análise dos componentes principais para a classe dos terpenos 126
- Figura 13:** Análise dos componentes principais para a classe dos ácidos 127
- Figura 14:** Análise dos componentes principais para a classe dos fenóis 128
- Figura 15:** Análise dos componentes principais para a classe das cetonas, aldeídos e lactonas 129

ÍNDICE DE TABELAS

Capítulo 2: *Análise dos compostos voláteis da cachaça por extração em fase sólida*

Tabela 1: Efeito de diferentes diluições da cachaça sobre a área relativa de alguns compostos voláteis .	55
Tabela 2: Efeito do uso de diferentes solventes de eluição sobre a área relativa de alguns compostos voláteis	56
Tabela 3: Porcentagem de recuperação de alguns compostos voláteis da cachaça por extração em fase sólida	57
Tabela 4: Nível de significância nos testes sensoriais para verificar a representatividade do extrato	58

Capítulo 3: *Identificação e quantificação dos compostos odoríferos da cachaça por CG-EM e CG-olfatometria (AEDA)*

Tabela 1: Composição de voláteis da amostra de cachaça de alta qualidade	73
Tabela 2: Compostos voláteis odoríferos da cachaça detectados pela técnica olfatométrica CG-AEDA .	77

Capítulo 4: *Composição de voláteis das principais cachaças comercializadas em Campinas*

Tabela 1: Concentração ($\mu\text{g/L}$) dos compostos voláteis nas amostras de cachaça comercializadas em Campinas	91
--	----

Capítulo 5: *Compostos voláteis importantes para a qualidade sensorial das cachaças comercializadas em Campinas*

Tabela 1: Médias ¹ de aceitação das amostras de cachaça obtidos em teste de consumidor	111
Tabela 2: Definições e referências utilizadas para descrever os atributos da cachaça	115
Tabela 3: Médias da equipe sensorial para a intensidade dos atributos de aparência, aroma e sabor das amostras de cachaça	118
Tabela 4: Coeficiente de correlação de Pearson (r) e o p (r) para os eixos I e II das ACPs em relação à aceitação das amostras de cachaça	132

RESUMO GERAL

A cachaça é a bebida mais consumida no Brasil, com uma produção anual de 1,3 bilhão de litros. Uma boa cachaça, além de atender as exigências legais com relação à sua composição, deve também apresentar qualidade sensorial capaz de satisfazer ou mesmo ultrapassar as expectativas de seus consumidores. Os compostos voláteis como álcoois superiores, ésteres, ácidos carboxílicos e compostos carbonílicos são importantes para o sabor característico das bebidas alcoólicas.

A revisão da literatura mostrou que, até o presente momento, não existe um estudo sobre a composição de voláteis de cachaça, abrangendo todas as classes químicas presentes na bebida, assim como não se conhece os compostos voláteis odoríferos importantes para a sua qualidade sensorial.

Para isso, um método foi desenvolvido em extração em fase sólida para a análise dos compostos voláteis da cachaça por cromatografia gasosa. Os compostos voláteis foram extraídos de uma solução de cachaça/água (1:1) em um cartucho contendo 200 mg de resina Licrolut EN da Merck e a eluição feita com 1,5 mL de diclorometano/dimetil éter (9:1 v/v). O extrato obtido foi representativo da amostra original de cachaça. O método mostrou-se simples, rápido e com recuperação dos compostos voláteis acima de 93%.

Os compostos voláteis de 13 amostras comerciais de cachaça foram determinados por dois métodos, sendo os compostos majoritários por CG-DIC e os minoritários por CG-EM, através do monitoramento de íons selecionados, para maior sensibilidade e empregando-se o método desenvolvido. Os compostos voláteis foram identificados por índice de retenção, espectrometria de massas e padrões puros.

Foram identificados 65 compostos voláteis nas 13 amostras analisadas, dos quais 48 foram relatados pela primeira vez em cachaça. Os compostos identificados compreenderam 21 ésteres, 10 ácidos, 9 álcoois, 9 fenóis, 6 terpenos, 4 aldeídos, 4 cetonas e 2 lactonas.

Não houve diferença qualitativa entre os compostos voláteis detectados nas cachaças, mas houve uma grande variação na quantidade encontrada de cada composto nas diferentes amostras. A classe dos álcoois foi a mais abundante na maioria das cachaças comerciais, sendo que o álcool isoamílico foi o composto majoritário presente na maioria das amostras, excetuando-se o etanol.

Foi realizada análise de aceitação das 13 cachaças comerciais por trinta consumidores, familiarizados com a bebida. As amostras não diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) entre si em relação ao aroma. Entretanto, em relação ao sabor, as cachaças 2, 4, 6,

7, 8 e 13 foram as de maior aceitação e diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) da cachaça 9, de menor aceitação, sendo que as demais amostras não diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) das amostras mais e menos aceitas. Na avaliação da impressão global, as cachaças 2 (mais aceita) e 9 (menos aceita) diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) entre si e as demais amostras obtiveram aceitação intermediária, não diferindo significativamente ($p \leq 0,05$) destas duas amostras.

A Análise Descritiva Quantitativa de quatro cachaças, selecionadas de acordo com o teste de aceitação, foi realizado por nove provadores selecionados e treinados. O perfil sensorial mostrou que a cachaça de maior aceitação (amostra 2) foi a que apresentou maior intensidade dos atributos aroma adocicado, ardência inicial, sabor encorpado e gosto adocicado, enquanto uma cachaça de aceitação intermediária (amostra 6) apresentou maior intensidade dos atributos corpo, aroma alcoólico e sabor alcoólico. As cachaças de menor aceitação (amostra 9) e outra também de aceitação intermediária (amostra 3) apresentaram maiores intensidades dos atributos ardência final, aroma irritante e gosto amargo, sendo que a amostra 9 apresentou os maiores valores desses atributos.

A amostra 2, selecionada devido à intensidade e qualidade do sabor, foi escolhida para o estudo de CG-olfatometria (AEDA). Foram detectados 59 compostos odoríferos nesta amostra comercial, dos quais 45 foram identificados. O álcool isoamílico foi o odorante mais relevante, sendo detectado em todas as diluições pelos quatro provadores treinados, seguido da vanilina, que foi detectada por três provadores no extrato mais diluído.

Para uma melhor visualização dos compostos voláteis que poderiam estar associados à aceitação das 13 cachaças comerciais, fez-se a correlação entre as médias de aroma, sabor e impressão global de cada amostra e suas respectivas coordenadas nos eixos I e II associadas às ACP, geradas utilizando-se a concentração dos compostos voláteis, agrupados em classes químicas. Estes dados permitiram sugerir que a aceitação das cachaças em relação ao aroma parece estar relacionada principalmente à presença de lactonas e alguns terpenos, enquanto a baixa aceitação em relação ao sabor, à presença de fenóis, principalmente 4-vinil fenol e 4-vinil guaiacol.

Estes dados revelam que as amostras de cachaça apresentaram perfis sensoriais e de voláteis distintos, evidenciando a falta de um padrão de qualidade.

SUMMARY

Cachaça is the oldest and most consumed spirit drink in Brazil, with a production of 1.3 billion liters a year. A good cachaça, aside from meeting the legal requirements in relation to its composition, must also have sensory quality capable of satisfying the expectations of its consumers. The volatile compounds such as higher alcohols, esters, carboxylic acids and carbonilic compounds, are important for the characteristic flavor of the spirit.

Review of the literature showed that, to date research on the volatile composition of cachaça covering the different chemical classes, as well as the sensory importance of the different odorants present in a high quality beverage, has not been reported.

A method was therefore developed, using solid phase extraction for the analysis of the volatile compounds of cachaça for gas chromatography. The volatile compounds were extracted from the diluted cachaça/water (1:1) in a 200 mg solid-phase extraction cartridge filled with Lichrolut EN resins from Merck, and the elution was carried out with 1.5 mL of dichloromethane:dimethyl ether (9:1 v/v). The extract obtained was representative of the original cachaça sample. The method was shown to be fast, simple and with recoveries above 93%.

The volatile compositions of 13 commercial samples of cachaça were determined by two methods, one for the quantification of the major compounds by GC-FID and the other for determination of the minor compounds by GC-MS, using selected ion monitoring to obtain higher sensitivity, according to a developed method. The volatile compounds were identified by retention indices and GC-MS, further confirmed by using pure reference compounds.

Sixty-five volatile compounds were identified and quantified in 13 cachaça samples, of which forty-eight compounds are being reported for the first time in this spirit. Twenty-one esters, 10 acids, 9 alcohols, 9 phenols, 6 terpenes, 4 aldehydes, 4 ketones and 2 lactones were identified. No qualitative differences among the volatile compounds of the different cachaça samples were observed, but a great variation in concentration was found. Alcohols comprised the most abundant class in the commercial cachaças and isoamyl alcohol was the major compound in the cachaça samples, excepting ethanol.

In the acceptance test, the 13 commercial cachaça samples were evaluated by 30 consumers familiarized with this alcoholic beverage. The samples did not differ significantly ($p \leq 0.05$) when judged for aroma, however when judged for flavour, samples

2, 4, 6, 7, 8 and 13, with greater acceptance differed significantly ($p \leq 0.05$) from cachaça 9, with lesser acceptance. The other samples did not differ significantly from the most and less accepted samples. In the global impression evaluation, cachaça 2 and cachaça 9 differed between each other ($p \leq 0.05$), but cachaça 2 had the higher average. The others did not differ significantly from these two samples.

The quantitative descriptive analysis of four commercial cachaça samples, selected in the acceptance test, was carried out by nine trained judges. The sensory profile showed that sample 2 (greater acceptance) had greater intensity for the attributes initial heat, full-bodied flavor, sweetened aroma and sweet taste, whereas sample 6 (intermediate acceptance) had greater intensity for the attributes body, alcoholic aroma and alcoholic flavor. Cachaça 3 (intermediate acceptance) and cachaça 9 (lesser acceptance) had greater intensity of the attributes irritating aroma, final heat, and bitter taste, however cachaça 9 had the higher values of these attributes.

Cachaça 2 was selected according to the intensity and quality of its flavor for the GC-olfactometry (AEDA) analysis. Fifty-nine odorants were found in this cachaça sample by AEDA, 45 of which were identified by GC-MS. The most important odorant was isoamyl alcohol because it was detected in all solutions by the four selected and trained judges. The second odorant was vanilla that was detected by three judges in the last solution.

The Pearson' analysis was carried out considering the scores of the acceptance test of each cachaça sample and the values of the axis I and II from the ACPs, obtained for the concentrations of the volatile compounds, grouped in chemical classes. This analysis suggests that the acceptance of the samples in relation to their aroma would be probably related to the presence of lactones and some terpenes, while the low acceptance in relation to the flavor, to the presence of phenols, mainly 4-vinyl phenol and 4-vinyl guaiacol.

Samples of cachaça presented distinct sensory and volatiles profiles, revealing lack of quality standard.

INTRODUÇÃO GERAL

A cachaça é a bebida fermento-destilada mais antiga e mais consumida no Brasil. A produção atual de cachaça está em torno de 1,3 bilhão de litros por ano, segundo estimativa do Programa de Desenvolvimento da Cachaça. São Paulo é o estado com a maior produção, cerca de 50%, seguido pelos estados de Pernambuco, Ceará e Paraíba, 20%; Minas Gerais, 9%; Goiás, 6%; Rio, 5%; Paraná, 4% e Bahia, 1,5% (ABRABE, 2004).

A produção é quase totalmente consumida no mercado interno, já que as exportações representam cerca de 0,1% da produção. Em relação ao consumo, o estado de São Paulo está em primeiro lugar, com 39,7%, seguido pela região Nordeste, cerca de 25%, o estado de Minas Gerais, com 10% e o estado do Rio de Janeiro, em torno de 8%. Dentre os países importadores destacam-se a Alemanha e o Paraguai, com mais de 20% cada (ABRABE, 2004).

A cachaça é a denominação típica e exclusiva da aguardente de cana produzida no Brasil (BRASIL, 2002). A aguardente de cana é obtida pela destilação do mosto fermentado de cana de açúcar (*Saccharum officinarum*, L.), de acordo com a Legislação Brasileira (BRASIL, 1997). A bebida é constituída principalmente de etanol e água, entretanto outros compostos secundários tais como álcoois, ésteres, ácidos graxos, aldeídos e outros, estão presentes em pequenas quantidades e são responsáveis pelas características sensoriais da bebida.

As diferentes classes químicas de compostos da cachaça já vêm sendo estudadas há algum tempo (NASCIMENTO *et al.*, 1997; NASCIMENTO *et al.*, 1998; BOSCOLO *et al.*, 2000; CARDOSO *et al.*, 2003), mas até o momento nenhuma metodologia foi desenvolvida para se obter um extrato representativo da amostra original. Vários fatores influenciam e dificultam o desenvolvimento de uma metodologia de isolamento para a análise do aroma da cachaça, tais como: a complexidade da matriz, a presença de diferentes classes de compostos e em diferentes concentrações, além da alta porcentagem de etanol (THOMAZINI & FRANCO, 2000; LÓPEZ *et al.*, 2002). É importante estabelecer uma metodologia analítica que não só determine a composição química, mas também que os compostos voláteis presentes tenham contribuição sensorial sobre o produto.

Os objetivos, portanto, deste trabalho foram: padronizar uma metodologia de isolamento dos compostos voláteis de cachaça; estabelecer a composição de voláteis das principais cachaças comercializadas em Campinas; verificar a contribuição sensorial dos compostos voláteis; estudar a aceitação dessas amostras, bem como as características

sensoriais e apontar os possíveis compostos voláteis que possam ser responsáveis pela qualidade da cachaça, correlacionando os dados sensoriais aos instrumentais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRABE. Associação Brasileira de Bebidas. Disponível em: <<http://www.abrabe.org.br>>. Acesso em: 12 de abr. de 2004.
- BOSCOLO, M.; BEZERRA, C. W. B.; CARDOSO, D. R.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Identification and dosage by HRGC of minor alcohols and esters in Brazilian sugar cane spirit. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 11, p. 86-90, 2000.
- BRASIL. Decreto nº 2314 de 4 set.1997. Dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Regulamenta a Lei nº 8918 de 14 de julho de 1994. **Diário Oficial**. Brasília. 5 set. 1997.
- BRASIL. Decreto nº 4062 de 21 de dez. de 2001. Define expressões “cachaça” e “cachaça do Brasil” como indicações geográficas e dá outras providências. **Diário Oficial**. Brasília. 3 de jan. 2002.
- CARDOSO, D. R.; BETTIN, S. M.; RECHE, R. V.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D. W. HPLC-DAD analysis of ketones as their 2,4-dinitrophenylhydrazones in Brazilian sugar-cane spirits and run. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 16, p. 563-573, 2003.
- LÓPEZ, R.; AZNAR, M.; CACHO, J.; FERREIRA, V. Determination of minor and trace volatile compounds in wine by solid phase extraction and gas chromatography with mass spectrometric detection. **Journal of Chromatography A**, v. 966, p. 167-177, 2002.
- NASCIMENTO, R. F.; MARQUES, J. C.; DE KEUKELEIRE, D.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Qualitative and quantitative high-performance liquid chromatographic analysis of aldehydes in Brazilian sugar cane spirits and other distilled alcoholic beverages. **J. Chromatogr.**, v. 782, p. 13-23, 1997.
- NASCIMENTO, R. F.; CARDOSO, D. R.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Determination of acids in Brazilian sugar cane spirits and other alcoholic beverages by HRGC-SPE. **Chromatographia**, v. 48, p. 751-757, 1998.
- THOMAZINI, M.; FRANCO, M. R. B. Metodologia para análise dos constituintes voláteis do sabor. **Boletim da SBCTA**, v. 34, p. 52-59, 2000.

Capítulo 1

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. METODOLOGIA DA PESQUISA DO SABOR

O sabor é um importante fator na seleção dos alimentos e bebidas e determina a aceitação do produto pelos consumidores. Os compostos voláteis são os responsáveis pelo sabor característico e estão presentes nos alimentos em quantidades extremamente diminutas, além de possuírem diferentes estruturas químicas e serem termolábeis.

O conhecimento da composição de voláteis das bebidas sempre acompanhou as tentativas de se conhecer e mesmo controlar a sua qualidade. Dada a real e constante possibilidade de ocorrerem contaminações, adulterações ou falsificações envolvendo esse tipo de produto, ao lado de eventuais riscos que tais ocorrências podem representar para a saúde do consumidor, a determinação de sua composição tem sido o grande instrumento de controle, do ponto de vista da fiscalização (FARIA & POUCHET-CAMPOS, 1989; NAGATO *et al.*, 2001; MIRANDA *et al.*, 1992).

A pesquisa do sabor compreende as etapas de isolamento dos compostos voláteis, a separação por cromatografia gasosa de alta resolução, a identificação e a avaliação sensorial.

1.1. Métodos de Isolamento dos Compostos Voláteis

O método para o isolamento dos voláteis deve ser simples, rápido, eficiente e de baixo custo. Idealmente, compreenderia uma única etapa, separando os componentes voláteis da matriz de não voláteis e ao mesmo tempo concentrando-os, com mínima manipulação da amostra. A etapa de isolamento não pode causar mudanças na composição total, o que alteraria o aroma característico do produto estudado.

Considerando-se que a cachaça é uma solução hidroalcoólica, com conteúdo que oscila entre 38 e 48% de etanol v/v e esse composto dificulta a extração dos compostos voláteis importantes para o aroma da bebida, atuando como solubilizante das substâncias apolares e como fixador das substâncias voláteis, a escolha da técnica de isolamento é de grande importância.

Os métodos de isolamento utilizados para alimentos e bebidas baseiam-se na análise do *headspace* ou na análise total. A análise do *headspace* envolve apenas a análise da fase gasosa em equilíbrio com a fase líquida ou sólida do alimento, em um sistema fechado à determinada temperatura, enquanto a análise total compreende a análise de todos os compostos voláteis presentes na amostra.

Dois tipos diferentes de análise do *headspace* são comumente empregados: *headspace* estático e *headspace* dinâmico. A análise direta do *headspace*, apesar da

simplicidade e pouco manuseio da amostra, permite detectar apenas os componentes que apresentam maior pressão de vapor e, portanto, maior concentração no *headspace*, de um sistema fechado.

Dentre as alternativas para se contornar o problema e no sentido de aumentar as concentrações dos compostos voláteis presentes no *headspace*, potencialmente importantes ao aroma do produto, foi desenvolvida a técnica de *headspace* dinâmico. Esta técnica envolve a passagem dos vapores do *headspace* através de um polímero poroso (tais como Porapak e Tenax), utilizando-se um sistema a vácuo (FRANCO & RODRIGUEZ-AMAYA, 1983) ou a passagem de um gás inerte (JENNINGS & RAPP, 1983) pela amostra e posterior retenção dos voláteis por adsorção, seguida de eluição pelo emprego de solvente ou temperatura. O isolamento dos compostos voláteis em polímeros porosos tem sido largamente empregado na investigação de aromas em alimentos (FRANCO & SHIBAMOTO, 2000; JANZANTTI *et al.*, 2000; BASTOS *et al.*, 2002; ALVES & FRANCO, 2003) e bebidas (FRANCO *et al.*, 1998), após padronização cuidadosa das condições de adsorção e desorção. Cuidados devem ser tomados na análise de bebidas alcoólicas por esta técnica, pois o etanol influencia no equilíbrio da fase de vapor dos componentes, sendo necessário o uso de polímeros com baixa afinidade com o etanol e em alguns casos, uma etapa adicional de desenvolvimento para se diminuir o conteúdo de etanol retido (JENNINGS *et al.*, 1972).

A técnica de microextração em fase sólida, introduzida em 1990 por ARTHUR & PAWLISZYN, tem sido considerada como potencialmente útil para a caracterização de compostos voláteis de alimentos (IBÁÑEZ *et al.*, 1998) e bebidas (NONATO *et al.*, 2001). Tem como principais vantagens a simplicidade, a rapidez e de não utilizar solvente. Basicamente, o sistema consiste de uma seringa com uma fibra de sílica fundida revestida com diferentes fases estacionárias de variadas espessuras. Para a análise do *headspace*, a fibra é posicionada na fase gasosa em equilíbrio com a amostra, a uma determinada temperatura para que os compostos voláteis sejam adsorvidos e, posteriormente, por exposição da fibra no injetor do cromatógrafo, a desorção térmica é realizada.

A análise total compreende o isolamento de todos os voláteis presentes no alimento. Alguns métodos de análise total são considerados “sujos” para a análise de voláteis, porque componentes não voláteis podem ser introduzidos no cromatógrafo gasoso, contaminando a coluna ou degradando-se no injetor, levando à formação de artefatos e/ou diminuição da vida útil da coluna cromatográfica.

O sistema mais utilizado pelos pesquisadores nesta abordagem é a unidade de destilação extração simultânea desenvolvida por NICKERSON & LICKENS (1966) ou então modificações desse sistema (FLATH & FORREY, 1977). A técnica envolve emprego de calor, o que pode causar perdas ou modificações na composição original dos compostos voláteis, como também produzir artefatos.

A extração simples ou microextração líquido-líquido emprega solvente orgânico para a extração dos compostos voláteis da matriz. A técnica de extração simples requer largo tempo de extração e grandes quantidades de solventes, sendo necessária uma posterior concentração do extrato por calor, o que acarretaria mudanças na composição de voláteis (PINO, 1999; BENN & PEPPARD, 1996). A técnica de microextração com solvente é mais rápida e reprodutível, fundamentalmente porque elimina etapas de concentrações e é realizada a temperatura ambiente. Em estudos envolvendo bebidas alcoólicas, o grau alcoólico pode afetar diferencialmente os coeficientes de distribuição, sendo, portanto, necessária a adição de sais para minimizar este efeito (ORTEGA *et al.*, 2001; FERREIRA *et al.*, 1998).

O método de extração em fase sólida tem sido aplicado com sucesso na análise de componentes voláteis de bebidas alcoólicas (WADA & SHIBAMOTO, 1997; AZNAR *et al.*, 2001; LÓPEZ *et al.*, 2003; CULLERE *et al.*, 2003) e frutas (FISHER *et al.*, 1995), principalmente quando outras técnicas falham na obtenção do aroma característico, por falta de compostos de maior ponto de ebulição, como também aproveitando o fato de algumas resinas terem baixa afinidade com o etanol (LÓPEZ *et al.*, 2002), no caso de bebidas alcoólicas. Neste tipo de técnica é fundamental o ajuste do grau alcoólico, sobretudo quando se usam resinas hidrofóbicas, já que o etanol pode atuar como eluente dos compostos retidos.

A fase sólida, contida em uma microcoluna ou cartucho, pode ser representada por vários tipos de materiais (como por exemplo, XAD, Porapak, Lichrolut EN). As etapas no procedimento de extração envolvem o condicionamento do cartucho (ou microcoluna), a adsorção dos voláteis pela passagem da amostra, a lavagem e a eluição. Esta técnica pode ser quantitativa desde que os dados de recuperação sejam validados e as condições rigorosamente padronizadas.

A técnica de microextração em fase sólida, também pode ser aplicada para a análise total, e neste caso a fibra é exposta dentro da própria amostra, mantida a uma determinada temperatura e sob agitação, com condições cuidadosamente padronizadas. É muito

importante a escolha da fibra na análise de bebidas alcoólicas, pois algumas têm alta afinidade com os álcoois, diminuindo a sensibilidade da técnica (DE LA CALLE *et al.*, 1996).

1.2. Separação dos Compostos Voláteis

A mistura de voláteis obtida após o isolamento é extremamente complexa e requer para a sua separação a aplicação de cromatografia gasosa de alta resolução. As colunas capilares de sílica fundida, que apresentam elevado número de pratos teóricos e com grande poder de resolução, possibilitam a separação de diversas classes de compostos químicos com largas faixas de polaridade, solubilidade e pontos de ebulição.

Os injetores são os responsáveis pela introdução de uma banda estreita na coluna. Os mais indicados para análise de traços são do tipo *splitless*, *on-column* e PTV (*programmed temperature vaporizer*), envolvendo efeitos de focalização da amostra na entrada da coluna capilar (GROB & ROMANN, 1981). A melhor opção para análise de compostos voláteis termolábeis é o injetor chamado *cool on-column* e PTV operando em *cold splitless*, pois evitam a decomposição térmica ou a discriminação de compostos com pontos de ebulição elevados, permitindo a introdução direta da amostra na coluna cromatográfica sem vaporização prévia (THOMAZINI & FRANCO, 2000).

1.3. Identificação dos Compostos Voláteis

A pesquisa do sabor recebeu um grande impulso com a introdução do sistema acoplado de cromatografia gasosa-espectrometria de massas. Atualmente, aparelhos modernos e sofisticados permitem obter em segundos a varredura de compostos, eluídos das colunas capilares de alta eficiência. As características dos espectros de massas são usadas na identificação de uma grande variedade de compostos orgânicos, onde as relações massa/carga obtidas podem ser transformadas em informação estrutural a partir de estudos sobre mecanismos de fragmentação dos compostos (MCLAFFERTY, 1994). Sistemas modernos de biblioteca auxiliam na identificação dos compostos desconhecidos através de comparação com espectros padrões, armazenados na memória do computador (FRANCO & JANZANTTI, 2004).

Além dos dados obtidos por espectrometria de massas, informações adicionais são necessárias para a confirmação positiva do composto. Os índices de retenção cromatográficos, comparando a ordem de eluição experimental com a ordem de eluição

indicada na literatura (ETTRE, 1964) e o uso de padrões puros, auxiliam e eliminam possibilidades, aumentando a confiabilidade da identificação.

1.4. Avaliação Sensorial

A análise sensorial é uma ciência multidisciplinar que tem por objetivo a identificação e quantificação das características sensoriais de bebidas e alimentos.

Os testes sensoriais são incluídos como garantia de qualidade na indústria de alimentos e bebidas por representarem medida multidimensional integrada, com importantes vantagens, como a capacidade de identificar a presença ou ausência de diferenças perceptíveis e de definir características sensoriais importantes de um produto de forma rápida, além de ser capaz de detectar particularidades que não podem ser detectadas por procedimentos analíticos e ainda, ser capaz de avaliar a aceitação de produtos (MUÑOZ *et al.*, 1992).

Um dos métodos de grande aplicação na avaliação sensorial é a Análise Descritiva Quantitativa (ADQ), que permite traçar o perfil sensorial dos produtos, pois descreve e quantifica os diferentes descritores sensoriais (STONE *et al.*, 1974). As etapas que envolvem a Análise Descritiva Quantitativa são: recrutamento dos provadores, pré-seleção dos provadores, levantamento dos termos descritores, treinamento e seleção dos provadores e avaliação das amostras. Este método estabelece os perfis sensoriais das diferentes amostras após os dados serem avaliados estatisticamente por análise de variância, teste de Tukey e Análise de Componentes Principais (ACP) (STONE & SIDEL, 1993).

Os testes afetivos têm por objetivo conhecer a opinião de um determinado grupo de consumidores em relação a um ou mais produtos. Compreendem os testes de preferência, que medem a preferência dos consumidores de um determinado produto sobre os demais e os testes de aceitação, que avaliam o quanto os consumidores gostam ou desgostam de um ou mais produtos (MEILGAARD *et al.*, 1988).

Técnicas olfatométricas

A técnica olfatométrica permite determinar quais compostos são odoríferos e importantes para o aroma do produto final, através da avaliação sensorial individual dos compostos voláteis presentes na amostra, após a separação cromatográfica.

A técnica denominada Charm (*Combined Hedonic Response Measurement*) consiste na avaliação da importância de cada composto ao aroma, pela medida do tempo em que será percebido no efluente cromatográfico pelo indivíduo, após várias diluições da amostra (ACREE *et al.*, 1984). Os dados são registrados e através de um *software* o aromagrama é obtido somando os picos produzidos em um determinado tempo de retenção para todas as diluições do extrato.

Na técnica AEDA (*Aroma Extract Dilution Analysis*), é calculado para cada composto odorífero o fator de diluição (FD), assim quanto maior o FD maior a importância odorífera do composto no extrato (ULRICH & GROSCH, 1987). Esta técnica tem sido largamente empregada no estudo de aroma de alimentos (SCHIEBERLE & GROSCH, 1988) e bebidas (BENN & PEPPARD, 1996; GUTH, 1997; FERREIRA *et al.*, 2002a; LÓPEZ *et al.*, 2003; CULLERE *et al.*, 2004) para estimar a potência odorífera de um composto para o aroma. Trabalhos têm sido realizados para o emprego de AEDA como técnica quantitativa, calculando-se os intervalos de confiança dos fatores de diluições e concentrações (FERREIRA *et al.*, 2002b). A única diferença entre Charm e AEDA é a maneira de processar os dados.

As técnicas Charm e AEDA são baseadas na avaliação do extrato em diferentes diluições, em contrapartida à técnica denominada OSME (MCDANIEL *et al.*, 1990), que utiliza o extrato original para obter dados referentes à importância odorífera dos diferentes compostos da amostra. Esta técnica permite quantificar a intensidade de um aroma percebido com o tempo percorrido, ou seja, a velocidade, a duração e a intensidade do aroma, através de uma escala tempo-intensidade (GARRUTI *et al.*, 2003; MIRANDA-LOPEZ *et al.*, 1992). No final, tal como o Charm, utilizando-se recursos computacionais os dados são integrados e um aromagrama representativo da importância relativa dos componentes do aroma é obtido.

Outra técnica olfatométrica de tempo intensidade é a denominada *finger span* (ETIÉVANT *et al.*, 1999), que se diferencia de OSME somente na forma em que o provador indicará a intensidade do odor. No caso de OSME, o provador indica a intensidade em uma escala na tela do computador com o auxílio do *mouse*, enquanto no *finger span* a intensidade é medida através de um dispositivo que regula a abertura entre os dedos indicador e polegar, na mesma proporção em que a intensidade é percebida.

Na técnica de frequência, o extrato é avaliado por diferentes provadores (6 a 12) e a importância dos compostos será medida pelo número de provadores que detectaram o odor

do composto. Esta técnica permite o tratamento dos dados para avaliação quantitativa, quando então será utilizado o conceito de NIF (frequência de impacto nasal) e de SNIF (frequência de impacto nasal de superfície) para estabelecimento dos intervalos de confiança das relações lineares com o logaritmo das concentrações (POLLIEN *et al.*, 1997).

As técnicas de Charm e AEDA assumem uma relação linear entre a intensidade percebida e a concentração do estímulo. Estas técnicas são semelhantes ao conceito de unidade de odor (Uo ou AOV), proposta por GUADAGNI *et al.* (1966), que é definido como a razão entre a concentração do composto e o seu *threshold* (a quantidade mínima em que o aroma do composto é percebido pelo provador). Quanto maior esta relação, maior a importância que será atribuída ao composto. Técnicas de diluições sucessivas como CHARM e AEDA não mostram sólida fundamentação psicofísica, diferentemente da técnica de OSME (DA SILVA *et al.*, 1994) e *finger span*.

2. CACHAÇA

2.1. Definição

A aguardente de cana ou caninha é uma bebida fermento-destilada com graduação alcoólica de 38 a 54% em volume, a 20°C, obtida pela destilação do mosto fermentado de cana de açúcar (*Saccharum officinarum*, L.), podendo ser adicionada de açúcar até seis gramas por litro. Quando a adição de açúcar for superior a 6 g e até 30 g por litro, o produto terá sua denominação acrescida da expressão “adoçada” (BRASIL, 1997).

Cachaça é a denominação típica e exclusiva da aguardente de cana produzida no Brasil, com graduação alcoólica de 38 a 48% em volume a 20°C e com características sensoriais peculiares. A caipirinha também foi definida como uma bebida típica brasileira elaborada exclusivamente com cachaça, limão e açúcar (BRASIL, 2002). Portanto as palavras cachaça e aguardente de cana podem ser usadas como sinônimos no país.

As bebidas fermento-destiladas têm como principal característica o teor alcoólico bem superior ao de bebidas fermentadas. Além do etanol, outros compostos chamados secundários estão presentes e são os principais responsáveis pelo sabor característico destas bebidas.

São esses compostos secundários, também chamados compostos voláteis ou congêneres, que diferenciam e definem as características das diversas bebidas fermento-destiladas, sendo portanto, os determinantes de sua qualidade.

Segundo a Legislação Brasileira, os ácidos, ésteres, aldeídos, furfural e álcool superiores não podem estar presentes em quantidades inferiores a 200 mg ou superiores a 650 mg/100 mL de álcool anidro, devendo seguir os limites máximos (mg/100 mL de álcool anidro) de 300 para álcoois superiores, de 150 para acidez volátil em ácido acético, de 200 para ésteres em acetato de etila, de 30 para aldeídos em aldeído acético e de 5 para furfural. Os teores de metanol e cobre devem também estar limitados a 200 mg/100 mL de álcool anidro e 5 mg/L, respectivamente (BRASIL, 1997).

Após a destilação, a cachaça está pronta para o consumo, mas pode ser envelhecida em tonéis de madeira, como parte importante do processo de sua fabricação para a melhora do sabor, 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, por pelo menos 1 ano, podendo ser adicionada de caramelo para padronização da cor (BRASIL, 1997).

Portanto, de acordo com a Legislação em vigência, todas as cachaças estão aprovadas e próprias para o 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. Este tipo de controle não tem um efeito realmente efetivo sobre a qualidade química ou sensorial da cachaça (FARIA, 2000).

2.2. Produção da Cachaça: Matéria-prima, Fermentação, Destilação e Envelhecimento

A cachaça, bebida tipicamente brasileira, está integrada à nossa cultura com seu sabor característico e vem conquistando novos mercados nacionais e internacionais.

A produção brasileira atinge 1,3 bilhão de litros anuais e gera uma receita próxima de US\$ 500 milhões. A cachaça é produzida em todas as regiões brasileiras, a maior parte nos estados de São Paulo, Pernambuco, Ceará, Rio de Janeiro e Minas Gerais, sendo este último estado o maior produtor de cachaça artesanal. No estado de Minas Gerais, a Associação Mineira de Produtores de Aguardente de Qualidade (AMPAQ) controla a qualidade das aguardentes produzidas pelos membros associados e atribui um selo de

qualidade para a bebida que se encontrar dentro dos padrões estipulados por esta associação (OLIVEIRA *et al.*, 2003).

A produção do Brasil é quase totalmente consumida pelo mercado interno, já que segundo a Associação Brasileira de Bebidas (ABRABE), o volume exportado no ano de 2002 foi de 14,8 milhões de litros. A cachaça é o destilado mais consumido no país e ocupa o segundo lugar entre as bebidas alcoólicas, ficando atrás somente da cerveja. O consumo brasileiro lhe garante a terceira colocação entre os destilados do mundo inteiro, atrás somente da vodca e do soju (ABRABE, 2004).

A exemplo do que fizeram outros países com suas bebidas locais, em novembro de 1997, foi criado dentro da ABRABE o Programa Brasileiro de Desenvolvimento da Cachaça (PBDAC), com a participação do Governo Federal, através dos Ministérios da Agricultura e Abastecimento, do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior e da Ciência e Tecnologia. Esse programa tem procurado estimular a valorização da bebida, os métodos de produção, a qualidade do produto e a expansão das vendas no mercado externo, através da divulgação da cachaça em feiras, congressos, confecção de folderes, pontos de degustação, etc, além da inclusão da cachaça no Programa Especial de Exportações (PEE) e no Programa dos Novos Pólos de Exportação (PNPE) do Governo Federal. O reconhecimento das denominações cachaça e caipirinha como tipicamente brasileiras constituiu um importante passo para a consolidação da cachaça no exterior (OLIVEIRA *et al.*, 2003; ABRABE, 2004).

A possibilidade do aumento das exportações da cachaça, além de gerar divisas ao país, traria também uma melhor qualidade da bebida, uma vez que a competitividade do mercado externo impõe o estabelecimento de padrões de qualidade bem definidos e uso de métodos analíticos adequados. Entre os 60 países que adquirem o produto brasileiro, destacam-se a Alemanha e o Paraguai, que no ano de 2002, representaram juntos um total de 51% das exportações brasileiras (ABRABE, 2004).

Atualmente, no mercado externo, somente as grandes empresas tem atuado de modo significativo, destacando-se as empresas Muller, IRB, Pitú e Ypióca, e o grau de importância de cada empresa vai depender do país de destino (OLIVEIRA *et al.*, 2003).

2.2.1. Matéria-prima

A obtenção de uma cachaça de qualidade e economicamente viável começa com a matéria-prima, ou seja, com os cuidados no plantio da cana de açúcar, no corte, obtenção de

talhões perfeitamente maduros, em condições fitossanitárias, colhidos recentemente e sem apresentar qualquer tipo de deterioração.

O caldo de cana, obtido nas moendas, pode ser considerado um mosto natural, já que pode ser fermentado. Muitas vezes, para um melhor rendimento industrial, o caldo de cana é modificado, para garantir uma menor contaminação microbiológica inicial, concentração adequada de açúcares fermentáveis e condições do meio que sejam adequadas ao desenvolvimento das leveduras alcoólicas (FARIA, 1995).

Estas modificações podem ser efetuadas através 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 Brix do caldo (valor entre 14 a 16°Brix), temperatura em torno de 30°C e pH entre 4,5 e 5,0, corrigido através da adição de ácidos (pH do caldo varia entre 5,2 e 6,8) (FARIA, 1995).

2.2.2. Fermentação

A fermentação é a principal etapa do processo de produção da cachaça. Nesta etapa o açúcar e outros compostos presentes no mosto são transformados em etanol, CO₂ e outros produtos que são responsáveis pela qualidade e defeito do produto.

As fermentações são conduzidas em recipientes próprios denominados dornas. A escolha de uma levedura adequada à produção de cachaça vai depender basicamente da natureza do mosto, das condições industriais e das características desejáveis para o produto final.

As diferentes linhagens de levedura diferem na quantidade de congêneres produzidos durante a fermentação. A produção de congêneres também é favorecida pela quantidade de inóculo, a agitação e a temperatura (VARMAN & SUTHERLAND, 1994).

O processo fermentativo inicia logo que a levedura entra em contato com o mosto e é dividido em 3 fases: fase preliminar ou pré-fermentação, caracterizada pela adaptação das leveduras e multiplicação celular; fase de fermentação principal e tumultuosa, com desprendimento abundante de gás e produção de álcool e fase de fermentação complementar ou pós-fermentação, onde se observa redução acentuada da atividade fermentativa.

O mosto fermentado possui na sua composição produtos gasosos, líquidos e sólidos. Alguns componentes são provenientes do mosto sem nenhuma modificação e outros são formados pela atividade da levedura inoculada e de microrganismos contaminantes durante

a fermentação. Os gasosos são o ar e o gás carbônico, dissolvidos em mínimas quantidades, enquanto os componentes líquidos são representados por água (80-90%) e etanol (5-10%), principalmente resultante da transformação bioquímica dos açúcares. Além desses produtos, estão presentes ácidos (succínico, acético, láctico, butírico, etc), glicerina, álcoois superiores (amílico, isoamílico, butílico, isobutílico, propílico e isopropílico), aldeídos, ésteres, entre outros compostos voláteis. Muitos desses produtos entram na composição das cachaças conferindo ou alterando as características de sabor e aroma.

Podem participar deste processo, além da levedura, que é o principal agente, outros microrganismos que são introduzidos involuntariamente no sistema. No geral, esses últimos são indesejáveis e são responsáveis pela redução do rendimento alcoólico e depreciação na qualidade do produto, como acidez elevada e sabores estranhos. No caso de ocorrer contaminação bacteriana, nota-se a formação de ácidos diversos (ácido láctico, acético e succínico) e outros compostos estranhos.

As leveduras utilizadas na produção de bebidas alcoólicas devem apresentar as seguintes características: alta tolerância ao álcool e bom rendimento; fermentar rapidamente o meio e, portanto, minimizar o risco de contaminações; produzir a melhor concentração e balanço de compostos secundários desejáveis para a qualidade da bebida. Devem ainda apresentar estabilidade genética e ao fim da fermentação, serem facilmente removidas do meio por floculação ou centrifugação (OLIVEIRA, 2001).

Nas indústrias de cachaça, são usados basicamente quatro tipos de fermento: natural, prensado, misto e selecionado, sendo os dois primeiros de uso mais extensivo (NÓBREGA, 1993). Na fabricação de bebidas alcoólicas, geralmente são utilizadas leveduras *Saccharomyces cerevisiae*, exceto nas fermentações naturais, onde várias espécies podem estar envolvidas.

A fermentação artesanal da cachaça caracteriza-se por ser conduzida por uma microbiota mista de leveduras, com predominância de linhagens de *Saccharomyces cerevisiae*. Outras espécies de leveduras já foram isoladas como *Cândida*, *Kluyveromyces*, *Kloeckera* e *Pichia*. As leveduras presentes nessas fermentações estão em constante sucessão, devido à introdução de microrganismos que acompanham o caldo de cana, e também às condições do processo (MORAIS *et al.*, 1997).

Trinta linhagens de leveduras, isoladas de destilaria artesanal e industrial de aguardente e destilaria de álcool, foram avaliadas quanto às suas características fermentativas e formação dos principais compostos voláteis, compreendendo

Saccharomyces cerevisiae, *Cândida*, *Kloeckera*, *Pichia* e *Schizosaccharomyces*. As linhagens de *S. cerevisiae* e de *Pichia* apresentaram bom potencial fermentativo e as demais linhagens apresentaram elevada conversão de substrato em etanol, mas rendimento muito baixo (OLIVEIRA, 2001).

Neste trabalho foram ainda determinados os teores de etanol, acetaldeído, acetato de etila, ácido acético, propanol, isobutanol e isoamílico nas aguardentes obtidas das diferentes linhagens de levedura, por cromatografia gasosa. As linhagens *C. famata*, *C. guilliermondii* não produziram propanol e acetato de etila em níveis detectáveis, o mesmo ocorrendo para os compostos propanol e isobutanol na linhagem *S. pombe*. O etanol apresentou correlações negativas com a acidez, acetato de etila, propanol, isobutanol, isoamílico e ainda com a somatória dos álcoois superiores. Isto significa que os compostos sofreram um efeito de diluição com o aumento do teor alcoólico. Todas as aguardentes se encontravam dentro dos limites exigidos pela legislação, com exceção de 3 linhagens de *S. cerevisiae*, que excederam o limite de álcoois superiores, o contrário ocorrendo para a linhagem *S. pombe*, que estava abaixo do limite mínimo.

Apesar das aguardentes obtidas com estas linhagens apresentarem diferenças nas quantidades e proporção de compostos voláteis majoritários, estas não diferiram em relação ao sabor e a impressão global. No entanto, quanto ao aroma, a linhagem de *Saccharomyces* obteve a maior média, diferindo significativamente da linhagem *S. pombe*, que obteve a menor média.

Deve-se salientar que 11 linhagens foram encontradas em uma mesma destilaria, as quais apresentaram variabilidade nas características fermentativas, sugerindo falta de condições estáveis de processo e a produção de uma cachaça menos padronizada ao longo da safra, com rendimentos oscilantes (OLIVEIRA, 2001).

2.2.3. Destilação

Na destilação ocorre a separação, a seleção e a concentração dos componentes voláteis oriundos do mosto fermentado e ainda algumas reações químicas induzidas pelo calor. A qualidade da bebida dependerá também da forma pela qual é conduzida a destilação.

Algumas das reações que ocorrem são hidrólise, esterificação, acetilação, produção de furfural e reações com cobre. A esterificação pode ocorrer sobre os pratos da coluna de destilação, onde os álcoois e ácidos estão mais concentrados. Além de quebra de moléculas, pode ocorrer o rearranjo das unidades geradas, com formação de monoterpenos (linalol e α -terpineol), cetonas (α - e β -ionona) e outros compostos. A reação de Maillard é a principal fonte de compostos heterocíclicos como furanos, pirazinas e piridinas (LÉAUTÉ, 1990). Durante a destilação são formados os acetais catalisados por ácido e ocorrem reações de oxi-redução, como a oxidação de aldeídos a ácidos e a redução de alguns ácidos a álcoois.

Os compostos voláteis destilam segundo três critérios: ponto de ebulição, afinidade com álcool/água e teor alcoólico no vapor durante a destilação, sendo que em função do grau de volatilidade, o destilado é dividido em três frações: cabeça, coração e cauda (LÉAUTÉ, 1990). O metanol e o acetaldeído são destilados principalmente na fração cabeça e os álcoois superiores nas frações coração e cauda.

A presença de leveduras no mosto fermentado durante a destilação, a velocidade com que se conduz a destilação e o fato de realizar-se ou não a separação das frações (cabeça e cauda) do corpo do destilado, afetam as quantidades relativas dos componentes voláteis, influenciando às características da bebida (LÉAUTÉ, 1990).

Um estudo comparativo foi realizado nas frações obtidas na destilação em alambique de cobre. Além das cinco amostras de aguardentes obtidas de forma fracionada (duas amostras correspondendo a 5% da cabeça, uma de 80% do corpo e duas de 5% da cauda), foram também analisadas duas não fracionadas (uma destilada em alambique de cobre e outra em alambique de aço inoxidável e bandeja de cobre), além de duas amostras comerciais (uma do comércio de Natal e outra artesanal de Campinas) (FURTADO, 1995).

Os compostos voláteis (acetaldeído, acetato de etila, metanol, etanol, propanol, 2-butanol, isobutanol, butanol, isoamílico, ácido acético) foram analisados por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (CG-DIC), através da injeção direta do *headspace*. As frações da cabeça mostraram os maiores teores de álcoois (metanol, propanol, 2-butanol, isobutanol, butanol), além de acetaldeído e acetato de etila. As frações da cauda apresentaram as maiores concentrações de ácido acético.

A destilação pode ser conduzida em alambiques ou destiladores de coluna de vários tipos e tamanhos. As colunas de destilação são de fácil manejo e de operação contínua, consumindo menos combustível, requerendo mão-de-obra menos hábil, além de permitir maior produtividade e uniformidade do produto.

Desde o início da produção de bebidas fermento-destiladas, o cobre tem sido o material mais extensivamente utilizado nas construções de alambiques, por apresentar resistência à corrosão e boa condução de calor. Na destilação do mosto fermentado da aguardente de cana com alambique de cobre pode ocorrer a formação do azinhavre (um carbonato básico de cobre que se forma nas paredes internas dos alambiques), que é solubilizado pelos vapores alcoólicos de elevada acidez e por arraste, acabam contaminando com cobre o produto destilado (LUCENA, 1959). Em alguns casos, as quantidades de cobre na aguardente podem estar acima do permitido pela legislação brasileira (5ppm).

As possibilidades de retirar o cobre da aguardente de cana pelo uso de carvão ativo e de resinas de troca iônica acarretaram sensível remoção dos compostos secundários, chegando a descaracterizar o produto. Como solução tecnológica para este problema, foi proposto um alambique misto de cobre e aço inoxidável, sendo toda a área relativa ao aço inoxidável compensada com um dispositivo de cobre na parte ascendente (FARIA, 1989), reduzindo ou mesmo anulando a quantidade de cobre e produzindo uma aguardente com qualidade sensorial. A utilização de aço inoxidável na construção de alambiques afetou a qualidade sensorial da aguardente, resultando em uma bebida com características sensoriais inferior e com odor sulfuroso desagradável (FARIA *et al.*, 1993).

Os teores de acidez e de cobre numa aguardente guardam uma relação direta. A acidez é maior nas primeiras porções do destilado, diminuindo na parte intermediária e voltando a se elevar na metade final do coração e na cauda (BOZA & HORII, 2000; FURTADO, 1995). O teor de cobre na aguardente pode ser reduzido através da remoção da fração cabeça e cauda, sem prejudicar o rendimento do etanol e a qualidade da bebida (BOZA & HORII, 1998).

O material de construção do alambique influencia o teor dos compostos voláteis. As aguardentes destiladas em alambiques de cobre apresentaram teores de aldeídos e metanol superiores às destiladas em alambiques de aço inox, enquanto estas continham teores maiores de álcoois superiores, ésteres e dimetil sulfeto (FARIA & POUCHET-CAMPOS, 1989; NASCIMENTO *et al.*, 1998a). Os teores médios para os diversos ácidos (acético, caprílico, cáprico e láurico) e da acetona não variaram para ambas amostras (NASCIMENTO *et al.*, 1998a).

Outra alternativa seria o processo de dupla destilação, usual em outros destilados. A aguardente bidestilada é a fração corpo obtida da segunda destilação, feita com o flegma da

primeira destilação (quando o teor alcoólico na saída do registro do destilador acusar 5%). O produto obtido apresenta teores significativamente ($p \leq 0,01$) menores de acidez e cobre quando comparado à amostra monodestilada (BIZELLI *et al.*, 2000).

2.2.4. Envelhecimento

Mesmo que a fermentação e a destilação do caldo de cana tenham sido conduzidas de forma técnica correta e o destilado apresente as características dentro das especificações legais, toda aguardente recém destilada apresenta sabor ardente e seco, devido ao alto teor alcoólico e a composição de voláteis (NOVAES *et al.*, 1974).

O envelhecimento sistemático da cachaça não é uma prática no Brasil, mas se observa uma melhora sensorial com o envelhecimento prolongado do produto em recipiente adequado. As diferenças de qualidades sensoriais entre as cachaças envelhecidas e as não envelhecidas são extremamente significativas.

Com o decorrer do tempo de envelhecimento, novas características sensoriais são desenvolvidas, como aroma e sabor de madeira, doçura, aroma de baunilha, coloração amarela e a diminuição significativa da agressividade e do aroma e sabor alcoólico (CARDELLO & FARIA, 1998). Aguardentes envelhecidas com tempo igual ou acima de 24 meses em tonel de carvalho obtiveram a preferência dos consumidores, em detrimento de aguardentes sem envelhecer (CARDELLO & FARIA, 2000).

A qualidade da bebida envelhecida depende do tipo de madeira empregada, tempo de envelhecimento, qualidade inicial e teor alcoólico do destilado, bem como a temperatura e a umidade relativa do ambiente de envelhecimento (NISHIMURA & MATSUYAMA, 1989; SINGLETON, 1995).

As mudanças sensoriais nas bebidas alcoólicas, envelhecidas em tonéis de madeira, são decorrentes da variação da composição química da bebida, que são conseqüência de reações químicas entre os compostos contidos na própria bebida e/ou com os componentes da madeira da qual o tonel é constituído.

Algumas reações são aqui exemplificadas, como a oxidação de álcoois em aldeídos e ácidos, a degradação de lignina por etanólise formando aldeídos aromático; e a esterificação, onde ácidos combinam com os álcoois formando os ésteres, produtos responsáveis pelo sabor agradável e característico das bebidas envelhecidas (REAZIN, 1981; YOKOYA, 1995).

A cor da cachaça envelhecida é conferida pelos componentes extraídos da madeira ou por outras substâncias, como caramelo, que são adicionadas ao produto para a correção da cor. Os poros da madeira permitem a entrada de oxigênio presente no ar e a perda de etanol e água.

A madeira geralmente utilizada no envelhecimento de bebidas destiladas é o carvalho, provavelmente devido às reconhecidas características sensoriais dos uísques, conhaques e runs, incorporados como padrões de bebidas envelhecidas.

Vários estudos têm sido feitos no sentido de avaliar a viabilidade da substituição do carvalho, já que este é importado, por espécies brasileiras de madeira. As madeiras freijó, amendoim e pereira apresentaram resultados sensoriais semelhantes ao carvalho, demonstrando possibilidades de aproveitamento (CAVALCANTI *et al.*, 1989; FARIA *et al.*, 2004).

As madeiras brasileiras (amburana, bálsamo, jequitibá, jatobá, ipê) incorporaram à aguardente os mesmos compostos fenólicos presentes em bebidas envelhecidas em carvalho. Cada madeira contribui de diferente forma sobre a composição da aguardente de cana envelhecida, predominantemente com compostos fenólicos específicos na bebida: no caso do carvalho, os ácidos elágico e vanílico; na amburana, o ácido vanílico e sinapaldeído; no bálsamo, a vanilina e ácido elágico; no jequitibá, o ácido gálico; no jatobá, o coniferaldeído; no ipê, o coniferaldeído e os ácidos siríngico e vanílico (DIAS *et al.*, 1998).

2.3. Compostos Voláteis Presentes em Bebidas Alcoólicas e na Cachaça

Os compostos voláteis presentes nas bebidas alcoólicas, que influenciam o sabor característico, podem ser oriundos da matéria-prima usada na fabricação e que permanecem inalterados durante o processo da fermentação, da destilação e do envelhecimento (FARIA *et al.*, 2003).

As diferentes bebidas podem ser facilmente distinguidas sensorialmente, mas estudos comparativos qualitativos e quantitativos de substâncias em diferentes bebidas alcoólicas mostram que, embora alguns compostos sejam peculiares de uma bebida particular ou tipo de bebida, em geral, os compostos responsáveis pelos sabores característicos, são bastante similares, independente da natureza da bebida. A maior diferença parece ser devida à concentração dos compostos voláteis nas diferentes bebidas, à

contribuição de cada composto ao aroma total, às interações de odor e à alteração do *threshold* dos compostos em presença de etanol.

Durante a fermentação alcoólica, o principal produto é o etanol, formado pela ação das leveduras sobre a glicose. Os demais compostos voláteis são os ésteres, os álcoois, os ácidos graxos, os aldeídos e outros, geralmente encontrados em pequenas quantidades e muitas vezes difíceis de serem determinados e quantificados, apesar de extremamente potentes quanto a sua contribuição ao aroma e sabor. Álcoois superiores (óleo fusel), ácidos graxos e ésteres formam quantitativamente os maiores grupos presentes nas bebidas alcoólicas, sendo os álcoois superiores os mais abundantes.

2.3.1. Ésteres

Os ésteres são numericamente o maior grupo de compostos de sabor em bebidas destiladas, sendo oriundos da fermentação, da destilação e do envelhecimento (NYKÄNEN & NYKÄNEN 1991). 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 notas frutais do aroma (NYKÄNEN & SUOMALAINEN, 1983; NYKÄNEN & NYKÄNEN 1991).

A maior parte dos ésteres é constituída por ésteres de etila, formados por reações enzimáticas da levedura 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 láctico e acético, bem como ácidos orgânicos de cadeias curtas (butírico, capríco, caprílico, cáprico e láurico).

A quantidade de ésteres é dependente da abundância relativa dos álcoois correspondentes e da acil-CoA produzida pelas leveduras. O composto acil-CoA mais comum é o acetil CoA, que é formado pela descarboxilação oxidativa do piruvato e tem papel central no metabolismo das leveduras. Os compostos acil-CoA maiores são intermediários do metabolismo de ácidos graxos. O acetato de etila normalmente é o éster predominante nas bebidas alcoólicas, e no caso das cachaças corresponde à cerca de 80% do conteúdo total de ésteres, produto da reação de esterificação entre etanol e ácido acético.

Alguns dos fatores que influenciam a formação de ésteres são: tipo e quantidade de levedura, a temperatura de fermentação, a aeração, a agitação e a qualidade do mosto. A falta de aeração ou nitrogênio pode produzir um aumento na formação de ésteres. Parece

que a maioria dos ésteres é produzida nos últimos estágios de fermentação, ao contrário dos álcoois, que são produzidos abundantemente no início (BERRY, 1995).

2.3.2. Álcoois

Nas bebidas destiladas, os álcoois constituem o maior grupo dentre os compostos voláteis sob o aspecto quantitativo e são responsáveis pelo sabor das bebidas alcoólicas. São importantes também devido à ação solvente sobre outras substâncias aromáticas, interferindo no grau de volatilidade e conseqüentemente nos seus *thresholds* (AMERINE *et al.*, 1972). Conferem corpo á bebida, além de alguns esterificarem durante o envelhecimento, formando ésteres aromaticamente mais agradáveis (LIMA, 1964). Os álcoois superiores destilam juntamente com os ésteres, devido às suas propriedades físicas em relação ao álcool etílico e a água.

Os principais álcoois produzidos pelas leveduras, além do etanol, são 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 40-70% do total da fração de óleo fusel.

Os álcoois superiores provêm do metabolismo de aminoácidos e proteínas presentes no mosto, mas também podem ser formados como produtos secundários do metabolismo de carboidratos. Ambas rotas podem ocorrer simultaneamente na fermentação (BERRY, 1995). Além disso, as leveduras são capazes de reduzir os aldeídos a álcoois superiores durante a fermentação (NYKÄNEN & NYKÄNEN, 1991).

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 e a 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.

O excesso de compostos nitrogenados, adicionados na suplementação do mosto, pode resultar no incremento anormal de aminoácidos e conseqüente aumento dos teores de álcoois superiores, podendo assim a aguardente ultrapassar o limite legal para esta classe de compostos. A adição de íons amônio no meio de fermentação pode também bloquear a síntese de álcoois a partir de carboidratos (YOKOYA, 1995).

2.3.3. Ácidos Orgânicos

Os ácidos orgânicos voláteis contribuem para o aroma das bebidas destiladas, devido ao seu aroma característico e são fixadores de vários compostos aromáticos, além de conferir corpo às bebidas destiladas (LÉAUTÉ, 1990).

O conteúdo de ácidos orgânicos é expresso pela acidez volátil, fixa ou total, sendo esta última à 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 (AMERINE *et al.*, 1972; NYKÄNEN & NYKÄNEN 1991). Os ácidos fixos são principalmente o tartárico, cítrico e málico (NOVAES *et al.*, 1974).

Os ácidos sintetizados pelas leveduras podem prontamente passar da célula da levedura para o meio durante a fermentação, onde através de reações de esterificação produzem seus respectivos ésteres. Os ácidos produzidos pela levedura são facilmente arrastados com os álcoois e o vapor do destilado.

Alguns ácidos orgânicos excretados no meio de fermentação são derivados de vias intermediárias, como por exemplo o acético, málico e succínico, contudo, a maioria dos ácidos graxos de cadeia longa é derivada da via biossintética dos ácidos graxos. O ácido acético, 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 (BERRY, 1995).

Como ocorre para as outras classes químicas, os ácidos orgânicos, do ponto de vista qualitativo, não variam nas diferentes bebidas, apesar de haver uma grande variação na sua proporção relativa. 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.

O ácido acético, apesar de sua proporção variar extensamente nas diferentes bebidas, na maioria dos casos corresponde de 60 a 95% da acidez total (NYKÄNEN & SUOMALAINEN, 1983). Os ácidos alifáticos de cadeia não ramificada e seus ésteres de etila constituem o segundo grupo mais abundante de componentes não álcoois encontrados em bebidas destiladas.

Praticamente, todos os ácidos monocarboxílicos de cadeia linear, até ao ácido octadecanóico, estão presentes nas bebidas destiladas (NYKÄNEN & SUOMALAINEN, 1983).

2.3.4. Aldeídos

Os aldeídos são importantes por suas notas sensoriais no sabor das bebidas, pois um grande número desses compostos apresenta baixo valor de *threshold*.

Os aldeídos podem ser formados através da oxidação de álcoois, degradação oxidativa de Strecker de aminoácidos e autooxidação de ácidos graxos insaturados durante a fermentação e o envelhecimento da bebida (NYKÄNEN & SUOMALAINEN, 1983). Quando são produtos intermediários da rota biossintética de álcoois superiores, são formados por descarboxilação de α -cetoácidos pela ação da enzima piruvato descarboxilase. O acetaldeído pode ser também formado durante a destilação por oxidação do etanol.

Durante a fermentação, as condições que favorecem a produção de álcoois superiores também favorecem a formação de pequenas quantidades de aldeídos. Os aldeídos que são formados dentro das células das leveduras e excretados para o meio, podem ser reabsorvidos e reduzidos ao álcool correspondente, durante os últimos estágios de fermentação (BERRY, 1995).

Acetaldeído e outros aldeídos (fórmico, butírico, isobutírico, valérico, e capríco) têm sido encontrados nas bebidas destiladas, sendo o acetaldeído usualmente o composto predominante, que representa mais de 90% da concentração total dos aldeídos em bebidas. O acetaldeído possui odor pungente e pode aumentar o sabor picante das bebidas (NYKÄNEN & NYKÄNEN, 1991).

Aldeídos insaturados têm sido encontrados em bebidas destiladas, como o 2-propenal (acroleína), oriundo da ação de bactérias sobre o glicerol ou da desidratação do glicerol sobre as superfícies quentes da coluna de destilação. A acroleína tem odor pungente e propriedades lacrimogênicas.

O furfural e o hidroximetilfurfural são resultantes da decomposição química de carboidratos, podendo aparecer no caldo de cana, quando a colheita é precedida da queima da folhagem, que acarreta a desidratação parcial de uma pequena fração de açúcares presentes. A desidratação parcial das pentoses leva à formação de furfural (2-furfuraldeído) e a desidratação das hexoses à hidroximetilfurfural (5-hidroximetil-2-furfuraldeído) (NOVAES *et al.*, 1974). O furfural também pode ser formado pela pirogenação de matéria orgânica depositada no fundo dos alambiques. Nas aguardentes envelhecidas, o furfural

pode ser oriundo da ação de ácidos sobre as pentoses e seus polímeros (hemiceluloses), provenientes da madeira usada na construção de tonéis (YOKOYA, 1995).

Os aldeídos estão presentes principalmente na fração mais volátil das bebidas alcoólicas, no caso da aguardente, na fração cabeça (NYKÄNEN & SUOMALAINEN, 1983; YOKOYA, 1995).

2.3.5. Outros compostos voláteis

Os acetais são muito comuns em bebidas destiladas, sendo formados como produto da condensação de aldeídos e álcoois, durante a destilação (NYKÄNEN & SUOMALAINEN, 1983). A reação é reversível, sendo que os acetais formados podem ser hidrolisados a aldeído e álcool em soluções alcoólicas diluídas. O 1,1-dietoxietano é o composto naturalmente encontrado em maior quantidade entre os acetais, formado através da reação do acetaldeído e etanol. A formação de acetais reduz o conteúdo de aldeídos livres nos destilados, portanto, os acetais formados podem suavizar o odor pungente causado pelos aldeídos (NYKÄNEN & NYKÄNEN, 1991).

Quanto à classe de cetonas, a legislação brasileira não estabelece limite à sua presença nas aguardentes, mas sabe-se que as cetonas são importantes para o sabor das bebidas. Nas aguardentes de cana, as cetonas são originadas por fermentação secundária ou por contaminação durante o processo de produção. O composto mais extensivamente estudado é a diacetil (2,3-butanodiona), que apresenta uma contribuição importante para o sabor de cerveja, vinhos tintos, bebidas destiladas, como uísque e o rum. Possui baixo valor de *threshold* e o seu odor é semelhante à manteiga (NYKÄNEN & NYKÄNEN, 1991; BERRY, 1995). Este composto é produzido pela descarboxilação oxidativa de hidroxiácidos.

Outros compostos que apresentam efeito marcante no aroma das bebidas são os compostos sulfurados, pois possuem baixo *threshold*. A maioria dos compostos sulfurados já identificados em bebidas alcoólicas é oriunda diretamente da matéria prima, contudo, alguns podem ser derivados do metabolismo das leveduras (BERRY, 1995).

O sulfeto de hidrogênio pode ser produzido durante a degradação da metionina e cisteína e liberado durante a autólise das células das leveduras, do reciclo de proteínas ou a partir do enxofre inorgânico presente no meio, mas normalmente é removido com o dióxido de carbono durante a destilação. No caso de fermentações lentas e com longos períodos de espera, o H₂S pode reagir com o etanol durante a destilação, produzindo etanoditiol, que

pode ser prontamente oxidado por oxigênio atmosférico a dietil dissulfeto, ou reagir com os álcoois formando mercaptanas, compostos com odor altamente desagradável (AMERINE, 1972).

Entre os compostos sulfurados identificados em bebidas destiladas, estão dietil sulfeto, dimetil dissulfeto e etilmetil sulfeto (NYKÄNEN & SUOMALAINEN, 1983) e na cachaça, dimetil sulfeto (FARIA, 2000). A presença dos compostos sulfurados em aguardentes de cana exerce um papel negativo significativo na qualidade sensorial, diminuindo a aceitação das mesmas (ISIQUE *et al.*, 1998).

2.4. Análise Química da Cachaça

A definição de uma cachaça de qualidade está relacionada aos teores máximos e mínimos dos principais compostos (álcoois superiores, ácido acético, acetato de etila, acetaldeído, furfural) de acordo com a legislação brasileira, além de estabelecer limites máximos para metanol e cobre. Porém, este tipo de controle não tem efeito sobre a qualidade química ou sensorial desta bebida.

Existe uma deficiência de informações sobre os níveis em que os diferentes compostos voláteis deveriam estar presentes na cachaça. Essas informações permitiriam uma melhor definição e classificação no mercado nacional e internacional, além de agradar os consumidores. Este conhecimento auxiliaria no monitoramento da produção, no controle de qualidade da bebida, fornecendo informações para um melhor padrão de qualidade da cachaça, possibilitando que esta dispute nos mercados internacionais um espaço ao lado das bebidas destiladas consideradas nobres.

As variações na composição de aguardente de cana de diversos fabricantes brasileiros são grandes. Essa variação não só reside no teor alcoólico, mas principalmente nos componentes secundários responsáveis pelo aroma e sabor do produto (YOKOYA, 1995).

Alguns estudos já realizados sobre a composição da aguardente de cana referem-se apenas aos componentes voláteis majoritários, por injeção direta da amostra e descritos na legislação, sem procurar estabelecer o papel que esses compostos exercem no aroma da bebida.

Quatro aguardentes de cana (marca líder de São Paulo, uma envelhecida de Minas Gerais, uma do Ceará e uma de procedência clandestina sem marca) foram avaliadas quanto ao grau alcoólico, acidez volátil, ésteres, álcool isoamílico e teor de cobre (NÓBREGA,

1993). As amostras de aguardente envelhecida tinham teores de cobre acima do permitido pela legislação. A quantidade de álcool isoamílico foi maior nas aguardentes de São Paulo e do Ceará, enquanto o teor de ésteres foi maior na aguardente envelhecida, como esperado.

O metanol, produto tóxico indesejável na fermentação alcoólica, originado da hidrólise enzimática do grupo metoxila de substâncias pécnicas, é permitido pela legislação brasileira no limite máximo de 200 mg/100mL de álcool anidro (BRASIL, 1997). Com a suspeita de que o alto conteúdo de metanol tenha provocado intoxicação aguda seguida de morte de algumas pessoas, foram avaliadas 49 amostras de aguardente (a granel, embalagens seladas e doses de barracas) quanto ao teor alcoólico e metanol. As aguardentes expostas à venda a granel e em doses são as passíveis de sofrerem falsificações; 42% das amostras estavam com o teor alcoólico abaixo do permitido por legislação e 32% com o teor de metanol muito acima. Todas as amostras seladas estavam dentro dos padrões (MIRANDA *et al.*, 1992).

Em outro estudo foram avaliadas 390 amostras de bebidas alcoólicas, sendo 281 clandestinas (126 bebidas alcoólicas aromatizadas, 16 licores, 6 batidas, 56 uisques, 41 aguardentes de cana, 19 vodcas, 3 conhaques, 2 runs, steinhaeger, vinho, amargo), 87 legalmente registradas (1 licor, 1 amargo, 9 uisques, 48 aguardentes, 48 vodcas, 1 conhaque, 2 runs, 2 vermouths) e 22 de álcool etílico (15 registrados e 7 clandestinos) quanto ao grau alcoólico e teor de metanol, no período de dezembro de 1992 a abril de 1993 (ZENEBO *et al.*, 1996).

As bebidas alcoólicas destiladas clandestinas em sua maioria, eram bebidas alcoólicas obtidas da mistura à base de vodca ou de aguardente, aromatizadas e comercializadas com nomes fantasias. Os produtos foram colhidos em estabelecimentos comerciais (bares, restaurantes, boates, lanchonetes, danceterias, adegas, distribuidores, alambiques e quiosques de praia) principalmente de cidades do estado de São Paulo. Oito amostras, todas clandestinas (1 vodca e 7 vodcas aromatizadas), apresentaram nível de metanol acima do tolerado pela legislação brasileira. Uma amostra era procedente de São Paulo e as demais da região do Grande ABC.

Tentou-se correlacionar os dados sensoriais e físico químicos (média da análise sensorial, acidez total, teores de acetaldeído, acetona, acetato de etila, propanol, metanol, isobutanol, isoamílico e álcoois superiores) de 16 amostras de aguardente de cana por um método estatístico multivariado. A análise de fatores explicou somente 50% da variação entre as amostras e os autores explicaram esta baixa porcentagem pelo pequeno número de

congêneres quantificados frente a um grande número de compostos voláteis desconhecidos e em menores teores que os álcoois superiores, porém, importantes para a caracterização das aguardentes (BOZA & HORII, 1998).

Os compostos voláteis majoritários (acetaldeído, metanol, acetato de etila, propanol, isobutanol, butanol, isoamílico) de 608 amostras de bebidas alcoólicas foram avaliados por injeção direta da amostra no cromatógrafo gasoso. Estas compreendiam 407 amostras de uísque (141 nacionais e 266 importados), vodca (71), conhaque (4) conhaque de gengibre (41) e aguardente de cana (46), licor (8), gim (2), tequila (5), aperitivo (6), rum (2) e amargo (16), no período de 1993 a 1999. A falsificação é mais freqüente em produtos com alto preço de mercado, como foi constatado para o uísque, com 70% de amostras falsificadas (81% nacionais e 59% importados), vodca (65%), conhaque (75%), conhaque de gengibre (80%), amargo (88%), aguardente de cana (43%), aperitivo (33%) e licor (13%) (NAGATO *et al.*, 2001).

A maior diferença entre as amostras autênticas e as falsificadas estava nos valores do grau alcoólico, sendo que na maioria dos casos o teor estava abaixo do limite mínimo exigido por lei, teor de metanol acima da legislação e quantidade reduzida ou ausência de compostos secundários.

Diferentes metodologias foram desenvolvidas para quantificar um maior número de compostos voláteis, baseadas na análise individual das diferentes classes químicas da aguardente de cana, sem se preocupar com a representatividade do extrato e mesmo a contribuição de cada composto ao aroma da bebida (NASCIMENTO *et al.*, 1997; NASCIMENTO *et al.*, 1998b; BOSCOLO *et al.*, 2000; CARDOSO *et al.*, 2003).

Para a análise da classe dos ácidos, utilizou-se extração em fase sólida em um cartucho de C18 previamente lavado com metanol e solução alcoólica 40% (pH 4,5-5,5 com HCl), sendo a amostra de aguardente de cana percolada no cartucho com posterior eluição com diclorometano (NASCIMENTO *et al.*, 1998b). Os extratos foram analisados por cromatografia gasosa, com detector de ionização de chama. O ácido nonanóico foi utilizado como padrão interno.

Dos 17 ácidos investigados, 14 deles (acético, propiônico, isobutírico, butírico, isovalérico, valérico, isocrapóico, capróico, heptanóico, caprílico, cáprico, láurico, mirístico e palmítico) foram encontrados em 56 amostras de aguardentes comerciais e artesanais. Os ácidos benzóico, fenilpropiônico e fenilacético não foram detetados a um nível de $\mu\text{g.L}^{-1}$. O

ácido acético foi o mais abundante em todas as cachaças, seguido dos ácidos octanóico e decanóico. O ácido acético foi determinado por injeção direta da amostra.

Aldeídos de bebidas destiladas foram quantificados na forma de hidrazonas (aldeído-2,4-dinitrofenilhidrazonas) por HPLC, com detecção a 365nm, UV-Vis com arranjo de diodo. Foi utilizado gradiente de eluição com metanol em água, coluna C18 e calibração externa (NASCIMENTO *et al.*, 1997).

Foram investigados 18 aldeídos considerados mais importantes em bebidas alcoólicas, em 56 amostras de aguardentes comerciais e artesanais e em 19 amostras de bebidas importadas (brandy, conhaque, grapa, tequila, uísque, rum e vodca), dos quais 10 aldeídos foram encontrados nas amostras: formaldeído, 5-hidroximetilfurfural, acetaldeído, acroleína, furfural, propionaldeído, butiraldeído, benzaldeído, isovaleraldeído e valeraldeído. O acetaldeído foi majoritário em todas as bebidas, com exceção da grapa, com teor de benzaldeído superior. O acetaldeído e o formaldeído foram detectados em todas as amostras, sendo que a quantidade destes compostos foi maior nas amostras internacionais. As quantidades de aldeídos nos destilados internacionais foram significativamente maiores, comparados com as aguardentes de cana brasileiras.

O conteúdo de furfural nas amostras de aguardente revelou-se abaixo do limite máximo permitido pela legislação brasileira (5 mg/100 mL de álcool anidro), sendo que não foi detectado em 41% das amostras. A quantidade de furfural e 5-hidroximetilfurfural foi maior nas aguardentes artesanais quando comparadas às aguardentes comerciais.

O mesmo método para aldeídos foi utilizado para a determinação de cetonas, em 45 amostras comerciais de aguardente (12 artesanais e 33 comerciais) e 21 bebidas importadas (uísque, rum e conhaque). Foram investigadas 29 cetonas nas amostras de bebidas, das quais apenas 4 foram identificadas e quantificadas, acetona, acetil cetona, acetofenona e ciclopentanona. As amostras comerciais apresentaram maior quantidade de acetona e acetil cetona e as artesanais, de acetofenona e ciclopentanona (CARDOSO *et al.*, 2003).

Os ésteres e álcoois foram determinados por cromatografia gasosa no mesmo extrato obtido da extração líquido-líquido da amostra com pentano:diclorometano. Foram investigados 31 álcoois, sendo que 15 (metanol, propanol, butanol, isobutanol, 1,4-butanodiol, pentanol, álcool isoamílico, decanol, dodecanol, tetradecanol, mentol, geraniol, álcool cinâmico, álcool cetílico e álcool 2-feniletila) foram encontrados nas amostras e dos 20 ésteres, 7 (acetato de etila, propanoato de metila, propanoato de amila, heptanoato de etila, benzoato de etila, valerato de isoamila e butirato de propila) foram encontrados nas 25

amostras de aguardentes de cana de diferentes regiões do Brasil. Os compostos acetato de etila, metanol, propanol, isobutanol e álcool isoamílico foram determinados por injeção direta da amostra (BOSCOLO *et al.*, 2000).

Não foram observadas diferenças significativas no perfil qualitativo das cachaças analisadas em relação aos ésteres. Em outro estudo, quatro ésteres (acetato de etila, butila, isoamila e butirato de etila) já tinham sido encontrados em 11 marcas de aguardentes de cana (LLISTÓ *et al.*, 1979). Em ambos os trabalhos, o acetato de etila foi o éster mais abundante presente nas amostras de cachaça.

Não foi observada diferença qualitativa nas amostras analisadas, mas houve grande variação do conteúdo dos compostos majoritários (isoamílico, isobutanol e propanol). O álcool isoamílico foi o composto mais abundante, seguido do isobutanol e propanol, com exceção de uma amostra, onde a concentração do álcool isoamílico foi menor do que a do isobutanol e do propanol. A média dos teores de propanol e butanol obtida foi a mesma encontrada em outras bebidas (rum, uísque e vinho), porém, a concentração do isobutanol foi menor nas cachaças e a de álcool isoamílico, maior do que a do rum e menor do que a do vinho e uísque. Metanol foi encontrado em baixos teores (5,66 mg/100mL de álcool anidro) nas aguardentes de cana.

Os métodos desenvolvidos anteriormente para a quantificação da classe dos aldeídos e dos ácidos foram comparados com os métodos adotados pela legislação brasileira, que se baseia na quantificação do teor total destas classes, expressando os resultados em função dos componentes majoritários destas e, no caso de aldeídos e ácidos, expressa em acetaldeído e ácido acético, respectivamente. Foram analisadas 35 amostras comerciais de bebidas (20 aguardentes de cana, 10 uisques, 1 grapa, 1 rum, 2 vodcas e 1 conhaque) (NASCIMENTO *et al.*, 1998c).

Os métodos oficiais baseiam-se em métodos colorimétricos, não apresentando resultados confiáveis para amostras coloridas e não permitindo a especificação dos analitos. No caso do aldeído, a reação utilizada é a de bissulfito, que não é específica para aldeídos, ocorrendo também para cetonas (presentes nas aguardentes cerca de 0,31 mg/100mL álcool anidro); para ácidos carboxílicos é feita por titulação com hidróxido de sódio e, para furfural, se faz reação colorimétrica com anilina.

No caso do teor de aldeídos, verificou-se que o método cromatográfico e o método recomendado para a análise de aldeídos tiveram diferença significativa entre as concentrações médias obtidas. O método oficial para furfural possui baixa sensibilidade (1

mg/L) comparado com o de HPLC (0,01 mg/L). Para os ácidos graxos, não houve diferença significativa entre os valores médios obtidos por ambos os métodos analíticos.

2.5. Contaminantes e Defeitos na Cachaça

Nas cachaças, o cobre aparece com frequência, principalmente nas destiladas em alambique de cobre. As indústrias de cachaça não encontram barreira fiscal para o excesso de cobre ao nível do mercado interno, pois no Brasil é permitido atualmente um limite máximo de 5 ppm, porém, o mesmo não ocorre quando se trata do mercado internacional, pois o excesso deste metal é considerado nocivo à saúde pública (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1992).

A redução ou eliminação do cobre pode ser obtida com a substituição do cobre dos alambiques por outro material, como o aço inoxidável, desde que se use o cobre na parte ascendente. O uso deste dispositivo de cobre (FARIA, 1989) se faz necessário para a manutenção das características sensoriais da bebida, evitando o aparecimento de odor de enxofre quando a destilação é realizada em alambiques de outros materiais. Há correlação negativa entre os teores de enxofre das aguardentes de cana e sua aceitabilidade (ISIQUE *et al.*, 1998).

O defeito da qualidade de aguardentes destilada na ausência de cobre foi relacionado primeiramente com altos teores de enxofre (FARIA *et al.*, 1993) e mais recentemente com a presença de dimetil sulfeto, que em concentração acima de 5,18 ppm pode causar o defeito sensorial de enxofre. Além do dimetil sulfeto, outros compostos podem contribuir para a baixa qualidade das aguardentes (FARIA, 2004).

Outros problemas relacionados com a produção de cachaça são a presença de etil carbamato e de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (BETTIN *et al.*, 1999). O etil carbamato, que ocorre naturalmente em baixas concentrações na fermentação de bebidas alcoólicas, apesar de não ser volátil, pode contaminar a bebida através da destilação de seus precursores (uréia e álcool etílico) (BOSCOLO *et al.*, 2002). A uréia pode ser produzida durante o processo fermentativo, devido ao metabolismo das leveduras ou ser adicionada, através da suplementação, à dorna de fermentação (POLASTRO *et al.*, 2001). No caso de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, a contaminação pode ocorrer no suco durante a extração nas moendas, por contaminação dos óleos lubrificantes ou durante a destilação em colunas.

Foram avaliadas cinquenta e uma amostras comerciais de cachaças e nove de tiquira quanto ao teor de uréia (POLASTRO *et al.*, 2001). As amostras de tiquira apresentaram concentrações médias maiores de uréia (0,290 mmoles/L) quando comparadas às das cachaças (0,093 mmoles/L), o que provavelmente explica os elevados teores de carbamato de etila encontrado nessa bebida, na faixa de 0,65 a 10,2 ppm (BOSCOLO *et al.*, 2002).

Também se deve ter uma preocupação com a presença de metais nas cachaças. Foram analisados 15 íons metálicos (ferro, cobalto, potássio, sódio, cálcio, magnésio, zinco, manganês, cobre, cromo, níquel, lítio, cádmio, chumbo e mercúrio) em 56 cachaças industriais, 12 cachaças artesanais e 9 bebidas importadas. Os metais considerados tóxicos, como mercúrio e cádmio, não foram detectados ao nível de $\mu\text{g/L}$. Chumbo, zinco e cobre estavam presentes em concentrações muito baixas, não constituindo risco para a saúde dos consumidores de cachaças. Porém, algumas cachaças artesanais apresentaram teores elevados de alguns metais, ultrapassando os limites de concentração previstos por lei: isto se deve à falta de controle químico da qualidade dos produtos obtidos por pequenos produtores (NASCIMENTO *et al.*, 1999).

Os aminoácidos, juntamente com os polissacarídeos, as dextranas e os polifenóis podem participar do processo de formação de precipitados em bebidas fermentadas e destiladas, denominados de flocos, que não são prejudiciais à saúde ou ao sabor, mas depreciam seu aspecto visual. Além disso, os aminoácidos são possíveis precursores do carbamato de etila, como no caso da arginina, cuja degradação pelas leveduras produz ornitina e uréia (POLASTRO *et al.*, 2001).

2.6. Análise Sensorial da Cachaça

O primeiro trabalho de ADQ realizado em aguardentes de cana foi o de FURTADO (1995). Foram avaliadas 11 amostras, sendo 5 obtidas de destilação fracionada em alambique de cobre (2 correspondendo a 5% da cabeça, uma de 80% do corpo e duas de 5% da cauda), 2 obtidas da destilação não fracionada (uma em alambique de cobre e outra em alambique de aço inoxidável e bandeja de cobre) e 2 amostras comerciais (uma do comércio de Natal e outra artesanal de Campinas) por 9 provadores treinados e selecionados. Os atributos levantados para aroma foram: álcool, melão de cana, melão de cana fermentado, madeira, erva, frutas, compostos orgânicos e perfume. Para o sabor, foram álcool, amargo, gosto doce, madeira, erva, adstringente e encorpado.

Os atributos de aroma de perfume, aroma de compostos orgânicos e sabor alcoólico foram mais altos na primeira fração da cabeça e mais baixos para as amostras da cauda, provavelmente devido ao fato dos teores mais elevados de ésteres, aldeídos e álcoois superiores, além do etanol, estarem na fração cabeça. O atributo aroma de erva foi maior na última fração da cauda e o sabor encorpado foi maior na amostra não fracionada destilada em cobre. Os atributos aroma de melado, aroma melado fermentado, sabor de madeira não apresentaram diferença significativa entre as amostras.

Amostras de aguardente de cana, correspondentes a diferentes tempos de envelhecimento (zero, 12, 24, 36 e 48 meses) em tonel de carvalho, foram avaliadas por teste de aceitação, ADQ e tempo intensidade (CARDELLO & FARIA, 2000; CARDELLO & FARIA, 1998; CARDELLO & FARIA, 1999).

Na análise de aceitação, aplicando análise de variância (análise univariada), teste de média e mapa de preferência interno (análise multivariada), além das 5 amostras correspondentes aos diferentes tempos de envelhecimento, outras 3 marcas comerciais sem envelhecer e 3 marcas comerciais envelhecidas em carvalho foram avaliadas por 100 provadores (CARDELLO & FARIA, 2000).

A aceitação das amostras, com relação a todas características sensoriais avaliadas (cor, aroma, sabor e impressão global), aumentou com o tempo de envelhecimento, bem como o valor de polifenóis e da cor. As amostras com 24, 36 e 48 meses de envelhecimento apresentaram as maiores médias (em torno de 8) para a aceitação de todos os atributos avaliados, evidenciando que o envelhecimento melhora significativamente a aceitação das amostras. Amostras comerciais não envelhecidas tiveram comportamento similar à amostra de tempo zero e as amostras comerciais envelhecidas, similares a de 12 meses de envelhecimento. Os resultados do mapa de preferência interno confirmaram os dados obtidos pela análise univariada, pois todos os provadores ficaram voltados para a região das amostras com 24, 36 e 48 meses de envelhecimento.

Na análise descritiva quantitativa, além das amostras com diferentes tempos de envelhecimento, mais uma amostra comercial sem envelhecer e outra envelhecida em carvalho foram avaliadas por 10 provadores selecionados e treinados. Treze descritores foram levantados: coloração amarela, aroma alcoólico, aroma de madeira, aroma de baunilha, doçura inicial, doçura residual, sabor alcoólico inicial, sabor alcoólico residual, sabor de madeira inicial, sabor de madeira residual, sabor agressivo, adstringente e gosto ácido (CARDELLO & FARIA, 1998).

Ocorreram mudanças significativas das características sensoriais da aguardente ao longo do envelhecimento. Observou-se aumento significativo da coloração amarela, aroma de madeira, doçura inicial e residual, aroma de baunilha, sabor inicial e residual de madeira, em contrapartida à diminuição significativa do aroma alcoólico, agressividade, sabor inicial e residual de álcool. A amostra comercial envelhecida apresentou características mais próximas às da amostra com 24 meses de envelhecimento, enquanto o perfil da amostra comercial sem envelhecimento ficou mais próximo ao da amostra sem envelhecer (zero dias). De acordo com os autores, estes resultados podem explicar o aumento de aceitação das amostras envelhecidas observadas no estudo anterior (CARDELLO & FARIA, 2000).

Os descritores gosto doce, sabor agressivo, alcoólico e de madeira levantados pela ADQ nas amostras de aguardente a diferentes tempos de envelhecimento foram avaliados por análise tempo-intensidade, por oito provadores selecionados e treinados. As modificações temporais ocorridas nos quatro atributos sensoriais estudados, durante o envelhecimento, foram bem evidenciadas com a análise tempo-intensidade. O aumento do tempo de envelhecimento da aguardente em tonel de carvalho promoveu a diminuição significativa do sabor agressivo e alcoólico, com simultâneo aumento do gosto doce e de madeira (CARDELLO & FARIA, 1999).

As variações entre as amostras foram explicadas pelo aumento de certos compostos como aldeídos, ésteres e ácidos, com simultânea diminuição de outros, como álcoois superiores (propanol e álcool isoamílico), contribuindo para a diminuição da percepção sensorial de certas características, como aroma alcoólico, sabor inicial e residual de álcool, que tornaram a bebida envelhecida mais suave (CARDELLO & FARIA, 1998).

A análise sensorial auxilia na correlação entre os compostos responsáveis pelo sabor de bebidas e a qualidade. Correlação linear negativa significativa foi observada entre os teores de enxofre e a aceitação de 7 amostras de aguardente de cana (4 amostras comerciais e 3 amostras obtidas no laboratório após destilação do mosto fermentado em diferentes alambiques: cobre, aço inoxidável e alumínio) realizada por 30 provadores (ISIQUE *et al.*, 1998).

Sete amostras de aguardente de cana (5 comerciais e 2 destiladas no próprio laboratório, uma em alambique de cobre e outra em aço inoxidável) foram avaliadas por ADQ por 12 provadores selecionados e treinados. Os termos levantados foram coloração amarela, aroma adocicado, aroma alcoólico, aroma sulfuroso, agressividade ou ardência, gosto adocicado, amargo, sabor sulfuroso e sabor alcoólico. Pelos dados de ACP, verificou-

se que as amostras foram localizadas em regiões bem distintas do gráfico. Três amostras comerciais foram caracterizadas pelos atributos sabor e aroma adocicado, concordando com os dados físico-químicos, pois foram as únicas amostras com teor de açúcar. As amostras destiladas em alambique de aço inox foram caracterizadas pelos atributos de aroma e sabor sulfuroso. Uma outra amostra comercial foi caracterizada por atributos sensorialmente desagradáveis (amargo, ardente, sabor e aroma alcoólico) (MARCELLINI, 2000).

As amostras comerciais apresentaram diferenças sensoriais e físico-químicas. A amostra destilada em inox apresentou maior acidez fixa, maior concentração de acetaldeído e menor concentração de álcool isoamílico, enquanto a destilada em cobre apresentou concentrações maiores de acetato de etila e isobutanol.

A revisão bibliográfica mostrou que, até o momento, nenhum trabalho de CG-olfatometria foi feito com a cachaça, com o objetivo de identificar os compostos voláteis de importância odorífera para o aroma desta bebida.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRABE. Associação Brasileira de Bebidas. Disponível em: <<http://www.abrabe.org.br>>. Acesso em: 12 de jul. de 2004.
- ACREE, T. E.; BARNARD, J.; CUNNINGHAM, D. G. A procedure for sensory analysis of gas-chromatographic effluents. **Food Chemistry**, v. 14, p. 273-286, 1984.
- ALVES, G. L.; FRANCO, M. R. B. Headspace gas chromatography-mass spectrometry of volatile compounds in murici (*Byrsonima crassifolia* L. Rich). **Journal of Chromatography A**, v. 985, p. 297-301, 2003.
- AMERINE, M. A.; BERG, H. W.; CRUESS, W. V. **Technology of wine making**. Westport: AVI Publ., 1972. p. 600-644.
- ARTHUR, C. L.; PAWLISZYN, J. Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. **Analytical Chemistry**, v. 62, p. 2145-2148, 1990.
- AZNAR, M.; LÓPEZ, R.; CACHO, J.; FERREIRA, V. Identification and quantification of odorants of aged red wines from Rioja. GC-olfactometry, quantitative GC-MS, and odor evaluation of HPLC fractions. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 48, p. 2924-2929, 2001.
- BASTOS, D. H. M.; DA SILVA, M. A. P. A.; FRANCO, M. R. B.; JANZANTTI, N. S. Composição de voláteis e perfil sensorial de méis de eucalipto e laranja produzidos nos estados de São Paulo e de Minas Gerais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, p. 122-129, 2002.
- BENN, S. M.; PEPPARD, T. L. Characterization of tequila flavor by Instrumental and Sensory Analysis. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 44, p. 557-566, 1996.
- BERRY, D.R. Alcoholic beverage fermentations. In: LEA, A. G. H.; PIGGOTT, J. R. (Eds.). **Fermented Beverage Production**. London: Blackie Academic & Professional, 1995. p. 32-44.
- BETTIN, S. M.; CERRONI, J. L.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Determination of aromatic hydrocarbon polycyclic in sugar cane spirit for HPLC. In: II Brazilian Meeting on Chemistry of Food and Beverages. 1999. Araraquara. **Livro de Resumos**: Araraquara. 1999, p. 15.
- BIZELLI, L. C.; RIBEIRO, C. A. F.; NOVAES, F. V. Dupla destilação da aguardente de cana: teores de acidez e de cobre. **Scientia Agrícola**, v. 57, p. 623-627, 2000.

- BOSCOLO, M.; BEZERRA, C. W. B.; CARDOSO, D. R.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Identification and dosage by HRGC of minor alcohols and esters in Brazilian sugar cane spirit. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 11, p. 86-90, 2000.
- BOSCOLO, M.; SOBRINHO, L. G. A.; LIMA NETO, B. S.; MARQUES, E. P.; FRANCO, D. W. Carbamato de etila em bebidas alcoólicas (cachaça, tiquira, uísque e grapa). **Química Nova**, v. 25, p. 1074-1077, 2002.
- BOZA, Y.; HORII, J. Influência da destilação sobre a composição e a qualidade sensorial da aguardente de cana. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 18, p. 391-396, 1998.
- BOZA, Y.; HORII, J. Influência do grau alcoólico e da acidez do destilado sobre o teor de cobre na aguardente. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 20, p. 279-284, 2000.
- BRASIL. Decreto nº 2314 de 4 set.1997. Dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Regulamenta a Lei nº 8918 de 14 de julho de 1994. **Diário Oficial**. Brasília. 5 set. 1997.
- BRASIL. Decreto nº 4062 de 21 de dez. de 2001. Define expressões “cachaça” e “cachaça do Brasil” como indicações geográficas e dá outras providências. **Diário Oficial**. Brasília. 3 de jan. 2002.
- CARDELLO, H. M. A. B.; FARIA, J. B. Análise descritiva quantitativa da aguardente de cana durante o envelhecimento em tonéis de carvalho (*Quercus Alba L.*). **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 18, p. 169-175, 1998.
- CARDELLO, H. M. A. B.; FARIA, J. B. Análise tempo-intensidade de características sensoriais de aguardente de cana durante o envelhecimento em tonel de carvalho (*Quercus sp.*). **Bol. SBCTA**, v. 33, p. 27-34, 1999.
- CARDELLO, H. M. A. B.; FARIA, J. B. Análise da aceitação de aguardentes da cana por testes afetivos e mapa de preferência interno. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 20, p. 32-36, 2000.
- CARDOSO, D. R.; BETTIN, S. M.; RECHE, R. V.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D. W. HPLC-DAD analysis of ketones as their 2,4-dinitrophenylhydrazones in Brazilian sugar-cane spirits and run. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 16, p. 563-573, 2003.
- CAVALCANTI, G. R. P.; COSTA, M. H. L. M.; JABLONKA, F. H.; CARVALHO, M. P. M.; CORREA, T. B. S. Envelhecimento de aguardente de cana. **Boletim Técnico do Centro de Tecnologia Agrícola e Alimentos**, v. 13, p. 16-39, 1989.
- CULLERE, L.; AZNAR, M.; CACHO, J.; FERREIRA, V. Fast fractionation of complex organic extracts by normal-phase chromatography on a solid-phase extraction polymeric sorbent. Optimization of a method to fractionate wine flavor extracts. **Journal of Chromatography A**, v. 1017, p. 17-26, 2003.
- CULLERE, L.; ESCUDERO, A.; CACHO, J.; FERREIRA, V. Gas chromatography-olfactometry and chemical quantitative study of the aroma of six premium quality Spanish aged red wines. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 52, p. 1653-1660, 2004.
- DA SILVA, M. A. A. P.; LUNDHAL, D. S.; MCDANIEL, M. R. The capability and psychophysics of Osme: a new GC-olfactometry technique. In: MAARSE, H.; VAN DER HEIJ, D. G. (Eds). **Trends in Flavour Research**. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1994. p. 191-209.
- DE LA CALLE, D.; MAGNAGHI, S.; REICHENBÄCHER, M.; DANZER, K. Systematic optimization of the analysis of wine bouquet components by solid-phase microextraction. **J. High Resol. Chromatogr.**, v. 19, p. 257-262, 1996.
- DIAS, S.; MAIA, A.; NELSON, D. Efeito de diferentes madeiras sobre a composição da aguardente de cana envelhecida. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 18, p. 331-334, 1998.
- ETIÉVANT, P. X.; CALLEMENT, G.; LANGLOIS, D.; ISSANCHOU, S.; COQUIBUS, N. Odor intensity evaluation in gas chromatography-olfactometry by finger span method. **J. Agric. Food Chemistry**, v. 47, p. 1673-1680, 1999.
- ETTRE, L. S. The Kováts retention index system. **Analytical Chemistry**, v. 36, p. 31A-41A, 1964.
- FARIA, J. B.; POURCHET-CAMPOS, M. A. Eliminação do cobre contaminante das aguardentes de cana (*Saccharum officinarum L.*) brasileiras. **Aliment. Nutr.**, v. 1, p. 117-26, 1989.

- FARIA, J. B. **Dispositivo para eliminação do cobre contaminante das aguardentes**. Patente Brasil. PI 8206688. 28 de nov. de 1989.
- FARIA, J. B.; DELIZA, R.; ROSSI, E. A. Compostos sulfurados e a qualidade das aguardentes de cana (*Saccharum officinarum*, L.). **Ciência Tecnol. Aliment.**, v. 13, p. 341-6, 1993.
- FARIA, J. B. Sobre a produção de aguardente de cana. **Engarrafador Moderno**, n. 40, p. 9-16, 1995.
- FARIA, J. B. **Determinação dos compostos responsáveis pelo defeito sensorial das aguardentes de cana (*Saccharum officinarum*, L.) destiladas na ausência de cobre**. 2000. 98 p. Tese de Livre docência - Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho. Araraquara. 2000.
- FARIA, J. B.; LOYOLA, E.; LÓPEZ, M. G.; DUFOUR, J. P. Cachaça, Pisco and Tequila. In: LEA, A. G. H.; PIGGOTT, J. R. (Eds.). **Fermented Beverage Production**. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2003. Chapter 15, p. 335-363.
- FARIA, J. B.; CARDELLO, H. M. A. B.; BOSCOLO, M.; ISIQUE, W. D.; ODELLO, L.; FRANCO, D. W. Evaluation of Brazilian woods as an alternative to oak for cachaça aging: sensory evaluation. In: BRYCE, J. H.; STEWART, G. G. (Eds.). **Distilled Spirits: Tradition and innovation**. The Cromwell Press: Trowbridge, 2004. Chapter 32, p. 229-232.
- FARIA, J. B. O Defeito sensorial das aguardentes de cana destiladas na ausência de cobre. In: FRANCO, M. R. B. (Ed.). **Aroma e Sabor de Alimentos: Temas Atuais**. São Paulo: Editora Varela, 2004. Cap. 11, p. 155-167.
- FERREIRA, V.; LÓPEZ, R.; ESCUDERO, A.; CACHO, J. F. Quantitative determination of trace and ultratrace flavour active compounds in red wines through gas chromatographic-ion trap mass spectrometric analysis of microextracts. **Journal of Chromatography A**, v. 806, p. 349-354, 1998.
- FERREIRA, V.; ORTÍN, N.; ESCUDERO, A.; LÓPEZ, R.; CACHO, J. Chemical characterization of the aroma of Grenache rose wines: aroma extract dilution analysis, quantitative determination, and sensory reconstitution studies. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 50, p. 4048-4054, 2002a.
- FERREIRA, V.; PETKA, J.; AZNAR, M. Aroma Extract Dilution Analysis. Precision and Optimal Experimental Design. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 1508-1514, 2002b.
- FISHER, N.; HAMMERSCHMIDT, F. J.; BUNKE, E. J. A contribution to the analysis of the flavor of cupuaçu fruit (*Theobroma grandiflorum* Spreng.). **Fruit Processing**, v. 3, p. 61-65, 1995.
- FLATH, R. A.; FORREY, R. R. F. Volatile components of papaya (*Carica papaya*, L., Solo variety). **J. Agric. Food Chem.**, v. 25, p. 103-109, 1977.
- FRANCO, M. R. B.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. Trapping of soursop (*Annona muricata*) juice volatiles on Porapak Q by suction. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 34, p. 293-299, 1983.
- FRANCO, M. R. B.; GARRUTI, D. S.; DA SILVA, M. A. A. P. Time and solvent optimization for the trapping of the volatile compounds of cashew juice and wine by suction on Porapak Q. **Revista Cubana de Química**, v. 10, p. 273-274, 1998.
- FRANCO, M. R. B.; SHIBAMOTO, T. Volatile composition of some Brazilian fruits: umbu-cajá (*Spondias citherea*), camu-camu (*Myrciaria dubia*), araçá-boi (*Eugenia stipitala*) and cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 1263-1265, 2000.
- FRANCO, M. R. B.; JANZANTTI, N. S. Avanços na metodologia instrumental da pesquisa do sabor. In: FRANCO, M. R. B. (Ed.). **Aroma e Sabor de Alimentos: Temas Atuais**. São Paulo: Editora Varela, 2004. Cap. 1, p. 17-27.
- FURTADO, S. M. B. **Avaliação sensorial descritiva de aguardente de cana (*Saccharum officinarum*, L.). Influência da composição em suas características sensoriais e correlação entre as medidas sensoriais e físico-químicas**. 1995. 99 p. Tese (Doutor em Ciência dos Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. Campinas. 1995.
- GARRUTI, D. S.; FRANCO, M. R. B.; DA SILVA, M. A. A. P.; JANZANTTI, N. S.; ALVES, G. L. Evaluation of volatile flavor compounds from cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) juice by the OSME gas chromatography-olfactometry technique. **Journal of Science of Food and Agriculture**, v. 83, p. 1455-1462, 2003.

- GROB, K.; ROMANN, A. Sample transfer in splitless injections in capillary gas chromatographic. **J. Chromatogr.**, n. 214, p. 118-121, 1981.
- GUADAGNI, D. G.; BUTTERY, R. G.; HARRIS, J. Odor intensities of hop oil components. **J. Sci. Food Agric.**, v. 17, p. 142-144, 1966.
- GUTH, H. Quantitation and sensory studies of character impact odorants of different white wine varieties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, p. 3027-3032, 1997.
- IBÁÑEZ, E.; LÓPEZ-SEBASTIÁN, S.; RAMOS, E.; TABERA, J.; REGLERO, G. Analysis of volatile fruit components by headspace solid-phase microextraction. **Food Chemistry**, v. 63, p. 281-286, 1998.
- ISIQUE, W. D.; CARDELLO, H. M. A. B.; FARIA, J. B. Teores de enxofre e aceitabilidade de aguardentes de cana brasileiras. **Cienc. Tecnol. Aliment.**, v. 18, p. 356-359, 1998.
- JANZANTTI, N. S.; FRANCO, M. R. B.; LANÇAS, F. M. Identificação de compostos voláteis de maçãs (*Malus Domestica*) cultivar Fuji, por cromatografia gasosa-espectrometria de massas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, p. 164-171, 2000.
- JENNINGS, W. G.; RAPP, A. Sample preparation for gas chromatographic analysis. **Heidelberg: Hüthig**, v. 27-28, p. 89-90, 1983.
- JENNINGS, W. G.; WOHLEB, R.; LEWIS, M. J. Gas chromatographic analysis on headspace volatiles of alcoholic beverages. **Journal Food Science**, v. 37, p. 69-71, 1972.
- LÉAUTÉ, R. Distillation in alembic. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 41, p. 90-103, 1990.
- LIMA, U. A. **Estudo dos principais fatores que afetam os componentes do coeficiente não álcool das aguardentes de cana**. 1964. 141 p. Tese (Concurso efetivo ao cargo de professor catedrático) - Escola Superior de Agricultura Luís de Queiroz. Piracicaba. 1964.
- LLISTÓ, A. M. S. M.; SOUZA, L. G.; MISCHAN, M. M. Alguns componentes do coeficiente não-álcool das aguardentes de cana: ésteres. **Brasil Açucareiro**, v. 92, p. 341-346, 1979.
- LÓPEZ, R.; AZNAR, M.; CACHO, J.; FERREIRA, V. Determination of minor and trace volatile compounds in wine by solid phase extraction and gas chromatography with mass spectrometric detection. **Journal of Chromatography A**, v. 966, p. 167-177, 2002.
- LÓPEZ, R.; ORTIN, N.; PEREZ-TRUJILLO, J. P.; CACHO, J.; FERREIRA, V. Impact odorants of different young white wines from the Canary Islands. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 3419-3425, 2003.
- LUCENA, V. G. O problema do cobre nas aguardentes. **Brasil Açucareiro**, v. 51, p. 14-18, 1959.
- MARCELLINI, P. S. **Análise descritiva quantitativa de aguardente de cana (*Saccharum spp*) comerciais e destilados em alambiques de cobre e aço inoxidável**. 2000. 77 p. Tese (Mestre em Alimentos e Nutrição) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade Estadual de São Paulo. Araraquara. 2000.
- MCDANIEL, M. R.; MIRAND-LOPEZ, R.; WATSON, B. T.; MICHEALS, N. J.; LIBBEY, L. M. Pinot noir aroma: a sensory/gas chromatographic approach. In: CHARALAMBOUS, G. (Ed.). **Flavors and Off-Flavors**. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1990. p. 23-36.
- MCLAFFERTY, F. W. **Interpretation of Mass Spectra**. Mill Valley, California: N. Turno, 1994. 293 p.
- MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. Consumer test and in-house panel acceptance tests. In: MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. (Eds.). **Sensory Evaluation Techniques**. Florida: CRC Press Inc., 1988. p. 119-141.
- MIRANDA, M. P.; DANTAS, V. P.; DEL CORRAL, F. S. D. Grau alcoólico e níveis de metanol em aguardentes do comércio (no Estado da Bahia). **Bol. SBCTA**, v. 26, p. 104-107, 1992.
- MIRANDA-LOPEZ, R., LIBBEY, B. T., WATSON, B. T.; MCDANIEL, M. R. Identification of additional odor-active compounds in Pinot Noir wines. **Am. J. Enol. Viticult.**, v. 43, p. 90-92, 1992.
- MORAIS, P. B.; ROSA, C. A., LINARDI, V. R.; PATARO, C.; MAIA, A. B. R. A. Characterization and succession of yeast populations associated with spontaneous fermentations during the production of Brazilian sugar-cane. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 13, p. 241-243, 1997.

- MUÑOZ, A. M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory Evaluation in Quality Control**. New York: Van Reinhold, 1992. p. 23-51.
- NAGATO, L. A. F.; DURAN, M. C.; CARUSO, M. S. F.; BARSOTTI, R. C. F.; BADOLATO, E. S. G. Monitoramento da autenticidade de amostras de bebidas alcoólicas enviadas ao Instituto Adolfo Lutz em São Paulo. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 21, p. 39-42, 2001.
- NASCIMENTO, R. F.; MARQUES, J. C.; DE KEUKELEIRE, D.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Qualitative and quantitative high-performance liquid chromatographic analysis of aldehydes in Brazilian sugar cane spirits and other distilled alcoholic beverages. **J. Chromatogr.**, v. 782, p. 13-23, 1997.
- NASCIMENTO, R. F.; CARDOSO, D. R.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Influência do material do alambique na composição química das aguardentes de cana-de-açúcar. **Química Nova**, v. 21, p. 735-739, 1998a.
- NASCIMENTO, R. F.; CARDOSO, D. R.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Determination of acids in Brazilian sugar cane spirits and other alcoholic beverages by HRGC-SPE. **Chromatographia**, v. 48, p. 751-757, 1998b.
- NASCIMENTO, R. F.; CERRONI, J. L.; CARDOSO, D. R.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Comparação dos métodos oficiais de análise e cromatográficos para a determinação dos teores de aldeídos e ácidos em bebidas alcoólicas. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 18, p. 350-355, 1998c.
- NASCIMENTO, R. F.; BEZERRA, C. W. B.; FURUYA, S. M. B.; SCHULTZ, M. S.; POLASTRO, L. R.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Mineral profile of Brazilian “cachaças” and other international spirits. **J. Food Comp. Anal.**, v. 12, p. 12-25, 1999.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Recommended Dietary Allowances**. Subcommittee on the Tenth Edition of RDAs. Food and Nutritional Board, Commission on Life Sciences 10th Edition. Washington: National Academy Press, 1992.
- NICKERSON, G. B.; LIKENS, S. T. Gas chromatographic evidence for the occurrence of hop oil components in beer. **J. Chromatogr.**, v. 21, p. 1-5, 1966.
- NISHIMURA, K.; MATSUYAMA, R. Maturation and maturation chemistry. In: PIGGOTT, J. R.; SHARP, R.; DUNCAN, R. E. B. (Eds.) **The Science and Technology of whiskies**. New York: Longman Scientific & Technical, 1989. p. 235-263.
- NÓBREGA, I. C. C. **Características de qualidade de aguardentes de cana comerciais e comparação entre dois processos de fermentação**. 1993. 100 p. Tese (Magister) - Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa. 1993.
- NONATO, E. A.; CARAZZA, F.; SILVA, F. C.; CARVALHO, C. R.; CARDEAL, Z. L. A headspace solid-phase microextraction method for the determination of some secondary compounds of Brazilian sugar cane spirits by gas chromatography. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 49, p. 3533-3539, 2001.
- NOVAES, F. V.; STUPIELLO, J. P.; OLIVEIRA, E. R.; VALSECHI, O. I Curso de Extensão em tecnologia de aguardente de cana (apostila). Piracicaba, 1974. 104 p.
- NYKÄNEN, L.; SUOMALAINEN, H. **Aroma of beer, wine and distilled alcoholic beverages**. Berlin: Akademik-Verlag, 1983. 413 p.
- NYKÄNEN, L.; NYKÄNEN, I. Distilled beverages. In: MAARSE, H. (Ed). **Volatile compounds in food and beverages**. New York: Marcel Dekker, Inc, 1991. p.548-580.
- OLIVEIRA, A. F.; ANEFALOS, L. C.; GARCIA, L. A. F.; ISTAKE, M.; BURNQUIST, H. L. Sistema agroindustrial e potencialidades de expansão das exportações. Disponível em: <<http://www.fearp.usp.br/egna/resumos/Oliveira.pdf>>. Acesso em: 21 de dez. de 2003.
- OLIVEIRA, E. S. **Características fermentativas, formação de compostos voláteis e qualidade da aguardente de cana obtida por linhagens de leveduras isoladas de destilarias artesanais**. 2001. 135 p. Tese (Doutor em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. Campinas. 2001.

- ORTEGA, C.; LÓPEZ, R.; CACHO, C.; FERREIRA, V. Fast analysis of important wine volatile compounds: development and validation of a new method based on gas chromatographic–flame ionization detection analysis of dichloromethane microextracts. **Journal of Chromatography A**, v. 923, p. 205-214, 2001.
- PINO, J. A. Estudio de los constituyentes volátiles del aguardiente de caña. **Alimentaria**, v. 99, p. 119-122, 1999.
- POLASTRO, L. R.; BOSO, L. M.; SOBRINHO, L. G. A.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Compostos nitrogenados em bebidas destiladas: cachaça e tiquira. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 21, p. 78-81, 2001.
- POLLIEN, P.; OTT, A.; MONTIGON, F.; BAUMGARTNER, M.; MUNÓZ-BOX, R.; CHAINTREAU, A. Hyphenated headspace-gas chromatography-sniffing technique: screening of impact odorants and quantitative aromagram comparisons. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 45, p. 2630-2637, 1997.
- REAZIN, G. H. Chemical mechanisms of whiskey maturation. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 32, p. 283-9, 1981.
- SCHIEBERLE, P.; GROSCH, W. Identification of potent flavour compounds formed in an aqueous lemon oil/citric acid emulsion. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 36, p. 797-800, 1988.
- SINGLETON, V. L. Maturation of wines and spirits: comparison, facts and hypotheses. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 46, p. 98-115, 1995.
- STONE, H.; SIDEL, J. **Sensory evaluation practices**. New York: Academic Press, 1993. 338 p.
- STONE, H.; SIDEL, J.; OLIVER, S.; WOOLSEY, A.; SINGLETON, R. C. Sensory evaluation by quantitative descriptive analysis. **Food Technology**, v. 28, p. 24-34, 1974.
- THOMAZINI, M.; FRANCO, M. R. B. Metodologia para análise dos constituintes voláteis do sabor. **Boletim da SBCTA**, v. 34, p. 52-59, 2000.
- ULRICH, F.; GROSCH, W. Identification of the most intense volatile flavor compounds formed during autoxidation of linoleic acid. **Z. Lebensm. Unters. Forch.**, v.184, p.277-282, 1987.
- VARMAN, A. H.; SUTHERLAND, J. P. **Bebidas - Tecnología, química y microbiología**. Zaragoza: Editorial Acrabia S.A., 1994. p. 453-461.
- WADA, K.; SHIBAMOTO, T. Isolation and identification of volatile compounds from a wine using solid phase extraction and gas chromatography/mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, p. 4362-4366, 1997.
- YOKOYA, F. **Fabricação da Aguardente de Cana**. Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia “André Tosello”. Campinas: Série Fermentações Industriais, 1995. 92 p. n. 2.
- ZENEON, O.; BADOLATO, E. S. G.; NAGATO, L. A. F.; DURAN, M. C.; AUED-PIMENTEL, S.; VASCONCELOS, D. A. Metanol - Avaliação da ocorrência de intoxicações causadas pelas ingestão de bebidas alcoólicas no estado de São Paulo. **Bol. SBCTA**, v. 30, p. 71-74, 1996.

Capítulo 2

ANÁLISE DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS DA CACHAÇA POR EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA

Janzantti N. S.¹, Ferreira V.², López R.², Franco M. R. B.¹, Cacho, J.²

¹Laboratório de Análise de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP. C.P. 2161. Campinas, São Paulo, Brasil. CEP 13097-900. E-mail: nataliajanzantti@hotmail.com

²Laboratorio del Análisis del Aroma y Enología, Facultad de Ciencias. Universidad de Zaragoza-Unizar. Plaza San Francisco s/n. Zaragoza, España. 50009.

RESUMO

Tendo em vista a importância sócio-econômica da cachaça e o número restrito de trabalhos relacionados com a qualidade dessa bebida, foi desenvolvido um método em extração em fase sólida, para a análise dos compostos voláteis da cachaça por cromatografia gasosa. Após limpeza e condicionamento de um cartucho contendo 0,2 g do polímero Lichrolut EN, foram percolados 20 mL de uma solução de cachaça 20% de etanol v/v. A eluição foi feita com 1,5 mL de diclorometano: éter dietílico (9:1). As recuperações ficaram acima de 93% para todos os compostos, com exceção do álcool isoamílico, guaiacol e ácido isobutírico. O extrato obtido foi representativo da amostra original de cachaça. O método revelou-se rápido e simples, além de possibilitar a distinção entre diferentes amostras de cachaça.

ABSTRACT

In view of the social and economic importance of cachaça and the restricted number of studies related to the quality of this beverage, a method was developed using solid phase extraction for the analysis of the volatile compounds of cachaça for gas chromatography. After cleaning and conditioning of 0.2 g Lichrolut EN resin in cartridge, 20 mL cachaça solution 20% v/v was extracted. Elution was carried out with 1.5 mL of dichloromethane:dimethyl ether (9:1). Recoveries were above 93% for all compounds, excepting isoamyl alcohol, guaiacol and isobutyric acid. The extract obtained was representative of the original cachaça sample. The method was fast and simple, aside from the possibility of distinguishing cachaça samples.

1. INTRODUÇÃO

A cachaça é a bebida fermento-destilada mais antiga e mais consumida no Brasil. A produção de cachaça em 2002 foi de 1,3 bilhão de litros enquanto somente 14,8 milhões foram exportados, segundo a Associação Brasileira de Bebidas (ABRABE, 2004).

Cachaça é a denominação típica e exclusiva da aguardente de cana produzida no Brasil, com graduação alcoólica de 38 a 48% em volume, a 20°C e com características sensoriais peculiares (BRASIL, 2002). De acordo com a Legislação Brasileira (Decreto 2314/97), aguardente de cana é uma bebida alcoólica obtida pela destilação do caldo de cana (*Saccharum officinarum*, L.) fermentado (BRASIL, 1997).

Os principais componentes da cachaça são a água e o etanol, mas é a presença de compostos minoritários como os álcoois superiores, ésteres, ácidos carboxílicos, entre outros, que são os responsáveis pelo sabor característico da bebida.

Portanto, qualquer trabalho de controle de qualidade ou de verificação da possibilidade de falsificação ou adulteração, só pode ser eficiente após um estudo detalhado dos componentes voláteis da cachaça.

Vários fatores influem e dificultam o desenvolvimento de uma metodologia para análise dos compostos voláteis da cachaça, entre os principais: a matriz da bebida, a presença de diferentes classes de compostos e em diferentes concentrações e a alta porcentagem de etanol. Por isso, a etapa de isolamento e concentração é muito importante, não podendo causar mudanças na composição total e nas estruturas químicas dos componentes individuais e principalmente se considerarmos que, mesmo os compostos presentes em pequenas concentrações podem exercer papel relevante no efeito global do sabor.

Existem diferentes métodos que tem sido utilizados na análise de componentes voláteis de bebidas alcoólicas, tais como extração em fase sólida (WADA & SHIBAMOTO, 1997; FERREIRA *et al.*, 2002; LÓPEZ *et al.*, 2002), *headspace* dinâmico (GARRUTI, 2001) e extração com solvente (PINO, 1999; ORTEGA *et al.*, 2001), sendo sempre necessária a padronização da técnica de modo a se obter um extrato representativo da amostra.

Os estudos disponíveis sobre a composição da cachaça referem-se geralmente aos componentes voláteis majoritários determinados por injeção direta da amostra (NAGATO *et al.*, 2001) ou são baseados na análise das diferentes classes químicas, como aldeídos (NASCIMENTO *et al.*, 1997), cetonas (CARDOSO *et al.*, 2003), álcoois (BOSCOLO *et al.*, 2000), ésteres (BOSCOLO *et al.*, 2000) e ácidos (NASCIMENTO *et al.*, 1998), sem preocupação com a representatividade do extrato, como também com a contribuição de cada composto ao aroma da bebida.

O polímero estireno divinilbenzeno tem sido empregado com sucesso na análise de vinhos (LÓPEZ *et al.*, 2002; AZNAR *et al.*, 2003; CULLERE *et al.*, 2003; FERREIRA *et al.*, 2003; LÓPEZ *et al.*, 2003; CULLERE *et al.*, 2004). Aproveitando a propriedade desse polímero de possuir baixa afinidade com o etanol, permitindo a determinação de compostos voláteis com grande faixa de concentração e de diferentes classes químicas, este trabalho teve como objetivo padronizar uma metodologia analítica para o estudo dos compostos

voláteis presentes na cachaça, bem como a obtenção de um extrato representativo do aroma da amostra original.

2. MATERIAL E MÉTODO

2.1. Material

Uma amostra de cachaça representativa do comércio nacional e internacional, com 40% de etanol v/v, foi utilizada nas análises de padronização e outras duas amostras de cachaça, também comerciais, foram utilizadas nos testes sensoriais.

2.2. Métodos

2.2.1. Reagentes e padrões

Todos os reagentes e padrões apresentavam alta pureza. O polímero Lichrolut EN foi adquirido da Merck (Darmstadt, Alemanha); diclorometano e éter dietílico da Fischer Scientific (Loughborough, Inglaterra); etanol, metanol e sulfato de sódio anidro da Panreac (Barcelona, Espanha). Os padrões foram comprados da Aldrich, Sigma, Fluka, PolyScience, Lancaster e Firmenich com pureza sempre superior a 97%. A água utilizada foi purificada no sistema MiliQ (Millipore, EUA). A concentração da solução de BHA foi de 10 mg/g de etanol. A extração em fase sólida foi realizada em sistema VAC ELUT 20 adquirido da Varian (Walnut Creek, EUA).

2.2.2. Procedimento geral para a extração dos compostos voláteis em polímero Lichrolut EN

Um cartucho de 3 mL contendo 0,2 g de polímero Lichrolut EN, após lavagem com 2 mL de diclorometano e seco, foi condicionado com 4 mL de metanol e 4 mL de uma solução de etanol:água 12% v/v. Após a passagem da solução de cachaça, contendo 15 µL de solução de BHA, o polímero novamente foi lavado com 2 mL de água e seco. Posteriormente à eluição dos compostos voláteis, 25 µL da solução dos padrões internos foram adicionados ao extrato, que foi então transferido para um frasco de 3 mL e lacrado para posterior análise no cromatógrafo gasoso.

Solução de padrões internos: os compostos 4-metil-2-pentanol (PolyScience, com 98% de pureza) e 2-octanol (PolyScience, com 98% de pureza) foram usados como padrões

internos. A solução de 4-metil-2-pentanol e 2-octanol foi preparada com uma concentração de 10 g/L e de 1 g/L em etanol, respectivamente. A área relativa do composto isobutanol foi calculada em relação ao 4-metil-2-pentanol e para os demais compostos, ao 2-octanol.

2.2.3. Condições cromatográficas de análise

O instrumento utilizado foi um cromatógrafo gasoso Hewlett Packard 5890 Series II, com injetor automático Hewlett Packard 7673 e detector de ionização de chama, equipado com uma coluna de 60 m por 0,32 mm de diâmetro interno, com espessura de filme de 0,5 μm de fase estacionária DB-Wax, da J&W (Folsom, EUA), precedida de uma precoluna desativada de 2 m por 0,53 mm de diâmetro. O volume de injeção foi de 2 μL em modo *splitless* e o fluxo do gás de arraste (hidrogênio), de 3 mL/min. As temperaturas do detector e do injetor foram de 250 °C. A temperatura da coluna foi mantida inicialmente a 40 °C por 5 min, depois programada com uma rampa de 3 °C/min até 200 °C e permaneceu nesta temperatura por 35 min.

2.2.4. Estabelecimento dos parâmetros testados do método de extração

2.2.4.1. Porcentagem de diluição da amostra de cachaça para máxima recuperação dos compostos voláteis

Foram preparadas 5 soluções de cachaça, adicionando sobre 15 mL de amostra de cachaça, a quantidade de água, quando necessária, para ajustar o grau alcoólico a 40%, 30%, 20%, 12,5% e 8% de etanol v/v. As soluções foram então passadas pelo cartucho e extraídas com 3 mL de diclorometano. Os extratos obtidos foram concentrados até 0,3 mL, inicialmente em um microconcentrador Kuderna-Danish em banho-maria a 42 °C e depois sob corrente de nitrogênio.

2.2.4.2. Volume mínimo de solvente para a eluição dos compostos voláteis

Após a passagem de 30 mL da solução de cachaça a 20% de etanol v/v pelo cartucho, volumes de extratos entre 0,5 a 2 mL foram obtidos pela passagem contínua de diclorometano. As cinco primeiras frações coletadas foram de 0,5 mL, a sexta de 1,0 mL e a sétima de 2 mL.

2.2.4.3. Solvente de eluição

Quatro extratos distintos foram obtidos utilizando-se diferentes solventes de eluição: 1,5 mL de diclorometano, 1,5 mL de diclorometano:éter dietílico (9:1), 1,5 mL de diclorometano:éter dietílico (1:1) e 1,5 mL de éter dietílico, após a passagem de 30 mL da solução de cachaça a 20% de etanol v/v pelo cartucho.

2.2.4.4. Volume de ruptura

Quantidades crescentes da solução de cachaça 20% v/v de etanol (20, 30, 40, 60 e 80 mL) foram passadas pelo cartucho. A extração foi realizada com 1,5 mL de diclorometano: éter dietílico (9:1). Para manter a proporcionalidade, diferentes quantidades da solução de padrões internos (20, 30, 40, 60 e 80 µl) e solvente diclorometano:éter dietílico (9:1) foram adicionados ao extrato quando necessário.

2.2.5. Teste de recuperação

Uma solução contendo 15 padrões puros (butirato de etila, hexanoato de etila, álcool isoamílico, hexanol, linalol, 2-feniletanol, guaiacol, fenol, 4-vinilguaiacol, 4-etilguaiacol, ácido isobutírico, ácido hexanóico, vanilina, β-damascenona e γ-nonalactona) foi preparada em 10 mL de etanol, variando as massas entre 10-20 mg de cada composto. Estes compostos foram escolhidos por representar as diferentes classes de compostos normalmente presentes em bebidas alcoólicas.

Em um balão de 100 mL, uma solução sintética de cachaça foi preparada com uma alíquota de 200 µL da solução de padrões e completado o volume com solução 40% de etanol v/v (pH a 4,5, ajustado com ácido acético). Foi realizada então a extração, em polímero Lichrolut EN, de 10 mL da solução sintética de cachaça mais 10 mL de água e eluição com 1,5 mL de diclorometano:éter dietílico (9:1).

Em um frasco de 3 mL adicionou-se uma alíquota de 20 µL da solução de padrões, 1,5 mL de diclorometano:éter dietílico (9:1), 25 µL de solução de padrões internos, para análise no cromatógrafo gasoso e posterior comparação dos dados obtidos com o extrato.

2.2.6. Análise sensorial da representatividade do extrato

Foram realizados testes sensoriais para verificar se o extrato obtido após extração em Lichrolut EN era representativo da amostra original de cachaça, isto é, se possuía suas principais características sensoriais. Inicialmente foram realizados testes triangulares para verificar a existência de diferença significativa entre as cachaças e entre os extratos e

posteriormente foi efetuado um teste duo-trio a fim de relacionar uma das cachaças com o seu respectivo extrato.

Para o teste triangular com as três amostras comerciais de cachaça, um mL da amostra era depositado numa pequena toalha absorvente (2x2 cm) que era então introduzida num vidro âmbar de 60 mL. Foram servidos para cada provador 3 frascos com amostras de cachaça, sendo duas iguais e uma diferente. Era solicitado para cada provador que abrisse e aspirasse cada frasco codificado, anotando a amostra diferente.

Um segundo teste triangular foi realizado com os extratos obtidos das 3 amostras comerciais de cachaça, para verificar se diferenciavam entre si. Uma alíquota de 100 µL do extrato era depositada na toalha absorvente que, após exposição ao ar por 2 minutos para permitir a evaporação do solvente, era introduzida no vidro âmbar juntamente com 0,2 mL de etanol:água 40% (v/v) e o vidro era então fechado. O procedimento de análise foi igual ao descrito anteriormente.

Por último, realizou-se um teste duo-trio para verificar se os provadores conseguiam associar o extrato com a respectiva amostra de cachaça analisada. Um frasco continha uma amostra comercial de cachaça (referência) enquanto outros dois frascos continham dois extratos, sendo um deles o obtido da referência. Era então solicitado aos provadores que indicassem o extrato que possuísse maior similaridade com a amostra referência de cachaça.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A **Tabela 1** mostra os resultados obtidos para a escolha da porcentagem de diluição da amostra de cachaça, para uma máxima recuperação dos compostos voláteis. Na solução de cachaça diluída a 20% v/v foram observadas as maiores áreas relativas para os compostos polares, enquanto na solução de cachaça a 40%, para os compostos apolares. Como os compostos apolares não tiveram perdas marcantes na solução de 20%, esta foi escolhida como a melhor diluição para análise.

Os dados obtidos na determinação do volume mínimo de solvente (diclorometano), para a eluição dos compostos voláteis da cachaça, estão apresentados na **Figura 1**. Este gráfico mostra que com um volume de 1,5 mL de diclorometano, 95 a 99% dos compostos voláteis foram extraídos, com exceção dos compostos ácido octanóico e fenol. No caso de ácidos e de alguns compostos fenólicos (compostos majoritários, acima de 0,1 mg/L) a determinação pode ser feita por outro método envolvendo extração com solvente em

presença de sais (ORTEGA *et al.*, 2001), para uma melhor recuperação destes compostos. O uso de grandes volumes de solvente para a extração requereria uma posterior concentração do extrato, que poderia ser feita com uso de calor ou corrente de nitrogênio, podendo assim causar perdas ou mudança nas proporções dos compostos voláteis, como também o aparecimento de artefatos (FERREIRA *et al.*, 1998).

Tabela 1: Efeito de diferentes diluições da cachaça sobre a área relativa de alguns compostos voláteis.

Composto	Porcentagem de etanol v/v				
	40%	30%	20%	12%	8%
isobutanol	0,601	0,650	0,778	0,612	0,560
hexanoato de etila	0,036	0,033	0,032	0,021	0,018
acetato de feniletila	0,014	0,013	0,013	0,013	0,012
guaiacol	0,005	0,006	0,006	0,006	0,005
fenol	0,004	0,004	0,005	0,004	0,004
4-etilfenol	0,004	0,004	0,004	0,004	0,003
ácido octanóico	1,746	1,921	2,798	1,728	1,703

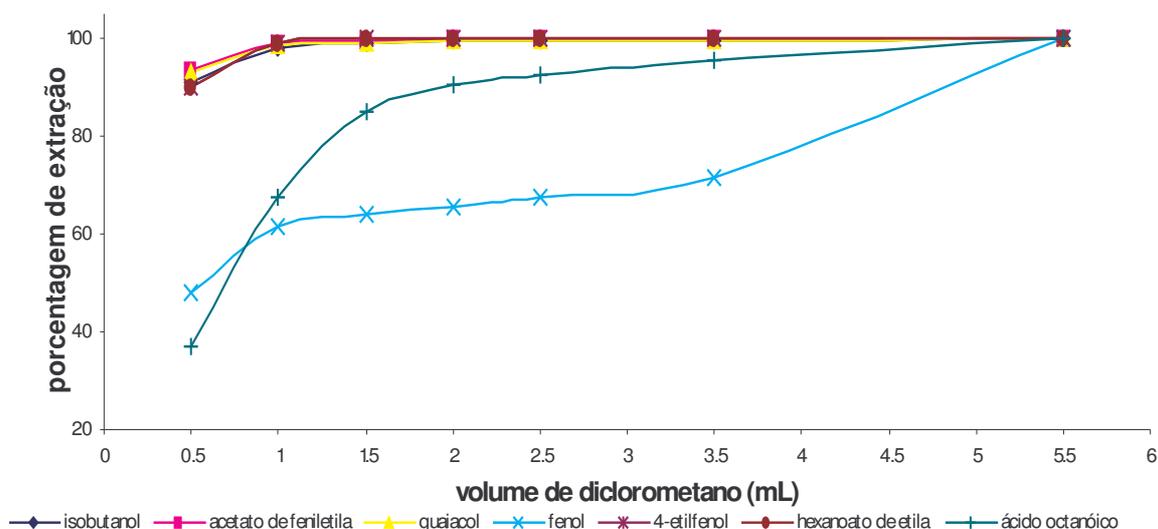


Figura 1: Porcentagem de extração acumulada de alguns compostos voláteis da cachaça com o aumento do volume de solvente (diclorometano).

No caso de ácidos houve uma melhora na extração realizada com a mistura de solventes diclorometano:éter dietílico (9:1), quando comparada com a eluição feita somente com diclorometano (**Tabela 2**). Observou-se também um aumento de 26% na extração do ácido octanóico e de 7% no caso do isobutanol. Para os demais compostos, não se observou alteração na quantidade extraída com esta mistura de solventes. Com o aumento da

quantidade de éter dietílico pequenas perdas também foram observadas, como para o isobutanol e o hexanoato de etila.

Desta maneira, apesar dos inconvenientes devidos ao uso de misturas de solventes, como a ocorrência de um pico mais largo no início do cromatograma e a necessidade de se usar solventes altamente puros, optou-se pelo uso de diclorometano:éter dietílico (9:1).

Tabela 2: Efeito do uso de diferentes solventes de eluição sobre a área relativa de alguns compostos voláteis.

Composto	diclorometano: éter dietílico (9:1)		diclorometano: éter dietílico (1:1)	
	diclorometano	éter dietílico	éter dietílico	éter dietílico
isobutanol	0,537	0,574	0,550	0,390
hexanoato de etila	0,035	0,033	0,032	0,025
acetato de feniletila	0,012	0,013	0,012	0,012
guaiacol	0,005	0,005	0,005	0,005
fenol	0,004	0,004	0,004	0,004
4-etilfenol	0,003	0,003	0,003	0,003
ácido octanóico	1,628	2,053	2,160	2,459

De acordo com as **Figuras 2 e 3**, o volume máximo de solução de cachaça 20% de etanol v/v a ser passado pelo cartucho de 200 mg de polímero Lichrolut EN foi de 20 mL para uma máxima recuperação dos compostos voláteis. O aumento dessa quantidade de amostra acarretou perdas na recuperação de alguns compostos, como o isobutanol e o fenol.

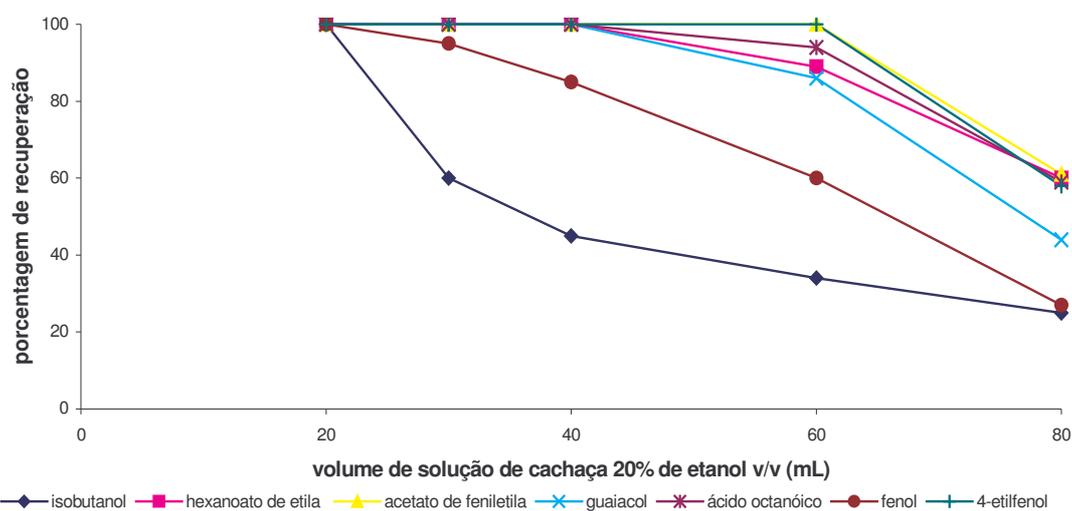


Figura 2: Efeito do aumento do volume de solução de cachaça 20% de etanol (v/v) na área relativa de alguns compostos voláteis.

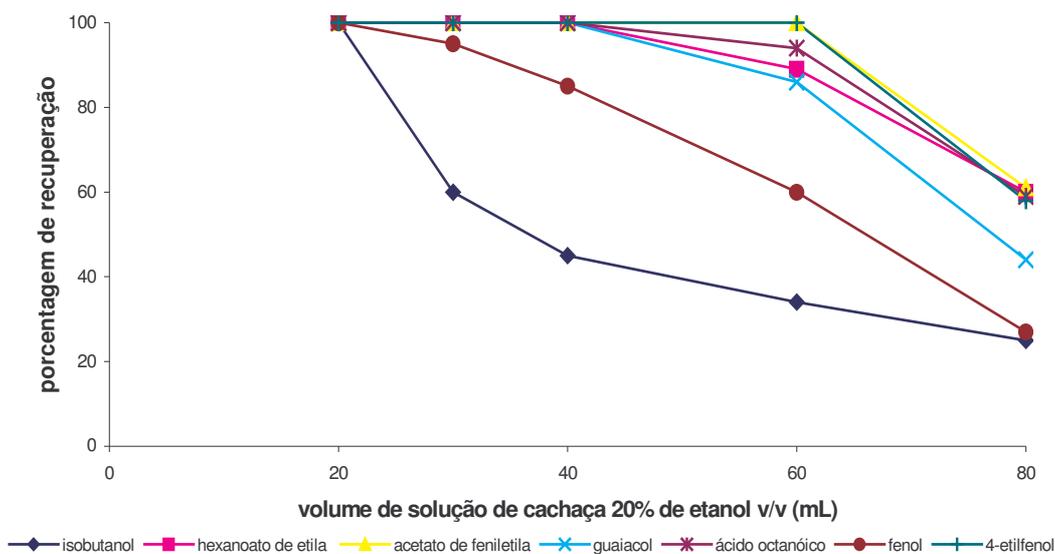


Figura 3: Porcentagem de recuperação dos compostos voláteis com o aumento do volume de solução de cachaça 20% v/v de etanol.

A **Tabela 3** mostra os resultados da recuperação dos compostos voláteis da solução de padrões, que resultaram semelhantes àquelas obtidas utilizando-se a mesma técnica para análise de vinhos (LÓPEZ *et al.*, 2002; CULLERE *et al.*, 2003). A baixa recuperação para os ácidos de cadeia curta (propiónico, isobutírico, butírico, isovalérico, valérico, isocrapóico e capróico) também foi observada na análise de ácidos graxos de cachaça utilizando-se extração em fase sólida Supelclean ENVI-18 (NASCIMENTO *et al.*, 1998) e por técnica de extração com solvente em vinho (ORTEGA *et al.*, 2001).

Tabela 3: Porcentagem de recuperação de alguns compostos voláteis da cachaça por extração em fase sólida.

Composto	Recuperação (%)	Composto	Recuperação (%)
butanoato de etila	98	ácido hexanóico	99
álcool isoamílico	87	β -feniletanol	98
hexanoato de etila	93	fenol	98
hexanol	99	4-etilguaiacol	99
linalol	98	γ -nonalactona	99
ácido isobutírico	25	4-vinilguaiacol	95
β -damascenona	98	vanilina	105
guaiacol	60		

Após a padronização da metodologia para a extração dos compostos voláteis em Lichrolut EN, verificou-se a representatividade do extrato por análise sensorial. Os resultados obtidos nos testes sensoriais estão apresentados na **Tabela 4**.

Tabela 4: Nível de significância nos testes sensoriais para verificar a representatividade do extrato.

Teste Sensorial	número de testes	acertos	nível de significância (<i>p</i>)
Triangular das amostras	24	22	0,001
Triangular dos extratos	24	15	0,005
Duo Trio	48	31	0,03

Os provadores conseguiram distinguir as amostras e os extratos nos testes triangulares, bem como correlacionar a amostra com o respectivo extrato com acertos acima de 97%, o que significa que o extrato, obtido pelo método de extração proposto, representa satisfatoriamente o aroma da amostra original de cachaça.

A **Figura 4** mostra o cromatograma dos compostos voláteis de cachaça obtido da extração em Lichrolut EN com diclorometano:éter dietílico (9:1).

A técnica proposta demonstrou ser simples e rápida para análise dos compostos voláteis da cachaça, sem necessidade de posterior concentração do extrato, podendo auxiliar no controle de qualidade da cachaça, já que o extrato obtido revelou-se representativo da amostra original.

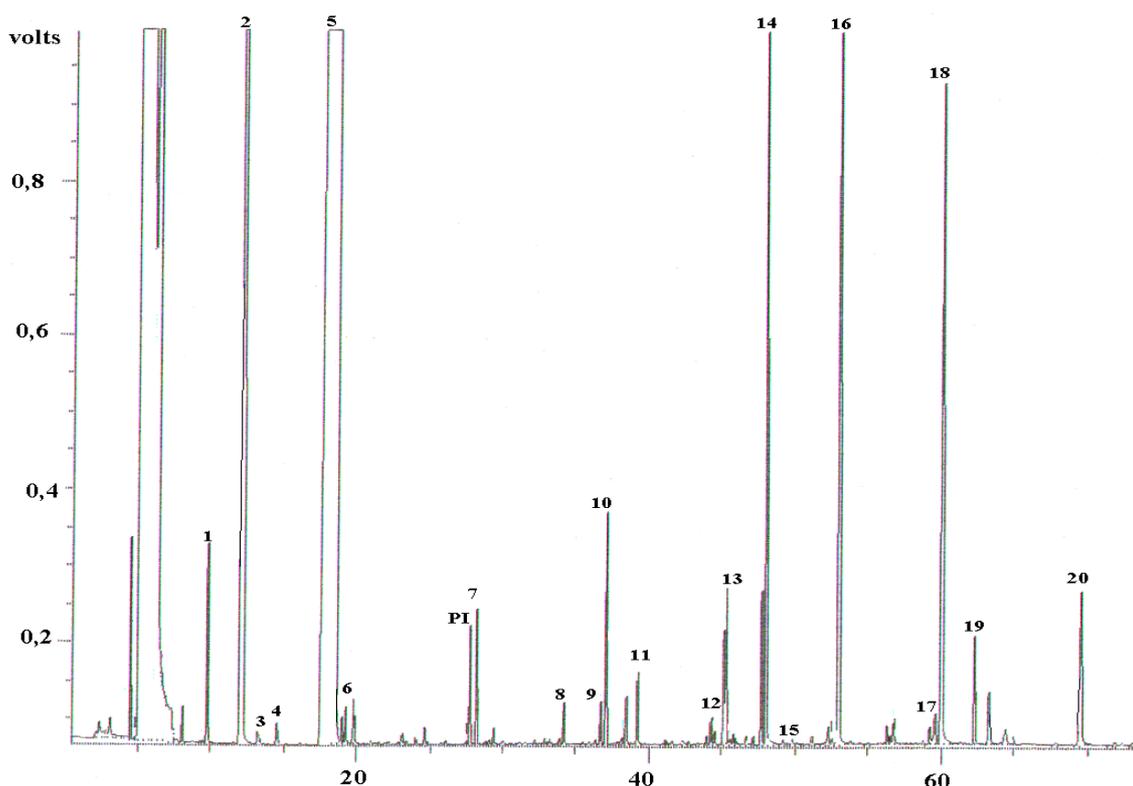


Figura 4: Cromatograma dos compostos voláteis da cachaça extraídos por extração em fase sólida.

Composto: 1: propanol; 2: isobutanol; 3: acetato de isoamila; 4: butanol; 5: álcool isoamílico; 6: hexanoato de etila; PI: 2-octanol; 7: octanoato de etila; 8: ácido isobutírico; 9: ácido butírico; 10: decanoato de etila; 11: ácido isovalérico; 12: acetato de feniletila; 13: dodecanoato de etila; 14: β -feniletanol; 15: 4-etilguaiaicol ; 16: ácido octanóico; 17: 4-etilfenol ; 18: ácido decanóico; 19: farnesol; 20: ácido dodecanóico.

4. CONCLUSÕES

Os parâmetros estabelecidos para a análise dos compostos voláteis da cachaça por extração em fase sólida e posterior análise por cromatografia gasosa foram: limpeza de um cartucho contendo 0,2 g do polímero Lichrolut EN com 2 mL de diclorometano; condicionamento com 4 mL de metanol e 4 mL de uma solução de etanol:água 12% v/v; passagem de 20 mL de uma solução de cachaça 20% de etanol v/v, ou seja de uma cachaça diluída com água (1:1), contendo 15 μ L de solução de BHA e, finalmente, eluição com 1,5 mL de diclorometano: éter dietílico (9:1).

As recuperações ficaram acima de 93% para todos os compostos, com exceção do álcool isoamílico, guaiaicol e ácido isobutírico.

O extrato obtido pelo método proposto revelou-se representativo sensorialmente, demonstrando ser adequado para auxiliar ao controle de qualidade da cachaça.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRABE. Associação Brasileira de Bebidas. Disponível em: <<http://www.abrabe.org.br>>. Acesso em: 12 de abr. de 2004.
- AZNAR, M.; LOPEZ, R.; CACHO, J.; FERREIRA, V. Prediction of aged red wine aroma properties from aroma chemical composition. Partial least squares regression models. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 51, p. 2700-2707, 2003.
- BOSCOLO, M.; BEZERRA, C. W. B.; CARDOSO, D. R.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Identification and dosage by HRGC of minor alcohols and esters in Brazilian sugar cane spirit. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 11, p. 86-90, 2000.
- BRASIL. Decreto nº 2314 de 4 set. 1997. Dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Regulamenta a Lei nº 8918 de 14 de julho de 1994. **Diário Oficial da União**. Brasília. 5 set. 1997.
- BRASIL. Decreto nº 4062 de 21 de dez. de 2001. Define expressões “cachaça” e “cachaça do Brasil” como indicações geográficas e dá outras providências. **Diário Oficial da União**. Brasília. 3 de jan. 2002.
- CARDOSO, D. R.; BETTIN, S. M.; RECHE, R. V.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D.W. HPLC-DAD analysis of ketones as their 2,4-dinitrophenylhydrazones in Brazilian sugar-cane spirits and run. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 16, p. 563-573, 2003.
- CULLERE, L.; AZNAR, M.; CACHO, J.; FERREIRA, V. Fast fractionation of complex organic extracts by normal-phase chromatography on a solid-phase extraction polymeric sorbent. Optimization of a method to fractionate wine flavor extracts. **Journal of Chromatography A**, v. 1017, p. 17-26, 2003.
- CULLERE, L.; ESCUDERO, A.; CACHO, J.; FERREIRA, V. Gas chromatography-olfactometry and chemical quantitative study of the aroma of six premium quality Spanish aged red wines. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 52, p. 1653-1660, 2004.
- FERREIRA, V.; PEÑA C.; LÓPEZ, R.; CRESPO, C.; CACHO, J. Concentration of small volumes of apolar solutions containing trace volatile compounds. **Journal Chromatography A**, v. 824, p. 195-203, 1998.
- FERREIRA, V.; ORTÍN, N.; ESCUDERO, A.; LÓPEZ, R.; CACHO, J. Chemical Characterization of the aroma of Grenache rose wines: aroma extract dilution analysis, quantitative determination, and sensory reconstitution studies. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 50, p. 4048-4054, 2002.
- FERREIRA, V.; JARAUTA, I.; LOPEZ, R.; CACHO, J. Quantitative determination of sotolon, maltol and free furaneol in wine by solid-phase extraction and gas chromatography-ion-trap mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1010, p. 95-103, 2003.
- GARRUTI, D. S. **Composição de Voláteis e Qualidade de Aroma do Vinho de Caju**. 2001. 218 p. Tese (Doutor em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. Campinas. 2001.
- LÓPEZ, R.; AZNAR, M.; CACHO, J.; FERREIRA, V. Determination of minor and trace volatile compounds in wine by solid phase extraction and gas chromatography with mass spectrometric detection, **Journal of Chromatography A**, v. 966, p. 167-177, 2002.
- LÓPEZ, R.; ORTIN, N.; PEREZ-TRUJILLO, J. P.; CACHO, J.; FERREIRA, V. Impact odorants of different young white wines from the Canary Islands. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 3419-3425, 2003.
- NAGATO, L. A. F.; DURAN, M. C.; CARUSO, M. S. F.; BARSOTTI, R. C. F.; BADOLATO, E. S. G. Monitoramento da autenticidade de amostras de bebidas alcoólicas enviadas ao Instituto Adolfo Lutz em São Paulo. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 21, p. 39-42, 2001.
- NASCIMENTO, R. F.; CARDOSO, D. R.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Determination of acids in Brazilian sugar cane spirits and other alcoholic beverages by HRGC-SPE. **Chromatographia**, v. 48, p. 751-757, 1998.
- NASCIMENTO, R. F.; MARQUES, J. C.; DE KEUKELEIRE, D.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Qualitative and quantitative high-performance liquid chromatographic analysis of aldehydes in Brazilian sugar cane spirits and other distilled alcoholic beverages. **Journal of Chromatography A**, v. 782, p. 13-23, 1997.

- ORTEGA, C.; LÓPEZ, R.; CACHO, C.; FERREIRA, V. Fast analysis of important wine volatile compounds: development and validation of a new method based on gas chromatographic–flame ionization detection analysis of dichloromethane microextracts. **Journal of Chromatography A**, v. 923, p. 205-214, 2001.
- PINO, J. A. Estudio de los constituyentes volátiles del aguardiente de caña. **Alimentaria**, v. 99, p. 119-122, 1999.
- WADA, K.; SHIBAMOTO, T. Isolation and identification of volatile compounds from a wine using solid phase extraction and gas chromatography/mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, p. 4362-4366, 1997.

Capítulo 3

IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS ODORÍFEROS DA CACHAÇA POR CG-EM E CG-OLFATOMETRIA (AEDA)

Janzantti N. S.¹, Ferreira V.², López R.², Franco M. R. B.¹, Cacho, J.²

¹Laboratório de Análise de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP. C.P. 2161. Campinas, São Paulo, Brasil. CEP 13097-900. E-mail: nataliajanzantti@hotmail.com

²Laboratorio del Análisis del Aroma y Enología, Facultad de Ciencias. Universidad de Zaragoza-Unizar. Plaza San Francisco s/n. Zaragoza, España 50009

RESUMO

A cachaça é a bebida destilada mais antiga e mais consumida no Brasil, obtida da destilação do mosto fermentado do caldo da cana de açúcar. Os compostos voláteis são os responsáveis pelo sabor típico das bebidas alcoólicas e estão presentes em baixas concentrações. Este trabalho teve como objetivos determinar os compostos com importância odorífera em uma amostra de cachaça comercial (selecionada por provadores familiarizados com a bebida devido à sua intensidade e qualidade do sabor) pela técnica CG-olfatometria (AEDA) e por CG-EM, além da determinação quantitativa dos compostos voláteis. Foram identificados e quantificados 65 compostos voláteis na cachaça, dos quais 48 foram relatados pela primeira vez nesta bebida. Os compostos majoritários foram o álcool isoamílico, isobutanol, acetaldeído, acetato de etila, lactato de etila, ácido dodecanóico, β -feniletanol, ácido isovalérico, ácido propanóico e ácido octanóico. A principal classe do ponto de vista quantitativo foi a dos álcoois, seguida pela dos ésteres, dos ácidos e dos aldeídos. Foram detectados por 4 provadores treinados, através do uso da técnica de CG-olfatometria (AEDA), 59 compostos odoríferos na amostra de cachaça. Dentre os compostos detectados como potenciais contribuintes do aroma da cachaça, 45 foram identificados. O álcool isoamílico, percebido em todas as diluições, pode ser considerado o odorante mais relevante, seguido pela vanilina, detectada no extrato mais diluído por três provadores.

ABSTRACT

Cachaça, the oldest and most consumed spirit drink in Brazil, is obtained by distilling fermented sugar cane juice. Volatile compounds are responsible for the characteristic flavor of the spirit and they are present at low concentrations. The main aim of the present work was to determine the sensory importance of different odoriferous volatile compounds in one commercial cachaça sample (selected according to the intensity and quality of its flavor as assessed by consumers familiarized with this alcoholic beverage) by GC-olfactometry (AEDA) and GC-MS, aside from the quantitative determination of the volatile compounds. Sixty-five volatile compounds were identified and quantified in the cachaça sample, of which forty-eight compounds are being reported for the first time in this spirit. The major compounds were isoamyl alcohol, isobutanol, acetaldehyde, ethyl acetate, ethyl lactate, dodecanoic acid, β -phenylethanol, isovaleric acid, propanoic acid and octanoic acid. The

main quantitative classes were alcohols, followed by esters, acids and aldehydes. Fifty-nine odour compounds were found in the cachaça sample by four trained judges in the GC-olfactometry (AEDA) study. Among the compounds considered as potential contributors to the cachaça aroma, 45 were identified by GC-MS. The most important odorant was isoamyl alcohol because it was detected in all dilutions by all four selected and trained judges. The second odorant, vanilla, was detected by three judges in the last dilution.

1. INTRODUÇÃO

A aguardente de cana, também chamada de cachaça ou caninha, é a bebida mais antiga e consumida no Brasil, sendo sua produção estimada em 1,3 bilhão de litros por ano (ABRABE, 2004).

De acordo com a Legislação Brasileira, cachaça é a denominação típica e exclusiva da aguardente de cana produzida no Brasil, obtida pela destilação do mosto fermentado do caldo da cana de açúcar, com teor alcoólico de 38 a 48% em volume, a 20 °C (BRASIL, 1997; BRASIL, 2002). Além do etanol, estão presentes em menores quantidades os compostos secundários, que são os responsáveis pelo sabor característico da cachaça.

O conhecimento atual sobre os compostos voláteis das principais bebidas destiladas é extenso, porém, em relação à cachaça, o número de artigos científicos é ainda pequeno e restrito, geralmente dedicado exclusivamente à análise instrumental ou à análise sensorial.

Com relação à análise instrumental, os poucos compostos identificados e quantificados na cachaça referem-se aos voláteis majoritários e descritos na legislação, por injeção direta da amostra (NAGATO *et al.*, 2001) ou por análise das diferentes classes químicas como álcoois (BOSCOLO *et al.*, 2000), ésteres (BOSCOLO *et al.*, 2000), ácidos (NASCIMENTO *et al.*, 1998), aldeídos (NASCIMENTO *et al.*, 1997) e cetonas (CARDOSO *et al.*, 2003), não estabelecendo sua relação com dados sensoriais.

Os estudos de análise sensorial já realizados em cachaça compreendem a análise de aceitação (CARDELLO & FARIA, 2000), a análise descritiva quantitativa (FURTADO, 1995; CARDELLO & FARIA, 1998; MARCELLINI, 2000) e a análise tempo-intensidade (CARDELLO & FARIA, 1999) de amostras envelhecidas e não envelhecidas.

A tentativa de relacionar dados sensoriais com a composição dos compostos majoritários revelou uma baixa correlação, atribuída ao pequeno número de compostos quantificados frente a um grande número de compostos voláteis desconhecidos e presentes

em menores teores, porém importantes para a caracterização das cachaças (FURTADO, 1995; BOZA & HORII, 1998).

Portanto, até o momento, nenhum trabalho relacionou a composição química com a contribuição sensorial dos diferentes compostos ao aroma da cachaça, identificando os compostos voláteis de importância odorífera para o aroma desta bebida.

A técnica de CG-olfatometria permite determinar a importância odorífera de cada composto volátil de um produto, estabelecendo o papel que este exerce no aroma da bebida. Nessa técnica os compostos voláteis são avaliados por indivíduos, após separação na coluna cromatográfica.

Entre as técnicas de CG-olfatometria, que são capazes de localizar regiões no cromatograma que contém voláteis importantes para o aroma e sabor do produto, destacam-se as técnicas denominadas Charm, AEDA (*Aroma Extract Dilution Analysis*), Osme, finger-span e frequência. Charm (ACREE *et al.*, 1984) e AEDA (ULRICH & GROSCH, 1987; BENN & PEPPARD, 1996; GUTH, 1997; FERREIRA *et al.*, 2002a; FERREIRA *et al.*, 2002b) são fundamentadas em medidas de *threshold*, para estimar a potência odorífera dos compostos voláteis. As técnicas de Osme (MCDANIEL *et al.*, 1990; DA SILVA *et al.*, 1994; GARRUTI *et al.*, 2003) e finger-span (ETIÉVANT *et al.*, 1999) consistem em uma avaliação sensorial tempo-intensidade, onde o indivíduo descreve a qualidade, o tempo e a intensidade de cada aroma percebido. A técnica de frequência, baseada também em *threshold*, determina o número de pessoas que detectaram um determinado composto, sendo que estes dados podem ser processados como *Probits* e tratados estatisticamente (POLLIEN *et al.*, 1997).

Este trabalho teve como objetivo determinar qualitativa e quantitativamente os compostos com importância odorífera em uma cachaça de alta qualidade sensorial, pela técnica CG-olfatometria (AEDA) e por CG-EM.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material

Uma amostra de cachaça comercial foi selecionada devido a sua alta qualidade, assegurada por 30 provadores, familiarizados com a bebida, após teste de aceitação (JANZANTTI *et al.*, 2001).

2.2. Métodos

2.2.1. Reagentes e padrões

Todos os reagentes e padrões usados foram de alta pureza. O polímero Lichrolut EN foi adquirido da Merck (Darmstadt, Alemanha); diclorometano e éter dietílico da Fischer Scientific (Loughborough, Reino Unido); etanol, metanol, ácido tartárico, hidróxido de sódio, sulfato de amônia e sulfato sódico anidro da Panreac (Barcelona, Espanha). Os padrões foram comprados da Aldrich (Gillingham, Reino Unido), Sigma (St. Louis, EUA), Fluka (Buchs, Suíça), PolyScience (Niles, EUA), Lancaster (Strasbourg, França) e Firmenich (Geneva, Suíça) com pureza sempre superior a 97%. A água utilizada foi purificada através do sistema MiliQ (Millipore, EUA).

2.2.2. Extração dos Compostos Voláteis da Cachaça para Análise por CG-Olfatometria (AEDA)

A extração dos compostos voláteis da cachaça foi realizada por extração em fase sólida (SPE). Um cartucho contendo 0,200 g do polímero Lichrolut EN, lavado com 4 mL de diclorometano e seco, foi condicionado com 4 mL de metanol e 4 mL de solução hidroalcoólica a 12% de etanol v/v. Vinte mL de uma solução de cachaça, obtida pela diluição da amostra 1:1 com água e contendo 15 µL de solução de BHA, foi passada pelo polímero que, após lavagem com 4 mL de água e seco, foi eluído com 1,5 mL de diclorometano:dimetil éter (9:1 v/v). A concentração da solução de BHA foi de 10 mg/g de etanol.

2.2.3. CG-Olfatometria (AEDA)

O extrato original obtido por SPE, mais três diluições deste com diclorometano:dimetil éter (9:1) nas proporções 1:5, 1:25 e 1:125 foram avaliados sensorialmente por todos os provadores. Para a análise olfatométrica CG-AEDA, utilizou-se um cromatógrafo gasoso Fisons série 8000 equipado com detector de ionização de chama e porta de sniffing ODO-1 (SGE) umidificado. A coluna para a separação dos compostos voláteis, de 30 m de comprimento, 0,32 mm de diâmetro interno e 0,5 µm de espessura de filme (fase estacionária DB-Wax, J&W, Folsom, EUA), foi precedida de uma pré-coluna de 2 m de comprimento por 0,32 mm de diâmetro interno, com fase desativada. O gás de arraste utilizado foi hidrogênio, com fluxo de 3 mL/min. O volume da injeção foi 2 µL e o período *splitless* foi 60 s. A temperatura inicial da coluna foi 40 °C, mantida por 5

min e depois programada com uma rampa de 4 °C/min até 200 °C e permanência de 15 min nesta temperatura. As temperaturas do injetor e detector foram de 250 °C. A resposta odorífera na saída da coluna cromatográfica foi realizada por 4 provadores selecionados e treinados.

2.2.4. Análise Quantitativa dos Compostos Voláteis

2.2.4.1. Compostos majoritários (CG-DIC)

A análise dos compostos majoritários foi realizada segundo metodologia proposta por ORTEGA *et al.* (2001). Em um balão de 10 mL foi transferida uma alíquota de 3 mL de amostra de cachaça e o volume completado com solução sintética (solução aquosa com 3 g/L de ácido tartárico e pH ajustado a 4,5 com hidróxido de sódio). Em um tubo de fundo cônico contendo 4,5 g de sulfato de amônia, foi transferida uma alíquota de 3 mL da solução acima, juntamente com 7 mL de água, 15 µL de solução de padrões internos e 0,2 mL de diclorometano. Fechou-se o tubo, que foi agitado manualmente até a dissolução completa do sal, com posterior agitação mecânica por 1 hora e finalmente centrifugação por 10 minutos, a 2500 rpm. O extrato foi transferido para um frasco, que foi vedado e posteriormente analisado por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (CG-DIC). O cromatógrafo gasoso utilizado foi um Hewlett Packard, 5890 Series II, com injetor automático Hewlett Packard 7673. A coluna para a separação cromatográfica dos compostos voláteis, de 60 m de comprimento e 0,32 mm de diâmetro interno, revestida com fase estacionária Carbowax 20M (J&W, Folson, USA), foi precedida de uma pré-coluna de 2 m de comprimento por 0,53 mm de diâmetro interno. O volume de injeção foi de 3 µL, em modo *split* (1:10). O fluxo do gás de arraste, hidrogênio, foi de 3 mL/min. A programação da temperatura da coluna foi inicial de 40 °C por 5 min, rampa de temperatura de 3 °C/min até 200 °C e 35 min de permanência nesta temperatura. As temperaturas do injetor e do detector foram de 250 °C. Os dados quantitativos foram obtidos por interpolação da área relativa nos gráficos de calibração, com quantidades conhecidas de padrão. Os compostos 2-butanol, 4-metil-2-pentanol, 4-hidroxi-4-metil-2-pentanona e 2-octanol foram usados como padrões internos a 140 µg/mL em etanol.

2.2.4.2. Compostos minoritários (CG-EM)

O extrato foi obtido por extração em fase sólida através de metodologia proposta por LÓPEZ *et al.* (2002) e modificada por JANZANTTI *et al.* (2004). Um cartucho de 3 mL contendo 0,2 g de polímero Lichrolut EN foi lavado com 4 mL de diclorometano, seco e condicionado com 4 mL de metanol e 4 mL de solução hidroalcoólica a 12% v/v de etanol. Vinte mL de uma solução de cachaça/água (1:1), contendo 15 µL de solução de BHA, foram passados pelo cartucho. O polímero foi lavado com 4 mL de água, seco e a eluição foi feita com 1,5 mL de diclorometano:dimetil éter (9:1 v/v). O extrato obtido foi analisado por cromatografia gasosa-espectrometria de massas (CG-EM). Foi utilizado um cromatógrafo gasoso Star 3400CX (Varian, USA) com detector de massas, tipo ion trap, modelo Saturn 5.0, por impacto de elétrons e com injetor automático 8200CX (Varian, USA). A coluna de sílica fundida de 60 m de comprimento, 0,32 mm de diâmetro interno e 0,5 µm de espessura de filme, com fase ligada DB-WAX (J&W, Folsom, USA), foi precedida de uma pré-coluna de 2 m de comprimento por 0,32 mm de diâmetro interno. A programação de temperatura da coluna foi de 40 °C durante 5 minutos, rampa de 2 °C/min até 200 °C e permanência de 35 min nesta temperatura. O gás de arraste utilizado foi hélio, a um fluxo de 1 mL/min. A temperatura da linha de transferência foi de 220 °C. A temperatura inicial do injetor A1093 SPI (*septum equipped programmable injector*) foi mantida inicialmente a 30 °C durante 6 segundos e depois programada até 200 °C com rampa de 190 °C/min. O volume de injeção foi de 1 µL. A quantificação dos compostos voláteis foi feita pela técnica de reconstituição dos íons (fragmentos) mais característicos (**Anexo 1**). Os compostos 4-metil-2-pentanol, 4-hidroxi-4-metil-2-pentanona e 2-octanol foram utilizados como padrões internos (300 µg/g de diclorometano). A concentração da solução de BHA foi de 10 mg/g de etanol.

2.2.5. Confirmação da Identidade do Composto

Os compostos voláteis foram identificados por comparação dos espectros de massas, índices de retenção obtidos experimentalmente com os da literatura (JENNINGS & SHIBAMOTO, 1980; FERREIRA *et al.*, 2001; ACREE & ARN, 2004) e de padrões puros, além da comparação do aroma descrito experimentalmente com os dos padrões puros, cromatografados nas mesmas condições analíticas.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a identificação e quantificação dos compostos voláteis da cachaça foram utilizados dois métodos, dada a complexidade da matriz e o amplo intervalo de concentração dos compostos presentes. Desta maneira, os compostos voláteis majoritários foram extraídos com solvente e analisados por CG-DIC, enquanto os compostos minoritários foram submetidos à extração com fase sólida e analisados por CG-EM, através do monitoramento de íons selecionados, que possibilita maior sensibilidade à análise. Os cromatogramas dos compostos voláteis majoritários extraídos com solvente e analisados por CG-DIC e dos compostos minoritários extraídos por fase sólida e análise por CG-EM encontram-se nas **Figuras 1 e 2**, respectivamente.

Foram identificados e quantificados 65 compostos voláteis presentes na amostra de cachaça, compreendendo 21 ésteres, 10 ácidos, 9 álcoois, 9 fenóis, 6 terpenos, 4 aldeídos, 4 cetonas e 2 lactonas (**Tabela 1**).

Entre os compostos identificados, 48 foram relatados pela primeira vez como componentes da cachaça. Entre eles, os ésteres propionato de isopropila, isobutirato de etila, acetato de isobutila, butirato de etila, isovalerato de etila, 2-metil butirato de etila, acetato de butila, acetato de isoamila, hexanoato de etila, lactato de etila, 3-hidroxi-butirato de etila, octanoato de etila, furanoato de etila, decanoato de etila, acetato de feniletila, dihidrocinamato de etila, cinamato de etila, succinato de dietila e vanilato de etila; os álcoois hexanol, cis-3-hexenol, álcool benzílico, furfuril álcool, metionol; os aldeídos 5-metilfurfural e vanilina; as cetonas acetoína, α -ionona, β -damascenona e β -ionona; o ácido 2-metilbutírico, os terpenos linalol, α -terpineol, β -citronelol, eugenol, isoeugenol e farnesol; os fenóis guaiacol, o-cresol, 4-etilguaiacol, m-cresol, 4-propilguaiacol, 4-etilfenol, 2,6-dimetoxifenol, 4-vinilfenol, 4-vinilguaiacol e as lactonas γ -nonalactona e γ -decalactona.

Os compostos quantitativamente majoritários foram álcool isoamílico, isobutanol, acetaldeído, acetato de etila, lactato de etila, ácido dodecanóico, β -feniletanol, ácido isovalérico, ácido propanóico e ácido octanóico.

A classe dos álcoois foi a mais abundante quantitativamente (172.017 $\mu\text{g/L}$) seguida das classes dos ésteres (31.105 $\mu\text{g/L}$), dos ácidos (16.453 $\mu\text{g/L}$), dos aldeídos (12.573 $\mu\text{g/L}$), das cetonas (1.623 $\mu\text{g/L}$), dos terpenos (447 $\mu\text{g/L}$), dos fenóis (333 $\mu\text{g/L}$) e das lactonas (16,7 $\mu\text{g/L}$).

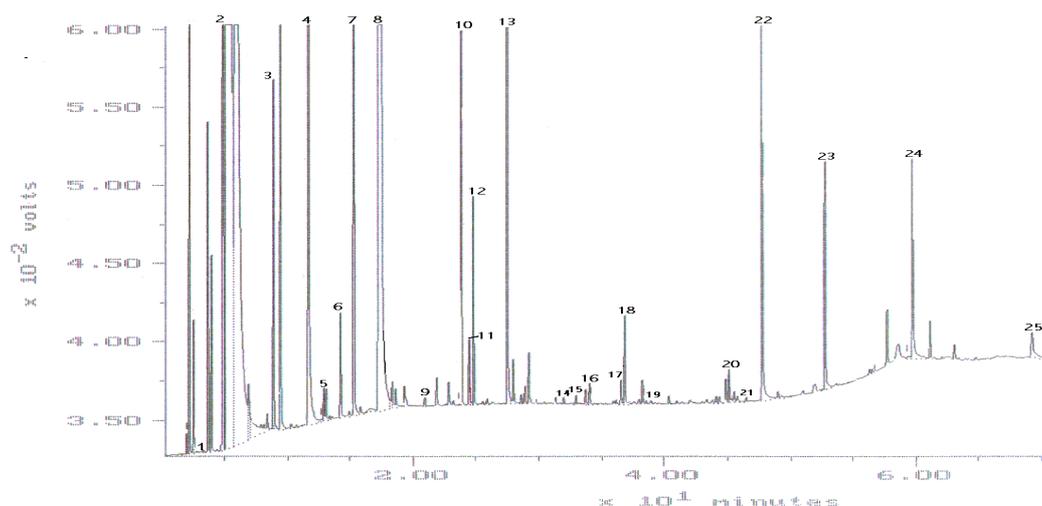


Figura 1: Cromatograma dos compostos voláteis da cachaca obtido por extração com solvente e analisado por CG-DIC.

Compostos: 1: acetaldeído; 2: acetato de etila, 3: 2-butanol (padrão interno); 4: isobutanol; 5: acetato de isoamilo; 6: butanol; 7: 4-metil-2-pentanol (padrão interno); 8: álcool isoamílico; 9: acetoína; 10: lactato de etila; 11: hexanol; 12: 4-hidroxi-2-metil-2-pentanona (padrão interno); 13: 2-octanol (padrão interno); 14: 3-hidroxi-butarato de etila; 15: ácido propanóico; 16: ácido isobutírico; 17: ácido butírico; 18: decanoato de etila; 19: succinato de dietila; 20: ácido hexanóico; 21: álcool benzílico; 22: β-feniletanol; 23: ácido octanóico; 24: ácido decanóico; 25: ácido dodecanóico.

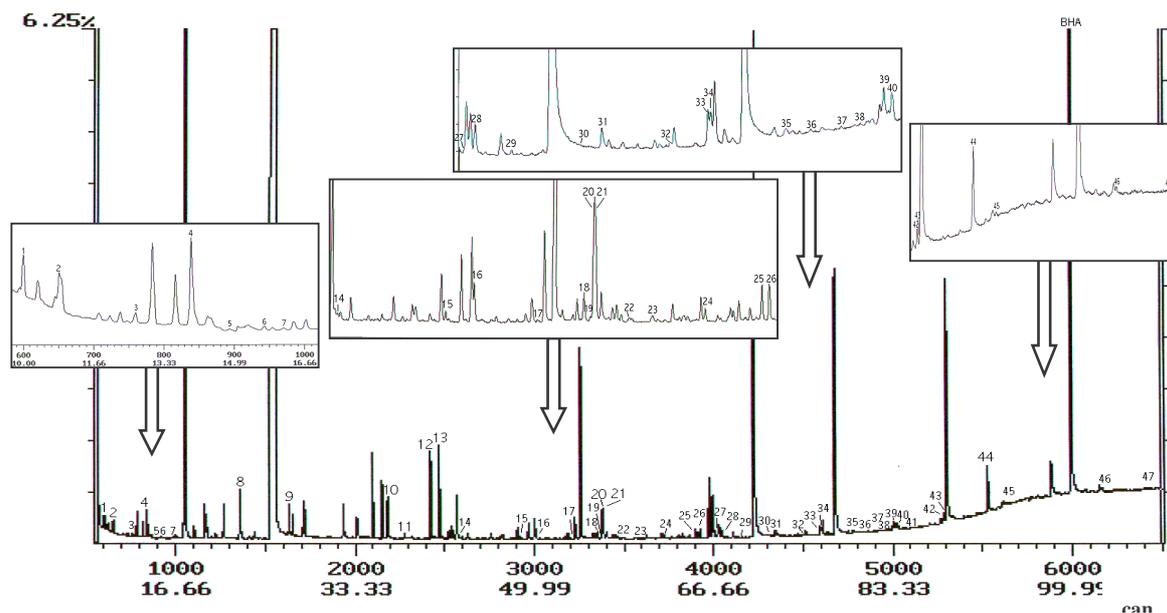


Figura 2: Cromatograma dos compostos voláteis da cachaca obtido por extração em fase sólida e análise por CG-EM.

Compostos: 1: propionato de isopropila; 2: isobutirato de etila; 3: acetato de isobutila; 4: butirato de etila; 5: 2-metil butirato de etila; 6: isovalerato de etila; 7: acetato de butila; 8: 4-metil-2-pentanol (padrão interno); 9: hexanoato de etila; 10: 4-hidroxi-4-metil-2-pentanona (padrão interno); 11: cis-3-hexenol; 12: 2-octanol (padrão interno); 13: octanoato de etila; 14: furfural; 15: linalol; 16: 5-metilfurfural; 17: furanoato de etila; 18: furfural álcool; 19: benzoato de etila; 20: ácido isovalérico; 21: ácido 2-metil butírico; 22: α-terpineol; 23: metionol; 24: β-citronelol; 25: acetato de feniletila; 26: β-damascenona; 27: α-ionona; 28: guaiacol; 29: dihidrocinamato de etila; 30: β-ionona; 31: ácido heptanóico; 32: o-cresol; 33: 4-etilguaicol; 34: γ-nonolactona; 35: m-cresol; 36: 4-propilguaicol; 37: cinamato de etila; 38: γ-decalactona; 39: eugenol; 40: 4-etilfenol; 41: 4-vinilguaicol; 42: isoeugenol; 43: 2,6-dimetoxifenol; 44: farnesol; 45: 4-vinilfenol; 46: vanilina; 47: vanilato de etila.

Tabela 1: Composição de voláteis da amostra de cachaça de alta qualidade.

Índice de Retenção ^a	Composto	Concentração (µg/L)
< 900	acetaldeído ^b	12490
< 900	acetato de etila ^b	17890
964	propanoato isopropila ^c	102
967	isobutirato de etila ^c	352
1016	acetato de isobutila ^c	39
1040	butirato de etila ^c	423
1056	2-metil butirato de etila ^c	7,3
1073	isovalerato de etila ^c	26
1085	acetato de butila ^c	4,8
1095	isobutanol ^b	38025
1127	acetato de isoamila ^b	259
1150	butanol ^b	887
1215	álcool isoamílico ^b	129776
1238	hexanoato de etila ^c	418
1285	acetoína ^b	1597
1352	lactato de etila ^b	8570
1357	hexanol ^b	264
1388	cis-3-hexenol ^c	68
1440	octanoato de etila ^c	1558
1480	furfural ^c	19
1544	ácido propanóico ^b	2572
1546	3-hidroxibutirato de etila ^b	114
1552	linalol ^c	24
1599	ácido isobutírico ^b	1093
1610	5-metilfurfural ^c	< 5,6
1628	furoato de etila ^c	6,4
1638	ácido butírico ^b	1505
1646	decanoato de etila ^b	825
1687	furfuril álcool ^c	94
1698	benzoato de etila ^c	9,2
1703	ácido isovalérico ^c	2626
1704	ácido 2-metilbutírico ^c	625
1687	succinato de dietila ^b	360
1706	α-terpineol ^c	6,0
1722	metionol ^c	90
1773	β-citronelol ^c	28
1832	acetato de feniletila ^c	101
1836	β-damascenona ^c	23
1879	ácido hexanóico ^b	452
1883	α-ionona ^c	0,5
1884	guaiacol ^c	88
1893	álcool benzílico ^b	33

continua...

continuação...

Índice de Retenção ^a	Composto	Concentração (µg/L)
1902	dihidrocinamato de etila ^c	10
1929	β-feniletanol ^b	2780
1955	β-ionona ^c	2,1
2021	o-cresol ^c	14
1967	ácido heptanóico ^c	67
2051	4-etilguaiaicol ^c	101
2058	γ-nonalactona ^c	11
2093	ácido octanóico ^b	1656
2130	m-cresol ^c	16
2131	4-propilguaiaicol ^c	6,1
2157	cinamato de etila ^c	4,4
2182	γ-decalactona ^c	5,6
2189	eugenol ^c	66
2184	4-etilfenol ^c	64
2222	4-vinilguaiaicol ^c	41
2300	isoeugenol ^c	9,1
2305	2,6-dimetoxifenol ^c	2,9
2306	ácido decanóico ^b	1255
2368	farnesol ^c	313
2513	ácido dodecanóico ^b	4601
2603	vanilina ^c	63
> 2600	vanilato de etila ^c	25

^a: índice de retenção obtido em coluna de fase Carbowax; ^b: composto quantificado por CG-DIC; ^c: composto quantificado por CG-EM.

Foram detectados 59 compostos odoríferos na amostra de cachaça por CG-olfatometria (AEDA), dos quais 45 foram identificados (**Figura 3**). Para cada composto foi calculado o fator de diluição aromático (FD), que é o valor da máxima diluição em que o aroma é percebido pela última vez. Através deste valor, se pode determinar quais os compostos odoríferos mais importantes presentes nesta amostra de cachaça de alta qualidade, percebido pelos consumidores. O índice de retenção, a descrição do aroma e o fator de diluição aromático para os compostos odoríferos da cachaça estão apresentados na **Tabela 2**.

Comparando o cromatograma com o aromagrama (**Figura 3**), observa-se que o álcool isoamílico foi o composto odorífero mais potente e também o de maior área e concentração. Os demais compostos odoríferos importantes, apesar de presentes em pequenas quantidades, deviam estar acima de seu *threshold* mesmo após algumas diluições, sendo portanto, percebidos pelos provadores. O inverso ocorreu para alguns compostos voláteis quantitativamente majoritários, como isobutanol, β-feniletanol, ácido octanóico e

ácido dodecanóico, que foram percebidos somente no extrato, e presentes abaixo de seus *thresholds* após a primeira diluição.

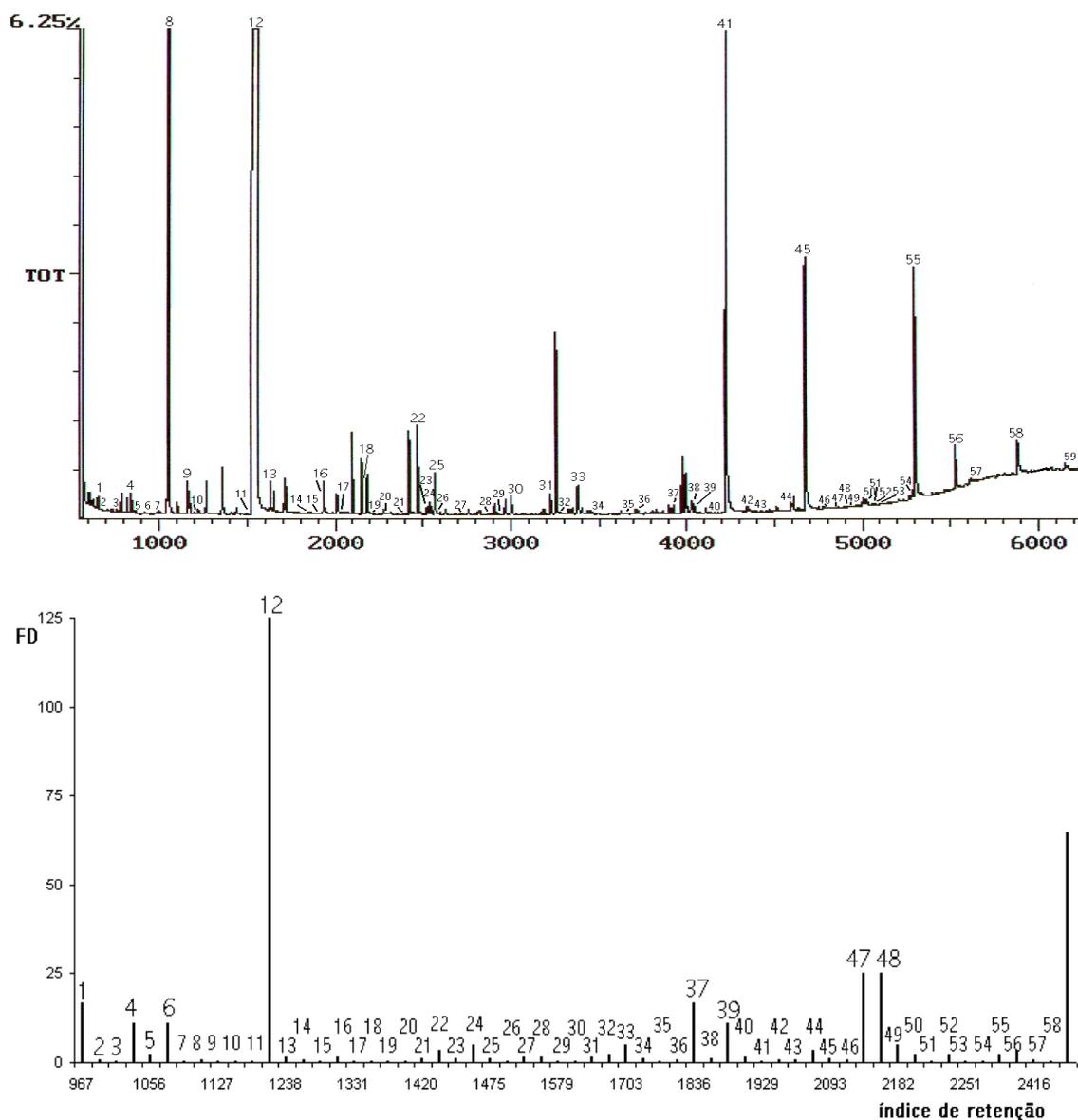
Entre os compostos identificados como potenciais contribuintes ao aroma da cachaça aparecem fundamentalmente os ésteres, ácidos graxos e álcoois, como se espera de um produto que tem sua origem na fermentação alcoólica, mas também foram identificados alguns aldeídos, fenóis, terpenos, cetonas e lactona.

O álcool isoamílico foi o odorante mais relevante, seguido da vanilina. O álcool isoamílico foi detectado em todas as diluições e por todos os provadores e a vanilina, no extrato mais diluído por três provadores. A importância odorífera do álcool isoamílico pode ser atribuída à sua alta concentração em cachaça, enquanto a da vanilina deve-se ao seu valor de *threshold*, extremamente baixo (0,68 a 1,1 $\eta\text{g/Kg}$ em ar; 25 $\mu\text{g/kg}$ em água) permitindo que mesmo à baixa concentração seja ainda assim o segundo composto mais importante para o aroma e sabor do produto estudado (KEITH & POWERS, 1968; SEMMELROCH *et al.*, 1995).

Os compostos isobutirato de etila, isovalerato de etila, β -damascenona e cinamato de etila foram detectados por um provador até a terceira diluição. Butirato de etila, guaiacol, ácido decanóico, 4-propilguaiacol e isoeugenol mostraram um valor intermediário de intensidade, sendo percebidos até a segunda diluição.

Os compostos metional, γ -decalactona, ácido isovalérico, 4-etilguaiacol, 4-etilfenol, octanoato de etila, farnesol e 2-metilbutirato de etila foram detectados por três ou mais provadores na primeira diluição. Os outros compostos, sotolon, ácido butírico, 3-hidroxibutirato de etila, ácido hexanóico, dihidrocinamato de etila, hexanoato de etila, 1-octen-3-ona, β -feniletanol, ácido heptanóico, acetoína, furfural, 4-vinilfenol e os compostos não identificados (com índices de retenção de 1475, 1514, 1673, 1741 e 1998) foram detectados por um ou dois provadores na primeira diluição.

Os compostos α -terpineol, ácido octanóico, furfuriltiol e um não identificado com índice de retenção de 1420 foram detectados pelos quatro provadores somente no extrato. Os demais compostos odoríferos foram percebidos também somente no extrato por três ou menos provadores.



b)

Figura 3: Compostos voláteis odoríferos de cachaça detectados pela técnica de CG-olfatometria (AEDA), a) cromatograma e b) aromagrama.

Compostos: 1: isobutirato de etila; 2: diacetila; 3: acetato de isobutila; 4: butirato de etila; 5: 2-metil butirato de etila; 6: isovalerato de etila; 7: composto não identificado (índice de retenção 1081); 8: isobutanol; 9: acetato de isoamilo; 10: valerato de etila; 11: t-2-hexenal; 12: álcool isoamílico; 13: hexanoato de etila; 14: acetoína; 15: composto não identificado (índice de retenção 1300); 16: 1-octen-3-ona; 17: composto não identificado (índice de retenção 1331); 18: composto não identificado (índice de retenção 1367); 19: composto não identificado (índice de retenção 1377); 20: composto não identificado (índice de retenção 1389); 21: composto não identificado (índice de retenção 1420); 22: octanoato de etila; 23: furfural; 24: metional; 25: composto não identificado (índice de retenção 1475); 26: furfural; 27: composto não identificado (índice de retenção 1514); 28: 3-hidroxibutirato de etila; 29: composto não identificado (índice de retenção 1579); 30: ácido isobutírico; 31: ácido butírico; 32: composto não identificado (índice de retenção 1673); 33: ácido isovalérico; 34: α -terpineol; 35: composto não identificado (índice de retenção 1741); 36: β -citronelol; 37: β -damascenona; 38: ácido hexanóico; 39: guaiacol; 40: dihidrocinnamato de etila; 41: β -feniletanol; 42: ácido heptanóico; 43: composto não identificado (índice de retenção 1998); 44: 4-etilguaiaicol; 45: ácido octanóico; 46: m-cresol; 47: 4-propilguaiaicol; 48: cinamato de etila; 49: γ -decalactona; 50: 4-etilfenol; 51: 4-vinilguaiaicol; 52: sotolon; 53: composto não identificado (índice de retenção 2251); 54: isoeugenol; 55: ácido decanóico; 56: farnesol; 57: 4-vinilfenol; 58: ácido dodecanóico; 59: vanilina.

Tabela 2: Compostos voláteis odoríferos da cachaça detectados pela técnica olfatométrica CG-AEDA.

pico ¹	I. R. ^a	FD ^b	descrição odorífera	composto
1	967	16,72	frutal	isobutirato de etila ^c
2	983	0,67	manteiga, nata	diacetila ^d
3	1016	0,45	frutal, doce	acetato de isobutila ^c
4	1040	11,18	frutal, éster, muito doce	butirato de etila ^c
5	1056	2,24	doce, éster, frutal	2-metil butirato de etila ^c
6	1073	11,18	anisado, frutal	isovalerato de etila ^c
7	1081	0,30	odor de mercaptano	ni
8	1095	0,67	amargo, cerveja, fusel	isobutanol ^c
9	1127	0,30	banana	acetato de isoamila ^c
10	1145	0,45	frutal, éster	valerato de etila ^c
11	1209	0,45	verde, fraco	t-2-hexenal ^c
12	1215	125	amargo, fusel	álcool isoamílico ^c
13	1238	1,50	frutal, doce	hexanoato de etila ^c
14	1285	0,67	sapataria, úmido	acetoína ^c
15	1300	0,30	doce	ni
16	1308	1,50	champignon	1-octen-3-ona ^d
17	1331	0,45	álcool coco, doce	ni
18	1367	0,45	semelhante a β -damascenona	ni
19	1377	0,45	raro, alcoólico, doce	ni
20	1389	0,45	cloro, gas	ni
21	1420	1,00	pão tostado, batata, verdura cozida	ni
22	1440	3,34	frutal verde, limão	octanoato de etila ^c
23	1449	1,00	pirazina, caramelo, tostado	furfuriltiol ^d
24	1461	5,00	caldo de batata, vagem	metional ^d
25	1475	1,00	plástico, sapataria	ni
26	1480	0,45	fruta doce, flores	furfural ^c
27	1514	1,50	cloro, seco	ni
28	1546	1,50	frutal	3-hidroxibutirato de etila ^c
29	1579	0,30	muito doce, éster	ni
30	1599	0,30	ácido graxo	ácido isobutírico ^c
31	1638	1,50	queijo	ácido butírico ^c
32	1673	2,24	cloro, cravo, cozido	ni
33	1703	5,00	ácido graxo, queijo	ácido isovalérico ^c
34	1706	1,00	limão, azeite	α-terpineol ^c
35	1741	0,67	cravo, doce	ni
36	1773	0,30	balsâmico, eucalipto	β-citronelol ^c
37	1836	16,72	ameixa seca, fruta seca	β-damascenona ^c
38	1879	1,00	ácido graxo	ácido hexanóico ^c
39	1884	11,18	medicinal, fenol	guaiacol ^c
40	1902	1,50	flores brancas, cinâmico	dihidrocinaurato de etila ^c
41	1929	0,45	rosas	β-feniletanol ^c

continua...

continuação...

pico ¹	I. R. ^a	FD ^b	descrição odorífera	composto
42	1967	0,67	queijo	ácido heptanóico ^c
43	1998	0,67	lactona	ni
44	2051	3,34	fenólico, fruta seca	4-etilguaiaicol ^c
45	2093	1,00	queijo, estercó	ácido octanóico ^c
46	2130	0,67	floral	m-cresol ^c
47	2131	25	medicinal	4-propilguaiaicol ^c
48	2157	25	flores brancas, cinamico	cinamato de etila ^c
49	2182	5,00	doce, lactona	γ-decalactona ^c
50	2184	2,24	fenol	4-etilfenol ^c
51	2222	0,45	medicinal, doce	4-vinilguaiaicol ^c
52	2239	2,24	curry	sotolon ^d
53	2251	0,45	cachorro, galinha	ni
54	2300	0,30	rosa	isoeugenol ^c
55	2306	2,24	ácido graxo, queijo	ácido decanóico ^c
56	2368	3,34	odor medicinal	farnesol ^c
57	2416	0,67	cáscara de amêndoa	4-vinilfenol ^c
58	2513	0,30	ácido graxo	ácido dodecanóico ^c
59	2603	83,59	vanilina, muito doce	vanilina ^c

¹ numeração correspondente a Figura 3; ^a índice de retenção obtido para composto em coluna de fase Carbowax; ^b fator de diluição aromático obtido por 4 provadores; ^c identificação por CG-EM, índice de retenção e comparação com padrões puros; ^d identificação por índice de retenção e comparação com padrões puros; ni = composto não identificado.

Os demais compostos odoríferos não identificados obtiveram FD menor que 2,24, ou seja, foram percebidos somente no extrato ou na primeira diluição e nesse caso por no máximo 2 provadores.

Vale ressaltar que, dentre os compostos voláteis relatados previamente na cachaça, somente o álcool isoamílico, o ácido isovalérico e o ácido octanóico apresentaram FD acima de 2,24. Os demais compostos já identificados (isobutanol, β-feniletanol, furfural e os ácidos isobutírico, butírico, hexanóico, heptanóico, octanóico e dodecanóico) tiveram pouca importância odorífera, pois ou foram detectados por alguns provadores somente no extrato ou na primeira diluição, por apenas dois provador.

Resumidamente, os compostos considerados potenciais contribuintes para o aroma da cachaça foram: álcool isoamílico, descrito como “amargo, fusel”; vanilina, descrita como “muito doce”; 4-propilguaiaicol, com aroma de “medicinal”; cinamato de etila, com aroma de “flores brancas, cinamico”; isobutirato de etila, com contribuição de “frutal”; β-damascenona, com aroma de “ameixa seca, fruta seca”; butirato de etila, com contribuição de “frutal, éster, muito doce”; isovalerato de etila, descrito como “anisado, frutal” e guaiaicol, com aroma de “medicinal, fenol”.

4. CONCLUSÕES

Foram identificados e quantificados 65 compostos voláteis na amostra de cachaça de alta qualidade, compreendendo 21 ésteres, 10 ácidos, 9 álcoois, 9 fenóis, 6 terpenos, 4 aldeídos, 4 cetonas e 2 lactonas, dos quais 48 compostos foram relatados pela primeira vez como componentes da cachaça.

Os compostos quantitativamente majoritários foram álcool isoamílico, isobutanol, acetaldeído, acetato de etila, lactato de etila, ácido dodecanóico, β -feniletanol, ácido isovalérico, ácido propanóico e ácido octanóico.

A classe dos álcoois foi a quantitativamente mais abundante, seguida das classes dos ésteres, dos ácidos, dos aldeídos, das cetonas, dos terpenos, dos fenóis e das lactonas.

Foram detectados pela técnica de CG-olfatometria (AEDA) 59 compostos odoríferos na cachaça, dos quais 45 foram identificados. O álcool isoamílico foi o composto odorífero mais potente e também o de maior concentração, seguido da vanilina. Os compostos isobutirato de etila, isovalerato de etila, β -damascenona, cinamato de etila, butirato de etila, guaiacol e 4-propilguaiacol mostraram valor intermediário de intensidade e os compostos não identificados somente foram percebidos até a primeira diluição.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRABE. Associação Brasileira de Bebidas. Disponível em: <<http://www.abrabe.org.br>>. Acesso em: 12 de abr. de 2004.
- ACREE, T.; BARNARD, J.; CUNNINGHAM, D. G. A procedure for sensory analysis of gas-chromatographic effluents. **Food Chemistry**, v. 14, p. 273-286, 1984.
- ACREE, T.; ARN, H. Flavornet. Disponível em: <<http://www.flavornet.org/flavornet.html>>. Acesso em 12 de abr. de 2004.
- BENN, S. M.; PEPPARD, T. L. Characterization of tequila flavor by Instrumental and Sensory Analysis. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 44, p. 557-566, 1996.
- BOSCOLO, M.; BEZERRA, C. W. B.; CARDOSO, D. R.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Identification and dosage by HRGC of minor alcohols and esters in Brazilian sugar cane spirit. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 11, p. 86-90, 2000.
- BOZA, Y.; HORII, J. Influência da destilação sobre a composição e a qualidade sensorial da aguardente de cana. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 18, p. 391-396, 1998.
- BRASIL. Decreto nº 2314 de 4 set.1997. Dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Regulamenta a Lei nº 8918 de 14 de julho de 1994. **Diário Oficial**. Brasília. 5 set. 1997.
- BRASIL. Decreto nº 4062 de 21 de dez. de 2001. Define expressões “cachaça” e “cachaça do Brasil” como indicações geográficas e dá outras providências. **Diário Oficial**. Brasília. 3 de jan. 2002.

- CARDELLO, H. M. A. B.; FARIA, J. B. Análise descritiva quantitativa da aguardente de cana durante o envelhecimento em tonéis de carvalho (*Quercus Alba L.*). **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 18, p. 169-175, 1998.
- CARDELLO, H. M. A. B.; FARIA, J. B. Análise tempo-intensidade de características sensoriais de aguardente de cana durante o envelhecimento em tonel de carvalho (*Quercus sp.*). **Bol. SBCTA**, v. 33, p. 27-34, 1999.
- CARDELLO, H. M. A. B.; FARIA, J. B. Análise da aceitação de aguardentes da cana por testes afetivos e mapa de preferência interno. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 20, p. 32-36, 2000.
- CARDOSO, D. R.; BETTIN, S. M.; RECHE, R. V.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D.W. HPLC-DAD analysis of ketones as their 2,4-dinitrophenylhydrazones in Brazilian sugar-cane spirits and run. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 16, p. 563-573, 2003.
- DA SILVA, M. A. A. P.; LUNDHAL, D. S.; MCDANIEL, M. R. The capability and psychophysics of Osme: a new-GC olfactometry technique. In: MAARSE, H.; VAN DER HEIJ, D. G. (Eds). **Trends in Flavour Research**. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1994. p. 191-209.
- ETIÉVANT, P. X.; CALLEMENT, G.; LANGLOIS, D.; ISSANCHOU, S.; COQUIBUS, N. Odor intensity evaluation in gas chromatography-olfactometry by finger span method. **J. Agric. Food Chemistry**, v. 47, p. 1673-1680, 1999.
- FERREIRA, V.; AZNAR, M.; LÓPEZ, R.; CACHO, J. Quantitative gas chromatography-olfactometry carried out at different dilutions of an extract. Key differences in the odor profiles of four high-quality Spanish aged red wines. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 49, p. 4818-4824, 2001.
- FERREIRA, V.; ORTÍN, N.; ESCUDERO, A.; LÓPEZ, R.; CACHO, J. Chemical Characterization of the aroma of Grenache rose wines: aroma extract dilution analysis, quantitative determination, and sensory reconstitution studies. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 50, p. 4048-4054, 2002a.
- FERREIRA, V.; PETKA, J.; AZNAR, M. Aroma extract dilution analysis. precision and optimal experimental design. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 1508-1514, 2002b.
- FURTADO, S. M. B. **Avaliação sensorial descritiva de aguardente de cana (*Saccharum officinarum*, L.). Influência da composição em suas características sensoriais e correlação entre as medidas sensoriais e físico-químicas.** 1995. 99 p. Tese (Doutor em Ciência dos Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. Campinas. 1995.
- GARRUTI, D. S.; FRANCO, M. R. B.; DA SILVA, M. A. A. P.; JANZANTTI, N. S.; ALVES, G. L. Evaluation of volatile flavor compounds from cashew apple (*Anacardium occidentale L.*) juice by the OSME gas chromatography-olfactometry technique. **Journal of Science of Food and Agriculture**, v. 83, p. 1455-1462, 2003.
- GUTH, H. Quantitation and sensory studies of character impact odorants of different white wine varieties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, p. 3027-3032, 1997.
- JANZANTTI, N. S.; CARDELLO, H. M. A. B.; FRANCO, M. R. B. Aceitação de aguardentes comercializadas no estado de São Paulo. In: 4º Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos. 2001. Campinas. **Livro de Resumos**: Campinas: R. Vieira Gráfica & Editora Ltda. 2001. p. 1112.
- JANZANTTI, N. S.; FERREIRA, V.; LÓPEZ, R.; FRANCO, M. R. B.; CACHO, J. Análise dos compostos voláteis da cachaça por extração em fase sólida. 2004 (a ser publicado).
- JENNINGS, W.; SHIBAMOTO, T. **Qualitative analysis of flavor and fragrance volatiles by glass capillary gas chromatography.** New York: Academic Press, 1980.
- KEITH, E. S.; POWERS, J. J. Determination of flavor threshold levels and sub-threshold, additive, and concentration effects. **Journal of Food Science**, v. 33, p. 213-218, 1968.
- LÓPEZ, R.; AZNAR, M.; CACHO, J.; FERREIRA, V. Determination of minor and trace volatile compounds in wine by solid phase extraction and gas chromatography with mass spectrometric detection. **Journal of Chromatography A**, v. 966, p. 167-177, 2002.
- MARCELLINI, P. S. **Análise descritiva quantitativa de aguardente de cana (*Saccharum spp*) comerciais e destilados em alambiques de cobre e aço inoxidável.** 2000. 77 p. Tese (Mestre em Alimentos e Nutrição) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade Estadual de São Paulo. Araraquara. 2000.

- MCDANIEL, M. R.; MIRAND-LOPEZ, R.; WATSON, B. T.; MICHEALS, N. J.; LIBBEY, L. M. Pinot noir aroma: a sensory/gas chromatographic approach. In: CHARALAMBOUS, G. (Ed.). **Flavors and Off-Flavors**. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1990. p. 23-36.
- NAGATO, L. A. F.; DURAN, M. C.; CARUSO, M. S. F.; BARSOTTI, R. C. F.; BADOLATO, E. S. G. Monitoramento da autenticidade de amostras de bebidas alcoólicas enviadas ao Instituto Adolfo Lutz em São Paulo. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 21, p. 39-42, 2001.
- NASCIMENTO, R. F.; MARQUES, J. C.; DE KEUKELEIRE, D.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Qualitative and quantitative high-performance liquid chromatographic analysis of aldehydes in Brazilian sugar cane spirits and other distilled alcoholic beverages. **J. Chromatogr.**, v. 782, p. 13-23, 1997.
- NASCIMENTO, R. F.; CARDOSO, D. R.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Determination of acids in Brazilian sugar cane spirits and other alcoholic beverages by HRGC-SPE. **Chromatographia**, v. 48, p. 751-757, 1998.
- ORTEGA, C.; LÓPEZ, R.; CACHO, C.; FERREIRA, V. Fast analysis of important wine volatile compounds: development and validation of a new method based on gas chromatographic-flame ionization detection analysis of dichloromethane microextracts. **Journal of Chromatography A**, v. 923, p. 205-214, 2001.
- POLLIN, P.; OTT, A.; MONTIGNON, F.; BAUMGARTNER, M.; MUNÓZ-BOX, R.; CHAINTREAU, A. Hyphenated headspace-gas chromatography-sniffing technique: screening of impact odorants and quantitative aromagram comparisons. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 45, p. 2630-2637, 1997.
- SEMMELROCH, P.; LASKAWY, G.; BLANK, I.; GROSCH, W. Determination of potent odorants in roasted coffee by stable isotope dilution assays. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 10, p. 1-7, 1995.
- ULRICH, F.; GROSCH, W. Identification of the most intense volatile flavor compounds formed during autoxidation of linoleic acid. **Z. Lebensm. Unters. Forch.**, v.184, p.277-282, 1987.

Capítulo 4

COMPOSIÇÃO DE VOLÁTEIS DAS PRINCIPAIS CACHAÇAS COMERCIALIZADAS EM CAMPINAS

Janzanti N. S.¹, Ferreira V.², López R.², Franco M. R. B.¹, Cacho, J.²

¹Laboratório de Análise de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP. C.P. 2161. Campinas, São Paulo, Brasil. CEP 13097-900. E-mail: nataliajanzanti@hotmail.com

²Laboratorio del Análisis del Aroma y Enología, Facultad de Ciencias. Universidad de Zaragoza-Unizar. Plaza San Francisco s/n. Zaragoza, España 50009.

RESUMO

A cachaça é a bebida mais consumida no Brasil, com uma produção anual de 1,3 bilhão de litros segundo o PBDAC (Programa Brasileiro de Desenvolvimento da Cachaça). Os compostos voláteis são os responsáveis pelo sabor típico das bebidas alcoólicas e muitos deles estão presentes em baixas concentrações. Este trabalho teve como objetivo determinar a composição de voláteis de diferentes amostras comerciais de cachaça. Os compostos voláteis foram extraídos de uma solução de cachaça/água (1:1) em um cartucho de extração de fase sólida contendo 200 mg de resina Lichrolut EN da Merck e a eluição foi feita com 1,5 mL de diclorometano/dimetil éter (9:1 v/v). Foram identificados, através de índice de retenção, uso de padrões puros e espectrometria de massas, 65 compostos voláteis nas cachaças, dos quais 48 relatados pela primeira vez em cachaça, abrangendo diferentes classes químicas. Os compostos identificados compreenderam 21 ésteres, 10 ácidos, 9 álcoois, 9 fenóis, 6 terpenos, 4 aldeídos, 4 cetonas e 2 lactonas. Não se observou diferença qualitativa entre os compostos voláteis detectados nas cachaças, mas houve uma grande variação na quantidade encontrada de cada composto nas diferentes amostras. A classe dos álcoois foi a mais abundante nas cachaças comerciais, com exceção de duas amostras. Excetuando-se o etanol, o álcool isoamílico foi o composto majoritário presente na maioria das amostras.

ABSTRACT

The cachaça is the oldest and most consumed spirit drink in Brazil, with a production of 1.3 billion liters a year according to PBDAC (Brazilian Program for the Development of the Cachaça). Volatile compounds present at low concentrations are responsible for the characteristic flavor of this spirit. The main aim of the present work was to determine the volatile composition of different commercial samples of cachaça. The volatile compounds of the diluted cachaça/water (1:1) were extracted in a 200 mg solid-phase extraction cartridge filled with Lichrolut EN resins from Merck. Elution was carried out with 1.5 mL of dichloromethane:dimethyl ether (9:1 v/v). The volatile compounds were identified by GC-MS, retention indices and were further confirmed by pure reference compounds. Sixty-five volatile compounds were identified and quantified in cachaça, of which forty-eight compounds are being reported for the first time in the spirit, comprising different chemical classes. Twenty-one esters, 10 acids, 9 alcohols, 9 phenols, 6 terpenes, 4 aldehydes, 4 ketones and 2 lactones were identified. No qualitative differences were observed in the

volatile profiles, but the different samples of cachaça exhibited a great variation in the concentrations of the volatile compounds. Alcohols comprised the most abundant class in the commercial cachaças, except for two samples. Excepting ethanol, isoamyl alcohol was the major compound in the cachaça samples.

1. INTRODUÇÃO

A cachaça é a bebida fermento-destilada mais antiga e mais consumida no Brasil, estando integrada à nossa cultura com seu sabor característico. A produção atual de cachaça, segundo estimativa do Programa Brasileiro de Desenvolvimento da Cachaça (PBDAC), está em torno de 1,3 bilhão de litros por ano, produção esta quase totalmente consumida no mercado interno, já que as exportações representam cerca de 1% da produção (ABRABE, 2004).

Esta bebida é produzida em todas as regiões brasileiras, mas principalmente nos estados de São Paulo, Pernambuco, Ceará, Rio de Janeiro e Minas Gerais. Entre os 60 países que adquirem o produto brasileiro, destacam-se a Alemanha e o Paraguai, que representaram juntos um total de 51% das exportações brasileiras no ano de 2002 (ABRABE, 2004).

A cachaça é a denominação típica e exclusiva da aguardente de cana produzida no Brasil, obtida pela destilação do mosto fermentado do caldo da cana de açúcar (*Saccharum officinarum*, L.) de acordo com a Legislação Brasileira (BRASIL, 1997; BRASIL, 2002). É constituída principalmente de etanol e água, entretanto, são os compostos voláteis presentes em pequenas quantidades tais como álcoois superiores, ésteres, ácidos graxos, aldeídos e outros, os responsáveis pelas características sensoriais da bebida.

Existe uma grande variação na composição das cachaças, que não só reside no teor alcoólico, mas principalmente nos compostos voláteis responsáveis pelo sabor característico do produto. Estas variações podem ser originadas da matéria-prima, na fermentação (dependendo do tipo de levedura(s) utilizada(s), da agitação e da temperatura), do tipo de destilação e no envelhecimento (do tipo de madeira, da temperatura e da umidade) (FARIA *et al.*, 2003).

Alguns dos compostos voláteis da cachaça foram determinados ou por injeção direta da amostra (BOZA & HORII, 1998; NAGATO *et al.*, 2001) ou pela análise das diferentes classes químicas, como aldeídos (NASCIMENTO *et al.*, 1997), álcoois (BOSCOLO *et al.*, 2000), ésteres (BOSCOLO *et al.*, 2000), ácidos (NASCIMENTO *et al.*, 1998) e cetonas (CARDOSO *et al.*, 2003). Estas técnicas apresentam algumas desvantagens, como a

determinação somente dos compostos majoritários e descritos na legislação brasileira, o uso de grande quantidade de solvente, a análise das várias classes em diferentes equipamentos, e baseada em várias técnicas de extração, além de não levar em consideração a representatividade do extrato (THOMAZINI & FRANCO, 2000) e muito menos a importância odorífera de cada composto ao aroma da bebida (BENN & PEPPARD, 1996; FERREIRA *et al.*, 2002; GARRUTI *et al.*, 2003).

O conhecimento da composição de voláteis das cachaças permitirá um melhor controle e fiscalização, dada a real e constante possibilidade de ocorrerem contaminações, adulterações ou falsificações envolvendo esse tipo de produto, ao lado de eventuais riscos que tais ocorrências podem representar para a saúde do consumidor.

No sentido de contribuir para melhor conhecer as características das cachaças, este trabalho teve como objetivo determinar a composição de voláteis de diferentes amostras comerciais dessa bebida.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material

Todas as cachaças encontradas nos principais mercados varejistas e atacadistas de Campinas, São Paulo, no ano de 1998, foram analisadas neste estudo, totalizando 13 amostras. Essas amostras compreendiam cachaças não envelhecidas, de produção industrial e das principais empresas de importância econômica nacional e internacional, além de pequenas empresas.

2.2. Métodos

2.2.1. Reagentes e padrões

Todos os reagentes e padrões usados apresentavam qualidade analítica. Os cartuchos recheados de polímero Lichrolut EN foram comprados da Merck (Darmstadt, Alemanha); diclorometano e éter dietílico foram adquiridos da Fischer (Leicester, Reino Unido); etanol, metanol, ácido tartárico, hidróxido de sódio, sulfato de amônia e sulfato de sódio anidro da Panreac (Barcelona, Espanha). Os padrões foram comprados da Aldrich (Gillingham, Reino Unido), Sigma (St Louis, EUA), Fluka (Buchs, Suíça), PolySciences (Niles, EUA), Lancaster (Strasbourg, França) e International Express Service (Allauch,

França), todos com pureza acima de 97%. A água utilizada foi purificada pelo sistema MiliQ (Millipore, EUA).

2.2.2. Análise quantitativa dos compostos voláteis da cachaça

2.2.2.1. Compostos majoritários (CG-DIC)

A análise dos compostos majoritários foi realizada segundo metodologia proposta por ORTEGA *et al.* (2001). Foi necessária a diluição da amostra, pois esta metodologia foi padronizada e validada para amostras de bebidas alcoólicas com 10 a 15% v/v de etanol. Em um balão de 10 mL foi transferida uma alíquota de 3 mL da amostra de cachaça e o volume foi completado com solução sintética (solução aquosa com 3 g/L de ácido tartárico e pH ajustado a 4,5 com hidróxido de sódio). Em um tubo de fundo cônico contendo 4,5 g de sulfato de amônia, foi transferida uma alíquota de 3 mL da solução acima, juntamente com 7 mL de água, 15 µL da solução de padrões internos e 0,2 mL de diclorometano. O tubo foi fechado e a mistura foi agitada mecanicamente por 1 hora e depois centrifugada por 10 minutos, a 2500 rpm. O extrato foi transferido para um frasco, que foi vedado para posterior análise por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (CG-DIC). O cromatógrafo gasoso utilizado foi um Hewlett Packard, 5890 Series II, com injetor automático Hewlett Packard 7673. Para a separação dos compostos voláteis foi utilizada uma coluna, de 60 m de comprimento e 0,32 mm de diâmetro interno revestida com fase estacionária Carbowax 20M (J&W, Folson, EUA), precedida de uma pré-coluna de 2 m de comprimento e 0,53 mm de diâmetro interno. O volume de injeção foi de 3 µL, em modo split (1:10). O fluxo do gás de arraste, hidrogênio, foi de 3 mL/min. A temperatura inicial da coluna foi de 40 °C, mantida por 5 min e depois programada com rampa de temperatura de 3 °C/min até 200 °C e 35 min de permanência nesta temperatura. As temperaturas do injetor e do detector foram de 250 °C. Os dados quantitativos foram obtidos por interpolação da área relativa nos gráficos de calibração, com quantidades conhecidas de padrão. Os compostos 2-butanol, 4-metil-2-pentanol, 4-hidroxi-4-metil-2-pentanona e 2-octanol foram usados como padrões internos a 140 µg/mL em etanol.

2.2.2.2. Compostos minoritários (CG-EM)

O extrato foi obtido por extração em fase sólida de acordo com metodologia validada por LÓPEZ *et al.* (2002) e modificada para a amostra de cachaça como proposto por JANZANTTI *et al.* (2004). Um cartucho de 3 mL contendo 0,2 g de polímero Lichrolut EN foi primeiramente lavado com 4 mL de diclorometano, seco e posteriormente condicionado com 4 mL de metanol e 4 mL de solução hidroalcoólica a 12% de etanol v/v. Vinte mL de uma solução de cachaça/água (1:1), contendo 15 µL de solução de BHA, foram percolados pelo cartucho. O polímero foi lavado com 4 mL de água, seco e a eluição feita com 1,5 mL de diclorometano:dimetil éter (9:1 v/v). O extrato obtido foi analisado por cromatografia gasosa-espectrometria de massas (CG-EM), por monitoramento dos íons, utilizando um cromatógrafo gasoso Star 3400CX (Varian, EUA), com detector de massas, tipo ion trap, modelo Saturn 5.0, por impacto de elétrons e com injetor automático 8200CX (Varian, EUA). A coluna capilar de sílica fundida utilizada tinha 60 m de comprimento, 0,32 mm de diâmetro interno e 0,5 µm de espessura de filme, DB-WAX (J&W, Folson, EUA), precedida de uma pré-coluna de 2 m de comprimento por 0,32 mm de diâmetro interno. A temperatura inicial da coluna foi de 40 °C, mantida nesta temperatura por 5 minutos e depois programada com rampa de 2 °C/min até 200 °C, com permanência de 35 min nesta temperatura. O gás de arraste utilizado foi hélio, a um fluxo de 1 mL/min. A temperatura da linha de transferência foi de 220 °C. O injetor A1093 SPI (*septum equipped programmable injector*) foi programado com temperatura inicial de 30 °C durante 6 segundos e depois com rampa de 190 °C/min até 200 °C. O volume de injeção foi de 1 µL. A quantificação dos compostos voláteis foi realizada pela técnica de reconstituição dos íons mais característicos (**Anexo 1**) e os dados quantitativos foram obtidos por interpolação da área relativa nos gráficos de calibração, com quantidades conhecidas de padrão. A solução de padrões internos foi preparada com os compostos 4-metil-2-pentanol, 4-hidroxi-4-metil-2-pentanona e 2-octano a 300 µg/g de diclorometano. A solução de BHA foi preparada com 10 mg deste composto por g de etanol.

2.2.3. Confirmação da identidade do composto

Os compostos voláteis foram identificados por cromatografia gasosa-espectrometria de massas, índice de retenção, comparando os dois tipos de dados obtidos

experimentalmente com os dados da literatura (JENNINGS & SHIBAMOTO, 1980; FERREIRA *et al.*, 2001; ACREE & ARN, 2004), além do uso de padrões puros.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram identificados 65 compostos voláteis nas amostras de cachaça, compreendendo 21 ésteres, 10 ácidos, 9 álcoois, 9 fenóis, 6 terpenos, 4 aldeídos, 4 cetonas e 2 lactonas (**Tabela 1**).

Foram relatados pela primeira vez como componentes da cachaça 48 compostos voláteis, dos quais 19 foram ésteres (propionato de isopropila, isobutirato de etila, acetato de isobutila, butirato de etila, isovalerato de etila, 2-metilbutirato de etila, acetato de butila, acetato de isoamilo, hexanoato de etila, lactato de etila, 3-hidroxi-butirato de etila, octanoato de etila, furanoato de etila, decanoato de etila, acetato de feniletila, dihidrocinamato de etila, cinamato de etila, succinato de dietila e vanilato de etila), 5 álcoois (hexanol, cis-3-hexenol, álcool benzílico, furfural álcool, metionol), 2 aldeídos (5-metil furfural e vanilina), 4 cetonas (acetoína, α -ionona, β -damascenona, β -ionona), 1 ácido (2-metilbutírico), 6 terpenos (linalol, α -terpineol, β -citronelol, eugenol, isoeugenol e farnesol), 9 fenóis (guaiacol, o-cresol, 4-etilguaiacol, m-cresol, 4-propilguaiacol, 4-etilfenol, 2,6-dimetoxifenol, 4-vinilfenol, 4-vinilguaiacol) e 2 lactonas (γ -nonalactona e γ -decalactona).

Não houve diferença qualitativa entre os compostos voláteis detectados nas diferentes amostras de cachaça (**Anexos 2 a 27**). Por outro lado, houve uma grande variação na quantidade de cada composto encontrado nas diferentes amostras (**Tabela 1**), conforme já observado em outros estudos (NASCIMENTO *et al.*, 1997; NASCIMENTO *et al.*, 1998; BOSCOLO *et al.*, 2000; CARDOSO *et al.*, 2003).

Tabela 1: Concentração ($\mu\text{g/L}$) dos compostos voláteis nas amostras de cachaça comercializadas em Campinas.

I. R. ^a	Composto	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	Amplitude
< 900	acetaldeído	8483	12490	47838	28413	8330	6684	22610	15038	17217	11573	29127	6406	12957	6406 - 47838
< 900	acetato de etila	39292	17890	15638	12871	22251	21211	21347	16086	17118	14959	17930	15033	13270	12871 - 39292
964	propanoato isopropila	364	102	238	90	229	39	168	235	262	187	107	330	151	39 - 364
967	isobutirato de etila	335	352	542	450	271	125	400	356	285	361	557	262	577	125 - 577
1016	acetato de isobutila	46	39	52	35	51	232	36	54	57	38	41	48	44	35 - 232
1040	butirato de etila	1118	423	332	303	742	37	630	494	300	310	160	1026	318	37 - 1118
1056	2-metilbutirato de etila	21	7,3	3,1	10	21	< 2,9	7,8	13	17	5,2	15	13	< 2,9	< 2,9 - 21
1073	isovalerato de etila	4,5	26	16	12	5,0	8,3	13	21	20	< 3,2	< 3,2	59	18	< 3,2 - 59
1085	acetato de butila	3,4	4,8	9,5	3,9	4,3	1548	3,4	2,4	6,1	5,2	5,2	8,7	< 0,6	< 0,6 - 1548
1095	isobutanol	8874	38025	23978	50449	8714	33771	22357	33930	27531	21860	55217	2080	15430	2080 - 55217
1127	acetato de isoamila	143	259	5551	248	309	167	330	464	339	274	214	302	411	143 - 5551
1150	butanol	230	887	322	574	197	125543	358	349	390	435	766	104	243	104 - 125543
1215	álcool isoamílico	27456	129776	97026	166585	28402	23811	97046	98524	74525	73123	129905	14068	56379	14068 - 166585
1238	hexanoato de etila	350	418	477	378	608	40	330	511	647	391	311	354	159	40 - 608
1285	acetoína	1431	1597	2441	1271	1887	1090	1462	1229	1578	1456	1510	1534	1737	1090 - 24441
1352	lactato de etila	750	8570	4056	600	1220	< 600	3615	760	1340	2638	690	1480	1660	< 600 - 8570
1357	hexanol	252	264	170	130	220	40	140	100	240	210	170	357	160	40 - 357
1388	cis-3-hexenol	< 45	68	65	50	46	< 45	119	45	75	88	45	65	47	< 45 - 119
1440	octanoato de etila	1409	1558	32	1189	2641	359	927	1990	161	1581	1671	997	1481	32 - 2641
1480	furfural	23	19	6,4	< 5,0	7,9	5,0	8,1	7,1	6,8	12	20	16	5,9	< 5,0 - 23
1503	3-hidroxi-butirato de etila	94	114	290	78	81	48	190	100	59	76	103	85	130	48 - 290
1544	ácido propanóico	1123	2572	3466	2012	1512	< 600	2731	1643	2241	1763	1338	2223	1663	< 600 - 3466
1552	linalol	12	24	12	17	18	< 2,5	19	17	15	19	47	11	10	< 2,5 - 47
1599	ácido isobutírico	362	1093	1418	717	674	401	919	699	1029	672	882	823	754	362 - 1418
1610	5-metilfurfural	< 5,6	< 5,6	< 5,6	< 5,6	< 5,6	< 5,6	< 5,6	< 5,6	< 5,6	< 5,6	7,9	< 5,6	< 5,6	< 5,6 - 7,9
1628	furoato de etila	5,8	6,4	6,7	5,1	11	1,4	12	5,1	21	11	6,4	26	7,7	1,4 - 26
1638	ácido butírico	820	1505	941	566	988	450	988	616	557	846	510	2854	1114	450 - 2854
1646	decanoato de etila	752	825	1219	833	991	450	645	866	1182	852	949	721	1015	450 - 1219

continua...

continuação...

I. R. ^a	Composto	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	Amplitude
1687	furfuril álcool	48	94	88	50	77	61	98	92	108	97	95	149	80	48 - 149
1698	benzoato de etila	6,3	9,2	9,4	5,1	11	1,5	9,6	5,7	12	12	9,1	30	9,7	1,5 - 30
1703	ácido isovalérico	632	2626	171	1446	1113	188	2262	1457	851	1241	1638	1667	885	171 - 2626
1704	ácido 2-metilbutírico	153	625	34	433	285	49	450	436	267	278	498	458	197	34 - 625
1687	succinato de dietila	344	360	364	345	363	345	364	357	378	350	344	407	382	344 - 407
1706	α -terpineol	5,1	6,0	2,3	3,9	4,2	< 2,1	3,8	3,8	3,7	4,4	8,8	4,3	4,9	< 2,1 - 8,8
1722	metionol	50	90	156	139	57	50	124	91	81	99	98	88	95	50 - 156
1773	β -citronelol	14	28	21	22	26	8,6	31	22	32	29	32	25	23	8,6 - 32
1832	acetato de feniletila	< 23	101	219	76	97	< 23	120	121	117	132	61	107	213	< 23 - 219
1836	β -damascenona	11	23	15	16	17	1,6	20	17	25	31	29	18	17	1,6 - 31
1879	ácido hexanóico	406	452	425	342	390	250	311	393	474	378	439	583	388	250 - 583
1883	α -ionona	0,5	0,5	< 0,4	0,4	< 0,4	< 0,4	< 0,4	< 0,4	< 0,4	< 0,4	< 0,4	0,4	0,4	< 0,4 - 0,5
1884	guaiacol	54	88	58	61	46	10	55	62	142	64	38	199	47	10 - 199
1893	álcool benzílico	< 20	33	63	350	< 20	< 20	22	31	29	< 20	45	33	23	< 20 - 350
1902	dihidrocinamato de etila	< 0,5	10	8,0	< 0,5	5,1	0,9	6,2	< 0,5	8,6	12	1,4	7,9	< 0,5	< 0,5 - 12
1929	β -feniletanol	730	2780	3240	1610	1560	290	1850	1880	2690	2220	2180	2120	2620	290 - 3240
1955	β -ionona	0,1	2,1	2,7	1,4	2,0	0,1	1,4	0,7	2,2	2,1	2,8	1,0	1,5	0,1 - 2,8
2021	o-cresol	9,7	14	10	13	9,6	2,4	12	11	42	13	7,8	42	9,6	2,4 - 42
1967	ácido heptanóico	29	67	< 5,1	28	17	< 5,1	17	17	26	32	21	96	17	< 5,1 - 96
2051	4-etilguaiacol	27	101	53	29	28	18	55	31	55	49	111	671	< 11	< 11 - 671
2093	ácido octanóico	622	1656	2185	1160	1546	370	1346	1892	2373	1391	1480	1619	1494	370 - 2373
2058	γ -nonalactona	< 2,7	11	< 2,7	9,4	6,9	< 2,7	< 2,7	< 2,7	< 2,7	4,7	< 2,7	2,9	< 2,7	< 2,7 - 11
2130	m-cresol	8,5	16	11	13	9,7	2,7	11	12	37	13	8,4	31	12	2,7 - 37
2131	4-propilguaicol	3,2	6,1	8,8	3,3	6,6	2,3	9,7	4,9	6,9	14	3,1	195	9,3	2,3 - 195
2157	cinamato de etila	2,0	4,4	3,1	2,8	2,3	1,2	2,1	0,9	2,7	3,6	3,1	4,0	2,2	0,9 - 4,4
2182	γ -decalactona	1,4	5,6	1,3	2,1	1,9	< 1,1	< 1,1	< 1,1	1,2	< 1,1	< 1,1	1,9	< 1,1	< 1,1 - 5,6
2189	eugenol	8,5	66	36	30	18	1,7	29	32	45	27	53	50	28	1,7 - 66
2184	4-etilfenol	57	64	65	35	35	20	128	39	83	56	106	625	65	20 - 625

continua...

continuação...

I. R. ^a	Composto	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	Amplitude
2222	4-vinilguaiacol	79	41	42	45	39	62	55	53	49	56	56	92	76	39 - 92
2300	isoeugenol	5,8	9,1	8,3	11	6,7	2,9	7,0	10	10	5,8	12	5,7	6,3	2,9 - 12
2305	2,6-dimetoxifenol	2,9	2,9	5,8	4,9	< 2,8	< 2,8	4,3	< 2,8	3,9	< 2,8	< 2,8	< 2,8	4,0	< 2,8 - 5,8
2306	ácido decanóico	731	1255	2084	931	1371	215	1034	1701	1612	1074	1314	1050	1292	215 - 2084
2368	farnesol	69	313	169	245	128	8,4	190	169	169	166	312	78	94	8,4 - 313
2416	4-vinilfenol	< 37	< 37	< 37	< 37	< 37	< 37	< 37	54	108	< 37	45	< 37	< 37	< 37 - 108
2513	ácido dodecanóico	2127	4601	3929	2033	2236	1409	2630	3744	1672	1769	3596	2613	2268	1409 - 4601
2600	vanilina	23	63	29	24	18	18	34	32	46	28	71	49	28	18 - 71
> 2600	vanilato de etila	16	25	16	16	15	17	18	16	19	19	21	19	16	15 - 25

^a índice de retenção obtido em coluna de fase polar (Carbowax).

A amostra 1 apresentou maior conteúdo dos compostos acetato de etila, propanoato de isopropila, butirato de etila, 2-metilbutirato de etila, furfural, em contrapartida menor quantidade dos compostos acetato de isoamila, acetato de fenila, cis-3-hexenol, furfural álcool, ácido isobutílico e β -ionona.

Maiores quantidades dos ésteres lactato de etila, cinamato de etila, vanilato de etila, dos terpenos eugenol e farnesol, dos ácidos isovalérico, 2-metilbutílico e dodecanóico, das lactonas γ -nonalactona e γ -decalactona foram observadas na amostra 2.

Os teores dos compostos acetaldeído, acetato de isoamila, 3-hidroxibutanoato de etila, decanoato de etila, acetato de feniletila, ácido propanóico, ácido butílico, ácido isobutílico, ácido decanóico, acetoína, metionol, β -feniletanol, 2,6-dimetoxifenol foram maiores na amostra 3, que apresentou menores quantidades de octanoato de etila, ácido isovalérico e ácido 2-metilbutílico.

A amostra 4 teve maiores concentrações dos álcoois isoamílico e benzílico e menores concentrações dos ésteres acetato de etila e acetato de isobutila, além do furfural. A amostra 5 apresentou quantidades maiores dos compostos 2-metilbutirato de etila, hexanoato de etila, octanoato de etila e menores de 4-vinilguaiacol, vanilina e vanilato de etila.

A amostra 7 apresentou maior concentração do composto cis-3-hexenol, enquanto a amostra 8 o menor teor de cinamato de etila. A amostra 9 apresentou maiores quantidades de β -citronelol, o-cresol, m-cresol, ácido octanóico e 4-vinilfenol; a amostra 10 maiores concentrações de β -damascenona e dihidrocinamato de etila, enquanto a amostra 11 maiores concentrações dos compostos isobutanol, linalol, α -terpineol, isoeugenol, β -ionona, 5-metilfurfural e vanilina.

A amostra 12 apresentou maiores concentrações dos compostos hexanol, furfural álcool, furanoato de etila, benzoato de etila, ácido butílico, succinato de dietila, ácido hexanóico, ácido heptanóico, guaiacol, 4-etilguaiacol, 4-propilguaiacol, 4-etilfenol, 4-vinilguaiacol, o-cresol e menores dos compostos acetaldeído, isobutanol, álcool isoamílico.

A amostra 13 apresentou maior teor do composto isobutirato de etila e menores de acetato de butila e 4-etilguaiacol. A amostra 6 apresentou quase todos os compostos em quantidades menores que as das demais amostras, com exceção dos compostos acima citados para as outras amostras e dos ésteres acetato de isobutila e acetato de butila, além do butanol, que apresentaram concentrações bem acima das encontradas nas outras amostras.

O conteúdo dos álcoois foi superior em quase todas as amostras, sendo o álcool isoamílico o composto majoritário presente nas diferentes cachaças, seguido geralmente por isobutanol, acetato de etila ou acetaldeído. Na amostra 1, o acetato de etila foi o composto majoritário, o que não foi observado nas amostras 6 e 12. Na amostra 6, o butanol foi o composto predominante, seguido por isobutanol, álcool isoamílico, acetato de etila e acetaldeído. Na amostra 12, o acetato de etila foi o composto majoritário, seguido pelo álcool isoamílico, acetaldeído, ácido butírico, ácido dodecanóico, ácido propanóico, β -feniletanol e isobutanol. Estas diferenças afetaram o conteúdo total das diferentes classes e nas amostras 1 e 12, o conteúdo dos ésteres foi superior ao dos álcoois.

Considerando apenas a classe dos álcoois, o álcool isoamílico foi o majoritário em todas as amostras, com exceção da amostra 6, na qual o butanol foi o predominante, seguido por isobutanol e pelo álcool isoamílico. Estes resultados concordaram com os obtidos por BOSCOLO *et al.* (2000), que após análise de 25 amostras de cachaça por CG-DIC, relataram que em apenas uma amostra o álcool isoamílico não foi o majoritário. Uma tendência semelhante foi observada para os terpenos, sendo o farnesol o composto mais abundante nas amostras, com exceção da amostra 6, onde a quantidade de β -citronelol foi ligeiramente superior à do farnesol.

Considerando a classe dos ésteres, o acetato de etila foi o composto majoritário, o mesmo ocorrendo com o acetaldeído na classe dos aldeídos. Resultados iguais foram obtidos após a análise de algumas amostras de cachaças, nas quais o acetato de etila foi determinado por injeção direta da amostra no cromatógrafo gasoso com detector de ionização de chama enquanto o acetaldeído foi quantificado na forma de hidrazonas (aldeído-2,4-dinitrofenilidrazonas) por CLAE (BOSCOLO *et al.*, 2000; NASCIMENTO *et al.*, 1997).

A acetoína foi o composto predominante dentre as cetonas, diferindo dos resultados obtidos por CARDOSO *et al.* (2003), que relataram um teor de acetona superior ao de acetoína nas amostras analisadas. A acetona foi determinada por CLAE na forma de 2,4-dinitrofenilhidrazonas. Neste estudo, este composto não foi detectado, por eluir juntamente com as impurezas do solvente.

Dentre a classe dos ácidos, o ácido dodecanóico foi o composto majoritário em quase todas as amostras, com exceção das amostras 7, 9 e 12, nas quais os compostos majoritários foram os ácidos propanóico, octanóico e butírico, respectivamente. Esta variação também foi observada, após extração dos ácidos graxos de algumas amostras de

cachaça em cartucho C18, eluição com diclorometano e análise por CG-DIC (NASCIMENTO *et al.*, 1998). O ácido acético foi relatado como o composto majoritário, seguido por diferentes compostos. O ácido acético não foi quantificado neste estudo, por apresentar baixa recuperação no método de extração por solvente e análise por CG-DIC.

O conteúdo de γ -nonalactona foi ligeiramente superior ao da γ -decalactona, em relação à classe das lactonas. Observou-se uma grande variação no conteúdo de fenóis presentes nas amostras, variando, portanto, o composto majoritário. O guaiacol predominou nas amostras 4, 5, 8, 9 e 10, o 4-etilfenol nas amostras 3 e 7, o 4-vinilguaiacol nas amostras 1, 6 e 13 e o 4-etilguaiacol nas amostras 2, 11 e 12. Cabe salientar a presença de algumas lactonas e fenóis, que pela primeira vez foram detectadas em cachaça.

Observou-se uma grande variação na somatória de cada classe de compostos nas diferentes amostras (**Figura 1**). A amostra 1 apresentou quantidades maiores de ésteres (12%), enquanto a amostra 4, quantidades menores de ésteres (4%) mas maiores de álcoois (15%). A amostra 2 apresentou quantidades maiores de ácidos (11%) e lactonas (34%), em contrapartida a amostra 6 apresentou quantidades menores de ácidos (2%), aldeídos (3%), terpenos (1%), cetonas (5%) e fenóis (2%). A amostra 3 apresentou quantidades maiores de aldeídos (20%) e cetonas (12%), enquanto a amostra 11 de terpenos (11%) e a amostra 12, de fenóis, mas esta também apresentou menores teores de aldeídos (3%) e álcoois (1%).

Para uma melhor visualização das diferenças observadas entre as várias amostras, foi realizado um histograma das amostras de cachaça, em relação ao conteúdo das classes químicas (**Figura 2**).

O método de isolamento dos compostos voláteis da cachaça por extração em fase sólida permitiu, pela primeira vez, que fosse realizada a determinação de compostos voláteis de diferentes classes químicas, com ampla variação de concentração, em apenas uma única etapa.

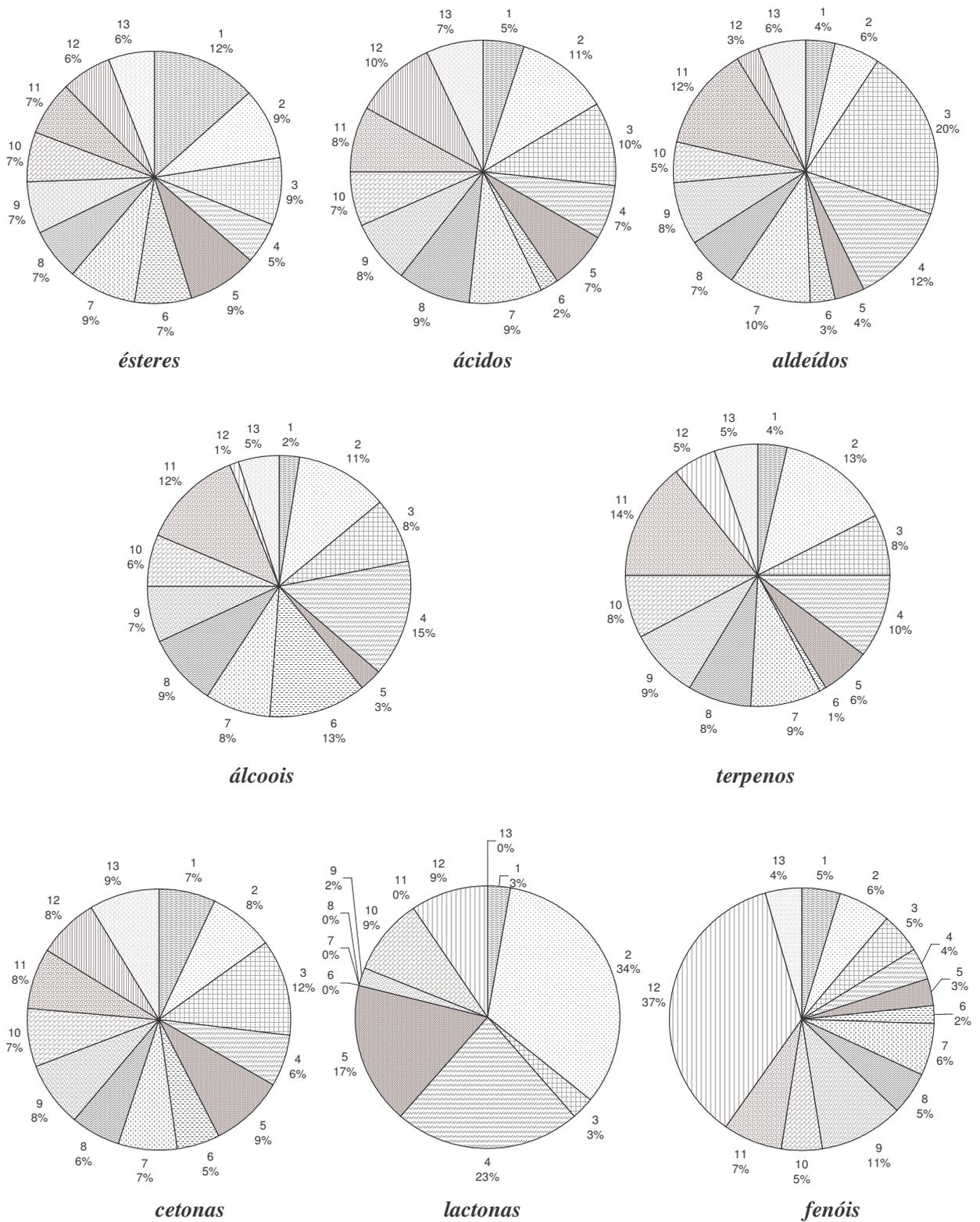


Figura 1: Contribuição, em porcentagem, das diferentes classes químicas à composição das cachaças.

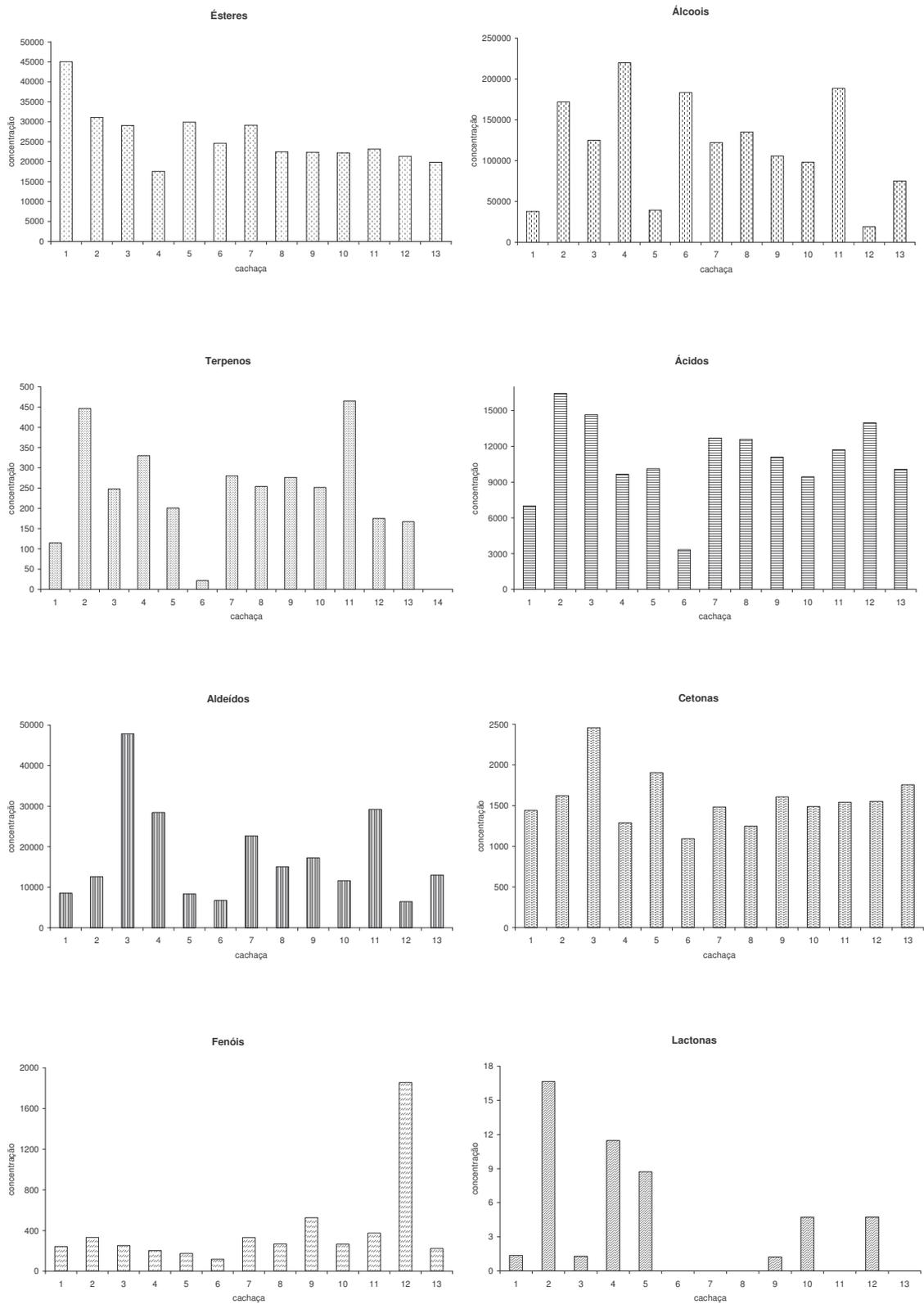


Figura 2: Histogramas do conteúdo total das diferentes classes químicas ($\mu\text{g/L}$) nas amostras comerciais de cachaça.

4. CONCLUSÕES

Foram identificados 65 compostos voláteis nas cachaças, compreendendo 21 ésteres, 10 ácidos, 9 álcoois, 9 fenóis, 6 terpenos, 4 aldeídos, 4 cetonas e 2 lactonas.

Não foi observada diferença qualitativa entre os compostos voláteis detectados, mas uma grande variação na concentração encontrada de cada composto nas diferentes amostras de cachaça. Observou-se também uma grande variação na quantidade de cada classe de compostos nas diferentes cachaças comerciais.

O álcool isoamílico foi o composto majoritário presente na maioria das cachaças, com exceção de três amostras. Os compostos acetato de etila, acetaldeído e acetoína foram os compostos majoritários da classe dos ésteres, dos aldeídos e das cetonas, respectivamente. O farnesol somente não foi majoritário na amostra 6, em relação à classe dos terpenos.

Dentre a classe dos ácidos, o ácido dodecanóico foi o composto majoritário em quase todas as amostras, à exceção de três. Observou-se uma grande variação no conteúdo de fenóis presentes nas amostras, variando, portanto, o composto majoritário.

O método de isolamento dos compostos voláteis da cachaça, por extração em fase sólida, permitiu a determinação de compostos voláteis de diferentes classes químicas e com ampla variação de concentração.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRABE. Associação Brasileira de Bebidas. Disponível em: <<http://www.abrabe.org.br>>. Acesso em: 12 de abr. de 2004.
- BENN, S. M.; PEPPARD, T. L. Characterization of tequila flavor by Instrumental and sensory analysis. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 44, p. 557-566, 1996.
- BOSCOLO, M.; BEZERRA, C. W. B.; CARDOSO, D. R.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Identification and dosage by HRGC of minor alcohols and esters in Brazilian sugar cane spirit. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 11, p. 86-90, 2000.
- BOZA, Y.; HORII, J. Influência da destilação sobre a composição e a qualidade sensorial da aguardente de cana. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 18, p. 391-396, 1998.
- BRASIL. Decreto nº 2314 de 4 set.1997. Dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Regulamenta a Lei nº 8918 de 14 de julho de 1994. **Diário Oficial**. Brasília. 5 set. 1997.
- BRASIL. Decreto nº 4062 de 21 de dez. de 2001. Define expressões “cachaça” e “cachaça do Brasil” como indicações geográficas e dá outras providências. **Diário Oficial**. Brasília. 3 de jan. 2002.
- CARDOSO, D. R.; BETTIN, S. M.; RECHE, R. V.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D.W. HPLC-DAD analysis of ketones as their 2,4-dinitrophenylhydrazones in Brazilian sugar-cane spirits and run. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 16, p. 563-573, 2003.

- FARIA, J. B.; LOYOLA, E.; LÓPEZ, M. G.; DUFOUR, J. P. Cachaça, Pisco and Tequila. In: LEA, A. G. H.; PIGGOTT, J. R. (Eds.). **Fermented Beverage Production**. New York: Kluwer Academic / Plenum Publishers, 2003. Chapter 15, p. 335-363.
- FERREIRA, V.; ORTÍN, N.; ESCUDERO, A.; LÓPEZ, R.; CACHO, J. Chemical characterization of the aroma of Grenache rose wines: aroma extract dilution analysis, quantitative determination, and sensory reconstitution studies. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 50, p. 4048-4054, 2002.
- GARRUTI, D. S.; FRANCO, M. R. B.; DA SILVA, M. A. A. P.; JANZANTTI, N. S.; ALVES, G. L. Evaluation of volatile flavor compounds from cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) juice by the OSME gas chromatography–olfactometry technique. **Journal of Science of Food and Agriculture**, v. 83, p. 1455-1462, 2003.
- JANZANTTI, N. S.; FERREIRA, V.; LÓPEZ, R.; FRANCO, M. R. B.; CACHO, J. Análise dos compostos voláteis da cachaça por extração em fase sólida. 2004 (a ser publicado).
- LÓPEZ, R.; AZNAR, M.; CACHO, J.; FERREIRA, V. Determination of minor and trace volatile compounds in wine by solid phase extraction and gas chromatography with mass spectrometric detection. **Journal of Chromatography A**, v. 966, p. 167-177, 2002.
- NAGATO, L. A. F.; DURAN, M. C.; CARUSO, M. S. F.; BARSOTTI, R. C. F.; BADOLATO, E. S. G. Monitoramento da autenticidade de amostras de bebidas alcoólicas enviadas ao Instituto Adolfo Lutz em São Paulo. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 21, p. 39-42, 2001.
- NASCIMENTO, R. F.; CARDOSO, D. R.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Determination of acids in Brazilian sugar cane spirits and other alcoholic beverages by HRGC-SPE. **Chromatographia**, v. 48, p. 751-757, 1998.
- NASCIMENTO, R. F.; MARQUES, J. C.; DE KEUKELEIRE, D.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Qualitative and quantitative high-performance liquid chromatographic analysis of aldehydes in Brazilian sugar cane spirits and other distilled alcoholic beverages. **J. Chromatogr.**, v. 782, p. 13-23, 1997.
- ORTEGA, C.; LÓPEZ, R.; CACHO, C.; FERREIRA, V. Fast analysis of important wine volatile compounds: Development and validation of a new method based on gas chromatographic–flame ionization detection analysis of dichloromethane microextracts. **Journal of Chromatography A**, v. 923, p. 205-214, 2001.
- THOMAZINI, M.; FRANCO, M. R. B. Metodologia para análise dos constituintes voláteis do sabor. **Boletim da SBCTA**, v. 34, p. 52-59, 2000.

Capítulo 5

COMPOSTOS VOLÁTEIS IMPORTANTES PARA A QUALIDADE SENSORIAL DAS CACHAÇAS COMERCIALIZADAS EM CAMPINAS

Janzantti N. S.¹, Bolini H. M. A.²; da Silva M. A. A. P.², Ferreira V.³,
López R.³, Franco M. R. B.¹, Cacho J.³

¹Laboratório de Análise de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP. C.P. 2161. Campinas, São Paulo, Brasil. CEP 13097-900. E-mail: nataliajanzantti@hotmail.com

²Laboratório de Análise Sensorial, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP. Campinas, São Paulo, Brasil. CEP 13097-900.

³Laboratorio del Análisis del Aroma y Enología, Facultad de Ciencias. Universidad de Zaragoza-Unizar. Plaza San Francisco s/n. Zaragoza, España. 50009.

RESUMO

A cachaça é o destilado mais consumido no Brasil, com uma produção de 1,3 bilhão de litros segundo o Programa Brasileiro de Desenvolvimento da Cachaça. Uma bebida destilada é julgada pelo consumidor pelas suas características sensoriais (cor, aroma e sabor). Portanto, uma boa cachaça, além de atender as exigências legais com relação à sua composição, deve também apresentar qualidade sensorial, capaz de satisfazer ou mesmo ultrapassar as expectativas de seus consumidores. Os objetivos deste trabalho foram avaliar a aceitação de treze cachaças comercializadas em Campinas, as características sensoriais e apontar os possíveis compostos voláteis que possam ser responsáveis pela qualidade da cachaça, correlacionando dados sensoriais e instrumentais. Foi realizada análise de aceitação das 13 cachaças comerciais por trinta consumidores, familiarizados com a bebida. As amostras não diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) entre si em relação ao aroma. Entretanto, em relação ao sabor, as cachaças 2, 4, 6, 7, 8 e 13 foram as de maior aceitação e diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) da cachaça 9, de menor aceitação, sendo que as demais amostras não diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) das amostras mais e menos aceitas. Na avaliação da impressão global, as cachaças 2 (mais aceita) e 9 (menos aceita) diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) entre si e as demais amostras obtiveram aceitação intermediária, não diferindo significativamente ($p \leq 0,05$) destas duas amostras. Foi realizada a análise descritiva quantitativa de quatro amostras de cachaça, selecionadas com base no teste de aceitação, por uma equipe de 9 provadores selecionados e treinados. O perfil sensorial mostrou que a cachaça 2 (mais aceita) apresentou maior intensidade dos atributos aroma adocicado, ardência inicial, sabor encorpado e gosto adocicado enquanto a cachaça 6 (aceitação intermediária), apresentou maior intensidade dos atributos corpo, aroma e sabor alcoólico. As cachaças 3 (aceitação intermediária) e 9 (menos aceita) apresentaram perfis sensoriais bastante semelhantes, sendo que a cachaça 9 apresentou maior intensidade dos atributos ardência final, aroma irritante e gosto amargo. Fez-se a correlação entre as médias de aceitação (aroma, sabor e impressão global) de cada amostra e suas respectivas coordenadas nos eixos I e II associadas às ACPs, gerados utilizando-se a concentração dos compostos voláteis, agrupados em classes químicas. Estes dados permitiram sugerir que a aceitação das cachaças em relação ao aroma parece estar relacionada principalmente à presença de lactonas e alguns terpenos, enquanto a baixa aceitação em relação ao sabor, à presença de fenóis, principalmente 4-vinilfenol e 4-vinilguaiacol. Estes dados revelam que

as amostras de cachaça apresentaram perfis sensoriais e de voláteis distintos, evidenciando a falta de um padrão de qualidade.

ABSTRACT

The sugar cane spirit or cachaça is the most consumed distilled beverage in Brazil, with a production of 1.3 billion liters according to PBDAC (Brazilian Program of Development of the Cachaça). A distilled drink is judged by a consumer through its sensory characteristics: color, odor and flavor. Therefore, good cachaça, aside from meeting the legal requirements in relation to its composition, must also and mainly, present sensorial quality that satisfies the expectations of its consumers. The aim of this work was to evaluate the acceptance of 13 cachaça samples purchased in Campinas, to determine the sensory profile and to indicate the volatile compounds that may be responsible for the cachaça quality, correlating the sensory and instrumental data. In the acceptance test, the 13 commercial cachaça samples were evaluated by 30 consumers familiarized with this alcoholic beverage. The samples did not differ significantly ($p \leq 0.05$) when judged for aroma, however when judged for flavour, samples 2, 4, 6, 7, 8 and 13, with greater acceptance differed significantly ($p \leq 0.05$) from cachaça 9, with lesser acceptance. The other samples did not differ significantly from the most and less accepted samples. In the global impression evaluation, cachaça 2 and cachaça 9 differed between each other ($p \leq 0.05$), but cachaça 2 had the higher average. The others did not differ significantly from these two samples. The quantitative descriptive analysis of four commercial cachaça samples, selected in the acceptance test, was carried out by nine trained judges. The sensory profile showed that sample 2 (greater acceptance) had greater intensity for the attributes initial heat, full-bodied flavor, sweetened aroma and sweet taste, whereas sample 6 (intermediate acceptance) had greater intensity for the attributes body, alcoholic aroma and alcoholic flavor. Cachaça 3 (intermediate acceptance) and cachaça 9 (lesser acceptance) had greater intensity of the attributes irritating aroma, final heat, and bitter taste, however cachaça 9 had the higher values of these attributes. The Pearson' analysis was carried out considering the scores of the acceptance test of each cachaça sample and the values of the axis I and II from the ACPs, obtained for the concentrations of the volatile compounds, grouped in chemical classes. This analysis suggests that the acceptance of the samples in relation to their aroma would be probably related to the presence of lactones and some terpenes, while the low acceptance in relation to the flavor,

to the presence of phenols, mainly 4-vinyl phenol and 4-vinyl guaiacol. Samples of cachaça presented distinct sensory and volatiles profiles, revealing lack of quality standard.

1. INTRODUÇÃO

A cachaça é o destilado mais consumido no país e ocupa o segundo lugar entre as bebidas alcoólicas, perdendo somente para a cerveja. O consumo brasileiro lhe garante a terceira colocação entre os destilados do mundo inteiro, atrás somente da vodca e do soju (ABRABE, 2004).

De acordo com a legislação brasileira, todas as cachaças estão aprovadas e próprias para o consumo, desde que obedeçam aos limites estabelecidos para álcoois superiores, ácido acético, acetato de etila, acetaldeído e furfural, assim como para cobre e metanol, seus eventuais contaminantes (BRASIL, 1997). Porém, este tipo de controle não tem efeito sobre a qualidade química ou sensorial desta bebida.

A análise sensorial permite definir características sensoriais importantes de um produto, apontar a presença ou a ausência de diferenças que não podem ser detectadas por procedimentos analíticos, além de avaliar a aceitação de produtos (MUÑOZ et al., 1992). Amostras de cachaças envelhecidas e não envelhecidas já foram avaliadas por teste de aceitação (CARDELLO & FARIA, 2000), análise descritiva quantitativa (FURTADO, 1995; CARDELLO & FARIA, 1998; MARCELLINI, 2000) e análise de tempo-intensidade (CARDELLO & FARIA, 1999).

O sabor é um importante fator na seleção dos alimentos e bebidas e determina a aceitação do produto pelos consumidores. Os compostos voláteis são os responsáveis pelo sabor característico e podem estar presentes nos alimentos em quantidades extremamente diminutas, além de possuírem diferentes estruturas químicas. Com relação à análise instrumental, os poucos compostos já identificados e quantificados na cachaça referem-se aos voláteis majoritários descritos na legislação, determinados por injeção direta da amostra (BOZA & HORII, 1998; NAGATO et al., 2001) ou análise das diferentes classes químicas como álcoois (BOSCOLO et al., 2000), ésteres (BOSCOLO et al., 2000), ácidos (NASCIMENTO et al., 1998), aldeídos (NASCIMENTO et al., 1997) e cetonas (CARDOSO et al., 2003), não estabelecendo sua relação com dados sensoriais.

Existe uma deficiência de informações sobre os níveis em que os diferentes compostos voláteis deveriam estar presentes na cachaça, para permitir uma melhor definição e classificação dessa bebida no mercado nacional e internacional, além de agradar

aos consumidores. Tal conhecimento sem dúvida auxiliaria no monitoramento da produção, no controle de qualidade da bebida, fornecendo informações para a definição de um padrão de qualidade da cachaça, possibilitando sua inserção nos mercados internacionais ao lado das bebidas destiladas consideradas nobres.

Os objetivos deste trabalho foram estudar a aceitação de treze cachaças comercializadas em Campinas, bem como as características sensoriais e apontar possíveis compostos voláteis que possam ser responsáveis pela qualidade da cachaça, correlacionando os dados sensoriais com instrumentais.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material

Foram analisadas 13 amostras de cachaça, adquiridas nos principais mercados varejistas e atacadistas do município de Campinas, estado de São Paulo, no ano de 1998. Essas amostras compreendiam cachaças não envelhecidas, de produção industrial e de grandes e pequenas indústrias de importância econômica nacional e internacional.

2.2. Métodos

2.2.1. Análise sensorial

2.2.1.1. Análise de aceitação das amostras de cachaça

Foi realizada análise de aceitação das 13 amostras de cachaça ao nível de laboratório (STONE & SIDEL, 1993) por trinta provadores, consumidores potenciais do produto, ou seja, representativos do mercado alvo.

Para a coleta dos dados foi utilizada uma ficha (**Figura 1**) com escala não estruturada de 9 cm, ancorada no seu extremo com os termos “desgostei muitíssimo” à esquerda e à direita “gostei muitíssimo”, para avaliação de aroma, sabor e impressão global. A ficha continha ainda uma escala de atitude de compra e solicitação para que o provador descrevesse o que mais gostou e o que menos gostou em cada amostra (MEILGAARD et al., 1988).

Nome: _____ Data: _____

Amostra n^o. _____

Sinta o **AROMA** da cachaça e marque na escala sua opinião:

desgostei muitíssimo gostei muitíssimo

|-----|

Prove a cachaça e marque na escala sua opinião em relação ao **SABOR**:

desgostei muitíssimo gostei muitíssimo

|-----|

Marque na escala sua **IMPRESSÃO GLOBAL** sobre a cachaça:

desgostei muitíssimo gostei muitíssimo

|-----|

O que você mais gostou na amostra? _____

O que você menos gostou na amostra? _____

Assinale para esta amostra, qual seria sua atitude quanto a compra deste produto. Justifique.

() eu certamente compraria este produto

() eu provavelmente compraria este produto

() tenho dúvidas se compraria ou não este produto

() eu provavelmente não compraria este produto

() eu certamente não compraria este produto

Justifique: _____

Comentários: _____

Figura 1: Ficha de avaliação das cachaças para o teste de aceitação.

As amostras (5 mL) foram servidas, através de apresentação monádica, em cálices tipo tulipa, cobertos por vidro de relógio, o qual era retirado no momento do teste para análise do aroma, sabor e impressão global. Os cálices foram codificados com algarismos de 3 dígitos ao acaso. As amostras foram avaliadas em cabines individuais, sob luz branca.

2.2.1.2. Análise descritiva quantitativa

Foi realizada Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) de quatro amostras de cachaça, selecionadas com base no teste de aceitação, conforme metodologia descrita por STONE & SIDEL (1974).

Recrutamento e pré-seleção dos provadores

Os provadores foram recrutados dentre os alunos de graduação, pós-graduação e professores da Faculdade de Farmácia Bioquímica de Araraquara-Unesp. Dentre os 14 provadores que apresentaram disponibilidade e interesse para participar dos testes sensoriais, fez-se uma pré-seleção com base no poder discriminativo e reprodutibilidade de cada indivíduo com relação ao sabor de cachaça.

As amostras utilizadas no teste foram: uma amostra de cachaça a 42% de etanol v/v e esta mesma amostra diluída a 35% v/v, apresentando diferença significativa a 1%, avaliadas anteriormente em teste triangular. Foi realizada uma sessão para familiarização dos indivíduos com as características sensoriais do sabor da cachaça, utilizando-se a cachaça de 42% de etanol v/v. Após familiarização, os provadores foram solicitados a avaliar em cabines individuais, sob luz branca, a intensidade de sabor característico de cachaça em cada amostra, utilizando uma ficha com escala não estruturada de 9 cm, ancorada nos seus extremos com os termos “pouco característico” à esquerda e “bastante característico” à direita (**Anexo 28**). Cada um dos 14 voluntários avaliou as duas amostras em 4 repetições.

Os resultados individuais de cada provador foram submetidos à análise de variância (ANOVA) com duas fontes de variação: amostra e repetição. Os níveis de significância de cada voluntário para $F_{amostra}$ e $F_{repetição}$ foram computados. Provadores com p de $F_{amostra} \geq 0,3$ foram descartados por possuírem baixo poder de discriminação. Provadores com p de $F_{repetição} \leq 0,05$ foram também descartados devido ao baixo nível de reprodutibilidade dos julgamentos sensoriais, conforme sugerido pelo ASTM (1981).

Levantamento da terminologia descritiva

Para o desenvolvimento da terminologia descritiva das cachaças utilizou-se o Método de Rede descrito por KELLY (1955), citado por MOSKOWITZ (1983). Nesta etapa, as 4 amostras de cachaça foram apresentadas aos provadores em cabines individuais

com luz branca, em 6 sessões, sendo solicitado ao provador que descrevesse as similaridade e as diferenças entre as amostras, quanto à aparência, ao aroma e ao sabor (**Anexo 29**).

Após esta avaliação, os provadores reuniram-se e foram listados os descritores individuais gerados por cada um dos provadores. Após discussão, selecionou-se de forma consensual os termos mais freqüentes e importantes para descrever a aparência, o aroma e o sabor das amostras, eliminando-se os sinônimos e os termos citados similares para todas as amostras. Em sessões subseqüentes, amostras referências exemplificando a aparência, o aroma e sabor de cada descritor foram consensualmente gerados pelos provadores.

Uma ficha de avaliação das amostras foi também elaborada com os descritores gerados e adicionando-se ao lado de cada descritor uma escala de intensidade não estruturada de 9 cm, ancorada nos extremos esquerdo e direito com os termos “nenhum”/”fraco” e “forte”, respectivamente. Finalmente, a definição de cada descritor foi elaborada de forma consensual pela equipe de provadores.

Treinamento e seleção da equipe sensorial

No treinamento da equipe, os provadores eram solicitados a avaliar a intensidade dos atributos das diferentes cachaças, utilizando a ficha de avaliação previamente desenvolvida. Em cada sessão foram também apresentadas as amostras referências relativas aos diferentes descritores.

Após treinamento, procedeu-se a seleção de provadores, considerando-se a capacidade discriminativa, repetibilidade e consenso de cada indivíduo com a equipe sensorial, conforme sugerido por DAMÁSIO & COSTELL (1991). Para tanto, cada um dos voluntários avaliaram as quatro amostras em 4 repetições.

Os resultados individuais de cada provador foram submetidos à análise de variância (ANOVA), conforme descrito para a pré-seleção dos provadores.

Apresentação das amostras

Cinco mL de cada amostra foram servidos aos provadores através de apresentação monádica em cálices tipo tulipa, cobertos com vidro de relógio, que era retirado no momento do teste. As amostras foram codificadas com algarismos de três dígitos e avaliadas em cabines individuais, sob luz branca.

Avaliação das amostras

Para definição do perfil sensorial, as quatro amostras de cachaça, escolhidas através do teste de aceitação, foram avaliadas por todos os provadores em 4 repetições, utilizando-se a ficha de avaliação previamente desenvolvida. Em cada sessão foi servida apenas uma amostra (apresentação monádica), em cabines individuais sob luz branca, para a análise sensorial descritiva da aparência, do aroma e sabor.

2.3. Análise Estatística

Os dados sensoriais da ADQ foram submetidos à análise de variância (ANOVA) com fontes de variação (provador, amostra, provador x amostra), teste de média (Tukey) e Análise de Componentes Principais (ACP).

Os dados do teste de aceitação foram analisados através de Análise de Variância e teste de Tukey, sendo apresentados também na forma de histogramas.

Os dados instrumentais foram submetidos à Análise de Componentes Principais (ACP) e análise de correlação de Pearson.

O tratamento estatístico dos dados sensoriais e instrumentais foi realizado através do programa SAS[®], versão 6.12 (1996).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Teste de Aceitação

A análise dos dados por ANOVA e teste de Tukey mostrou que as amostras de cachaças não diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) em relação à aceitação do aroma. As cachaças 2, 4, 6, 7, 8 e 13 foram as de maior aceitação em relação ao sabor e diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) da cachaça 9, de menor aceitação, sendo que as demais amostras não diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) das amostras mais e menos aceitas. Em relação à impressão global, as cachaças 2 (mais aceita) e 9 (menos aceita) diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) entre si e as demais amostras não diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) destas duas amostras (**Tabela 1**).

Tabela 1: Médias¹ de aceitação das amostras de cachaça obtidos em teste de consumidor.

Cachaça	Aroma	Sabor	Impressão Global
1	4,7833a	4,4233ab	4,5433ab
2	5,5700a	5,0433a	5,0800a
3	5,0500a	4,4400ab	4,6700ab
4	4,7633a	4,6633a	4,6300ab
5	4,6333a	4,5200ab	4,5333ab
6	4,4967a	4,7533a	4,7067ab
7	4,7633a	4,5733a	4,5867ab
8	5,0700a	4,5733a	4,6533ab
9	5,1100a	3,0633b	3,4933b
10	4,9033a	4,2500ab	4,5900ab
11	5,2767a	4,3800ab	4,7133ab
12	4,7500a	4,0333ab	4,3333ab
13	4,8100a	4,5667a	4,5700ab

Médias com a mesma letra na mesma coluna não diferiram entre si ($p \leq 0,05$), $n=30$ provadores.

¹ (0=desgostei muitíssimo; 9=gostei muitíssimo)

Apesar das médias de algumas amostras não apresentarem diferença estatisticamente significativa, a distribuição das frequências dos valores atribuídos (**Figuras 2, 3 e 4**) permitiu visualizar algumas diferenças entre os intervalos definidos como: aceitação (valores de 5,1 a 9,0), indiferença (valores de 4,1 a 5,0) e rejeição (valores de 0 e 4,0) para as cachaças em relação ao aroma, ao sabor e à impressão global no teste de aceitação.

A **Figura 2** mostra que a cachaça 2 foi a mais aceita pelos consumidores com relação ao aroma, com 67% dos consumidores atribuindo notas entre 5,1 a 9,0, seguida pelas amostras 8, 9, 11, 3, 13, 1, 6 e 12, com aceitação maior que 50%. As cachaças 7, 10 e 11 foram as que obtiveram maior porcentagem de resposta de indiferença (valores entre 4,1 a 5,0), em torno de 30% e a amostra 6 foi a que obteve menor porcentagem desta resposta, 10%. A maior porcentagem de rejeição pelos consumidores, com valores atribuídos entre 0 e 4,0, foi para as cachaças 4 e 6 (40%).

Em relação ao sabor (**Figura 3**), as amostras 2, 6 e 4 apresentaram aceitação maior que 50% pelos consumidores, sendo que a amostra 2 apresentou a maior porcentagem de respostas (67%), por outro lado as cachaças 9 e 12 foram as únicas a apresentarem rejeição igual ou acima de 50% pelos consumidores, sendo que a amostra 9 obteve 70% das respostas.

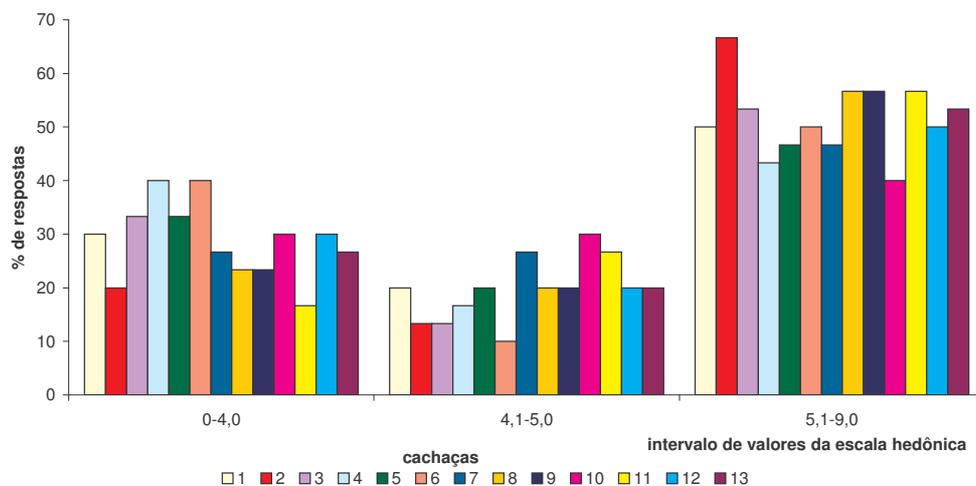


Figura 2: Representação gráfica dos resultados de aceitação de cachaça em relação ao aroma.

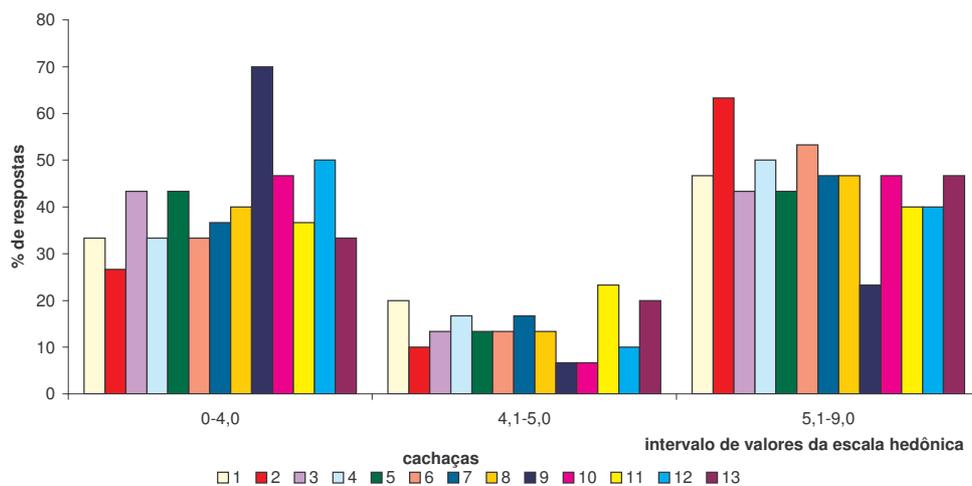


Figura 3: Representação gráfica dos resultados de aceitação de cachaça em relação ao sabor.

E finalmente, em relação à impressão global (**Figura 4**), as cachaças 2, 6, 13, 4 e 8 foram as amostras com maior aceitação (acima de 50%) pelos consumidores, enquanto a cachaça 9 foi a única amostra que apresentou rejeição acima de 50%, indicando que os consumidores desgostaram desta amostra.

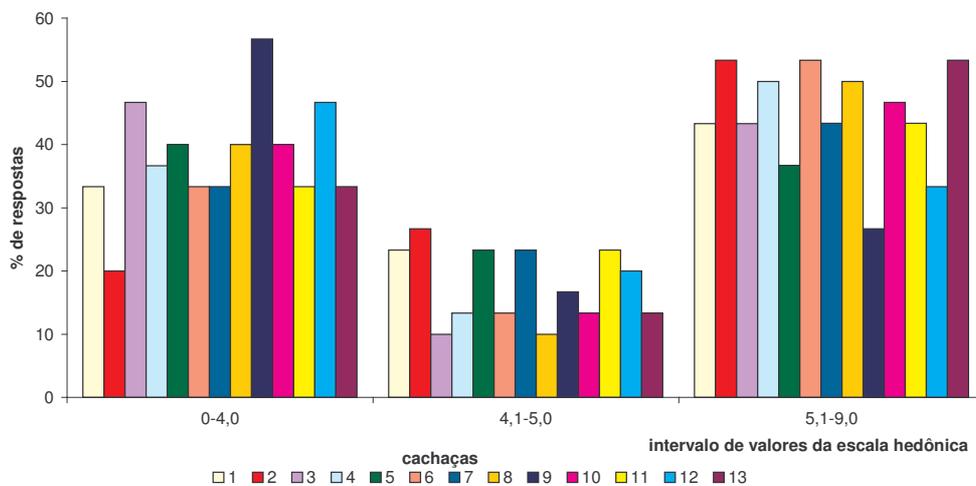


Figura 4: Representação gráfica dos resultados de aceitação de cachaça em relação à impressão global.

Os valores obtidos em relação à atitude de compra estão representados no histograma apresentado na **Figura 5**. Os consumidores mostraram atitude de compra positiva ($\geq 50\%$) em relação às cachaças, indicando que comprariam estas amostras em um grau de “talvez compraria” ou maior.

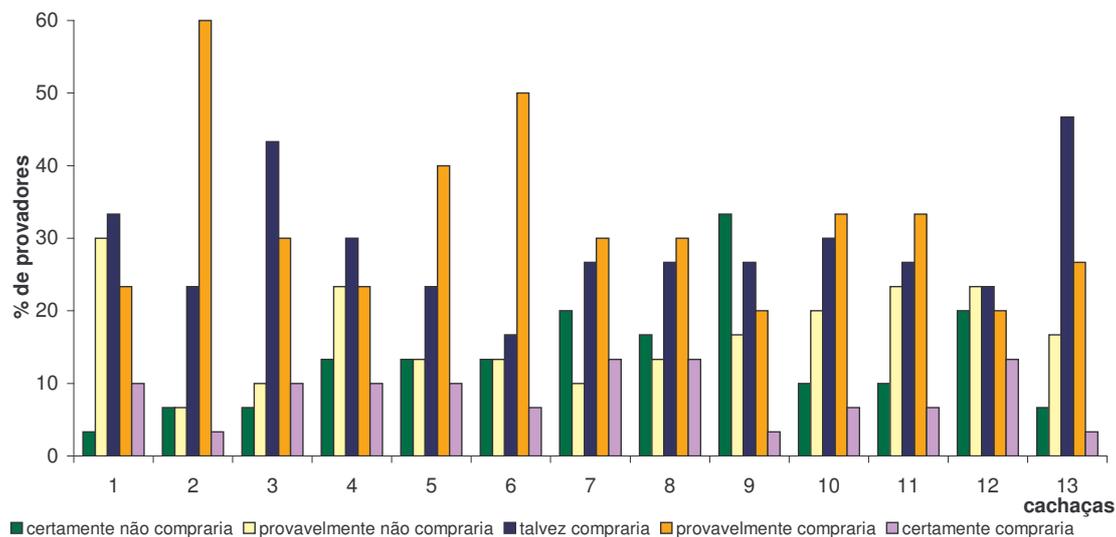


Figura 5: Representação gráfica dos resultados de cachaças do teste de atitude de compra.

A cachaça 2, a mais aceita, obteve a maior porcentagem de resposta favorável (cerca de 63%), seguida da cachaça 6 (57%) e 5 (50%), indicando que os provadores comprariam estas amostras em um grau de “possivelmente compraria” ou maior. As cachaças 13 e 3 mostraram que tem uma grande parcela de consumidores indecisos (47% e 43%, respectivamente), com atitude de “talvez compraria, talvez não compraria”. A amostra 9, a menos aceita, foi a única que apresentou atitude de rejeição pelos consumidores de 50%, em um grau de “possivelmente compraria” e “certamente não compraria”.

As cachaças 7, 8 e 12 foram as que apresentaram uma maior parcela dos consumidores com atitude de “certamente compraria” (13,3%), a cachaça 2 de “possivelmente compraria” (60%), enquanto as cachaças 1 e 9 apresentaram as maiores porcentagens de atitude de rejeição pelo consumidor, “provavelmente não compraria” (30%) e “certamente não compraria” (33,3%), respectivamente.

Quando solicitados a informarem o que “mais gostaram” e “menos gostaram” nas cachaças (**Anexo 30**) os termos “gosto bem ardido”, “ardência” e “gosto ardido” foram citados com grande frequência no item “menos gostou” nas cachaças 7, 8, 9 e 13, o mesmo ocorrendo para os termos “gosto residual amargo”, “gosto amargo” e “gosto residual” para as cachaças 2, 4, 7 e 9. O termo “agressividade” também foi citado no item “menos gostou” para a cachaça 9. Na cachaça 13, também o termo mais citado foi “sabor forte alcoólico”, no item “menos gostou”, o mesmo ocorrendo para a cachaça 6. Por outro lado, na cachaça 3, no item “mais gostou”, o termo mais citado foi “sabor adocicado”, o mesmo ocorrendo para a cachaça 4 com o termo “sabor suave”.

Em função dos resultados obtidos e discutidos anteriormente, as amostras de cachaça escolhidas para a Análise Descritiva Quantitativa foram:

- a cachaça 2 por ser a amostra mais aceita pelos provadores, com as maiores médias no aroma, sabor e impressão global;
- a cachaça 9 por ser a amostra menos aceita, com as menores médias no sabor e impressão global;
- e mais duas amostras intermediárias, a cachaça 3 e a cachaça 6, a primeira por sua importância econômica, tanto na produção anual como em relação às exportações e a segunda, por ser uma amostra que ainda não foi descrita sensorialmente e também de menor produção.

3.2. Análise Descritiva Quantitativa

3.2.1. Recrutamento e pré-seleção dos provadores

Dentre os 14 provadores recrutados, 3 foram eliminados por apresentarem baixo poder discriminativo, sendo que um destes não apresentou consenso com a equipe. Os 11 provadores selecionados discriminaram a diferença de intensidade de sabor característico de cachaça ao nível de $p < 0,30$, mostraram também boa repetibilidade em seus julgamentos ($p > 0,05$) e consenso com o grupo (**Anexos 31 e 32**). Destes 11 provadores, um não pode continuar os testes sensoriais por motivo particular e a equipe sensorial ficou constituída por 10 provadores.

3.2.2. Terminologia descritiva

Inicialmente, os provadores geraram 42 descritores (**Anexo 33**). Após discussão e comparação com amostras referências, ao longo de várias sessões, tais descritores foram reduzidos a 10. Os descritores, suas definições e referências encontram-se listados na **Tabela 2**. A **Figura 6** mostra a ficha de avaliação das amostras de cachaça, gerada de forma consensual pelos provadores.

Tabela 2: Definições e referências utilizadas para descrever os atributos da cachaça.

APARÊNCIA		
Corpo	É a aderência da solução alcoólica nas paredes do cálice transparente	Fraco: etanol a 35% Forte: etanol a 52%
AROMA		
Adocicado	É o aroma característico de soluções adocicadas	Fraco: etanol a 38% contendo 1,0% de sacarose Forte: etanol a 38% contendo 3,2% de sacarose
Alcoólico	É o aroma característico de etanol	Fraco: etanol a 38% Forte: etanol a 52%
Irritante	É o impacto irritante e agressivo na mucosa nasal	Nenhum: etanol a 38% Forte: run Havana
SABOR		
Ardência inicial	É a ardência inicial percebida na ponta da língua	Nenhum: etanol a 38% Forte: cachaça bidestilada Jequity
Encorpado	É a aderência na boca, que envolve a língua, densidade	Fraco: etanol a 38% Forte: vodca Smirnoff
Adocicado	É o gosto doce percebido pelas papilas gustativas	Fraco: etanol a 38% contendo 1,0% de sacarose Forte: etanol a 38% contendo 3,0% de sacarose
Alcoólico	É o sabor característico de soluções alcoólicas	Fraco: etanol a 35% Forte: etanol a 48%
Ardência final	É a ardência final percebida na garganta ao engolir	Nenhum: etanol a 38% Forte: run Havana
Amargo	É o gosto amargo, característico de cafeína	Nenhum: etanol a 38% Forte: etanol a 38% contendo 0,06% de cafeína

Nome: _____ Data: _____

Por favor, avalie a aparência, depois aspire e prove a amostra de **Cachaça** e assinale a intensidade de cada atributo, utilizando a escala correspondente.

Amostra nº _____

Aparência

Corpo fraco forte
|-----|

Aroma

Adocicado fraco forte
|-----|

Alcoólico fraco forte
|-----|

Irritante fraco forte
|-----|

Sabor

Ardência inicial fraco forte
|-----|

Encorpado fraco forte
|-----|

Alcoólico fraco forte
|-----|

Adocicado fraco forte
|-----|

Ardência final fraco forte
|-----|

Amargo fraco forte
|-----|

Comentários: _____

Figura 6: Ficha de avaliação dos atributos das cachaças.

3.2.3. Treinamento e seleção de provadores

Após rigoroso período de treinamento, foi feita a análise dos parâmetros estatísticos relativos ao poder discriminativo e reprodutibilidade de cada provador com a equipe sensorial, em cada atributo julgado na fase de seleção dos provadores (**Anexo 34**).

De uma maneira geral, todos os provadores apresentaram poder discriminativo alto para todos os atributos julgados, com exceção de um provador que apresentou baixo poder discriminativo para os atributos aroma alcoólico, gosto adocicado e sabor alcoólico (**Anexo 34**). Quanto à repetibilidade dos julgamentos sensoriais, a mesma foi boa para todos os provadores em relação a todos os atributos.

A maioria dos provadores foi consensual com a equipe sensorial por atributo julgado. Apenas o mesmo provador que não apresentou poder discriminativo para alguns atributos, também não foi consensual com a equipe para os atributos aroma alcoólico, sabor alcoólico, ardência final e gosto amargo. Portanto, este provador foi eliminado da equipe sensorial, pois apresentou baixo poder discriminativo, além de não apresentar consenso com a equipe em alguns atributos julgados.

A equipe sensorial descritiva ficou resumida a 9 provadores para a realização dos testes sensoriais das cachaças, sendo 7 indivíduos do sexo feminino e 2 do sexo masculino.

Os resultados da ANOVA revelaram interações significativas entre amostra x provador em todos os atributos, apesar do rigoroso processo de seleção e treinamento imposto à equipe sensorial. A média de cada atributo foi graficada, para cada provador, por amostra e observou-se que nenhuma interação poderia ser considerada grave, sendo as amostras avaliadas de forma razoavelmente consensual. A análise dos gráficos citados indicou que a interação amostra x provador foi causada pelo grau de diferença entre as amostras, observadas por cada provador.

3.2.4. Caracterização sensorial das amostras

O perfil sensorial das cachaças analisado por 9 provadores selecionados e treinados está apresentado na **Figura 7**. No presente estudo, este gráfico mostra que as 4 cachaças apresentaram perfis sensoriais bastante distintos entre si.

A cachaça 2, mais aceita entre os consumidores, apresentou maior intensidade dos atributos aroma adocicado, ardência inicial, sabor encorpado e gosto adocicado. As cachaças 3 (aceitação intermediária) e 9 (menos aceita) apresentaram perfis sensoriais bastante semelhantes entre si, ressaltando que a cachaça 9 apresentou maior intensidade dos

atributos aroma irritante, ardência final e gosto amargo. A cachaça 6 (aceitação intermediária) apresentou maior intensidade dos atributos corpo, aroma alcoólico e sabor alcoólico.

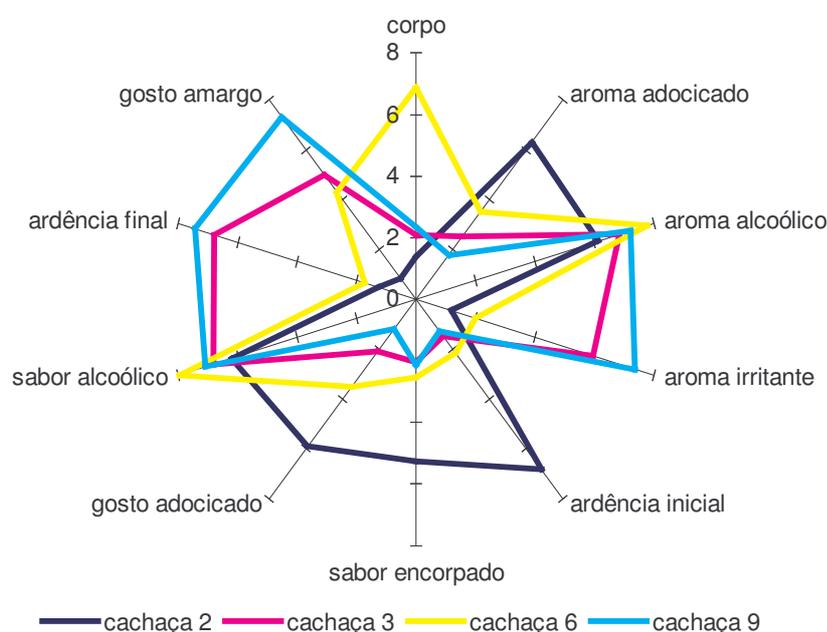


Figura 7: Representação gráfica dos resultados da Análise Descritiva Quantitativa para as cachaças.

Estes resultados foram confirmados pelo teste de médias de Tukey, que estão expressas na **Tabela 3**. As cachaças diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) entre si em relação a todos os atributos julgados.

Tabela 3: Médias da equipe sensorial para a intensidade dos atributos de aparência, aroma e sabor das amostras de cachaça.

ATRIBUTO	Cachaça 2	Cachaça 3	Cachaça 6	Cachaça 9	MDS
Corpo	1,3844 c	2,0844 b	6,8688 a	2,3469 b	0,3902
Aroma Adocicado	6,2813 a	2,5438 c	3,4969 b	1,7906 d	0,4797
Aroma Alcoólico	6,1344 c	6,8375 b	7,7625 a	7,2062 b	0,3874
Aroma Irritante	1,1781 d	5,9406 b	1,9969 c	7,3500 a	0,3529
Ardência Inicial	6,8344 a	1,4688 c	2,1656 b	1,2875 c	0,3825
Sabor Encorpado	5,2469 a	2,0344 b	2,5344 b	2,1313 b	0,6709
Gosto Adocicado	5,8781 a	2,0844 c	3,4938 b	1,2062 d	0,5195
Sabor Alcoólico	6,1969 c	6,8031 b	7,9438 a	7,0937 b	0,3823
Ardência Final	1,2750 d	6,7906 b	1,7344 c	7,4406 a	0,4220
Gosto Amargo	0,8375 d	4,9781 b	4,3000 c	7,2875 a	0,4274

MDS: mínima diferença significativa; Médias com letra em comum na mesma linha não diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) entre si pelo teste de Tukey.

Todas as cachaças diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) entre si em relação aos atributos aroma adocicado e gosto adocicado, sendo que a cachaça 2 obteve a maior média, enquanto a cachaça 9 apresentou a menor média. A cachaça 2 também obteve a maior média para os atributos ardência inicial e sabor encorpado. Para o atributo ardência inicial, a cachaça 2 diferiu significativamente ($p \leq 0,05$) das demais amostras, seguida da cachaça 6, que também diferiu significativamente ($p \leq 0,05$) das cachaças 3 e 9, que não diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) entre si. Em relação ao atributo sabor encorpado, a cachaça 2 diferiu significativamente ($p \leq 0,05$) das cachaças 3, 6 e 9 e estas não diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) entre si.

Para os atributos corpo, aroma alcoólico e sabor alcoólico, a cachaça 6 obteve a maior média e diferiu significativamente ($p \leq 0,05$) das demais amostras, seguida das cachaças 9 e 3, que não diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) entre si e, por último, a cachaça 2 apresentou a menor média e diferiu significativamente das outras amostras.

Para os atributos aroma irritante, ardência final e gosto amargo todas as amostras diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) entre si, sendo que a cachaça 9 obteve a maior média, seguida das cachaças 3, 6 e 2, esta com a menor média.

Similaridades e diferenças entre as 4 amostras de cachaça estudadas foram também evidenciadas pelo gráfico obtido através da Análise de Componentes Principais (ACP), que foi efetuada empregando-se o valor médio de cada amostra, da equipe sensorial, em cada repetição.

Na representação gráfica da ACP (**Figura 8**), cada eixo explica uma porcentagem da variação total que existe entre as amostras. No presente estudo, os dois primeiros eixos (prin I e prin II) explicaram 79,74% da variação observada, sendo que o primeiro explicou 58,33% desta variação. Isto demonstra que os descritores empregados discriminaram satisfatoriamente as amostras analisadas e que estas variações sensoriais entre elas podem ser razoavelmente explicadas utilizando-se os dois primeiros eixos.

Na ACP, os atributos sensoriais foram representados como vetores. A parte positiva do eixo I está associada aos descritores gosto amargo, ardência final, aroma irritante e sabor alcoólico. Assim, quanto mais à direita nesse eixo as amostras se encontrarem maior a intensidade desses atributos nas amostras. O lado negativo do eixo I está associado aos descritores gosto adocicado, aroma adocicado e ardência inicial. Portanto, quanto mais à esquerda nesse eixo as amostras, maior a intensidade desses atributos nas amostras. O eixo

II do lado positivo está associado ao descritor corpo e aroma alcoólico e do lado negativo ao descritor sabor encorpado.

A importância dos atributos na discriminação entre as amostras pode ser verificada através do tamanho do vetor representativo de cada atributo. Quanto maior o vetor, mais importante seu papel para discriminar as amostras, enquanto vetores de tamanho reduzido indicam atributos nos quais as amostras pouco diferem entre si. Assim, os vetores sabor encorpado e sabor alcoólico têm pequena contribuição na discriminação das amostras. A cachaça 2 caracterizou-se por uma maior intensidade do atributo sabor encorpado, entretanto, as demais amostras não diferiram significativamente entre si em relação a este atributo. No caso do atributo sabor alcoólico, as médias das amostras foram muito próximas.

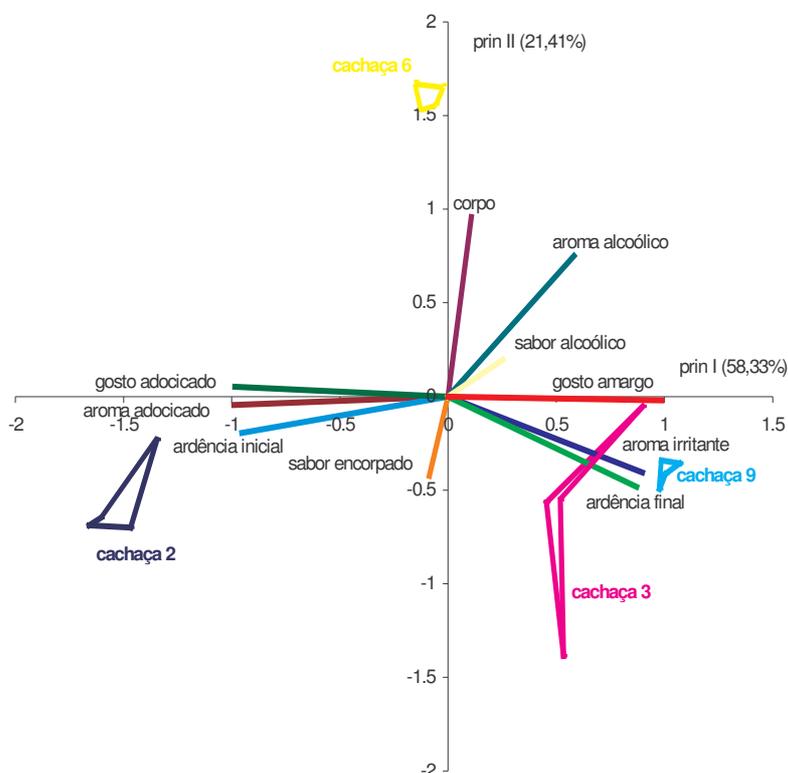


Figura 8: Análise dos Componentes Principais (ACP) das quatro cachaças.

As amostras representadas na **Figura 8** como azul (cachaça 2), rosa (cachaça 3), amarelo (cachaça 6) e verde (cachaça 9), quando próximas entre si, apresentam similaridade em seus perfis sensoriais e quando distantes entre si, apresentam alta dissimilaridade. Assim, a separação espacial das amostras na **Figura 8** sugere que estas

apresentam características bastante distintas entre si e a proximidade das repetições indica boa reprodutibilidade da equipe sensorial.

A localização de cada cachaça em relação aos vetores sugere qual atributo se apresenta em maior intensidade naquela amostra, pois as amostras situam-se próximas dos vetores (atributos) que as caracterizam. Assim, a **Figura 8** sugere que a cachaça 2 (mais aceita) basicamente se caracterizou pelos atributos gosto adocicado, aroma adocicado, ardência inicial e, em menor extensão, pelo atributo sabor encorpado. Sua posição na **Figura 8** sugere que, de todas as amostras, ela é a que apresenta menor intensidade de gosto amargo, aroma irritante e ardência final. A cachaça 6 apresentou alta intensidade do atributo corpo. As cachaças 3 e 9 (menos aceita) apresentaram maior intensidade dos atributos ardência final, aroma irritante e gosto amargo, sendo que a cachaça 9, por localizar-se mais à direita do eixo I, apresentou maiores intensidades desses atributos, conforme pode ser comprovado pela **Tabela 3**.

3.3. Relações entre os Voláteis presentes nas Cachaças e os Perfis Sensoriais

Foram identificados 65 compostos voláteis nas amostras de cachaça, entre eles 21 ésteres, 10 ácidos, 9 álcoois, 9 fenóis, 6 terpenos, 4 aldeídos, 4 cetonas e 2 lactonas. Embora não tenha havido diferença qualitativa entre os compostos voláteis presentes nas cachaças, ocorreu uma grande variação na quantidade encontrada de cada composto nas diferentes amostras (**Capítulo 4**).

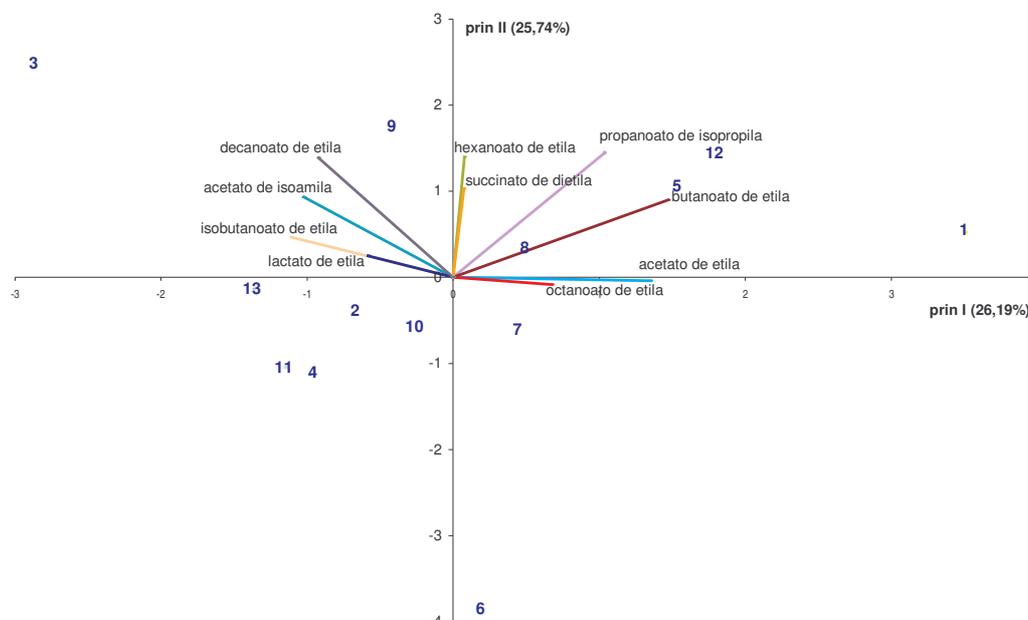
Para melhor visualização de quais compostos voláteis caracterizavam as diferentes amostras, foi realizada uma análise de componentes principais (ACP), gerada utilizando-se a concentração dos compostos voláteis em cada uma das treze cachaças comerciais. Nos gráficos de ACP (**Figuras 9, 10, 11, 12, 13, 14 e 15**), os compostos voláteis foram agrupados em classes químicas, quais sejam, ésteres, álcoois, terpenos, ácidos, aldeídos, fenóis, cetonas e lactonas. Devido ao grande número de ésteres identificados, estes foram ainda divididos em dois grupos e por outro lado, os aldeídos, as cetonas e as lactonas foram alocados em um mesmo grupo. Nesses gráficos, os compostos voláteis foram representados através de vetores e as amostras como números variando de 1 a 13. A análise das **Figuras 9 a 15** conjuntamente com os dados da **Tabela 1 (Capítulo 4)** permitiu a discussão que se segue.

Na representação gráfica da ACP de alguns compostos voláteis da classe dos ésteres (acetato de etila, propanoato de isopropila, isobutirato de etila, butirato de etila, acetato de isoamila, hexanoato de etila, lactato de etila, octanoato de etila, decanoato de etila, succinato de dietila), os dois primeiros eixos explicaram juntos 51,93% das variações observadas (**Figura 9**).

A parte positiva do eixo I (**Figura 9**) está associada ao acetato de etila, butanoato de etila e propanoato de isopropila, sugerindo que a cachaça 1, alocada à direita do eixo I, foi caracterizada por apresentar maiores concentrações desses ésteres, sendo que o butanoato de etila e o propanoato de isopropila também caracterizaram em menor extensão as cachaças 5, 8 e 12. Por outro lado, a cachaça 1 caracterizou-se por baixas concentrações de acetato de isoamila e lactato de etila, compostos localizados na porção negativa do eixo I.

O lado negativo do eixo I foi associado ao lactato de etila, isobutanoato de etila, acetato de isoamila e decanoato de etila. A cachaça 3 (de aceitação intermediária e com maior intensidade dos atributos ardência final, gosto amargo e aroma irritante), foi alocada à esquerda do eixo I, caracterizando-se por apresentar maiores concentrações dos ésteres acetato de isoamila, decanoato de etila e isobutanoato de etila. Por outro lado, esta amostra apresentou baixas concentrações de acetato de etila e octanoato de etila, compostos associados à porção positiva do eixo I.

Figura 9: Análise dos componentes principais para a classe dos ésteres.



A amostra 9, de perfil sensorial similar à amostra 3 (**Figura 8**) junto com a amostra 13, foi a que se alocou mais próxima à amostra 3, sugerindo um perfil de voláteis similar a esta amostra. Entretanto, uma vez que a porção positiva do eixo II foi associada ao

hexanoato de etila e succinato de dietila, a cachaça 9, alocada próxima a este eixo, apresentou maiores concentrações de hexanoato de etila e quantidades elevadas de decanoato de etila e succinato de dietila.

Próximo ao eixo II na porção negativa, que não foi associado a nenhum éster, está alocada a amostra 6. A distância espacial entre as cachaças 3, 6 e 1 sugere que estas apresentam alta dissimilaridade em relação aos ésteres analisados. A cachaça 6 apresentou as menores concentrações de todos os ésteres analisados nesta ACP, enquanto as cachaças 3 e 1 foram caracterizadas por ésteres distintos, como mencionado acima. A **Figura 8** confirma a alta dissimilaridade de perfil sensorial entre as amostras 3 e 6.

Os compostos octanoato de etila, lactato de etila e succinato de dietila, representados como vetores, tiveram pouca importância na discriminação das amostras de cachaças, devido ao seu reduzido tamanho.

A **Figura 10** representa a análise de componentes principais dos demais ésteres (acetato de isobutila, 2-metilbutanoato de etila, isovalerato de etila, acetato de butila, 3-hidroxiacetato de etila, furanoato de etila, benzoato de etila, acetato de feniletila, dihidrocinamato de etila, cinamato de etila e vanilato de etila). Os dois primeiros eixos explicaram juntos 57,72% das variações observadas.

O eixo I do lado positivo foi associado ao dihidrocinamato de etila, cinamato de etila, benzoato de etila, furanoato de etila e isovalerato de etila. A cachaça 12, alocada no lado direito do eixo I, foi caracterizada por altas concentrações desses ésteres.

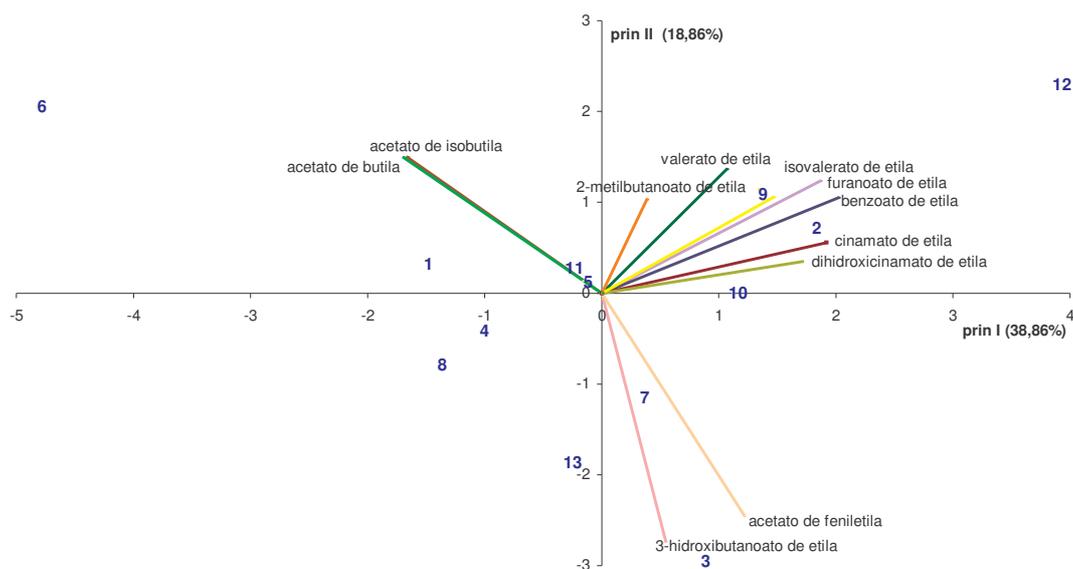


Figura 10: Análise dos componentes principais para a classe dos ésteres.

As cachaças 2, 9 e 10 foram alocadas no mesmo quadrante que a cachaça 12. A cachaça 2 (mais aceita) foi alocada próxima ao vetor cinamato de etila, sugerindo que esta amostra apresenta maiores concentrações deste composto, o mesmo ocorrendo para a cachaça 10 em relação ao dihidrocinamato de etila e para a cachaça 9 (menos aceita), em relação ao isovalerato de etila.

Os compostos acetato de butila e acetato de isobutila estão posicionados entre o eixo I do lado negativo e o eixo II do lado positivo. A localização da cachaça 6 (aceitação intermediária e com maior intensidade dos atributos corpo, aroma e sabor alcoólico), a esquerda do eixo I, sugere que esta deve apresentar maiores concentrações desses dois compostos.

Os compostos acetato de fenila e 3-hidroxi butirato de etila foram associados ao eixo II no lado negativo, sugerindo que a cachaça 3 (de aceitação intermediária e com maior intensidade dos atributos aroma irritante, ardência final e gosto amargo), alocada próxima a este eixo, foi a que apresentou maiores concentrações destes ésteres, sendo que os demais apresentaram pouca importância em sua caracterização. A cachaça 7 está alocada próximo do lado negativo do eixo II e próxima do vetor 3-hidroxi butirato de etila, sugerindo que este composto esteja presente em grande quantidade nessa amostra.

A distância espacial entre as cachaças 3, 6 e 12 sugere que estas apresentam alta dissimilaridade em relação aos ésteres analisados. Cabe salientar ainda que a cachaça 6 foi a que apresentou menores quantidades dos compostos 3-hidroxi butirato de etila, acetato de feniletila, benzoato de etila, furanoato de etila, isovalerato de etila, 2-metilbutanoato de etila, dihidrocinamato de etila e cinamato de etila, enquanto a cachaça 3 apresentou baixa quantidade de 2-metilbutanoato de etila. A **Figura 8** confirma a alta dissimilaridade de perfil sensorial entre as amostras 3 e 6.

A análise dos componentes principais da classe dos álcoois (isobutanol, butanol, álcool isoamílico, hexanol, cis-3-hexenol, furfural álcool, metionol, álcool benzílico, β -feniletanol) está representada na **Figura 11**. Os eixos I e II explicaram juntos 71,95% das variações observadas.

O eixo I na porção positiva foi associado aos compostos metionol, β -feniletanol e cis-3-hexenol. As cachaças 3 (aceitação intermediária), 2 (mais aceita) e 7, alocadas próximas a este eixo, foram caracterizadas por maiores concentrações desses compostos. O lado negativo do eixo I foi associado ao butanol, sugerindo que a cachaça 6 (de aceitação intermediária e com maior intensidade dos atributos corpo, aroma e sabor alcoólico), alocada próxima a este eixo, apresentou maiores concentrações de butanol.

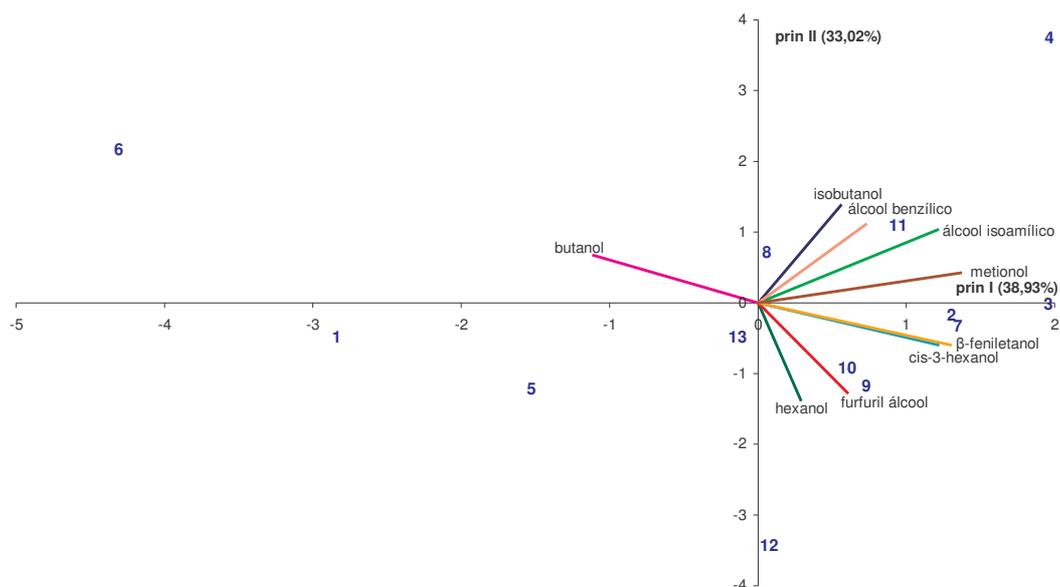


Figura 11: Análise dos componentes principais para a classe dos álcoois.

O lado positivo do eixo II foi associado também aos álcoois benzílico e isobutanol. A cachaça 4, alocada no lado positivo do eixo I, apresentou maiores concentrações desses dois álcoois além do isoamílico. A cachaça 12 apresentou maiores concentrações de hexanol e do furfuril álcool, por estar alocada próxima ao lado negativo do eixo II. O composto furfuril álcool também caracterizou em menor extensão as cachaças 9 e 10, alocadas próximas a esse vetor.

As cachaças 4, 6 e 12 estão espacialmente bem distantes, sugerindo que estas apresentam alta dissimilaridade em relação aos álcoois analisados. Além dos álcoois distintos que a caracterizam, a cachaça 4 apresentou baixa quantidade de hexanol e furfuril álcool, enquanto a cachaça 12 apresentou baixos teores de butanol, isobutanol e isoamílico.

A cachaça 6 apresentou baixa quantidade de álcoois, já que está alocada opostamente a estes vetores, com exceção do butanol, que a caracterizou. As cachaças 1 e 5 não foram caracterizadas por nenhum vetor e apresentaram baixa quantidade de álcoois.

A **Figura 12** representa a ACP da classe dos terpenos (linalol, α -terpineol, β -citronelol, eugenol, isoeugenol e farnesol). Os eixos I e II explicaram juntos 83,57% das variações observadas.

O lado positivo do eixo I foi associado ao farnesol, isoeugenol e β -citronelol, sendo que a cachaça 2 (de maior aceitação), alocada próxima a este eixo, apresentou maiores concentrações desses compostos. A porção positiva do eixo II foi associada ao eugenol e as cachaças 2, 3, 8, 9 e 12, alocadas próximas a este eixo, foram caracterizadas por maiores concentrações deste composto.

A cachaça 11, alocada a direita do eixo I e na porção negativa do eixo II, caracterizou-se por maiores concentrações de linalol e α -terpineol.

A distância espacial entre as cachaças 1 (aceitação intermediária), 2 (mais aceita e caracterizada por maior intensidade dos atributos aroma adocicado, ardência inicial, sabor encorpado e gosto adocicado), 6 (aceitação intermediária e caracterizada por maior intensidade dos atributos corpo, aroma e sabor alcoólico) e 11 (aceitação intermediária) sugerem que estas apresentaram características bem distintas entre si. As cachaças 2 e 11 diferiram entre si pelos terpenos que as caracterizam, enquanto as cachaça 6 e 1, alocadas no lado negativo do eixo I e distante de todos os vetores, apresentaram as menores concentrações de terpenos. A **Figura 8** confirma a alta dissimilaridade de perfil sensorial entre as amostras 2 e 6.

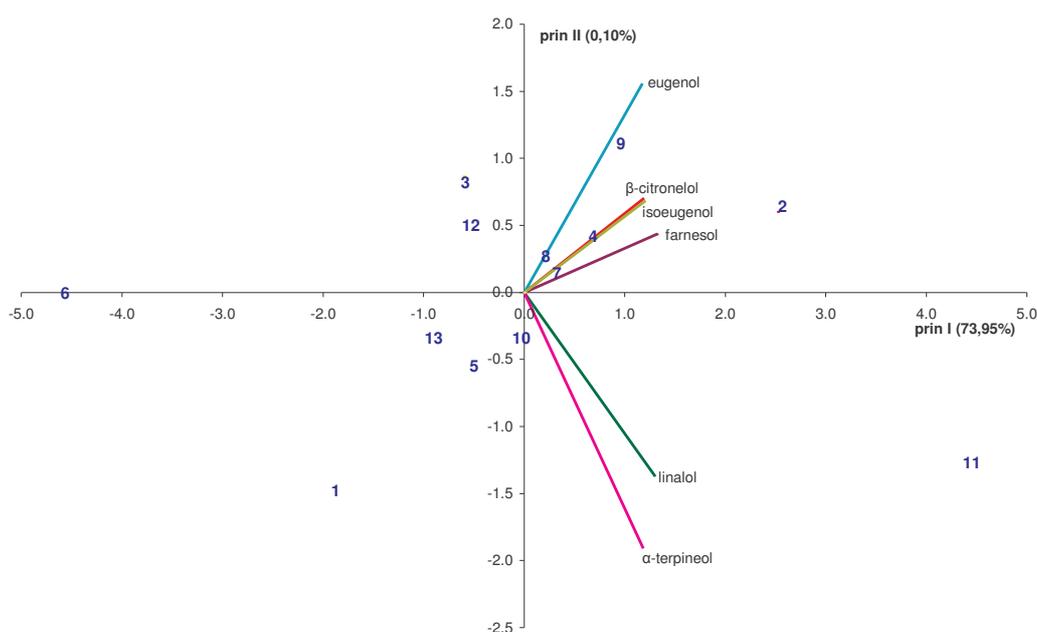


Figura 12: Análise dos componentes principais para a classe dos terpenos.

A **Figura 13** mostra a representação gráfica da ACP da classe dos ácidos (propanóico, isobutírico, butírico, isovalérico, 2-metilbutírico, hexanóico, heptanóico, octanóico, decanóico e dodecanóico). Os dois primeiros eixos explicaram 73,46% das variações observadas.

Todos os ácidos tiveram a mesma importância para discriminar as amostras de cachaça, pois apresentaram tamanhos semelhantes de vetores.

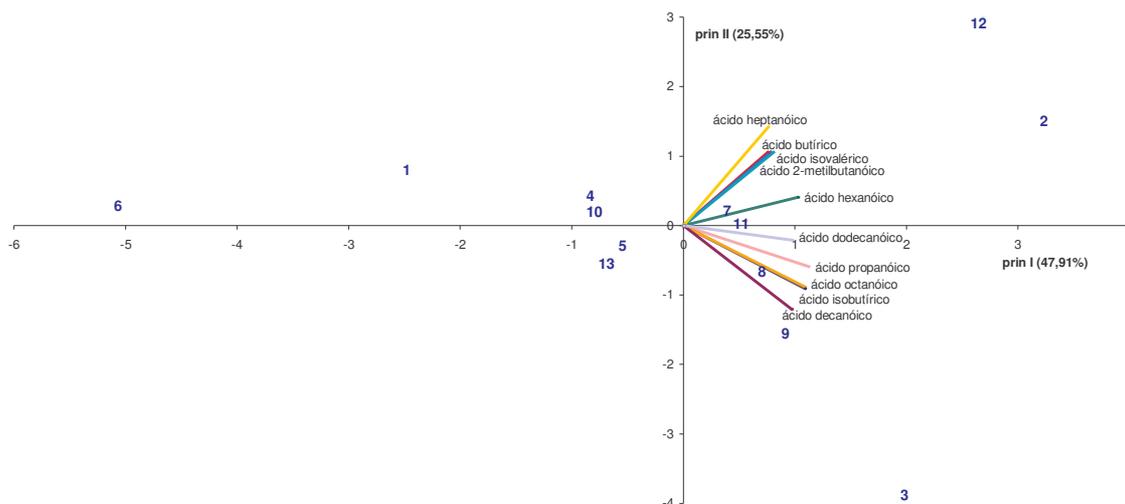


Figura 13: Análise dos componentes principais para a classe dos ácidos.

As cachaças 2 (mais aceita e caracterizada por maior intensidade dos atributos aroma adocicado, ardência inicial, sabor encorpado e gosto adocicado) e 12 (aceitação intermediária), próximas entre si, foram alocadas à direita do eixo I do lado positivo do eixo II e caracterizadas por altas concentrações dos ácidos hexanóico, heptanóico, butírico, isovalérico e 2-metilbutanóico. A cachaça 7, caracterizada por quantidades elevadas dos ácidos butírico, isovalérico, 2-metilbutanóico e a cachaça 11, caracterizada pelos ácidos dodecanóico, hexanóico, foram alocadas próxima ao lado positivo do eixo I.

A cachaça 3 (aceitação intermediária) foi caracterizada por altas concentrações dos ácidos decanóico, isobutírico, octanóico e propanóico que, em menor extensão, também caracterizaram a cachaça 9 (menos aceita), ambas alocadas à direita do eixo I, na porção negativa do eixo II. Estas amostras apresentaram perfis sensoriais semelhantes, caracterizadas por maior intensidade dos atributos aroma irritante, ardência final e gosto amargo (**Figura 8**).

As cachaças 3, 6 e 12 estão localizadas distantes uma das outras, mostrando alta dissimilaridade entre si. A cachaça 6 (aceitação intermediária e com maiores intensidades

dos atributos corpo, aroma e sabor alcoólico), alocada na porção negativa do eixo I e opostamente a todos os vetores, apresentou menores quantidades dos ácidos, seguida das amostras 1, 4, 5, 10 e 13. Além dos distintos ácidos que caracterizaram as cachaças 3 e 12, a cachaça 3 também apresentou baixas quantidades dos ácidos heptanóico, butírico, isovalérico e 2-metilbutanóico enquanto a cachaça 12, do ácido decanóico. A **Figura 8** confirma a alta dissimilaridade de perfil sensorial entre as amostras 3 e 6.

A **Figura 14** mostra a representação gráfica dos componentes principais dos fenóis (guaiaicol, o-cresol, 4-etilguaiaicol, m-cresol, 4-propilguaiaicol, 4-etilfenol, 4-vinilguaiaicol, 2,6-dimetoxifenol e 4-vinilfenol). Os eixos I e II explicaram juntos 80,70% da variação observada.

Os vetores representados pelos compostos voláteis apresentaram tamanhos iguais, com exceção do 2,6-dimetoxifenol, de tamanho reduzido, indicando que sua presença pouco influenciou para diferenciar as amostras.

A cachaça 9 (menos aceita e com maior intensidade dos atributos aroma irritante, ardência final e gosto amargo), alocada do lado direito do eixo I e do lado positivo do eixo II, foi caracterizada principalmente por altas concentrações de 4-vinilfenol e m-cresol, além de quantidades elevadas de guaiaicol e o-cresol.

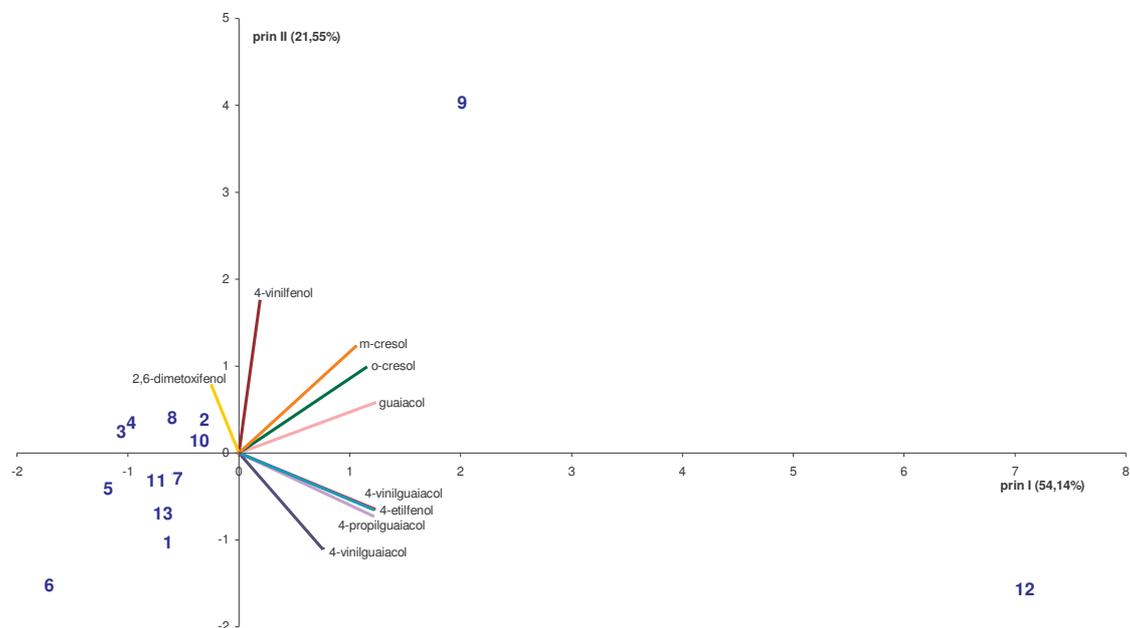


Figura 14: Análise dos componentes principais para a classe dos fenóis.

A cachaça 12, alocada do lado direito do eixo I e do lado negativo do eixo II, apresentou maiores concentrações de 4-etilfenol, 4-propilguaiaicol e 4-etilguaiaicol. As

demais amostras estão localizadas próximas entre si, do lado esquerdo do eixo I e distante dos vetores, sugerindo que pouco se diferenciam em relação à quantidade dos fenóis.

A separação espacial das cachaças 9 (menos aceita), 12 (aceitação intermediária) e 6 (aceitação intermediária) sugere que as mesmas apresentam diferenças na composição de fenóis. As cachaças 9 e 12 diferiram quanto aos fenóis que as caracterizaram e a cachaça 6 foi a que apresentou menores concentrações desta classe química. A **Figura 8** confirma a alta dissimilaridade de perfil sensorial entre as amostras 6 e 9.

A **Figura 15** representa o gráfico obtido através da ACP dos compostos identificados das classes dos aldeídos (acetaldeído, furfural, 5-metilfurfural e vanilina), das cetonas (acetoína, β -damascenona, α -ionona e β -ionona) e das lactonas (γ -nonalactona e γ -decalactona). Os eixos I e II explicaram 57,04% das variações observadas.

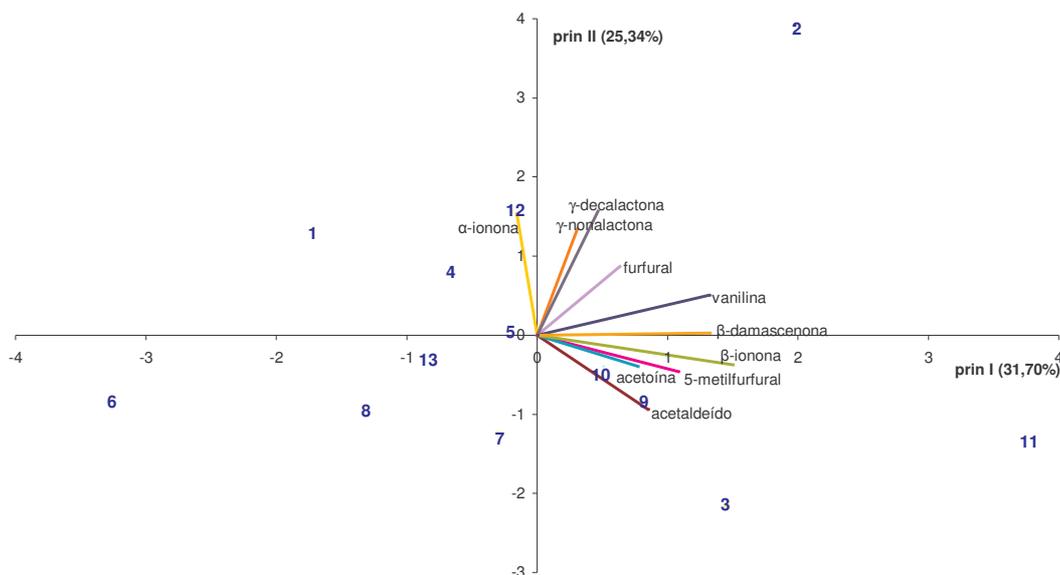


Figura 15: Análise dos componentes principais para a classe das cetonas, aldeídos e lactonas.

O lado positivo do eixo I está associado aos compostos β -damascenona, vanilina, β -ionona e 5-metilfurfural, sugerindo que a cachaça 11, alocada próxima a este eixo, foi caracterizada por maiores concentrações destes compostos.

A cachaça 3 (aceitação intermediária), alocada do lado negativo do eixo II, foi caracterizada principalmente por maior concentração de acetaldeído.

A porção positiva do eixo II foi associada às lactonas (γ -nonalactona e γ -decalactona), do lado positivo do eixo I e à α -ionona, do lado negativo do eixo II. Tal fato

sugere que a cachaça 2 (mais aceita e caracterizada por maior intensidade dos atributos aroma adocicado, ardência inicial, sabor encorpado e gosto adocicado), alocada à direita na porção positiva do eixo II, caracterizou-se por maiores concentrações destas lactonas e também por quantidades elevadas de furfural e vanilina. A α -ionona teve um grande peso no eixo II do lado positivo, mas a sua quantidade pouco variou entre as amostras, o que pode ser explicado pelo fato de que foi atribuído valor zero para as amostras com concentrações abaixo do intervalo de quantificação para gerar os gráficos de ACP.

Vetores de tamanho reduzido, como acetoína e furfural, tiveram pouca importância na discriminação das amostras.

A separação espacial das cachaças 2 (mais aceita), 11 (aceitação intermediária) e 6 (aceitação intermediária) sugere que estas amostras apresentam dissimilaridade entre os compostos que compõem esta ACP. A cachaça 6 (com maiores intensidades dos atributos corpo, aroma e sabor alcoólico), alocada próxima à porção negativa do eixo I, distante dos vetores, sugere que esta amostra apresentou menores quantidades de lactonas, cetonas e aldeídos. As cachaças 2 e 11 diferiram entre si pelos compostos que as caracterizaram. A **Figura 8** confirma a alta dissimilaridade de perfil sensorial entre as amostras 2 e 6.

As implicações geradas pela análise das **Figuras 9 a 15** foram confirmadas pela inspeção da **Tabela 1 (Capítulo 4)**.

Para verificar quais os compostos voláteis que poderiam estar associados à aceitação de cada cachaça, fez-se a correlação entre as médias de aceitação (aroma, sabor e impressão global) de cada amostra e suas respectivas coordenadas nos eixos I e II associadas à ACP de cada classe química (**Figuras 9 a 15**).

Os resultados apresentados na **Tabela 4** revelaram correlação negativa entre o eixo II da ACP dos fenóis (**Figura 14**) e a aceitação do sabor e da impressão global ($r=-0,7232$, $p=0,0052$ e $r=-0,7370$, $p=0,0040$, respectivamente) das cachaças. Isto sugere que, quanto maior a concentração dos compostos associados a esse eixo, menor a aceitação da cachaça com relação ao sabor e impressão global. Na **Figura 14** observou-se que o eixo II está fortemente associado ao composto 4-vinilfenol, o qual se apresenta em maior intensidade na cachaça 9. Esta amostra apresentou maior intensidade dos atributos aroma irritante, ardência final e sabor amargo (**Tabela 3**) e foi a menos aceita, com a maior porcentagem de rejeição em relação ao sabor (70% de respostas), à impressão global (57% de respostas) e à atitude de compra (“certamente não compraria” com 33%), além de ser associada com os

termos “agressividade, gosto residual amargo e ardência”, reportados como indesejáveis nas cachaças pelos consumidores (**Tabela 1**).

O eixo II da **Figura 14** também está associado ao 4-vinilguaiacol, presente em maior concentração na cachaça 12, fato que pode explicar sua porcentagem de rejeição (em torno de 50%) e baixa aceitação em relação ao sabor e impressão global pelos consumidores (**Tabela 1**).

As cachaças 9 e 12 apresentaram as maiores concentrações de fenóis. Os compostos fenólicos presentes em outras bebidas alcoólicas são geralmente descritos como “medicinal, couro, animal” e quando presentes em altas concentrações em vinhos e cervejas são considerados fatores de qualidade negativa, chamados de *off-flavors* fenólicos (CHATONNET *et al.*, 1992; MCMURROUGH *et al.*, 1996). Os compostos fenólicos são produzidos durante a fermentação pelas leveduras, sendo que a descarboxilação do ácido ferrúlico forma o 4-vinilguaiacol que, por redução forma o 4-etilguaiacol. Desta mesma maneira, o 4-vinilfenol e 4-etilfenol são formados a partir do ácido p-cumárico (SHINOHARA *et al.*, 2000).

A **Tabela 4** mostra que houve uma correlação positiva entre o eixo II da ACP da **Figura 15** e a aceitação do aroma e da impressão global ($r=0,5265$, $p=0,0645$ e $r=0,484$, $p=0,0935$, respectivamente) das cachaças. Assim, quanto maior a concentração dos compostos associados a esse eixo, maior a aceitação da cachaça com relação ao aroma e impressão global. Na **Figura 15** o eixo II está associado às lactonas, presentes em maior quantidade na cachaça 2, justificando a maior aceitação em relação ao aroma e impressão global desta amostra pelos consumidores (**Tabela 1**). Quantidades elevadas dos compostos γ -decalactona e vanilina, importantes compostos odoríferos determinados por AEDA e descritos como “doce” (**Capítulo 3**), devem estar associados às altas intensidades dos descritores aroma e gosto adocicado levantados na ADQ, atributos reportados como desejáveis nas cachaças pelos consumidores.

Outra correlação positiva ($r=0,4767$, $p=0,0996$) foi observada entre a aceitação do aroma das cachaças e o eixo II da ACP, associada à classe dos terpenos (**Figura 12**). Na **Figura 12**, o eixo II está associado ao eugenol (descrito como “cravo, mel”), α -terpineol (descrito como “erva-doce, anis”) e linalol (descrito como “flor, alfazema”) (ACREE & ARN, 2004), sugerindo que amostras caracterizadas por estes terpenos tem maior aceitação. As cachaças 2 e 11 apresentaram maiores quantidades desses terpenos e mostraram maior

aceitação em relação ao aroma e atitude favorável à compra. A cachaça 2 (mais aceita) foi a que apresentou maior concentração de eugenol, corroborando sua maior aceitação.

A cachaça 11 apresentou as maiores concentrações de linalol e α -terpineol, mas também maiores quantidades de fenóis, principalmente de 4-vinilfenol. Tal fato pode ter afetado negativamente sua aceitação em relação ao sabor (**Tabela 1**).

A maior quantidade de terpenos na cachaça 9 talvez justifique a sua melhor aceitação em relação ao aroma, quando comparada à cachaça 12.

Tabela 4: Coeficiente de correlação de Pearson (r) e o p (r) para os eixos I e II das ACPs em relação à aceitação das amostras de cachaça.

Classe Química		Aceitação					
		Aroma		Sabor		Impressão global	
		r	p (r)	r	p (r)	r	p (r)
Ésteres (Figuras 9)	Prin I	-0,22	0,47	0,0035	0,99	0,047	0,88
	Prin II	-0,34	0,26	-0,18	0,55	-0,22	0,47
(Figura 10)	Prin I	-0,28	0,36	-0,0066	0,98	-0,024	0,94
	Prin II	-0,17	0,58	-0,14	0,65	-0,13	0,67
Álcoois (Figura 11)	Prin I	-0,38	0,20	0,32	0,28	0,23	0,44
	Prin II	-0,33	0,27	-0,11	0,72	-0,18	0,56
Terpenos (Figura 12)	Prin I	0,2033	0,50	0,20	0,51	0,25	0,42
	Prin II	0,4767	0,0996	-0,29	0,33	-0,18	0,55
Ácidos (Figura 13)	Prin I	0,0271	0,9299	0,16	0,61	0,17	0,58
	Prin II	0,2132	0,4843	-0,27	0,38	-0,16	0,61
Fenóis (Figura 14)	Prin I	-0,30	0,31	-0,39	0,19	-0,38	0,19
	Prin II	0,087	0,78	-0,72	0,0052	-0,74	0,0040
Aldeídos+Ceto- nas+Lactonas (Figura 15)	Prin I	0,37	0,21	0,13	0,66	0,26	0,39
	Prin II	0,53	0,064	0,38	0,20	0,4844	0,093

Assim, a aceitação em relação ao aroma parece estar relacionada principalmente com a presença de lactonas e alguns terpenos, enquanto a baixa aceitação em relação ao sabor, à presença de fenóis, principalmente 4-vinilfenol e 4-vinilguaiacol. As médias das cachaças avaliadas diminuíram do aroma para o sabor no teste de aceitação, tal fato pode ser explicado pela presença dos fenóis em menor ou maior concentração nas amostras.

Na cachaça 6, sua menor aceitação quando comparada às outras amostras pode ser atribuída à pequena quantidade dos compostos voláteis, principalmente dos terpenos e das

lactonas, mas a sua melhor aceitação no sabor pode estar associada à baixa quantidade de fenóis. Esta amostra foi caracterizada pelos atributos corpo, aroma e sabor alcoólico (**Tabela 3**) e o termo “sabor forte de álcool” foi mencionado pelos consumidores. Tais fatos podem estar associados às altas quantidades de butanol e isobutanol presentes nessa amostra.

A cachaça 4, apesar das quantidades elevadas de terpenos e lactonas, apresentou baixa média para o aroma no teste de aceitação (**Tabela 1**) quando comparada às outras amostras, o que pode estar relacionado às altas quantidades de álcoois, principalmente do álcool isoamílico, o composto odorífero mais importante determinado pela técnica AEDA e descrito como “fusel, amargo” (**Capítulo 3**). O sabor associado ao termo “sabor suave” pelos consumidores, parece estar relacionado às baixas quantidades de fenóis.

O aroma da cachaça 3 pode estar associado à presença de terpenos e lactonas. Apesar das baixas quantidades de 4-vinilfenol e 4-vinilguaiacol, esta amostra apresentou valor baixo para sabor em comparação às outras amostras no teste de aceitação, além de ser caracterizada pelos atributos aroma irritante, ardência final e gosto amargo na ADQ. Esta cachaça apresentou maiores quantidades de acetato de isoamila, 3-hidroxi-butanoato de etila, ácido isobutírico, ácido decanóico, acetoína, β -feniletanol, compostos descritos na técnica de AEDA (**Capítulo 3**) como “banana”, “frutal”, “queijo”, “queijo”, “sapataria” e “rosas”, respectivamente. A cachaça 3 apresentou também quantidade elevada de acetaldeído, composto que possui odor pungente, além de aumentar o sabor picante de bebidas (NYKÄNEN & NYKÄNEN, 1991).

Não foram encontradas correlações significativas ($p \leq 0,10$) entre os dados gerados nos testes de aceitação e as coordenadas das amostras de cachaça nos eixos I e II da ACP dos compostos das classes dos ésteres, álcoois, ácidos, cetonas e aldeídos.

As mínimas diferenças observadas entre as médias do aroma, sabor e impressão global no teste de aceitação, a admissível relação positiva ou negativa de outros compostos voláteis à qualidade da cachaça e a possível presença de açúcar nas amostras para uniformizar o produto, prática permitida pela legislação brasileira, nem sempre permitiram relacionar a análise sensorial com a composição de voláteis das 13 cachaças comerciais analisadas.

Esta pesquisa permitiu mostrar algumas correlações entre a análise instrumental e a análise sensorial. Porém, deve ser mencionado que apenas um lote de cada cachaça comercial foi analisado e, portanto, mais estudos devem ser realizados envolvendo um

número maior de amostras e de lotes, incluindo as variações na composição de voláteis e permitindo desta forma, um estudo multivariado de maior abrangência para confirmar os resultados obtidos neste estudo, que pode ser considerado preliminar.

4. CONCLUSÕES

As 13 amostras comerciais de cachaça não diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) entre si em relação ao aroma na análise de aceitação. As cachaças 1, 3, 5, 10, 11, 12 e 13 tiveram aceitação intermediária e não diferiram significativamente das demais amostras em relação ao sabor, mas as cachaças 2, 4, 6, 7, 8 e 13, de maior aceitação, diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) da cachaça 9, de menor aceitação. Em relação à impressão global, as cachaças 2 e 9 obtiveram a maior e a menor média, respectivamente, diferindo significativamente ($p \leq 0,05$) entre si, sendo que as demais amostras apresentaram médias intermediárias.

Na análise descritiva quantitativa foram levantados 10 descritores para a avaliação das cachaças 2 (mais aceita), 3 (aceitação intermediária), 6 (aceitação intermediária) e 9 (menos aceita), por uma equipe de 9 provadores selecionados e treinados. A cachaça 2 foi caracterizada pelos atributos aroma adocicado, ardência inicial, gosto adocicado, sabor encorpado enquanto a cachaça 6, pelos atributos corpo, aroma alcoólico e sabor alcoólico. As cachaças 3 e 9 apresentaram perfis sensoriais semelhantes, sendo que a cachaça 9 apresentou as maiores intensidades dos atributos aroma irritante, ardência final e gosto amargo.

A correlação entre as médias de aceitação (aroma, sabor e impressão global) e as coordenadas nos eixos I e II associadas às ACPs (aplicada à concentração dos compostos voláteis das amostras, agrupados em classes químicas) de cada cachaça permitiu sugerir que a aceitação das cachaças em relação ao aroma parece estar relacionada principalmente à presença de lactonas e alguns terpenos, enquanto a baixa aceitação em relação ao sabor, à presença de fenóis, principalmente 4-vinilfenol e 4-vinilguaiacol.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRABE. Associação Brasileira de Bebidas. Disponível em: <<http://www.abrabe.org.br>>. Acesso em: 12 de abr. de 2004.
- ACREE, T.; ARN, H. **Flavornet**. Disponível em: <<http://www.flavornet.org/flavornet.html>>. Acesso em 12 de abr. de 2004.

- ASTM - AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIAL **Guidelines for the selection and training of sensory panel members**. Philadelphia: ASTM, 1981.
- BOSCOLO, M.; BEZERRA, C. W. B.; CARDOSO, D. R.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Identification and dosage by HRGC of minor alcohols and esters in Brazilian sugar cane spirit. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 11, p. 86-90, 2000.
- BOZA, Y.; HORII, J. Influência da destilação sobre a composição e a qualidade sensorial da aguardente de cana. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 18, p. 391-396, 1998.
- BRASIL. Decreto nº 2314 de 4 set.1997. Dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Regulamenta a Lei nº 8918 de 14 de julho de 1994. **Diário Oficial**. Brasília. 5 set. 1997.
- CARDELLO, H. M. A. B.; FARIA, J. B. Análise descritiva quantitativa da aguardente de cana durante o envelhecimento em tonéis de carvalho (*Quercus Alba L.*). **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 18, p. 169-175, 1998.
- CARDELLO, H. M. A. B.; FARIA, J. B. Análise tempo-intensidade de características sensoriais de aguardente de cana durante o envelhecimento em tonel de carvalho (*Quercus sp.*). **Bol. SBCTA**, v. 33, p. 27-34, 1999.
- CARDELLO, H. M. A. B.; FARIA, J. B. Análise da aceitação de aguardentes da cana por testes afetivos e mapa de preferência interno. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 20, p. 32-36, 2000.
- CARDOSO, D. R.; BETTIN, S. M.; RECHE, R. V.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D. W. HPLC-DAD analysis of ketones as their 2,4-dinitrophenylhydrazones in Brazilian sugar-cane spirits and run. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 16, p. 563-573, 2003.
- CHATONNET, P.; DUBOURDIEU, D.; BOIDRON, J. N.; PONS, M. The origin of ethylphenols in wine. **Journal of Science of Food and Agriculture.**, v. 60, p. 165-178, 1992.
- DAMÁSIO, M. H.; COSTELL, E. Análisis sensorial descriptivo: generación de descriptores y selección de catadores. **Rev. Agroquím. Tecnol. Aliment.**, v. 31, p. 165-178, 1991.
- FURTADO, S. M. B. **Avaliação sensorial descritiva de aguardente de cana (Saccharum officinarum, L.). Influência da composição em suas características sensoriais e correlação entre as medidas sensoriais e físico-químicas**. 1995. 99 p. Tese (Doutor em Ciência dos Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. Campinas. 1995.
- MCMURROUGH, I.; MADIGAN, D.; DONNELLY D.; HURLEY, J.; DOYLE, A. M.; HENNIGAN, G.; MACNULTY, N. Control of ferulic and 4-vinylguaiacol in brewing. **J. Inst. Brew.**, v. 102, p. 327-332, 1996.
- MARCELLINI, P. S. **Análise descritiva quantitativa de aguardente de cana (Saccharum spp) comerciais e destilados em alambiques de cobre e aço inoxidável**. 2000. 77 p. Tese (Mestre em Alimentos e Nutrição) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade Estadual de São Paulo. Araraquara. 2000.
- MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. Consumer test and in-house panel acceptance tests. In: MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. (Eds.). **Sensory Evaluation Techniques**. Florida: CRC Press Inc., 1988. p. 119-141.
- MOSKOWITZ, H. R. **Product testing and sensory evaluation of foods**. Westport: Food & Nutrition Press Inc., 1983. 605p.
- MUÑOZ, A. M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory Evaluation in Quality Control**. New York: Van Reinhold, 1992. p. 23-51.
- NAGATO, L. A. F.; DURAN, M. C.; CARUSO, M. S. F.; BARSOTTI, R. C. F.; BADOLATO, E. S. G. Monitoramento da autenticidade de amostras de bebidas alcoólicas enviadas ao Instituto Adolfo Lutz em São Paulo. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 21, p. 39-42, 2001.
- NASCIMENTO, R. F.; MARQUES, J. C.; DE KEUKELEIRE, D.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Qualitative and quantitative high-performance liquid chromatographic analysis of aldehydes in Brazilian sugar cane spirits and other distilled alcoholic beverages. **J. Chromatogr.**, v. 782, p. 13-23, 1997.

- NASCIMENTO, R. F.; CARDOSO, D. R.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Determination of acids in Brazilian sugar cane spirits and other alcoholic beverages by HRGC-SPE. **Chromatographia**, v. 48, p. 751-757, 1998.
- NYKÄNEN, L.; NYKÄNEN, I. Distilled beverages. In: MAARSE, H. (Ed). **Volatile compounds in food and beverages**. New York: Marcel Dekker, Inc, 1991. p. 548-580.
- SAS. Statistical Analytical System. SAS Institute Inc., SAS Campus Drive: Cary, North Carolina, USA, 1996. Version 6.12.*
- SHINOHARA, T.; KUBODERA, S.; YANAGIDA, F. Distribution of phenolic yeasts and production of phenolic off-flavors in wine fermentation. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 90, p. 90-97, 2000.
- STONE, H.; SIDEL, J.; OLIVER, S.; WOOLSEY, A.; SINGLETON, R. C. Sensory evaluation by quantitative descriptive analysis. **Food Technology**, v. 28, p. 24-34, 1974.
- STONE, H.; SIDEL, J. **Sensory evaluation practices**. New York: Academic Press, 1993. 338 p.

CONCLUSÕES GERAIS

O método desenvolvido para a análise dos compostos voláteis da cachaça por cromatografia gasosa, através de extração em fase sólida, demonstrou ser simples e rápido, sem necessidade de concentração posterior do extrato, o qual foi representativo da amostra original. Este método permitiu que fosse determinada pela primeira vez a composição de voláteis da cachaça em uma única etapa, abrangendo diferentes classes químicas com ampla variação de concentração, possibilitando assim a distinção entre amostras desta bebida.

Foram identificados e quantificados 65 compostos voláteis em 13 cachaças comerciais, compreendendo 21 ésteres, 10 ácidos, 9 álcoois, 9 fenóis, 6 terpenos, 4 aldeídos, 4 cetonas e 2 lactonas, sendo que 48 compostos foram relatados pela primeira vez como componentes desta bebida.

Não se observou diferença qualitativa entre os compostos voláteis detectados nas cachaças, mas foi verificada uma ampla variação na concentração de cada composto nas diferentes amostras. O álcool isoamílico foi o majoritário, seguido do isobutanol, acetato de etila ou acetaldeído, em quase todas as amostras.

Observou-se também uma grande variação na quantidade de cada classe química nas cachaças, sendo que em duas amostras o conteúdo total dos ésteres foi superior ao dos álcoois. Os compostos acetato de etila, acetaldeído e acetoína foram os compostos majoritários em todas amostras, na classe dos ésteres, dos aldeídos e das cetonas, respectivamente. O farnesol e o ácido dodecanóico foram os mais abundantes em quase todas as amostras, em relação à classe dos terpenos e dos ácidos, respectivamente. Houve uma grande variação no conteúdo de fenóis nas amostras, variando, portanto, o composto majoritário.

A análise de aceitação das 13 cachaças comerciais, realizada por trinta consumidores potenciais do produto, mostrou que as amostras não diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) em relação ao aroma. Entretanto em relação ao sabor, as cachaças 2, 4, 6, 7, 8 e 13 foram as de maior aceitação em relação ao sabor e diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) da cachaça 9, de menor aceitação, sendo que as demais amostras não diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) das amostras mais e menos aceitas. A cachaça 2 (mais aceita) e a cachaça 9 (menos aceita) diferiram significativamente ($p \leq 0,05$)

entre si em relação à impressão global e as demais cachaças apresentaram valores intermediários de aceitação, não diferindo significativamente ($p \leq 0,05$) das duas amostras.

O perfil sensorial de quatro cachaças, selecionadas de acordo com o teste de aceitação, foi realizado por nove provadores selecionados e treinados. A cachaça 2 (mais aceita) foi caracterizada pelos atributos aroma adocicado, ardência inicial, gosto adocicado e sabor encorpado enquanto a cachaça 6 (aceitação intermediária) pelos atributos corpo, aroma alcoólico e sabor alcoólico. As cachaças 3 (aceitação intermediária) e 9 (menor aceitação) foram caracterizadas pelos atributos aroma irritante, ardência final e gosto amargo, sendo que a amostra 9 apresentou maiores intensidades desses atributos.

Foram detectados 59 compostos odoríferos através da técnica de CG-olfatometria (AEDA) na cachaça 2, considerada de alta qualidade segundo os consumidores potenciais do produto. Entre os compostos odoríferos percebidos, o álcool isoamílico foi o mais relevante, seguido da vanilina. Os compostos não identificados foram percebidos somente até a primeira diluição, por no máximo 2 provadores.

As coordenadas nos eixos I e II das amostras associadas às ACP geradas utilizando-se a concentração dos compostos voláteis (agrupados em classes químicas) de cada uma das treze cachaças comerciais e os seus respectivos valores de aceitação (aroma, sabor e impressão global) permitiram sugerir que a aceitação das cachaças em relação ao aroma está relacionada principalmente à presença de lactonas e alguns terpenos, enquanto a baixa aceitação em relação ao sabor, à presença de fenóis, principalmente 4-vinilfenol e 4-vinilguaiacol.

Os dados obtidos revelaram que as cachaças analisadas apresentaram perfis de voláteis e sensoriais bem distintos, evidenciando, portanto, ausência de padrão de qualidade para esta bebida.

ANEXOS

Anexo 1: Compostos voláteis identificados e quantificados, técnica utilizada na quantificação, CG-FID ou CG-EM, e entre parênteses os íons monitorados.

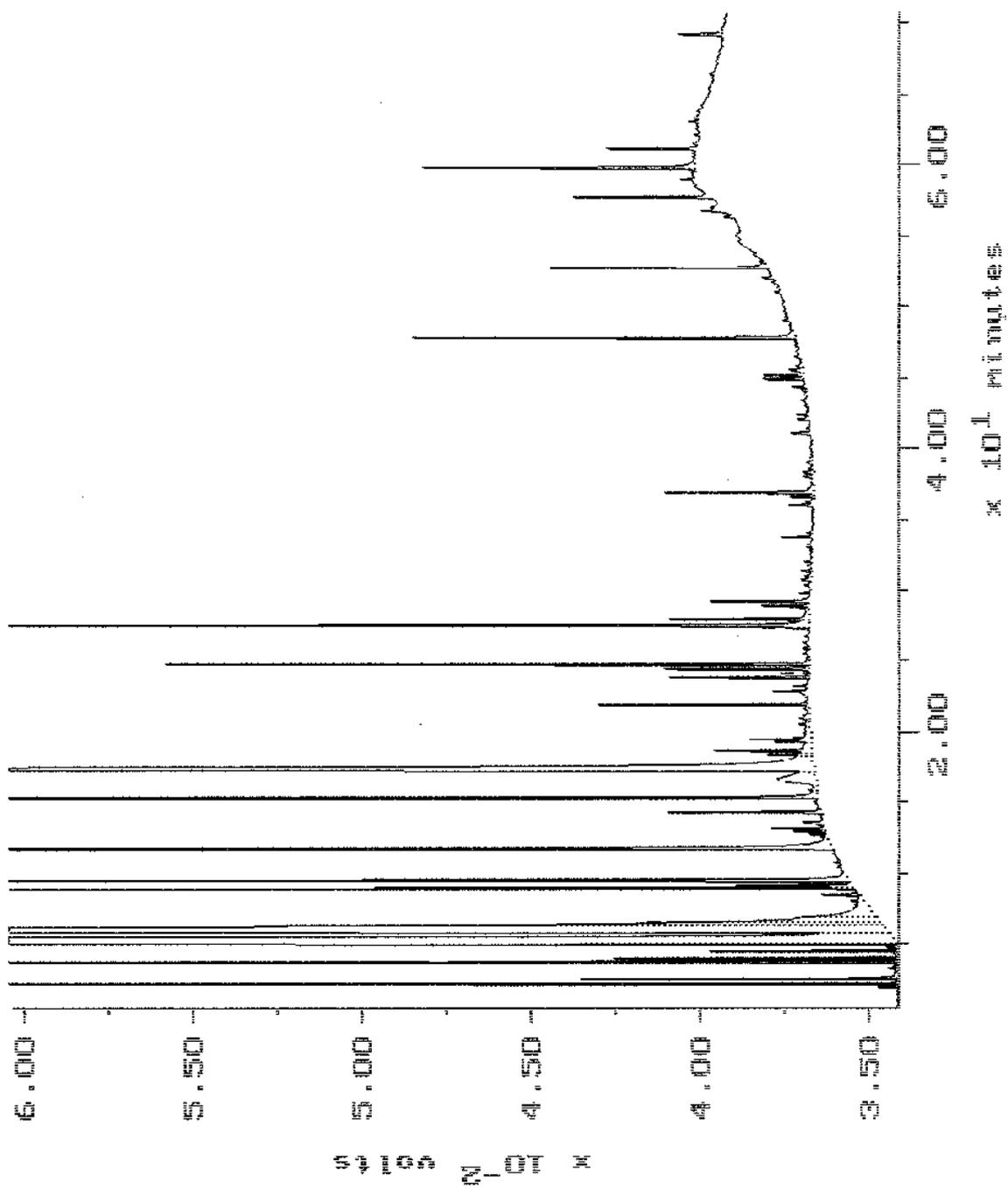
Composto	Técnica Quantitativa
ésteres	
acetato de etila	CG-FID
propanoato isopropila	CG-EM (75)
isobutirato de etila	CG-EM (total)
acetato de isobutila	CG-EM (56 + 61)
butirato de etila	CG-EM (total)
2-metilbutirato de etila	CG-EM (102)
isovalerato de etila	CG-EM (85 + 87 + 114)
acetato de butila	CG-EM (56 + 61)
acetato de isoamila	CG-FID
hexanoato de etila	CG-EM (total)
lactato de etila	CG-FID
octanoato de etilo	CG-EM (total)
3-hidroxibutirato de etila	CG-FID
furoato de etila	CG-EM (95)
decanoato de etila	CG-FID
benzoato de etila	CG-EM (105)
succinato de dietila	CG-FID
acetato de feniletila	CG-EM (104)
dihidrocínamate de etila	CG-EM (104)
cinamate de etila	CG-EM (131)
vanilato de etila	CG-EM (151 + 196)
álcoois	
isobutanol	CG-FID
1-butanol	CG-FID
álcool isoamílico	CG-FID
1-hexanol	CG-FID
cis-3-hexenol	CG-EM (total)
álcool benzílico	CG-FID
furfuril álcool	CG-EM (98)
metionol	CG-EM (105 + 106)
β-feniletanol	CG-FID
terpenos	
linalol	CG-EM (93 + 121 + 136)
α-terpineol	CG-EM (121 + 136)
β-citronelol	CG-EM (123)
eugenol	CG-EM (164)
isoeugenol	CG-EM (164)
farnesol	CG-EM (69 + 81)

continua...

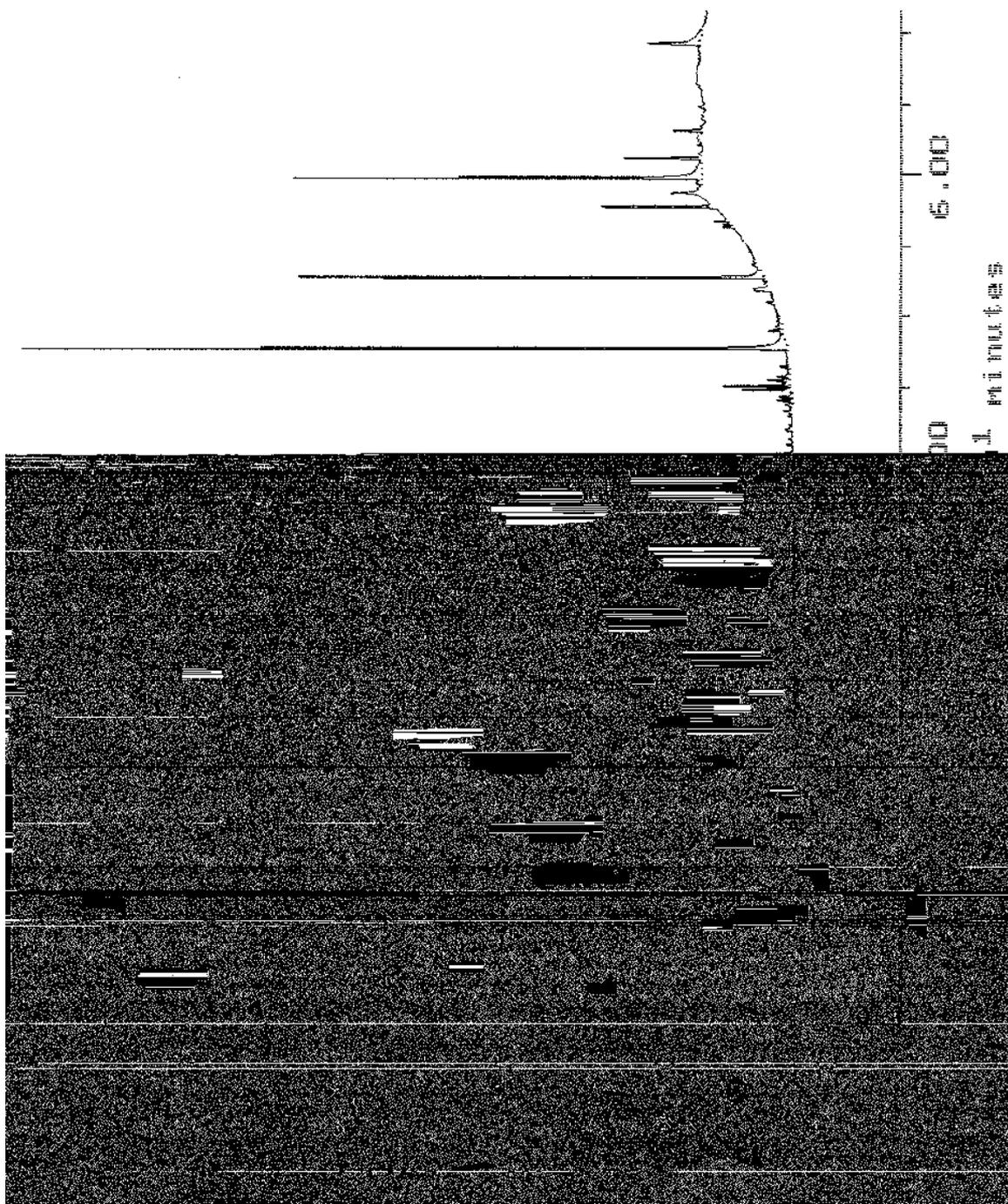
continuação...

	Composto	Técnica Quantitativa
ácidos	ácido propanóico	CG-FID
	ácido isobutírico	CG-FID
	ácido butírico	CG-FID
	ácido isovalérico	CG-EM (60)
	ácido 2-metilbutírico	CG-EM (74)
	ácido hexanóico	CG-FID
	ácido heptanóico	CG-EM (60 + 75)
	ácido octanóico	CG-FID
	ácido decanóico	CG-FID
	ácido dodecanóico	CG-FID
aldeídos	acetaldeído	CG-FID
	furfural	CG-EM (95)
	5-metilfurfural	CG-EM (109)
	vanilina	CG-EM (151 + 152)
cetonas	acetoína	CG-FID
	β -damascenona	CG-EM (121)
	α -ionona	CG-EM (121)
	β -ionona	CG-EM (177)
fenóis	guaiacol	CG-EM (83 + 91 + 124)
	4-etilguaiaicol	CG-EM (135)
	4-propilguaiaicol	CG-EM (137 + 166)
	4-etilfenol	CG-EM (107 + 122)
	4-vinilguaiaicol	CG-EM (135 + 150)
	4-vinilfenol	CG-EM (120)
	2,6-dimetoxifenol	CG-EM (154)
	m-cresol	CG-EM (107 + 108)
	o-cresol	CG-EM (107 + 108)
lactonas	γ -nonalactona	CG-EM (85)
	γ -decalactona	CG-EM (85)

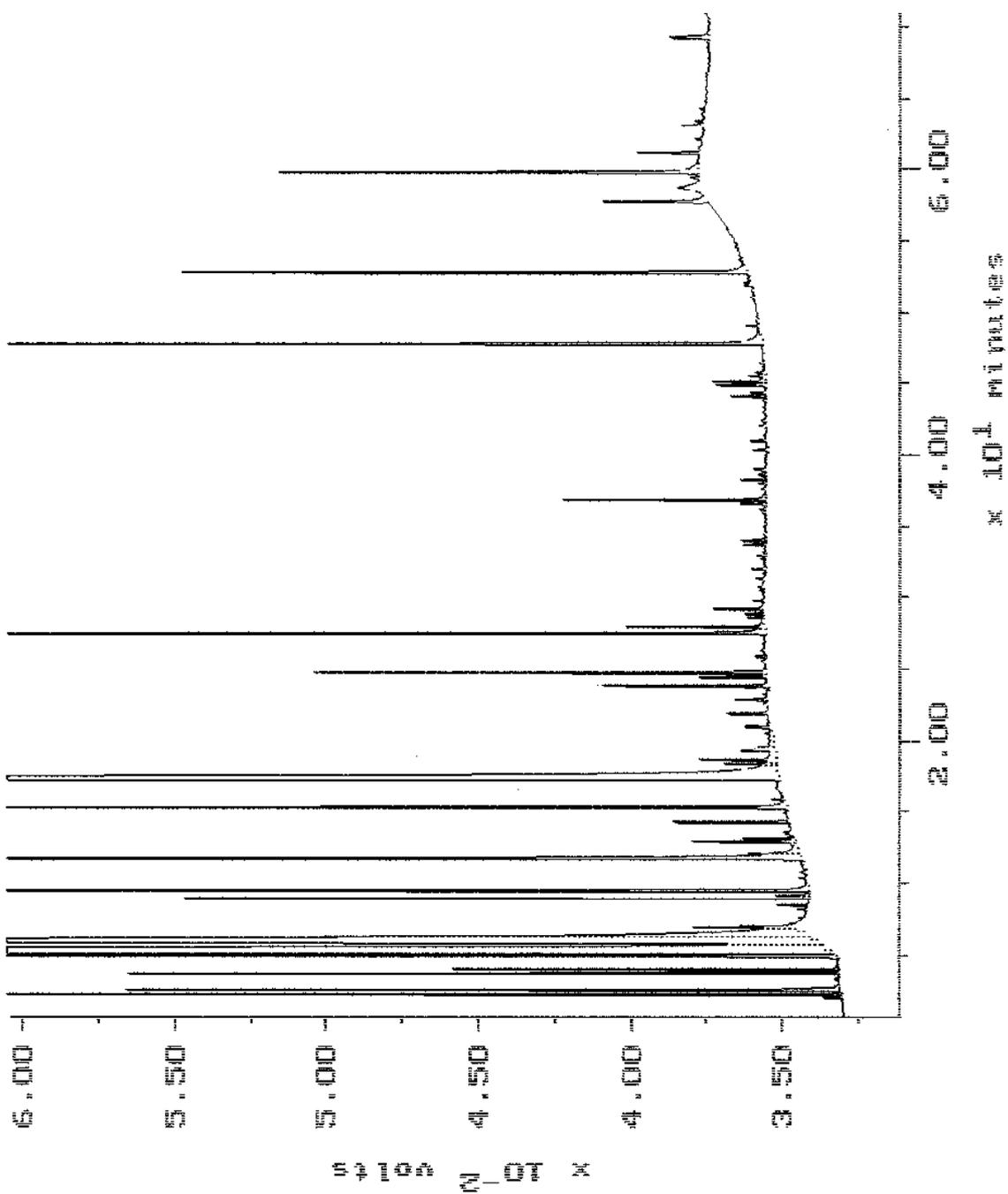
Anexo 2: Cromatograma dos compostos voláteis da amostra 1 de cachaça obtido por extração com solvente e análise por CG-DIC.



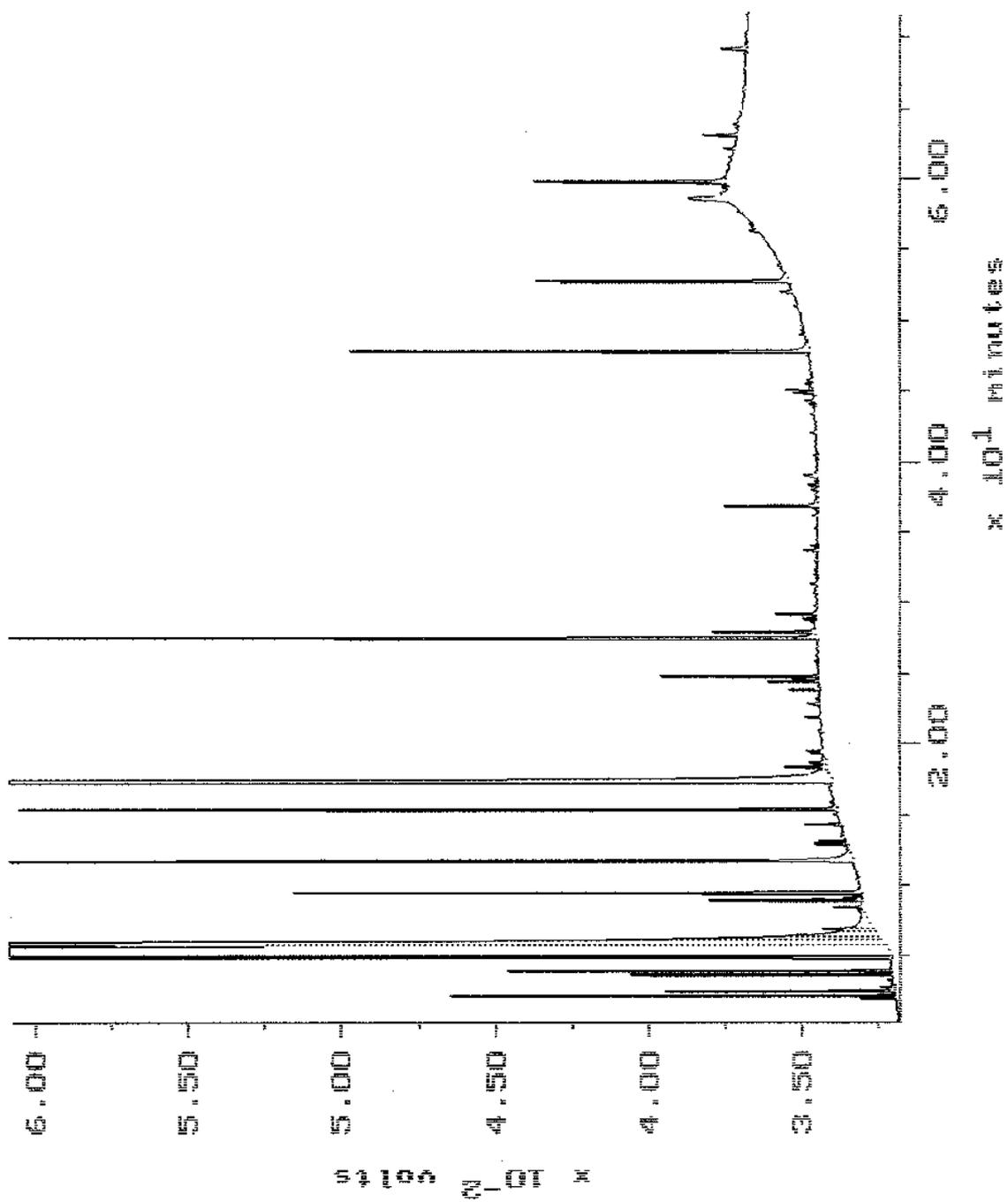
Anexo 3: Cromatograma dos compostos voláteis da amostra 2 de cachaça obtido por extração com solvente e análise por CG-DIC.



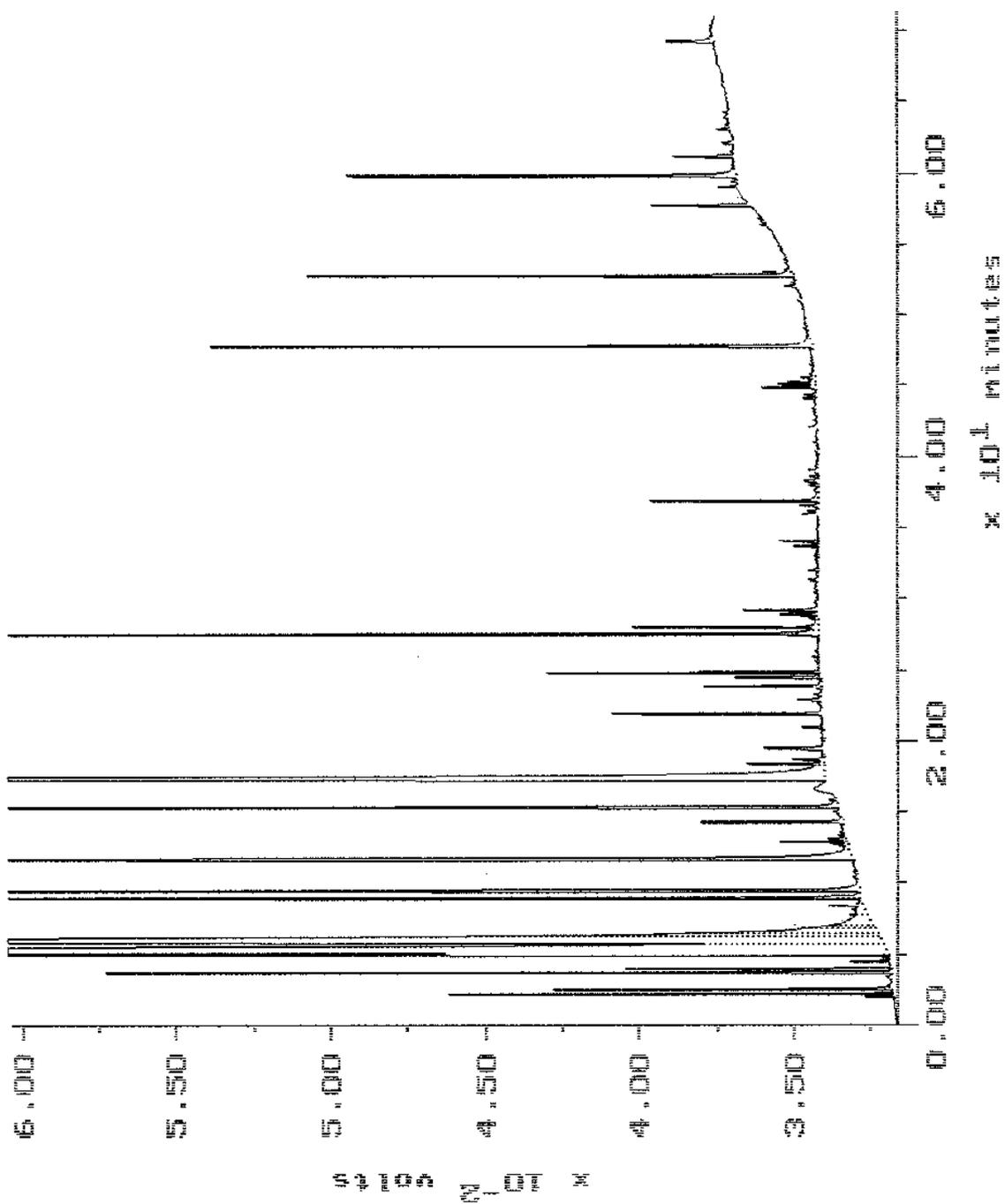
Anexo 4: Cromatograma dos compostos voláteis da amostra 3 de cachaça obtido por extração com solvente e análise por CG-DIC.



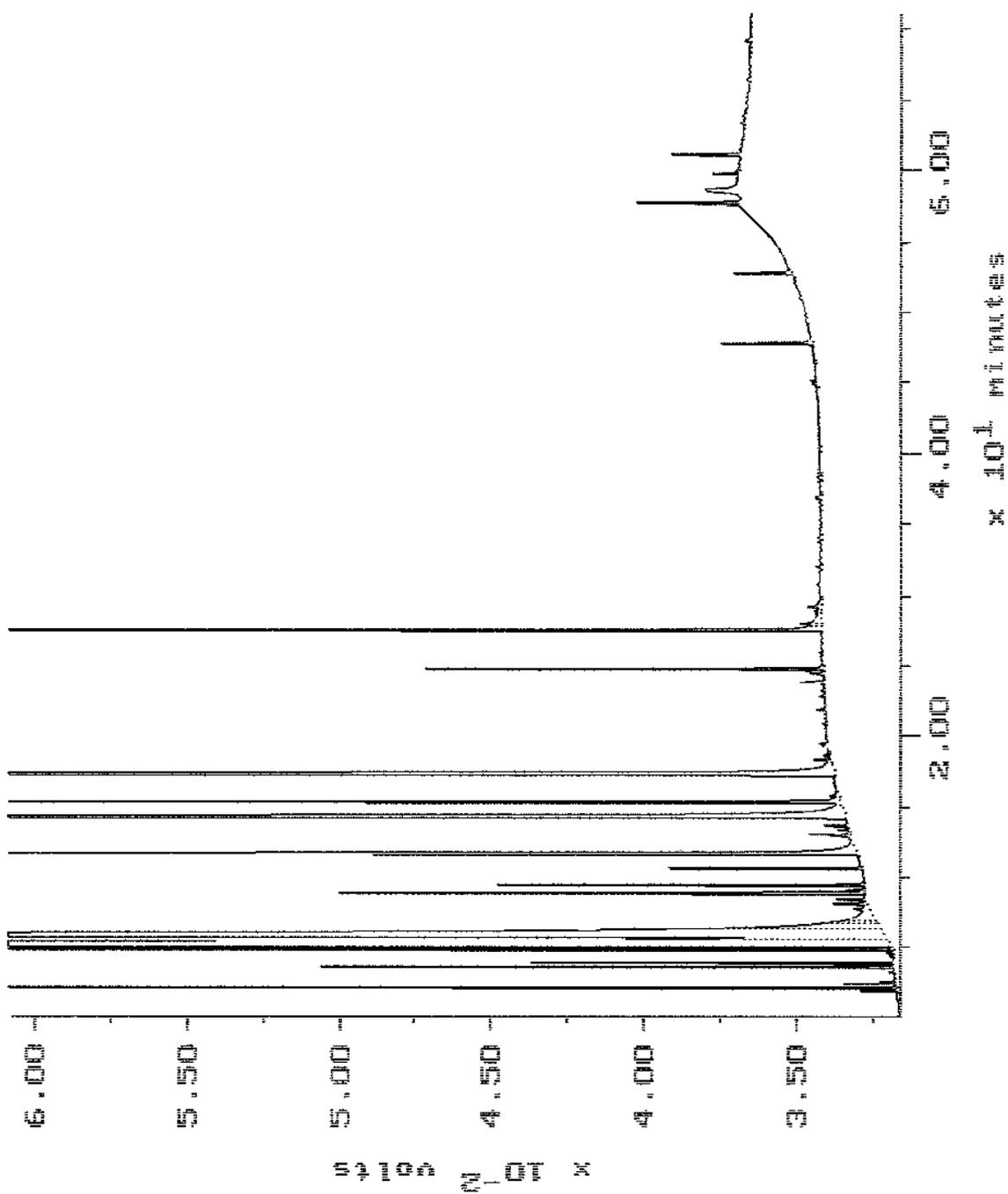
Anexo 5: Cromatograma dos compostos voláteis da amostra 4 de cachaça obtido por extração com solvente e análise por CG-DIC.



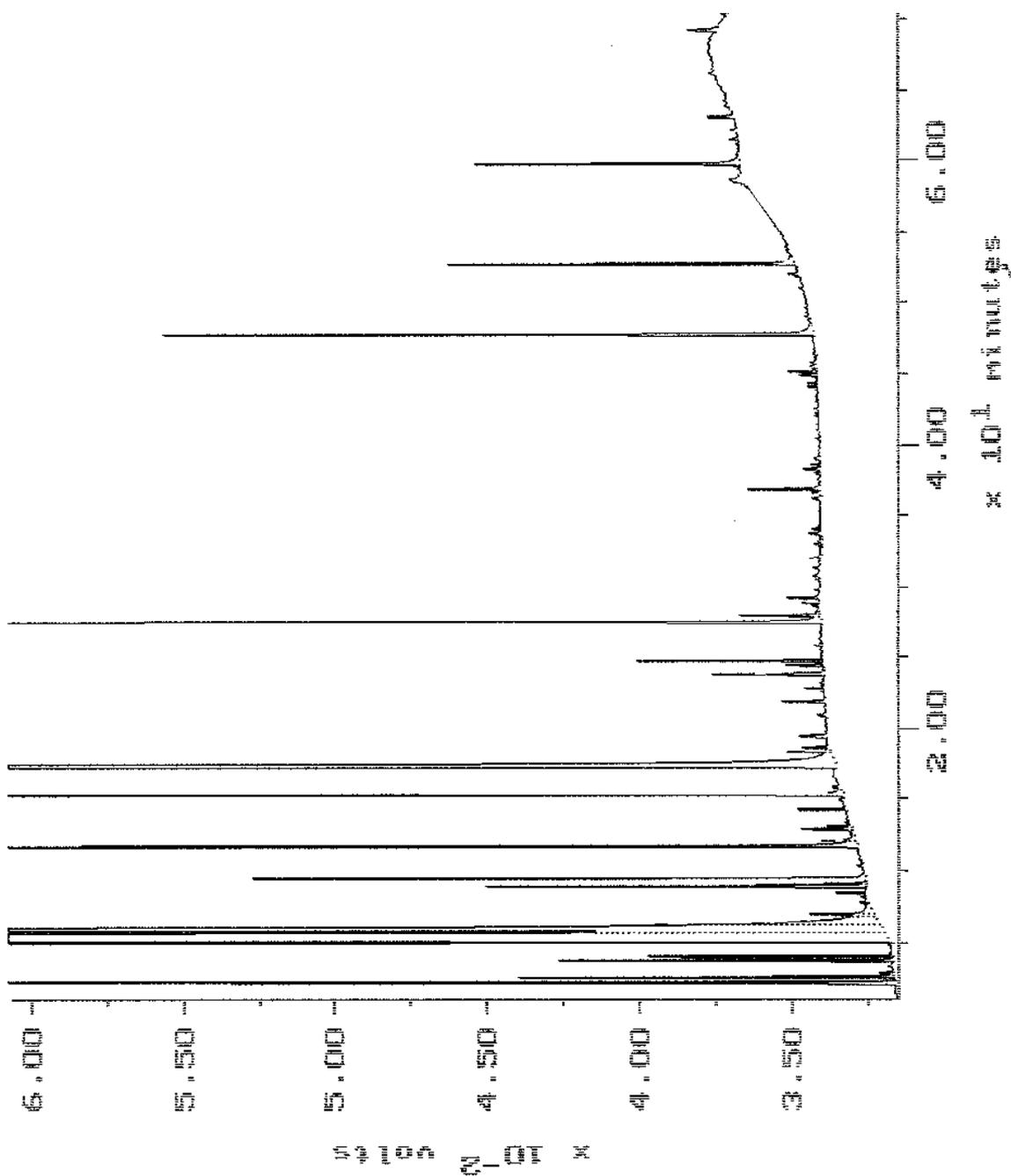
Anexo 6: Cromatograma dos compostos voláteis da amostra 5 de cachaça obtido por extração com solvente e análise por CG-DIC.



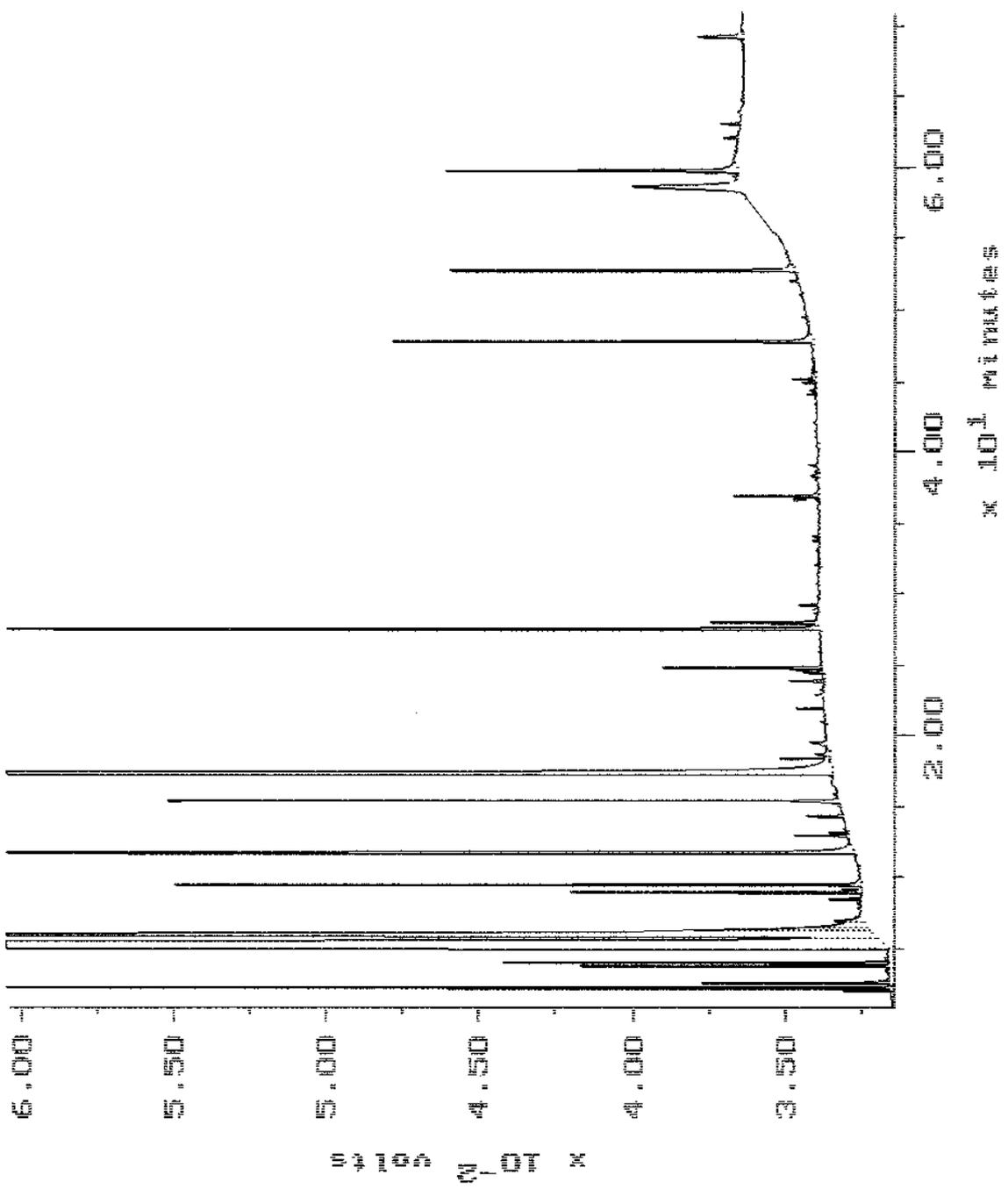
Anexo 7: Cromatograma dos compostos voláteis da amostra 6 de cachaça obtido por extração com solvente e análise por CG-DIC.



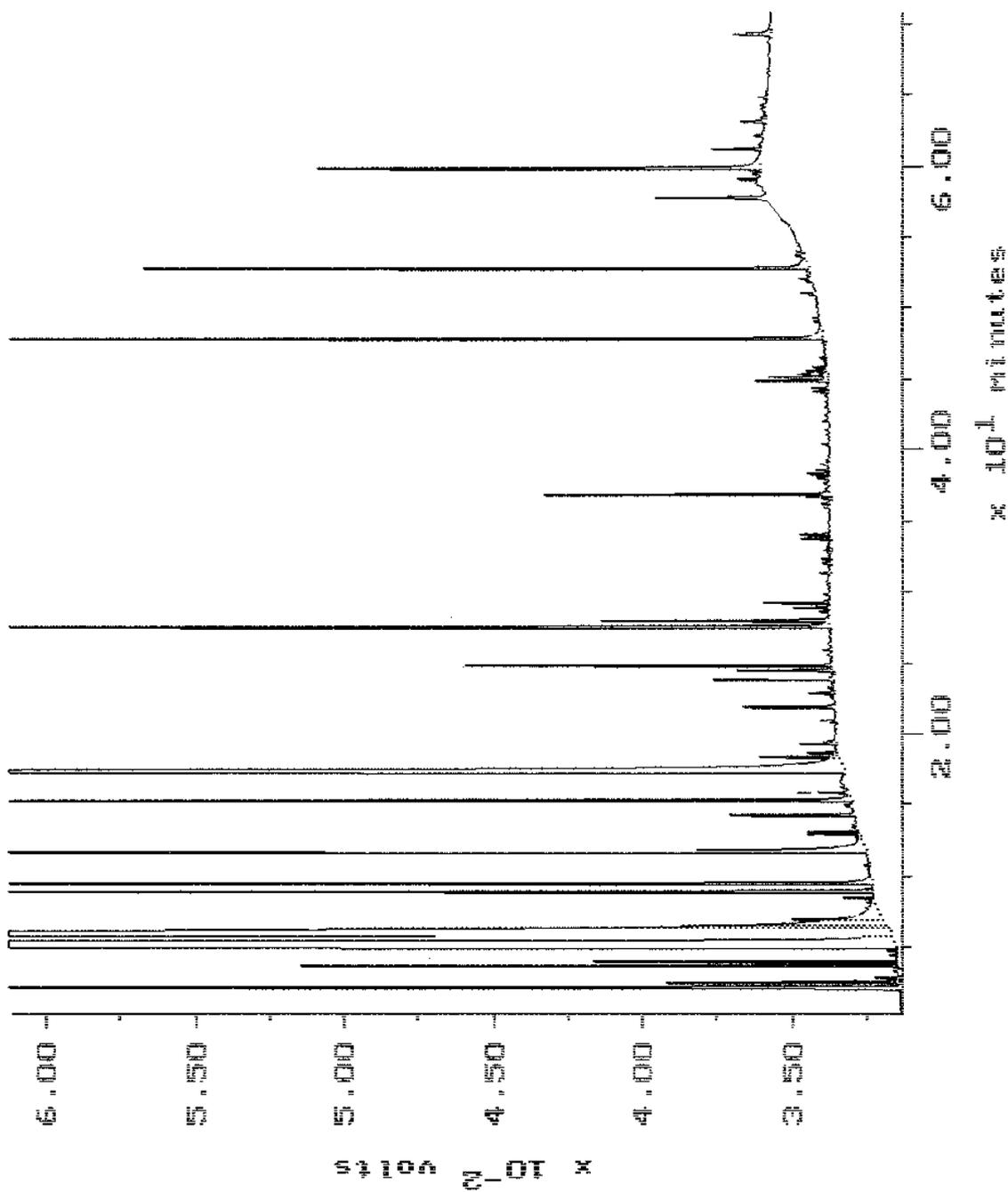
Anexo 8: Cromatograma dos compostos voláteis da amostra 7 de cachaça obtido por extração com solvente e análise por CG-DIC.



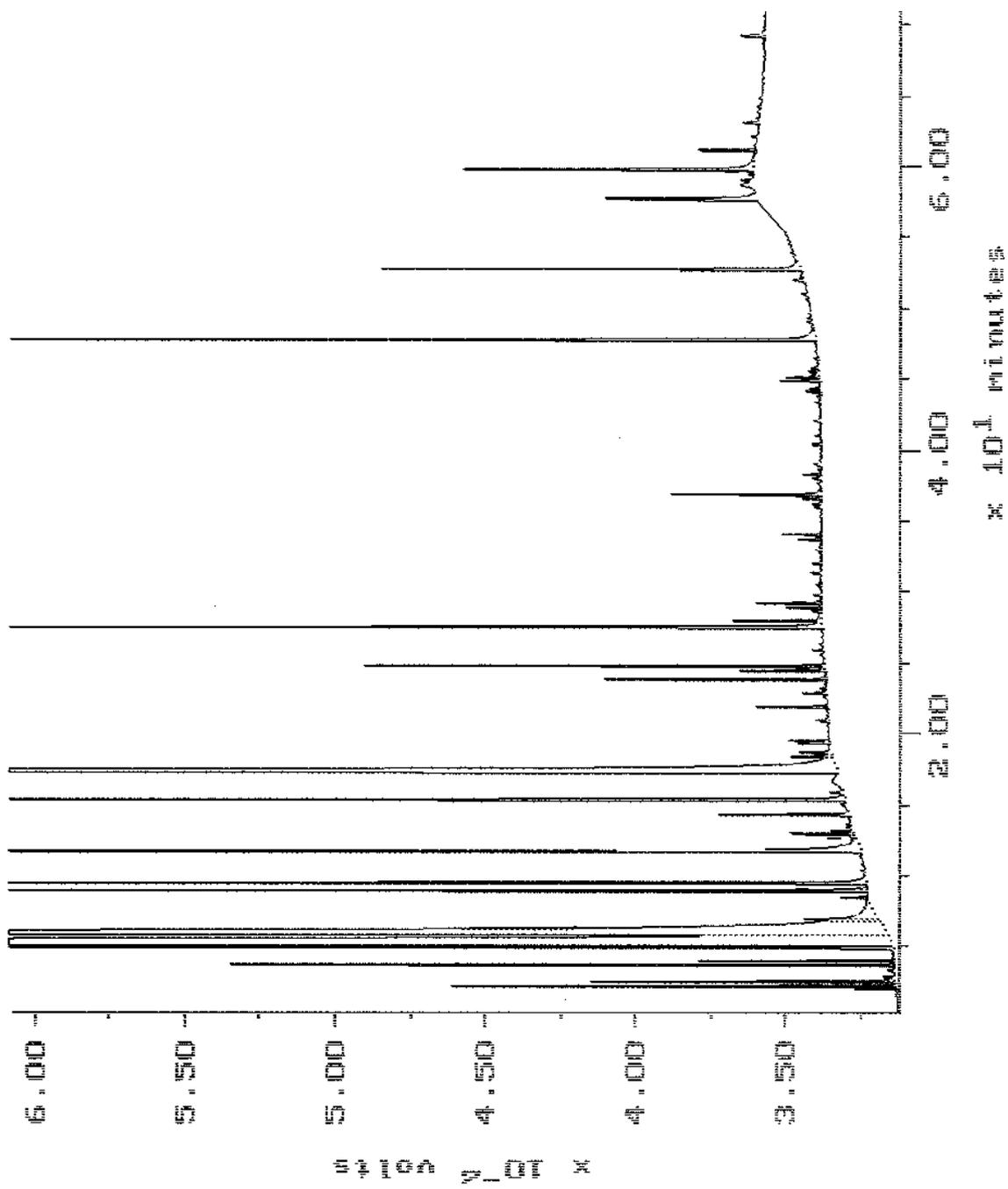
Anexo 9: Cromatograma dos compostos voláteis da amostra 8 de cachaça obtido por extração com solvente e análise por CG-DIC.



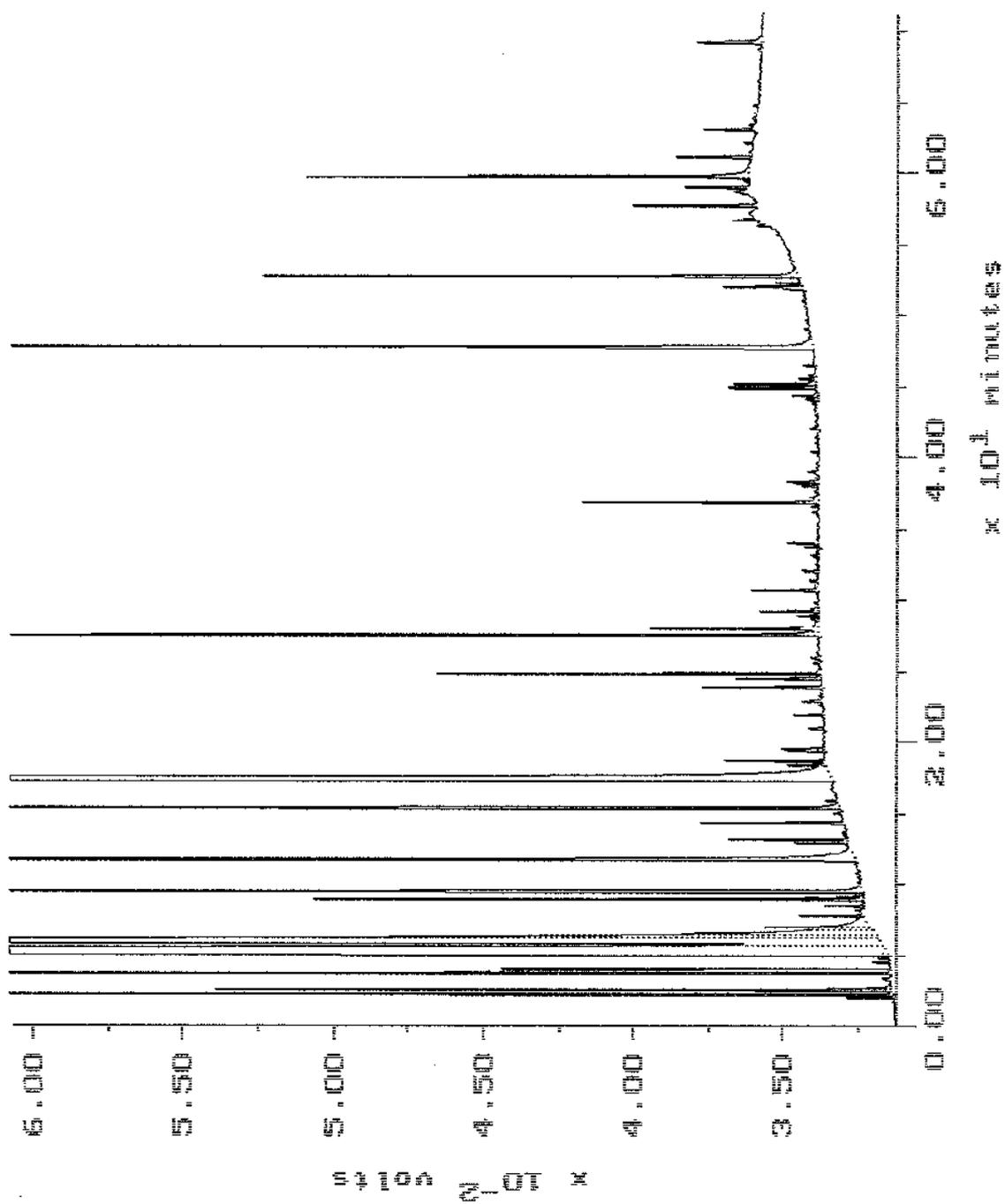
Anexo 10: Cromatograma dos compostos voláteis da amostra 9 de cachaça obtido por extração com solvente e análise por CG-DIC.



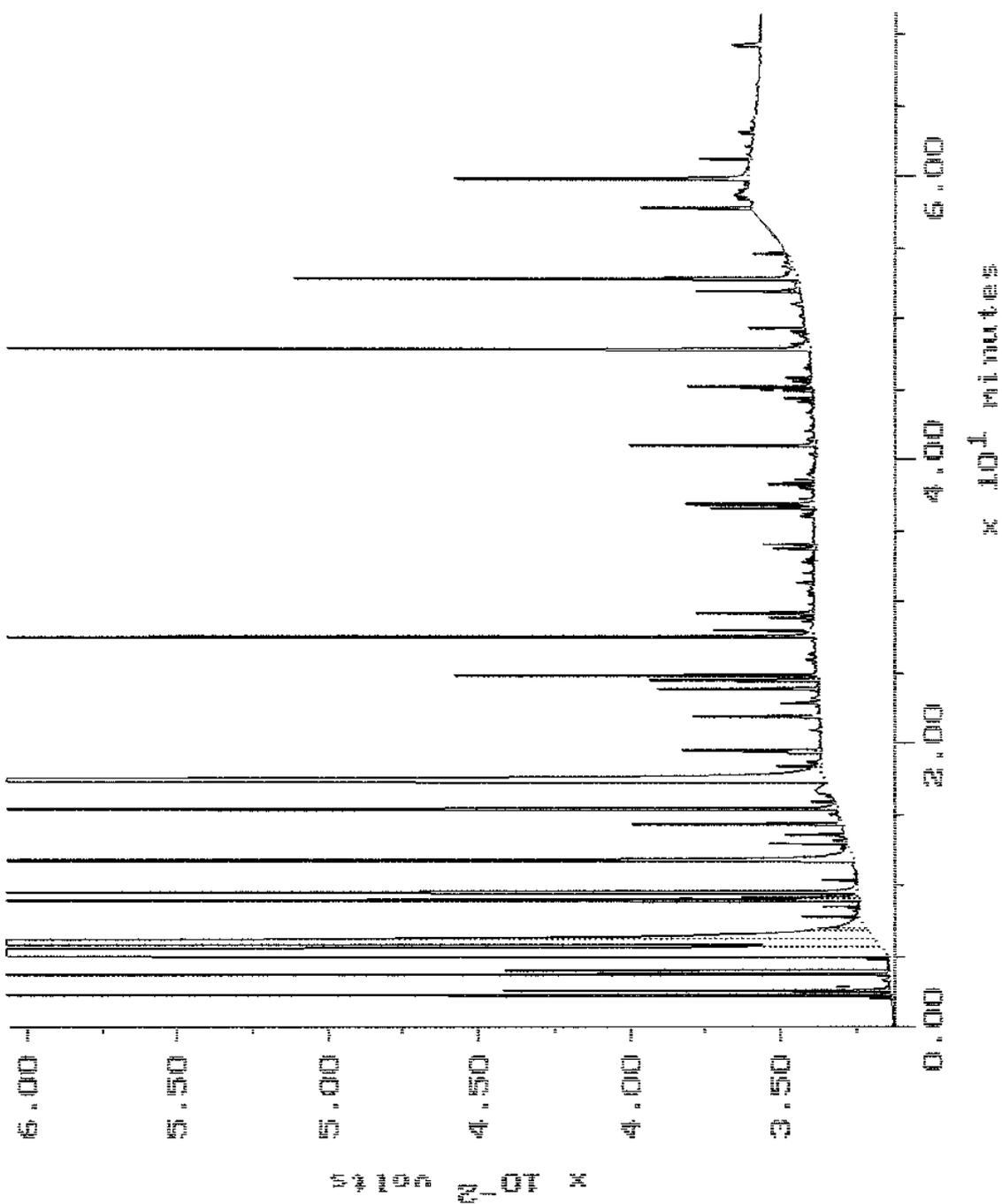
Anexo 11: Cromatograma dos compostos voláteis da amostra 10 de cachaça obtido por extração com solvente e análise por CG-DIC.



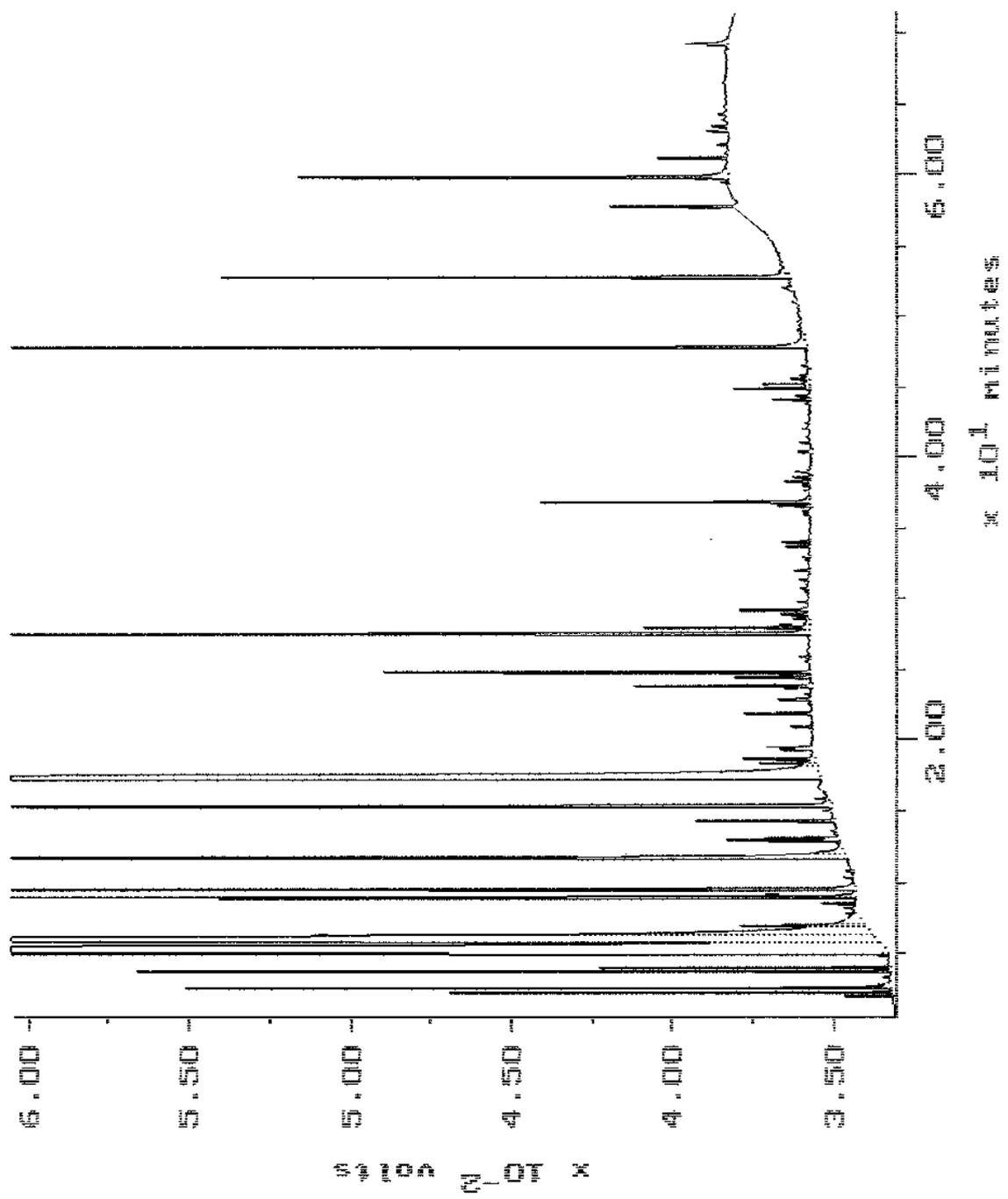
Anexo 12: Cromatograma dos compostos voláteis da amostra 11 de cachaça obtido por extração com solvente e análise por CG-DIC.



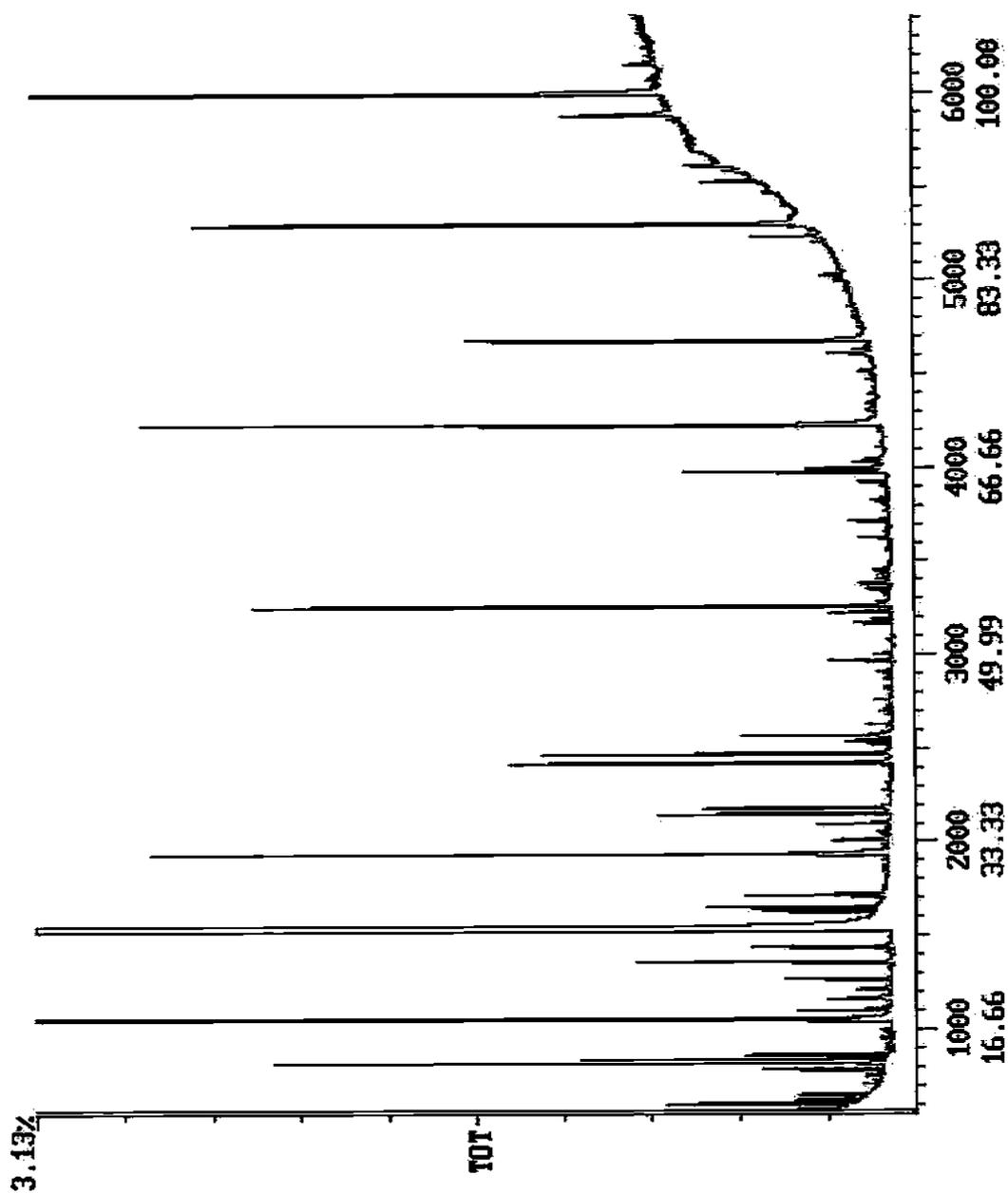
Anexo 13: Cromatograma dos compostos voláteis da amostra 12 de cachaça obtido por extração com solvente e análise por CG-DIC.



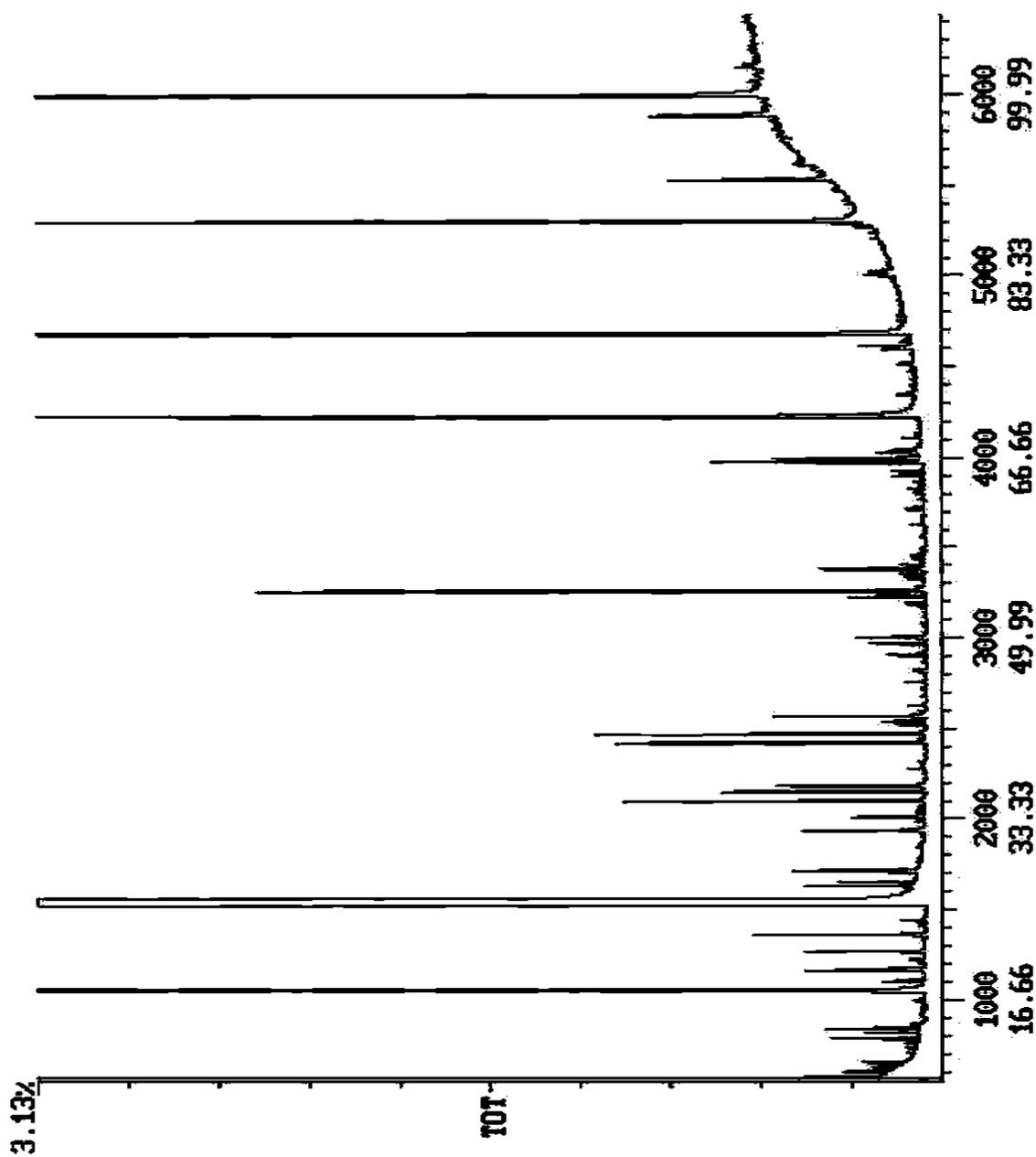
Anexo 14: Cromatograma dos compostos voláteis da amostra 13 de cachaça obtido por extração com solvente e análise por CG-DIC.



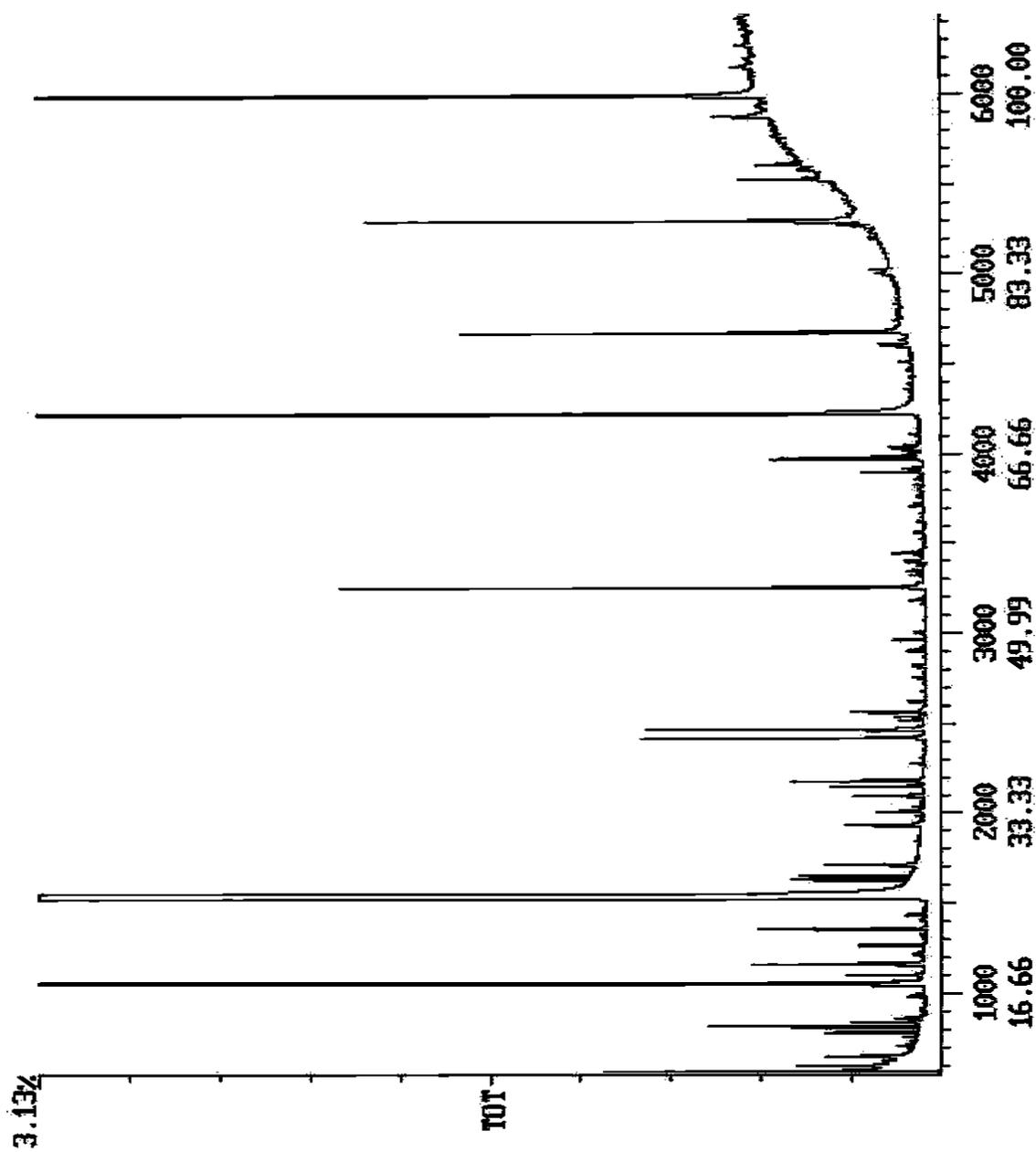
Anexo 15: Cromatograma dos compostos voláteis da amostra 1 de cachaça obtido por extração em fase sólida e análise por CG-EM.



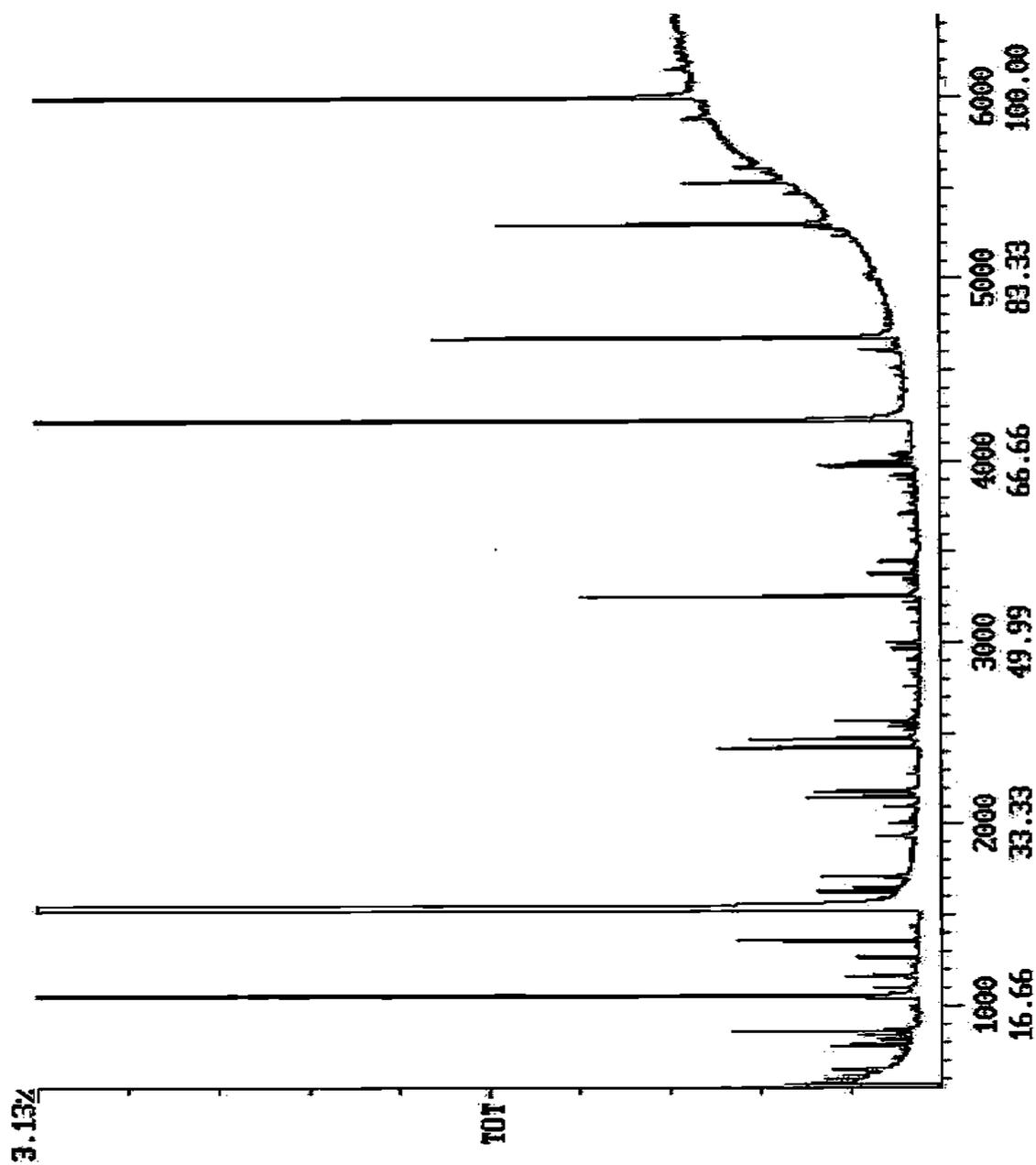
Anexo 16: Cromatograma dos compostos voláteis da amostra 2 de cachaça obtido por extração em fase sólida e análise por CG-EM.



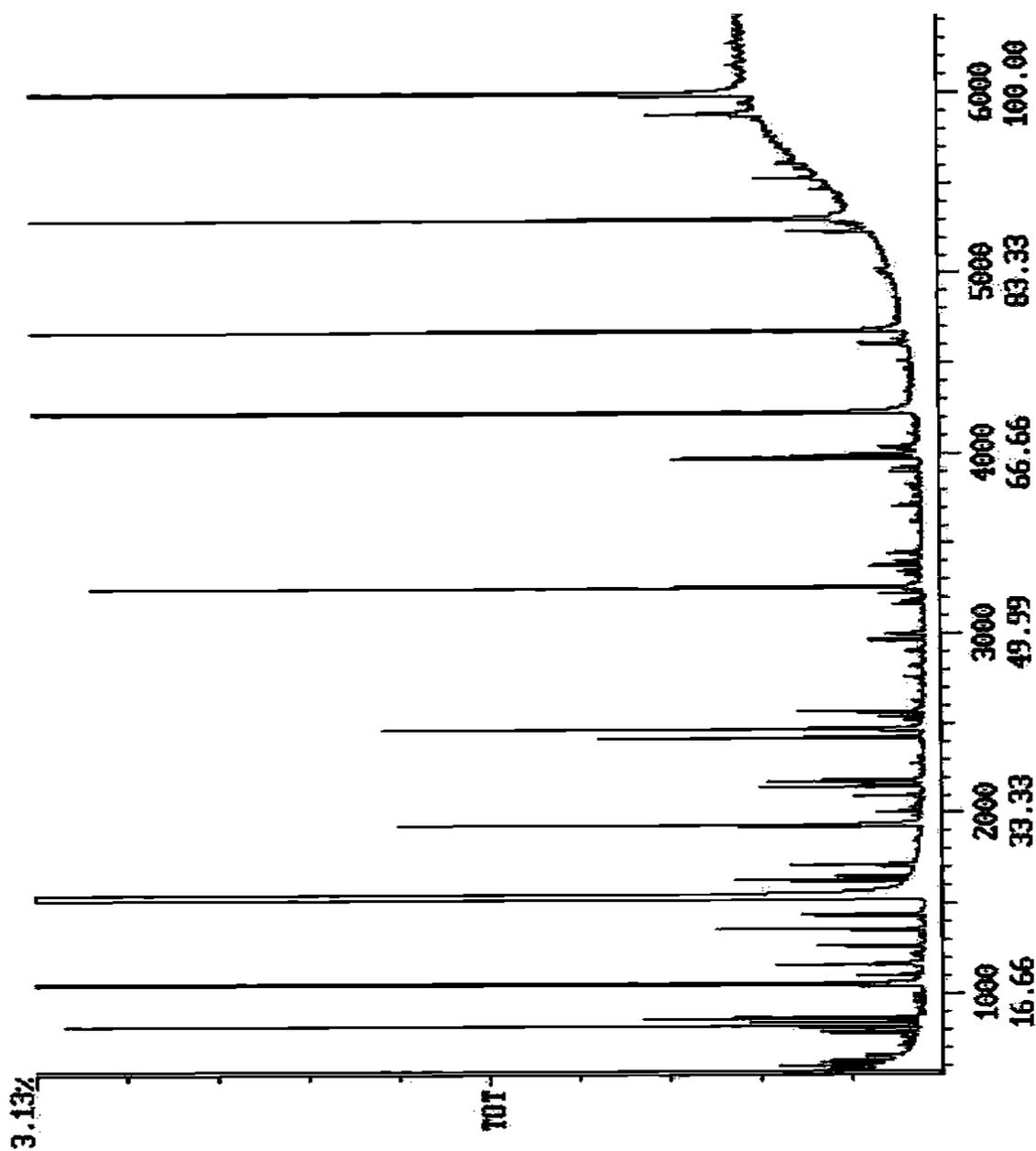
Anexo 17: Cromatograma dos compostos voláteis da amostra 3 de cachaça obtido por extração em fase sólida e análise por CG-EM.



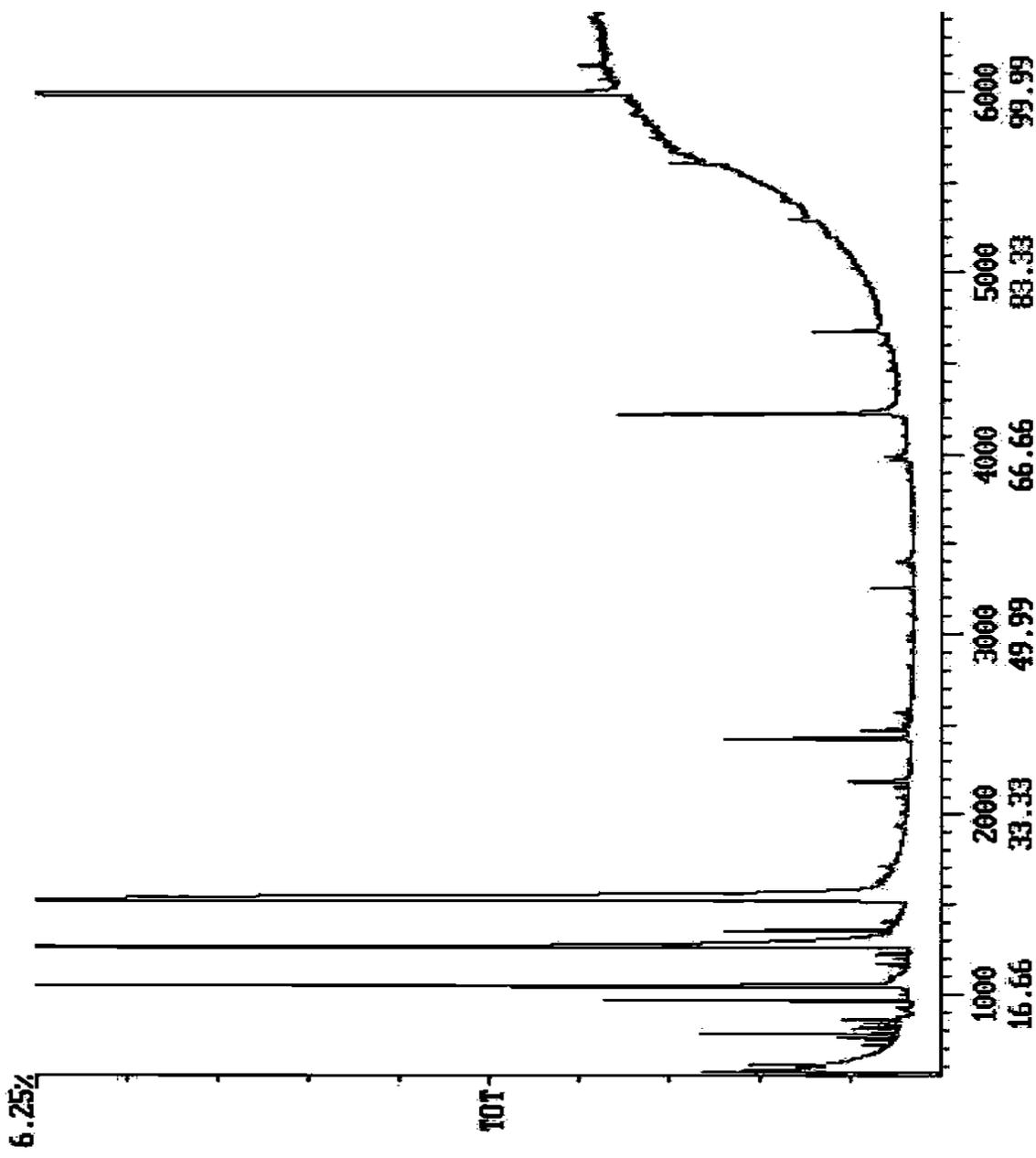
Anexo 18: Cromatograma dos compostos voláteis da amostra 4 de cachaça obtido por extração em fase sólida e análise por CG-EM.



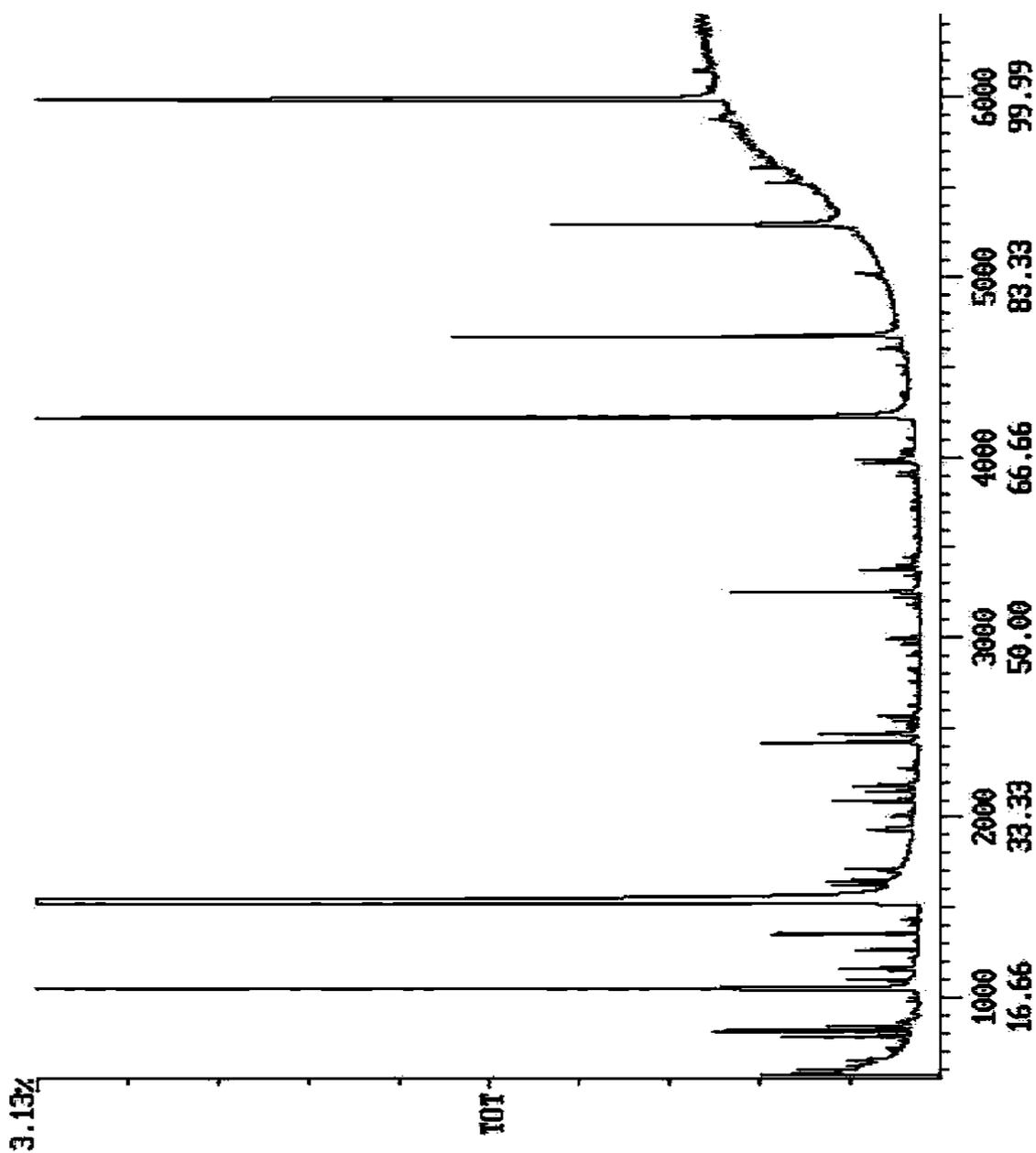
Anexo 19: Cromatograma dos compostos voláteis da amostra 5 de cachaça obtido por extração em fase sólida e análise por CG-EM.



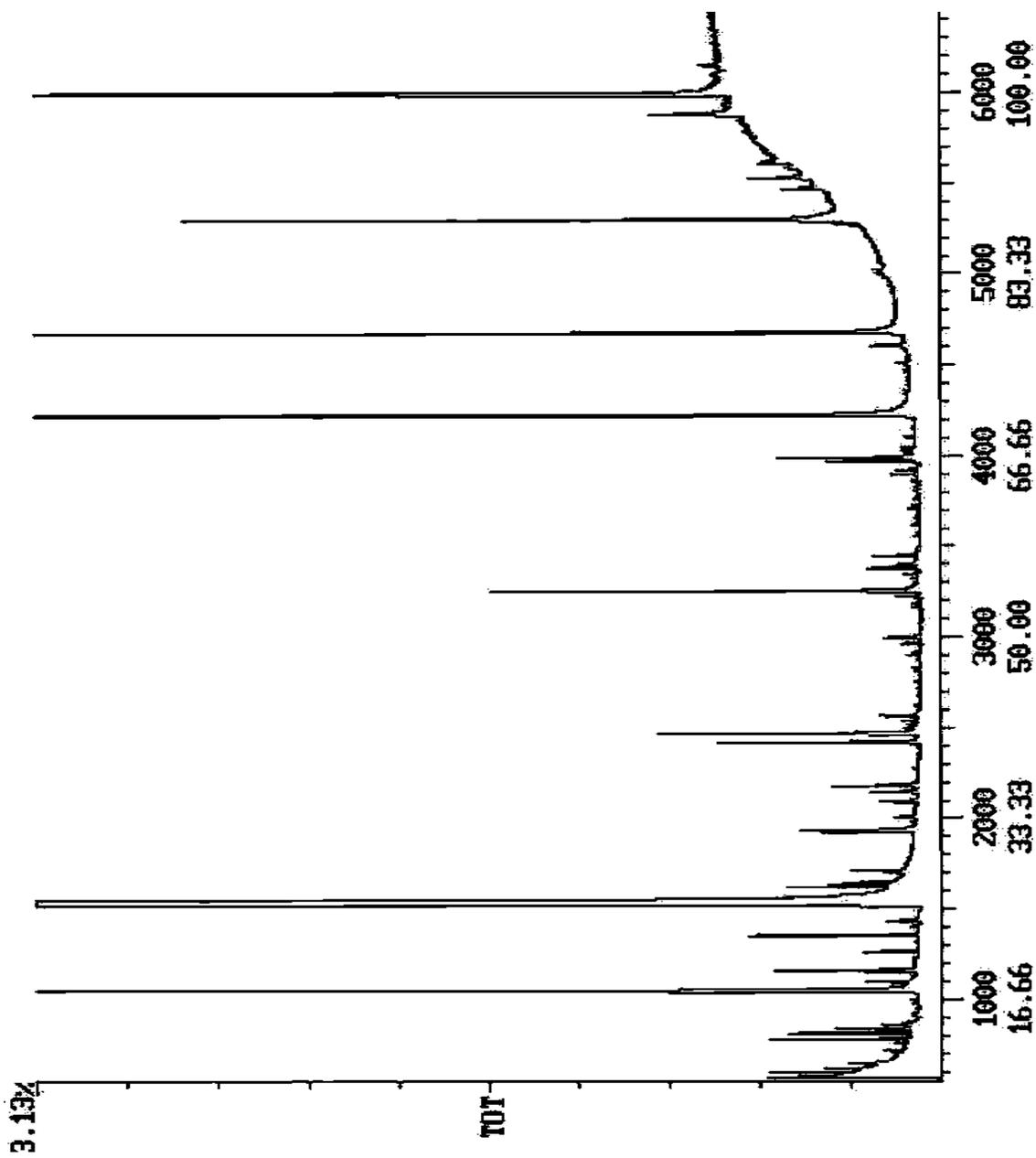
Anexo 20: Cromatograma dos compostos voláteis da amostra 6 de cachaça obtido por extração em fase sólida e análise por CG-EM.



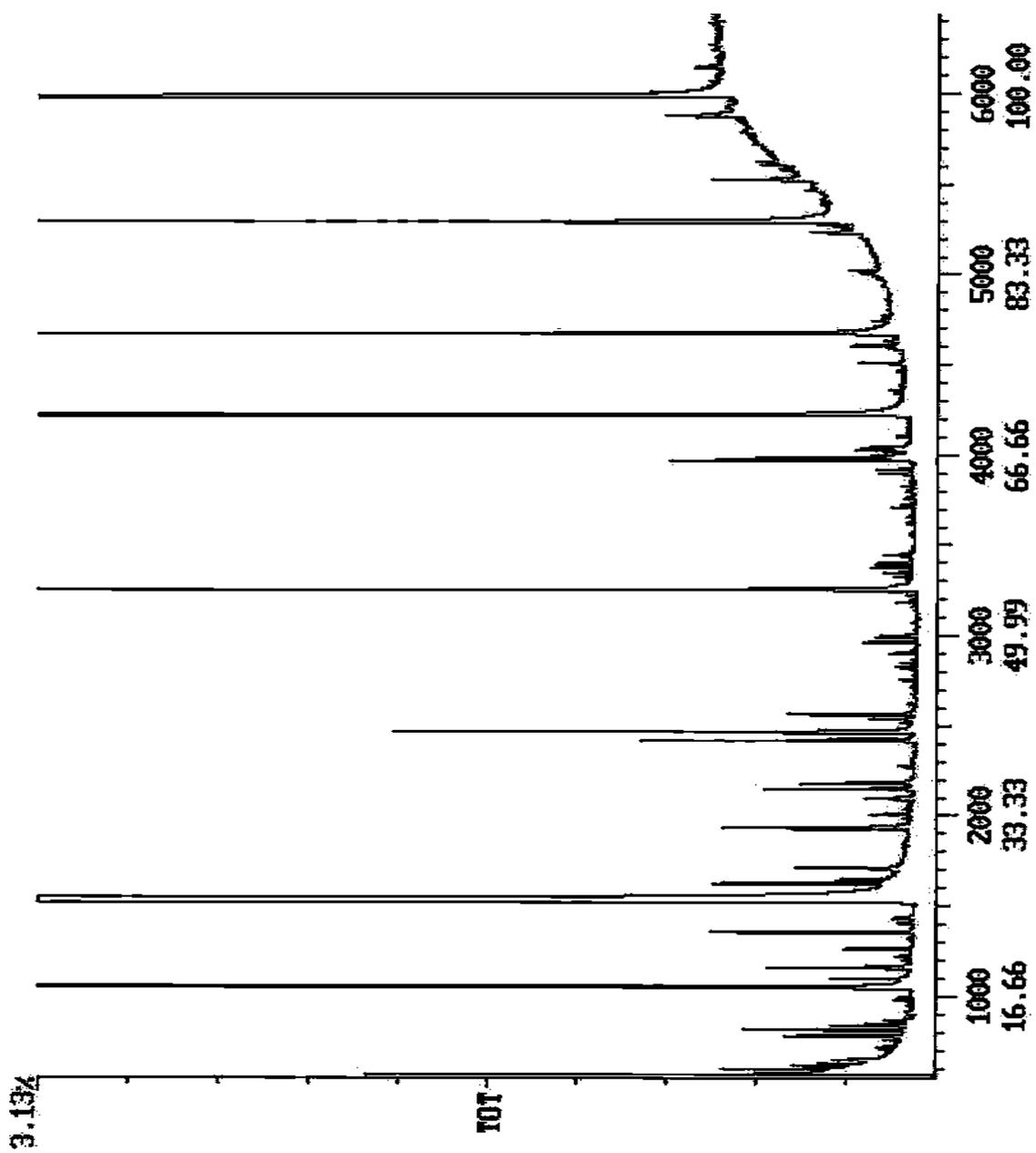
Anexo 21: Cromatograma dos compostos voláteis da amostra 7 de cachaça obtido por extração em fase sólida e análise por CG-EM.



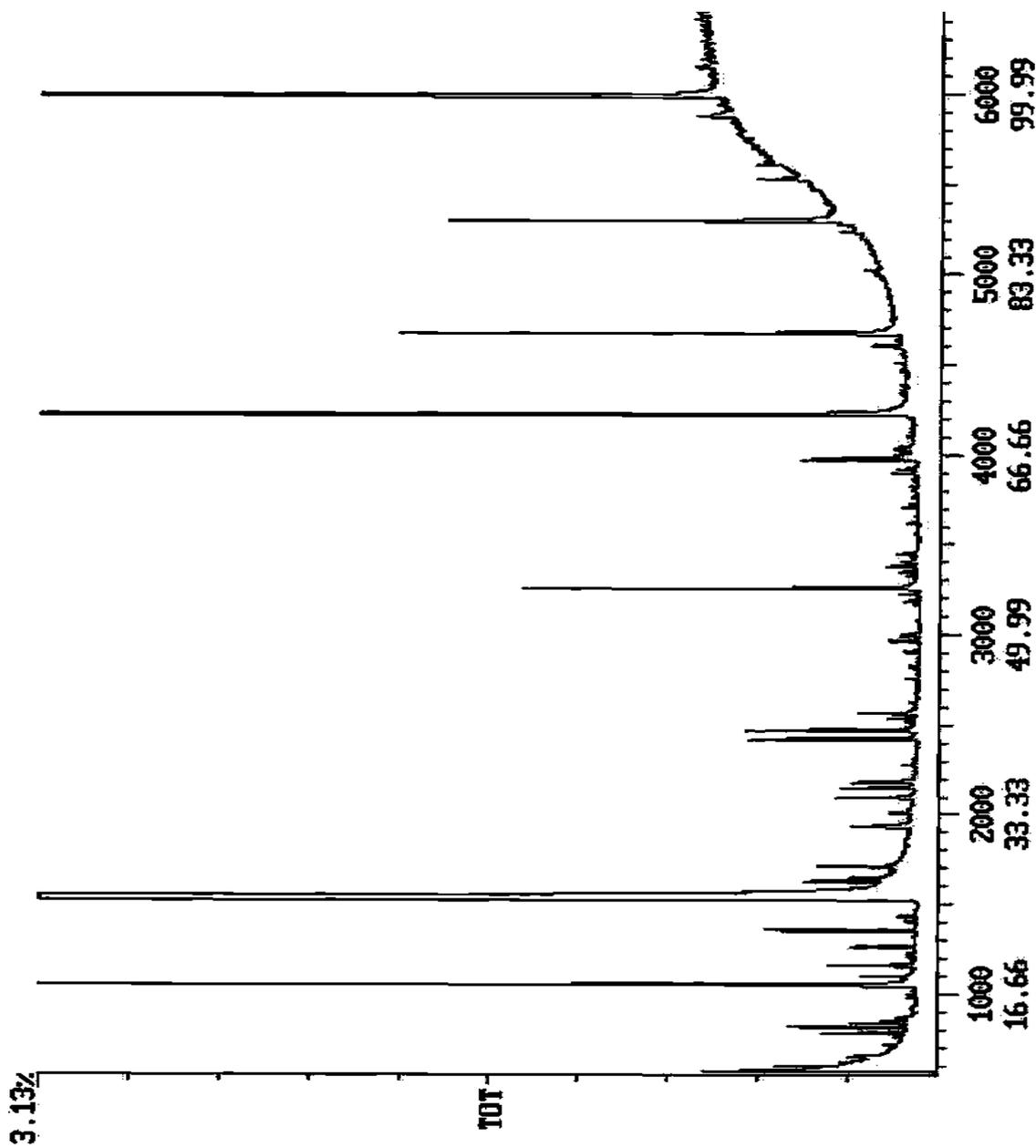
Anexo 22: Cromatograma dos compostos voláteis da amostra 8 de cachaça obtido por extração em fase sólida e análise por CG-EM.



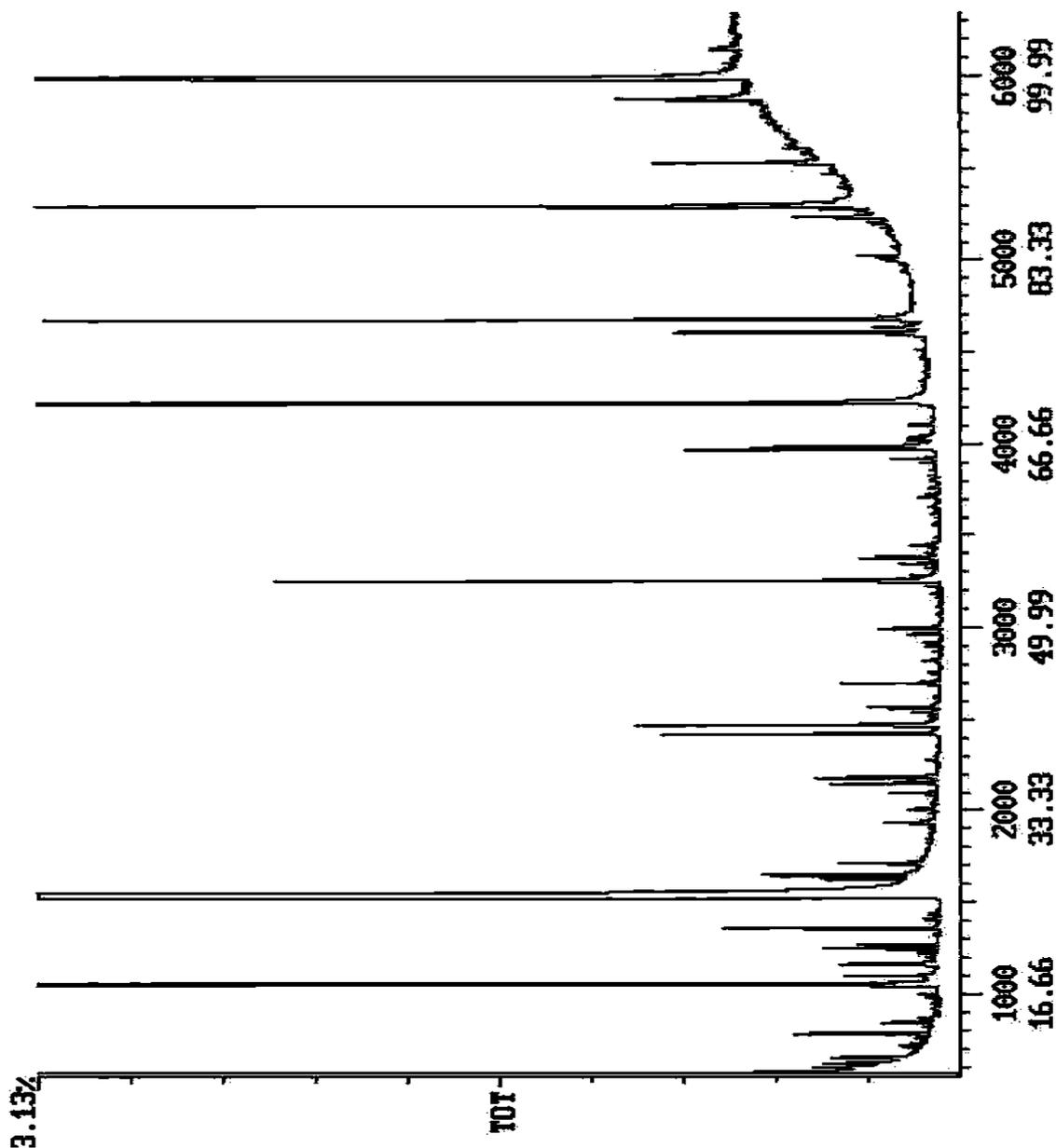
Anexo 23: Cromatograma dos compostos voláteis da amostra 9 de cachaça obtido por extração em fase sólida e análise por CG-EM.



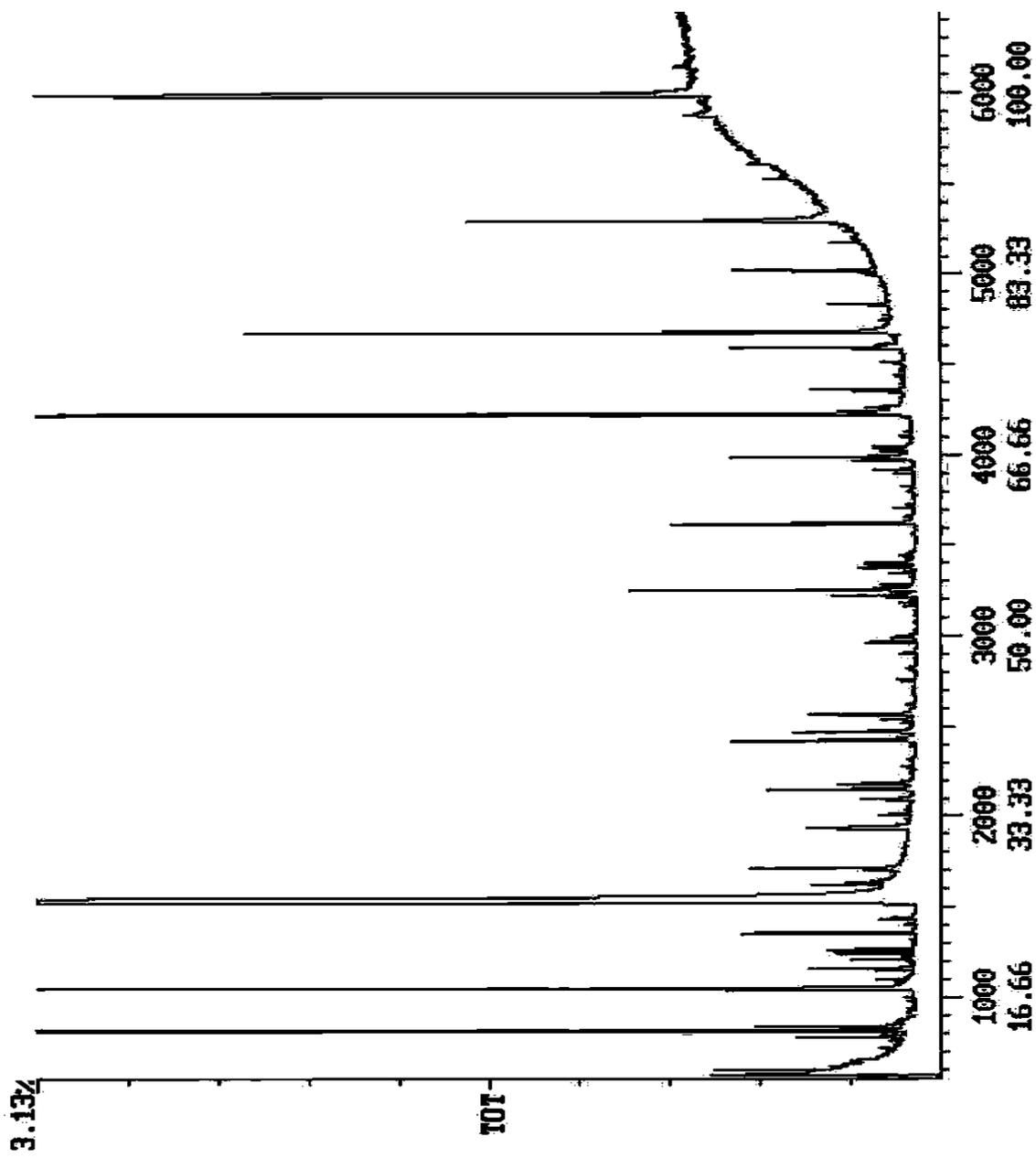
Anexo 24: Cromatograma dos compostos voláteis da amostra 10 de cachaça obtido por extração em fase sólida e análise por CG-EM.



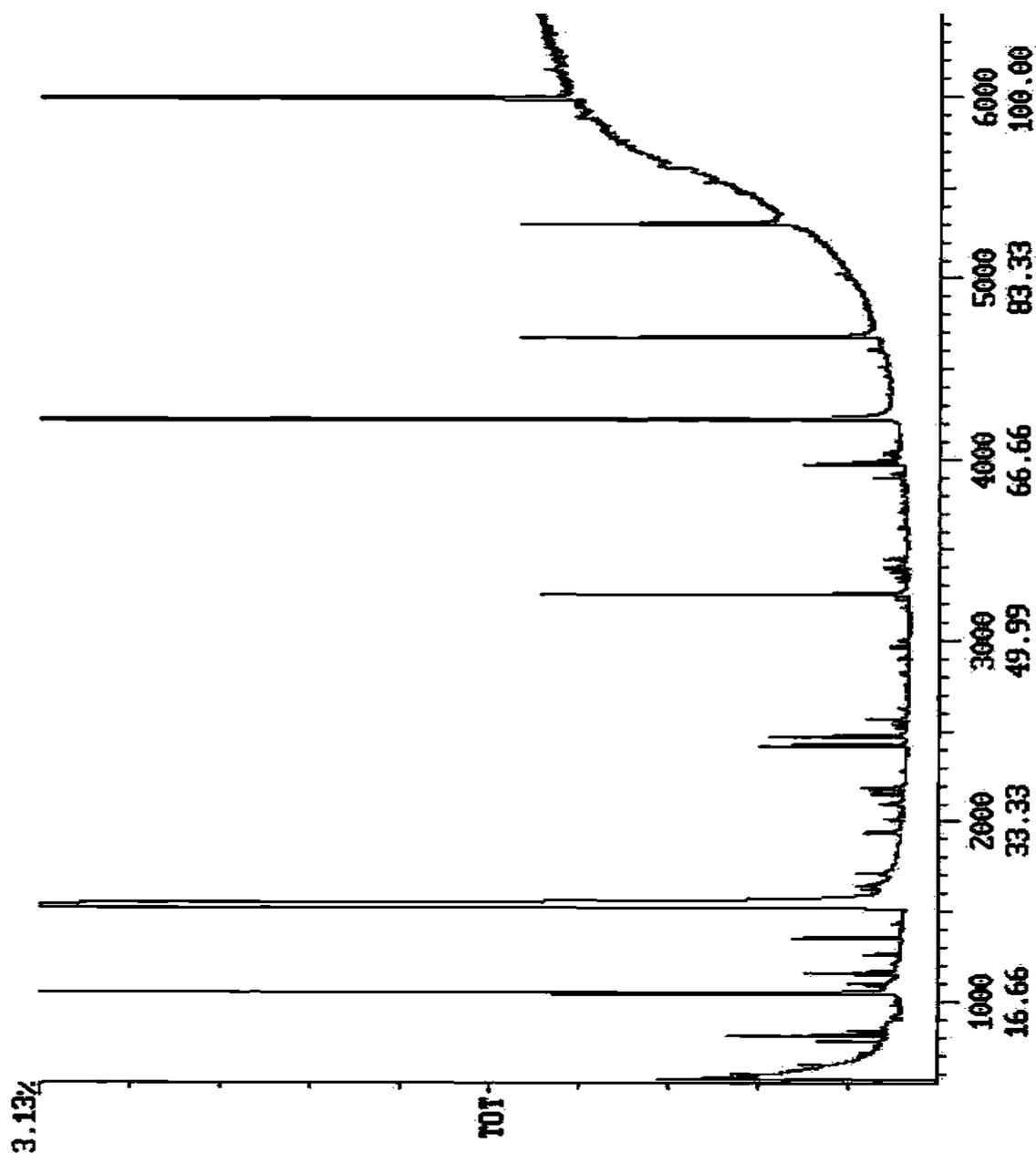
Anexo 25: Cromatograma dos compostos voláteis da amostra 11 de cachaça obtido por extração em fase sólida e análise por CG-EM



Anexo 26: Cromatograma dos compostos voláteis da amostra 12 de cachaça obtido por extração em fase sólida e análise por CG-EM.



Anexo 27: Cromatograma dos compostos voláteis da amostra 13 de cachaça obtido por extração em fase sólida e análise por CG-EM.



Anexo 28: Ficha de avaliação utilizada na pré-seleção de provedores.

Nome _____ Data _____

Avalie em cada uma das amostras codificadas, a intensidade do sabor característico de cachaça e indique sua resposta na escala correspondente. Comente a presença de sabores estranhos, caso venha a percebê-los.

Amostra _____

pouco característico bastante característico

|-----|

Amostra _____

pouco característico bastante característico

|-----|

Comentários: _____

Anexo 29: Ficha para o Método Rede para as amostras de cachaça.

Nome _____ Data _____

Por favor, avalie as amostras de **CACHAÇA** e descreva suas similaridades e diferenças, quanto à **APARÊNCIA, AROMA E SABOR**.

Amostras _____ e _____

APARÊNCIA

similaridades

diferenças

AROMA

similaridades

diferenças

SABOR

similaridades

diferenças

Anexo 30: Termos mais frequentes e quantas vezes foram citados pelos provadores nos itens mais gostou e menos gostou, em relação ao aroma, sabor e impressão global nas amostras de aguardentes de cana.

TERMOS	MAIS GOSTOU	MENOS GOSTOU
CACHAÇA 1	aroma 16 aroma não doce 1 sem cheirar muito a pinga 1 sabor 7 sabor característico 1 sabor não tão amargo 1 sabor suave 1 sabor adocicado 1	aroma 4 aroma muito alcoólico 2 sabor 6 sabor adocicado 2 sabor seco 1 sabor forte 2 sabor acro 1 sabor meio amargo 1 gosto de fundo (enxofre) 1 queima o estômago 1 ardência 1 sabor de fundo aquoso 1 agressividade 1 amostra inferior a outras comerciais 1 cor 2
CACHAÇA 2	aroma 17 aroma não muito forte 2 aroma sem cheiro forte de álcool 2 sabor 7 suavidade 1 não arde o estômago 1	aroma 6 sabor 8 gosto residual amargo 3 sabor de álcool forte 2 ardência 1 sabor fraco 1 sabor desagradável 1 queimação na língua 1 agressividade 1 cor 2

continua...

continuação...

TERMOS	MAIS GOSTOU	MENOS GOSTOU
CACHAÇA 3	aroma 13 algo parecido com vinho tinto 1 sabor 8 sabor adocicado 3 pouca ardência na boca 1	aroma 6 aroma forte 1 aroma alcoólico muito forte 1 falta de aroma 1 sabor 10 sabor muito forte 1 muito álcool 1 doçura excessiva 1 ardência 1 cor 1
CACHAÇA 4	aroma 8 aroma de fruta 2 aroma bem fraco 1 lembra de leve cerveja 1 sabor 7 sabor suave 3	aroma 7 aroma forte de álcool 1 sabor 7 gosto amargo 3 sabor residual, residual amargo 3 sabor alcoólico 1 sabor doce 1 sabor irritante 1 sabor final salgado 1 queima o estômago 1 sabor muito forte 1 cor 1
CACHAÇA 5	aroma 11 aroma não muito forte 2 sabor 7 sabor com pouca ardência 1 a primeira impressão do sabor 1 doçura 1 cor 1	aroma 5 aroma fraco 1 cheiro forte de álcool 1 sabor 6 ardência 2 sabor ruim 1 sabor doce 1 sabor forte, irritante 2 gosto de fundo amargo 1 falta de sabor 1 agressividade 1 cor 1

continua...

continuação...

TERMOS	MAIS GOSTOU	MENOS GOSTOU
CACHAÇA 6	aroma 7 odor 1 aroma não muito forte 2 sabor 11 sabor não muito forte 1 sabor suave 1 cor 3	aroma 7 aroma ardido 2 aroma pouco característico 1 aroma nada característico 1 sabor 7 sabor forte de álcool 3 gosto residual 1 sabor extremamente forte 1 sabor enjoativo 1 levemente adocicada 1 agressiva 1 amarga 1 cor 2
CACHAÇA 7	aroma 9 aroma doce 2 aroma suave 1 aroma não extremamente forte 1 sabor 8 sabor característico 1 sabor adocicado 1 ardência baixa 1	aroma 4 teor alcoólico forte 1 sabor 6 gosto bem ardido 5 sabor residual 3 sabor meio desagradável 1 sabor meio adocicado 1 gosto amargo 1 teor alcoólico forte 1 cor 2
CACHAÇA 8	aroma 12 aroma suave 2 aroma agradável 2 aroma forte 1 sabor 7 sabor suave 1 sabor forte 1 sabor com pouca ardência 1	aroma 8 sabor 10 ardência 4 sabor residual amargo 2 sabor residual forte 1 um pouco forte 1 sabor alcoólico 1

continua...

continuação...

TERMOS	MAIS GOSTOU	MENOS GOSTOU
CACHAÇA 9	aroma 15 aroma suave 1 aroma levemente adocicado 1 aroma não muito alcoólico 1 sabor 4 sabor forte 1 doçura 1	aroma 2 aroma de álcool forte 1 aroma muito forte 1 sabor 15 agressividade 6 ardência 6 gosto residual amargo 3 sabor sem açúcar 1 sabor desagradável 1
CACHAÇA 10	aroma 10 aroma adocicado 1 Sabor 7 sabor adocicado 1 sabor não irritante 1 sabor parece encorpado 1 doçura bem suave 1 suavidade 1 pouca ardência 1 cor 1	aroma 5 cheiro de álcool acentuado 2 cheiro estranho 1 sabor 11 muito alcoólico 2 gosto doce 1 fundinho amargo 1 sabor muito forte 1 gosto de fundo 1 grande agressividade 1 grande ardência 1
CACHAÇA 11	aroma 15 aroma suave 2 cheiro de álcool 1 sabor 5 sabor suave 1 sabor não agressivo 1 sabor não muito forte 1 sabor adocicado 1 pouca ardência 1 sabor característico 1	aroma 3 aroma alcoólico 1 aroma pouco característico 1 sabor 9 sabor um pouco aguado 3 sabor residual 2 teor alcoólico alto 1 sabor levemente salgado 1 sabor muito forte 1 amargor 1 cor 1

continua...

continuação...

TERMOS	MAIS GOSTOU	MENOS GOSTOU
CACHAÇA 12	aroma 14 sabor 8 sabor suave 1 sabor não ardente 1 sabor não muito forte 1 não é muito agressiva 1	aroma 7 leve aroma de bagaço fermentado 1 sabor 8 sabor muito alcoólico 2 gosto muito doce 2 fundo de enxofre 1 sabor irritante 1 sabor pouco característico 1 sabor estranho 1 sabor ardido 1 gosto residual 1 cor 2
CACHAÇA 13	aroma 19 aroma suave 1 aroma agradável 1 aroma levemente alcoólico 1 sabor 6 não é muito agressiva 1	aroma 5 aroma metálico 1 aroma não característico 1 sabor 6 gosto ardido 5 sabor forte alcoólico 3 sabor que queima 1

Anexo 31: Valores de p de $F_{amostra}$ e p de $F_{repetição}$ alcançados por cada provador no teste de pré-seleção da equipe sensorial, para Análise Descritiva Quantitativa.

Provador	amostra	repetição
1	0,0344	0,3803
2	0,0250	0,9159
3	0,0570	0,3650
4	0,0012	0,4013
5	0,2452	0,1414
6	0,0364	0,4094
7	0,9833*	0,8210
8	0,0128	0,0586
9	0,0007	0,5318
10	0,3347*	0,6906
11	0,3363*	0,3056
12	0,1433	0,2654
13	0,0272	0,4348
14	0,0533	0,2320

* não discriminou as amostras no nível de significância desejado ($p < 0,30$)
valores desejáveis para provadores: p de $F_{amostra} < 0,30$ e p de $F_{repetição} > 0,05$

Anexo 32: Médias individuais de cada provador com relação às amostras testadas na pré-seleção de provadores.

PROVADOR	AMOSTRA 1	AMOSTRA 2
ES ¹	5,079 a	2,480 b
1	5,650 a	2,450 b
2	4,725 a	1,425 b
3	6,150 a	2,575 b
4	6,700 a	2,175 b
5	3,925 a	2,150 b
6	6,650 a	3,325 b
7	2,725 a	2,700 b
8	5,675 a	2,600 b
9	6,800 a	2,900
10	5,475 a	2,975 b
11	1,025 b	0,525 a
12	5,300 a	3,000 b
13	5,375 a	2,375 b
14	5,425 a	3,050 b

Amostras com a mesma letra não diferiram entre si numa significância de 5%; Amostra 1 = cachaça a 42% de etanol v/v; Amostra 2 = cachaça a 35% de etanol v/v; ¹ ES = Equipe Sensorial

Anexo 33: Termos listados pelos provadores no método de rede e o número de vezes em que foram citados.

TERMOS LISTADOS	NÚMERO DE VEZES
Aparência	
incolores	14
transparência, translúcida	23
cor, coloração	27
aparência cristalina	2
corpo	10
viscosidade, consistência	20
textura	8
Aroma	
alcoólico, álcool	50
característico de álcool	6
aroma característico	1
adocicado	16
doce	6
caramelo	1
baunilha	1
encorpado	3
acetona	1
meio oleoso	1
ardida, ardência	18
irritante	4
pungente	6
penetrante	1
queimação, queima o nariz	5
Sabor	
alcoólico	38
teor alcoólico	15
característico de aguardente de cana	2
adocicada	5
doce	14
açúcar	4
agressiva, agressividade	14
irritante	4
viscosidade, viscosa	3
encorpada	3
amarga	6
metálica	4
costo residual amargo	21
pungente	2
queima o céu da boca	8
queima a garganta	1
picante na ponta da língua	6
arde a língua, ardida, ardência	18
azedo	1
sabor de remédio	2

Anexo 34: Valores de p de $F_{amostra}$ e p de $F_{repetição}$ (entre parênteses) para cada provador em cada atributo julgado no teste de seleção da equipe descritiva quantitativa

Atributo	PROVADOR								
	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄	P ₅	P ₆	P ₇	P ₈	P ₉
Corpo	0,0750 (0,9044)	0,0001 (0,6076)	0,0033 (0,5360)	0,0686 (0,3126)	0,0502 (0,6358)	0,0044 (0,3885)	0,0001 (0,6224)	0,0001 (0,7440)	0,0359 (0,3291)
Aroma Adocicado	0,0229 (0,5324)	0,0001 (0,2395)	0,0001 (0,7708)	0,0016 (0,4118)	0,0004 (0,4638)	0,0540 (0,4675)	0,0001 (0,4479)	0,0005 (0,7526)	0,0001 (0,9689)
Aroma Alcoólico	0,2698 (0,8327)	0,0016 (0,2505)	0,0894 (0,4337)	0,0388 (0,8601)	0,0021 (0,1950)	0,7720* (0,6756)	0,0045 (0,4816)	0,2503 (0,6825)	0,2129 (0,2006)
Aroma Irritante	0,0180 (0,9099)	0,0001 (0,8484)	0,0006 (0,8016)	0,0060 (0,6277)	0,0374 (0,6837)	0,0049 (0,5041)	0,0001 (0,0893)	0,0008 (0,7004)	0,0001 (0,2104)
Ardência Inicial	0,0114 (0,7689)	0,0001 (0,3600)	0,0155 (0,8804)	0,0144 (0,5514)	0,1684 (0,7550)	0,0029 (0,6292)	0,0001 (0,5941)	0,0001 (0,8265)	0,0001 (0,8347)
Sabor Encorpado	0,1777 (0,6386)	0,0001 (0,5225)	0,0001 (0,2381)	0,114 (0,4733)	0,1132 (0,7067)	0,0660 (0,0722)	0,0001 (0,5895)	0,0001 (0,1731)	0,1978 (0,2709)
Gosto Adocicado	0,0405 (0,7063)	0,0001 (0,5525)	0,0008 (0,1695)	0,0025 (0,9643)	0,0266 (0,0544)	0,4987* (0,1254)	0,0003 (0,2308)	0,0001 (0,1956)	0,0009 (0,4893)
Sabor Alcoólico	0,0844 (0,2515)	0,0171 (0,9722)	0,1000 (0,7750)	0,0006 (0,8179)	0,1953 (0,5916)	0,4617* (0,0999)	0,0009 (0,2984)	0,1583 (0,1900)	0,0215 (0,1597)
Ardência Final	0,0004 (0,6961)	0,0001 (0,0528)	0,0003 (0,3909)	0,0030 (0,3041)	0,0015 (0,9712)	0,0001 (0,7208)	0,0001 (0,2065)	0,0005 (0,4884)	0,0001 (0,8138)
Gosto Amargo	0,0001 (0,3384)	0,0001 (0,3313)	0,0008 (0,9070)	0,0029 (0,6075)	0,0001 (0,3916)	0,0030 (0,7365)	0,0001 (0,6942)	0,0003 (0,3401)	0,0001 (0,3348)
D	0	0	0	0	0	3	0	0	0
R	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T	0	0	0	0	0	3	0	0	0

D = número de vezes em que o provador não discriminou as amostras no nível de significância desejado ($p < 0,30$)

R = número de vezes em que o provador não apresentou repetibilidade no nível de significância desejado ($p > 0,05$)

Valores desejáveis para provedores: $p_{amostra} < 0,30$ e $p_{repetição} > 0,05$.

