

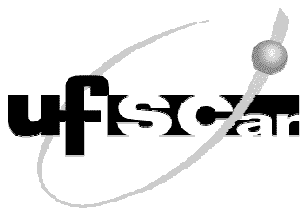


**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
AGROECOLOGIA E DESENVOLVIMENTO RURAL**

**INFLUÊNCIA DO TIPO DE FERMENTO E DO ENVELHECIMENTO  
SOBRE A QUALIDADE DA CACHAÇA ARTESANAL ORGÂNICA**

**AFRA VITAL MATOS DIAS GABRIEL**

ARARAS  
2010



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
AGROECOLOGIA E DESENVOLVIMENTO RURAL**

**INFLUÊNCIA DO TIPO DE FERMENTO E DO ENVELHECIMENTO  
SOBRE A QUALIDADE DA CACHAÇA ARTESANAL ORGÂNICA**

**AFRA VITAL MATOS DIAS GABRIEL**

ORIENTADOR: PROFa. Dra. SANDRA REGINA CECCATO ANTONINI  
CO-ORIENTADOR: PROF. Dr. LUIZ ANTONIO CORRÊA MARGARIDO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agroecologia e Desenvolvimento Rural para obtenção do título de Mestre em Agroecologia e Desenvolvimento Rural como requisito à obtenção do título de MESTRE EM AGROECOLOGIA E DESENVOLVIMENTO RURAL

ARARAS  
2010

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da  
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

G118it

Gabriel, Afra Vital Matos Dias.

Influência do tipo de fermento e do envelhecimento sobre a qualidade da cachaça artesanal orgânica / Afra Vital Matos Dias Gabriel. -- São Carlos : UFSCar, 2010.  
83 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2010.

1. Agroecologia. 2. Cachaça. 3. Fermentação – processos. I. Título.

CDD: 630 (20<sup>a</sup>)

MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO  
DE

**AFRA VITAL MATOS DIAS GABRIEL**

APRESENTADA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
AGROECOLOGIA E DESENVOLVIMENTO RURAL, DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL DE SÃO CARLOS, **EM 28 DE JUNHO DE 2010.**

BANCA EXAMINADORA:

  
\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. SANDRA REGINA CECCATO ANTONINI

ORIENTADOR  
PPGADR/UFSCar

  
\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. MARIA TERESA MENDES RIBEIRO BORGES

PPGADR/UFSCar

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. ANTONIO SAMPAIO BAPTISTA

USP/ESALQ

*Dedico*

*Aos meus amados pais, Fernando e Valéria Gabriel, por serem imprescindíveis na  
minha vida.*

*Aos meus irmãos, Fernando e Lucas Gabriel, por deixarem a minha vida mais feliz.*

*À minha orientadora Sandra pela paciência, assistência, carinho e compreensão  
durante todo o tempo em que trabalhamos neste projeto.*

## HOMENAGEM

*À Profa. Dra Sandra Regina Ceccato Antonini, pelo exemplo de profissional e ser humano que pude conhecer. A sua conduta sempre foi irrepreensível e digna da minha admiração e respeito. Por todo o carinho e orientação à mim dispensados, minha eterna gratidão!*

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus primeiramente. Por sempre se fazer presente na minha vida, me manter no caminho seguro e certo, me amparar nas fraquezas e vacilações, nos medos sem fim.

À Profa. Dra. Sandra Regina Ceccato Antonini, pela oportunidade de trabalho antes de me conhecer, pela confiança depositada em mim, pela ajuda e paciência com as minhas dificuldades. Por todo apoio e atenção que recebi, obrigada.

Ao Prof. Dr. Luiz Antônio Correa Margarido por compartilhar o Laboratório de Alimentos Orgânicos (LAO) e por toda a orientação na elaboração das cachaças.

Aos meus amados pais, por serem presentes em minha vida, acreditarem em mim sempre e me proporcionarem um lar de amor, compreensão, carinho e respeito, amo-os. Vocês que me ensinaram tudo, a não ter medo de cair nem de tentar, a ter forças para recomeçar..., a ter fé e vontade de vencer!

Ao Lucas, por acreditar em mim quando muitas vezes nem eu mais acreditava, e a você Fernando por ser tão diferente, mas tão especial.

Ao meu amado, Juliano Francisco, com quem aprendo sempre, que me apóia nos momentos difíceis e me faz sorrir com tanta facilidade. Que possamos caminhar juntos sempre, com a mesma lealdade e cumplicidade, com o mesmo amor.

À Profa. Dra. Silvana Perissato Meneghin, pela amizade, ajuda com o trabalho e durante as análises estatísticas.

À Técnica Lúcia T. Picollo Silva, minha eterna gratidão pelas vezes que me foi irmã, mãe, amiga e psicóloga, sempre disposta a ajudar, a ouvir e a se calar quando necessário. Você sabe enxergar o melhor que existe em cada um que passa no LAMAM, o que faz você ser muito especial.

À Profa. Dra. Maria Teresa Mendes Ribeiro Borges, pela amizade consolidada durante o trabalho, por tantos conselhos recebidos, por dividir seus conhecimentos acadêmicos com tanta humildade, compreendendo as minhas dificuldades. Por todo o apoio e carinho, obrigada!

À Profa. Dra. Marta Regina Verruma Bernardi, que me ajudou nas análises sensoriais com tanto esmero, sempre preocupada com a qualidade e eficiência.

Aos amigos presentes e distantes que incentivaram e torceram por mim. Esses que entre choros e desabafos acreditaram que eu conseguiria por fim. Bianca Castro, Elaine Aguenta, Fabrícia Mendes, Fabrícia Reis, Gisele Castellani, Jô, Kelly, Margareth Mayummi, Maria "Heleníssima", Priscila Fuentes e Sônia Reis, o meu muito obrigada é pouco.

À Profa. Dra. Márcia Maria Rosa, muito agradeço pela amizade, companheirismo e ajuda no trabalho. Esse tempo durante o projeto me fez conhecer você melhor e estimar muito a sua amizade.

Às Lamanzetes amigas-irmãs queridas, Carolina Codato, Cris Martini, Emanuele Paiva, Emilie Bertollo, Simoni Avansini e Vanessa Severino que muito mesmo me



ajudaram durante o projeto. Aprendi bastante com vocês. Muitas vezes vocês pararam o que estavam fazendo para me ajudar, isso não tem como agradecer. Adoro vocês!

À Bibliotecária do Centro de Ciências Agrárias Maria Helena Sacchi do Amaral, pela amizade sincera e desinteressada, pela pronta disponibilidade em me ajudar com as referências com tanto cuidado e perfeccionismo. Sua amizade é muito importante para mim.

Aos técnicos do Laboratório de Simulação Tecnológica (LAST), Cidinho e Renato e as estagiárias Sílvia e Ana pela colaboração nas análises físico-químicas.

À todas as “Lamanzetes” e equipe do Laboratório de Microbiologia Agrícola e Molecular (LAMAM), Ana Lígia, Ana Paula, Camilinha, Carolina Bianco, Daiane, Fabiano, Gisele, Jéssica A., Jéssica C., Lincon, Maisa, Mariana, Mariane, Paulo e Vandinha, pelo companheirismo e respeito que sempre admirei e encontrei aqui.

À equipe do Laboratório de Alimentos Orgânicos (LAO), João Paulo e Ricardo. Ao João, especialmente junto com o Erick Zurita, pelo apoio e amizade durante a fabricação das cachaças.

# **INFLUÊNCIA DO TIPO DE FERMENTO E DO ENVELHECIMENTO SOBRE A QUALIDADE DA CACHAÇA ARTESANAL ORGÂNICA**

**Autor: Afra Vital Matos Dias Gabriel**

**Orientador: Profa. Dra. Sandra Regina Ceccato Antonini**

**Co-orientador: Prof. Dr. Luiz Antonio Corrêa Margarido**

## **RESUMO**

O mercado atual de cachaça artesanal tem crescido continuamente nos últimos anos, especialmente na última década. Isso é um reflexo dos programas governamentais de incentivo aos pequenos produtores, que correspondem a 30% da produção de cachaça no país. Esses produtores são prioritariamente familiares, utilizam processos e técnicas tradicionais e rudimentares de produção, com pouco ou inexistente controle de qualidade. O fermento é preparado de forma artesanal (chamado de “fermento caipira”), aproveitando-se as leveduras e bactérias autóctones do mosto. Isso dificulta o controle da qualidade da bebida, no entanto, pode contribuir para a melhor qualidade sensorial da mesma. A produção de cachaça orgânica aparece como uma alternativa promissora para pequenos produtores devido à crescente demanda por produtos naturais, saudáveis e ecologicamente corretos. Dessa forma, este trabalho se propôs a avaliar a contribuição do tipo de fermento (caipira e prensado) e do envelhecimento para a qualidade físico-química e sensorial da cachaça, numa forma de colaborar para o desenvolvimento deste segmento agroindustrial. A fermentação com o fermento caipira apresentou maior número de leveduras selvagens e menor número de leveduras totais, porém não há diferença no número de bactérias em relação àquela com o fermento prensado. Enquanto para este fermento ocorreu um aumento ou estabilização no número de leveduras selvagens com o decorrer dos ciclos fermentativos, com o fermento caipira este número decaiu ou estabilizou. Houve uma intensa acidificação durante o preparo do fermento caipira, que se repetiu nos ciclos iniciais de fermentação com este fermento, diminuindo a seguir. Houve alterações significativas na composição das cachaças redestiladas com o envelhecimento, especialmente quanto ao pH, acidez total (fixa e volátil), teor alcoólico e compostos secundários, como n-propanol, acetaldeído, isobutanol e compostos voláteis totais. Todos os parâmetros avaliados apresentaram-se dentro dos limites da legislação brasileira. O tipo de fermento interferiu na qualidade da bebida, pois a cachaça produzida com o fermento caipira apresentou aumento de acidez fixa com o envelhecimento, enquanto naquela produzida com o fermento prensado, houve aumento da acidez volátil. Os testes sensoriais de preferência revelaram que as cachaças produzidas com fermento caipira foram significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ) das cachaças produzidas com fermento prensado quanto aos atributos aroma e impressão global, após o envelhecimento. Embora o fermento caipira tenha mostrado maior número de leveduras selvagens no pé-de-cuba e mosto, a cachaça produzida com este fermento foi a que mostrou

melhor preferência. Não houve diferenças nos testes sensoriais quanto aos dois tipos de fermento para as cachaças não envelhecidas, mostrando que não só o envelhecimento tem influência na qualidade da cachaça, mas também o tipo de fermento utilizado na fermentação para a produção da bebida.

Palavras-chave: Cachaça artesanal. Fermento caipira. Redestilação.

# INFLUENCE OF THE FERMENT AND THE AGEING OVER THE QUALITY OF ORGANIC ARTISANAL CACHAÇA

**Author: Afra Vital Matos Dias Gabriel**

**Adviser: Prof Dr Sandra Regina Ceccato Antonini**

**Co-adviser: Prof Dr Luiz Antonio Corrêa Margarido**

## ABSTRACT

The current market of artisanal cachaça has growing continuously in the last years, especially in the last decade. This is a result of governmental programs to stimulate low-scale producers, which correspond to 30% of the cachaça production in Brazil. These familiar producers have been using traditional and rudimentary processes and techniques, with a little or no quality control. The ferment is prepared in an artisanal way (*caipira* ferment or natural ferment), with autochthonous yeasts and bacteria present in the sugar cane juice. This obviously difficultates the quality control of the beverage, however, it may contribute to a better sensorial quality. The organic cachaça production appears to be a promising alternative for low-scale producers because the demand for natural products, healthy and ecologically correct is increasing. In this context, this work aimed to evaluate the contribution of the type of the ferment (*caipira* and commercial) and the ageing (in oak barrels) to the chemo-sensory quality of the cachaça and to the development of this agro-industrial segment. The fermentation with the *caipira* ferment has shown a great number of wild yeasts and a lower number of total yeasts, however, there was no difference in the number of bacteria comparing to the fermentation with a commercial strain. For the latter, an increased or stabilized number of wild yeasts was observed along the fermentative cycles, while for the *caipira* ferment this number decreased or stabilized. There was an intense acidification of the medium during the preparation of the *caipira* ferment, which was repeated in the initial cycles of the fermentation with this ferment, decreasing afterwards. Significant alterations in the composition of redistilled cachaças were observed after ageing in oak barrels, especially concerning to pH, total acidity (fixed and volatile), alcoholic content and secondary compounds, as n-propanol, acetaldehyde, isobutanol and total volatile compounds. All the parameters presented values within the limits of Brazilian laws. The type of the ferment influenced the beverage quality, because the cachaça produced with the *caipira* ferment has shown increased fixed acidity with the ageing, while for the one produced with the commercial strain, there was an increase in the volatile acidity. The sensory tests of preference revealed that the cachaças produced with the *caipira* ferment were significantly different ( $p < 0.05$ ) from the cachaças produced with the commercial strain regarding the aroma and global impression, after ageing. Although the fermentation with *caipira* ferment has shown a great number of wild yeasts in the inoculum and in the sugar cane juice, the cachaça produced with this ferment showed better preference. There were no differences in the sensory tests concerning both ferments for the non-aged cachaças, showing that not only the ageing

influenced the quality of the cachaça, but also the type of ferment utilized in the fermentation for the cachaça production.

Key-words: Artisanal cachaça. *Caipira* ferment. Redistillation.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fluxograma de produção da cachaça artesanal orgânica redestilada	34
Figura 2. Aspecto do Laboratório de Agricultura Orgânica e Alimentos Orgânicos (LAO), CCA/UFSCar, onde a cachaça orgânica foi produzida. <b>A.</b> Moenda; <b>B.</b> Caldeira; <b>C.</b> Dornas de fermentação; <b>D.</b> Alambique tipo cebolão; <b>E.</b> Alambiques e pré-aquecedor; <b>F.</b> Tonel para envelhecimento da cachaça.....	37
Figura 3. Análise físico-química do fermento caipira durante o período de seu preparo. ....	43
Figura 4. Análise microbiológica do fermento caipira durante o período de seu preparo.....	44
Figura 5. Número de leveduras totais (UFC/mL) isoladas do meio WLN a partir das amostras do pé-de-cuba nos três ciclos fermentativos utilizando-se os fermentos caipira e prensado. Letras diferentes indicam diferença significativa a 5% pelo teste de Tukey (n=6) .....	47
Figura 6. Número de leveduras não- <i>Saccharomyces</i> (UFC/mL) isoladas do meio Agar Lisina a partir das amostras do pé-de-cuba nos três ciclos fermentativos utilizando-se os fermentos caipira e prensado. Letras diferentes indicam diferença significativa a 5% pelo teste de Tukey (n=6) .....	48
Figura 7. Número de leveduras selvagens resistentes à cicloheximida (UFC/mL) isoladas do meio WLD a partir das amostras do pé-de-cuba nos três ciclos fermentativos utilizando-se os fermentos caipira e prensado. Letras diferentes indicam diferença significativa a 5% pelo teste de Tukey (n=6) .....	49
Figura 8. Número de bactérias (UFC/mL) isoladas do meio Agar Nutriente a partir das amostras do pé-de-cuba nos três ciclos fermentativos utilizando-se os fermentos caipira e prensado. Letras diferentes indicam diferença significativa a 5% pelo teste de Tukey (n=6) .....	51
Figura 9. Número de leveduras totais (UFC/mL) isoladas do meio WLN a partir das amostras do mosto nos três ciclos fermentativos utilizando-se os fermentos caipira e prensado. Letras diferentes indicam diferença significativa a 5% pelo teste de Tukey (n=6) .....	52
Figura 10. Número de leveduras selvagens não- <i>Saccharomyces</i> (UFC/mL) isoladas do meio Agar Lisina a partir da amostra do mosto nos três ciclos	

fermentativos utilizando-se os fermentos caipira e prensado. Letras diferentes indicam diferença significativa a 5% pelo teste de Tukey (n=6).....	53
Figura 11. Número de leveduras selvagens resistentes à cicloheximida (UFC/mL) isoladas do meio WLD a partir da amostra do mosto nos três ciclos fermentativos utilizando-se os fermentos caipira e prensado. Letras diferentes indicam diferença significativa a 5% pelo teste de Tukey (n=6).....	54
Figura 12. Número de bactérias (UFC/mL) isoladas do meio Ágar Nutriente a partir das amostras do mosto nos três ciclos fermentativos utilizando-se os fermentos caipira e prensado. Letras diferentes indicam diferença significativa a 5% pelo teste de Tukey (n=6) .....	55
Figura 13. Análise físico-química do pé-de-cuba nos três ciclos fermentativos utilizando-se os fermentos caipira e prensado. Letras diferentes indicam diferença significativa a 5% pelo teste de Tukey (n=6) .....	57
Figura 14. Análise físico-química do mosto nos três ciclos fermentativos utilizando-se os fermentos caipira e prensado. Letras diferentes indicam diferença significativa a 5% pelo teste de Tukey (n=6) .....	58
Figura 15. Análise físico-química das cachaças artesanais orgânicas produzidas a partir dos fermentos caipira e prensado, envelhecidas (E) ou não envelhecidas (NE) em tonéis de carvalho. Letras diferentes indicam diferença significativa a 5% entre as médias (n=6) .....	60
Figura 16. Concentrações dos componentes secundários (mg/100mL álcool anidro) das cachaças orgânicas produzidas a partir dos fermentos caipira e prensado, envelhecidas (E) ou não envelhecidas (NE) em tonéis de carvalho. Letras diferentes indicam diferença significativa a 5% entre as médias (n=6) ...	64

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Limites dos componentes secundários “não-álcool” e contaminantes orgânicos e inorgânicos da cachaça .....	21
Tabela 2. Valores médios de preferência das cachaças orgânicas não envelhecidas, produzidas a partir de fermento caipira e prensado .....	67
Tabela 3. Valores médios de preferência das cachaças orgânicas envelhecidas, produzidas a partir de fermento caipira e prensado .....	67



## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	14
2. REVISÃO DA LITERATURA .....	17
2.1 Histórico da cachaça no país .....	17
2.2 A Cachaça e a legislação brasileira .....	19
2.3 Cachaça artesanal .....	22
2.4 A produção da cachaça .....	24
2.4.1. Matéria prima .....	24
2.4.2 Caldo de cana e mosto .....	26
2.4.3 Fermentação.....	28
2.4.4 Destilação .....	30
2.4.5 Envelhecimento de bebidas destiladas.....	31
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	33
3.1 Produção das cachaças.....	33
3.1.1 Preparo do fermento.....	33
3.1.2 Fermentações.....	35
3.1.3 Destilação .....	36
3.1.4 Envelhecimento .....	36
3.2 Análises físico-químicas e sensoriais .....	38
3.2.1 Análises físico-químicas do fermento caipira, mosto pé-de-cuba.....	38
3.2.2 Análises físico-químicas da cachaça .....	38
3.2.3 Análise sensorial de preferência da cachaça .....	39
3.3 Análises microbiológicas.....	39
3.3.1 Preparo das amostras para análises microbiológicas ....	39
3.3.2 Meios de cultura .....	40
3.4 Análise estatística .....	40
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
4.1 Preparo do fermento caipira.....	42
4.2 Análise microbiológica do mosto e pé-de-cuba.....	46
4.3 Análise físico-química e sensorial da cachaça.....	59
4.4 Considerações sobre a fermentação, tipos de fermento,	

envelhecimento e qualidade da cachaça.....	69
5. CONCLUSÕES .....	72
6. REFERÊNCIAS.....	74
APÊNDICE .....	83

## 1 INTRODUÇÃO

A produção de cachaça artesanal no Brasil remonta ao antigo período colonial quando os negros escravos descobriram acidentalmente a fermentação do caldo de cana. Acredita-se que isto tenha ocorrido entre 1532 e 1548 num engenho da Capitania de São Vicente, e o produto ficou conhecido como cagaça pelos escravos.

A construção de engenhos passou a ser estimulada pelo então Governador Martim Afonso de Souza, e a partir daí originou-se a cachaça, em meados do século XVI. O vinho fermentado em cochos improvisados, escavados em troncos de árvores, passou a ser destilado em alambiques de barro e a bebida obtida destinada ao consumo humano.

Inicialmente o consumo era incentivado aos escravos pelos senhores de engenho, pois acreditavam servir de estimulante físico. Nesta época, a técnica de produção da cachaça era rudimentar, exclusivamente familiar e as atividades ficavam sob a responsabilidade dos representantes de cada unidade. Em boa parte do país ainda hoje persiste esta forma de produção, sendo o estado de Minas Gerais referência nacional em cachaça artesanal (AMPAQ, 2009).

Os produtores de cachaça no Brasil estão buscando associar à bebida uma imagem de qualidade para satisfazer e agradar principalmente países importadores. Esse esforço tem o apoio do governo federal, que

tem incentivado principalmente os pequenos fabricantes a se reestruturarem para colocar seu produto com qualidade no mercado. A instituição do Programa de Identidade da Cachaça, através da Instrução Normativa n.13, de 29/06/2005 e o Regulamento de Avaliação de Conformidade da Cachaça, RACC, foram contribuições indispensáveis ao fortalecimento da bebida. Com isso o governo federal espera aumentar a aceitação e o consumo da bebida nacional e internacionalmente (CACHAÇA, 2008).

O produto artesanal possui maior apelo comercial, permitindo ao micro, pequeno e médio produtor, maior chance na competição com a cachaça de coluna ou industrial, mas para isto há a necessidade de buscar maior qualidade e padronização.

Assim o processo de fabricação de aguardente deve estar submetido a práticas que permitam a obtenção de um produto com atributos superiores, padronizados e qualidade comprovada nos aspectos físico-químicos e sensoriais.

Os alimentos orgânicos ou “naturais” conferem ao produtor maior retorno financeiro principalmente quando se trabalha visando o mercado externo, conhecidamente exigente em qualidade. A fabricação de cachaça artesanal orgânica é então, uma forma de favorecer a agricultura familiar, agregando o impacto comercial do rótulo “produto orgânico”. Isso permite que os micro e pequenos produtores possam concorrer no mercado buscando novos tipos de consumidores de cachaça, de maior poder aquisitivo.

Considerando a qualidade sensorial da bebida, há insuficiência de estudos científicos setor, mesmo sendo a cachaça um produto de importância tanto social quanto econômica no país. Dados divulgados em 2009 pela Associação Brasileira de Bebidas - ABRABE indicam que a produção nacional é de aproximadamente 1,3 bilhões de litros/ano e a quantidade exportada é de cerca de 14,8 milhões de litros/ano (ABRABE, 2010).

Ponderando todos estes aspectos, este trabalho teve por objetivo estudar o efeito que dois diferentes tipos de fermentos, “caipira” ou natural e prensado, utilizados na fabricação artesanal de cachaça de alambique, exercem sobre a qualidade físico-química e sensorial da bebida envelhecida ou

não, produzida a partir de cana-de-açúcar cultivada sob manejo orgânico. Avaliações microbiológicas (contagem de leveduras e bactérias) e físico-químicas do processo fermentativo conduzido com os dois tipos de fermento foram também realizadas para verificar possíveis diferenças que pudessem influir sobre a qualidade da cachaça.

## **2 REVISÃO DA LITERATURA**

### **2.1 Histórico da cachaça no país**

A produção de cachaça se confunde com a própria história do Brasil, tendo início próximo à época da colonização. Porém, de acordo com Lima (1999), até o final da Segunda Guerra Mundial a fabricação de cachaça era fundamentalmente arcaica, com técnicas rudimentares de produção e comercialização, normalmente submetidas a uma organização familiar hierárquica. Nesta, a administração, produção e comercialização estavam vinculadas ao chefe de família, inexistindo a preocupação com a qualidade de produção, sendo que poucos produtores envelheciam ou mesmo engarrafavam suas bebidas.

Com o aumento do consumo e da procura, a produção doméstica também cresceu, estimulando os fabricantes a procurarem melhores técnicas de produção. A crescente demanda da bebida culminou no surgimento das grandes indústrias que eram capazes de produzir maior volume de cachaça, pois operavam com grandes colunas de destilação contínua. Consequentemente começaram a surgir as indústrias engarrafadoras, com marcas comerciais próprias, hoje espalhadas por todo país (LIMA, 1999).

No início da sua produção, a aguardente de cana era fabricada com melaço diluído em água ou com caldo de cana, fonte natural de leveduras (NOVAES, 1995; LIMA, 1999). O processo utilizado era semelhante ao realizado até hoje em pequenas unidades familiares, fabricantes de açúcar mascavo. Fervia-se o caldo de cana até a obtenção de um xarope grosso, que permitia a cristalização do açúcar. Depois a próxima etapa era bater esse xarope para esfriar parcialmente e melhorar o ponto de cristalização, e colocá-lo em fôrmas escavadas em um toco, com uma forma cônica invertida, na qual um orifício posterior permitia o escoamento do líquido que não cristalizava o melaço. Ocasionalmente, se não houvesse produção de açúcar o caldo era diretamente encaminhado para os cochos de madeira, escavados em troncos. Nestes ficava exposto ao tempo e fermentava naturalmente e este processo poderia levar alguns dias dependendo da temperatura ambiente, sendo tanto mais rápida quanto maior fosse a temperatura, obviamente dentro de certo limite para não ser intolerável aos microrganismos presentes no processo (LIMA, 1999).

Ainda segundo Lima (1999), a destilação era feita a fogo direto, pela queima de lenha ou do bagaço que sobrava da moagem da cana. O mesmo ficava armazenado na bagaceira, área próxima ao engenho designada para abrigar o bagaço de cana para secar por exposição ao sol. O sistema industrial de produção de aguardente no Brasil seguiu essa técnica, séculos após o descobrimento. Na metade do século 20, após a Segunda Guerra Mundial, o consumo de aguardente cresceu exigindo um aumento no volume de sua produção e, com isso, a evolução das técnicas de fermentação, a construção das destilarias e dos aparelhos de destilação.

A exigência de maior volume de produção, fez aumentar, inicialmente, a capacidade dos alambiques e da área de cana plantada. Os primeiros aumentos de produção foram obtidos com a fabricação de alambiques um pouco maiores, por causa da limitação imposta pelos materiais e técnicas de construção disponíveis.

Outro artifício utilizado foi instalar diversos aparelhos na mesma destilaria e aumentar a capacidade dos tanques de fermentação, agora

construídos com chapas de ferro e providos de sistemas de alimentação e de descarga utilizando canalizações e registros, em vez das antigas calhas de madeira ou de alvenaria.

Os alambiques usados nos primórdios e que são usados ainda hoje nas destilarias artesanais, são alambiques simples compostos de uma panela onde é colocado o vinho de cana a destilar, de um capitel ou cabeça, onde os vapores da aguardente se enriquecem de álcool, de um tubo de condensação, onde os vapores do destilado são parcialmente condensados e conduzidos para o resfriador, através de uma serpentina, que mergulha em um recipiente cheio de água para completar a condensação dos vapores e promover o resfriamento destes vapores (LIMA, 1999).

## 2.2. A cachaça e a legislação brasileira

A partir da Instrução Normativa nº. 13, de 29/6/2005 (BRASIL, 2005) estabeleceu-se o Padrão de Identidade da Cachaça (PIC), um regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para aguardente de cana e para cachaça.

A terminologia cachaça refere-se assim à bebida “típica e exclusiva da aguardente de cana produzida no Brasil, com graduação alcoólica de 38% vol (trinta e oito por cento em volume) a 48% vol (quarenta e oito por cento em volume) a 20°C (vinte graus Celsius), obtida pela destilação do mosto fermentado do caldo de cana-de-açúcar com características sensoriais peculiares, podendo ser adicionada de açúcares até 6g/l (seis gramas por litro), expressos em sacarose”. A cachaça está pronta para o consumo logo depois de destilada, podendo ser envelhecida em tonéis de madeira, sendo que no Brasil esta etapa é opcional. Esta prática é comum à outras bebidas destiladas como uísque ou rum para melhoria da qualidade do produto final, proporcionando atributos sensoriais particulares. Denomina-se cachaça envelhecida aquela que contiver ao menos 50% de cachaça ou aguardente de cana envelhecida por ao menos 1 ano em tonéis de madeira apropriados. A



bebida classificada como Cachaça Premium é aquela em que 100% for envelhecida em tonéis de madeira apropriados por ao menos um ano, e a Extra Premium àquela que for envelhecida por período não inferior a três anos.

Durante a fermentação alcoólica os principais compostos produzidos são a água, álcool e gás carbônico. Existem além destes, componentes produzidos em menores quantidades denominados secundários ou voláteis que destilam, de acordo com Leauté (1990), segundo três critérios: ponto de ebulição, afinidade com álcool/água e teor alcoólico no vapor durante a destilação. Em função do grau de volatilidade, o destilado é dividido em três frações: cabeça, coração e cauda. A presença e concentração destas frações são influenciadas pelas características do mosto como a sua natureza, a diluição e a realização de correção do mesmo. A destilação e armazenamento da cachaça, assim como o envelhecimento nos diferentes recipientes podem interferir na quantidade e qualidade destes compostos.

Os principais compostos voláteis presentes na cachaça servem de parâmetro de qualidade da mesma e devem estar de acordo com a Instrução Normativa n.13 de 2005 (Tabela 1). As concentrações observadas desses compostos variam bastante em cachaças comerciais, como constataram Penteado e Masini (2009), Garbin, Júnior e Montano (2005), Bogusz-Junior (2006), Vilela et al. (2006) e Miranda et al. (2007).

De acordo com Yokoya (1995), pode-se explicar a formação dos principais álcoois superiores através da degradação de aminoácidos que ocorrem durante o processo fermentativo como o álcool D-amílico a partir da D-leucina, o álcool isoamílico a partir da L-leucina e o álcool isobutílico a partir da valina, estes apresentando odores característicos que são freqüentemente encontrados em bebidas fermento-destiladas. Assim como os alcóois superiores, os ésteres também conferem aroma e sabor à bebida destilada, sendo oriundos do metabolismo dos microrganismos presentes. A concentração destes compostos pode ser controlada conhecendo-se o fermento utilizado e suas particularidades, assim como o tempo de fermentação e a realização correta da separação das frações durante a

destilação, aproveitando-se somente os 80% intermediários de volume final (VARGAS; GLÓRIA, 1995).

**Tabela 1.** Limites dos componentes secundários “não-álcool” e contaminantes orgânicos e inorgânicos da cachaça.

<b>COMPONENTES SECUNDÁRIOS (mg.100mL<sup>-1</sup> álcool anidro)</b>	<b>LIMITE MÁXIMO</b>
Acidez volátil, expressa em ácido acético	150
Ésteres totais, expressos em acetato de etila,	200
Aldeídos totais, expressos em acetaldeído	30
Soma de Furfural e Hidroximetilfurfural,	5
Soma dos álcoois superiores: isobutílico, isoamílico, butanol e 1-propanol	360
<b>CONTAMINANTES ORGÂNICOS (mg.100mL<sup>-1</sup> álcool anidro)</b>	
Metanol	20
Carbamato de etila	0,15
Acroleína (2-propenal)	5
Álcool sec-butílico(2-butanol)	10
Álcool n-butílico (1-butanol)	3
<b>CONTAMINANTES INORGÂNICOS</b>	
Cobre (Cu)	5mg/L
Chumbo (Pb)	200µg/L
Arsênio (As)	100µg/L

FONTE: BRASIL (2005).

No início da fermentação alcoólica é que são formados alguns aldeídos, especialmente o acetaldeído. O metanol é um contaminante, ou defeito da cachaça, e a sua formação também está associada ao início da destilação, sendo ambos encontrados em maiores proporções na fração cabeça. O furfural é resultante da decomposição química de carboidratos. A sua formação é evitada pela filtração do vinho antes da destilação deixando-o livre de substâncias orgânicas em suspensão. A temperatura de destilação de

acordo com Yokoya (1995), também pode influenciar a presença deste composto na bebida. Quando as cachaças são envelhecidas, o furfural pode ser oriundo da ação de ácidos sobre as pentoses e seus polímeros (hemiceluloses). Esse composto pode estar presente no caldo quando a cana-de-açúcar for queimada durante a colheita (PARAZZI et al., 2008). A queima do palhiço da cana gera alguns compostos como o furfural, que podem ser transferidos da cana queimada para a cachaça, reduzindo sua qualidade (MASSON et al., 2007).

A presença de compostos como o carbamato de etila e os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos podem representar riscos a saúde e à qualidade sensorial da cachaça (FRANCO, 2008). Assim, obedecida a Legislação em vigência, as bebidas estão aptas à serem consumidas e comercializadas, tendo esse controle um efeito positivo na qualidade sensorial da cachaça (FARIA, 2003).

O coeficiente de Congêneres ou componentes voláteis "não álcool" corresponde ao somatório dos seguintes constituintes: acidez volátil (expressa em ácido acético); aldeídos (expressos em acetaldeído); ésteres totais (expressos em acetato de etila); álcoois superiores (expressos pela soma do álcool n-propílico, álcool isobutílico e álcool isoamílico); furfural + hidroximetilfurfural.

### 2.3. Cachaça artesanal

De acordo com CACHAÇA (2008), a cachaça artesanal é aquela produzida com matéria prima oriunda de plantações próprias, nas quais não se utiliza agrotóxicos, com colheita manual, sem a queima da cana. A fermentação é natural ou espontânea, sem adição de produtos químicos, conseqüentemente, as cachaças artesanais têm qualidades sensoriais diferenciadas devido aos metabólitos e voláteis produzidos pela gama de leveduras durante o processo fermentativo. Portanto, a composição da população de leveduras é um fator chave para a qualidade da cachaça

(LOUREIRO; MALFEITO-FERREIRA, 2003). A destilação é feita em pequenos alambiques de cobre, o que confere particularidades sensoriais à bebida, e se aproveita apenas o destilado mais nobre, “cachaça de coração”.

Como no processo de produção da cachaça artesanal, também chamada de alambique, não são utilizados aditivos químicos, sendo todos os nutrientes originados de fontes naturais (RIBEIRO, 2002), é comum o uso do chamado fermento caipira, embora alguns produtores mais modernos prefiram o “caipira misto” ou até mesmo o prensado, fermento de panificação.

O fermento selecionado, constituído de leveduras isoladas das dornas de fermentação promove resultados melhores, mas exige técnicas apropriadas para a sua multiplicação, instalação adequada e assepsia (LIMA, 1999), o que requer maior investimento e técnica do produtor.

De acordo com o panorama atual do mercado de cachaça no Brasil, constatou-se que entre as bebidas destiladas, a cachaça correspondeu a mais de 87% do mercado, em 2005. Esses valores justificam a importância do setor para a agricultura familiar no Brasil e a necessidade de uma ação mais eficiente do Governo, pois 30% da cachaça produzida no país é de origem familiar (CACHAÇA, 2008).

Esse estudo destaca o crescimento econômico da cachaça, já que a produção em 2001 era de 1 bilhão de litros por ano, saltando em 2006 para 1,4 bilhões de litros por ano. Isto significa que em cinco anos a produção de cachaça cresceu 40%, mostrando a eficiência dos esforços governamentais de melhoria do padrão de qualidade da cachaça, principalmente a partir do Programa Brasileiro de Desenvolvimento da Cachaça (Pbdac) entre outros.

O maior produtor de cachaça de alambique no país é o estado de Minas Gerais, tradicional nesse segmento, com quase 15% do total e 50% da produção de cachaça artesanal. O consumo cresce 7% ao ano, pois se dá basicamente no mercado interno ainda (CACHAÇA, 2008).

De olho no mercado promissor da cachaça, o interesse brasileiro em aumentar as exportações sinaliza para a necessidade de adequar o produto às normas e exigências internacionais de padrão de qualidade. Assim sendo, crescem também as preocupações por parte dos produtores com a aparência e

características da bebida a fim de participarem dessa fatia de mercado (MIRANDA et al., 2007).

Os fabricantes em Minas Gerais da cachaça de alambique operam intensamente na clandestinidade, aproximadamente 90% dos produtores não são legalizados, e mesmo assim desempenham importante papel na estruturação da economia agro-industrial do estado (CARDOSO, 2009). Minas Gerais é o principal produtor de Cachaça de Alambique do país, produz cerca de 230 milhões de litros anuais e o consome aproximadamente 190 milhões. Esse estado é o responsável por 15% da produção total nacional, industrial + artesanal, ou 50% da produção de Cachaça Artesanal, possuindo 8.500 alambiques e 600 marcas registradas no Ministério da Agricultura (COOCACHAÇA, 2010).

A produção de aguardente em Minas Gerais corresponde a 120 milhões de litros e um consumo de 170 milhões de litros, gerando cerca de 120 mil empregos diretos e três vezes mais empregos indiretos nos setores que gravitam em torno dela durante a entressafra agrícola (CARDOSO et al., 2009).

## 2.4. A produção da cachaça

### 2.4.1. Matéria prima

A cana de açúcar é a matéria prima essencial para a produção de cachaça. Esta pode ser obtida diretamente pelo produtor, caso da maioria das fábricas artesanais, ou mesmo ser adquirida no mercado. Essa prática onera o custo de produção e por isso não é muito difundida nos alambiques artesanais (PIRES, 2001).

Segundo Novaes (1995), não há variedades de cana que sejam específicas à produção de aguardente, pois as pequenas diferenças observadas na sua composição físico-química provavelmente não seriam capazes de influenciar a qualidade final da bebida. Recomenda-se tão somente que as variedades de cana devem estar adaptadas às condições climáticas da

região onde se encontra instalada a unidade industrial, e a principal característica desejada é apresentar elevada produtividade de açúcar.

No Brasil normalmente a escolha da variedade a ser plantada para fabricação da cachaça é feita selecionando-se uma dentre as variedades já existentes desenvolvidas para produção de açúcar e álcool, tentando-se desta forma obter a variedade que melhor se adapte para a produção de cachaça de alambique (ANDRADE-SOBRINHO et al., 2002).

Diferentemente da cachaça industrial, os produtores, de maneira geral, não se preocupam em controlar as variáveis do processo. Mas, assim como a temperatura, concentração de açúcares, pH do mosto e contaminações durante a etapa fermentativa, que são parâmetros aos quais deve se atentar para que o processo produtivo seja bem conduzido, a qualidade da matéria-prima também deve ser alvo de cuidado no momento de sua escolha.

A oscilação dos constituintes das cachaças devido às variedades pode não ser perceptível na bebida devido à destilação. Esse processo uniformiza e mascara de certa forma a percepção das diferenças entre as amostras. Com isso verifica-se que características físico-químicas e sensoriais diagnosticadas em caldos de cana de diferentes variedades não obrigatoriamente serão observadas em suas respectivas cachaças. Estudos têm demonstrado que o tipo de inóculo é mais importante que a matéria-prima na produção de bebidas (NYKANEM, 1986).

Recomenda-se que a escolha da variedade de cana a ser utilizada seja aquela adaptada às condições locais de clima e solo para que garanta sanidade e produtividade no canavial, de modo que as necessidades do alambique sejam atendidas a contento. Novaes (1995) ilustra ainda que, condições fitossanitárias, colmos sem deterioração, cana não queimada, colmos sem contato com o solo a fim de protegê-los de possíveis contaminantes, são diretrizes a serem seguidas quando se pretende produzir uma cachaça de elevados atributos sensoriais.

Um fator determinante é a época de maturação da cana-de-açúcar, pois esta influencia as características físico-químicas e microbiológicas que mais tarde acarretarão em alterações tanto na fase de fermentação quanto na

destilação da cachaça. Martini (2009) relacionou a influência/interferência da época de colheita da cana no número de leveduras e na composição físico-química do caldo.

#### 2.4.2. Caldo de cana e mosto

O caldo de cana é extraído através de moendas, nas quais ocorre um esmagamento dos colmos para retirada do caldo, rico em açúcares. É talvez o fator que mais influencia diretamente o rendimento de aguardente por tonelada de cana processada, e está diretamente relacionado com o número e tipo de unidades esmagadoras (LIMA, 1999; NOGUEIRA; VENTURINI-FILHO, 2005).

Os pequenos alambiques trabalham com moendas de um terno de moagem, alimentado manualmente, sem envolver preparo prévio do mosto. Já as grandes indústrias, com produção superior a 1000 litros de aguardente por hora, são equipadas com várias unidades esmagadoras, facas picadoras e usam a embebição do bagaço de cana para obter uma melhor extração (LOPES; GABRIEL, 2010).

O caldo de cana corresponde a um sistema coloidal complexo e de composição variável, no qual o meio de dispersão é a água. Neste sistema, alguns constituintes como os açúcares estão em dispersão molecular de difícil separação; os ácidos orgânicos e os sais minerais estão dissociados; e outros estão em estado de dispersão coloidal, como matérias corantes, substâncias cromogêneas, sílica, partículas de bagaço, ar e outras impurezas (LEME Jr; BORGES, 1965; DELGADO; CÉSAR, 1977).

Por “mosto” deve-se entender o líquido açucarado apto a fermentar (NOGUEIRA; VENTURINI-FILHO, 2005). O seu preparo tem por objetivo garantir uma quantidade ideal de açúcares fermentescíveis; menor contaminação inicial possível; pH ideal; nutrientes e boas condições para o metabolismo da levedura, garantindo uma fermentação pura, regular e com

rendimentos satisfatórios (Valsechi, 1960; Aquarone, 1983; Novaes, 1995; Nogueira; Venturini-Filho, 2005).

Mas no caso da fermentação artesanal visando a produção de cachaça orgânica, vale ressaltar que nenhum aditivo químico pode ser aplicado ao mosto, de modo que mesmo com a presença de microrganismos variados como as leveduras autóctones e bactérias contaminantes do processo, é possível realizar boa fermentação alcoólica. O mosto, embora não tenha sofrido processo de esterilização deve ser adicionado sob condições higiênicas e totalmente decantado para minimizar o carregamento de impurezas, assim como também é interessante uma adição de substâncias nitrogenadas e vitaminas para que o meio favoreça a multiplicação da levedura e dificulte a dos contaminantes.

Nogueira e Venturini-Filho (2005) recomendam ainda que o Brix do mosto para a fabricação de aguardente esteja em torno de 14 a 16° Brix. Observam que a acidez própria e característica do caldo de cana é praticamente suficiente para a garantia de uma boa fermentação, pois as leveduras são adaptadas a pH próximo a 4,5, levemente ácido. Faria (2000) recomenda algumas medidas para o sucesso da fermentação, como dispensar o uso do ácido sulfúrico comercial para abaixamento do pH do mosto; a decantação do caldo que promove a separação de partículas grosseiras e impurezas que ficam em suspensão prejudicando os equipamentos e favorecendo o crescimento dos contaminantes microbianos; a diluição do mosto até quantidade adequada de açúcares visando retardar a produção de álcool que em grandes concentrações inibe o desenvolvimento do microrganismo, gerando fermentações incompletas; e o ajuste da temperatura para 30°C, próxima à temperatura ambiente de um clima tropical, inibindo assim o desenvolvimento de bactérias, já que para estas a temperatura de 37°C é a mais apropriada.



### 2.4.3. Fermentação

Embora Lima (1999) advirta sobre os corriqueiros insucessos que ocorrem na prática quando se prepara fermento através do processo caipira, devido ao baixo número de leveduras presentes, Mutton (1998) explica que a composição do caldo de cana é dependente de vários fatores, entre eles as variedades empregadas, as condições ambientais de cultivo e o grau de maturação da cana, fatores estes que repercutirão na microbiota do pé-de-cuba. Martini (2009), analisando amostras de caldo de 10 variedades de cana-de-açúcar verificou que há diferença significativa quanto ao número de leveduras entre elas. A autora constatou que o número de leveduras no caldo variou também com a época do corte da cana, sugerindo como Mutton (1998) a influência do grau de maturação da cana na quantidade de microrganismos presentes no caldo.

O fermento ou pé-de-cuba consiste em uma suspensão de células que para garantir a fermentação de um volume qualquer de mosto deve estar em concentração adequada. Para Faria (2000), o pé-de-cuba deve conter células de leveduras suspensas em um volume correspondente a 10-20% do volume total de mosto a ser fermentado, de forma a prover cerca de 10 a 20g de massa úmida de leveduras por litro do meio a ser fermentado.

O fermento caipira é na mais simples definição, o aproveitamento das leveduras provenientes do caldo de cana, por isso também é conhecido como fermento natural.

A fermentação para a produção de cachaça varia em média de 12 a 48 horas. Morais et al. (1997) observaram que tanto durante o período de preparo do fermento quanto na fermentação para produção de cachaça de cana artesanal, há uma sucessão de espécies de leveduras, sendo *Saccharomyces cerevisiae* a levedura predominante. *Candida sake*, *Kluyveromyces marxianus* var. *drosophilum* e leveduras apiculadas também são freqüentes. Schwan e Castro (2001) também afirmaram que uma característica da fermentação artesanal de cachaça é ser conduzida por uma diversidade de leveduras com predominância de linhagens de *S. cerevisiae*, a

qual é também a levedura dominante nas fermentações espontâneas para produção de uma bebida alcoólica nigeriana (SANNI; LONNER, 1993), de vinhos (FLEET; LAFON-LAFOURCADE; RIBÉREAU-GAYON, 1984; CONSTANTI et al., 1997), e para produção de álcool combustível (CABRINI; GALLO, 1999). Leveduras fermentativas devem possuir como principais características, alta tolerância às condições do meio durante todo o processo fermentativo como altas concentrações de açúcares, baixos valores de pH e altas concentrações de etanol (PATARO et al., 1998). Entretanto, alterando-se as condições de processo, provavelmente será estabelecido um novo equilíbrio entre os microrganismos, podendo surgir outra linhagem dominante. Isso significa que a inoculação de uma linhagem selecionada, ou a existência de uma linhagem dominante não garante sua permanência ou é capaz por si só de melhorar a eficiência do processo de fermentação alcoólica (BASSO et al., 1993; ANDRIETTA; ANDRIETTA; SERRA, 1997).

O tipo de fermento adotado pela fábrica de cachaça depende da estratégia e técnica de cada unidade. De maneira geral classificam-se os diferentes fermentos como:

- **Fermento caipira:** comum em pequenos alambiques produtores de cachaça artesanal. É preparado a partir de receitas regionais e está fortemente ligado às tradições locais. Lima (1999) recomenda 200g de farelo de arroz, fubá comum, sulfato de amônio, superfosfato simples e 20g de limão ou laranja azeda, que corresponde a aproximadamente 6 a 8 unidades. Estes ingredientes são acondicionados em saco tipo “estopa”, limpo, bem amarrado e colocado no fundo da dorna, na qual se adiciona então aproximadamente 50L de caldo de cana fresco. Com este fermento, a fermentação inicia-se com as leveduras autóctones do caldo (PATARO et al., 2000). A preparação deste fermento não segue uma receita única, consistindo da adição de caldo de cana ao milho moído e farelo de arroz (ROSA et al., 2009).

- **Fermento prensado:** Células de leveduras prensadas, tipo fermento de panificação comercial.

- **Fermento misto:** mistura de fermento caipira com o fermento prensado de panificação para iniciar o processo.

- **Fermento selecionado:** leveduras isoladas do processo, que se destacam pela alta tolerância ao etanol e alta eficiência fermentativa.

#### 2.4.4. Destilação

O processo de destilação consiste na etapa final da produção de cachaça, cuja finalidade é a separação dos componentes voláteis presentes através do aquecimento do vinho e posterior condensação dos vapores gerados. As substâncias presentes no vinho proporcionam características peculiares à bebida. Após a destilação ocorre um incremento considerável no teor alcoólico o qual varia de 40 a 48% em volume. Na primeira fração do destilado, que corresponde aos 10% iniciais saem os produtos mais voláteis que o álcool, como aldeídos, metanol e ésteres. Já na porção intermediária, o coração, são destilados o álcool etílico, a maior parte dos aldeídos, ésteres, álcoois superiores e os ácidos voláteis. A última fração destilada (10% finais) chamada de cauda é formada pelos compostos menos voláteis que o álcool etílico, como os ácidos voláteis e furfural (YOKOYA, 1995; BOZA; HORII, 2000).

Existem diferentes métodos utilizados na condução da destilação, ficando a escolha por um deles, a critério do produtor de acordo com as suas possibilidades. A destilação intermitente, também conhecida por batelada é geralmente conduzida em alambiques simples, ou em alambiques de dois ou três corpos e caracteriza-se pela recuperação do pé-de-cuba por fermentações sucessivas, sendo esse método associado às pequenas produções, artesanais. O processo de destilação contínua é conduzido em colunas de destilação e são sistemas mais complexos. Neste processo a coluna é alimentada constantemente com o vinho e vapor de água possibilitando a recuperação do destilado continuamente, assim como também é descartada a vinhaça, na parte inferior da coluna (LOPES; GABRIEL, 2010).

De acordo com Faria (2004), o vinho apresenta uma composição variável de substâncias gasosas, sólidas e líquidas. O gás carbônico é o principal componente desta fase, mesmo dissolvido em pequena proporção no vinho. A fase sólida é basicamente formada pelas células dos microrganismos

presentes como as leveduras e as bactérias, sais minerais, eventualmente açúcares que não foram fermentados e impurezas em suspensão. Já a fase líquida do vinho é constituída pela água, etanol em abundância e os compostos secundários, sendo estes os responsáveis pelas características sensoriais das bebidas destiladas.

A bidestilação é uma prática já consagrada por produtores de bebidas fermento-destiladas como na produção de uísques, pois proporciona a obtenção de um destilado mais neutro para ser envelhecido. O vinho é destilado até a recuperação total do álcool presente. A primeira destilação é conduzida até que o destilado apresente graduação alcoólica em torno de 25 a 27% em volume para que seja submetido também ao processo de destilação. Nesta segunda etapa, ou destilação, é que são realizados os dois cortes consecutivos, cabeça, coração e cauda conforme a destilação tradicional da cachaça. É uma prática pouco utilizada, mas que proporciona melhorias sensoriais consideráveis no aroma e baixa acidez (ROTA, 2008).

A técnica de redestilação da cachaça é uma variação da anterior, cujo objetivo é obter um produto com características semelhantes àquele utilizando-se a técnica de bidestilação. Assim alguns produtores têm adotado a prática de destilar misturas de cachaças prontas diluindo-as a valores em torno de 30% de álcool ou menores. Nessa segunda destilação são separadas as frações cabeça e cauda, aproveitando-se o coração. A fração cabeça corresponde a um volume médio equivalente a 1,5% do volume inicial e o coração deve apresentar uma concentração alcoólica média de 67% em volume, a 20°C (FRANCO, 2008).

#### 2.4.5 Envelhecimento de bebidas destiladas

O envelhecimento em tonéis de madeira é uma etapa importante do processo na fabricação de cachaça envelhecida e dos tipos “Premium”, mas ainda não é uma prática consolidada no país. Tradicionalmente utiliza-se tonéis de carvalho para se proceder o armazenamento da bebida recém destilada.

Durante o período que ficam nos tonéis ocorrem reações que favorecem a formação de compostos que influenciam a cor, o aroma e sabor das bebidas destiladas. Os principais compostos extraídos da madeira dos barris pelos destilados são óleos voláteis, substâncias tânicas, açúcares, glicerol e ácidos orgânicos não voláteis, que modificam o aroma, o sabor e a coloração da bebida (NISHIMURA; MATSUYAMA, 1989). O tipo de madeira empregada, o tempo de envelhecimento e a qualidade inicial do destilado influenciarão na qualidade final da cachaça envelhecida, já que os tonéis transferem compostos existentes em sua estrutura à bebida, alterando sua qualidade sensorial (CARDELLO; FARIA, 1998).

Novaes et al. (1974) constataram que mesmo que a fermentação e a destilação do caldo de cana tenham sido conduzidos adequadamente, e a bebida esteja dentro das especificações legais, toda aguardente recém destilada apresenta sabor ardente e seco, devido ao alto teor alcoólico e a composição de voláteis. O envelhecimento promove assim a melhoria nas características sensoriais da bebida.

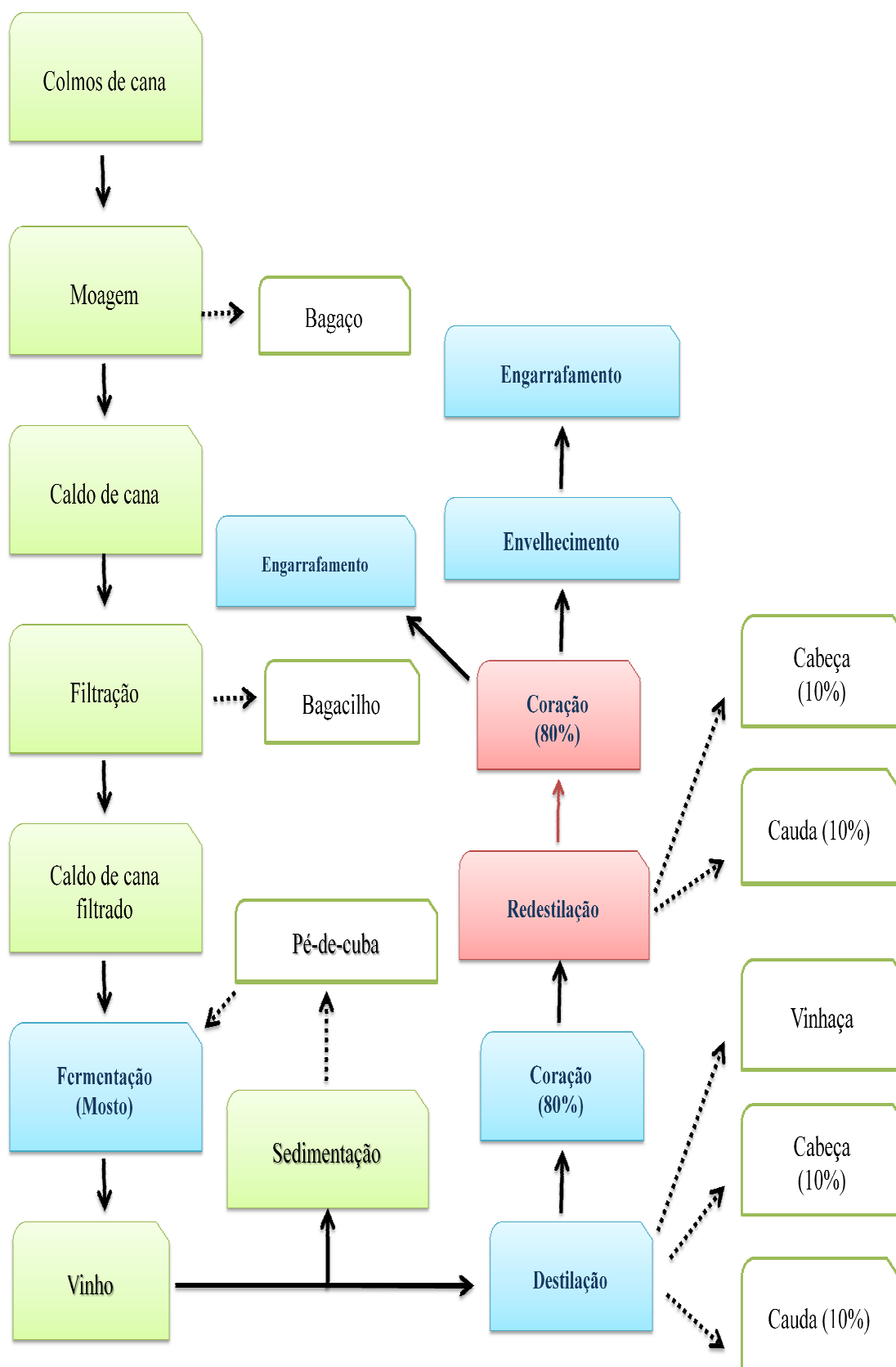
Por mais cuidadosa que seja a condução da fermentação e destilação, o produto tem sempre sabor “ardente e seco”. A maturação de bebidas destiladas serve também para corrigir defeitos de fabricação, sejam eles oriundos de fermentação imperfeita ou destilação mal monitorada (DIAS et al., 1998).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Produção das cachaças

##### 3.1.1 Preparo do fermento

O fermento caipira foi preparado utilizando-se os ingredientes que se seguem: dois quilos de farelo de casca de arroz; um quilo de farinha de rosca; um quilo de fubá; água aquecida entre 28 e 35°C; e caldo de cana (Brix ao redor de 6°). Depois de homogeneizados, foram colocados dentro de um saco de algodão que foi em seguida transportado para um recipiente contendo o caldo de cana, procedendo-se então ao aquecimento com água morna entre 28°C e 35°C. Foram realizadas seis adições de caldo num período de 14 dias, até a obtenção de um volume de fermento suficiente para ser adicionado na proporção de 20% do volume total das dornas de fermentação. O fluxograma de produção da cachaça pode ser visto na Figura 1.



**Figura 1.** Fluxograma de produção da cachaça artesanal orgânica redestilada.

O caldo inicialmente adicionado foi extraído de quatro colmos de cada uma das 10 variedades de cana descritas a seguir e estudadas por Martini (2009): RB72454, RB835054, RB835486, RB845210, RB855156, RB855453, RB855536, RB867515, RB925211 e RB928064, para se conseguir uma maior variabilidade de microrganismos autóctones, posteriormente esse caldo foi homogeneizado na dorna. As adições posteriores foram realizadas com caldo extraído da variedade RB855156, nas seguintes datas: 17/06/08, 18/06/08, 19/06/08, 22/06/08 e 25/06/08. O fermento foi amostrado diariamente para a realização das análises físico-químicas e microbiológicas, conforme itens 3.2.1 e 3.3, respectivamente.

Utilizou-se também o fermento prensado (marca Fleishmann<sup>®</sup>, 8 g/L), adicionado diretamente às dornas de fermentação. Amostras de ambos os fermentos foram analisadas quanto ao número de células viáveis, o qual ficou na faixa de  $10^7$  a  $10^8$  células/mL, após coloração com azul de metileno e contagem em câmara de Neubauer.

### 3.1.2 Fermentações

Os ensaios foram realizados no Laboratório de Agricultura Orgânica e Alimentos Orgânicos (LAO), no CCA/UFSCar-Araras, SP, Brasil. O caldo utilizado para as fermentações foi extraído da variedade RB855156 de cana-de-açúcar cultivada sob manejo orgânico, em área experimental do Centro de Ciências Agrárias da UFSCar - *campus* de Araras. Os processos de colheita e despalha foram feitos manualmente, sem queima, sendo as canas moídas no mesmo dia do corte.

As fermentações foram desenvolvidas em quatro dornas de capacidade de 1000 litros, em duas das quais se utilizou o fermento caipira, e nas outras duas, o fermento prensado (fermento de panificação, 8g/L), em três ciclos fermentativos, com recirculação do fermento. As fermentações foram encerradas quando o Brix do mosto alcançava valores estáveis mínimos (próximos a zero), sendo o vinho subseqüentemente encaminhado para



destilação, permanecendo nas dornas um volume de cerca de 20% de inóculo (pé-de-cuba) para a próxima fermentação.

### 3.1.3 Destilação

Utilizou-se alambique de cobre tipo cebolão com capacidade de 300 litros de vinho e com pré-aquecedor (Figura 2). Durante a destilação descartou-se 10% da fase inicial e 10% da fase final, aproximadamente, separando-se a cachaça em “cabeça”, “cauda” e “coração”, sendo que este último posteriormente foi novamente destilado, para cada uma das doze cachaças produzidas, compreendendo a chamada cachaça redestilada (FRANCO, 2008). Durante a redestilação, as cachaças foram novamente separadas nas três frações já citadas, e a fração do “coração” foi acondicionada em garrafas de vidro para as análises físico-químicas e sensoriais, sendo amostrados 700 mL referentes a cada dorna.

### 3.1.4 Envelhecimento

Após a destilação, parte da cachaça redestilada de todos os tratamentos, ciclos e tipo de fermento, foi analisada quanto ao teor alcoólico e padronizada em 42°GL, sendo a seguir armazenada em tonéis de carvalho (fabricados pela “DR Alambiques de Cobre”) com capacidade de cinco litros, nos quais permaneceram por aproximadamente 45 dias. A seguir, foram realizadas análises físico-químicas e sensoriais a partir de três amostras retiradas de cada barril. A outra parte da cachaça redestilada de todos os tratamentos, cujo teor alcoólico foi reajustado para 40°GL, foi acondicionada em garrafas de vidro de 700 mL (com tampas próprias), a temperatura ambiente, até a realização das análises físico-químicas e sensoriais.



**Figura 2.** Aspecto do Laboratório de Agricultura Orgânica e Alimentos Orgânicos (LAO), CCA/UFSCar, onde a cachaça orgânica foi produzida. **A.** Moenda; **B.** Caldeira; **C.** Dornas de fermentação; **D.** Alambique tipo cebolão; **E.** Alambiques e pré-aquecedor; **F.** Tonel para envelhecimento da cachaça.

## 3.2 Análises físico-químicas e sensoriais

### 3.2.1 Análises físico-químicas do fermento caipira, mosto e pé-de-cuba

Durante o preparo do fermento caipira, foi retirada uma amostra diariamente de forma asséptica. De cada dorna de fermentação foram retiradas 3 amostras do pé-de-cuba, ou seja, do fermento que permaneceu na cuba após a retirada do mosto fermentado; e 3 amostras do mosto, logo após o enchimento das dornas. Por exemplo, a amostra do pé-de-cuba do 1º. ciclo refere-se ao fermento que permaneceu na dorna após a 1ª. fermentação; já o mosto do 1º. ciclo refere-se à amostra do caldo adicionado ao fermento no início da fermentação. Nestas amostras foram analisados o pH em pHmetro digital; e acidez total em alíquotas de 15mL utilizando-se fenolftaleína 1% m/v como indicador e hidróxido de sódio 0,1M como titulante. A determinação da porcentagem de sólidos solúveis, Brix, foi realizada por refratometria.

### 3.2.2 Análises físico-químicas da cachaça

Foram analisados os seguintes componentes na cachaça antes e após o envelhecimento: teor de cobre (mg/L álcool anidro), por espectrofotometria de absorção atômica; acetaldeído, acetato de etila, metanol, n-propanol, isobutanol e álcool isoamílico (em mg/100 mL de álcool anidro), por cromatografia gasosa utilizando-se detector de ionização de chama (LOPES; BORGES, 2009); pH, em pH-metro digital; teor alcoólico (°GL), em densímetro digital; acidez total e acidez fixa (mg/100 mL ácido acético), por volumetria em alíquotas de 15 mL da amostra antes e após aquecimento, respectivamente, utilizando-se fenolftaleína 1% p/v como indicador; e acidez volátil, pela diferença entre a acidez total e a acidez fixa (AMORIM et al., 1979). A concentração de álcoois superiores foi obtida pela soma dos teores de n-propanol, álcool isoamílico e isobutanol, enquanto a dos compostos voláteis totais, pela soma dos valores de acidez volátil, acetaldeído, acetato de etila e

álcoois superiores. A quantificação foi feita através de padronização externa, injetando-se um padrão diariamente e depois a amostra. Foi realizada uma curva padrão para avaliar a faixa da linearidade e sensibilidade do método para cachaça.

### 3.2.3 Análise sensorial de preferência da cachaça

Foi realizada a avaliação da preferência em relação aos atributos cor, aroma, sabor, textura e impressão global, utilizando-se escala hedônica de sete pontos variando de “desgostei muito” a “gostei muito”. Cerca de 20 mL de cada aguardente (12 amostras, 6 de cada fermento, representadas por amostras de 3 ciclos fermentativos e duas dornas de fermentação) foram oferecidos aos participantes em tulipas transparentes codificadas com números de três dígitos. Os testes sensoriais foram realizados com as cachaças não envelhecidas e cachaças envelhecidas em épocas distintas, sessenta e dois indivíduos participaram de cada um dos testes. Em ambos os testes utilizou-se luz branca nas cabines individuais e as amostras foram servidas de forma monádica. A ordem de apresentação das amostras foi balanceada e seguiu-se delineamento de blocos completos (MacFIE et al., 1989). A avaliação sensorial foi aprovada pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de São Carlos (CAAE 0026.0.135.000-09).

## 3.3 Análises microbiológicas

### 3.3.1 Preparo das amostras para análises microbiológicas

As amostras do fermento caipira, pé-de-cuba e do mosto (uma amostra de cada dorna de fermentação) foram coletadas assepticamente e transferidas (10 mL) para tubo falcon estéril, sendo em seguida centrifugadas a 4000 rpm por 5 minutos e o sobrenadante descartado. Foram acrescentados

10 mL de solução salina, a suspensão foi homogeneizada em seguida, e o tubo novamente centrifugado sob as mesmas condições. Procedeu-se a diluição seriada das amostras, com plaqueamento (em triplicata) de 100 µL nos meios de cultura e espalhamento com alça de Drigalsky, sendo em seguida as placas incubadas em estufa a 30°C por 5 dias.

Tanto as amostras de pé-de-cuba quanto de mosto foram plaqueadas seguindo o mesmo critério de diluições: para os meios WLD e Agar-lisina, plaqueamento direto,  $10^{-1}$  e  $10^{-2}$ ; para WLN,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  e  $10^{-4}$ ; para o meio Ágar nutriente,  $10^{-2}$  a  $10^{-9}$ , dependendo da amostra.

### 3.3.2 Meios de cultura

Para a contagem de leveduras, foram utilizados os meios de cultura WLN (meio de contagem geral), de acordo com Green e Gray (1950) modificado por Oliveira e Pagnocca (1988); WLD (WLN + 50 ppm de cicloheximida, meio para isolamento de selvagens resistentes à cicloheximida), de acordo com Walters e Thiselton (1953) modificado por Morris e Eddy (1957); Ágar Lisina (meio para isolamento de leveduras selvagens não-*Saccharomyces*), de acordo com Walters e Thiselton (1953) modificado por Morris e Eddy (1957); e Agar Nutriente (meio para isolamento de bactérias).

### 3.4 Análise estatística

Os resultados foram submetidos à análise de variância com blocos casualizados e teste de Tukey ao nível de significância de 5% para a comparação das médias, utilizando-se o software INSTAT.

Avaliou-se a influência do tipo de fermento (prensado X caipira) e dos ciclos fermentativos (total de três ciclos) sobre o número de leveduras e bactérias. As dornas de fermentação foram consideradas como repetições e

para cada uma das dornas os plaqueamentos foram realizados em triplicatas para cada diluição (n=6).

Para as análises físico-químicas da cachaça, avaliou-se a influência do tipo de fermento e do envelhecimento sobre a qualidade da bebida, considerando-se os ciclos fermentativos (3) e as dornas de fermentação (2) como repetições (n=6).

Para as análises sensoriais, foram considerados os ciclos fermentativos (3) e as dornas de fermentação (2) para cada tipo de fermento. Porém a análise estatística foi realizada separadamente para a cachaça envelhecida e não-envelhecida, pelo fato da análise sensorial ter sido realizada em períodos distintos (após o período de envelhecimento e após a destilação, respectivamente), com diferentes provadores (n=62).

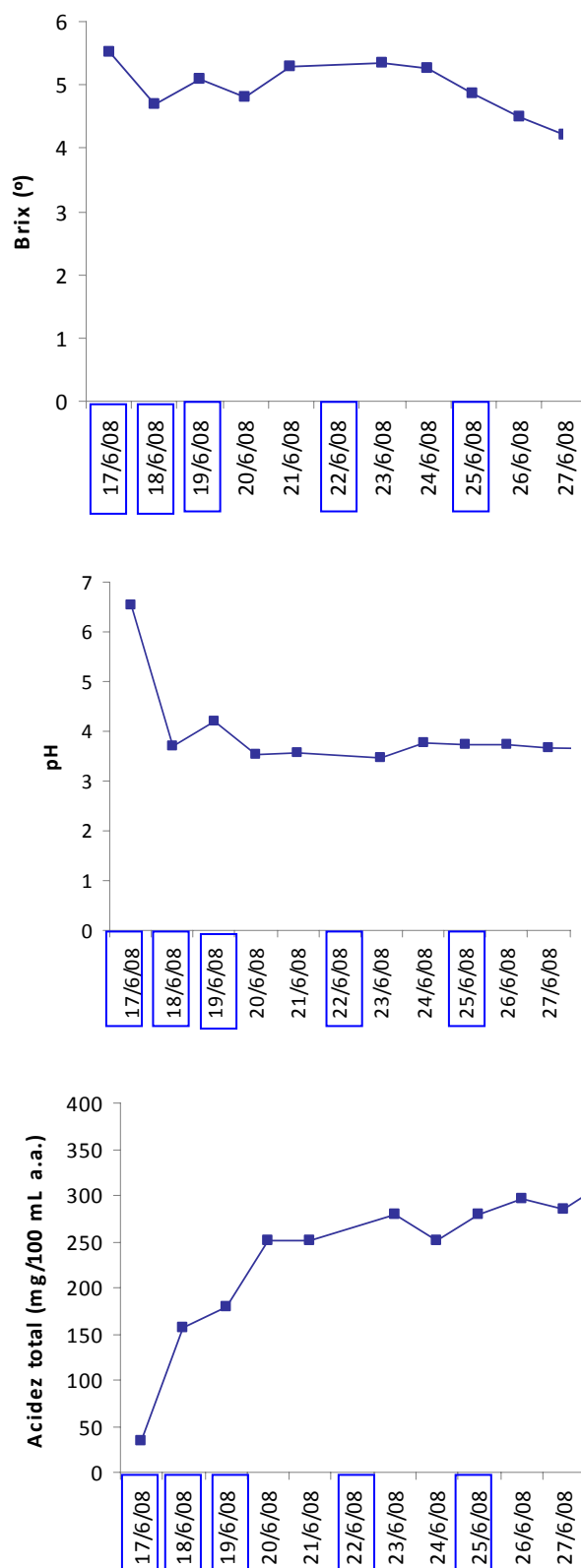
Os resultados das análises microbiológicas (UFC/mL) foram transformados para  $\log_{10}$ .

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Preparo do fermento caipira

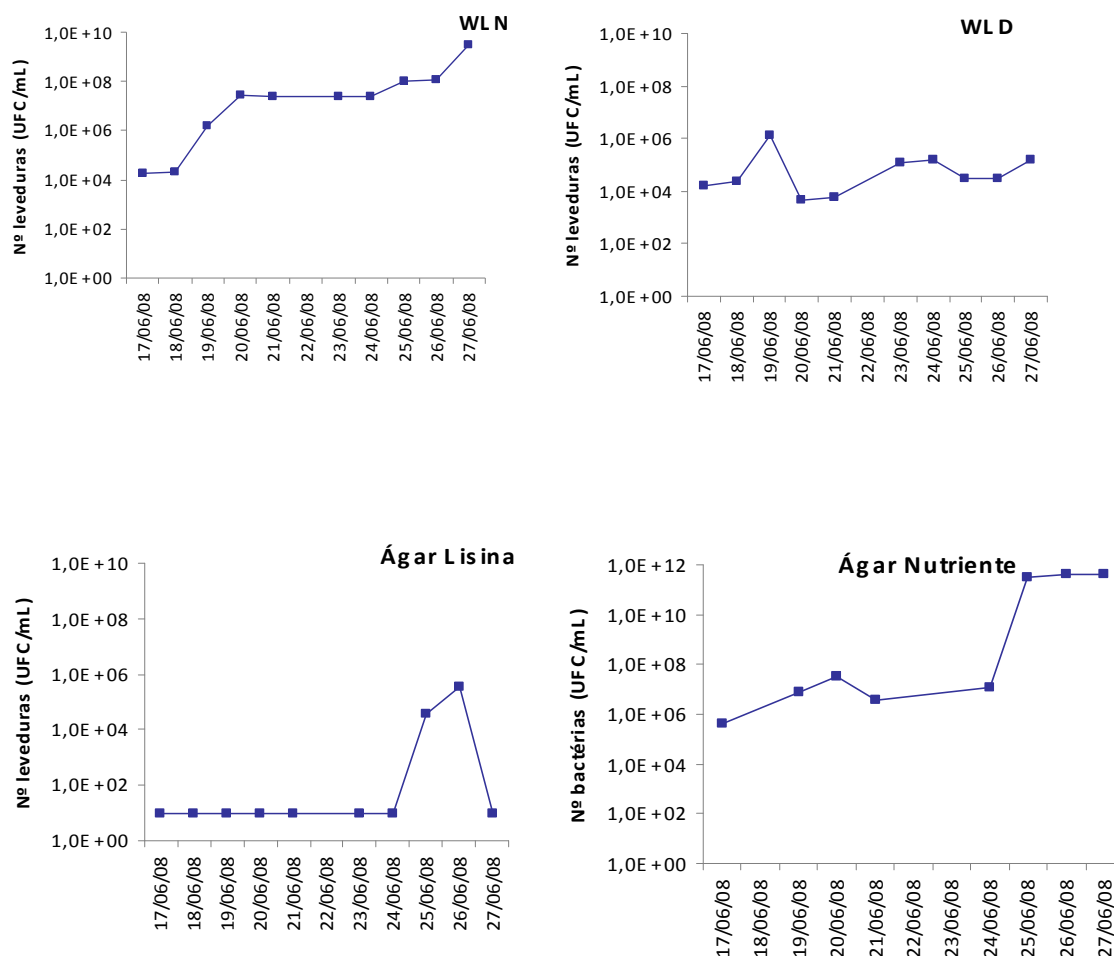
Os resultados das análises microbiológicas e físico-químicas realizadas durante o preparo do fermento caipira estão representados nas Figuras 3 e 4.

O Brix se manteve ao redor de 4,5-5,5° Brix até 8 dias após o início do preparo, resultado das adições periódicas de caldo de cana. Em seguida, ocorreu uma diminuição para cerca de 4° Brix. Houve um aumento progressivo e expressivo da acidez total do fermento ao longo de 10 dias de preparo, o que coincide parcialmente com o aumento do número de bactérias ao longo deste período. O pH teve uma queda significativa nos primeiros dias do preparo, estabilizando a seguir. Acredita-se que tenha havido uma produção de ácidos orgânicos, os quais por serem fracos, não causam diminuição acentuada do pH, mas contribuem para o aumento da acidez total. Isto corrobora a observação quanto ao aumento do número de bactérias (Figura 4).



**Figura 3.** Análise físico-química do fermento caipira durante o período de seu preparo. Em destaque, as datas onde ocorreram as adições de caldo de cana.





**Figura 4.** Análise microbiológica do fermento caipira durante o período de seu preparo. Em destaque, as datas onde ocorreram as adições de caldo de cana.

Houve um aumento progressivo do número de leveduras totais (isoladas de meio WLN), um número estável de leveduras selvagens resistentes ao actidione (isoladas de meio WLD, e um baixo número de leveduras selvagens não-*Saccharomyces* (isoladas de Ágar Lisina), evidenciando que o número de *Saccharomyces* aumenta consideravelmente com a adição de caldo de cana ao longo do período de preparo. Observou-se um pico de leveduras não-*Saccharomyces* logo após o término da adição de caldo de cana (Figura 4).

Durante a propagação do fermento caipira (natural), a atividade dos microrganismos oriundos da microbiota natural da cana, ar e solo, promovem a acidificação do mosto e um aumento do teor alcoólico, o que acarreta o

desaparecimento de algumas espécies de leveduras. Essas mudanças de pH no mosto e no teor alcoólico, juntamente com o aumento da concentração de açúcar devido à adição constante de caldo de cana, influenciam a seleção de leveduras que prevalecem na produção de cachaça (MORAIS et al., 1997; PATARO et al., 2000). Estas observações corroboram os resultados aqui observados.

O número de leveduras totais, isoladas de WLN, variaram de  $10^4$  a  $10^5$  UFC/mL em caldo de 10 diferentes variedades de cana-de-açúcar sob manejo orgânico (MARTINI, 2009). Cerca de  $10^4$  UFC/mL foram isoladas do fermento no início do preparo, aumentando 5 ciclos log até o final do preparo do fermento, num período de 10 dias. A proporção de *Saccharomyces* (em %) no caldo das diferentes variedades estudadas por Martini (2009) não ultrapassou 50%, dependendo da variedade e época do ano, sendo máxima quando próxima ao período de maturação da cana. Os resultados aqui mostram que durante o preparo do fermento caipira, realmente ocorre uma seleção de linhagens de leveduras, especialmente as do gênero *Saccharomyces*, mais adaptadas às altas concentrações de açúcar, resultantes da adição do caldo de cana.

O alto número de bactérias ao final do período de preparação do fermento caipira poderia ser um fator negativo para a adoção deste tipo de fermento. No entanto, a análise microbiológica do mosto e do pé-de-cuba no primeiro ciclo de fermentação mostrou números de bactérias ao redor de  $10^6$  UFC/mL, muito inferior àquele observado no final do preparo do fermento, conforme será discutido mais à frente. Pode ter ocorrido um efeito da diluição do fermento no mosto além de uma possível morte das bactérias pela alta concentração de açúcar do mosto no início da fermentação.

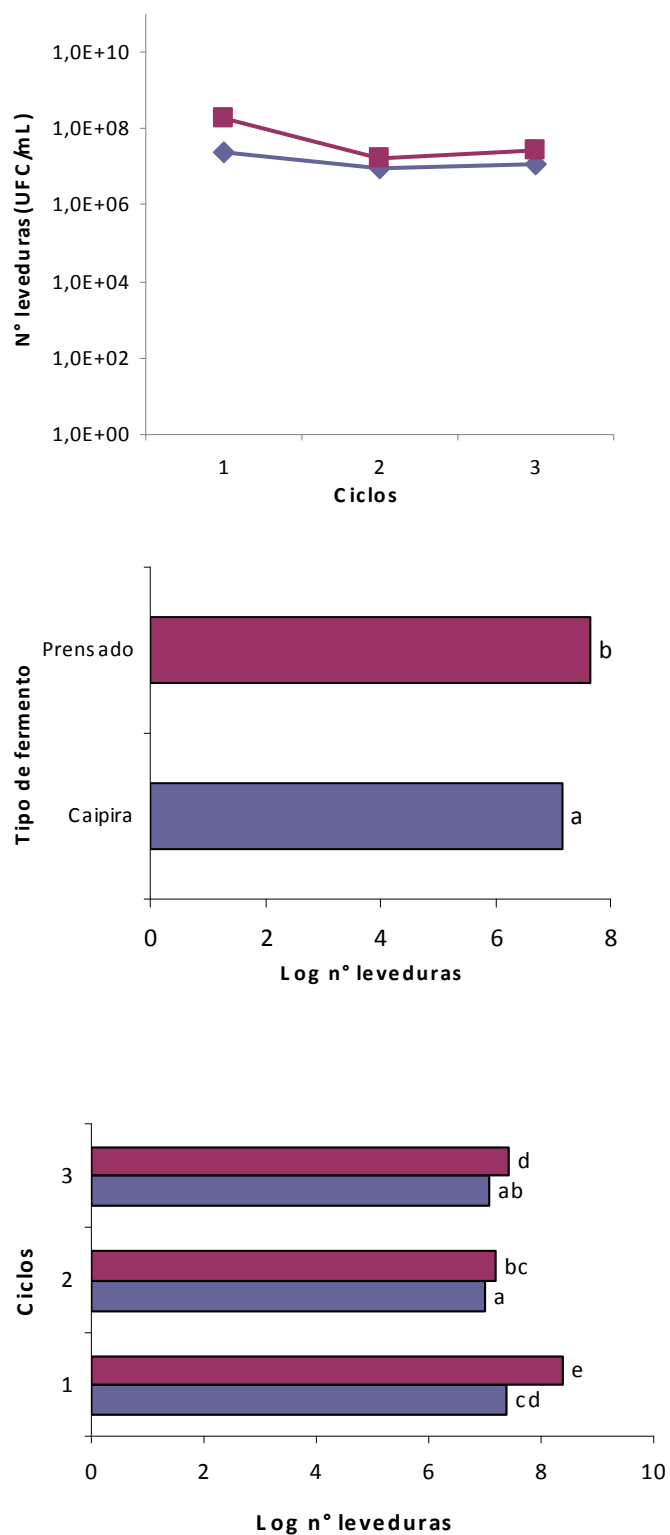
## 4.2 Análises microbiológicas e físico-químicas do mosto e pé-de-cuba

Os resultados das análises microbiológicas do mosto e pé-de-cuba nos três ciclos fermentativos e com os dois tipos de fermentos estão apresentados nas Figuras 5 a 12. As análises físico-químicas dessas amostras estão expostas nas Figuras 13 e 14.

Com relação ao pé-de-cuba, a Figura 5 mostra que o número de leveduras totais (isoladas de WLN) é significativamente maior no fermento prensado, especialmente no primeiro ciclo, porém diminuiu no segundo ciclo, aumentando em seguida, mas ainda estatisticamente diferente do primeiro ciclo. Verificou-se que o número de leveduras selvagens não-*Saccharomyces* é significativamente maior no pé-de-cuba com o fermento caipira (Figura 6). Não houve diferenças entre os fermentos quanto ao número de selvagens resistentes à cicloheximida, porém o número destas no primeiro ciclo foi significativamente maior no fermento caipira (Figura 7).

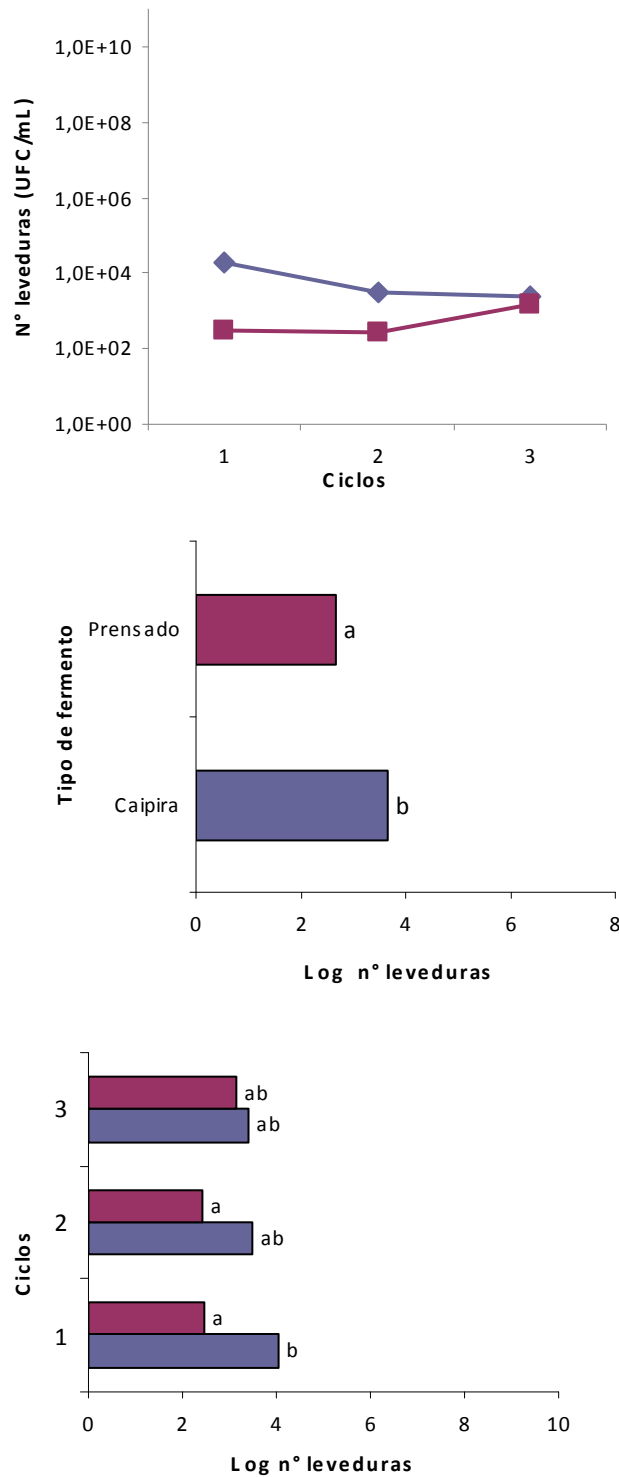
Houve uma tendência à diminuição do número de leveduras selvagens com o progresso dos ciclos fermentativos, especialmente com o fermento caipira (Figuras 6 e 7). Se o número de leveduras totais é menor no fermento caipira que no prensado e o número de não-*Saccharomyces* é maior no caipira, então este fermento tem um número de *Saccharomyces* menor atuando no processo fermentativo, em relação ao prensado, constituído basicamente de *S. cerevisiae*. No entanto, também verificou-se que no pé-de-cuba com o fermento caipira, o número de leveduras selvagens (isoladas de WLD e Agar Lisina) é maior no início dos ciclos fermentativos, mas à medida

## Pé-de-cuba (WLN)



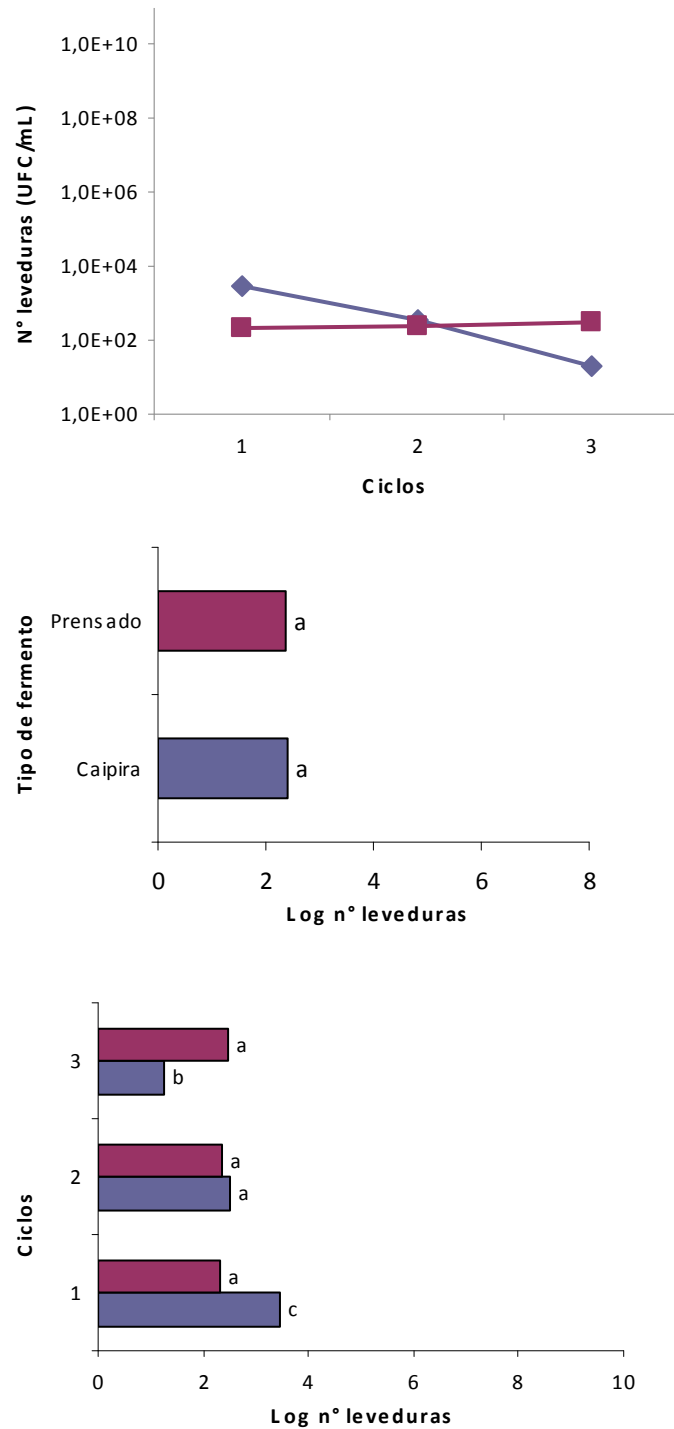
**Figura 5.** Número de leveduras totais (UFC/mL) isoladas do meio WLN a partir das amostras do pé-de-cuba nos três ciclos fermentativos utilizando-se os fermentos caipira e prensado. Letras diferentes indicam diferença significativa a 5% pelo teste de Tukey (n=6).

## Pé-de-cuba (Agar Lisina)



**Figura 6.** Número de leveduras não-*Saccharomyces* (UFC/mL) isoladas do meio Agar Lisina a partir das amostras do pé-de-cuba nos três ciclos fermentativos utilizando-se os fermentos caipira e prensado. Letras diferentes indicam diferença significativa a 5% pelo teste de Tukey (n=6).

## Pé-de-cuba (WLD)



**Figura 7.** Número de leveduras selvagens resistentes à cicloheximida (UFC/mL) isoladas do meio WLD a partir das amostras do pé-de-cuba nos três ciclos fermentativos utilizando-se os fermentos caipira e prensado. Letras diferentes indicam diferença significativa a 5% pelo teste de Tukey (n=6).

que os ciclos se sucedem, há uma diminuição para o caipira e um ligeiro aumento ou estabilização para o prensado (Figuras 6 e 7).

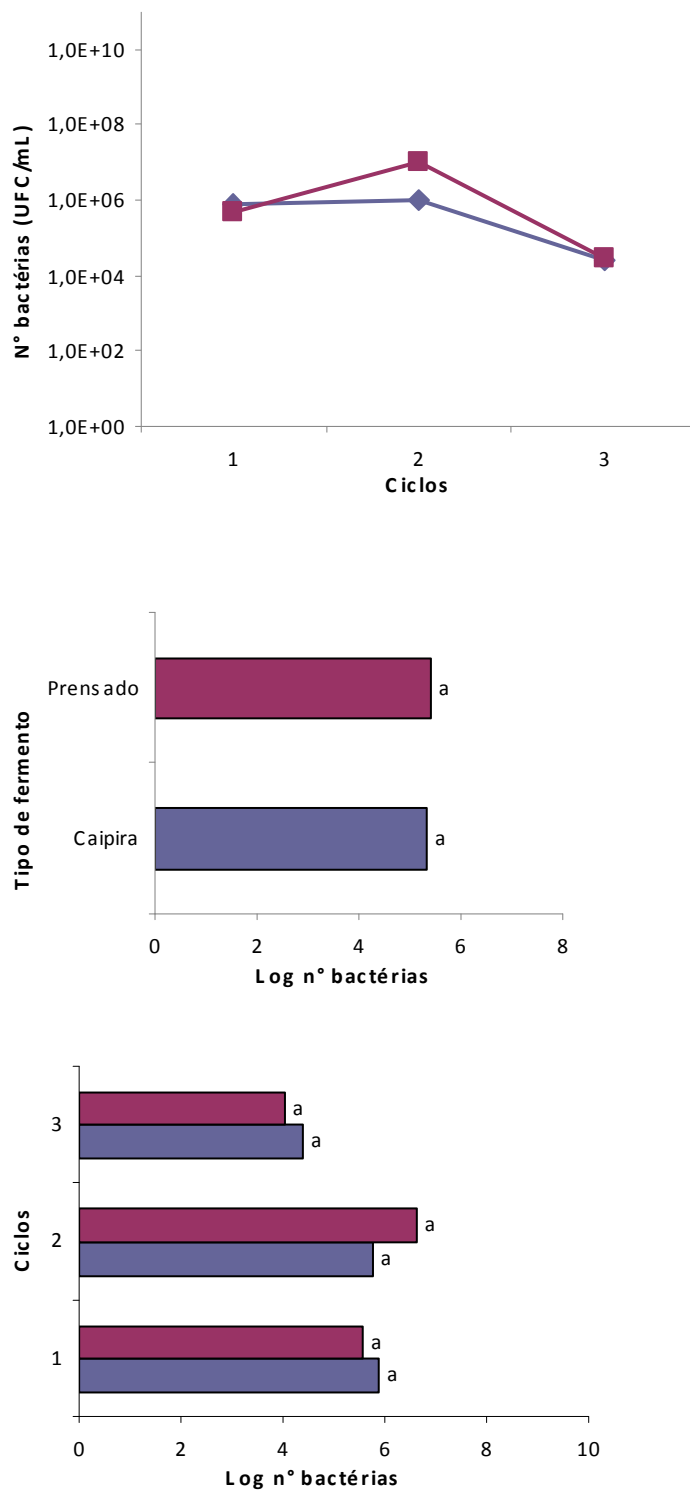
Isto deve acontecer em decorrência da própria natureza dos fermentos, pois enquanto no prensado a população é constituída exclusivamente por *S. cerevisiae*, com o decorrer dos ciclos fermentativos e entrada de caldo, o fermento fica contaminado. Com o caipira, embora ocorram os mesmos fatos, o fermento é mais estabilizado em relação às leveduras *Saccharomyces* e selvagens, pois houve uma adaptação e seleção prévia durante o preparo do fermento caipira. O fermento caipira seria assim mais “refratário” à contaminação por leveduras selvagens.

Com relação às bactérias, não houve diferença significativa entre os fermentos e os ciclos fermentativos, embora se observe uma diminuição no número de bactérias no decorrer dos ciclos, sendo ligeiramente menor para o fermento caipira (Figura 8). Este resultado também mostra que o fermento caipira não se constitui uma fonte primária de contaminação bacteriana no processo fermentativo para produção de cachaça.

Com relação ao mosto, verificou-se que não há diferença significativa entre os fermentos para o número de leveduras totais e embora ocorra uma diminuição nos valores ao longo dos ciclos fermentativos, este decaimento não foi significativo (Figura 9).

O mosto adicionado ao fermento caipira apresentou maior número de leveduras selvagens não-*Saccharomyces* (isoladas de Agar Lisina), aumentando no 3º ciclo fermentativo para ambos os fermentos (Figura 10). Com relação às selvagens resistentes à cicloheximida, houve diferença significativa entre os fermentos, com tendência à diminuição no decorrer dos ciclos fermentativos, para ambos os fermentos (Figura 11). Não houve diferença no número de bactérias do mosto entre os fermentos, havendo uma tendência à diminuição para ambos os fermentos ao longo dos ciclos (Figura 12).

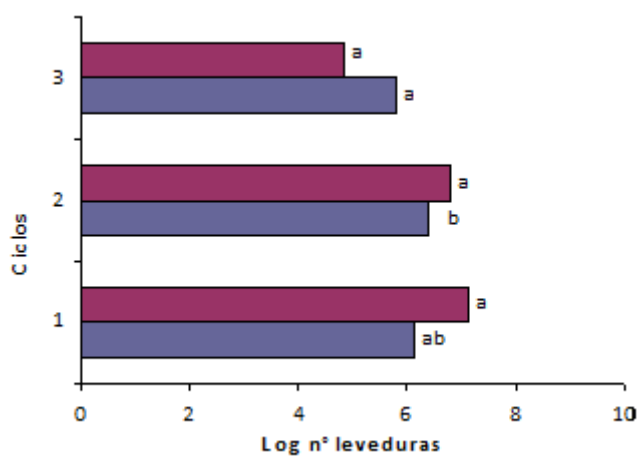
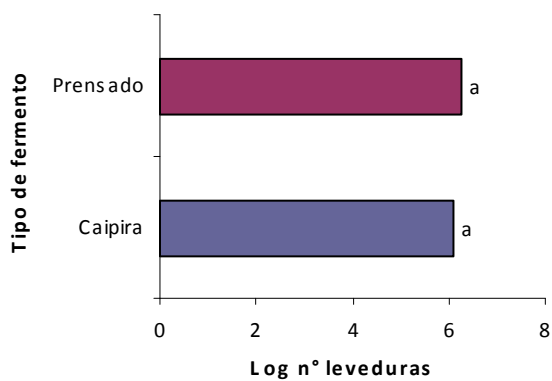
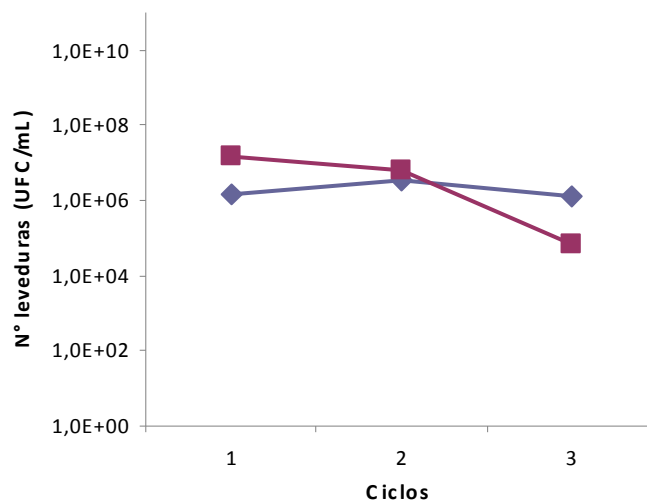
## Pé-de-Cuba (Ágar Nutriente)



**Figura 8.** Número de bactérias (UFC/mL) isoladas do meio Agar Nutriente a partir das amostras do pé-de-cuba nos três ciclos fermentativos utilizando-se os fermentos caipira e prensado. Letras diferentes indicam diferença significativa a 5% pelo teste de Tukey (n=6).

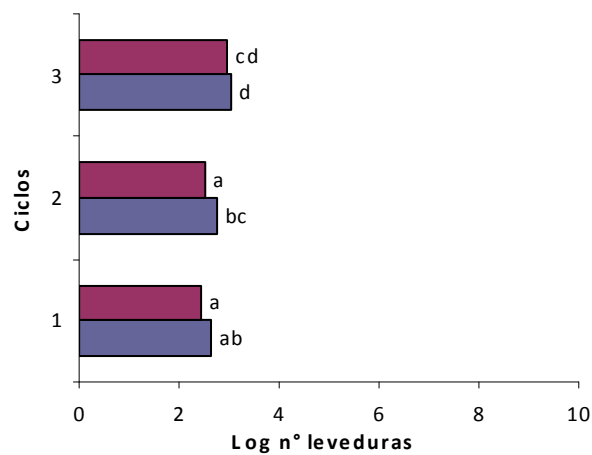
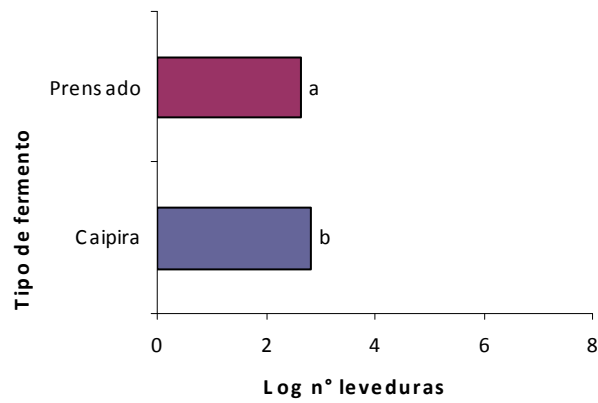
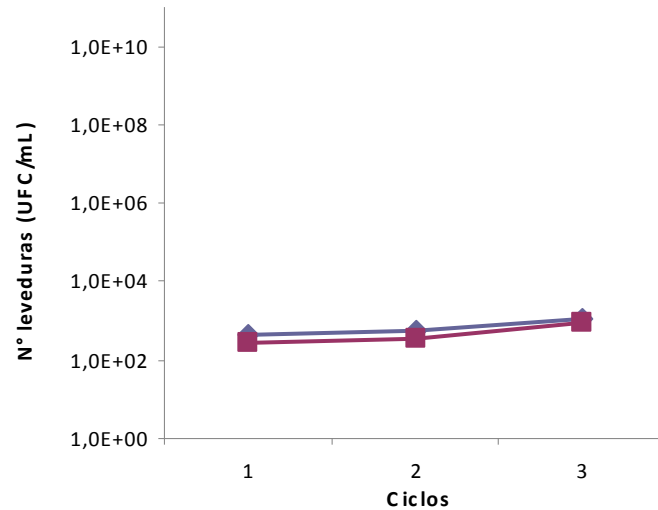


## Mosto (WLN)



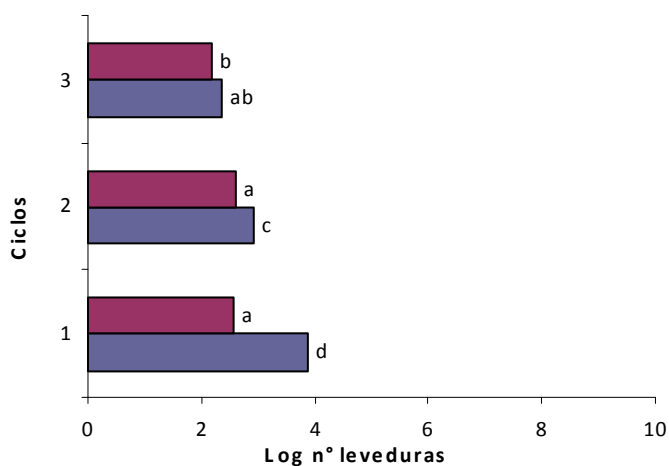
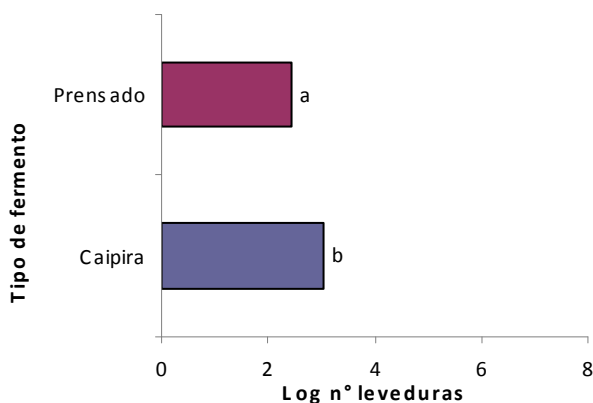
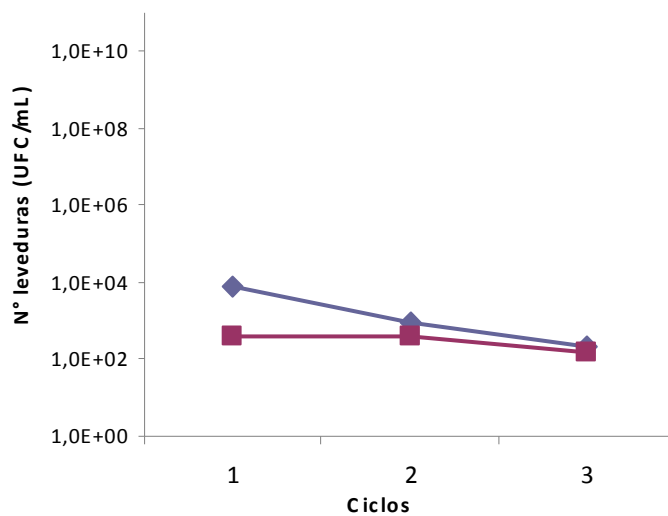
**Figura 9.** Número de leveduras totais (UFC/mL) isoladas do meio WLN a partir das amostras do mosto nos três ciclos fermentativos utilizando-se os fermentos caipira e prensado. Letras diferentes indicam diferença significativa a 5% pelo teste de Tukey (n=6).

## Mosto (Ágar Lisina)



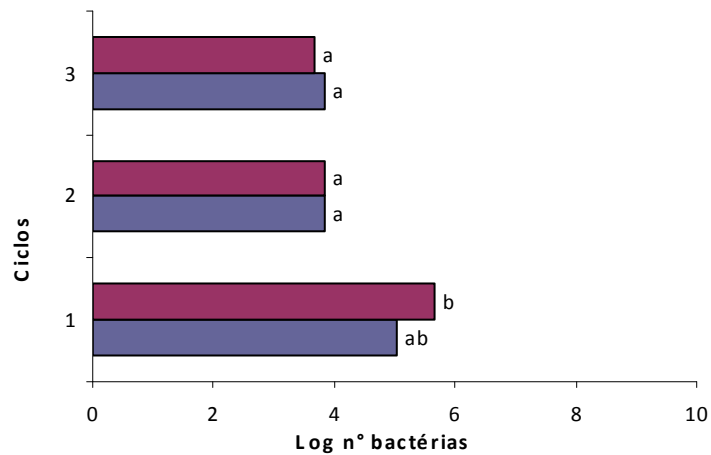
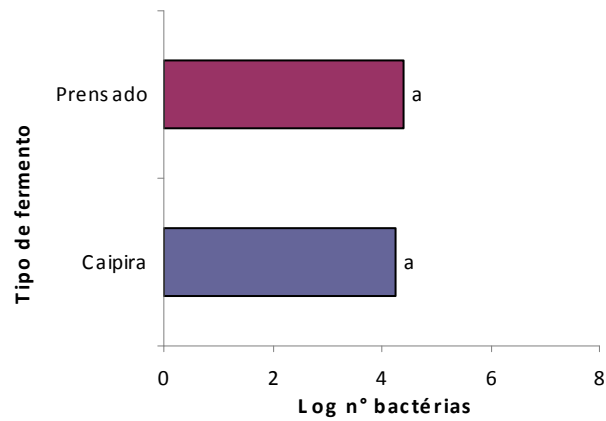
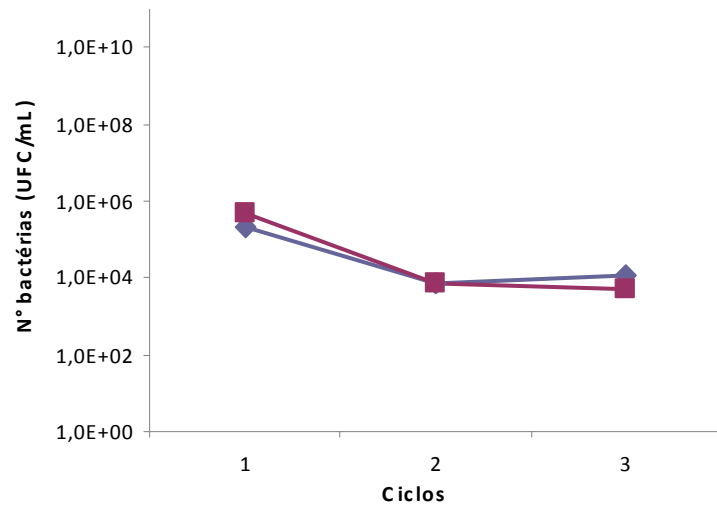
**Figura 10.** Número de leveduras selvagens não-*Saccharomyces* (UFC/mL) isoladas do meio Agar Lisina a partir da amostra do mosto nos três ciclos fermentativos utilizando-se os fermentos caipira e prensado. Letras diferentes indicam diferença significativa a 5% pelo teste de Tukey (n=6).

## Mosto (WLD)



**Figura 11.** Número de leveduras selvagens resistentes à cicloheximida (UFC/mL) isoladas do meio WLD a partir da amostra do mosto nos três ciclos fermentativos utilizando-se os fermentos caipira e prensado. Letras diferentes indicam diferença significativa a 5% pelo teste de Tukey (n=6).

## Mosto (Ágar Nutriente)

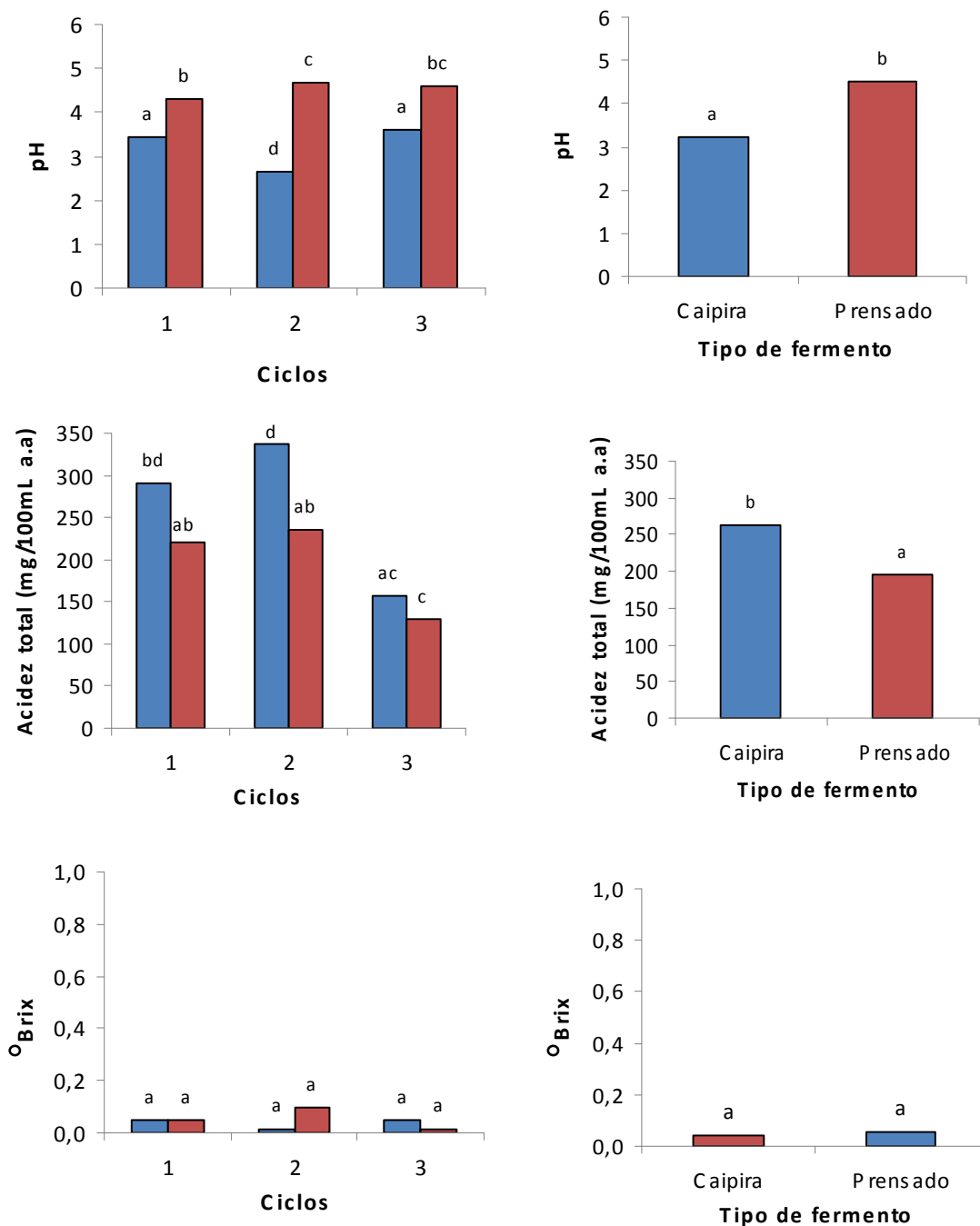


**Figura 12.** Número de bactérias (UFC/mL) isoladas do meio Ágar Nutriente a partir das amostras do mosto nos três ciclos fermentativos utilizando-se os fermentos caipira e prensado. Letras diferentes indicam diferença significativa a 5% pelo teste de Tukey (n=6).

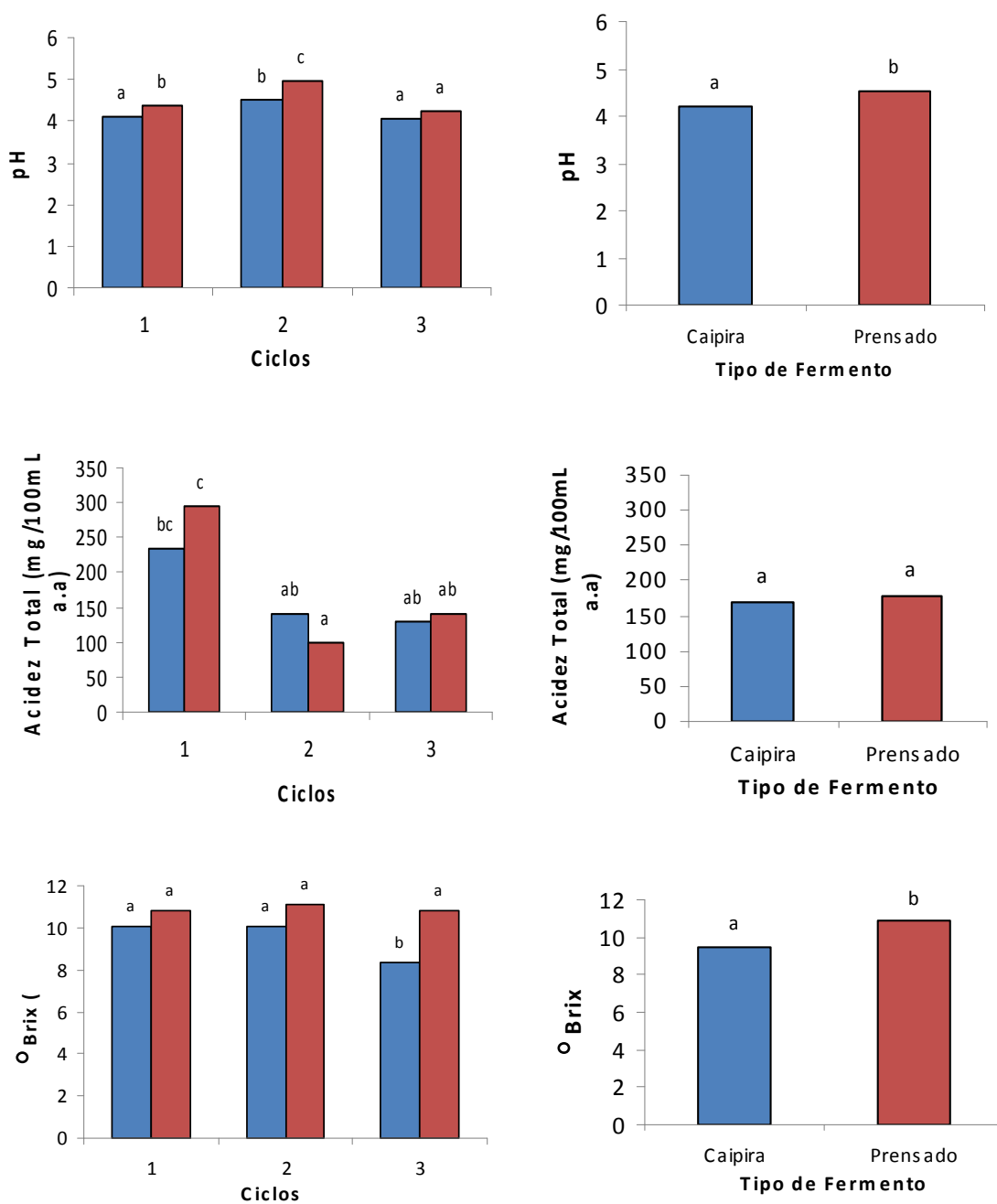
Quanto à análise físico-química do pé-de-cuba, o pH foi significativamente mais baixo com o fermento caipira, mostrando-se relativamente constante no decorrer dos ciclos fermentativos. Verificou-se que durante o preparo do mesmo houve um aumento muito grande da acidez, atingindo valores próximos a 400 mg/100 mL ácido acético (Figura 3). Ao final do primeiro ciclo (amostra do pé-de-cuba), o valor foi próximo a 300 mg/100 mL ácido acético, decaindo significativamente no terceiro ciclo. O mesmo aconteceu com o fermento prensado, porém com valores inferiores. Os valores de Brix foram bem baixos, como esperado (Figura 13).

Quanto ao mosto, o pH foi mais alto nas dornas com o fermento prensado, subindo significativamente para ambos os fermentos no 2º ciclo. A acidez total do mosto caiu com o decorrer dos ciclos fermentativos, sendo maior no 1º ciclo para ambos os fermentos. Não houve diferença significativa entre os fermentos quanto à este parâmetro (Figura 14), mostrando que houve um efeito diluidor do mosto sobre a alta acidez do fermento caipira, diferentemente do que foi observado por Nobre (2005). Esse estudo avaliou a viabilidade celular de *S. cerevisiae* cultivada em associação com bactérias contaminantes da fermentação alcoólica, verificando que a acidez total do mosto em 0, 24, 48, 72 horas após o cultivo só apresentou diferença significativa com 24 horas, nos outros momentos o tempo não influenciou a acidificação do meio.

A autora acima verificou também não haver diferença significativa para os teores de acidez total e volátil em cultivos mistos de *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus coagulans*, *Lactobacillus plantarum* com *S. cerevisiae* em relação ao controle – apenas em relação a *S. cerevisiae*. Esses resultados sugerem que a acidez observada não deve ser exclusivamente produzida pelas bactérias inoculadas, mas que outras reações ou mesmo *S. cerevisiae* produzam os ácidos orgânicos encontrados. Já quando inoculou *Lactobacillus fermentum* e *Bacillus subtilis* a acidez total e volátil foi superior nos dois casos quando comparados ao controle, diferindo estatisticamente (NOBRE, 2005).



**Figura 13.** Análise físico-química do pé-de-cuba nos três ciclos fermentativos utilizando-se os fermentos caipira e prensado. Letras diferentes indicam diferença significativa a 5% pelo teste de Tukey (n=6).



**Figura 14.** Análise físico-química do mosto nos três ciclos fermentativos utilizando-se os fermentos caipira e prensado. Letras diferentes indicam diferença significativa a 5% pelo teste de Tukey (n=6).

O Brix do mosto foi maior com o fermento prensado, porém ao longo dos ciclos de fermentação, só houve diferença significativa no Brix do mosto em relação ao fermento caipira no 3º ciclo (Figura 14).

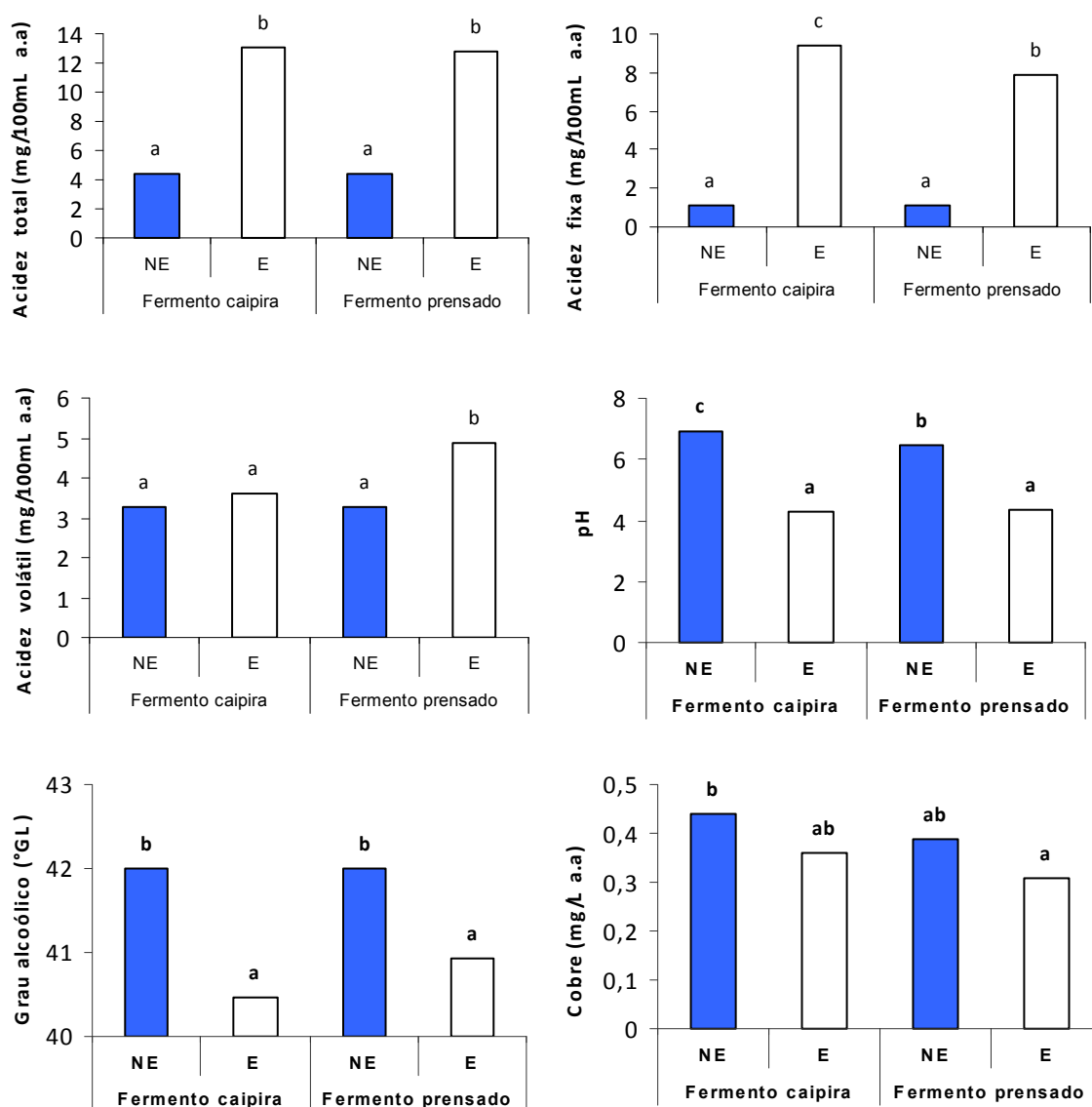
#### 4.3 Análises físico-químicas e sensorial da cachaça

Os resultados das análises físico-químicas das cachaças redestiladas submetidas ou não ao envelhecimento em barris de carvalho estão apresentados na Figura 15.

Quanto ao pH foi detectada diferença estatística quanto ao envelhecimento e tipo de fermento. Houve redução nos valores com o envelhecimento para ambos os fermentos, porém os valores que foram diferentes entre si antes do envelhecimento, não diferiram significativamente após o período de envelhecimento. A legislação brasileira não especifica valores limites para pH, uma vez que este está diretamente associado aos observados para acidez total da amostra. Outros autores também verificaram uma diminuição do pH de amostras de cachaça submetidas ao envelhecimento em tonéis de carvalho (PARAZZI et al., 2008).

Houve um efeito significativo do envelhecimento sobre a acidez total e fixa das cachaças. Os valores observados para os dois fermentos após o envelhecimento foi em média três vezes o valor da acidez total nas amostras sem envelhecimento. Quanto aos tipos de fermentos, verificou-se que houve diferenças quanto à acidez fixa e volátil. Nesta, o envelhecimento causou aumento nos valores para as cachaças produzidas com o fermento prensado. Para a acidez fixa, os valores se alteraram significativamente com o envelhecimento e entre os fermentos, sendo significativamente maior na cachaça produzida com o fermento caipira após o envelhecimento. Autores têm considerado que o parâmetro de conversão do substrato em ácido acético é mais importante que o rendimento em etanol, porque a acidez influencia negativamente a qualidade sensorial da bebida (OLIVEIRA et al., 2004; SILVA et al., 2006).





**Figura 15.** Análise físico-química das cachaças artesanais orgânicas produzidas a partir dos fermentos caipira e prensado, envelhecidas (E) ou não envelhecidas (NE) em tonéis de carvalho. Letras diferentes indicam diferença significativa a 5% entre as médias (n=6).

A acidez total das amostras, de um modo geral, destacou-se por ser menor do que as médias encontradas na literatura. Trabalhos sobre o efeito do envelhecimento em barris de carvalho sobre a qualidade físico-química de cachaças mostraram resultados médios de 30 mg/100mL de álcool anidro,

enquanto neste experimento foi obtido no máximo a metade deste valor (PARAZZI et al., 2008). A acidez total é representada por compostos solúveis principalmente em água e com elevado ponto de ebulição, que destilam nas primeiras porções do destilado, na metade final do “coração” e praticamente em toda “cauda” (LEAUTÉ, 1990).

Na primeira destilação do vinho em alambique, os ácidos graxos compostos com relativamente alto ponto de ebulição e inteiramente ou parcialmente solúveis em etanol terminam de destilar no meio da fração “coração”, enquanto o ácido acético cujo ponto de ebulição é maior do que o da água e solúvel em água inicia a destilação no meio da fração “coração” (LEAUTÉ, 1990).

O tempo de armazenamento influencia a acidez total da amostra, aumentando-a, assim como a acidez volátil (MIRANDA et al., 2008). Esse aumento se deve a oxidação do etanol, que contribui para a formação de acetaldeído e este posteriormente, conduz à formação de ácido acético (REAZIN, 1981; LITCHEV, 1989). Comparando-se com os resultados de Parazzi et al. (2008), a diferença nos valores de acidez total pode ser devida ao tempo de envelhecimento, muito maior (36 meses) no trabalho desses autores que aquele aqui utilizado, porém há diferença também no tamanho dos tonéis (200 litros e 5 litros, respectivamente).

O tempo ideal para o armazenamento da cachaça varia com as características do tonel (tipo de madeira, idade e tamanho) e com as condições ambientais de estocagem (temperatura e umidade). Reduções volumétricas podem ocorrer durante o processo de envelhecimento e quanto maior o tonel, menor a perda por evaporação (BORRAGINI, 2009). É verdade também que quanto menor é o tonel, melhor é a extração das substâncias da madeira devido ao maior contato da bebida com as paredes do tonel. Para evitar excessiva redução de volume, considerou-se neste trabalho um período de 45 dias para o envelhecimento. Borragini (2009) mostrou um aumento nas concentrações dos compostos secundários e acidez com maior tempo de envelhecimento, no entanto, a qualidade sensorial da cachaça não diferiu

substancialmente a 30 ou 60 dias de envelhecimento em tonéis de 5 litros comparando-se com períodos de até 180 dias para a maioria dos atributos.

O envelhecimento em barris de madeira contribui com alguns elementos que favorecem o aumento da acidez, como ácidos orgânicos não voláteis, componentes secundários, taninos e compostos fenólicos (MENDES et al., 2002). Teores mais elevados de acidez volátil na cachaça podem estar relacionados à várias condições, entre elas o tipo de levedura utilizada na fermentação (CARDOSO, 2001). Neste trabalho, o aumento da acidez volátil com o envelhecimento foi maior nas cachaças produzidas com o fermento prensado. Embora todos os valores obtidos sejam inferiores a 150mg de ácido acético por 100 mL de álcool anidro, limite estabelecido pela legislação brasileira, é de se destacar a influência do tipo de levedura (fermento) utilizado na qualidade da cachaça.

Não houve variações significativas entre os teores de cobre das diferentes cachaças, com exceção da cachaça envelhecida produzida com o fermento prensado, a qual apresentou teor de cobre diferente somente daquela produzida com o fermento caipira antes do envelhecimento. A redestilação das cachaças diminuiu o cobre das cachaças na ordem de mais de 10 vezes, saltando de valores médios de 6,5 mg/L para 0,4 mg/L.

O cobre é considerado contaminante da cachaça e o excesso deste material pode causar prejuízo para a saúde. A legislação impõe limite de 5mg/L, muito superior à exigência internacional (CARDOSO et al., 2003), o que limita as exportações de cachaça no Brasil. A bidestilação e a redestilação diminuem a presença deste contaminante, uma vez que os vapores hidroacólicos ácidos destilam principalmente na fração “cauda” e, como no aqui foi o “coração” que deu origem à aguardente redestilada, esta apresentou teores de cobre sempre inferiores à 1mg/L. Esse aspecto positivo da bidestilação/redestilação também foi observado em outros estudos a respeito (BIZELLI et al., 2000; BOZA; HORII, 2000; FRANCO, 2008).

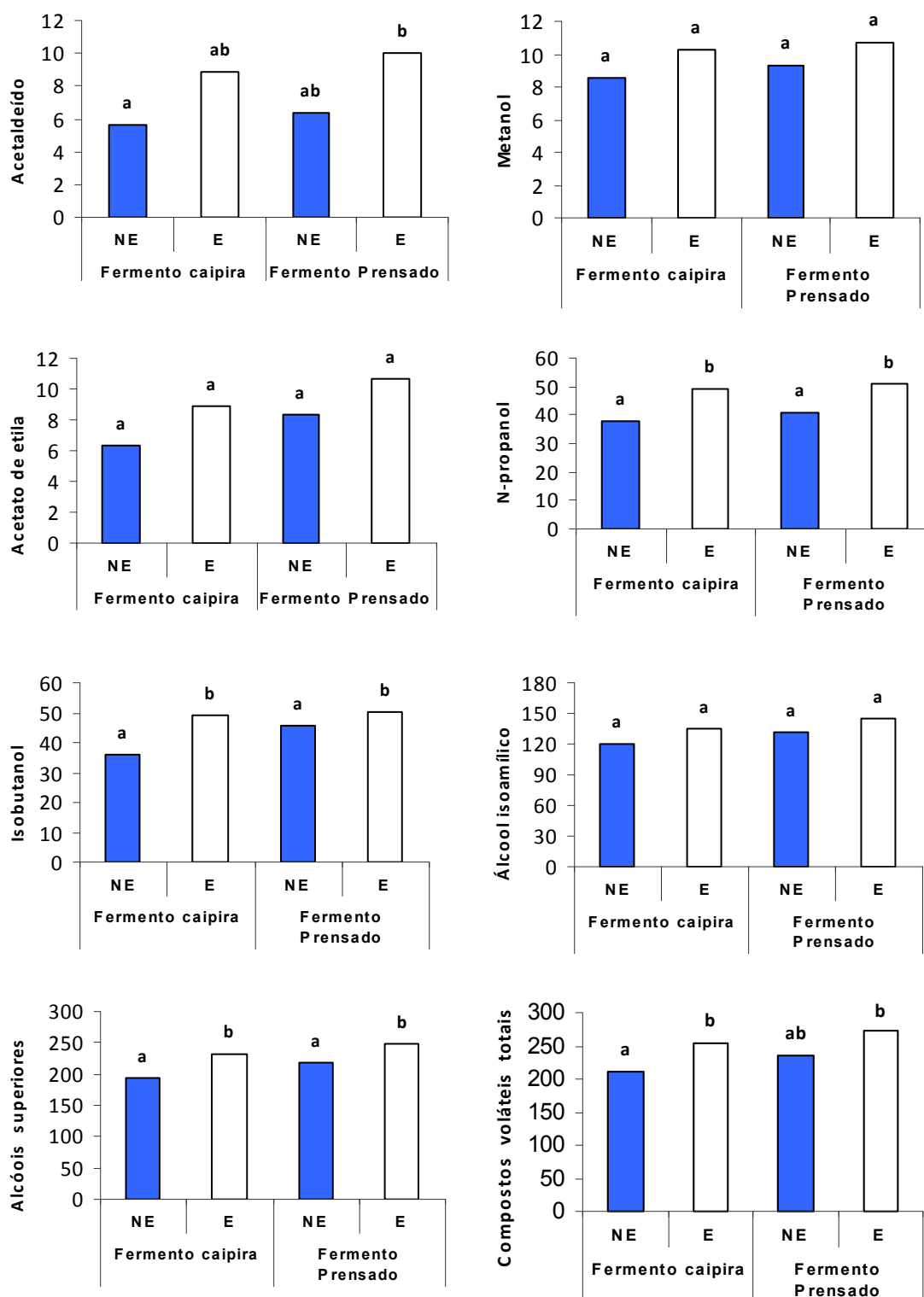
Houve uma pequena diminuição no teor alcoólico das cachaças com o envelhecimento, porém significativa a 5%, provavelmente devido à evaporação, para as cachaças produzidas com ambos os fermentos. Apesar

desta diminuição, os valores encontram-se dentro da faixa considerada para essa bebida no Brasil, que é de 38% vol/vol a 48% vol/vol (BRASIL, 2005). A tendência seria a de diminuição com o armazenamento, porém verificou-se a estabilização do teor alcoólico no decorrer do tempo, independentemente do recipiente de armazenamento da cachaça (PARAZZI et al., 2008). Foi evidenciada também a variação da concentração de etanol na bebida durante o processo de destilação, e também uma alteração da composição dos ácidos e simultaneamente a concentração de sais de cobre no destilado (BOZA; HORII, 2000).

Os componentes secundários das cachaças contribuem para as características particulares da bebida, conferindo-lhe sabor e aroma peculiares, principalmente os ésteres e aldeídos. Correspondem a um grupo minoritário resultante do processo de fermentação do mosto, como alcoóis superiores, ésteres, grupos carboxílicos (BOSCOLO et al., 2000). Nenhum dos tratamentos utilizados (tipo de fermento ou envelhecimento) influenciou diretamente os teores de acetaldeído, metanol, acetato de etila e álcool isoamílico encontrados na bebida, conforme Figura 16.

Semelhantemente a outros resultados obtidos (PARAZZI et al., 2008), o envelhecimento não influenciou diretamente a quantidade de metanol encontrada nas bebidas, abaixo do limite permitido pela legislação brasileira que é de 200 mg/100mL (BRASIL, 2005).

O metanol é um contaminante importante da cachaça, pela toxicidade mesmo em baixas concentrações. Por ter uma estrutura química simples, o metanol é facilmente produzido e encontrado na natureza. Sendo assim, é um constituinte naturalmente presente nas bebidas alcoólicas, em quantidades pequenas em relação aos demais componentes, como produto secundário do processo fermentativo. Bebidas produzidas a partir da fermentação e destilação de frutas podem conter concentrações altas de metanol, devido à quantidade de pectinas metoxiladas e de enzimas (pectina-metilesterases) que podem ocasionar a formação adicional de metanol (BLINDER et al., 1988).



**Figura 16.** Concentrações dos componentes secundários (mg/100mL álcool anidro) das cachaças orgânicas produzidas a partir dos fermentos caipira e prensado, envelhecidas (E) ou não envelhecidas (NE) em tonéis de carvalho. Letras diferentes indicam diferença significativa a 5% entre as médias (n=6).

As concentrações de n-propanol e isobutanol e conseqüentemente de álcoois superiores foram significativamente maiores nas cachaças envelhecidas, independentemente do tipo de fermento. Para acetaldeído, só houve diferença significativa entre a cachaça não envelhecida produzida com o fermento caipira e aquela envelhecida produzida com o fermento prensado. Com relação aos compostos voláteis totais, houve uma influência significativa do envelhecimento sobre a qualidade da cachaça produzida com o fermento caipira.

O aumento da concentração de acetato de etila foi verificado por alguns autores (MIRANDA et al., 2008; PARAZZI et al., 2008). No presente estudo, os valores encontrados para este composto estão de acordo com a legislação (BRASIL, 2005), a qual recomenda máximo de 200 mg/100mL de álcool anidro. Outro estudo mostrou que o envelhecimento resultou num aumento de até três vezes na concentração de acetato de etila, quando a cachaça foi envelhecida por aproximadamente um ano (MIRANDA et al., 2008).

O pouco tempo de armazenamento das cachaças aqui produzidas pode ter influenciado negativamente a produção de ésteres, pois em quantidades adequadas melhora os aspectos sensoriais da bebida (FARIA, 2003). Neste trabalho ocorreu um aumento de cerca de 28% e 22% para este componente nas cachaças produzidas com fermento caipira e fermento prensado com o envelhecimento, respectivamente, sugerindo novamente a influência do fermento na qualidade da cachaça.

Os ésteres são produzidos durante a fermentação alcoólica do mosto de cana-de-açúcar pelas leveduras e também durante o envelhecimento pela esterificação de ácidos graxos com etanol, no qual o acetato de etila corresponde à maior fração (FARIA et al., 2003), além de ser o responsável pelo aroma agradável de frutas das bebidas envelhecidas, quando em baixas concentrações (WINDHOLZ, 1976).

O acetaldeído é o principal aldeído associado à fermentação alcoólica e aqueles com até oito átomos de carbono têm aroma penetrante e enjoativo, sendo indesejáveis em bebidas destiladas (MAIA, 1994). Novamente

a cachaça produzida com o fermento prensado apresentou cerca de 12% mais acetaldeído com o envelhecimento do que aquelas advindas do fermento caipira, embora em ambos os tratamentos, os valores obtidos estejam abaixo do limite da legislação.

A concentração de compostos voláteis totais aumentou significativamente com o envelhecimento, especialmente para aquelas produzidas com o fermento caipira, enquanto para o fermento prensado, ocorreu maior concentração desde a sua produção, mostrando a influência do fermento sobre a qualidade da cachaça. Este resultado corrobora os resultados verificados para acidez volátil, acentuadamente superior na cachaça produzida com o fermento prensado. Teores mais elevados de acidez volátil podem ser resultados de fermentações mal conduzidas, onde o fermento não se desenvolveu favoravelmente ou houve contaminação bacteriana, resultando em produto final de pouca qualidade (CARDOSO, 2001). No entanto, os resultados das análises microbiológicas mostraram não haver contaminação bacteriana significativamente diferente na fermentação com o fermento prensado em comparação com o fermento caipira.

Fermentações realizadas com leveduras isoladas de alambiques de Minas Gerais em comparação com leveduras comerciais mostraram que somente uma cachaça proveniente da fermentação do caldo de cana, produzida com levedura comercial, apresentou concentração superior ao limite para acidez volátil (SILVA et al., 2009b).

A ausência de significância entre os tratamentos para algumas das variáveis estudadas (como acetato de etila, álcool isoamílico e alcoóis superiores) pode ser decorrente dos altos coeficientes de variação. Neste sentido, estudos têm demonstrado que os parâmetros de identidade e qualidade da cachaça são variáveis e instáveis, com exceção do teor alcoólico, ao analisar centenas de relatórios de análise da bebida engarrafada vendida em Minas Gerais, Brasil (VARGAS; GLÓRIA, 1995). Além disso, o aroma das bebidas alcoólicas não pode ser inferido de análises, pois este é o resultado da combinação de vários componentes. As características sensoriais permitem uma diferenciação mais fácil das diferentes bebidas (COLE; NOBLE, 1995),

além da dificuldade de correlacionar a constituição da cachaça com a sua qualidade sensorial (RIBEIRO, 1997).

Os testes sensoriais de preferência para as cachaças não-envelhecidas produzidas a partir dos dois fermentos não apresentaram diferença significativa a 5% para nenhum dos atributos avaliados. Porém, houve diferença no aroma e impressão global entre as cachaças envelhecidas produzidas com os diferentes fermentos, mostrando médias significativamente maiores para aquelas produzidas com fermento caipira (Tabelas 2 e 3).

**Tabela 2.** Valores médios de preferência das cachaças orgânicas não envelhecidas, produzidas a partir de fermento caipira e prensado.

<b>Tipo de fermento</b>	<b>Cor</b>	<b>Aroma</b>	<b>Sabor</b>	<b>Textura</b>	<b>Impressão Global</b>
<b>Caipira</b>	5,62a	5,21a	4,53a	4,76a	4,77a
<b>Prensado</b>	5,66a	5,36a	4,61a	4,77a	4,82a

Letras diferentes nas colunas indicam diferença significativa a 5%; n=62 provadores. (1=desgostei muito a 7=gostei muito)

**Tabela 3.** Valores médios de preferência das cachaças orgânicas envelhecidas, produzidas a partir de fermento caipira e prensado.

<b>Tipo de fermento</b>	<b>Cor</b>	<b>Aroma</b>	<b>Sabor</b>	<b>Textura</b>	<b>Impressão Global</b>
<b>Caipira</b>	5,22a	5,01a	4,24a	4,55a	4,57a
<b>Prensado</b>	5,08a	4,75b	4,10a	4,44a	4,34b

Letras diferentes nas colunas indicam diferença significativa a 5%; n=62 provadores. (1=desgostei muito a 7=gostei muito)

Cachaças produzidas por linhagens selecionadas de *S. cerevisiae* isoladas de fermentos naturais (caipira) receberam boas avaliações sensoriais. Em contraste, quando foram utilizadas leveduras comerciais que não se



originaram de fermentações de cachaça, os testes sensoriais obtiveram notas baixas (SILVA et al., 2009a). Semelhantemente, a análise sensorial de cachaça produzida com leveduras isoladas de alambiques e leveduras comerciais revelou que a maior nota foi atribuída à amostra produzida por uma levedura isolada de alambique, enquanto a menor foi para uma aguardente produzida com fermento comercial. No entanto, de uma forma geral, as cachaças receberam a mesma média na avaliação sensorial, estando compreendidas entre os conceitos: “Indiferente” e “Gostei ligeiramente”, porém deve se ressaltar que se tratam de cachaças recém-destiladas, não envelhecidas (SILVA et al., 2009a).

Trabalho realizado anteriormente verificou também a influência do tipo de fermento (caipira ou prensado) sobre o número e a diversidade de leveduras durante a fermentação e a qualidade da cachaça orgânica. O número de leveduras *S. cerevisiae* e selvagens foram similares no curso das fermentações com dez ciclos celulares, independentemente do fermento utilizado e da mesma forma, o envelhecimento da cachaça (filtrada) em tonéis de carvalho alterou a composição química da bebida, que apresentou componentes com concentrações maiores na cachaça produzida com fermento caipira, porém, estes se mantiveram dentro dos limites da legislação brasileira. Houve uma tendência de maior preferência para sabor pela cachaça envelhecida produzida com fermento caipira (GABRIEL et al., 2009).

Houve uma importante interação entre envelhecimento e tipo de fermento sobre a qualidade da cachaça, pois antes do envelhecimento, os testes sensoriais não indicaram preferência significativa por nenhuma das cachaças produzidas. No entanto, com o envelhecimento, as cachaças produzidas com fermento caipira se sobressaíram nas notas de aroma e impressão global, mostrando que embora não tenha se detectado diferenças significativas nas concentrações de alguns dos compostos secundários e tenha havido um aumento mais significativo da acidez volátil e teor de compostos voláteis totais na cachaça produzida com fermento prensado com o envelhecimento, estes afetaram negativamente a qualidade da cachaça.

Enfim, o envelhecimento proporcionou mudanças na cachaça, aumentando a concentração de compostos secundários, especialmente os voláteis, mas todos dentro dos limites estabelecidos pela legislação. Por terem sido envelhecidas por pouco tempo (em decorrência do volume de armazenamento) não se pode prever exatamente a influência do tempo de armazenamento na qualidade química e sensorial das mesmas.

Foi estudada a influência do teor alcoólico e da acidez no perfil de percepção sensorial de aguardente de cana. Nesse teste foi utilizada aguardente recém-destilada, submetida à diluição e acidificação com ácido succínico, originando quatro amostras para provas. A diluição não maximizou a percepção de diferenças entre aroma e sabor, desmistificando que o grau alcoólico possa mascarar os outros atributos sensoriais, tampouco a variação da acidez, na identificação dos outros típicos atributos relacionados à cachaças. O envelhecimento não foi alvo de estudo nesse trabalho (JERONIMO et al., 2004).

A aceitabilidade de cachaças redestiladas (quatro amostras, sendo a primeira, padrão 42% vol/vol ou tradicional, as seguintes redestiladas após diluição de 30%, 25% e 20% vol/vol) foi estudada em um teste com 50 provadores, não se observando diferença significativa para aparência, aroma e impressão global, mas as notas mais altas foram identificadas nas cachaças que sofreram redestilação (FRANCO, 2008).

#### 4.4 Considerações sobre a fermentação, tipo de fermento, envelhecimento e qualidade da cachaça artesanal orgânica

Os resultados mostraram que a fermentação com o fermento caipira apresentou maior número de leveduras selvagens, porém não houve diferença no número de bactérias em relação à fermentação com o fermento prensado. No decorrer dos ciclos fermentativos, não houve grandes diferenças quanto à dinâmica das leveduras selvagens nas fermentações com os dois fermentos, porém verificou-se que com o fermento caipira houve uma tendência de

estabilização e até redução nos valores. Estes resultados mostraram que embora a forma de preparo do fermento caipira seja rudimentar, não contribui para o aumento da contaminação por leveduras selvagens e/ou bactérias.

As cachaças produzidas com os dois tipos de fermentos não apresentaram também diferenças significativas quanto à composição físico-química, com exceção da acidez fixa mais elevada com o fermento caipira, após o envelhecimento. Em seu estudo, Oliveira et al. (2005), verificaram que leveduras *Saccharomyces* e não-*Saccharomyces* não exerceram influência sobre a fermentação, composição e qualidade sensorial da cachaça, e constataram não haver efeito negativo sobre a qualidade sensorial da cachaça. A utilização de linhagens selvagens de leveduras (*Pichia silvicola*, *Pichia anomala* e *Dekkera bruxellensis*) mostrou-se adequada para a produção de cachaça de alta qualidade, pois produziram concentrações aceitáveis de componentes secundários (DATO et al., 2005).

No entanto, os testes sensoriais apontando diferenças entre as cachaças envelhecidas produzidas com os dois tipos de fermento quanto ao sabor e impressão global, levam a supor que o tipo de fermento teve influência sobre a qualidade da cachaça envelhecida, e que as diferenças não puderam ser mensuradas nas análises microbiológicas e físico-químicas da fermentação e físico-químicas da cachaça.

Talvez a presença de uma maior diversidade de leveduras (selvagens) no fermento caipira no processo de fermentação, quando comparado com o inóculo puro do fermento prensado (exclusivamente *S. cerevisiae*), possa ter contribuído para esta diferença sensorial. Além disto, este trabalho também mostrou que a presença de leveduras selvagens no processo de produção de cachaça não necessariamente significou produto de má qualidade sensorial.

Este trabalho pode assim demonstrar o efeito significativo do fermento sobre a qualidade sensorial da cachaça orgânica. Pesa contra a sua utilização a questão da falta de controle e homogeneidade na sua preparação, mas a sua importância na qualidade sensorial da bebida não pode ser

ignorada, e não tem sido por outros autores também, conforme citado no item anterior.

## 5. CONCLUSÕES

- O aumento do número de leveduras totais é de cerca de 5 ciclos log no decorrer do preparo do fermento caipira (10 dias), ocorrendo uma seleção de linhagens de leveduras do gênero *Saccharomyces*;
- ocorreu um elevado aumento nos valores de acidez total e no número de bactérias durante o preparo do fermento caipira, porém estes valores foram atenuados no decorrer dos ciclos fermentativos, não diferindo daqueles encontrados para a fermentação com o fermento prensado;
- a forma de preparo do fermento caipira, embora tenha contribuído com maior número de leveduras selvagens no pé-de-cuba e mosto da fermentação, não ocasionou diferenças significativas na qualidade da cachaça artesanal orgânica, quando comparado com a fermentação com fermento prensado, com exceção da maior acidez fixa e menor acidez volátil;
- as cachaças produzidas com fermento caipira e fermento prensado apresentaram parâmetros físico-químicos em conformidade com a legislação brasileira, após o envelhecimento;

- o envelhecimento em tonéis de carvalho destacou significativamente a cachaça produzida com fermento caipira nos atributos sensoriais de aroma e impressão global.

## 6. REFERÊNCIAS

ABRABE. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE BEBIDAS. *A cachaça*. Disponível em: < <http://www.abrabe.org.br/cachaca.php>>. Acesso em: 02 jan. 2010.

AMORIM, H.V.; ZAGO, E.A.; GUTIERREZ, L.E. Método rápido para controle da fermentação e destilação. *Saccharum/STAB*, Piracicaba, v.2, n.4, p.31-34, 1979.

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

ANDRIETTA, S.R.; ANDRIETTA, M.G.S.; SERRA, G.E. Leveduras não fermentativas - Processo de instalação e forma de detecção e eliminação. *STAB*, Piracicaba, v. 15, n. 6, p. 32-35, 1997.

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

AMPAQ. ASSOCIAÇÃO MINEIRA DOS PRODUTORES DE CACHAÇA DE QUALIDADE. *História da cachaça*. Disponível em: <<http://www.ampaq.com.br/?op=conteudo&id=127&menuId=2>>. Acesso em: 3 dez. 2009.

BASSO, L.C. et al. Dominância das leveduras contaminantes sobre as linhagens industriais avaliadas pela técnica de cariotipagem. In: CONGRESSO NACIONAL DA STAB, 5., 1993, Águas de São Pedro. *Anais...* Piracicaba: STAB, 1993. p. 245-250.

BLINDER, F.; VOGES, E.; LAUGE, P. The problem of methanol concentration admissible in distilled fruit spirits. *Food Additives and Contaminants*, London, v.5, n. 3, p.343-351, 1988.

BIZELLI, L.C.; RIBEIRO, C.A.F.; NOVAES, F.V. Dupla destilação da aguardente de cana: teores de acidez total e de cobre. *Scientia Agricola*, Piracicaba, v.57, n.4, p.623-627, 2000.

BOGUSZ-JUNIOR, S. et al. Composição química da cachaça produzida na região noroeste do Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 26, n. 4, p.793-798, 2006.

BORRAGINI, M.C.C.B. *Envelhecimento da cachaça com circulação forçada e aeração*. 2009. 90 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Araraquara, 2009.

BOSCOLO, M. et al. Identification and dosage by HRGC of minor alcohols and esters in Brazilian sugar-cane spirit. *Journal of Brazilian Chemical Society*, São Paulo, v.11, n.1, p.86-90, 2000.

BOZA, Y.; HORII, J. Influência do grau alcoólico e da acidez do destilado sobre o teor de cobre na aguardente. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v.20, n.1, p.279-284, 2000.

BRASIL. Instrução Normativa n.13 (2005, 29 de junho). Regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para aguardente de cana e para cachaça. Diário Oficial da União, Seção 1.

CABRINI, K.T.; GALLO, C.R. A Identificação de leveduras no processo de fermentação alcoólica em usina do Estado de São Paulo, Brasil. *Scientia Agrícola*, Piracicaba, v 56, n.1. p.105-112, 1999.

CACHAÇA artesanal: sumário. São Paulo: SEBRAE; ESPM, 2008.



CARDELLO, H.M.A.B.; FARIA, J.B. Análise descritiva quantitativa da aguardente de cana durante envelhecimento em tonel de carvalho (*Quercus alba* L). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v.18, n.2, p.169-175, 1998.

CARDOSO, D.R. et al. Influência do material do destilador na composição química das aguardentes de cana. Parte II. *Química Nova*, São Paulo, v.26, n.2, p.735-739, 2003.

CARDOSO, M.G. *Produção de aguardente de cana-de-açúcar*. Lavras: UFLA, 2001.

CARDOSO, M.G. et al. *Cachaça: qualidade e produção*. Lavras: UFLA, [s.d.]. Disponível em: <[http://www.editora.ufla.br/BolExtensao/pdfBE/bol\\_07.pdf](http://www.editora.ufla.br/BolExtensao/pdfBE/bol_07.pdf)>. Acesso em: 5 ago. 2009.

COLE, V.C.; NOBLE, A.C. Flavour chemistry and assessment. In: LEA, A.G.H.; PIGGOT, J.R. (Ed.). *Fermented beverage production*. London: Blackie Academic and Professional, 1995. p.361-385.

CONSTANTI, M. et al. Analysis of yeast populations during alcoholic fermentation in a newly established winery. *American Journal of Enology and Viticulture*, Davis, n.48, v.3, p.339-344, 1997.

COCACHAÇA. COOPERATIVA DE PRODUÇÃO E PROMOÇÃO DA CACHAÇA DE MINAS GERAIS. *Cachaça artesanal: mercado atual*. Site institucional. Disponível em: <[http://www.cocachaca.com/artesanal\\_mercado.html](http://www.cocachaca.com/artesanal_mercado.html)>. Acesso em: 08 jan. 2010.

DATO, M.C.F.; PIZAURO JUNIOR, J.M.; MUTTON, M.J.R. Analysis of the secondary compounds produced by *Saccharomyces cerevisiae* and wild yeast strains during the production of "cachaça". *Brazilian Journal of Microbiology*, São Paulo, v.36, n.1, p.70-74, 2005.

DELGADO, A.A.; CESAR, M.A.A. *Elementos de tecnologia e engenharia do açúcar de cana*. Piracicaba: ESALQ/USP, 1977. 752p. v.2.

DIAS, S.; MAIA, A.; NELSON, D. Efeito de diferentes madeiras sobre a composição da aguardente de cana envelhecida. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v.18, p.331-334, 1998.

FARIA, J. B. *Determinação dos compostos responsáveis pelo defeito sensorial das aguardentes de cana (Saccharum spp) destiladas na ausência de cobre*. 2000. 99f. Tese (Livre Docência em Alimentos e Nutrição) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, Araraquara.

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: Varela, 2004. p.155-167.

FARIA, J.B. et al. Cachaça, pisco and tequila. In: LEA, A.G.H.; PIGGOT, J.R. (Ed.). *Fermented beverage production*. New York: Kluwer Academic, 2003. p.335-363.

FLEET, G.H.; LAFON-LAFOURCADE, S.; RIBÉREAU-GAYON, P. Evolution of yeasts and lactic acid bacteria during fermentation and storage of bordeaux wines. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v.5, n.48, p.1034-1038, 1984.

FRANCO, A.C. *Redestilação da cachaça*. 2008. 52 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Araraquara, 2008.

GABRIEL, A.V.M.D. et al. Influência do tipo de fermento sobre a diversidade de leveduras e a qualidade da cachaça orgânica. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE BIOPROCESSOS, 17., 2009, Natal. *Anais...* 2009. CD-Rom.

GARBIN, R.; JUNIOR, S. B.; MONTANO, M. A. Níveis de cobre em amostras de cachaça produzidas na região noroeste do Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.35, n.6, p.1436-1440, 2005.

GREEN, S.R.; GRAY, P.P. A differential procedure applicable to bacteriological investigation in brewing. *Wallerstein Laboratories Communications*, New York, v.13, p.357-366, 1950.

JERONIMO, E.M.; CARDELLO, H.M.A.B.; SERRA, G.E. Perfil sensorial de aguardente de cana em função da diluição e variação da acidez da amostra. *Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos*, Curitiba, v.22, n.1, p.51-64, 2004.

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

LEME JR., J.; BORGES, J.M. *Açúcar de cana*. Viçosa: Imprensa Universitária, 1965. 317p.

LIMA, U.A. *Aguardente: fabricação em pequenas destilarias*. Piracicaba: Fealq, 1999.

LITCHEV, V. Influence of oxidation process on the development of the taste and flavour of wine distillates. *American Journal of Enology and Viticulture*, Davis, v.40, n.1, p.31-35, 1989.

LOPES, C.H.; GABRIEL, A.V.M.D. *Tecnologia de produção de etanol*. São Carlos: EDUFSCAR, 2010. No prelo.

LOPES, C.H.; BORGES, M.T.M. *Controle na fabricação de álcool*. São Carlos: EDUFSCAR, 2009.

LOUREIRO, V.M.; MALFEITO-FERREIRA, M. Spoilage yeasts in the wine industry. *International Journal of Food Microbiology*, Amsterdam, v. 86, p.23- 50, 2003.

MacFIE, H.J.H. et al. Designs to balance the effect of order of presentation and first-order carry-over effects in hall tests. *Journal of Sensory Studies*, Westport, v.4, p.129-148, 1989.

MAIA, A.B. Componentes secundários da aguardente. *STAB*, Piracicaba, v.12, n.2, p.29-39, 1994.

MARTINI, C. *Avaliação dos aspectos microbiológicos do caldo de diferentes variedades e partes do colmo da cana-de-açúcar sob manejo orgânico*. 2009. 77f. Dissertação (Mestrado em Agroecologia e Desenvolvimento Rural) - Universidade Federal de São Carlos, Araras, 2009.

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

MENDES, L.M.; MORI, F.A.; TRUGILHO, P.F. Potencial da madeira para agregar valor à cachaça de alambique. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v.23, n.217, p.52-58, 2002.

MIRANDA, M.B. et al. Perfil físico-químico de aguardente durante envelhecimento em tonéis de carvalho. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v.28, p.84-89, 2008.

\_\_\_\_\_. Qualidade química de cachaças brasileiras. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 27, n. 4, p. 897-901, 2007.

MORAIS, P.B. et al. Characterization and succession of yeast populations associated with spontaneous fermentations during the production of Brazilian sugar cane. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, Oxford, v.13, p.241-243, 1997.

MORRIS, E.O.; EDDY, A.A. Method for the measurement of wild yeast infection in pitching yeast. *Journal of the Institute of Brewing*, London, v.63, n.1, p.34-35, 1957.

MUTTON, M.J.R. *Avaliação da fermentação etanólica do caldo de cana-de-açúcar (Saccharum spp) tratadas com maturadores químicos*. 1998. Tese (Livre-docência) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 1998.

NISHIMURA, K.; MATSUYAMA, R. Maturation and maturation chemistry. In: PIGGOTT, J.R.; SHARP, R.; DUNCAN, R.E.B. *The science and technology of whiskies*. New York: Longman Scientific & Technical, 1989. p.235-263.

NOBRE, T.P. *Viabilidade celular de Saccharomyces cerevisiae cultivada em associação com bactérias contaminantes da fermentação alcoólica*. 2005. 90f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/ USP, Piracicaba, 2005.

NOGUEIRA, A.M.P.; VENTURINI FILHO, W.G. *Aguardente de cana*. Botucatu: UNESP- Faculdade de Ciências Agrônômicas, 2005.

NOVA, M.X.V. et al. Yeast species involved in artisanal cachaça fermentation in three stills with different technological levels in Pernambuco, Brazil. *Food Microbiology*, London, v.26, p.460-466, 2009.

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

NOVAES, F.V. et al. *I Curso de extensão em tecnologia de aguardente de cana*. Piracicaba, 1974. 104 p. Apostila.

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

OLIVEIRA, E.S. et al. Fermentations characteristics as criteria for selection of cachaça yeast. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, Oxford, v.20, p.9-24, 2004.

OLIVEIRA, E.S. et al. The influence of different yeast fermentation, composition and sensory quality of cachaça. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, Oxford, v.21, p.707-715, 2005.

OLIVEIRA, M.C.F.L.; PAGNOCCA, F.C. Aplicabilidade de meios seletivos empregados na indústria cervejeira para a detecção de leveduras selvagens em unidades sucroalcooleiras. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE BIOPROCESSOS, 8., 1988, São Lourenço. *Anais...*, 1988, p.78-81.

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

PATARO, C. et al. Physiological characterization of yeasts isolated from traditional fermentation in a cachaça distillery. *Revista de Microbiologia*, São Paulo, v.29, p.69-73, 1998.

\_\_\_\_\_. Yeasts communities and genetic polymorphism of *Saccharomyces cerevisiae* strains associated with artisanal fermentations in Brazil. *Journal of Applied Microbiology*, Oxford, v.88, p.24-31, 2000.

PENTEADO, J.C.; MASINI, J.C. Heterogeneidade de álcoois secundários em aguardentes brasileiras de diversas origens e processos de fabricação. *Química Nova*, São Paulo, v.32, n.5, p.1212-1215, 2009.

PIRES, A.C.R. *Cachaça: análise de um empreendimento*. Recife, SEBRAE/PE, 2001.

REAZIN, G.H. Chemical mechanisms of whiskey maturation. *American Journal of Enology and Viticulture*, Davis, v.32, p.283-289, 1981.

RIBEIRO, C.A.F. *Potencialidades de diferentes linhagens de levedura da espécie Saccharomyces cerevisiae na tecnologia de cachaça de cana*. 1997. 170f. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1997.

RIBEIRO, J.C.G.M. *Fabricação artesanal da cachaça mineira*. Belo Horizonte: O Lutador, 2002.

ROSA, C.A.; SOARES, A.M.; FARIA, J.B. Cachaça production. In: INGLEDEW, W.M. (Ed.). *The alcohol textbook*. Nottingham: Nottingham University Press, 2009. p.484-497.

ROTA, M.B. *Efeito da bidestilação na qualidade sensorial da cachaça*. 2008. 60f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2008.

SANNI, A. I.; LONNER, C. Identification of yeasts isolated from Nigerian traditional alcoholic beverages. *Food Microbiology*, London, v.10, p.517-523, 1993.

SCHWAN, R.F.; CASTRO, H.A. Fermentação alcoólica. In: CARDOSO, M.G. (Ed.). *Produção de aguardente de cana-de-açúcar*. Lavras: UFLA, 2001. p.45-47.

SILVA, C.L.C. et al. Qualidade química e sensorial de cachaças produzidas com quatro linhagens floculantes de *Saccharomyces cerevisiae* (floculantes, não-produtoras de H<sub>2</sub>S e de referência). *Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, Curitiba, v.24, p.405-422, 2006.

SILVA, C.L.C. et al. Selection, growth, and chemo-sensory evaluation of flocculent starter culture strains of *Saccharomyces cerevisiae* in the large-scale production of traditional Brazilian cachaça. *International Journal of Food Microbiology*, Amsterdam, v.131, p.203-210, 2009a.

SILVA, P.H.A. et al. Avaliação cromatográfica de compostos voláteis de cachaças produzidas com leveduras de diferentes procedências. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v.29, n.1, p.100-106, 2009b.

VALSECHI, O. *Aguardente de cana-de-açúcar*. Piracicaba: ESALQ/USP, 1960.

VARGAS, E.A.; GLORIA, M.B. Qualidade de aguardente de cana (*Saccharum officinarum*, L.) produzida, comercializada e/ou engarrafada no Estado de Minas Gerais. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v.15, n.1, p.43-46, 1995.

VILELA, F. J. et. al. Determinação das composições físico-químicas de cachaças do sul de Minas Gerais e de suas misturas. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 31, n. 4, p. 1089-1094, 2006.

WALTERS, L.S.; THISELTON, M.R. Utilization of lysine by yeasts. *Journal of the Institute of Brewing*, London, v.59, p.401, 1953.

YOKOYA, F. Problemas com contaminantes na fermentação alcoólica. *STAB*, Piracicaba, v.9, n.6, p.38-39, 1991.

WINDHOLZ, M. *The Merck index*. Rahway: Merck, 1976.

## APÊNDICE

NOME: \_\_\_\_\_

DATA: \_\_\_\_\_

AMOSTRA: \_\_\_\_\_

7. Gostei muito
6. Gostei moderadamente
5. Gostei ligeiramente
4. Não gostei e nem desgostei
3. Desgostei ligeiramente
2. Desgostei moderadamente
1. Desgostei muito

A. Por favor, olhe o cachaça e marque na escala abaixo o quanto você gostou do produto quanto a *cor*.

Nota \_\_\_\_\_

B. Por favor, agora cheire a cachaça e marque na escala abaixo o quanto você gostou do produto quanto ao *aroma*.

Nota \_\_\_\_\_

C. Agora, por favor, prove a cachaça e marque na escala abaixo o quanto você gostou do produto quanto ao *sabor*.

Nota \_\_\_\_\_

D. Agora, por favor, prove de novo a cachaça e marque na escala abaixo o quanto você gostou do produto quanto ao *corpo*.

Nota \_\_\_\_\_

E. Agora, por favor, prove de novo a cachaça e marque na escala abaixo a *nota sobre a impressão global da cachaça*.

Nota \_\_\_\_\_

Você compraria esse produto?

( ) Sim    ( ) Não    ( ) Talvez

Ficha apresentada aos provadores das amostras das cachaças.