

ANDRÉA CARRARA GEÓCZE

**ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE
IONIZAÇÃO E ANÁLISE SENSORIAL DE
CACHAÇAS DE ALAMBIQUE E COLUNA**

Faculdade de Farmácia da UFMG

Belo Horizonte, MG

2012

AC= 566760

TF
663.59
G342e
2012

ANDRÉA CARRARA GEÖCZE

ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE IONIZAÇÃO E ANALISE SENSORIAL DE CACHAÇAS DE ALAMBIQUE E COLUNA

Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em
Ciência de Alimentos da Faculdade de Farmácia da
Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito
parcial à obtenção do título de Doutor em Ciência de
Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Evelyn de Souza Oliveira Lopes

Co orientador: Prof. Helmuth Guido Siebald Luna

Faculdade de Farmácia da UFMG
Belo Horizonte
Av. Antônio Carlos, 6627
Cidade Universitária - Pampulha
31270-901 Belo Horizonte - MG - Brasil

Faculdade de Farmácia da UFMG

Belo Horizonte, MG

2012

U.F.M.G. - BIBLIOTECA UNIVERSITÁRIA



272781301

NÃO DANIFIQUE ESTA ETIQUETA

Biblioteca Universitária

20 / 11 / 2013

2727813-01

M528d

Geöcze, Andréa Carrara.

Espectrometria de massas de ionização e análise sensorial de
cachaças de alambique e coluna. – 2012.

158 f. : il.

Orientadora: Profa. Dra. Evelyn de Souza Oliveira Lopes.

Coorientador: Prof. Helmuth Guido Siebald Luna.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Minas Gerais,
Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciência
de Alimentos.

1. Espectrometria de massas – Teses. 2. Cachaça– Teses. 3.
Bebidas– Avaliação sensorial – Teses. 4. Avaliação sensorial–
Teses.5. Tecnologia de alimentos – Teses.I. Lopes, Evelyn de
Souza II.Luna, Helmuth Guido Siebald. III. Universidade Federal de
Minas Gerais. Faculdade de Farmácia.IV. Título.

CDD 663.804



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE FARMÁCIA – DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS

ANDRÉA CARRARA GEÓCZE

**ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE IONIZAÇÃO E ANÁLISE
SENSORIAL DE CACHAÇAS DE ALAMBIQUE E DE COLUNA**

TESE APROVADA EM 09 DE NOVEMBRO DE 2012

COMISSÃO EXAMINADORA

Ana maria de Resende Machado

Profa. Dra. ANA MARIA DE RESENDE MACHADO

Cléia Batista Dias Ornellas

Profa. Dra. CLÉIA BATISTA DIAS ORNELLAS

Evelyn de Souza Oliveira Lopes

Profa. Dra. EVELYN DE SOUZA OLIVEIRA LOPES
Orientadora

Helmut Guido Siebald Luna

Prof. Dr. HELMUTH GUIDO SIEBALD LUNA
Coorientador

Marcio Caliani

Prof. Dr. MARCIO CALIARI

Maria A. V. Garcia

Profa. Dra. MARIA APARECIDA VIEIRA TEIXEIRA GARCIA

Andréa Carrara Geócze

Orientadora- Professora Evelyn de Souza Oliveira Lopes

Co-orientador-Professor Helmuth Guido Siebald Luna

Colaboradora- Professora Lúcia Helena E.S. Laboissière

Linha de Pesquisa do PPGCA

Qualidade de alimentos

Áreas de Conhecimento (CNPq/CAPEs)

5.07.01.02-9 Química , física, físico-química e bioquímica
de alimentos e das matérias-primas
alimentares

5.07.01.06-1 Avaliação e controle de qualidade de
alimentos

Instituições participantes

CETEC - Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais

UNI-BH - Centro Universitário de Belo Horizonte

Agradecimento à

FAPEMIG - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais

AGRADECIMENTOS

A Deus por me amparar nos momentos difíceis, me dar força interior para superar as dificuldades, mostrar os caminhos nas horas incertas e me suprir em todas as minhas necessidades.

À minha amada mãe, Terezinha, que sua estrela no céu brilhe cada vez mais forte para continuar guiando os meus caminhos.

Ao meu Pai, Zoárd Antal Laszlo Geőcze, por seus ensinamentos, exemplo, e por me mostrar o valor da honestidade e da retidão de caráter.

Aos meus filhos, Humbertinho e Felipe, que nos momentos tensos ofereceram alegria, amor e carinho.

Ao meu marido Humberto, pelo companheirismo, paciência, amor e dedicação.

Aos meus irmãos, Zoárd e Katalin, que sempre me deram força e aos meus queridos sobrinhos Zoárdinho, Lucas, Bruna e Zoltan.

A minha amiga Carla Lara, Flávia Gonçalves, Raquel Alvarenga, Letícia Alvarenga pela amizade sincera e convivência.

À Professora Doutora Evelyn de Souza, pela orientação, paciência, amizade e dedicação durante o tempo de convívio.

Ao Professor Doutor Helmuth Guido Siebald Luna pela competência científica, pela disponibilidade e generosidade reveladas ao longo destes anos de trabalho, assim como pelas críticas, correções e sugestões relevantes feitas durante a orientação.

À Professora Doutora Professora Cléia Ornellas pelo incentivo amigo e por ter disponibilizado seus conhecimentos e seu laboratório viabilizando a realização deste trabalho.

Ao Professor Doutor Marcio Caliari, à Professora Doutora Ana Maria Machado Resende e à Professora Doutora Maria Aparecida Vieira Teixeira, pela amizade e pela revisão e sugestões finais que aprimoraram o trabalho.

Aos colegas de percurso e, em especial, a Tatiana, Michele, Ana Diolinda, Luciana.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação de Ciência de Alimentos, pelo aprendizado.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1- Fluxograma de Produção de Cachaça.....	7
Figura 1. 2- Reação de Esterificação.....	12
Figura 1.3- Alambique de um Corpo Utilizado na Destilação de Cachaça:	13
Figura 1. 4- Destilador de Coluna.....	16
Figura 1.5- Reações entre Cobre, Cianeto e Outros Compostos Originando Carbamato de Etila (ARESTA <i>et al.</i> , 2001).....	24
Figura 1.9-Representação Gráfica das Dimensões 1 E 2 do Mapa de Preferência Externo do Suco de Abacaxi – Atributos e Consumidores.....	39
Figura 2.1- ESI(-)-MS Obtido da amostra de Cachaça, Adoçada, Produzida em coluna de aço Inox	54
Figura 2.2-ESI(-)-MS da Amostra de Cachaça não Adoçada, Produzida em Coluna de Aço Inox.....	55
Figura 2.3- ESI(-)-MS Obtido de Amostra de Cachaça, Não Adoçada, Produzida em Alambique de Cobre, com Característica de Cachaça Recém-Alambicada.	56
Figura 2.4-ESI(-)-MS para Amostras de Cachaça, Não Adoçadas, Produzidas em Alambique de Cobre, com Íons $m/z = 377$, $m/z = 379$ e $m/z = 683$	57
Figura 2.5-Gráfico de Escores para as Amostras de Cachaça Produzidas em Alambique e em Colunas de Aço Inox d Partir dos Dados Dos Espectros ESI(-)-MS das Amostras	58
Figura 2.6- ESI(-)-MS de uma Amostra de Cachaça Produzida em Alambique de Cobre Adoçada com Açúcar na Concentração de 20 g L ⁻¹	60

Figura 4.1- Ficha de Avaliação – Teste Triangular.....	77
Figura 4.2-Gráfico Utilizado na Análise Sequencial para a Pré-seleção de Julgadores	78
Figura 4.3- - Lista de Atributos (Referência).....	79
Figura 4.4- Definições dos Termos Descritivos.....	81
Figura 4.5- Amostras Referências.....	82
Figura 4.6- Porcentagem de Aprovação, Indiferença e Rejeição Global das Amostras de Cachaça. RR:Região de Rejeição; RI:Região de Indiferença;RA:Região de Aceitação.....	88
Figura 4.7- Porcentagem de Aprovação, Indiferença e Rejeição do Aroma das Amostras de Cachaça. RR:Região de Rejeição; RI:Região de Indiferença; RA:Região de Aceitação.....	91
Figura 4.8- Porcentagem de Aprovação, indiferença e Rejeição do Sabor das Amostras de Cachaça. RR:região de rejeição; RI:região de indiferença; RA:região de aceitação.....	92
Figura 4.9- Mapa de Preferência Interno Interno gerado a partir dos dados de aceitação quanto a impressão global de 06 marcas de cachaça. a)Representação das marcas de cachaça b)Representação dos consumidores.....	94
Figura 4.10-Análise de Componentes Principais dos Descritores das Cachaças....	100
Figura 4. 11- Mapa de Preferência Externo Correlacionando Descritores Sensoriais e Aceitação Global.....	101
Figura 4. 12- Mapa de Contorno Correlacionando Descritores Sensoriais e Aceitação Global.....	102

Figura 4.13- - Análise de Componentes Principais dos Descritores das Cachaças (exceto o gosto doce).....	104
Figura 4.14- Análise de Componentes Principais dos Componentes Voláteis das Cachaças.....	105
Figura 4.15- - Mapa de Preferência Externo Correlacionando Componentes Voláteis e Aceitação Global.....	105

LISTA DE TABELA

TABELA 1.1-Limites de contaminates na cachaça.....	23
TABELA 5.1 Definições dos Termos Descritivos e das Amostras Referências.....	114
TABELA 5.2 Desempenho dos julgadores: níveis de probabilidade de F^* (p) das amostras derivadas da análise de variância por julgador.....	116
TABELA 5.3 Desempenho dos julgadores: níveis de probabilidade de F^* (p), relacionados ao poder de repetibilidade de respostas.....	116
TABELA 5.4 Valores Médios dos Atributos Sensoriais das Marcas de Cachaça Amostradas.....	117
TABELA 5. 5 Coeficiente de correlação de Pearson entre as médias do atributo gosto doce e as médias dos atributos sensórias.....	119

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ADQ	Análise Descritiva Quantitativa
ADQ	Análise Descritiva Quantitativa modificada
AMPAQ	Associação Mineira dos Produtores de Cachaça De Qualidade
ANOVA	Análise de Variância
CG	Cromatografia Gasosa
ESI	Ionização por Electrospray
FAPEMIG	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
HCA	Análise Hierárquica de Clusters
MALDI	Matriz Assistida por Laser
MDPREF	Mapa de Preferência Interno
PLS	Projeção em Estruturas Latentes
PBDAC	Programa Brasileiro de Desenvolvimento da Aguardente de Cana, Caninha ou Cachaça

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	vi
LISTA DE TABELA.....	viii
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	ix
SUMÁRIO.....	x
RESUMO GERAL.....	xv
INTRODUÇÃO.....	1
CAPÍTULO 1- REVISÃO DE LITERATURA.....	4
1.1 BEBIDAS ALCOÓLICAS.....	4
1.2 CACHAÇA.....	4
1.3 PRODUÇÃO DA CACHAÇA.....	6
1.3.1 Matéria-Prima.....	8
1.3.2 Fermentação.....	8
1.3.3 Destilação.....	11
1.4. COMPOSTOS VOLÁTEIS.....	18
1.4.1. Etanol.....	18
1.4.2 Alcoóis superiores.....	18
1.4.3 Ésteres.....	20
1.4.5 Aldeídos.....	21
1.4.6 Ácidos Orgânicos.....	22
1.5 CONTAMINANTES.....	23
1.6 ANÁLISES QUÍMICAS.....	24

1.6.1 Espectrometria de Massa	24
1.6.2 Utilização de Impressão Digital em Bebidas Alcoólicas	27
1.7 ANÁLISE SENSORIAL	28
1.7.1 Teste de Aceitação	32
1.7.2 Análise Descritiva Quantitativa	33
1.7.3 Mapas de Preferência	35
1.8 BIBLIOGRAFIA	40
1.8 BIBLIOGRAFIA	40
CAPÍTULO 2- AQUISIÇÃO E COMPARAÇÃO DE IMPRESSÕES DIGITAIS, OBTIDAS POR ESPECTROMETRIA DE MASSAS COM IONIZAÇÃO POR ELECTROSPRAY, DE CACHAÇAS PRODUZIDAS EM ALAMBIQUES DE COBRE E PRODUZIDAS EM COLUNAS DE DESTILAÇÃO DE INOX	51
RESUMO	51
2.1 OBJETIVOS.....	52
2.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	52
2.2.1 Material	52
2.2.2 Análises Químicas	52
2.2.3 Análise Estatística dos Resultados	53
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	53
2.3.1 " <i>Fingerprint</i> " das Cachaças Destiladas em Coluna de Inox	53
2.3.2 " <i>Fingerprint</i> " das Cachaças Destiladas em Alambique de Cobre.....	55
2.3.3 Análise de Componentes Principais (PCA).....	57
2.3.4 Cachaças Adoçadas: Cachaças Destiladas em alambique de Cobre Versus Cachaças Destiladas em Coluna de Inox	59

2.4 CONCLUSÃO	60
2.5 BIBLIOGRAFIA	60
CAPÍTULO 3 - AQUISIÇÃO E COMPARAÇÃO DE IMPRESSÕES DIGITAIS, OBTIDAS POR ESPECTROMETRIA DE MASSAS COM IONIZAÇÃO POR ELECTROSPRAY, DE CACHAÇAS REDESTILADAS PRODUZIDAS EM ALAMBQUES DE COBRE E EM COLUNAS DE DESTILAÇÃO DE INOX ADOÇADAS	64
RESUMO	64
3.1 OBJETIVOS	65
3.2 MATERIAIS E MÉTODOS	65
3.2.1 Material	65
3.2.2 Redestilação das Amostras	65
3.2.3 –Aquisição dos Espectros de Massas “ <i>Fingerprint</i> ” das Cachaças	65
3.2.5 Análise Estatística dos Resultados	66
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	66
3.3.1 “ <i>Fingerprint</i> ” das Cachaças Produzidas em Alambique de Cobre Redestiladas	66
3.3.2 “ <i>Fingerprint</i> ” das Cachaças Produzidas em Coluna de Inox Redestiladas	68
3.3.3 Análise de Componentes Principais (PCA)	69
3.4 CONCLUSÃO	71
3.5 BIBLIOGRAFIA	71
CAPÍTULO 4 - AVALIAÇÃO SENSORIAL DE CACHAÇAS DESTILADAS EM ALAMBIQUE DE COBRE E EM COLUNA DE INOX	72
RESUMO	72

4.1 OBJETIVOS.....	74
4.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	74
4.2.1 Material	74
4.2.2 Análises Químicas	74
4.2.3 Teste de Aceitação	76
4.2.4 Análise Descritiva Quantitativa	76
4.2.5 Análise Estatística dos Resultados	83
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	84
4.3.1 Características Físico-Químicas das Cachaças.....	84
4.3.2 Teste de Aceitação e Mapas de Preferência Interno	87
4.3.3 Análise Descritiva Quantitativa	95
4.3.3.1 Pré-Seleção dos Provedores e Levantamento de Atributos.....	95
4.3.3.2 Seleção dos Provedores	96
4.3.3.4 Análise Descritiva Quantitativa das Cachaças	97
4.3.3.5 Mapas de Preferência Externo.....	99
4.4 CONCLUSÃO	106
4.5 BIBLIOGRAFIA	106
CAPÍTULO 5 – INFLUENCIA DA ADIÇÃO DE AÇÚCAR NA PERCPÇÃO DOS DESCRITORES SENSORIAIS DA CACHAÇA.....	111
RESUMO	111
5.1 OBJETIVOS.....	112
5.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	112
5.2.1 Material	112

5.2.2 Teor Alcoólico	112
5.2.3 Análise Sensorial	112
5.2.3.1 Análise Descritiva Quantitativa Modificada	112
5.2.3.1.1 Recrutamento e Pré-Seleção dos Provadores	113
5.2.3.1.2 Treinamento e Seleção Final de Julgadores	113
5.2.3.1.3 Avaliação das Amostras	115
5.2.4 Análise Estatística dos Resultados	115
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	115
5.3.1 Pré-Seleção e Seleção dos Provadores	115
5.3.2 Análise Descritiva Quantitativa das Cachaças	116
5.3.2.1 Avaliação de Diferentes Concentrações de Açúcar	116
5.3.2.2 Correlações entre o Atributo Doce e os Demais Atributos	118
5.4 CONCLUSÃO	120
5.5 BIBLIOGRAFIA	120
6 - CONCLUSÕES GERAIS	122
7- ANEXO	124

RESUMO GERAL

A cachaça de alambique é obtida por destilação descontínua em alambiques de cobre; que funcionam como reatores químicos, favorecendo a formação de alguns componentes voláteis no produto final, os quais podem contribuir para a melhoria na qualidade sensorial da bebida. Na fabricação de cachaça industrial, há um volume maior de produção e a destilação é realizada de forma contínua em colunas de aço inox. Com o objetivo de diferenciar quimicamente as cachaças, neste trabalho foram analisadas 36 amostras de cachaças, não envelhecidas, sendo 18 amostras destiladas em alambique de cobre e 18 cachaças destiladas em coluna de inox (adoçadas). Obteve-se as impressões digitais, por espectrometria de massa – ionização *electrospray* (ES-EM), pela observação dos íons característicos e através de estudo quimiométrico (análise das componentes principais – PCA) de suas impressões digitais. Analisando conjuntamente os escores para as duas primeiras componentes principais, possibilitou a separação das cachaças em dois grupos; explicando a maior parte de variância (70,6%) entre as amostras quanto a sua impressão digital. Investigou-se, ainda, a influencia da redestilação de cachaças não envelhecidas na aquisição das impressões digitais empregando-se espectrometria de massa, com ionização *electrospray*. Observou-se que independente do modo de destilação, cachaças destiladas em alambique de cobre ou em colunas de inox, e da adição de açúcares nas cachaças os espectros obtidos apresentavam três íons característicos: os íons de $m/z = 143$, $m/z = 171$, $m/z = 199$. A análise das componentes principais (PCA) foi utilizada no tratamento dos dados, considerando na composição do gráfico as três primeiras componentes principais, entretanto devido as similaridades dos espectros obtidos não foi possível agrupar as cachaças quanto ao modo de destilação. Investigou-se também a aceitação de seis amostras de cachaça, três de alambique e três em coluna; o perfil sensorial e as suas características físico-químicas. A avaliação sensorial foi realizada com 48 provadores não treinados, consumidores habituais da bebida, adotando-se um delineamento de blocos completos balanceados casualizados. Os provadores avaliaram os atributos sensoriais de impressão global, aroma e sabor das amostras utilizando escala hedônica estruturada de nove pontos, na qual (9) (nove) indica

"gostei muitíssimo", 5 (cinco) "não gostei, nem desgostei" e 1 (um) "desgostei muitíssimo". Os resultados do Teste de Aceitação foram avaliados por Análise de Variância Univariada (ANOVA) e Teste de Comparação de Médias de Tukey; não sendo detectadas diferenças significativas ($p \geq 0,05$) entre as amostras para as características sensoriais avaliadas. As notas atribuídas à impressão global, aroma e sabor foram também analisadas através do Histograma de Frequência. Às cachaças destiladas em alambique de cobre foi atribuído um número maior de notas na região de aceitação em relação à impressão global, aroma e sabor, o que sugere que estas foram mais aceitas que as cachaças produzidas em coluna. Na Análise Descritiva Quantitativa (ADQ), foram avaliados 12 atributos. Os dados gerados na ADQ, as análises físico-químicas e aceitação foram usados na elaboração do mapa de preferência externo, entretanto este não permitiu agrupar as amostras de cachaça quanto ao modo de destilação. As cachaças destiladas em alambique foram as mais aceitas de acordo com os MDPREF. Utilizando ADQ modificada estudou-se, ainda, a influência da adição de açúcar na percepção nos descritores sensoriais da cachaça. Concluindo que o teor alcoólico interfere na percepção do gosto doce; e este se correlaciona negativamente com o gosto amargo e o gosto amargo residual.

GENERAL ABSTRACT

The Brazilian artisan sugar-cane spirit (cachaça) is produced by batch distillation in copper stills, which act as chemical reactors, favoring the formation of volatile components in the final product and improving the sensory quality of the drink. In the manufacture of industrial cachaça, there is a greater volume of production and the distillation is carried out continuously in stainless steel columns. Aiming to differentiate chemically cachaças, this study analyzed 36 samples of non-aged cachaça; 18 samples distilled in copper alembic stills and 18 samples of cachaça distilled in stainless steel column (sweetened). Fingerprints were obtained through electrospray ionization mass spectrometry (ES-MS), by observing the characteristic ions and by chemometric study (Principal Components Analysis - PCA) of their fingerprints. The analysis of the scores for the first two principal components allowed the separation of the samples in two groups, explaining most of the variance (70.6%) among the sample fingerprints. The influence of the redistillation of non-aged cachaças in the acquisition of fingerprints using electrospray ionization mass spectrometry was also investigated. It was found that regardless of the type of distillation, copper still or steel columns, and the addition of sugars in the cachaças, the spectra obtained showed three characteristic ions: with $m/z = 143$, $m/z = 171$ and $m/z = 199$. The principal component analysis (PCA) considered the the first three principal components for the graph, however due to the similarities of the spectra, it was not possible to cluster the cachaças according to type of distillation. In this study, it was investigated the acceptance of six samples of cachaça, three from alembic and three from steel column, the sensory profile (QDA) and their physicochemical characteristics. The sensory evaluation was carried out with 48 untrained tasters, regular consumers of the beverage, in a balanced randomized complete block design. The tasters evaluated the sensory attributes of overall impression, flavor and aroma of the samples using an hedonic scale of nine points, in which the extremes represented "like extremely" (9), "like moderately" (5) and "dislike extremely" (1). The results of the Acceptance Test were evaluated by the Analysis of Variance (ANOVA) and means were compared by the Tukey's test and no significant differences ($p \geq 0.05$) were found between samples for the sensory characteristics evaluated. The

scores for overall impression, aroma and flavor were also analyzed using the Frequency Histogram. The cachaças distilled in copper alembic stills was assigned a greater number of scores in the region of acceptance in relation to the overall impression, flavor and aroma, suggesting that they were more accepted than those produced in steel columns. The QDA data, the physical-chemical analyzes and acceptance were used for preparing the external preference mapping, however this did not allow grouping the cachaça samples according to the type of distillation. The cachaças distilled in alembic were better accepted as shown by the MDPREF. The modified QDA was also used to study the influence of sugar on the perception of the sensorial descriptors of the cachaça and concluded that the alcohol content interferes with the perception of sweetness, and this correlates negatively with the bitter taste and residual bitter taste.

INTRODUÇÃO

Historicamente a cachaça é consumida pelos brasileiros desde o período colonial, a princípio pelos escravos e depois por toda a população, inclusive mulheres, conforme atestam vários documentos (GRAVATÀ, 1999).

Tal como o vinho na Itália, o uísque na Escócia, a cerveja na Alemanha, o Brasil vem se destacando na produção de cachaça. Esta, de bebida marginal, foi elevada ao posto de bebida nobre, símbolo nacional, e terceiro destilado mais consumido no mundo, atrás apenas da vodca e do soju (bebida asiática à base de sorgo). O Decreto nº 4062 de 21/12/2001 e a Lei da Propriedade Industrial nº 9279/96 definem as expressões "Cachaça" e "Cachaça do Brasil" como, denominação do produto de qualidade única tendo em vista as suas características naturais, e indicações geográficas brasileiras (BRASIL, 1996; BRASIL, 2001; COPELLO, 2004).

Na fabricação de cachaça industrial ou de coluna há um volume maior de produção, e a destilação é realizada em fluxo contínuo. As colunas de destilação são alimentadas por um pequeno fluxo de mosto fermentado, obtendo-se, como consequência um fluxo constante de cachaça e outro de vinhoto, acelerando, assim, a produção da bebida. Enquanto a cachaça de alambique é destilada em alambiques de cobre, pelo sistema de batelada. Os alambiques funcionam como reatores químicos, favorecendo a formação de alguns componentes voláteis no produto final, os quais podem contribuir para a melhoria na qualidade sensorial da bebida. Além disso, o cobre presente nos alambiques, catalisa a oxidação de compostos sulfurados presentes nos mostos fermentados favorecendo a formação de aromas e buquês desejáveis (MAIA *et al.*, 1995).

Ressalta-se, ainda, que a Lei Estadual Mineira que define Cachaça de Minas não permite a adição de açúcar enquanto pela a lei brasileira pode-se utilizar até 30 gramas de açúcar por litro e esta recebe a denominação de cachaça adoçada (MINAS, 2000, BRASIL, 2003).

Entretanto, a legislação brasileira (BRASIL, 2003) não reconhece estas singularidades atribuídas à cachaça de alambique e a de coluna. A produção de cachaça de alambique em Minas Gerais desempenha um importante papel na

estrutura da economia do Estado. São produzidos 150 milhões de litros, sendo o consumo interno de aproximadamente 10 litros/habitantes/ano. Essa produção gera em torno de 120 mil empregos, podendo chegar a 400 mil na época da safra. O estado de Minas Gerais tem incentivado à produção de cachaça de alambique, através do PRÓCACHAÇA, SEBRAE e AMPAQ e em eventos promocionais consolidaram a imagem da cachaça como um produto de qualidade. Muitos estados brasileiros que despertaram para o negócio da cachaça de alambique, foram buscar em Minas Gerais as idéias e o conhecimento para a reprodução do modelo mineiro. Assim também ocorreu com o Governo Federal quando criou o Programa Brasileiro de Desenvolvimento da Aguardente de Cana, Caninha ou Cachaça (PBDAC, 1996).

As técnicas utilizadas no presente trabalho para a caracterização química das cachaças de alambique e de coluna foram Impressão Digital e cromatografia gasosa acoplada a um espectrômetro de massa e para a caracterização sensorial foram utilizados Teste de Aceitação, Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) e a composição de Mapas de Preferência Internos e Externos.

Os objetivos gerais deste trabalho foram:

- (i) Caracterizar quimicamente a cachaça de alambique e de coluna, via espectrometria de Massas de Ionização por nebulização Eletrônica, ESI-MS;
- (ii) Caracterizar sensorialmente a cachaça de alambique e de coluna;
- (iii) Investigar se a adição de sacarose influenciava na percepção dos atributos sensoriais das cachaças.

Os objetivos específicos são:

- (i) Obter a "Impressão Digital" das cachaças de alambique e de coluna;
- (ii) levantar os atributos sensoriais e desenvolver terminologia descritiva para as cachaças de alambique e coluna;

- (iii) Verificar a aceitação das cachaças analisadas e compor o Mapa de Preferência Interno;
- (iv) Compor Mapa de Preferência Externo relacionando a análise das medidas descritivas das cachaças com o conjunto de dados do teste de aceitação;
- (v) Compor Mapa de Preferência Externo relacionando a caracterização química com o conjunto de dados dos testes de aceitação.
- (vi) Avaliar se a adição de sacarose influenciava na percepção dos atributos sensoriais das cachaças utilizado análise descritiva modificada.
- (vii) Avaliar se a redestilação das cachaças interfere no ESI-MS, modo negativo das cachaças destiladas em alambique de cobre e coluna de inox.

CAPÍTULO 1- REVISÃO DE LITERATURA

1.1 BEBIDAS ALCOÓLICAS

As bebidas alcoólicas podem ser consideradas tão antigas quanto a própria humanidade. Povos antigos como os fenícios, assírios e babilônios entre outros mencionaram-nas em seus registros (AQUARONE *et al.*, 2001).

No Brasil, a bebida alcoólica é definida como um produto refrescante, aperitivo ou estimulante destinado à ingestão humana no estado líquido, sem finalidade medicamentosa e contendo mais de meio grau Gay-Lussac de álcool etílico. É exigido ainda que o álcool etílico seja potável e obtido por fermentação ou por destilo-retificação de mosto fermentado (BRASIL, 1994).

As bebidas alcoólicas são classificadas segundo a legislação brasileira em: fermentadas (cerveja e vinho), por misturas (licor, amargo e aperitivo, aguardentes composta e bebidas mistas), destiladas (cachaça, rum, uísque e conhaque) e destilo-retificadas (vodca e gim) (AQUARONE *et al.*, 2001).

Entende-se por bebidas alcoólicas destiladas as obtidas através da destilação de mosto fermentado e frutas ou misturas de grãos, fermentados. Além do álcool e da água, substâncias mais complexas são incorporadas ao longo do processamento, substâncias, que vão conferir à bebida, de acordo com suas quantidades, cor, sabor e aroma (BENTON *et al.*, 1975).

1.2 CACHAÇA

Historicamente a cachaça é consumida pelos brasileiros desde o período colonial, a princípio pelos escravos e depois por toda a população, inclusive mulheres, conforme atestam vários documentos (GRAVATÀ, 1999).

A legislação brasileira atual define cachaça como "... denominação típica e exclusiva da aguardente de cana produzida no Brasil, com graduação alcoólica de trinta e oito a quarenta e oito por cento em volume, a vinte graus Celsius, obtida pela destilação do mosto fermentado de cana-de-açúcar com características sensoriais peculiares, podendo ser adicionada de açúcares até seis gramas por litro, expressos em sacarose". Desta forma a cachaça é diferenciada do rum, que é obtido a partir do destilado do melaço ou da mistura entre os destilados de melaço e de cana. São

definidas também: a cachaça adoçada, que deve conter entre 6 e 30 gramas de açúcar por litro, e a envelhecida, que deve conter no mínimo 50% de aguardente de cana envelhecida por pelo menos um ano. É permitida a adição de caramelo para a correção da cor da cachaça envelhecida (BRASIL, 2003).

A Lei Estadual Mineira define como Cachaça de Minas: a bebida produzida no estado com graduação alcoólica de 38% a 54% v/v, à temperatura de 20°C, obtida pela destilação do mosto fermentado de cana-de-açúcar, em alambique de cobre, sem adição de açúcar, corante ou outro ingrediente qualquer. A Cachaça de Minas corresponde à fração denominada "coração", que vem a ser a parte destilada, de mais ou menos 80% do volume total, que fica entre as frações "cabeça" e "cauda" ou "água fraca" (MINAS GERAIS, 2001).

De acordo com a lei estadual mineira pode-se produzir cinco tipos diferentes de Cachaça Mineira: nova, engarrafada após a sua fabricação; descansada, mantida em tonéis de madeira ou barris por um período mínimo de seis meses; envelhecida, submetida ao envelhecimento em tonéis de madeira ou barris por um período mínimo de dezoito meses; matizada, a cachaça resultante da harmonização de um mínimo de 50% de cachaça envelhecida ou descansada e reserva especial, envelhecida em tonéis de madeira por um período no mínimo de trinta e seis meses.

A produção brasileira atinge 1,3 bilhão de litros anuais e gera uma receita próxima a US\$ 500 milhões. A cachaça é produzida em todas as regiões brasileiras, a maior parte nos estados de São Paulo, Pernambuco, Ceará, Rio de Janeiro e Minas Gerais, sendo este último estado o maior produtor de cachaça de alambique. No estado de Minas Gerais, a Associação Mineira de Produtores de cachaça de Qualidade (AMPAQ) controla a qualidade das cachaças produzidas pelos membros associados e atribui um selo de qualidade para a bebida que se encontrar dentro dos padrões estipulados por esta associação (OLIVEIRA *et al.*, 2003).

Vários fatores interferem na qualidade das bebidas alcoólicas destiladas, tais como a matéria-prima, a fermentação, a destilação, o envelhecimento etc.

Estudos em alimentos e bebidas, visando relacionar os componentes responsáveis pelo sabor com sua qualidade, são acompanhados por meio de

análise sensorial, que continua sendo ainda, a única forma de avaliar a aceitação desses produtos (STONE & SIDEL, 1993).

A qualidade da cachaça no Brasil é determinada pelo Decreto Federal n. 4072, de 03/01/2002, e pela Instrução Normativa n.13 de 30/06/2005 do Ministério da Agricultura, que estabelece os seguintes padrões de identidade e qualidade: o teor alcoólico deve estar entre 38 a 48% v/v a 20 °C e a soma do coeficiente de congêneres (componentes voláteis "não álcool") não poderá ser inferior a 200 mg/100 mL e superior a 650 mg/100 mL de álcool anidro, sendo os teores máximos de 150 para acidez volátil (expresso em ácido acético); 200 para ésteres (expresso em acetato de etila); 30 em aldeídos totais (expresso em aldeído acético), 5 para a soma de furfural e hidroximetilfurfural e 360 para álcoois superiores, soma dos álcoois isobutílico (2-metil propanol), isoamílicos (2-metil -1- butanol +3 metil-1-butanol) e n-propílico (1- propanol), em mg /100 ml de álcool anidro, todos expressos em mg/00100mL de álcool anidro. Ainda pela legislação a qualidade da cachaça está relacionada com os teores dos contaminantes: álcool metílico (máximo de 20,0 mg/100 mL de álcool anidro), cobre (máximo de 5 mg/L), acroleína (máximo de 5 mg/100 mL de álcool anidro), álcool butílico (máximo de 3 mg/100 mL de álcool anidro), álcool sec-butílico (máximo de 10 mg/100 mL de álcool anidro), carbamato de etila (máximo de 150µg/L), arsênio (máximo de 100µg/L) e chumbo (máximo de 200µg/L) (BRASIL, 2002 e 2005).

No Brasil, existem poucos estudos sobre a qualidade da cachaça, porém devido às exigências do mercado externo, cresce a preocupação com a qualidade do produto.

1.3 PRODUÇÃO DA CACHAÇA

O processo de produção da cachaça possui como etapas principais as descritas no seu fluxograma (FIG. 1.1).

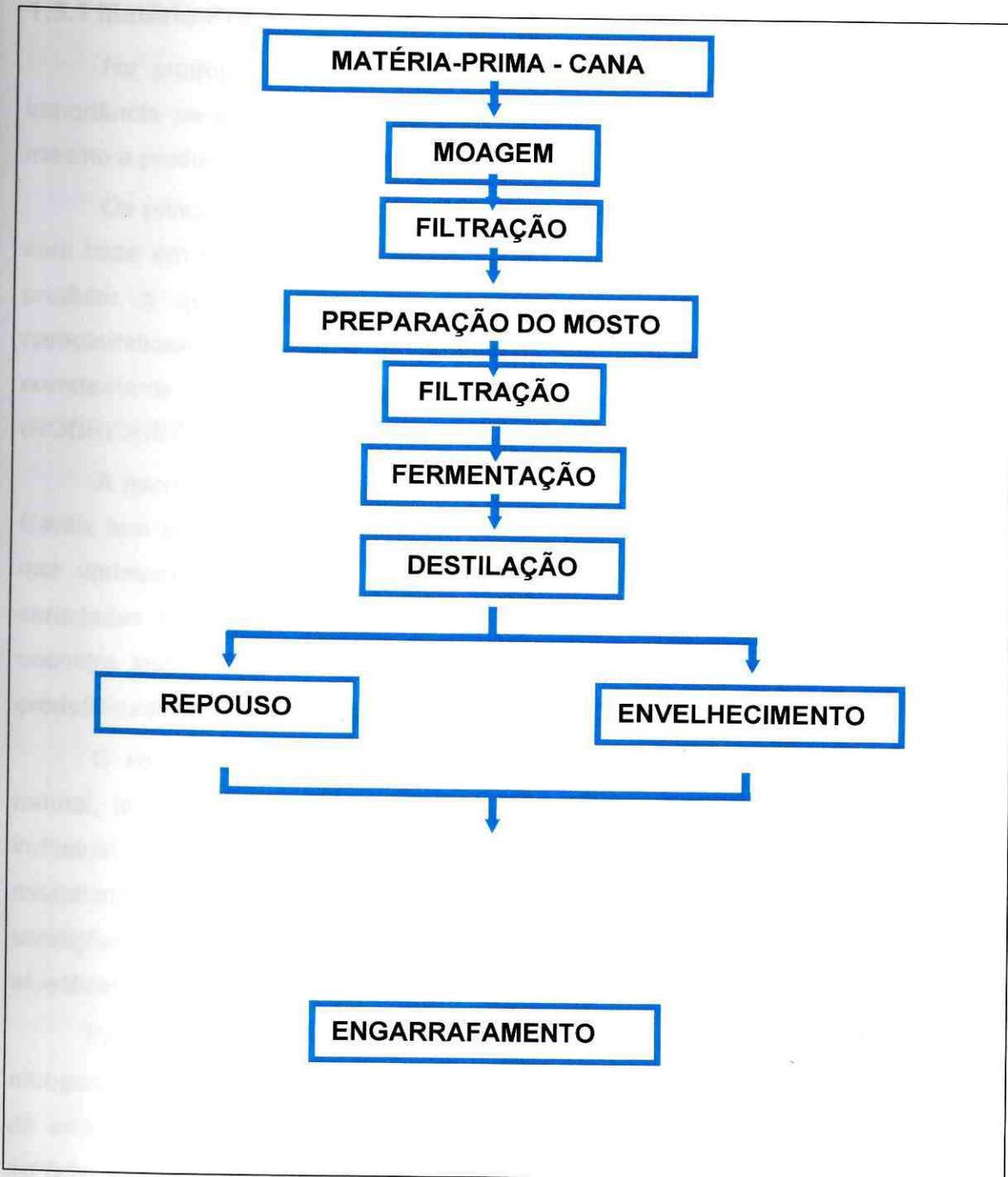


Figura 1.1- Fluxograma de Produção de Cachaça.

1.3.1 Matéria-Prima

Na produção de cachaça, a qualidade da cana de açúcar é de grande importância para a obtenção de uma cachaça de qualidade e influenciando até mesmo a produção de compostos secundários (MUTTON, 2000).

Os principais cuidados com a matéria-prima são: adubar o solo corretamente, com base em análises preliminares; utilizar mudas certificadas, o que garante ao produtor a qualidade genética das mesmas e que essas desenvolvam as características desejadas e adequadas à produção de cachaça; cortar a cana corretamente, rente ao solo, para prolongar a vida do canavial e sem queima prévia (RODRIGUES FILHO & OLIVEIRA, 1999).

A escolha das variedades produtoras de cana-de-açúcar no estado de Minas Gerais tem sido feita levando-se em consideração o período médio de maturação das variedades, condições climáticas e de solo (SILVEIRA *et al.*, 2002). As variedades devem ser adaptadas às condições climáticas da região onde se encontra instalada a unidade industrial, com a finalidade de apresentar elevada produtividade de açúcar por área (NOVAES, 1995).

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

Pode-se modificar o caldo de cana através de uma suplementação nitrogenada e/ou de fosfato, magnésio, manganês e vitaminas (na forma de farelo de arroz ou de trigo) ou mesmo da correção do Brix do caldo (valor entre 14 a 16°Brix), temperatura em torno de 30°C e pH entre 4,5 e 5,0, corrigido através da adição de ácidos (pH do caldo varia entre 5,2 e 6,8) (FARIA, 1995).

1.3.2 Fermentação

A fermentação é a principal etapa do processo de produção da cachaça. Nesta etapa o açúcar e outros compostos presentes no mosto são transformados

em etanol, CO₂ e outros produtos que são responsáveis pela qualidade e defeito do produto (VARMAN & SUTHERLAND, 1994).

A habilidade de converter açúcares em etanol é chamada de fermentação alcoólica e é característica de um pequeno grupo de microrganismos, sendo, principalmente, das leveduras *Saccharomyces cerevisiae* e *Kluyveromyces marxianus* e a bactéria *Zymomonas mobilis* (CARDOSO, 2001).

Nas indústrias de cachaça, são usados basicamente quatro tipos de inóculo preparados com a levedura *Saccharomyces cerevisiae*: natural, prensado, misto e selecionado, sendo os dois primeiros de uso mais extensivo. Na produção de cachaça de alambique no estado de Minas Gerais, geralmente são utilizados fermentos naturais, obtidos a partir de fermentação espontânea do caldo de cana por microorganismos selvagens presentes no ar, solo, e na água (VARGAS, 1995)

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

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

Trinta linhagens de leveduras, isoladas de destilaria artesanal e industrial de aguardente e destilaria de álcool, foram avaliadas quanto às suas características fermentativas e formação dos principais compostos voláteis, compreendendo *Saccharomyces cerevisiae*, *Cândida*, *Kloeckera*, *Pichia* e *Schizosaccharomyces*. As linhagens de *S. cerevisiae* e de *Pichia* apresentaram bom potencial fermentativo e as

demais linhagens apresentaram elevada conversão de substrato em etanol, mas rendimento muito baixo (OLIVEIRA, 2001).

Entre os processos de fermentação para a produção de cachaça, destacam-se o descontínuo (batelada simples), o semi-contínuo ou a batelada alimentada. Estes processos são diferentes apenas na fase de produção de etanol, sendo que as etapas iniciais de formação do inóculo são as mesmas (AQUARONE *et al.*, 2001).

A fermentação alcoólica descontínua consiste em associar, de uma só vez, todo o fermento e todo o meio a ser fermentado. Este sistema, embora adotado pelos fabricantes mineiros de cachaça artesanal, exige cuidados, tendo em vista o efeito inibidor do próprio substrato sobre a fermentação. As células de leveduras são sensíveis à elevação do etanol durante a fermentação do mosto. Com isso, o vigor celular é perdido mais rapidamente em um mosto com teor de açúcar elevado. Utilizando níveis adequados de substrato e sob condições operacionais controladas, é possível atingir rendimentos de até 85-90% do rendimento máximo teórico (MAIA *et al.*, 1995).

O sistema descontínuo-alimentado consiste em promover a alimentação parcelada do caldo de cana ao mosto, através de fluxo intermitente ou contínuo, de modo a que o teor de açúcar nunca ultrapasse um valor pré-fixado, como por exemplo, 5% p/v. Esse sistema permite aumentar a produtividade em etanol e também o limite de tolerância das linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* ao etanol (MAIA *et al.*, 1995).

Nas destilarias de alambique trabalha-se geralmente pelo sistema de "bateladas sucessivas". Este sistema consiste no aproveitamento do fermento em várias fermentações subsequentes. Para isso, cessada a fermentação, espera-se duas a três horas, para sedimentação da levedura e, por meio de válvula (registro) disposta em altura conveniente, retiram-se 4/5 do volume do vinho para ser destilado. O fermento, depositado no fundo da dorna ("pé-de-cuba") é então recuperado e aproveitado na batelada seguinte (MAIA *et al.*, 1995). Pelo emprego da centrífuga, pode-se aumentar em torno de 1.000 a 10.000 vezes a velocidade de separação das células. Contudo, o custo de instalação e manutenção é elevado.

Ainda, segundo MAIA *et al.* (1995), a separação das leveduras ao final da fermentação alcoólica, é um processo de grande importância, por dois motivos básicos:

- a) Vinhos clarificados, com teor mínimo de células, favorecem a destilação, diminuindo os riscos de turvação no destilado e a demanda biológica de oxigênio pelo vinhoto;
- b) Minimizando as perdas de células nas dornas, aumenta-se o rendimento e a produtividade da fermentação alcoólica.

1.3.3 Destilação

Destilação é um processo que tem como princípio a separação dos constituintes baseados nas diferenças de volatilidade. Na destilação, uma fase de vapor entra em contato com uma fase líquida, e há transferência de massa do líquido para o vapor e deste para aquele. Ocorre uma transferência simultânea de massa do líquido pela vaporização, e do vapor pela condensação. O efeito final é o aumento da concentração do componente mais volátil no vapor e do componente menos volátil no líquido (FOUST *et al.*, 1982).

Na produção de cachaça, o caldo de cana fermentado (vinho) tem em sua composição substâncias sólidas, líquidas e gasosas, que são separadas pelo processo de destilação, de acordo com seus respectivos graus de volatilidade. Partindo-se de um vinho de 7-8% de álcool em volume, chega-se a um destilado com 38-54% (RIBEIRO, 2002).

Na fabricação de bebidas alcoólicas destiladas, a destilação separa, seleciona e concentra pelo o uso do calor a fração dos componentes oriundos da fermentação do mosto; assim a composição das bebidas depende em grande extensão da forma pela qual é conduzida a destilação (SUOMALAINEN, 1971; SUOMALAINEN & NYKANEN, 1966).

O processo de destilação é de suma importância na obtenção de cachaças de qualidade, porque reações como hidrólise, esterificação, acetilação, produção de furfural e reações com cobre, ocorrem nesta etapa do processamento. A esterificação (**FIG-1.2**) pode ocorrer sobre os pratos da coluna de destilação, onde os álcoois e ácidos estão mais concentrados. Além de quebra de moléculas, pode

ocorrer o rearranjo das unidades geradas, com formação de monoterpenos (linalol e terpineol), cetonas e outros compostos. A reação de Maillard é a principal fonte de compostos heterocíclicos como furanos, pirazinas e piridinas. Durante a destilação são formados os acetais catalisados por ácido e ocorrem reações de oxi-redução, como a oxidação de aldeídos a ácidos e a redução de alguns ácidos a álcoois (LÉAUTÉ, 1990).

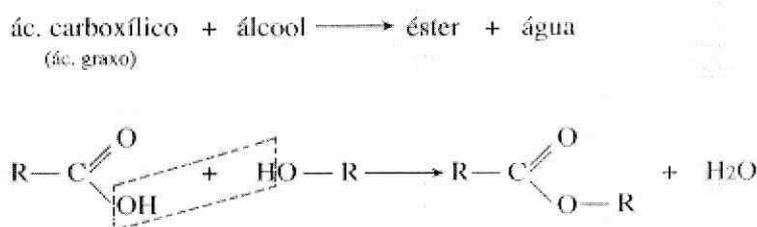


Figura 1. 2- Reação de Esterificação. (Fonte: SOLOMONS, 1982)

Segundo RIJKDE & Ter HEIDE (1983), a reação de Maillard pode originar compostos heterocíclicos durante a destilação, particularmente em alambiques de fogo direto, onde o furfural também pode ser formado.

Há um grande número de tipos de aparelhos de destilação disponíveis, oferecendo uma ampla faixa de flexibilidade para o refinamento das bebidas destiladas, sendo os mais difundidos o alambique e a coluna contínua (BOZA & HORI, 1998).

Nas fábricas de cachaça de alambique, o processo de destilação é realizado em alambiques de formas variadas. Cada tipo de alambique determina um tipo de produto e uma técnica de operação. Observa-se também diferenças na qualidade do produto com o sistema de aquecimento. Os aparelhos mais usados pelos produtores mineiros de cachaça artesanal é o alambique simples, podendo ser constituído de um, dois ou três corpos, de cobre (RIBEIRO, 2002) e geralmente o sistema de destilação é o de batelada sucessiva (MAIA *et al.*, 1995).

Devido ao fato do vinho não ser uma substância pura e conter substâncias tóxicas, a destilação em alambique deve ser fracionada, obtendo-se como produtos:

I) “destilado de cabeça”, corresponde a aproximadamente 5-10% do volume da cachaça e normalmente contém a maior parte do metanol e, parte dos aldeídos e álcoois superiores.

II) “destilado de coração”, que é a cachaça propriamente dita, corresponde cerca 80% do volume de cachaça a ser obtido. Esta fração contém parte dos aldeídos, ésteres, álcoois superiores e demais produtos secundários gerados na fermentação ou no próprio alambique.

III) “destilado de cauda”, corresponde cerca de 10% do volume de cachaça. Contém compostos secundários mais hidrofílicos, como o ácido acético. (MAIA *et al.*, 1995; GRAVATÀ, 1992).

A FIG-1.3 apresenta um alambique de um corpo e as partes que compõem esse sistema de destilação.

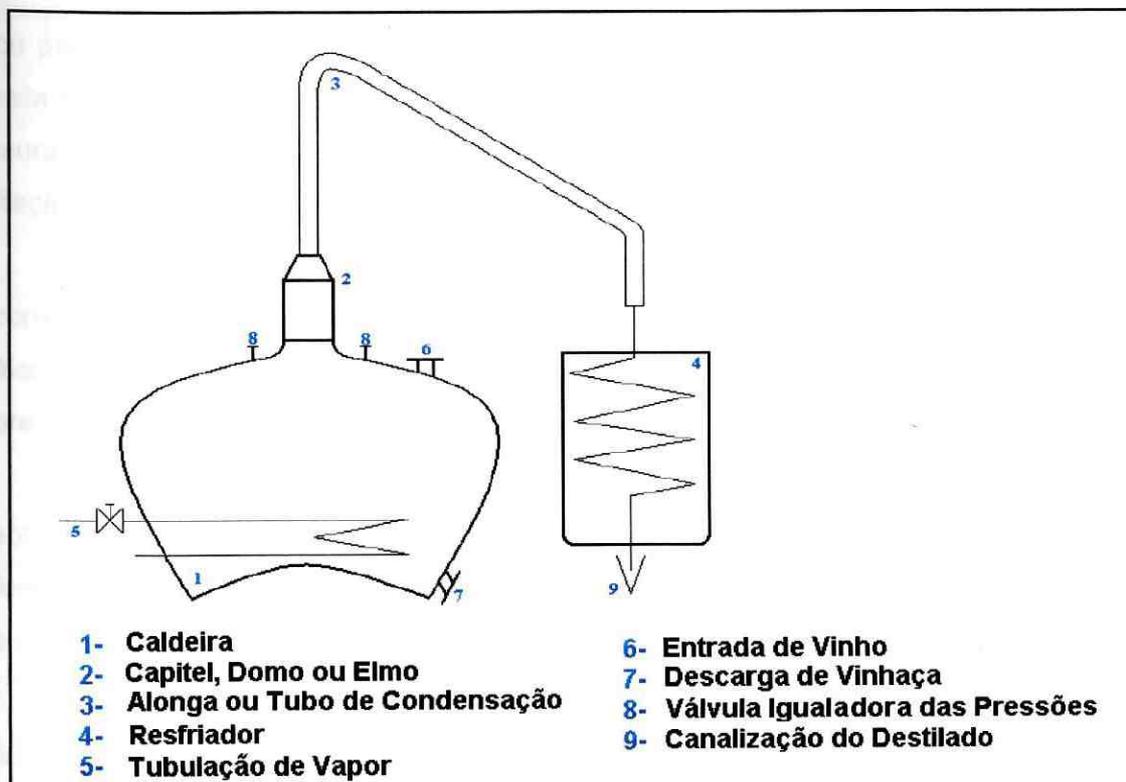


Figura 1.3- Alambique de um Corpo Utilizado na Destilação de Cachaça (Fonte: RECHE, 2006)

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

Este autor acrescenta que os componentes voláteis podem ser classificados em cinco tipos:

Tipo 1 - possuem baixo ponto de ebulição e são solúveis em álcool; tais como acetaldeído (21°C); acetato de etila (77°C). A maioria destes componentes é separada no início da destilação. Sua concentração é muito alta na fração cabeça e no início da fração coração.

Tipo 2 – apresentam ponto de ebulição relativamente alto e completamente ou parcialmente solúveis em álcool. Os ácidos graxos e seus ésteres pertencem a esta categoria. Exemplos: caproato de etila (166,5 °C), capriolato de etila (208 °C) e laurato de etila (269 °C). São separados no início da destilação e alguns no meio da fração coração.

Tipo 3 - possuem ponto de ebulição acima de 200°C, são solúveis em álcool e completamente ou parcialmente solúveis em água. Exemplos: metanol (65 °C); álcoois superiores; 1- propanol, isobutanol, 2-metil-butanol e 3- metil-butanol. Estão presentes nas frações cabeça e coração.

Tipo 4 – Têm ponto de ebulição acima de ponto de ebulição da água e são solúveis ou parcialmente solúveis em água. . Exemplos: ácido acético (110 °C), 2-feniletanol, lactato de etila e succinato de dietila. Começam a ser destilados durante a metade da fração coração.

Tipo 5 – Têm ponto de ebulição alto, são muito solúveis em água. . Exemplos: furfural (167 °C). A concentração destes compostos aumenta a partir da segunda metade da fração coração e na fração cauda.

Embora o cobre apareça com freqüência como substância contaminante nas cachaças (nossa legislação permite limite máximo de 5,0 mg/L), o uso de alambique de cobre é importante na qualidade sensorial da cachaça (BOZA, 1996). FARIA POURCHET-CAMPOS (1989), verificaram a possível relação dos teores de enxofre com a qualidade sensorial inferior das cachaças que haviam sido destiladas em ausência de cobre. ISIQUE *et al.* (1998), ao analisar cachaças destiladas em tipos diferentes de alambique (com ou sem cobre), afirmou que a presença de compostos sulfurados presentes nas cachaças obtidas em alambiques sem cobre representa sem dúvida efeito negativo em sua qualidade sensorial. Um teor de cobre na bebida abaixo do permitido pode ser facilmente atingidos com higienização correta e constante do alambique. Atualmente a maioria dos produtores retira o excesso de cobre da cachaça através da filtração da mesma em filtro de troca iônica (BOZA, 1996).

As destilarias industriais, com maior volume de produção, geralmente utilizam colunas de destilação de aço inox (**FIG-1.4**). As colunas de destilação consistem em uma forma de alambiques interconectados em série, de operação contínua; de fácil manejo, que permite uma maior produtividade e uniformidade do produto (LIMA, 1964).

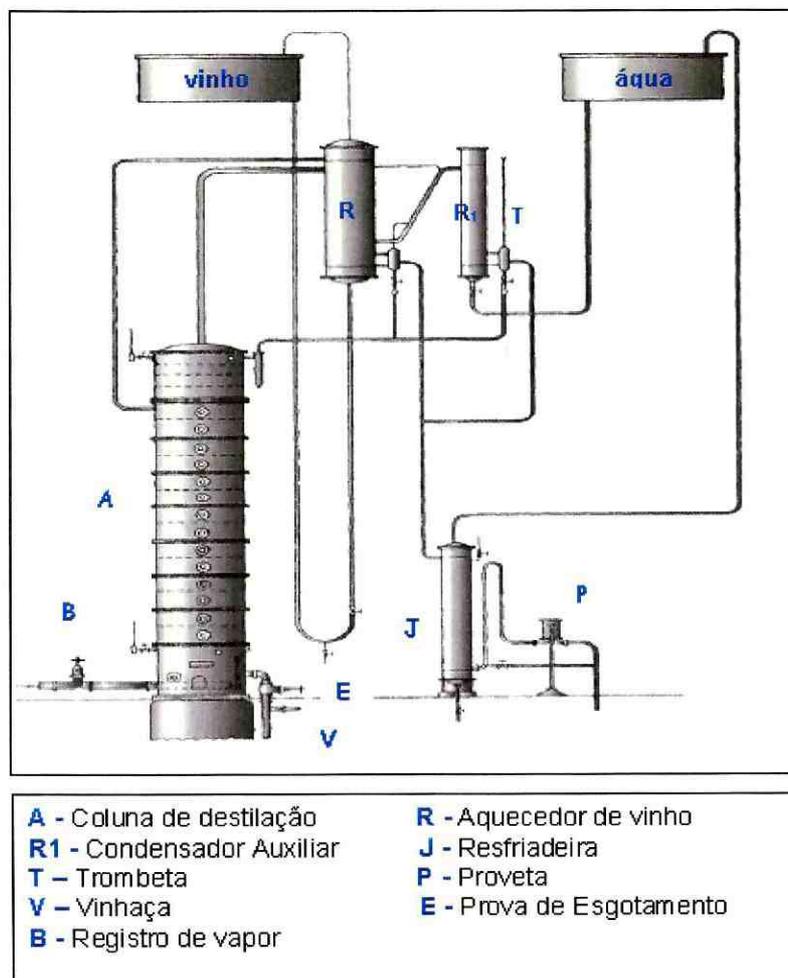


Figura 1. 4- Destilador de Coluna (Fonte: MUTTON *et al*, 2005).

O processo de destilação contínua é empregado nas destilarias de média e de grande capacidade. Para realizar este tipo de destilação, utilizam-se colunas de destilação alimentadas por um fluxo contínuo de vinho, obtendo-se, como consequência, um fluxo contínuo de aguardente e outro de vinhaça. As colunas de destilação são constituídas por uma série de caldeiras de destilação superpostas, as quais recebem a denominação de pratos ou bandejas. Cada bandeja se constitui em uma unidade de destilação. O vinho a ser destilado que chega na coluna pela parte superior (um pouco abaixo do topo) desce de bandeja em bandeja, por intermédio de respectivos sifões, despreendendo álcool, enquanto que os vapores caminham em sentido inverso, borbulhando em líquidos cada vez mais alcoólicos, de menor ponto

de ebulição, acumulando-se no topo. Quando a coluna está em pleno funcionamento, o vinho entra na coluna em fluxo contínuo e vai se desalcoolizando na medida que desce de bandeja em bandeja, sendo retirado da caldeira da coluna na forma de vinhaça. Assim torna-se claro o funcionamento da coluna que consiste em dois fluxos distintos: um, partindo da base da coluna em forma de vapores que se enriquecem na sua subida e, outro, em forma de líquido que, entrando no topo da coluna, desce, tornando-se cada vez mais pobre em álcool e aumentando o ponto de ebulição, até que chega na base, praticamente isento de álcool, porém carregado de substâncias fixas, que leva consigo em forma de vinhoto para fora do processo. (OLIVEIRA, 1978).

A escolha de aço inoxidável para a construção das colunas de destilação deve-se ao fato que este material, não sofrendo corrosão, não causa problemas de manutenção. Entretanto, as bebidas destiladas em aparelhos construídos exclusivamente em aço inoxidável, apresentam características sensoriais desagradáveis, principalmente devido aos altos teores de dimetil sulfeto liberado no processo e que permanece no produto final (FARIA *et al.*, 1993)

Para evitar o excesso de dimetil sulfeto nas cachaças, utiliza-se o cobre em algumas partes do destilador, geralmente, nos equipamentos de condensação e resfriamento do flegma (NOVAES, 2000)

RECHE (2006) analisou 82 amostras de cachaça, sendo 55 amostras de cachaça destiladas em alambique de cobre e 27 amostras destiladas em coluna de inox, o objetivo era de agrupar as cachaças por semelhanças químicas. Este autor encontrou cinco compostos com poder discriminante. Estes discriminantes foram: benzaldeído, formaldeído, propinaldeído, 5-HMF, carbamato de etila e ácido acético. Sendo os teores médios de benzaldeído e o carbamato de etila os principais compostos que caracterizavam as cachaças destiladas em coluna e teores médios de ácido acético como o principal composto que caracterizavam as cachaças destiladas em alambique.

Segundo NASCIMENTO (2007), as cachaças de coluna possuem maiores teores médios de carbamato de etila, benzaldeído, decanoato de etila e dodecanoato de etila do que as cachaças destiladas em alambique de cobre. Como

o benzaldeído, o decanoato de etila e o dodecanoato de etila possuem altos pontos ebulição, suas maiores concentrações em cachaças destiladas em coluna podem ser conseqüência da não separação do destilado nas frações cabeça, coração e cauda como na destilação em alambique; sugerindo que estas substâncias podem ser transportadas por arraste de vapor na destilação em coluna.

Os menores teores de carbamato de etila encontrado nas cachaças destiladas em alambiques de cobre podem ser explicados devido ao fato deste equipamento ter altas taxas de refluxo e de baixas temperaturas de destilação, geralmente menores que 80°C (BRUNO, 2006).

Entretanto, LELIS (2006), encontrou resultados médios menores de carbamato de etila em cachaças destiladas em coluna do que em cachaças destiladas em alambique de cobre.

1.4. COMPOSTOS VOLÁTEIS

O sabor das bebidas alcoólicas é devido a inúmeros compostos orgânicos voláteis e não voláteis, que conferem às bebidas seu sabor típico. Estes compostos podem ser divididos em vários grupos de acordo com sua natureza química: álcoois superiores, ésteres, aldeídos e ácidos orgânicos. (LEHTONEN & JOUNELA-ERIKSSON, 1983; BERRY, 1995). SUOMALAINEN & LEHTONEN (1979) apontaram como fatores que mais influenciam no sabor de bebidas alcoólica, as leveduras e as condições de fermentação e destilação.

1.4.1. Etanol

Entre os metabólitos excretados pelas leveduras, o etanol é produzido em maior quantidade. Possui um leve sabor doce e abranda o sabor ácido (AMERINE, 1972). De acordo com WILLIAMS *et al.* (1972), o etanol dá corpo às bebidas destiladas, vinhos e cidras, reduz a acidez aparente, aumenta a doçura, tem um efeito global de suavizar outros sabores característicos e pode ser percebido em concentrações abaixo de 1%.

1.4.2 Alcoóis superiores

Os álcoois superiores (denominados também de óleo fúsel e álcool fúsel) são subprodutos de síntese de aminoácidos e proteínas nas leveduras; opostamente aos ésteres, a síntese de álcoois superiores é estimulada por oxigênio, e esta está

relacionada linearmente ao crescimento da levedura. A síntese de álcoois superiores constitui uma das rotas pela qual as células das leveduras modulam seu balanço redox; assim, há uma relação linear entre a síntese de álcoois superiores e glicerol (QUAIN, 1988). Os álcoois superiores são também formados, como produtos secundários do metabolismo de carboidratos. Os aldeídos são intermediários na produção de álcoois superiores, e condições que favorecem a produção de álcoois superiores também favorecem a formação de pequenas quantidades de aldeídos (BERRY, 1995). De acordo com CROWEL *et al.* (1961), 75% dos álcoois superiores produzidos na fermentação por leveduras provém do metabolismo de carboidratos e, apenas 25% de aminoácidos exógenos.

Dentre os álcoois superiores produzidos pelas leveduras, destacam-se: os álcoois alifáticos, n-propanol, isobutanol (2-metil-1-propanol), álcool amílico ativo (2-metil-1-butanol), álcool isoamílico (3-metil-1-butanol) e os álcoois aromáticos hexanol e 2-feniletanol. Os álcoois fúsel apresentam um aroma característico e exercem uma grande influência no sabor das bebidas destiladas. O termo fúsel refere-se ao gosto e aroma de queimado destes álcoois (NYKANEN, 1986; NYKANEN & NYKANEN, 1991).

SUOMALAINEN & LEHTONEN (1979), verificaram que as quantidades de n-propanol, isobutanol e álcool isoamílico produzidos durante a fermentação do mosto variam consideravelmente, com a cepa da levedura. Foram estudados 11 tipos de leveduras vínicas e uma de cerveja, todas pertencentes ao gênero *Saccharomyces*. Os experimentos foram conduzidos no laboratório e confirmados em escala piloto.

A quantidade formada é influenciada pela composição do meio (concentração de açúcar, pH, concentração e tipo de fonte de nitrogênio), pela temperatura, pelo grau de aeração durante a fermentação e a linhagem da levedura. A formação de álcoois superiores é maior quando a fermentação for mais demorada, resultante da atividade de fermento mais fraco. Opostamente aos ésteres, a síntese de álcoois superiores é estimulada por oxigênio e está relacionada linearmente ao crescimento da levedura (YOKOYA, 1995).

A destilação é outra operação na produção de destilados, na qual pode-se controlar a concentração de álcoois superiores, observando seus diferentes pontos de ebulição (LISLE et al., 1978).

1.4.3 Ésteres

Os ésteres derivados de ácidos carboxílicos onde o grupo $-OH$ é substituído por $-OR$ são geralmente substâncias de odores agradáveis e possuem baixos limiares de percepção, que constituem importante fração de compostos orgânicos responsáveis pelo sabor e aroma de diversas frutas e flores. Os ésteres mais comuns entre os encontrados na natureza são: formato de etila (sabor artificial de rum), acetato de n-pentila (aroma de banana), acetato de octila (laranja), butirato de etila (abacaxi) e butirato de pentila (abricó). Os sabores artificiais de morango, cereja, maçã, dentre outros, são obtidos em grande parte pela a mistura de ésteres. Os sabores naturais, entretanto, podem ser muito mais complexo; por exemplo, nada menos que 53 ésteres foram identificados entre os constituintes voláteis de uma determinada espécie de pêra (HART & SCHUETZ, 1983).

Os ésteres são produzidos principalmente por atividade metabólica de microrganismos e secundariamente por esterificação química, possuem odores agradáveis, os quais podem ser detectados em concentrações muito baixas, comprometendo o aroma das bebidas, somente quando presentes em elevadas concentrações. Os ésteres formam o maior grupo de compostos do sabor em bebidas destiladas (BERRY, 1995; NYKANEN & NYKANEN, 1991).

O processo de biossíntese de ésteres ocorre paralelamente ao metabolismo de ácidos graxos, onde a primeira reação é a formação de acilCoA pela ativação por ácido graxo ou cetoácido, seguida pela separação do grupo acil, que pode ocorrer por alcoólise, formando um éster ou por hidrólise, formando um ácido livre (NYKANEN & SUOMALAINEN, 1983).

Devido a maior concentração de álcool etílico tanto nos meios de fermentação quanto na bebida destilada, os ésteres formados em maior quantidade são os ésteres etílicos, como o acetato de etila, por exemplo, e em menores concentrações, os ésteres de álcoois superiores, como o acetato de isoamila (SUOMALAINEN, 1981).

A formação de acetato de etila, que corresponde a cerca de 80% do conteúdo total de ésteres da cachaça, é geralmente aumentada quando ocorre o resfriamento do mosto na etapa final da fermentação. Essas condições, porém, são mais comuns na produção de vinhos e de cerveja (AQUARONE *et al.*, 2001). Considerando o conteúdo total de ésteres, o acetato de etila geralmente excede 50% em brandies, e em conhaques a proporção de acetato de etila pode ser tão alta como 90 a 95% (NYKANEN & NYKANEN, 1991).

Os ésteres etílicos de ácidos graxos e os acetatos são considerados importantes contribuintes do aroma do vinho. A eles é creditada a sensação de odores frutados semelhante àqueles freqüentemente utilizados como descritores de bebidas. No entanto, sabe-se que o acetato de etila não contribui com o odor em concentrações abaixo de 75 mg L^{-1} e quando presente em teores acima de 200 mg L^{-1} um efeito desagradável no aroma é observado (ETIÉVANT, 1991).

GUTIERREZ (1990) observou teores de ésteres totais em cachaça que se situaram entre 219,2 e 368,8 mg de acetato de etila/ 100 mL de etanol. LLISTO *et al.*, (1979) detectaram em 11 amostras de cachaça, a presença dos ésteres acetato de butila, acetato de etila, butirato de etila e acetato de isoamila. Os teores encontrados variaram de um mínimo de 26,71; 31,75; 35,77 e 41,23 a um máximo de 68,68; 67,20; 84,85 e 86,51 mg/ 100 mL da amostra, respectivamente.

NASCIMENTO (2007) analisou amostras de cachaça, rum e uísque comercial e observou que as amostras de cachaça apresentavam uma concentração de ésteres superior ao rum e ao uísque. Neste estudo o acetato de etila apresentou-se como o principal éster presente nas bebidas destiladas. Entretanto, o lactato de etila esteve presente em concentração relativamente elevada quando comparado com os outros ésteres e sua presença na cachaça é substancialmente maior quando comparada ao rum e ao uísque.

1.4.5 Aldeídos

Os aldeídos são altamente voláteis e possuem odor penetrante, afetando negativamente o aroma das bebidas alcoólicas (SUOMAILANEN & NYKANEN, 1983). Compostos carbonílicos, como o diacetil e o acetaldeído desempenham um papel importante no desenvolvimento de sabores (BERRY, 1995).

O principal aldeído associado à fermentação alcoólica propriamente dita é o acetaldeído. Em fermentações normais, este composto aparece no mosto durante as primeiras horas, tendendo a diminuir e até desaparecer no estágio final da fermentação. Vários aldeídos podem ser formados a partir de aminoácidos presentes no caldo de cana. A degradação parcial de aminoácidos leva à formação de álcoois superiores que, na presença de oxigênio, podem ser convertidos em aldeídos (ENGAN, 1970).

O acetaldeído representa mais de 90% do conteúdo dos aldeídos presentes nas bebidas. Entretanto, como seu limite de detecção sensorial é relativamente alto, pequenas variações no seu conteúdo dificilmente afetarão o odor das bebidas (NYKANEN & SUOMALAINEN, 1983). Em cachaça, GUTIERREZ (1990) observou teores de aldeídos totais entre 91 e 188 mg de aldeído acético/ 100 mL de etanol.

O furfural e o hidroximetilfurfural não são formados durante a fermentação, mas podem aparecer no caldo de cana, quando a colheita da cana é precedida da queima da folhagem, o que acarreta a desidratação parcial de uma pequena fração de açúcares presentes (NOVAES *et al.*, 1974).

1.4.6 Ácidos Orgânicos

O ácido acético é o predominante em bebidas fermento-destiladas – cerca de 70%. As bactérias acéticas também podem produzir o ácido acético através da oxidação do etanol (NYKANEN & NYKANEN, 1991).

BERRY (1995) relata que ácidos graxos de cadeia média podem ser excretados no meio e conferir um odor desagradável às bebidas; ácidos graxos de alto peso molecular tendem a ser incorporados na estrutura das células, normalmente na forma de fosfolipídeos. O autor identificou 31 ácidos em uísques, sendo os mais importantes os ácidos propiônico, isobutírico, butírico, isovalérico, hexanóico, octanóico, decanóico e o dodecanóico. NASCIMENTO *et al.* (1998), identificaram e quantificaram, em 20 amostras de cachaças, o ácido acético, propiônico, isobutírico, butírico, valérico, capróico, mirístico e palmítico, sendo que do total quantificado, 95,41% correspondiam ao ácido acético.

1.5 CONTAMINANTES

As principais substâncias que oferecem perigo para a saúde humana e que comprometem a qualidade sensorial das cachaças podem ter origem orgânica (acroleína, álcool butílico, álcool sec-butílico carbamato de etila, diacetil e metanol) ou inorgânica (arsênio, chumbo e cobre). A legislação brasileira estabelece limites para os valores máximos permitidos para cada um desses contaminantes como apresenta a **TAB. 1.1**.

TABELA 1.1-Limites de contaminates na cachaça

Contaminantes	Limite máximo
Orgânicos	
Acroleína	5 mg/100 mL de álcool anidro
Álcool Butílico	3 mg /100 mL de álcool anidro
Álcool Sec-Butílico	10 mg/100 mL de álcool anidro
Carbamato de Etila	150 µg/ L de cachaça
Metanol	50mg /100 mL de álcool anidro
Inorgânicos	
Arsênio	100 µg L de cachaça
Chumbo	200 µg/L de cachaça
Cobre	5mg/L de cachaça

Fonte: BRASIL (2003), BRASIL(2005)

Entre os contaminantes, o carbamato de etila (CE) vem sendo largamente estudado. Este é um composto carcinogênico encontrado naturalmente em baixas concentrações em diferentes bebidas alcoólicas e em alguns alimentos fermentados. Existem várias vias possíveis para a formação de carbamato de etila nas bebidas destiladas, geralmente envolvendo a reação entre o etanol e precursores nitrogenados, tais como uréia, fosfato de carbamila e cianeto. Este último, juntamente com íons de cobre, são considerados os principais precursores de

carbamato de etila durante e após o processo de destilação (FIG-1.5). Quando o cobre é empregado na parte ascendente do fluxo, como ocorre nos alambiques, pode ocorrer uma complexação por íons cianeto, com a formação de compostos tais como: CuCN e Cu(CN)₂, conduzindo a formação de carbamato de etila (ARESTA *et al.*, 2001)

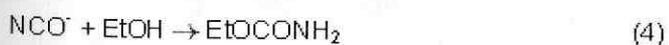
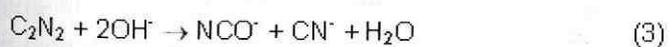
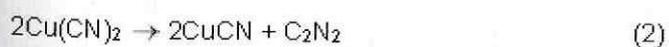
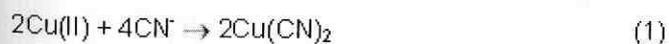


Figura 1.5- Reações entre Cobre, Cianeto e Outros Compostos Originando Carbamato de Etila (ARESTA *et al.*, 2001)

O carbamato de etila, que ocorre naturalmente em baixas concentrações na fermentação de bebidas alcoólicas, apesar de não ser volátil, pode contaminar a bebida através da destilação de seus precursores (uréia e álcool etílico) (ANDRADE-SOBRINHO *et al.*, 2002).

Por isso faz-se necessário o conhecimento dos níveis de sua ocorrência pois, além dos aspectos ligados à saúde pública, sua presença em concentrações elevadas constitui também uma barreira para exportação da cachaça (ANDRADE-SOBRINHO *et al.*, 2002).

1.6 ANÁLISES QUÍMICAS

1.6.1 Espectrometria de Massa

O espectrômetro de massas determina a massa da molécula medindo sua razão massa/carga (m/z). Os quatro componentes básicos de um espectrômetro são injetor de amostra, fonte de ionização, analisador de massas e detector de íons.

Num espectrômetro de massas moléculas num estado gasoso, sob baixa pressão, são bombardeadas com um feixe de elétrons de alta energia. A energia do feixe de elétrons é geralmente de 70eV (elétron-volts) e uma das conseqüências é

que este bombardeamento pode promover a saída de um elétron da molécula e produzindo um íon positivamente carregado, chamado de *íon molecular* (FIG-1.6).

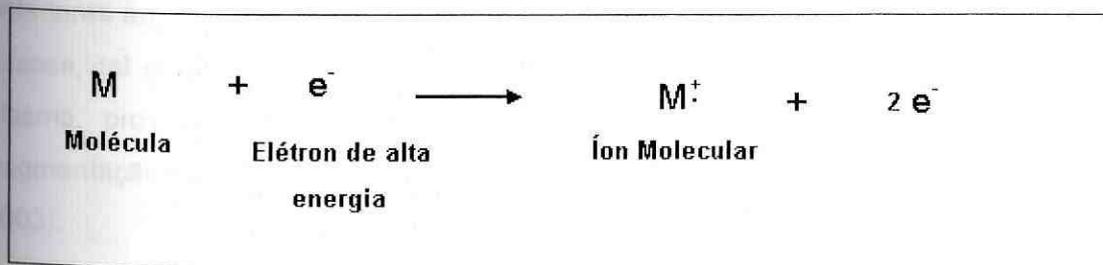


Figura 1.6- Ionização de uma Molécula produzindo um Íon Positivamente Carregado (Fonte: SOLOMONS, 1982)

O íon molecular não é apenas um cátion, mas, por conter um número ímpar de elétrons, ele é também um radical livre, sendo, portanto um *cátion-radical*. O feixe de elétrons com uma energia de 70eV (~1600 Kcal/mol) não apenas desloca elétrons de moléculas, produzindo íons moleculares, como também doa, muitas vezes, energia suficiente para romper as ligações covalentes (50-60 Kcal/mol), provocando a desintegração dos íons moleculares (SOLOMONS, 1982).

O espectrômetro de massa, então, separa os fragmentos moleculares baseado na relação carga/massa. Desde que a carga de todos os íons seja +1, os fragmentos são separados tendo como base sua massa. Os íons são eletrostaticamente direcionados a um analisador de massa ("balança molecular"), onde são separados de acordo com a relação m/z e finalmente são detectados (SOLOMONS, 1982; SIUZDAK, 2005).

Uma das técnicas de formação do íon molecular, em maior expansão, é por "electrospray" que passou por duas fases distintas de investigação e desenvolvimento. Um renovado interesse científico por "electrospray" começou em 1952 (fase de investigação), com foco na produção de carga. Em 1968, foi sugerido como um possível modo de ionização para a espectrometria de massas por DOLE. A partir de 1970, se deu a fase de desenvolvimento, com destaque para o trabalho desenvolvido em 1984 por YAMASHITA E FENN demonstrando a aplicabilidade da fonte de electrospray como processo de ionização branda. A Ionização de "Electrospray" (ESI) surgiu como uma alternativa para a geração de íons a partir de

espécies pouco voláteis presentes em fase líquida e tornando-se uma das técnicas de ionização mais importantes para a junção on-line de métodos de separação em fase líquida acoplada à espectrometria de massa (EM). Métodos de ionização anteriores ao Electrospray, no qual íons são transferidos da fase líquida para a fase gasosa, tal como o bombardeamento de átomos rápido (FAB) ou dessorção por plasma, provocam não só a dessolvatação dos íons, mas, muitas vezes sua fragmentação e formação de íons a partir de moléculas neutras (MORAIS & LAGO, 2003).

A ionização por electrospray envolve a formação de um spray eletrolítico de uma solução, que gera pequenas gotas carregadas e destas são liberados os íons. A implementação de uma fonte de electrospray é bastante simples se comparado com outras fontes de espectrometria de massas (MORAIS & LAGO, 2003).

É necessária uma fonte de alta tensão (1,0 a 7,0 KV) que esteja em contato com a solução contendo eletrólitos. Esta solução é bombeada através de um microcapilar (d.i. 50 a 100 μm) com uma velocidade de fluxo da ordem de 1 a 20 $\mu\text{L}/\text{min}$ ou menores. No caso de fluxos menores que 1 $\mu\text{L}/\text{min}$, denomina-se "nanoelectrospray". Quando um potencial positivo é aplicado na solução, os íons positivos tendem a se afastar para uma região menos positiva, isto é, em direção ao contra-eletródo. Assim, a gota sendo formada na ponta do capilar estará enriquecida em íons positivos. Conforme a densidade de carga aumenta na gota, o campo elétrico formado entre o capilar e o contra eletródo aumenta provocando uma deformação na gota que está presa na ponta do capilar. A gota ganha forma de um cone, o qual é denominado cone de Taylor. Esta gota na forma de cone permanece "presa" ao capilar até o momento em que a densidade de carga na superfície da gota e o aumento da repulsão entre os íons vençam a tensão superficial, ocorrendo a liberação de pequenas gotas com alta densidade de carga. A frequência deste processo depende da magnitude do campo elétrico, da tensão superficial do solvente e da condutividade da solução (ARAÚJO, 2005).

Existem dois diferentes mecanismos que foram propostos para a formação dos íons na fase gasosa (**FIG- 1.7**). DOLE (1968), propôs o modelo de *resíduo de carga* (CRM) para a desadsorção de íons a partir de gotas carregadas. É considerado, neste modelo, que à medida que o solvente se evapora a densidade de

carga à superfície aumentará até que as forças repulsivas de Coulomb entre as cargas superficiais excederão a tensão superficial levando à divisão da gota inicial. Se este processo de divisão continuar e se a solução original for suficientemente diluída será alcançado um estado da formação de gotas extremamente pequenas, $R \gg 1$ nm, e que contenham somente um íon.

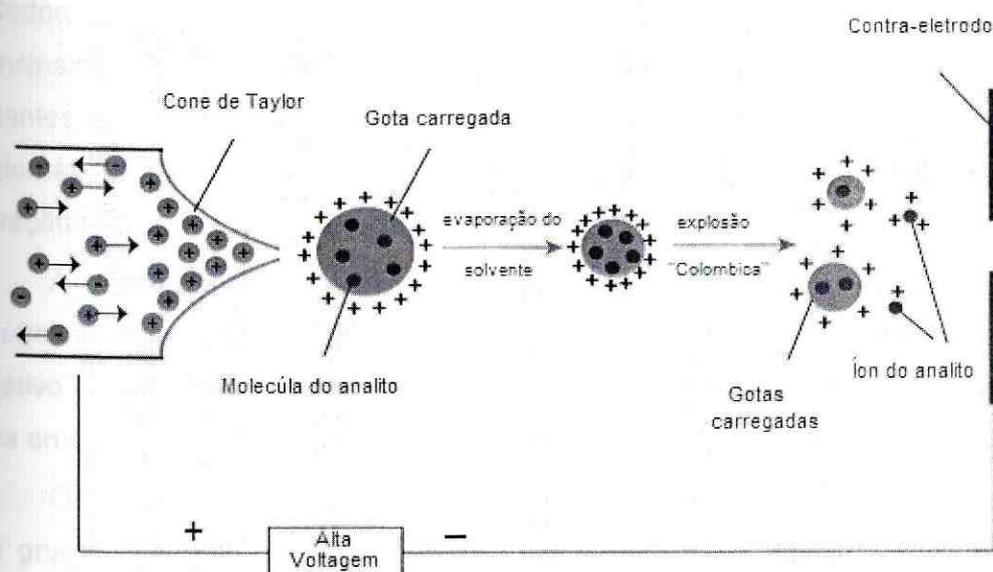


Figura 1. 7- Formação de Íons por Electrospray. (Fonte: Adaptado COLE, 1997)

Segundo IRIBARNE E THOMSON (1976), a *evaporação iônica* (IEM) é outro mecanismo que pode explicar a formação de ionização por electrospray. Neste mecanismo a evaporação do solvente conduz a uma instabilidade das gotas com razões elevadas de densidade de carga superficial/ raio da gota. A energia electrostática associada com a gota carregada torna-se então suficientemente grande para desadsorver íons do analito para a fase gasosa. Nestas condições, a gota não sofre ruptura, mas pode emitir íons para a fase gasosa. Assim, a gota não precisaria atingir tamanhos tão pequenos como 1 nm e podem existir outros solutos.

1.6.2 Utilização de Impressão Digital em Bebidas Alcoólicas

Com a facilidade da técnica de Espectrometria de massas com ionização por electrospray em fornecer espectros de massas de substâncias de constituição complexa, em pouco tempo (alguns minutos), em ampla faixa de relação m/z , onde

cada espectro obtido possui características próprias, tem proporcionado que esta técnica seja utilizada, para a obtenção de espectros de impressão digital (ARAÚJO, 2005).

Na técnica de espectrometria de massa por electrospray não é obtida uma informação direta do resultado, mas sim uma grande quantidade de sinais (curvas, picos) que podem ser tratados para uma possível quantificação das várias espécies presentes e obtenção de espectros de impressão digital. Os dados devem ser tratados utilizando de ferramentas estatísticas, como a Análise de Componentes Principais (PCA), Análise Hierárquica de Clusters (HCA), Projeção em Estruturas Latentes (PLS), entre outras, fornecendo visualização gráfica, confirmação matemática e identificação dos parâmetros (variáveis) mais relevantes em cada situação (ARAÚJO, 2005).

A utilização de sistemas de espectrometria de massas com ionização por electrospray foi realizada para a obtenção da impressão digital de uísque com o objetivo de comprovar sua origem e autenticidade, podendo rapidamente verificar se uma amostra de uísque é falsa ou não (MOLLER *et al.*, 2005).

Os espectros de impressão digital permitiram classificar amostras de cervejas em grupos e subgrupos distintos de acordo com suas similaridades. Analisando substâncias presentes no produto acabado ou em pontos específicos durante a sua fabricação de uma maneira rápida e eficiente, esta análise demonstra poder ser utilizada tanto na pesquisa como no controle de qualidade de uma indústria cervejeira (ARAÚJO, 2005).

SOUZA *et al.* (2007), com a utilização desta técnica conseguiram diferenciar cachaças envelhecidas em quatro tipos de madeiras: amburana, balsamo, jequitibá e carvalho.

1.7 ANÁLISE SENSORIAL

De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) (1993) e Institute of Food Technologists (IFT) (1981), a análise sensorial é uma disciplina científica usada para evocar, medir, analisar e interpretar reações das características dos alimentos e materiais como são percebidas pelos sentidos da visão, olfato, gosto, tato e audição. Utilizando-se das habilidades do ser humano, esta ferramenta

analítica permite obter respostas para questões sobre sabor, aroma, aparência e textura difíceis de serem obtidas por meios instrumentais (STONE & SIDEL, 1993).

Na indústria de alimentos, a análise sensorial contribui direta ou indiretamente para inúmeras atividades, como desenvolvimento de novos produtos, controle da qualidade, reformulação e redução de custos de produtos, relações entre condições de processo, ingredientes, aspectos analíticos e sensoriais (FERREIRA, 2000).

Os testes sensoriais podem se divididos em afetivos, discriminativos (ou de diferença) e descritivos. Os testes afetivos têm como meta medir: a preferência ou a aceitação de um produto; os testes discriminativos baseiam-se na percepção de diferenças entre dois ou mais produtos, enquanto os testes descritivos buscam elencar atributos sensoriais que descrevem o produto e bem como quantificá-los (STONE & SIDEL, 1993).

Por ser uma bebida destilada com um grande número de diferentes compostos em sua constituição, não se pode ter como único critério de qualidade e diferenciação da cachaça a sua composição química. Desta forma, diversos grupos têm efetuado a análise sensorial da cachaça utilizando testes variados e correlacionando-os com dados físico-químicos.

Segundo BERRY (1995), o sabor das bebidas alcoólicas é formado por inúmeros compostos orgânicos voláteis, que conferem à bebida seu odor e gosto típico. Esses compostos podem ser divididos em vários grupos de acordo com sua natureza química. Álcoois superiores, ácidos graxos e ésteres formam quantitativa e qualitativamente os maiores grupos presentes nas bebidas alcoólicas, sendo os álcoois superiores os mais abundantes.

Além dos compostos presentes naturalmente na cachaça, a legislação brasileira permite a adição de até 6 gramas de açúcar por litro, como procedimento normal de padronização dessa bebida, entretanto se explicitado no rótulo o termo "adoçada" a adição de açúcar pode atingir até 30gL^{-1} (BRASIL, 2005)

A adição de açúcar em bebidas destiladas tem sido utilizada como uma forma de padronizar, atenuando o sabor do etanol e eventuais defeitos sensoriais (CARDELLO & FARIA, 2000). Investigando cachaças com 40% de grau alcoólico (v/v), através de testes sensoriais afetivos de aceitação, relatou-se que a prática de

adicionar açúcar na cachaça apresenta influência positiva na aceitação do produto pelo consumidor (SANTOS & FARIA, 2011). Estes mesmos autores destacam que a adição de açúcar em quantidades superiores a 20 g L⁻¹ não refletiram em uma preferência maior, sugerindo que essa concentração seja o valor ótimo para adição de açúcar em cachaças com 40% de teor de grau alcoólico.

FURTADO (1995) determinou as propriedades físico-químicas e estudou as características sensoriais do aroma e sabor de aguardentes recém destiladas e marcas comerciais não envelhecidas utilizando análise descritiva quantitativa. Foram selecionados oito termos descritores, sendo cinco de aroma (erva, melaço de cana, melaço de cana fermentado, compostos orgânicos e perfume) e três para sabor (álcool, madeira e encorpado). Estes termos foram satisfatórios para se diferenciar as amostras e o atributo "aroma de compostos orgânicos" foi o que melhor explicou a variação entre as amostras, de acordo com a análise de componentes principais.

Este teste descritivo (ADQ) também foi utilizado por CARDELLO & FARIA (2000) para determinar as alterações sofridas pela cachaça durante o envelhecimento em tonéis de carvalho. Foram selecionados treze termos descritores, sendo um para aparência (coloração amarela), três para aroma (alcoólico, de madeira e de baunilha) e nove para sabor (alcoólico inicial, alcoólico residual, de madeira inicial, de madeira residual, doçura inicial, doçura residual, agressividade, adstringência e ácido)

Em 2000, CARDELLO & FARIA estudaram a aceitação de 11 amostras de aguardentes de cana envelhecidas e não envelhecidas. As amostras foram avaliadas por 100 provadores do Estado de São Paulo, consumidores do produto. As aguardentes estudadas compreenderam seis amostras de diferentes marcas comerciais, (sendo três não envelhecidas e três envelhecidas) e ainda cinco amostras correspondentes à zero, 12, 24, 36 e 48 meses de envelhecimento em tonéis de carvalho de 200 litros. Os dados foram avaliados por métodos estatísticos distintos: o Mapa de Preferência Interno (MDPREF) e a análise de variância (ANOVA) por comparação de médias pelo teste de Tukey e análise de correlação. O MDPREF foi gerado pela primeira e segunda dimensão de preferência, que explicaram 89,83% da variação entre as amostras e aceitação. A ANOVA confirmou os resultados do MDPREF, indicando maior preferência pelas amostras de

aguardentes envelhecidas. Os resultados sugeriram que aguardentes envelhecidas por mais de 24 meses em tonéis de carvalho foram preferidas pelos consumidores, em detrimento das comerciais não envelhecidas e mesmo das comerciais envelhecidas, que podem ser adicionadas de aguardente não envelhecida e também ter correção da cor. O conteúdo de polifenóis totais e a intensidade de cor também foram determinados, e ambos apresentaram correlação linear positiva significativa ($p < 0,05$) com o aumento do tempo de envelhecimento das amostras.

A análise descritiva quantitativa, metodologia bastante aplicada para caracterização dos atributos sensoriais de alimentos e bebidas, foi utilizada por MARCELLINI (2000) para estudar o perfil sensorial de cinco cachaças não envelhecidas, e duas produzidas em laboratório, sendo uma em alambique de cobre, e outra em alambique de aço inoxidável. Foram selecionados nove termos descritores, sendo um para aparência (coloração amarela), três para aroma (alcoólico, adocicado e sulfurado) e cinco para sabor (adocicado, sulfurado, ardência, amargo e alcoólico). O perfil sensorial da amostra produzida em alambique de aço inoxidável apresentou maiores valores nos atributos aroma sulfurado e sabor sulfurado, o que diferenciou bem das demais amostras.

JERONIMO (2004) investigou a influência da concentração alcoólica e da acidez no perfil sensorial de cachaças, visando a detecção de igualdades ou diferenças na avaliação dos atributos aroma e sabor. À partir de uma cachaça que atendia os padrões de qualidade (BRASIL, 1997) foram preparadas quatro amostras, as quais diferiram quanto a concentração alcoólica e acidez. Utilizando a metodologia de ADQ sete atributos foram elencados, dois para aroma (aroma alcoólico, aroma agressivo), três para sabor (sabor alcoólico, sabor agressivo, sabor adocicado) e dois para gosto (gosto ácido e gosto amargo). Neste trabalho foi verificado que a concentração alcoólica e a acidez não influíram na avaliação sensorial dos atributos típicos da cachaça.

JANZANTTI (2004) efetuou testes de aceitação em 13 amostras de cachaças comerciais não envelhecidas, e dentre estas, selecionou quatro (a mais aceita, e a menos aceita e duas de aceitação intermediária) que foram submetidas à análise descritiva quantitativa. No teste de aceitação foram avaliados atributos de sabor, aroma e impressão global. Na análise descritiva foram desenvolvidos e avaliados

dez atributos, sendo um de aparência (corpo), três de aroma (adocicado, alcoólico e irritante) e cinco de sabor (ardência inicial, encorpado, alcoólico, adocicado, ardência final e amargo). A autora conclui que a boa aceitação do aroma pode estar relacionada com a presença de lactonas e alguns terpenos, e rejeição do sabor, à presença de fenóis, principalmente 4-vinilfenol e 4-vinilguiacol.

1.7.1 Teste de Aceitação

Os testes afetivos têm como objetivo avaliar a resposta dos indivíduos com relação á preferência e ou aceitação de um produto ou de suas características específicas através de consumidores habituais ou potenciais do mesmo. A utilização de testes afetivos está aumentando entre as empresas de maior expressão que têm conhecimento de estudos de consumidor, assegurando assim que sejam atendidas as expectativas do consumidor final (MEILGAARD *et al.*, 1999).

Os testes afetivos são utilizados quando se necessita conhecer o "status afetivo" dos consumidores com relação ao(s) produto(s), e para isso são utilizadas escalas hedônicas. Dos valores relativos de aceitabilidade pode-se inferir a preferência, ou seja, se as amostras mais aceitas são as mais preferidas e vice-versa (PAL *et al.*, 1985).

A aceitabilidade de um produto foi definida pela ABNT (1993), como o grau de aceitação de um produto por um indivíduo ou população em termos de propriedades sensoriais. A aceitação é o ato de um determinado indivíduo ou população ser favorável ao consumo de um produto e preferência é a expressão do estado emocional ou reação afetiva de um indivíduo que o leva à escolha de um produto sobre outro (s) (ABNT 1993).

A análise da aceitação é de extrema importância, por refletir o grau em que consumidores gostam ou desgostam de determinado produto. Podem ser realizadas em laboratório de Análise Sensorial, por uma equipe formada por um número de 25 a 50 pessoas, que sejam representativas do público que se deseja atingir (STONE & SIDEL, 1993).

Os dados obtidos em um teste de aceitação utilizando a escala hedônica são submetidos a uma análise de variância (ANOVA) seguida de outros procedimentos estatísticos, dentre os quais o teste de Tukey, que permite verificar se há diferença

significativa entre duas médias, a um dado nível de confiança, normalmente 95% (STONE & SIDEL, 1993).

1.7.2 Análise Descritiva Quantitativa

Dentre os métodos descritivos, destaca-se, a ADQ que é uma metodologia de avaliação sensorial que permite descrever e quantificar os atributos do produto de acordo com interpretação de uma equipe de provadores selecionados e treinados (ABNT, 1998).

Segundo STONE & SIDEL (1993) esta metodologia proporciona uma completa descrição de todas as propriedades sensoriais do produto, representando um dos métodos mais completos e sofisticados para a caracterização sensorial dos atributos mais importantes. Esta análise possui inúmeras aplicações, como o acompanhamento de produtos concorrentes, testes de armazenamento de produtos para verificar possíveis alterações no decorrer do período, desenvolvimento de novos produtos e controle de qualidade de produtos industrializados e também possibilita estabelecer relações entre os testes sensoriais e instrumentais.

Os resultados da Análise Descritiva Quantitativa fornecem uma descrição completa das similaridades e diferenças das propriedades sensoriais de um conjunto de produtos, bem como permite identificar quais são os atributos importantes que possam estar relacionados com a aceitação do produto pelos consumidores (MUÑOZ *et al.*, 1992).

A ADQ pode, ainda, ser adaptada a objetivos específicos, tal como a análise descritiva quantitativa modificada aplicada para estudos de características específicas associadas à alteração do produto durante a estocagem. Nestas aplicações poucos atributos são considerados, sem a completa descrição de todas as características de aparência, aroma, sabor e textura. O analista sensorial precisa utilizar seus conhecimentos e sua criatividade para construir a melhor técnica para o desenvolvimento da equipe, preferencialmente com base em trabalho prévio com uma equipe totalmente treinada para ADQ da classe de produto de interesse (FARIA, 2008).

As vantagens da ADQ sobre os outros métodos de avaliação são a confiança no julgamento de uma equipe composta de 10-12 julgadores treinados, ao invés de

grupos "experts", desenvolvimento de uma linguagem descritiva objetiva; desenvolvimento consensual da terminologia descritiva a ser utilizada, o que implica em maior concordância de julgamentos entre provadores; os produtos são analisados com repetições e os resultados são analisados estatisticamente (STONE *et al.* 1974; ABNT, 1998).

A aplicação da ADQ está relacionada com as seguintes etapas:

- a) pré-seleção de provadores. Baseada na disponibilidade e interesse dos provadores em participar do estudo, capacidade discriminatória e reprodutibilidade de resultados usando testes discriminativos;
- b) desenvolvimento da terminologia descritiva. Realizado pelo método de rede (Repertory Grid Method) descrito por KELLY (1959, citado por MOSKOWITZ, 1983), onde cada provador avalia as amostras aos pares e descrevem as sensações sensoriais percebidas em relação à aparência, aroma sabor e textura, elaborando consensualmente uma lista final dos termos descritivos a ser utilizada na avaliação das amostras;
- c) treinamento e seleção final dos provadores. Durante o treinamento os provadores são treinados para avaliar os atributos definidos aprendendo as definições e uso das referências propostas para cada atributo determinado, utilizando uma escala linear não estruturada ancorada em seus extremos em "fraco-forte", "nenhum-muito" ou "pouco-muito" para quantificar a intensidade do atributo. Para selecionar a equipe final, os provadores avaliam as amostras em duas ou mais repetições, e os dados são submetidos à análise de variância (ANOVA) com duas fontes de variação, amostra e provador, sendo selecionado para compor a equipe final aquele que tiver capacidade discriminatória ($p_{F_{amostra}} < 0,50$) e reprodutibilidade ($p_{F_{repetição}} \geq 0,05$) (DAMÁSIO E COSTELL, 1991);

d) teste sensorial. Avaliação em repetições das amostras utilizando a ficha de avaliação descritiva que foi desenvolvida consensualmente com a equipe, contendo todos os atributos que caracterizam as amostras;

e) análises estatísticas dos resultados. Analisados por ANOVA, gráficos do tipo "aranha" e técnicas multivariadas como Análise de Componente Principal (PCA) (STONE & SIDEL, 1993).

1.7.3 Mapas de Preferência

Os resultados de testes afetivos (testes com consumidores) vêm, tradicionalmente, sendo avaliados por testes de comparação de médias, comparando-se a aceitação média entre produtos. A utilização de médias para avaliação de aceitação possui certas limitações. Quando existem respostas diferenciadas entre os provadores, com valores hedônicos opostos, um resultado acaba "neutralizando" o outro. Fica implícito que todos os indivíduos demonstram essencialmente o mesmo comportamento e, dessa forma, um único valor de média é representativo para todos os indivíduos (MacFIE, 1990).

Segundo POLIGNANO et al. (1999) a técnica de Mapa de Preferência pode solucionar este problema e também permitir a associação da impressão que os consumidores têm de um produto com suas características sensoriais.

O Mapa de preferência é uma análise multidimensional (MDS). A MDS, na forma mais simples, apresenta os resultados graficando os objetos, no caso de amostras e indivíduos entrevistados, de tal forma que as distâncias entre eles no gráfico, derivadas de um tratamento estatístico sobre os dados originais, aproximam-se o máximo possível às diferenças entre os dados originais de aceitação (MacFIE, 1990).

Os métodos estatísticos multidimensionais como o Mapa de Preferência são uma adaptação da PCA e da Análise de Regressão Polinomial dos dados obtidos através de escala hedônica. A representação gráfica do resultado da MDS é feita em eixos perpendiculares entre si, chamados dimensões. Cada objeto de estudo, ou seja, produto ou consumidor é representado como um ponto no gráfico, possuindo

uma coordenada para cada dimensão. Portanto, a tarefa da MDS é obter um conjunto de coordenadas para cada objeto (SHLICH e McEWAN 1992).

O método de Mapa de preferência pode ser dividido em duas categorias: o Mapa de Preferência Interno (MDPREF), quando se realiza a análise apenas sobre o conjunto de dados de aceitação/preferência gerados a partir de testes afetivos; e o Mapa de Preferência Externo (PREFMAP), onde se incluem também na análise as medidas descritivas geradas por uma equipe de provadores treinados ou resultados de testes instrumentais, relacionando-os com dados de aceitação/preferência dos produtos avaliados (BEHRENS et al., 1999).

O MDPREF pode ser gerado por meio de PCA e por Escala Multidimensional (EM). A PCA é executada em dados de preferência, tendo como observações os produtos e como variáveis os consumidores. Os dados são as notas dadas pelos consumidores para cada amostra e pode conter duas ou três dimensões referentes às observações e às variáveis (XLSTAT, 1995).

O MDPREF identifica a principal variação dentro dos dados de preferência e extrai a primeira dimensão de preferência (primeiro componente principal), que representa o maior conjunto de variação na aceitação das amostras. As demais dimensões (ortogonais entre si) são extraídas até que toda a variação dos dados de aceitação seja explicada.

Os MDPREF podem ser representados de diferentes maneiras gráficas. Entretanto, as representações mais utilizadas são os gráficos de dispersão das amostras avaliadas, que indica as diferenças entre a aceitação das amostras pelos consumidores e os gráficos das correlações entre escores de aceitação de cada consumidor com as dimensões de preferências, onde cada ponto tem como coordenada as correlações entre dados de aceitação de cada consumidor e os componentes principais.

A **(FIG-1.8 a)**, exemplifica uma representação gráfica de dispersão de um MDPREF mostrando a posição das amostras de sucos de abacaxi preparado a partir de polpa "in natura" (SUN), processada por alta pressão (SAP) e diferentes marcas comerciais (C, D, E e F). E a **(FIG-1.8 b)** exemplifica posições dos consumidores no espaço definido pela primeira e segunda dimensões; superpondo os dois gráficos é

o obtido o gráfico de correlação. Na **Figura 11** observa-se maior número de indivíduos nos quadrantes da direita do MDPREF revelando que para tais consumidores as amostras SUN e SAP foram as mais preferidas. Observa-se que as demais amostras avaliadas foram apreciadas por um segmento menor de consumidores (MARCELLINI, 2006).

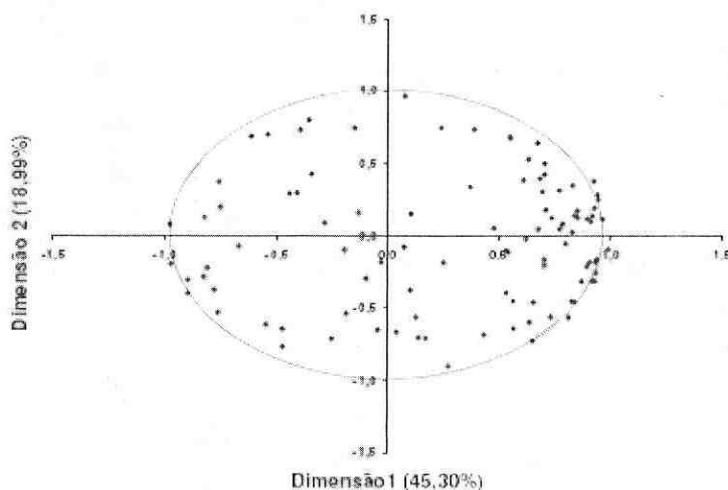
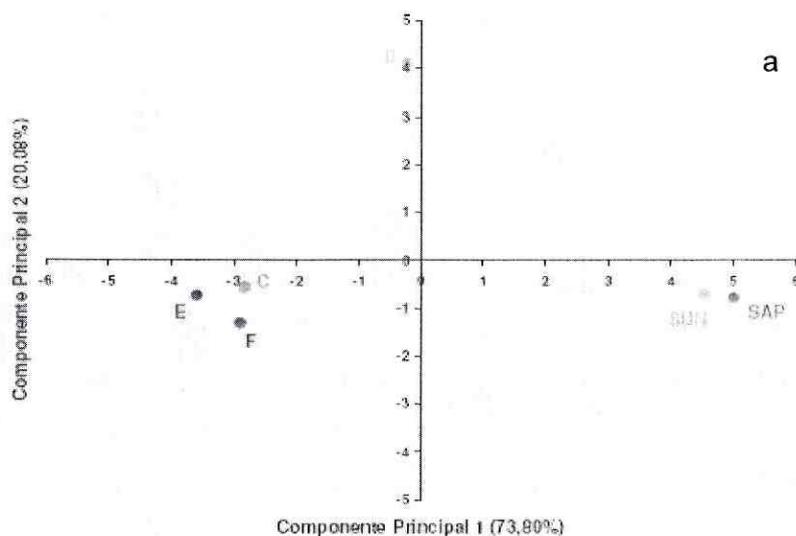


Figura 1.8 (a)- Representação gráfica das dimensões 1 e 2 do Mapa de Preferência Interno mostrando a posição das amostras de sucos de abacaxi preparado a partir de polpa "in natura" (SUN), processada por alta pressão (SAP) e diferentes marcas comerciais (C, D, E e F).(b) Posições dos consumidores no espaço definido pela primeira e segunda dimensões.

O PREFMAP possibilita relacionar a preferência do consumidor com características físico-químicas e/ou sensoriais do produto, Diferentemente do que é feito no Mapa de Preferência Interno, o primeiro passo quando se analisa os dados através do Mapa de Preferência Externo consiste em avaliar os produtos em relação às características sensoriais através, por exemplo, da Análise de Componentes gerando o que pode ser denominado mapa sensorial. Em seguida, cada consumidor (ou grupo de consumidores) é inserido no modelo, sendo correlacionado com as características sensoriais dos produtos, visando representar os consumidores no mapa sensorial. Vários modelos de regressão podem ser utilizados na análise (vetorial, circular, elíptico ou ponto ideal) os quais vão implicar no relacionamento de determinadas características sensoriais ou físico-químicas que contribuem ou prejudicam a performance do produto em relação à preferência ou outra variável dependente investigada. Assim, se determinado produto foi mais aceito por determinado segmento de consumidor pode-se inferir que foi devido à presença de atributos sensoriais ou características físico-químicas específicas (GREENHOOF & MacFIE, 1994).

A (FIG-1.9) exemplifica um PREFMAP, obtido por MARCELLINI (2006), gerado a partir da ADQ e teste de aceitação auxiliando a interpretação dos resultados da preferência, revelando quais descritores dirigiram a referida preferência para cada segmento de consumidores de suco de abacaxi. Através da interpretação da FIG-1.9 observa-se que os atributos, presença de fibras para consistência (cpf) e aparência (afi), bem como consistência (cco) direcionaram a preferência dos participantes, além dos atributos cor característica de suco de abacaxi natural (acs), aroma e sabor de suco de abacaxi natural (acn e scn). Os demais atributos localizados à esquerda da FIG-1.9, foram os responsáveis por tornar as amostras menos aceitas por este segmento.

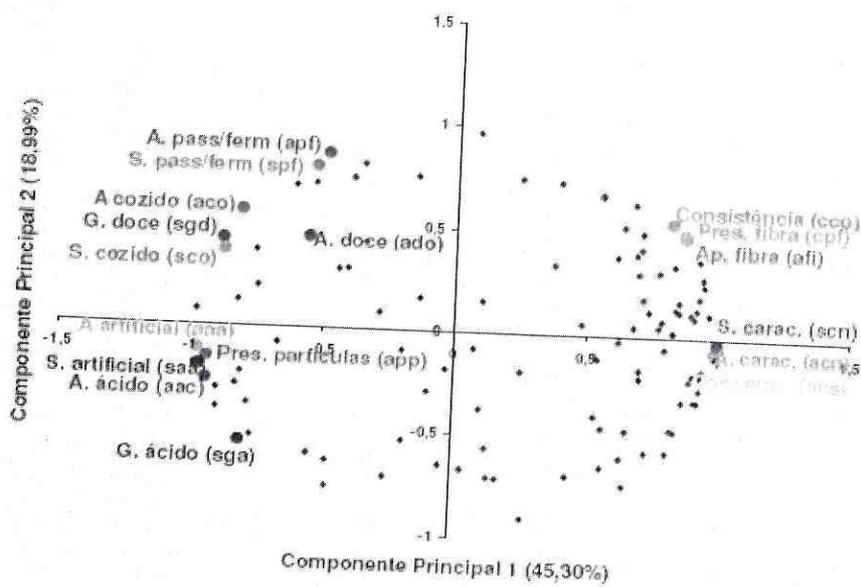


Figura 1.6-Representação Gráfica das Dimensões 1 E 2 do Mapa de Preferência Externo do Suco de Abacaxi – Atributos e Consumidores.

1.8 BIBLIOGRAFIA

1.8 BIBLIOGRAFIA

- ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas). **Análise sensorial dos alimentos e bebidas**. NBR 12806: Terminologia. Rio de Janeiro: ABNT, 1993.
- ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas). **Acidez titulável total, volátil total e fixa** - NBR 13856. São Paulo: ABNT, 1997 a.
- ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas). **Determinação de aldeídos** - NBR 14053. São Paulo: ABNT, 1997 b.
- ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas). **Determinação do teor alcoólico**- NBR 13920. São Paulo: ABNT, 1997 c.
- ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas). **Alimentos e bebidas - análise sensorial - teste de análise descritiva quantitativa (ADQ)**.. NBR 14140. Rio de Janeiro: ABNT, 1998.
- AGRANUAL. Anuário da Agricultura Brasileira. São Paulo Agronegócios. Custo de produção-2003.
- AGRANUAL: Anuário da Agricultura Brasileira. São Paulo: FNP, 2002. p.397.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). **Official methods of Analysis**, 13. ed. Washington: AOAC, 1980. p. 158.
- AMERINE, M. A.; BERG, H. W.; CRUESS, W. V. Technology of wine making. Westport: **AVI Publishing**, 1972. p. 600-644.
- ANDRADE-SOBRINHO, L. G. de; BOSCOLO, M.; LIMA-NETO, B. dos S.; FRANCO, D. W.; Carbamato de etila em bebidas alcoólicas (cachaça, tiquira, uísque e grapa). **Química Nova**, v. 25, n.6, p. 1074-1077, 2002.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). **Official methods of Analysis**, 13. ed. Washington: AOAC, 1980. p. 158.
- AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A. **Biotecnologia Industrial: Biotecnologia na produção de alimentos**, Vol. 4. São Paulo: Editora Edgard Blücher, 2001. p.523.
- ARAÚJO, A. S. **Análise e tipificação de diferentes amostras de Cervejas através de espectrometria de massas por ionização electrospray**. Campinas:

- Instituto de Química da UNICAMP, 2005. 60p.(Dissertação em Química na Área de Química Orgânica).
- ARESTA, M.; BOSCOLO, M.; FRANCO, D. W. Copper (II) catalysis incyanide conversion into Ethyl carbamate in spirits and relevant reactions.**Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 6, p. 2819-2824, 2001.
- ASTM - AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIAL **Guidelines for the selection and training of sensory panel members**. Philadelphia: ASTM, 1981.
- BEHRENS, J. H, SILVA M.A., WAKELING I.W. Avaliação da aceitação de vinhos brancos varietais brasileiros através de testes sensoriais afetivos e técnica multivariada de mapa de preferência interno. **Ciência Tecnologia Alimentos**, v.19, n.2, p.214 – 220, 1999.
- BENTON, H. H. Bebidas Alcoólicas. In: Enciclopédia Barsa. São Paulo: **Enciclopédia Britânica** , v.3, p. 73-5, 1975.
- BERRY, D. R. Alcoholic beverage fermentations. In: LEA, A. G. H.; PIGGOTT, J. R. (Eds.). **Fermented Beverage Production**. London: Blackie Academic & Professional, 1995. p. 32-44.
- BOGUSZ JUNIOR, S., KETZER, D. C. Mertins, GUBERT, R. Chemical composition of the sugar cane spirit "cachaça" produced in the northwest area of Rio Grande do Sul, Brazil. **Ciência Tecnologia Alimentos**. V- 26, n- 4, 2006.
- BOZA, Y. **Influência da condução da destilação sobre a composição e a qualidade sensorial da aguardente de cana**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", USP,1996. 140p. (Dissertação, Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos).
- BOZA, Y.; HORII, J. Influência da destilação sobre a composição e a qualidade sensorial da aguardente de cana. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, p. 391-396, 1998.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Lei nº 8.918, de 14 de Julho de 1994. Dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas, autoriza a criação da comissão intersetorial de bebidas e dá outras providências. **Diário Oficial da União** Brasília, 15 de jul. 1994.

- BRASIL. Lei nº 9279 de 14 de Maio de 1996. Regula direitos e obrigações relativas à propriedade industrial. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 15 mai. 1996.
- BRASIL. **Decreto Nº 2314**, DE 04 DE SETEMBRO DE 1997 Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. **Diário Oficial da União**, Brasília, 05 set. 1997.
- BRASIL. Decreto n. 4062, de 21 de dezembro de 2001 define as expressões "cachaça", "Brasil" e "Cachaça do Brasil" como indicações geográficas e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, 26 dez. 2001.
- BRASIL. Ministério da Agricultura – Decreto n. 4072 de 3 de janeiro de 2002. Dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 3 janeiro, 2002.
- BRASIL. Decreto n. 4.851, de 2 de outubro de 2003 altera dispositivos do Regulamento aprovado pelo Decreto n. 2.314 de 4 de setembro de 1997, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. **Diário Oficial da União**, Brasília, 3 out. 2003.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa n. 13, de 29 de junho de 2005. Aprova o regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para aguardente de cana e para cachaça. **Diário oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 30 junho, 2005.
- BRUNO, S. N. F. **Adequação dos processos de destilação e de troca iônica na redução dos teores de carbamato e etila em cachaças produzidas no estado do Rio de Janeiro**. Rio de Janeiro, Instituto de Química, UFRJ. 2006. 158 p. (Tese de Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, , Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, 2006.
- CARDELLO, H. M. A. B; FARIA, J. B. Perfil Sensorial e Características Físico-Químicas de Aguardentes Brasileiras Envelhecidas e Sem Envelhecer. **Brazilian Journal of Food Technology**; v.3, p. 41-50, 2000.

- CARDOSO, M. G. **Produção de aguardente de cana-de-açúcar**. Lavras: Ed. UFLA, 2001. 264p.
- COLE, R. B., **Electrospray ionization mass spectrometry: fundamentals, instrumentation and applications**. John Wiley & Sons Inc.: New York, 1997; 577p.
- COLLINS, C. H.; BRAGA, G.L.; BONATO, P.S. **Introdução a métodos cromatográficos**. Campinas: Ed. Unicamp, 1997, 279p
- COPELLO, M. A mais brasileira das bebidas. **Gazeta Mercantil**. Caderno de Fim de semana, 30 de novembro de 2004.
- DOLE, M.; MACK, L. L.; HINES, R. L.; MOBLEY, R. C.; Ferguson, L. D.; Alice, M. B.; **Journal Chemical Physics**. v.49, n.5, p. 2240-2250, 1968.
- ENGAN, S. The influence of some aminoacids on the formation of higher aliphatic alcohol and esters. **Journal Institute of Brewing**, London, v. 76, p. 254-256, 1970.
- ETIÉVANT, P. X. Wine. In: MAARSE, H. (Ed.). **Volatile Compounds in Foods and Beverages**. New York: Marcel Dekker, 1991, 740p.
- FARIA, J. B.; POURCHET-CAMPOS, M. A. Eliminação do cobre contaminante das aguardentes de cana (*Saccharum officinarum* L.) brasileiras. **Alimentação e Nutrição**, v. 1, p. 117-126, 1989.
- FARIA, J. B.; DELIZA, R.; ROSSI, E. A.; Compostos sulfurados e a qualidade das aguardentes de cana (*Saccharum officinarum* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.13, n.1, p. 89-93, 1993.
- FARIA, J. B. Sobre a produção de aguardente de cana. **Engarrafador Moderno**, n. 40, p. 9-16, 1995.
- FERREIRA, V. L. P. (Coord.). **Análise sensorial – Testes discriminativos e afetivos**. Campinas: **Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, p. 73-77, 2000. (Manual Série Qualidade).
- FOUST, A. S.; WENZEL, L. A.; CLUMP, C. W.; MAUS, L.; ANDERSEN, L.B. **Princípios das operações unitárias**. Rio de Janeiro, Guanabara Dois, 1982; 632p.
- FURTADO, S. M. B. **Avaliação sensorial descritiva de aguardente de cana (*Saccharum officinarum*, L.): Influência da composição em suas**

- características sensoriais e correlação entre as medidas sensoriais e físico-químicas.** Campinas: Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP, 1995. 99p. (Tese, Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos).
- GRAVATÁ, C. E. S. **Manual da cachaça artesanal.** 2.ed. Belo Horizonte: Carlos Eduardo gravatá, 1992, 81p.
- GREENHOFF, K.; MACFIE, H. J. H. Preference Mapping in Practice. In: MACFIE, H. J. H.; THOMSON, D. M. H. **Measurement of Food Preferences.** London: Blackie Academics and Professional, cap.6, p. 137-166, 1994.
- GUTIERREZ, L. E. Capacidade fermentativa de *Saccharomyces cerevisiae* enriquecida de ácidos graxos. **Anais ESALQ**, Piracicaba, v. 47, parte 2, p. 575-595, 1990.
- GUTIERREZ, L. E. Produção de álcoois superiores por linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* durante a fermentação alcoólica. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.50, n.3, p.464-472, 1993.
- HART, H.; SCHUETZ, R. D. **Química Orgânica.** Rio de Janeiro: Campus, 1983. Cap. 11, 465p.
- IRIBARNE, J. v.; THOMSON, B. A. On the evaporation of small ions from charged droplets. **The Journal of Chemical Physics**, v. 64, n. 6, p. 2287-2294, 1976.
- ISIQUE, W. D.; CARDELLO, H. M. A. B.; FARIA, J. B. Teores de enxofre e aceitabilidade de aguardentes de cana brasileiras. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, p. 356-359, 1998.
- JANZANTTI, N. S. **Compostos voláteis e qualidade de sabor de cachaça.** Campinas: Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas. 2004. 179 p. (Tese, Doutorado em Ciência de Alimentos).
- JENNINGS, D. H. Polyol metabolism in fungi. **Advances in Microbial Physiology** n.25, p.150-188, 1984.
- JERONIMO, E. M. **O nitrogênio protéico na fermentação alcoólica e sua influência na qualidade da cachaça.** Campinas: Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas. 2004. 121p. (Tese, Doutorado em Ciência de Alimentos).

- LABANCA, R. A.; **Teores de carbamato de etila, cobre e grau alcoólico em aguardentes produzidas em Minas Gerais**. Belo Horizonte: Faculdade de Farmácia, UFMG, 2004. 66p. (Dissertação de Mestrado, Ciência de Alimentos).
- LÉAUTÉ, R. Distillation in alembic. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.41, p. 90-103, 1990.
- LEHTONEN, M.; JOUNELA-ERIKSSON, P. Volatile and nonvolatile compounds in the flavour of alcoholic beverages. In: PIGGOTT, J.R. **Flavour of distilled beverages: origin and development**. Florida: Verlag Chemie International, 1983, p.64-78.
- LELIS, V. G. **Ocorrência de carbamato de etila e sua formação em cachaça de alambique e em aguardente de cana-de-açúcar**. Viçosa: Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal De Viçosa. 2006. 66p. (Dissertação de Mestrado, Ciência e Tecnologia de Alimentos).
- LIMA, U. A. **Biotecnologia: biotecnologia na produção de alimentos**. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. p. 145-207.
- LIMA, U. A. **Estudos dos principais fatores que afetam os componentes do coeficiente não álcool das aguardentes de cana**. Piracicaba, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz": USP, 1964. 141p. (Tese, Cátedra).
- LISLE, D. B.; RICHARDS, C. P.; WARDLEWORTH, D. F. The identification of distilled alcoholic beverages. **Journal of the Institute of Brewing**, London, v.84, p.93-96, 1978.
- LLISTÓ, A. M. S. M.; SOUZA, L. G.; MISCHAN, M. M. Alguns componentes do coeficiente não-álcool das aguardentes de cana: ésteres. **Brasil Açucareiro**, v.5, p.341-346, 1979.
- MacACFIE, H. J. Assessment of the sensory properties of food. **Nutrition Reviews**, v.48, n.2, p. 87-93, 1990.
- MAIA, A. B. R. Componentes voláteis da Aguardente. **Sociedade dos Técnico Açucareiros do Brasil**, Piracicaba, v.12, n.6, p. 29-34, 1994.
- MAIA, A. B. R., RIBEIRO, J. C. G. M.; SILVEIRA, L. C. I. I Curso: Associação Mineira De Produtores De Cahaça De Qualidade - **Produção artesanal de cachaça de qualidade**. AMPAQ, 1995. 104p.

- MARCELLINI, A. M. B. **Desenvolvimento de suco de abacaxi (*Ananás comosus* (L.) Merrill) através da tecnologia de alta pressão hidrostática aplicada a polpa do fruto.** Campinas: Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas. 2006. 134p. (Dissertação, Mestrado em Alimentos e Nutrição).
- MARCELLINI, P.S. **Análise descritiva quantitativa de aguardentes de cana (*Saccharum spp*) comerciais e destiladas em alambiques de cobre e aço-inoxidável.** Araraquara, Faculdade de Ciências Farmacêuticas: UNESP, 2000. 77p. (Dissertação, Mestrado em Alimentos e Nutrição).
- McEWAN, J. A., COLWILL, J. S.; THOMSON, D. M. H. The application of two free choice profiling methods to investigate the sensory characteristics of chocolate. **Journal of Sensory Studies**, Trumbull, v.4, n.3, p.271-286, 1989.
- MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory evaluation techniques.** 3 ed. Boca Raton: CRC, 1999. 390p.
- MINAS GERAIS, Lei nº13.949, de 11/07/2001. Dispõe sobre estabelecer o padrão de identidade e as características do processo de elaboração da "Cachaça de Minas" e dá outras providências.
- MOLLER, J. K., CATHARINO, R. R., EBERLIN, M. N., Electrospray ionization mass spectrometry fingerprinting of whisky: immediate proof of origin and authenticity. **The Analyst**, n.130, p.890-897; 2005.
- MORAIS, C. B. , LAGO. C. L. Electrospray ionization mass spectrometry applied to study inorganic and organo-metallic species. **Química Nova**, v.26 n.4, 2003.
- MORAIS, P. B.; ROSA, C. A., LINARDI, V. R.; PATARO, C.; MAIA, A. B. R. A. Short communication: characterization and succession of yeast populations associated with spontaneous fermentations during the production of brazilian sugar-cane aguardente. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, Oxford, v.13, p.241-243, 1997.
- MOSKOWITZ, H.R. **Product testing and sensory evaluation of foods> marketing and R & D approaches.** Westport, Food & Nutrition Press, 1983, 605 p.
- MUÑOZ, A. M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory evaluation in quality.** New York: Van Nostrand Reinhold, 1992. 240 p.

- MUTTON, M. J. R.; MUTTON, M. Â. In: VENTURINI-FILHO, W. G. **Tecnologia de Bebidas**. São Paulo: Edgard Blücher, 2005. cap. 20, p. 481-524.
- MUTTON, M. J. R. Influences of the raw material quality in sugar cane spirits production. In: **Brazilian Meeting on Chemistry of Food In Beverages**, 3, 2000, Sao Carlos. Book of abstracts... São Carlos: Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo, 2000.18p.
- NASCIMENTO, E .S. P. **Ésteres em aguardente de cana: seu perfil**. São Carlos: Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2007. 150p. (Dissertação, Mestrado em Química Analítica).
- NASCIMENTO, R. F.; CARDOSO, D. R.; D.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D. W. **Determination of acids in Brazilian sugar cane spirits and other distilled alcoholic beverages by HRGC-SPE**. *Chromatographia*, v. 48, p. 751-757, 1998.
- NOBREGA, I. C. C. The analysis of volatile compounds from Brazilian sugar cane spirit by dynamic headspace concentration and gas chromatography-mass spectrometry. **Ciência e Tecnologia de Alimentos** , Campinas, v. 23, n. 2, p.210-216, 2003 .
- NOVAES, F. V., STUPIELLO, J.P., OLIVEIRA, A.J., DELGADO, A.A., OLIVEIRA, E.R., CESAR, M.A.A., VALSECCHI, O. **Tecnologia das Aguardentes**. Piracicaba: 1974, 138p. (Apostila).
- NOVAES, F. V. Cachaça de Alambique x Aguardente "Industrial". **Engarrafador Moderno**, v. 72, p. 46-49, 2000.
- NOVAES, F.V *Produção e qualidade da aguardente de cana*. Apostila. Piracicaba: ESALQ, 1995. 27 p. apud JERONIMO, E.M. **O nitrogênio protéico na fermentação alcoólica e sua influência na qualidade da cachaça**. Campinas: Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, 2004. 119 p. (Tese, Doutorado em Tecnologia de Alimentos).
- NYKÄNEN, L. Formation and occurrence of flavor compounds in wine and distilled alcoholic beverages. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v.37, n.1, p.84-96, 1986.

- NYKÄNEN, L.; NYKÄNEN, I. Distilled beverages. In: MAARSE, H. (Ed). **Volatile Compounds In Food And Beverages**. New York: Marcel Dekker, Inc, 1991. p.548-580.
- NYKÄNEN, L.; SUOMALAINEN, H. **Aroma of beer, wine and distilled alcoholic beverages**. Berlin: Akademic-Verlag, 1983. 413 p.
- OLIVEIRA, E. S. **Características fermentativas, formação de compostos voláteis; e qualidade da aguardente de cana obtida por linhagens de leveduras isoladas em destilarias artesanais**. Campinas: Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas. 2001. 135p. (Tese, Doutorado em Tecnologia de Alimentos).
- OLIVEIRA, E. R. **Tecnologia dos produtos agropecuários I : tecnologia do açúcar e das fermentações industriais**. Piracicaba: 1978. 209 p.
- OLIVEIRA, E. S.; ROSA, C. A.; MORGANO, M. A.; SERRA, G. E. Fermentation characteristics as criteria for selection of cachaça yeast. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 19, p. 241-243, 2003.
- O & P. PRODUCT RESEARCH. **Senstools versão 2.3**.Utrecht: O & P. Product Research, 1995 – 1998. Conjunto de programas. CD ROOM.
- PAL, D.; SACHDEVA, S.; SINGH, S. Methods for determination of sensory quality of foods: A critical appraisal. **Journal of Food Science** , v.32, n. 5, p. 357- 367, 1985.
- PBDAC, PROGRAMA BRASILEIRO DE DESENVOLVIMENTO DA AGUARDENTE DE CANA, CANINHA OU CACHAÇA; 1, 1996, São Paulo. **Comitê Gestor**, 1996. 17p.
- PINTO, G., L. **Fabricação de Aguardente**. Informe Técnico. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1991. 16 p.
- POLIGNANO, L. A. C.; DRUMOND, F. B.; CHENG, L. C. **Mapa de preferência: uma ponte entre marketing e P&D**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GESTÃO DO DESENVOLVIMENTO DE PRODUTO, 2, 2000, São Carlos. Anais... 2000. p. 96-102.
- QUAIN, D. E. **Studies of yeast physiology-impact on fermentation performance and product quality**. J. INST. BREW. Vol. 95, no. 5, pp. 315-323, 1988.

- RECHE, R. V. **Aspectos da tipificação da aguardente**. São Carlos: Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2006. 154p. (Dissertação, Mestrado em Química Analítica).
- RIBEIRO, J. C. G. M. **Fabricação artesanal de cachaça mineira**. Belo Horizonte: Os Lutadores, 2002. Cap. 10: Destilação. p. 91-100.
- RODRIGUES FILHO, A.; OLIVEIRA, R. N. **Tecnologia de produção de cana de açúcar e Cachaça de Minas de qualidade**. Belo Horizonte; Emater, 1999, 75p.
- SANTOS V. R; FARIA J. B. Efeito da adição de açúcar na Qualidade sensorial de cachaça obtida tradicionalmente e redestilada. **Alimentos e Nutrição**, v. 22, n. 3, p. 489-497, 2011.
- SCHLICH, P. , McEWAN, J. A., Preferece Mapping - A Statistical Tool for the Food Industry, **Science des Aliments**, n. 12, p. 339-355, 1992.
- SCHWAN, R. F.; CASTRO, H. A. **Fermentação alcoólica**. In: CARDOSO, M.G. (Ed.) *Produção de cachaça de cana-de-açúcar*. Lavras: UFLA, 2001, p. 45-57.
- SEBRAE-MG. **Diagnóstico da cachaça de Minas Gerais**, Belo Horizonte, julho de 2001. Disponível em: <http://www.sebraemg.com.br/agronegocios/Cachaca.pdf>. Acesso em: setembro 2007.
- SILVEIRA, L. C. I.; BARBOSA, M. H.P.; OLIVEIRA, M. W. **Manejo de variedades de cana-de-açúcar predominantes nas principais regiões produtoras de cachaça em Minas Gerais**. Informe Agropecuário, EPAMIG, v. 23, n.217, p.25-32, 2002.
- SIUZDAK, G., "An Introduction to Mass Spectrometry Ionization: **An excerpt from The expanding role of mass spectrometry**" 2ª Ed.; MCC Press, San Diego, 2005.
- SOLOMONS, T.W.G. **Química Orgânica 1** . Rio de Janeiro: LTC, 1982. 436p
- SOUZA, P. P. , SIEBALD H. G. L., AUGUSTI D. V., NETO W. B., AMORIM V. M., CATHARINO R. R., EBERLIN M. N., AUGUSTI R. Electrospray Ionization Mass Spectrometry Fingerprinting of Brazilian Artisan Cachaça Aged in Different Wood Casks. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n.55 , p. 2094-2102, 2007.

- STATSOFT. Statistica for Windows. **Computer program manual**. Version 5.1, Tulsa, Statsoft Inc. 2001.
- STONE, H.; SIDEL, J.; OLIVER, S.; WOOLSEY, A.; SINGLETON, R. C. Sensory evaluation by quantitative descriptive analysis. **Food Technology**, v. 28, p. 24-34, 1974.
- STONE, H.; SIDEL, J.L. **Sensory evaluation practices**. 2. ed. San Diego: Academic Press Inc., 1993. 338 p.
- SUOMALAINEN, H.; NYKÄNEN, L. The aroma components produced by yeast in nitrogen free sugar solution. **Journal of the Institute of Brewing**, London, v.72, p.469-474, 1966.
- SUOMALAINEN, H. ; LEHTONEN, M. The production of aroma compounds by yeast. **Journal of the Institute of Brewing**, London, v. 85, p. 149-156, 1979.
- SUOMALAINEN, H. Yeast and its effect on the flavour of alcoholic beverages. **Journal of the Institute of Brewing**, London, v. 77, n. 2, p. 164-177, 1971.
- SUOMALAINEN, H. Yeast esterases and aroma esters in alcoholic beverages. **Journal of the Institut of Brewing**, London, v.87, p. 296-300, 1981.
- VARGAS, E. A. **Qualidade da aguardente de cana produzida, engarrafadae/ou comercializada em Minas Gerais**. Belo Horizonte: Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, 1995. 88p. (Dissertação de Mestrado em Ciência de Alimentos).
- VARMAN, A. H.; SUTHERLAND, J. P. **Bebidas - Tecnología, química y microbiología**. Zaragoza: Editoria Acrabia S.A., 1994. p. 453-461.
- WILLIAMS , A. A. ; MAY, H. V.; TUCKNOTT, O. G. **Examination of fermented cider volatiles following concentration on the porous polymer POROPAK O**. **Journal of the Institute of Brewing**, London, v. 84, p. 97-100, 1978.
- XLSTAT. **What is Preference Mapping?** New York, 1995. Disponível em: <http://www.xlstat.com/en/support/tutorials/prefmap.htm>. Acesso em: setembro 2007.
- YAMASHITA, M.; FENN, J. B. Electropray ion source. Another variation on the free-jet theme **Journal Physical Chemistry**, v.88, p.4451-4459, 1984.
- YOKOYA, F. *Fabricação da Aguardente de Cana* In Série Fermentações Industriais, Campinas :Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia, 92 p. n. 2, 1995.

CAPÍTULO 2- AQUISIÇÃO E COMPARAÇÃO DE IMPRESSÕES DIGITAIS, OBTIDAS POR ESPECTROMETRIA DE MASSAS COM IONIZAÇÃO POR *ELECTROSPRAY*, DE CACHAÇAS PRODUZIDAS EM ALAMBIQUES DE COBRE E PRODUZIDAS EM COLUNAS DE DESTILAÇÃO DE INOX

RESUMO

No Brasil a produção de cachaça pode ser realizada de duas maneiras diferentes: destilada em coluna de inox ou em alambiques de cobre. Neste trabalho foram analisadas 36 amostras de cachaças comerciais, não envelhecidas; sendo 18 amostras de cachaças adoçadas, destiladas em coluna de inox e 18 amostras, destiladas em alambiques de cobre. Empregando-se espectrometria de massa, com ionização *electrospray*, foram obtidas impressões digitais; através do registro da intensidade dos 15 íons mais abundantes. A análise das componentes principais (PCA) foi utilizada no tratamento dos dados, sendo possível dividir as amostras em dois grupos. No entanto, após uniformização das amostras de cachaças, pela adição de açúcar (20 g L^{-1}), não foi possível agrupá-las, quanto ao tipo de destilação. Pôde-se, portanto, concluir que, através da técnica aplicada, não foi possível discriminar as cachaças quanto ao sistema de destilação e, sim quanto à presença ou não de açúcar nas mesmas.

2.1 OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivo diferenciar cachaças comerciais, destiladas em alambique de cobre; das produzidas em coluna de inox, empregando-se espectrometria de massas com ionização por "electrospray", modo negativo (ESI-MS), através da obtenção de impressões digitais, adquiridas pela observação dos íons característicos e através de estudo quimiométrico, empregando-se Análise De Componentes Principais (PCA)

2.2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.2.1 Material

Foram analisadas 36 amostras de cachaças, sendo 18 cachaças produzidas por sistema contínuo de destilação, em coluna de inox; e 18 cachaças produzidas em sistema de batelada, em alambiques de cobre. Das cachaças produzidas em coluna de inox, 14 são provenientes do Estado de São Paulo, três do Estado de Pernambuco e uma proveniente do Estado do Paraná. As cachaças de alambique foram todas produzidas no estado de Minas Gerais. As amostras foram adquiridas no comércio da cidade de Belo Horizonte. Todas as amostras eram de cachaças não envelhecidas, sendo que o rótulo de três cachaças de coluna indicava o seu armazenamento em tonéis de carvalho e o rótulo de duas cachaças de alambique indicava o armazenamento em tonéis de madeiras não especificadas.

2.2.2 Análises Químicas

2.2.2.1 Determinação dos açúcares totais (ART)

Para a determinação dos açúcares totais, as amostras passaram por um processo de hidrólise ácida, com HCl (1 mol L^{-1}), em banho-maria a $70 \text{ }^\circ\text{C}$, por 30 min., seguido de neutralização com NaOH (1 mol L^{-1}). Após, empregou-se o método espectrofotométrico DNS (ácido 3,5-dinitrossalicílico) na determinação de açúcares redutores totais (MILLER, 1959). Todos reagentes utilizados foram de grau analítico PA (VETEC – Química Fina Ltda.).

2.2.2.2 Aquisição dos Espectros de Massas “*Fingerprint*” das Cachaças

Os espectros de massas foram adquiridos usando um Espectrômetro e analisador ion trap (LCQFleet, Thermo-Scientific, San Jose, CA). As condições gerais foram: temperatura da fonte: 80°C; voltagem do capilar: 2,1kV; voltagem do Cone: 40V.

Na obtenção dos espectros de massas com ionização *electrospray* no modo negativo, ESI(-)-MS; a amostra, sem tratamento, foi introduzida diretamente na fonte de ionização do espectrômetro de massas através de uma seringa (Harvard Apparatus, Pump 11) com fluxo constante de 10 $\mu\text{L min}^{-1}$. Os espectros de massas foram adquiridos na faixa de m/z 100 a 700.

2.2.3 Análise Estatística dos Resultados

Empregou-se um tratamento estatístico de dados: análise de componentes principais (PCA) a fim de verificar sua eficácia na classificação das cachaças amostradas. Para realizar a PCA, construiu-se uma matriz de dados ($m \times n$) onde as linhas (m) foram as amostras (36 cachaças) e as colunas (n) as variáveis. Neste caso, as colunas corresponderam à intensidade dos 15 maiores picos, ou seja, 15 íons mais abundantes do espectro de cada uma das 36 amostras. Como algumas amostras apresentaram íons em comum, a matriz de dados constituiu-se em uma matriz 36 x 91. A PCA foi realizada pelo software XLSTAT®- 2010, do programa Excel.

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1 “*Fingerprint*” das Cachaças Destiladas em Coluna de Inox

Na FIG. 2.1 é apresentado o espectro de massas, ESI(-)MS, obtido de cachaças de coluna inox. Analisando os “*fingerprint*”, observou-se a presença dos íons $m/z = 341, 377, 379$ e 683 em todos os espectros obtidos para esse tipo de amostra.

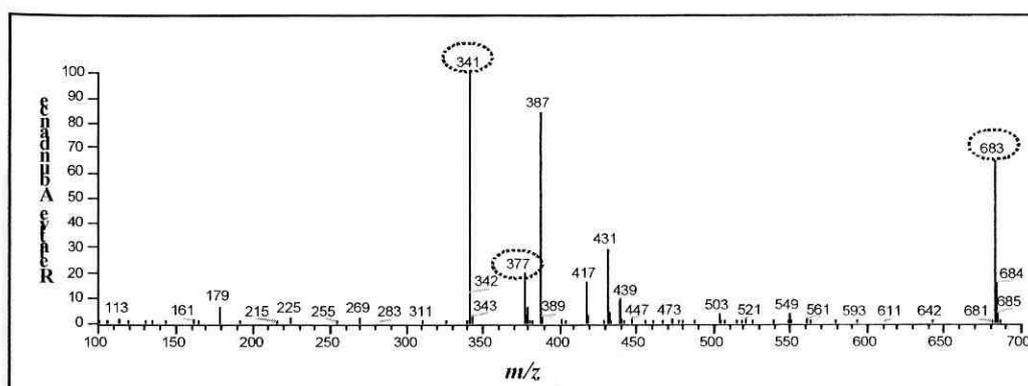


Figura 2.1- ESI(-)-MS Obtido da amostra de Cachaça, Adoçada, Produzida em coluna de aço Inox

O íon $m/z = 341$ corresponde à forma desprotonada da sacarose [sacarose-H]⁻; enquanto que os íons $m/z = 377$ e 379 , correspondem aos adutos da sacarose com o cloreto, produzindo [sacarose + ³⁵Cl]⁻ e [sacarose + ³⁷Cl]⁻, na proporção de 3:1. Estes resultados corroboram o estudo realizado por Souza *et al.* (2009) que analisaram cachaças produzidas em coluna de aço inox, numa “janela” de $m/z = 100$ a 600. Vale ressaltar que adutos de sacarose e cloro são formados pelas interações não-covalentes entre o cloreto e grupos hidroxila presentes em dissacarídeos ou em outras moléculas de estrutura análoga (ZHU & COLE, 2001). Quanto ao íon $m/z = 683$ sugere-se que esteja relacionado com a formação de dímero da sacarose desprotonada. Os dímeros, espécies químicas constituídas por duas unidades de massa, são comumente encontrados em espectros ESI. A formação dos dímeros é proporcional à concentração dos íons formadores (SCHWARTZ, 1994; DING & ANDEREGG, 1995; PAN, 2008). A presença de íons relacionados com a sacarose era esperada; visto que das 18 amostras de cachaças destiladas em coluna de aço inox, 17 cachaças traziam a informação no rótulo “cachaça adoçada”, tendo o valor de açúcares variando de 17,8 g L⁻¹ a 26,5 g L⁻¹.

A única amostra de cachaça destilada; em coluna de aço inox, que não era adoçada, segundo informações do rótulo e, ainda, confirmada na análise espectrofotométrica; apresentou um espectro muito semelhante às cachaças de coluna adoçadas (FIG. 2.2).

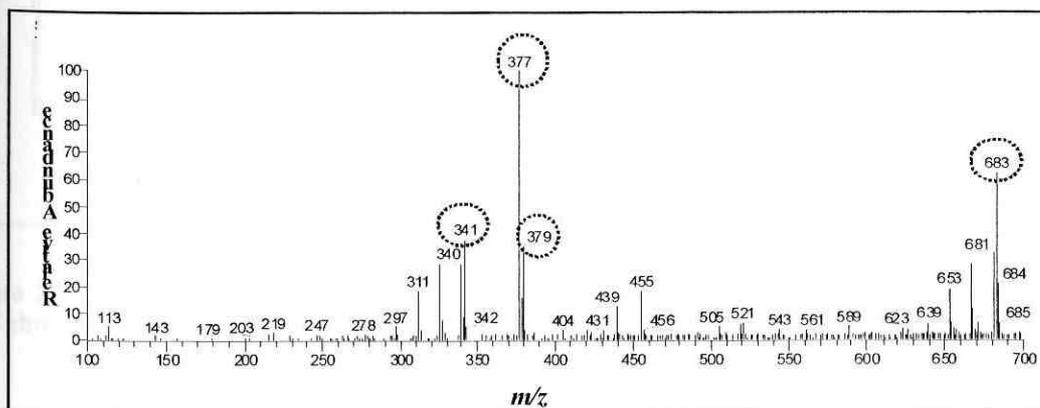


Figura 2.2-ESI(-)-MS da Amostra de Cachaça não Adoçada, Produzida em Coluna de Aço Inox.

2.3.2 "Fingerprint" das Cachaças Destiladas em Alambique de Cobre

As amostras de cachaças, produzidas em alambique de cobre, não apresentaram no espectro ESI(-)-MS nenhum íon característico, em comum. Das 18 cachaças de alambique analisadas apenas sete apresentavam no seu espectro ESI(-)-MS os íons de $m/z = 143$, $m/z = 171$, $m/z = 199$, $m/z = 255$, dentre os 15 íons principais. De acordo com Souza *et al.* (2009), estes íons caracterizam cachaças recém-alambicadas (FIG. 2.3).

Os íons $m/z = 143$, 171 e 199 foram, anteriormente, relacionados às formas desprotonadas de ácidos carboxílicos de cadeia linear $[RCO_2]^{-1}$, isto é, C_8 (ácido octanóico), C_{10} (ácido decanóico) e C_{12} (ácido dodecanóico); respectivamente (Souza *et al.*, 2009). Já, o íon $m/z = 255$ corresponde provavelmente às formas desprotonadas do flavonóide liquiritigenina (Souza *et al.*, 2007).

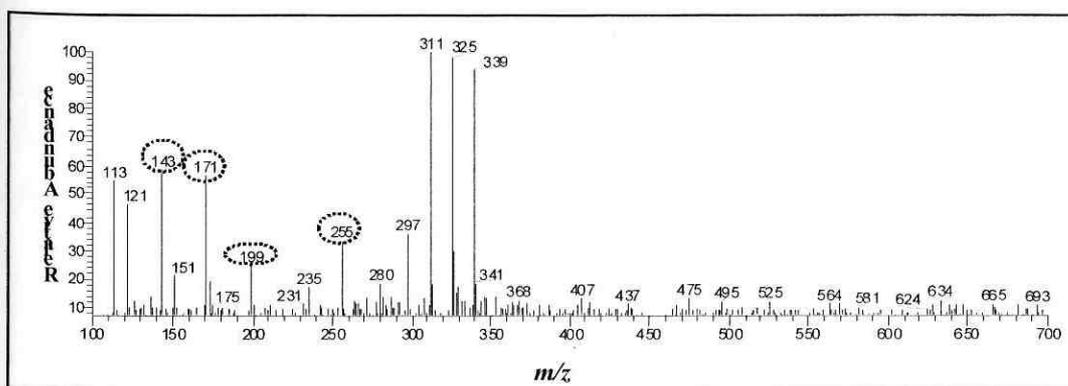


Figura 2.3- ESI(-)-MS Obtido de Amostra de Cachaça, Não Adoçada, Produzida em Alambique de Cobre, com Característica de Cachaça Recém-Alambicada.

Nos espectros ESI(-)-MS obtidos para algumas cachaças alambicadas foram identificados a presença de vários íons. Isto pode estar relacionado com o possível armazenamento das mesmas em diferentes madeiras; uma vez que tal fato, apesar de não citado no rótulo, não incorreria numa ilegalidade por parte do produtor que resolveu comercializar suas reservas de cachaças armazenadas antes que as mesmas atingissem os padrões legais de cachaça “descansada” ou “envelhecida”. Deve-se ressaltar que nas cachaças produzidas em alambique não foi detectado, através da análise espectrofotométrica, a adição de açúcares. Entretanto em duas das amostras de cachaças pertencentes a este grupo foi percebido a presença dos íons $m/z = 377$ e $m/z = 379$ (FIG. 2.4). O íon $m/z 377$ está associado à [sacarose + ^{35}Cl] (Souza *et al.*, 2007) ou ao armazenamento da cachaça em tonéis de amburana (Souza *et al.*, 2009).

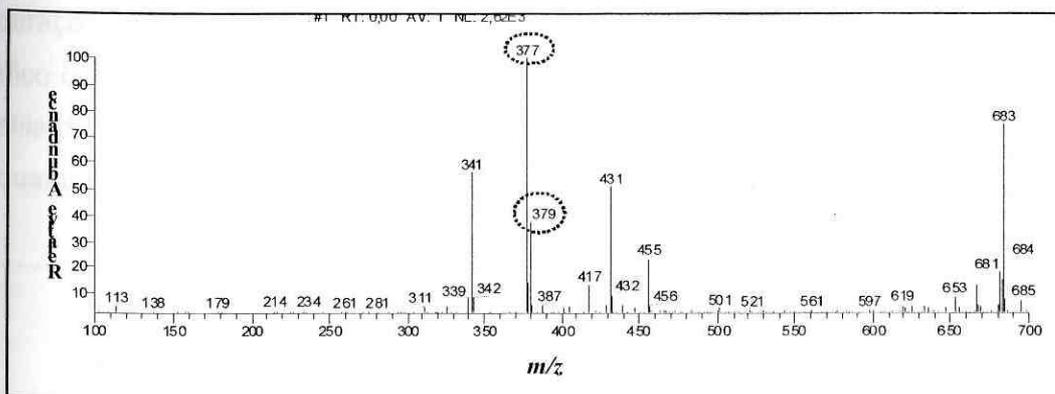


Figura 2.4-ESI(-)-MS para Amostras de Cachaça, Não Adoçadas, Produzidas em Alambique de Cobre, com Íons $m/z = 377$, $m/z = 379$ e $m/z = 683$.

A ausência dos ânions [sacarose + Cl^-], $m/z = 377$ e 379 , em amostras artesanais, alambicadas, pode ser explicada pela formação favorável de complexos entre os íons cloreto com os íons Cu^{2+} , como CuCl^+ e CuCl_2 , os quais originam-se de reações oxidativas do cobre, constituinte do destilador. Estes complexos podem capturar os íons Cl^- da solução e suprimir a formação de aduto com a sacarose (SOUZA *et al.*, 2009). Por outro lado, a simples prática de filtração da cachaça, em carvão ou em resinas de troca iônica, após a alambicagem, pode diminuir os teores de cobre e, portanto, dos complexos formados por este metal. Neste caso, acarretaria a formação desses ânions, $m/z = 377$ e $m/z = 379$, justificando a presença dos mesmos em cachaças alambicadas. De maneira geral, as cachaças de alambique apresentaram um "fingerprint", com uma maior abundância de íons que as cachaças destiladas em coluna de aço inox. O grande número de íons observados nos ESI(-)-MS das cachaças de alambique é relacionado à presença de um grande número de compostos polares. Isto pode ser resultado de reações seletivas que ocorrem tendo a superfície de cobre como catalisador, durante a etapa de destilação. Estas reações podem não ocorrer quando se empregam colunas de aço inoxidável (BOZA & HORII, 2000; CARDOSO *et al.*, 2003; BRUNO *et al.*, 2007).

2.3.3 Análise de Componentes Principais (PCA)

Através da análise de componentes principais (PCA), verificou-se que as componentes PC1 e PC2 representam 69,1% da variância total dos dados e forneceram informações discriminatórias das amostras; o que possibilitou a

separação das cachaças em dois grupos, quanto a seu "fingerprint". Através do gráfico de escores, apresentado na FIG. 2.5, pôde-se notar que todas as cachaças destiladas em coluna de aço inox apresentaram escores negativos na PC1, enquanto 16 das 18 cachaças alambicadas em cobre apresentam escores positivos.

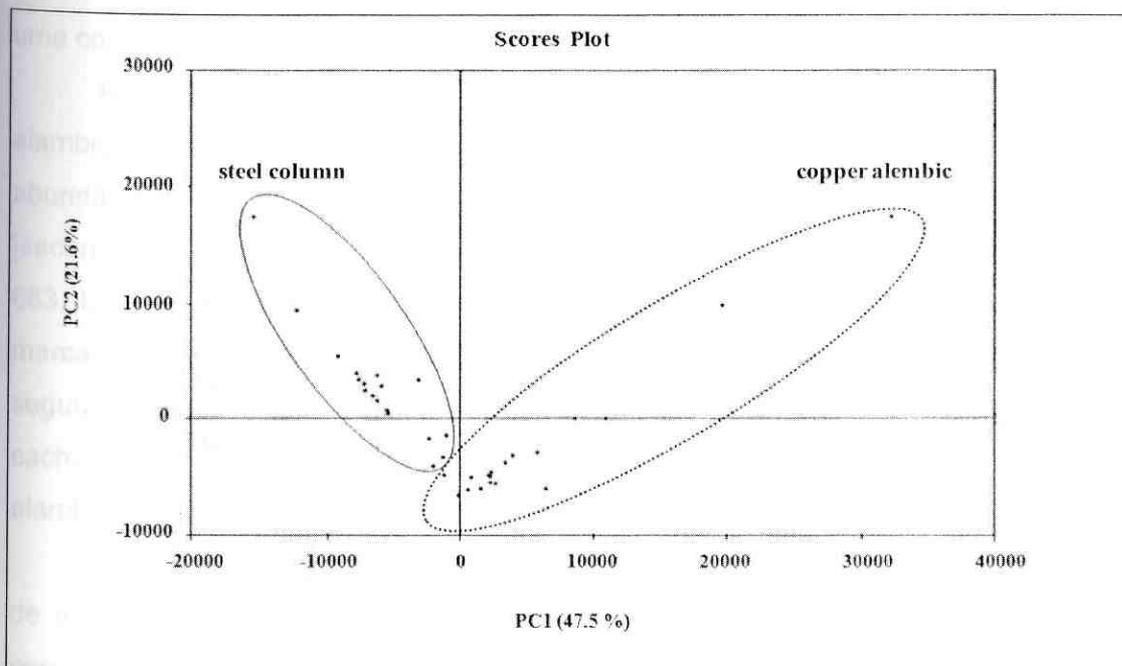


Figura 2.5-Gráfico de Escores para as Amostras de Cachaça Produzidas em Alambique e em Colunas de Aço Inox d Partir dos Dados Dos Espectros ESI(-)-MS das Amostras

Duas das amostras de cachaças destiladas, em alambique de cobre, apresentaram scores negativos na PC1, tendo apresentado os íons $m/z = 377$ e $m/z = 379$ no seu "fingerprint". Embora esses íons tenham sido considerados marcadores de cachaças destiladas, em coluna de inox, essas amostras apresentaram também uma grande variabilidade de outros íons, encontrados nas cachaças alambicadas, localizando-se num espaço intermediário entre os dois grupos. Pode-se, ainda, sugerir que os produtores das referidas cachaça tenham submetido as mesmas à filtração, a fim de eliminar o cobre residual.

2.3.4 Cachaças Adoçadas: Cachaças Destiladas em alambique de Cobre Versus Cachaças Destiladas em Coluna de Inox

O teor de açúcares nas cachaças de coluna adoçadas variou de 17,8 a 26,5 g L⁻¹, apresentando um valor médio de 20 g L⁻¹. Com o objetivo de diminuir o efeito do açúcar na diferenciação das amostras, foi adicionado açúcar refinado comercial, em uma concentração de 20 g L⁻¹, às cachaças destiladas em alambique de cobre.

A FIG. 2.6 ilustra os espectros ESI(-)-MS das cachaças destiladas, em alambique de cobre, posteriormente, adoçadas. Foram encontrados, com maior abundância, íons diagnósticos, referentes à sacarose: [sacarose - H⁺], $m/z = 341$; [sacarose + Cl⁻], $m/z = 377$ e $m/z = 379$ (razão 3:1) e o dímero da sacarose $m/z = 683$. É digno de nota ressaltar que os íons $m/z = 377$ e 379 foram considerados marcadores de cachaça de coluna inox por SOUZA *et al.* (2009). No entanto, segundo nossos estudos, os mesmos relacionam-se à adição de açúcar em cachaças, independente do tipo de processo de destilação, coluna inox ou alambique de cobre, submetido pelas mesmas.

Outros íons de $m/z = 431$ e $m/z = 455$ são perceptíveis em todas as cachaças de alambique adoçadas. De acordo com SOUZA *et al.* (2009), o íon $m/z = 431$ corresponde ao aduto da sacarose com o hidrogeno oxalato (HC₂O₄⁻). Sugere-se, então, que o íon $m/z = 455$ corresponda ao aduto de sacarose com íon sulfato de monoamônio de NH₄SO₄⁻¹; uma vez que a presença de íons sulfato em cachaças produzidas em alambique de cobre justifica-se devido ao fato desse metal favorecer a oxidação do dimetil-sulfeto, comumente formado durante a produção da cachaça, a sulfato (CARDOSO *et al.*, 2003). Ainda, cachaças produzidas na Região Sudeste do Brasil possuem maiores teores do íon amônio, quando comparadas com cachaças produzidas em outras regiões; pois é prática comum a adição do sulfato amônio como fonte de nitrogênio para leveduras, na produção de cachaças da referida Região (POLASTRO *et al.*, 2001).

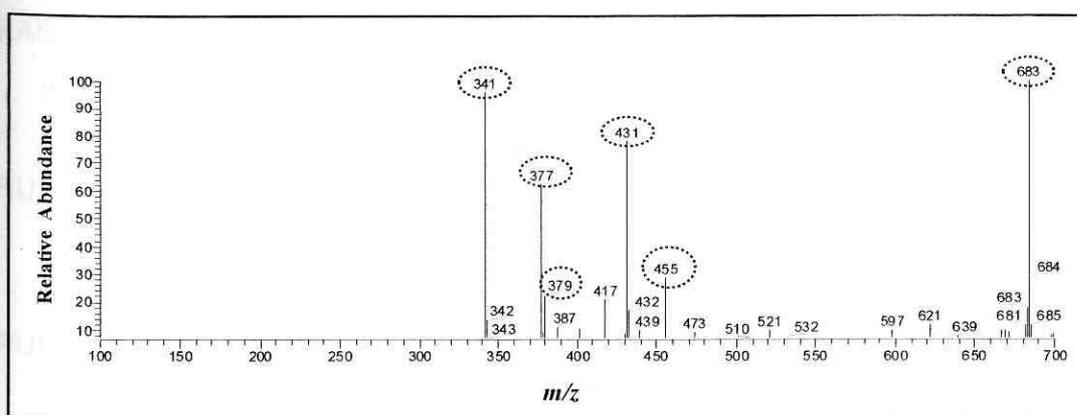


Figura 2.6- ESI(-)-MS de uma Amostra de Cachaça Produzida em Alambique de Cobre Adoçada com Açúcar na Concentração de 20 g L-1.

2.4 CONCLUSÃO

A multiplicidade de íons identificados nos espectros ESI(-)-MS das 18 amostras de cachaças comerciais, produzidas em alambiques de cobre, não possibilitou o registro de íons marcadores para esses tipos de amostras.

Após padronização das 36 amostras, quanto à concentração de açúcar, verificou-se que os íons considerados marcadores de cachaças de coluna apareceram em todos espectros ESI(-)-MS.

Através das técnicas analíticas empregadas, ESI(-)-MS e PCA, não foi possível discriminar cachaças industriais, destiladas em coluna de inox, das cachaças artesanais, destiladas em alambique de cobre. O agrupamento das amostras foi realizado segundo a presença ou ausência de açúcar nas mesmas.

2.5 BIBLIOGRAFIA

- BOZA, Y. & HORII, J. Influência do grau alcóolico e da acidez do destilado sobre o teor de cobre na aguardente. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, n. 3, p. 279–284, sept./dec. 2000.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº. 4851 de 02 de agosto de 2003, **Diário Oficial da União**, Brasília, 03 out. 2003.

- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº. 13 de 29 de junho de 2005, **Diário Oficial da União**, Brasília, 30 jun. 2005, Seção 1.
- BRUNO, S. N. F.; VAITSMAN, D. S.; KUNIGAMI, C.N.; BRASIL, M.G. Influence of the distillation processes from Rio de Janeiro in the ethyl carbamate formation in Brazilian sugar cane spirits. **Food Chemistry**, v.104, n.4, p. 1345–1352, 2007.
- BRUNS, R. E. & FAIGLE, J. F. G. Quimiometria. **Química Nova**, São Paulo, v. 8, p. 84–99, 1985.
- CARDOSO, D. R.; LIMA-NETO, B. S.; FRANCO, D.W.; NASCIMENTO, R.F. do. Influência do material do destilador na composição química das aguardentes de cana: parte II. **Química Nova**, São Paulo, v. 26, n. 2, p.165–169, mar. 2003.
- CARDOSO, M. G. **Produção de aguardente de cana-de-açúcar**. Lavras: UFLA, 2001. 264p.
- DING, J. & ANDEREGG, R. J. Specific and Nonspecific Dimer Formation in the Electrospray Ionization Mass Spectrometry of Oligonucleotides. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v.6, n.3, p.159–164, mar. 1995.
- HOPKE, P. K. The evolution of chemometrics. **Analytica Chimica Acta**, v. 500, p. 365–377, 2003.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para a análise de alimentos**. São Paulo: 1. ed. Cap. 9, p.403. 2008.
- LÉAUTÉ, R. Distillation in alembic. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v.41, n.1, p. 90-103, mar. 1990.
- MAIA, A.B.R.A; RIBEIRO, J.C.G.M.; SILVEIRA, L.C. I. - I **Curso AMPAQ de produção artesanal de cachaça de qualidade**. Belo Horizonte: AMPAQ, 1995. 104p.
- MASON, A.B. & DUFOR, J.P. Alcohol acetyltransferase and the significance of ester synthesis in yeast. **Yeast**, Chichester, n.16, v.14, p.1287–1298, oct. 2000.
- MINAS GERAIS. Lei nº 13.949 de 11 de julho de 2001. **Minas Gerais – Diário do Executivo**, Belo Horizonte, p. 3, 12 jul. 2001.
- MILLER, G.L. Use of DNS acid reagent for the determination of reducing sugars. **Analytical Chemistry**, Washington, v.31, p.426–428, 1959.

- MOITA NETO J. M. & MOITA, G.C. Uma introdução á análise exploratória de dados multivariados. **Química Nova**, São Paulo, v.20, n.5 p. 467-469, set./out. 1997.
- PAN, H. A non-covalent dimer formed in electrospray ionisation mass spectrometry behaving as a precursor for fragmentations. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v.22, n. 22, p.3455–3700, oct. 2008.
- POLASTRO, L.R.; BOSO, L. M.; ANDRADE-SOBRINHO, L. G.; LIMA-NETO B. S.; FRANCO, D. W. .Compostos nitrogenados em bebidas destiladas: cachaça e tiquira. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 21, n. 1, p. 78–81, jan./apr. 2001.
- RIBEIRO, J. C. G. **Fabricação artesanal de cachaça mineira**. Belo Horizonte: Os Lutadores, 2002. 223 p.
- RECHE, R.V. & FRANCO, D.W. Distinção entre cachaças destiladas em alambiques e em colunas usando quimiometria. **Química Nova**, São Paulo, v.32, n.2 p. 332–336, mai. 2009.
- SCHWARTZ, B.L.; LIGHT-WAHL, K.J.; SMITH, R.D. Observation of Noncovalent Complexes to the Avidin Tetramer by Electrospray Ionization Mass Spectrometry. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v.5, n.3, p.201-204, mar. 1994.
- SOUZA, P.P.; SIEBALD, H.G.L.; AUGUSTI, D.V.; NETO, W.B.; AMORIM, V.M.; CATHARINO, R.R.; EBERLIN, M.N.; AUGUSTI, R. Electrospray ionization mass spectrometry fingerprinting of Brazilian artisan cachaca aged in different wood casks. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.55, n.6, p. 2094–2102, 2007.
- SOUZA, P.P.; OLIVEIRA, L.C.A.; CATHARINO, R. R.; EBERLIN, M.N.; AUGUSTI, D.V.; SIEBALD, H.G.L. ; AUGUSTI, R. Brazilian cachaça: Single shot typification of fresh alembic and industrial samples via electrospray ionization mass spectrometry fingerprinting. **Food Chemistry**, v. 115, p. 1064–1068, 2009.
- VERSTREPEN, K.J.; DERDELINCKX, G.; DUFOR, J.P.; WINDERICKX, J.; THEVELEIN, J.M.; PRETORIUS, I.S.; DELVAUX, F.R. Flavor-active esters: adding fruitiness to beer. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 96, n. 2, p. 110–118, 2003.

ZHU, J. & COLE, R.B. Ranking of gas-phase acidities and chloride affinities of monosaccharides and linkage specificity in collision-induced decompositions of negative ion electrospray-generated chloride adducts of oligosaccharides. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v.12, n.11 , p. 1193–1204, nov. 2001.

CAPÍTULO 3 - AQUISIÇÃO E COMPARAÇÃO DE IMPRESSÕES DIGITAIS, OBTIDAS POR ESPECTROMETRIA DE MASSAS COM IONIZAÇÃO POR *ELECTROSPRAY*, DE CACHAÇAS REDESTILADAS PRODUZIDAS EM ALAMBIQUES DE COBRE E EM COLUNAS DE DESTILAÇÃO DE INOX ADOÇADAS

RESUMO

A cachaça é definida como a aguardente de cana produzida no Brasil, com graduação alcoólica de 38 a 48% (v/v), a 20 °C, acrescida ou não de açúcares até um limite de 6 g L⁻¹. Entretanto, cachaças com quantidades de açúcares situadas entre 6 g L⁻¹ a 30 g L⁻¹ são definidas como adoçadas. No Brasil a produção de cachaça pode ser realizada de duas maneiras diferentes: destilada em coluna de inox ou em alambiques de cobre. Entretanto, o estado de Minas Gerais através de Lei Estadual considera como de Cachaça Artesanal de Minas, a bebida destilada em alambique de cobre, sem adição de açúcar, corante ou outro ingrediente qualquer. Este trabalho teve como objetivo avaliar se a redestilação das cachaças contribuem para diferenciar cachaças não adoçadas, destiladas em alambique de cobre; das adoçadas produzidas em coluna de inox, empregando-se espectrometria de massas com ionização por electrospray - modo negativo (ESI-MS) - e Análise de Componentes Principais (PCA). Observou-se que independente do modo que seja realizada a destilação e da adição de açúcares nas cachaças os espectros obtidos apresentavam três íons característicos: os íons de $m/z = 143$, $m/z = 171$, $m/z = 199$. A análise das componentes principais (PCA) foi utilizada no tratamento dos dados, considerando na composição do gráfico as três primeiras componentes principais, entretanto devido as similaridades dos espectros obtidos não foi possível agrupar as cachaças quanto ao modo de destilação.

3.1 OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivo avaliar se a redestilação de amostras de cachaças contribuem para diferenciar cachaças comerciais não adoçadas, destiladas em alambique de cobre; das adoçadas produzidas em coluna de inox, empregando-se espectrometria de massas com ionização por "electrospray", modo negativo (ESI-MS), através da obtenção de impressões digitais, adquiridas pela observação dos íons característicos e através de estudo quimiométrico, empregando-se Análise de Componentes Principais (PCA).

3.2 MATERIAIS E MÉTODOS

3.2.1 Material

Foram analisadas 8 cachaças adoçadas produzidas por sistema contínuo de destilação, em coluna de inox e 8 cachaças produzidas em sistema de batelada, em alambiques de cobre. As cachaças produzidas em alambique de cobre foram analisadas sem a adição de açúcar e na concentração de 20 g L^{-1} de sacarose. As amostras foram adquiridas no comércio da cidade de Belo Horizonte. Todas as amostras eram de cachaças não envelhecidas.

3.2.2 Redestilação das Amostras

As amostras de cachaça foram redestiladas em destilador Eletrônico Enoquímico Gibertini.

3.2.3 –Aquisição dos Espectros de Massas "*Fingerprint*" das Cachaças

Os espectros de massas foram adquiridos usando um Espectrômetro e analisador Shimadzu LC-ESI-IT-TOFMS de alta resolução ($<5 \text{ ppm}$), nas seguintes condições: ionização ESI em $4,5 \text{ KV}$ e gás de nebulização de $1,5 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$.

Na obtenção dos espectros de massas com ionização *electrospray* no modo negativo, ESI(-)-MS; a amostra, sem tratamento, foi introduzida diretamente na fonte de ionização do espectrômetro de massas através de uma seringa (Harvard

Aparatus, Pump 11) com fluxo constante de $10 \mu\text{L min}^{-1}$. Os espectros de massas foram adquiridos na faixa de m/z 50 a 1000.

3.2.5 Análise Estatística dos Resultados

Empregou-se um tratamento estatístico de dados: análise de componentes principais (PCA) a fim de verificar sua eficácia na classificação das cachaças amostradas. Para realizar a PCA, construiu-se uma matriz de dados ($m \times n$) onde as linhas (m) foram as amostras (24 cachaças) e as colunas (n) as variáveis. Para remover o ruído do sinal, somente íons com intensidade relativa acima de 5% foram considerados e incluídos na matriz de dados. Todos íons com intensidade relativa acima de 5% se encontravam na faixa de 100 a 700 m/z . Como algumas amostras apresentaram íons em comum, a matriz de dados constituiu-se em uma matriz 24×75 . A PCA foi realizada pelo software XLSTAT[®]- 2012, do programa Excel.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 “Fingerprint” das Cachaças Produzidas em Alambique de Cobre Redestiladas

Após a redestilação as amostras de cachaças não adoçadas, produzidas em alambique de cobre, apresentaram no espectro ESI(-)-MS, três íons característicos: os íons de $m/z = 143$, $m/z = 171$, $m/z = 199$ (FIG. 3.1).

Os íons $m/z = 143$, 171 e 199 caracterizam cachaças recém-alambicadas; e foram relacionados às formas desprotonadas de ácidos carboxílicos de cadeia linear $[\text{RCO}_2]^{-}$, isto é, C_8 (ácido octanóico), C_{10} (ácido decanóico) e C_{12} (ácido dodecanóico); respectivamente (SOUZA *et al.*, 2009).

Com o objetivo de avaliar se adição de açúcar interfere no “Fingerprint” das cachaças após a redestilação; adicionou-se açúcar refinado comercial, em uma concentração de 20 g L^{-1} às cachaças produzidas em alambique de cobre. Estas cachaças foram submetidas redestilação e após este processo adquiriu-se os espectros ESI(-)-MS das amostras.

As cachaças redestiladas adoçadas apresentaram espectros ESI(-)-MS semelhantes às cachaças redestiladas não adoçadas, apresentando os mesmos três íons característicos: os íons de $m/z = 143$, $m/z = 171$, $m/z = 199$ (FIG. 3.2).

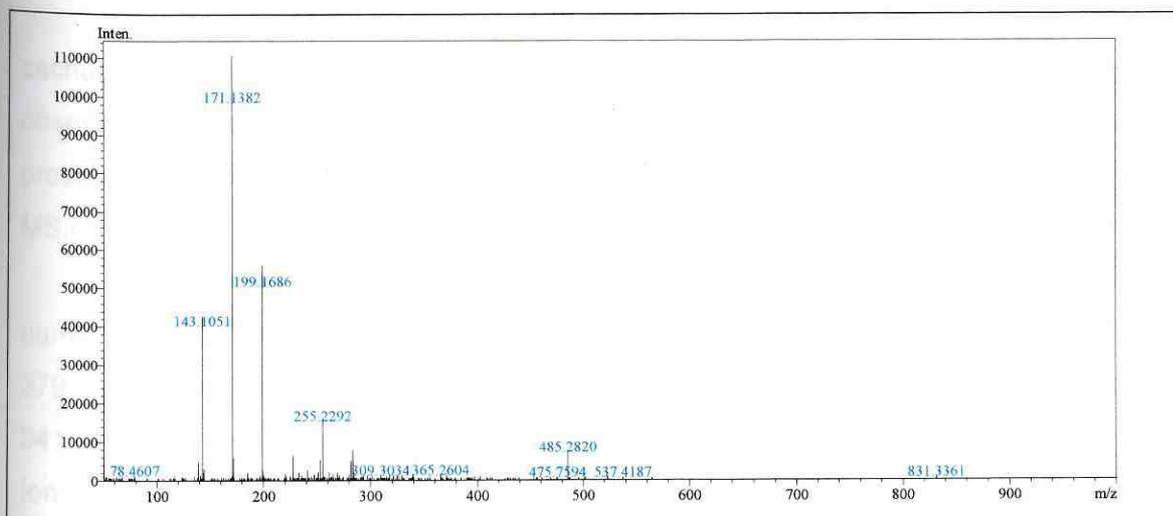


Figura 3.1 - ESI(-)-MS Obtido de Amostra de Cachaça Redestilada, Não Adoçada, Produzida em alambique de Cobre.

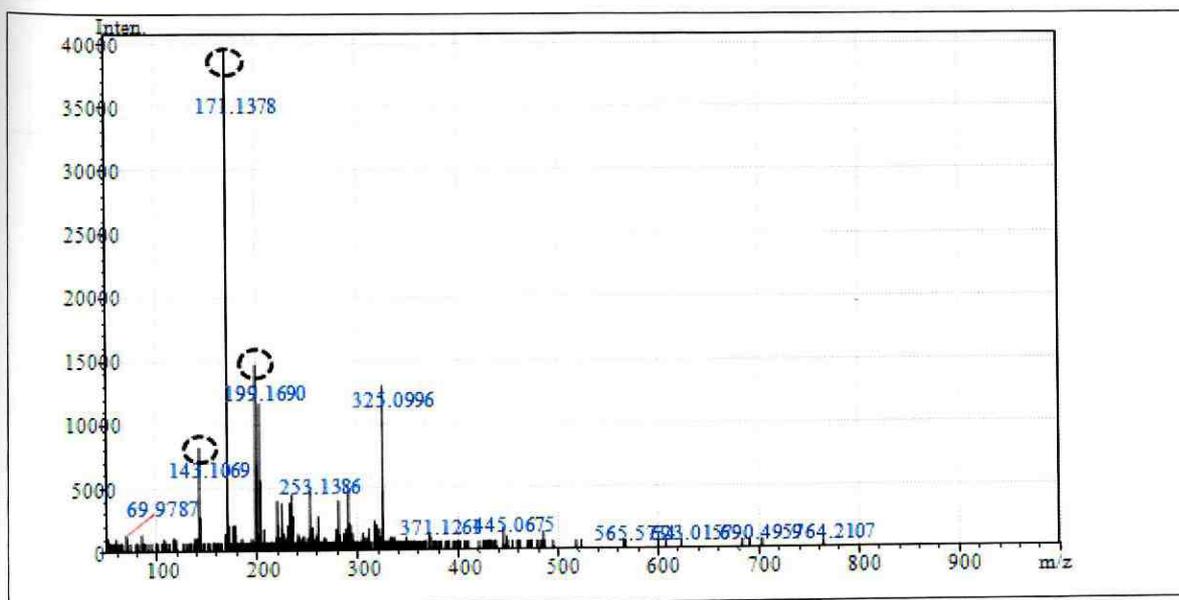


Figura 3.2 -ESI(-)-MS Obtido de Amostra de Cachaça Redestilada, Adoçada, Produzida em Alambique de Cobre.

Propõe que a presença de açúcar nas amostras de cachaça não interfere na aquisição de espectros ESI(-)-MS, se essas sofrerem um processo de redetilação.

3.3.2 "Fingerprint" das Cachaças Produzidas em Coluna de Inox Redestiladas

Na FIG. 3.3 é apresentado o espectro de massas, ESI(-)-MS, obtido de cachaças adoçadas de coluna inox redestiladas. Analisando os "fingerprint", observou-se que este se assemelha com "fingerprint" apresentados para a cachaça produzidas em alambique de cobre redestiladas, apresentando no espectro ESI(-)-MS, os mesmos íons característicos: os íons de $m/z = 143$, $m/z = 171$, $m/z = 199$.

SOUZA *et al* (2009) estudando cachaças adoçadas produzidas em aço inox numa "janela" de $m/z = 100$ a 600 identificam a presença dos íons $m/z = 341$, 377 e 379, como característicos de cachaças produzidas em coluna de inox. O íon $m/z = 341$ corresponde à forma desprotonada da sacarose [sacarose-H]⁻; enquanto que os íons $m/z = 377$ e 379, correspondem aos adutos da sacarose com o cloreto, produzindo [sacarose + ³⁵Cl]⁻ e [sacarose + ³⁷Cl]⁻. Os adutos de sacarose e cloro são formados pelas interações não-covalentes entre o cloreto e grupos hidroxila presentes em dissacarídeos ou em outras moléculas de estrutura análoga (ZHU & COLE, 2001).

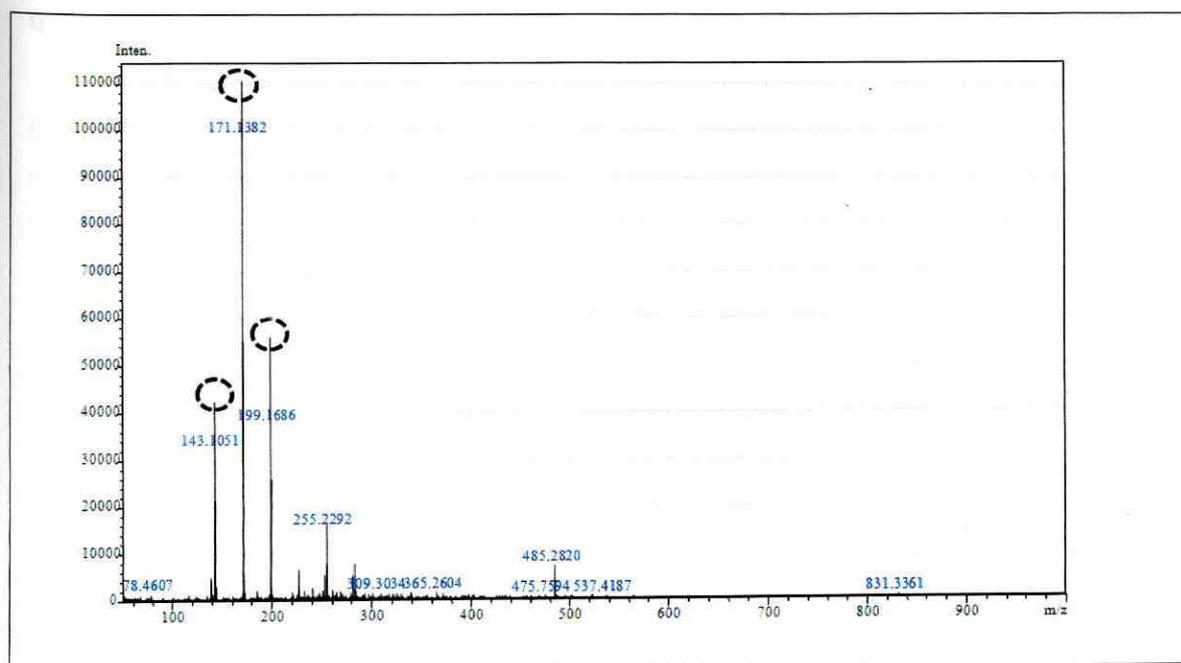


Figura 3.3 - ESI(-)-MS Obtido da Amostra de Cachaça Redestilada, Adoçada, Produzida em Coluna de Aço Inox

Sugere-se que a redestilação das cachaças retirou das amostras a sacarose suprimindo os íons relacionados a este açúcar no "fingerprint" das cachaças produzidas em coluna de inox.

3.3.3 Análise de Componentes Principais (PCA)

Os dados foram submetidos à Análise de Componentes Principais (PCA), com o objetivo de verificar se há variações entre as amostras de cachaças redestilada, quanto aos espectro de massas, ESI(-)MS.

De acordo com REGAZZI (2001), a importância de um componente principal é avaliada por meio de sua contribuição, isto é, pela proporção de variância total explicada pelo componente. Com essa informação podemos decidir quantos componente vamos usar na análise, isto é, quantos componentes serão utilizados para diferenciar os indivíduos.

Vinte e três componentes principais explicaram 100% da variância total (FIG. 3.3.). Para uma melhor discussão dos resultados foram consideradas na composição do gráfico as três primeiras componentes principais. As porcentagens de variância total, explicadas pelos componentes principais (CPs), foram 18,86% para primeira componente, 11,80% para a segunda e 11,52% para a terceira, os quais retém juntos 42,18% da variância total (FIG. 3.4.).

Os escores (íons presentes no espectro ESI(-)-MS) determinam a posição de cada amostra em relação aos três primeiros componentes principais. A pequena diferenciação espacial entre as amostras de cachaça demonstram a similaridade dos "Fingerprint" das cachaças estudadas após a sua redestilação, não permitindo a formação de grupos distintos.

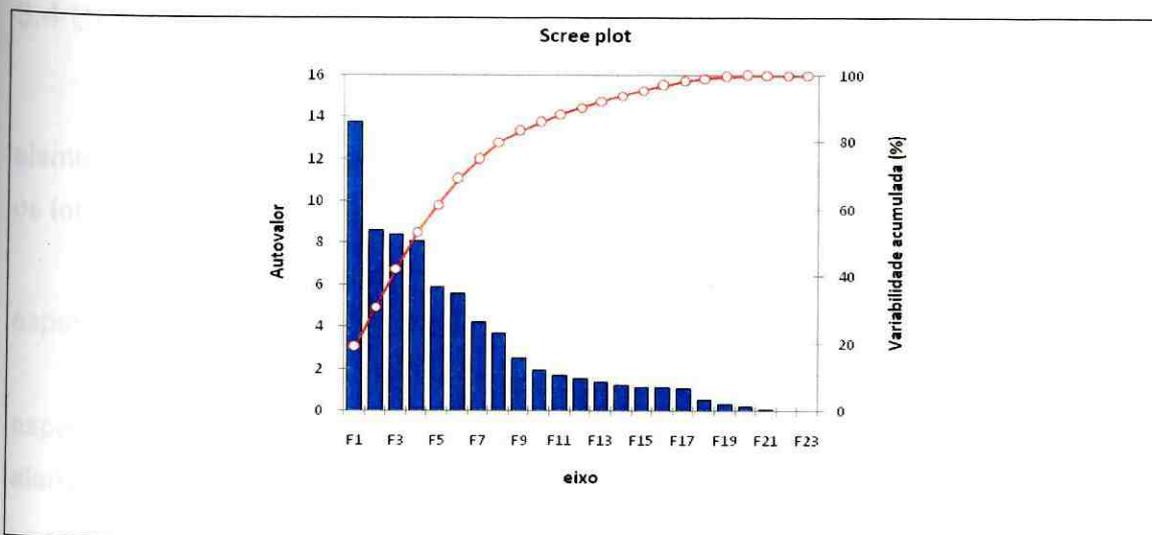


Figura 3.4- Gráfico de Autovalores e Importância Relativa dos Componentes Principais.

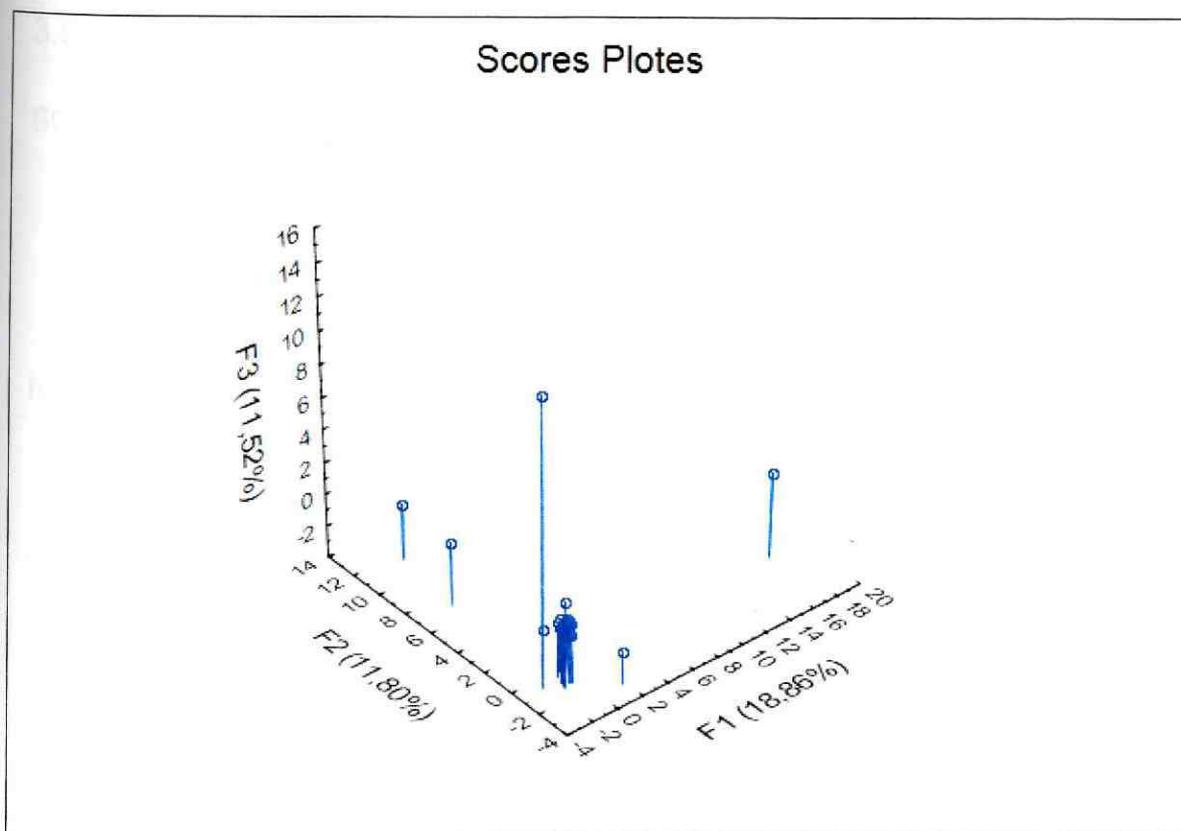


Figura 3.5- Gráfico de Escores para as Amostras de Cachaça Redestiladas Produzidas em Alambique e em Colunas de Aço Inox a Partir dos Dados Dos Espectros ESI(-)-MS das Amostras.

3.4 CONCLUSÃO

As cachaças redestiladas não adoçadas e não adoçadas, produzidas em alambique de cobre, apresentaram no espectro ESI(-)-MS, três íons característicos: os íons de $m/z = 143$, $m/z = 171$, $m/z = 199$.

A presença de açúcar nas amostras de cachaça não interfere na aquisição de espectros ESI(-)-MS, se essas sofrerem um processo de redetilação.

As cachaças redestiladas produzidas em coluna de inox apresentaram no espectro ESI(-)-MS os mesmos íons característicos das cachaças produzidas em alambique de cobre e redestiladas: os íons de $m/z = 143$, $m/z = 171$, $m/z = 199$.

A análise de componentes confirmou a similaridade dos "*Fingerprint*" das cachaças estudadas após a sua redestilação, não permitindo a formação de grupos distintos.

3.5 BIBLIOGRAFIA

- SOUZA, P.P.; OLIVEIRA, L.C.A.; CATHARINO, R. R.; EBERLIN, M.N.; AUGUSTI, D.V.; SIEBALD, H.G.L. ; AUGUSTI, R. Brazilian cachaça: Single shot typification of fresh alembic and industrial samples via electrospray ionization mass spectrometry fingerprinting. **Food Chemistry**, v. 115, p. 1064–1068, 2009.
- REGAZZI, A. J. INF 766 - **Análise Multivariada**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas. Departamento de Informática, 2001. 166p.
- ZHU, J. & COLE, R.B. Ranking of gas-phase acidities and chloride affinities of monosaccharides and linkage specificity in collision-induced decompositions of negative ion electrospray-generated chloride adducts of oligosaccharides. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v.12, n.11 , p. 1193–1204, nov. 2001.

CAPÍTULO 4 - AVALIAÇÃO SENSORIAL DE CACHAÇAS DESTILADAS EM ALAMBIQUE DE COBRE E EM COLUNA DE INOX

RESUMO

A cachaça de alambique é obtida por destilação descontínua em alambiques de cobre; que funcionam como reatores químicos, favorecendo a formação de alguns componentes voláteis no produto final, os quais podem contribuir para a melhoria na qualidade sensorial da bebida. Na fabricação de cachaça industrial, há um volume maior de produção e a destilação é realizada de forma contínua em colunas de aço inox. Neste trabalho foi investigada a aceitação de seis amostras de cachaça, sendo três de alambique e três de coluna; o perfil sensorial e as suas características físico-químicas. A avaliação sensorial foi realizada com 48 provadores não treinados, consumidores habituais da bebida, adotando-se um delineamento de blocos completos balanceados casualizados. Os provadores avaliaram os atributos sensoriais de impressão global, aroma e sabor das amostras utilizando escala hedônica estruturada de nove pontos, na qual os extremos representavam "gostei muitíssimo" (9) (nove), 5 (cinco) "não gostei, nem desgostei" e 1 (um) "desgostei muitíssimo". Os resultados do Teste de Aceitação foram avaliados por Análise de Variância Univariada (ANOVA) e Teste de Comparação de Médias de Tukey; não sendo detectadas diferenças significativas ($p \geq 0,05$) entre as amostras para as características sensoriais avaliadas. As notas atribuídas à impressão global, aroma e sabor foram também analisadas através do Histograma de Frequência. Às cachaças destiladas em alambique de cobre foi atribuído um número maior de notas na região de aceitação em relação à impressão global, aroma e sabor, o que sugere que estas foram mais aceitas que as cachaças produzidas em coluna. Foi construído o Mapa de Preferência Interno e uma segmentação em dois grandes grupos de marcas pode ser observada: um localizado a esquerda do espaço sensorial afetivo do MDPREF, referente as amostras destiladas em alambique de cobre um localizado a direita, referente as amostras destiladas em coluna de inox. Na ADQ, foram avaliados 12

atributos. Os dados gerados na ADQ, as análises físico-químicas e aceitação foram usados na elaboração do mapa de preferência externo, entretanto este não permitiu agrupar as amostras de cachaça quanto ao modo de destilação. As cachaças destiladas em alambique foram as mais aceitas de acordo com os MDPREF.

4.1 OBJETIVOS

Verificar a aceitação das cachaças destiladas em alambique de cobre e em coluna de inox e compor o Mapa de Preferência Interno. Descrever as características sensoriais das cachaças, compor mapas de Mapas Externos de Preferência correlacionando descritores sensoriais e aceitação global e características químicas e aceitação global.

4.2 MATERIAIS E MÉTODOS

4.2.1 Material

Foram analisadas três marcas de cachaça mineira de alambique de cobre, produzidas no estado de Minas Gerais (MG). Duas delas produzidas na região central do estado detentoras do selo da Associação Mineira dos Produtores de Cachaça de Qualidade (AMPAQ) e uma terceira sem certificação desta Instituição produzida na região de Salinas/MG. Também foram analisadas três marcas de cachaça industrial destiladas em coluna de aço inox, sendo duas produzidas em São Paulo e uma no Paraná, comercializadas na cidade de Belo Horizonte (MG). As amostras eram de cachaças, recém-destiladas, ou seja, não foram submetidas ao envelhecimento; exceto uma produzida em Minas Gerais e uma produzida em São Paulo, que foram descansadas em tonéis de madeira, de acordo com as informações de rotulagem. Todas as cachaças foram adquiridas no comércio local de Belo Horizonte.

4.2.2 Análises Químicas

4.2.2.1 Determinação dos Açúcares Totais (ART)

Para a determinação dos açúcares na cachaça, foi utilizada a metodologia do DNS (ácido 3,5 dinitrossalicílico) desenvolvida por MILLER (1959). Como a cachaça contém açúcares não redutores como a sacarose, esta determinação foi precedida de uma hidrólise ácida, para conversão da sacarose em açúcares redutores. Uma alíquota de 2 mL da amostra foi transferida para frasco de erlenmeyer de 25 mL e adicionou-se 5 mL de ácido clorídrico 2 mol L⁻¹. O frasco foi colocado em banho-maria a 70° C durante 30 minutos. Em seguida foi resfriado e seu conteúdo neutralizado com 5 mL de hidróxido de sódio 2 mol L⁻¹. Transferiu-se a amostra para um balão volumétrico de 100 mL e o volume completado com água destilada.

Quando necessárias outras diluições foram feitas nas amostras, para que a concentração das mesmas estivesse dentro da faixa de linearidade da curva de calibração (MILLER, 1959).

4.2.2.2 Teor Alcoólico

Determinado após a destilação das amostras de acordo com a massa específica do destilado a 20 °C. A massa específica foi determinada no densímetro automático calibrado, modelo DMA 450, marca Anton Paar (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008)

4.2.2.3 Acidez Volátil

Para a análise da acidez volátil amostra foi destilada e em seguida foi realizada uma titulação de neutralização dos ácidos com solução padronizada de álcali, com o uso de indicadores de fenolftaleína até o ponto de equivalência. Foram transferidos 50 mL de cada uma da amostra destilada, para um frasco erlenmeyer de 500 mL, adicionados 0,5 ml do indicador fenolftaleína e titulado com solução de hidróxido de sódio padrão 0,01M até o surgimento de coloração rósea.

4.2.2.4 Análises Cromatográficas

As avaliações dos teores de aldeídos, ésteres, metanol e alcoóis superiores foram realizadas por cromatografia gasosa no Laboratório de Análises Químicas/CETEC. O equipamento utilizado foi o modelo Autosystem XL, cromatógrafo a gás com detector de ionização em chama, injetor tipo *split/splitless*. A coluna utilizada WAX, (sílica fundida-fase estacionária: polietilenoglicol). (30 m x 0,32mm x 0,25µm). A Temperatura na coluna foram as seguintes: temperatura inicial de 35 °C por 5 minutos e gradiente de 10 °C por minuto até 100 °C, permanecendo nesta temperatura por 10 minutos. As condições cromatográficas foram: sistema de injeção - *split*; temperatura do injetor - 200 °C; temperatura no detector - 250 °C; gás carreador - hélio; fluxo - 1 mL/min, o tempo total de corrida foi de 20 minutos. Para cada analito foi construída uma curva padrão utilizando reagentes (PA/ marca Merck) em oito concentrações diferentes. As curvas foram obtidas relacionando as concentrações com as diferentes áreas obtidas pelo cromatograma. Realizou-se regressão linear e obteve uma equação com $R^2 \geq 0,99$.

4.2.3 Teste de Aceitação

O Teste de aceitação foi realizado com quarenta e oito provadores não treinados (STONE; SIDEL, 1993) no Laboratório de Análise Sensorial e Estudo de Consumidor (LASEC) do Departamento de Alimentos (ALM), da Faculdade de Farmácia (FAFAR) da UFMG, através do delineamento de blocos completos casualizados (MACFIE et al., 1989) com codificação aleatória de três dígitos. Os testes foram conduzidos em cabines individuais, sob luz branca, e as amostras foram apresentadas monadicamente em três sessões, sendo duas amostras por sessão. Entre o consumo das amostras eram oferecidos água e biscoito tipo água, com o intuito de limpar o palato dos consumidores. A limitação de duas amostras por sessão se deve ao fato da cachaça ser um produto alcoólico, e se consumida em excesso compromete a avaliação do provador, e pode ocasionar efeitos tóxicos. Este trabalho foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa (COEP/UFMG) e aprovado (Parecer n. ETIC 161/08), os participantes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecimento (TCLE) conforme Anexo 1. Os consumidores foram recrutados entre estudantes e funcionários da Faculdade de Farmácia/UFMG, sendo realizado por meio de questionário (Anexo 2), com o objetivo de obter informações a respeito das condições de saúde, da disponibilidade de tempo e do hábito de consumo de bebidas alcoólicas e cachaça. Os provadores receberam 10 mL de cada amostra à temperatura ambiente, em taças tampadas com filme plástico. Foram avaliados os atributos: impressão global, aroma e o sabor das amostras utilizando uma ficha formulário próprio/específico (Anexo 3) com a escala hedônica estruturada de nove pontos, na qual os extremos representavam "gostei muitíssimo" (9) (nove) indica "gostei muitíssimo", 5 (cinco) "não gostei, nem desgostei" e 1 (um) "desgostei muitíssimo" (PERYAM; PILGRIM, 1957). Os participantes pertenciam principalmente do sexo masculino (69%) com idade entre 18 e 50 anos, pertencentes a comunidade da FAFAR/UFMG (alunos, professores, funcionários).

4.2.4 Análise Descritiva Quantitativa

O perfil sensorial das amostras de cachaça foi realizado através do método da Análise Descritiva Quantitativa (ADQ), segundo STONE *et al.* (1974). A ADQ foi realizada no Laboratório de Análise Sensorial do Centro Universitário de Belo

Horizonte (UNI-BH). Este trabalho foi submetido ao COEP/UFMG (Comitê de Ética em Pesquisa) e aprovado (Parecer n. ETIC 161/08), os participantes assinaram um termo de consentimento e esclarecimento sobre a pesquisa (anexo 4).

4.2.4.1 Pré-Seleção de Provadores

Para fazer parte deste estudo foram convidados alunos do curso de engenharia de alimentos, engenharia química e funcionários do UNI-BH. Inicialmente, realizou-se uma reunião para esclarecer os objetivos gerais dos testes, a frequência dos testes e a necessidade de seleção e treinamento. Dos vinte e um candidatos a provadores submetidos a um questionário (anexo 2) e entrevista pessoal (MEILGAARD *et al.*, 1999), apenas 16 apresentaram afinidade face ao produto, disponibilidade de tempo, interesse em participar dos testes e condições ligados à saúde e hábitos

Os candidatos foram então pré-selecionados para o desenvolvimento de terminologia descritiva das cachaças observando o poder discriminatório. O poder discriminativo de cada julgador foi avaliado por Teste Triangular (ASTM,1981) através da Análise Sequencial de Wald (SHIROSE, 1977). A cada julgador foram servidas três amostras de bebidas sendo duas iguais e uma diferente. Foram realizadas doze sessões, nas quais os provadores foram solicitados a identificar a amostra diferente quanto ao teor alcoólico, a concentração de açúcar e a marca, utilizando ficha de avaliação (FIG. 4.1).

Nome _____		Data _____	
Instruções:			
1) Prove, da esquerda para a direita, as três amostras da tríade;			
2) Indique, amostra diferente e assinale a resposta com o código respectivo na tabela seguinte:			
Tríade		Qual é a amostra diferente?	

Figura 4.1- Ficha de Avaliação – Teste Triangular.

Os candidatos realizaram os testes triangulares até que fossem aprovados ou reprovados segundo os parâmetros pré-fixados:

ρ_0 = máxima habilidade aceitável = 0,33

ρ_1 = mínima habilidade aceitável = 0,66

α = probabilidade de aceitar candidato sem acuidade = 0,05

β = probabilidade de rejeitar candidato com acuidade = 0,05

As retas de aceitação e de rejeição obtidas para a seleção dos julgadores foram: $L_0 = -2,144 + 0,494n$ e $L_1 = 2,15 + 0,50n$, como demonstra a **FIG. 4.2**.

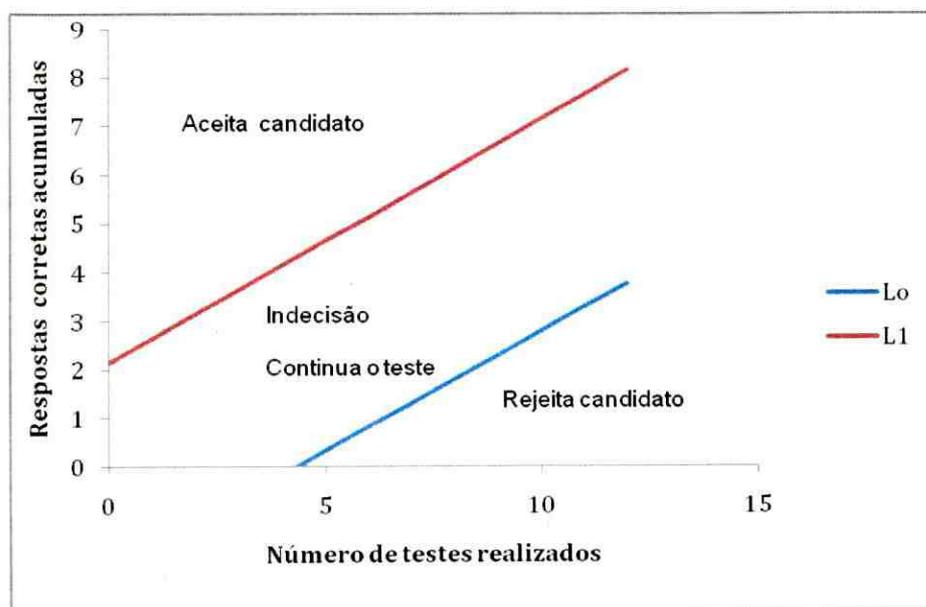


Figura 4.2-Gráfico Utilizado na Análise Sequencial para a Pré-seleção de Julgadores

4.2.4.2- Desenvolvimento da Terminologia Descritiva

O levantamento dos descritores foi realizado utilizando todas as seis amostras de cachaça, apresentadas de forma monádica, aos provadores era solicitado que descrevessem as amostras utilizando como referência uma lista de atributos apresentados (**FIG. 4.3**). Utilizou-se 10 mL das amostras de bebidas, servidas em taças "champagne flute" de vidro transparente de 180 mL, série 7809, Gallant da marca Nadir. As taças foram tampadas com papel alumínio e codificadas com número aleatório de três dígitos.

AMOSTRA _____

Marque uma das opções SIM (para o que sente) ou NÃO (para o que não sente), de cada atributo verificado na amostra. Caso exista um outro atributo que você tenha percebido e não consta na lista, por favor, descreva-o.

APARÊNCIA:

Coloração Amarela SIM NÃO

Outros atributos percebidos _____

AROMA:

Alcoólico SIM NÃO

Adocicado SIM NÃO

Irritante SIM NÃO

Amadeirado SIM NÃO

Caldo de Cana SIM NÃO

Baunilha SIM NÃO

Caldo de cana SIM NÃO

Outros atributos percebidos _____

SABOR:

Doce SIM NÃO

Alcoólico SIM NÃO

Amadeirado SIM NÃO

Ácido SIM NÃO

Amargo SIM NÃO

Caldo de cana SIM NÃO

Fenólico SIM NÃO

Frutal SIM NÃO

Floral SIM NÃO

Gramma verde SIM NÃO

Sulfuroso SIM NÃO

Caramelo SIM NÃO

Metálico SIM NÃO

Outros atributos percebidos _____

SABOR RESIDUAL:

Doce SIM NÃO

Alcoólico SIM NÃO

Amadeirado SIM NÃO

Outros atributos percebidos _____

SENSAÇÕES:

Ardência SIM NÃO

Agressividade SIM NÃO

Adstringência SIM NÃO

Outros atributos percebidos _____

Figura 4.3- - Lista de Atributos (Referência).

Após a obtenção dos descritores foram realizadas discussões em grupo, sob a supervisão de um moderador, com os objetivos de definir os descritores, eliminar

aqueles que não eram percebidos pela maioria dos julgadores e estabelecer os pontos âncoras. Após definição da terminologia descritiva pelos julgadores foi elaborada uma ficha de avaliação a ser utilizada na aplicação da ADQ (anexo 5). Utilizou-se uma escala não estruturada de 9 cm, com os pontos âncoras à esquerda representando ausente, fraco ou pouco e à direita forte ou muito forte para cada atributo. Os julgadores foram instruídos a indicar com um traço vertical, sobre a linha da escala, o ponto que melhor representava a sensação percebida de cada atributo. O escore atribuído a cada característica sensorial é a medida da distância que vai da extremidade esquerda até o risco vertical na escala, detectada pelo provador. Para melhor uniformizar o julgamento dos provadores foi desenvolvido um glossário (FIG. 4.4).

GLOSSÁRIO DE ATRIBUTOS SENSORIAIS PARA CACHAÇA

SENSAÇÃO NASAL

Irritante - É o impacto irritante e agressivo na mucosa nasal.

AROMA

Alcoólico - É o aroma característico de etanol.

Amadeirado - Aroma característico de cachaças envelhecidas em tonéis de carvalho.

Caldo de Cana - Aroma característico de cana de açúcar.

Mosto Fermentado - Aroma característico de mosto fermentado.

SENSAÇÃO NA BOCA

Ardência - Sensação ardente percebida na língua e na garganta.

SABOR

Alcoólico - É o sabor característico de soluções alcoólicas.

Adocicado - É o gosto doce percebido pelas papilas gustativas.

Acidez - É o gosto ácido percebido pelas papilas gustativas.

Amargor - É o gosto amargo, característico de cafeína.

Amadeirado - É o sabor característico cachaças envelhecidas em tonéis de carvalho.

SABOR RESIDUAL

Alcoólico - Sabor de álcool que permanece por um período de tempo após ingestão de uma determinada substância.

Gosto residual Amargo - É o amargor que permanece por um período de tempo após ingestão de uma determinada substância.

SENSAÇÃO RESIDUAL

Ardência - Sensação ardente percebida na língua e na garganta.

Figura 4.4- Definições dos Termos Descritivos.

4.2.4.3 Treinamento e Seleção Final de Julgadores

O treinamento dos julgadores constou da apresentação de cada atributo em triplicata para que os provadores conhecessem as amostras referências (**FIG. 4.5**) dos extremos da escala e, assim, fossem capazes de discriminar os tratamentos e ter repetibilidade das suas respostas nas amostras.

ATRIBUTOS	REFERÊNCIAS
	SENSAÇÃO NASAL
Irritante	Fraco: Etanol a 20% Forte: Etanol a 50%
	AROMA
Alcoólico	Fraco: Etanol a 20% Forte: Etanol a 50%
Amadeirado	Fraco: Etanol a 20% Forte: Cachaça envelhecida em carvalho Premium marca "NEGA FULÔ"
Cana	Fraco: Etanol a 20% Forte: Solução com 50% de suco de cana e 50% de cachaça
	SENSAÇÃO NA BOCA
Ardência	Fraco: Etanol a 20% Forte: Etanol a 50%
	SABOR
Alcoólico	Fraco: Etanol a 20% Forte: Etanol a 50%
Adocicado	Fraco: álcool de cereais a 20% Forte: álcool de cereais a 20% %+ 5% de sacarose
Amargo	Fraco: álcool de cereais a 20% Forte: álcool de cereais a 20% %+ 0,4% de cafeína
Amadeirado	Ausente: álcool de cereais a 20% Forte: Cachaça envelhecida em carvalho Premium marca "NEGA FULÔ"
Ácido	Fraco: álcool de cereais a 20% Forte: álcool de cereais a 20% %+ 1% de ácido cítrico
	SABOR RESIDUAL
Alcoólico	Fraco: Etanol a 20% Forte: Etanol a 50%
Gosto res. Amargo	Fraco: álcool de cereais a 20% Forte: álcool de cereais a 20% %+ 0,4% de cafeína
	SENSAÇÃO RESIDUAL
Ardência	Fraco: Etanol a 20% Forte: Etanol a 50%

Figura 4.5- Amostras Referências.

Na avaliação do treinamento dos provadores foram utilizadas três amostras de cachaças comerciais com diferentes concentrações de açúcar. Os julgadores utilizaram a própria Ficha de Avaliação desenvolvida na etapa anterior, sendo-lhes permitido consultar, a qualquer momento de sua análise, a lista de definições e as referências. Foi realizada uma análise de variância (ANOVA) considerando três

fontes de variação (amostra, provador e interação amostra x provador) para cada atributo e outra ANOVA com duas fontes de variação (amostra e provador) para cada atributo e para cada provador. As características que validaram o treinamento foram: o poder de discriminação entre as amostras ($p(F) < 0,50$) e repetibilidade ($p(F) > 0,05$), sendo permitido que houvesse pelo menos um $p(F)_{amostra} \geq 0,50$ ou um $p(F)_{repetição} \leq 0,05$.

4.2.4.4 Avaliação das Amostras

Os julgadores avaliaram as seis amostras de cachaça, em três repetições. A análise das amostras foi realizada através da ficha de avaliação desenvolvida anteriormente, por meio de uma escala linear não estruturada de 0 - 9 cm para cada descritor. Os testes foram conduzidos em cabines individuais sob luz branca e as amostras servidas em taças "champagne flute" de vidro transparente de 180 mL, série 7809, Gallant da marca Nadir. As taças foram tampadas com e codificadas com número aleatório de três dígitos. Para eliminar o sabor residual entre uma amostra e outra foram oferecidos água natural sem gás a temperatura ambiente e torradas.

4.2.5 Análise Estatística dos Resultados

Os resultados do teste de aceitação foram avaliados por Análise Estatística Univariada ou Análise de Variância (ANOVA) seguida de comparação de médias de Tukey.

Avaliaram-se dados hedônicos, através da análise de frequência. Na escala hedônica, a categoria "nem gostei e nem desgostei" (valor 5) é considerada como uma região de indiferença da relação afetiva do provador com o produto, dividindo a escala em outras duas regiões, tais como, a região de aceitação (valores de 6 a 9) e a região de rejeição do produto (valores de 1 a 4).

Foi realizada a correlação de Pearson entre os parâmetros físico-químicos e a porcentagem de notas na região de aceitação quanto a impressão global das amostras.

Os resultados da ADQ foram submetidos à ANOVA de dois fatores para avaliar se houve diferença sensorial entre as amostras estudadas ao nível de significância de 95%. Seguida pelo teste de comparação de médias de Tukey.

Adicionalmente, os dados da análise sensorial de aceitação, da análise descritiva quantitativa e os dados da análise química foram analisados também por análises estatísticas multivariadas (Mapa de Preferência Interno, Mapas Externo de Preferência), utilizando o software XLSTAT[®] - 2012, do programa Excel.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Características Físico-Químicas das Cachaças

Os teores encontrados nas seis marcas de cachaça em relação aos parâmetros físico-químicos são apresentados na **Tabela 4.1**.

Segundo a Legislação Brasileira (BRASIL, 2002), a cachaça que contiver açúcares em quantidade superior a seis e inferior a trinta gramas por litro será denominada cachaça adoçada. As cachaças destiladas em coluna de inox (marcas 4, 5 e 6) são de acordo com a legislação brasileira, cachaças adoçadas, sendo que essa informação estava presente em seus rótulos.

A Instrução Normativa Nº 13 do MAPA (Ministerio da Agricultura, Pecuaria e Abastecimento) (BRASIL, 2005) estabelece uma concentração máxima de acidez volátil, expressa em ácido acético de $150 \text{ mg}/100 \text{ mL}^{-1}$ álcool etílico anidro. Neste estudo, todas as amostras apresentaram teores de acidez volátil dentro dos limites permitido, pela a legislação.

De um modo geral, as cachaças apresentaram uma acidez volátil baixa, por serem cachaças não envelhecidas; uma maior acidez volátil foi encontrada na cachaça 3 provavelmente devido ao fato desta ser descansada em tonéis de madeira.

A legislação mantém elevado o limite máximo de acidez volátil visando proteger a aguardente envelhecida, cuja acidez sempre aumenta com o decorrer do período de envelhecimento. Desse modo, uma aguardente de baixa acidez inicial pode revelar seu grau de maturação pelo aumento da acidez volátil. Isso, todavia, não desqualifica o produto no aspecto sensorial pelo conjunto agradável que forma com outros componentes (MIRANDA *et al.*, 2008).

O aumento na acidez das cachaças durante o armazenamento pode ser explicado pela reação de oxidação do etanol, a qual contribui para a formação de

acetaldeído, o qual, por sua vez, conduz à formação de ácido acético (LITCHEV, 1989).

A Instrução Normativa n. 13, de 29 de junho de 2005 (Brasil, 2005), alterou o limite máximo permitido para os álcoois superiores de 300 para 360 mg 100 mL⁻¹ álcool etílico anidro, permitindo o comércio de uma bebida mais "encorpada". Os valores dos alcoóis superiores foram obtidos pela soma dos alcoóis iso-butílico (2-metil propanol), iso-amílicos (2-metil -1-butanol e 3-metil-1-butanol) e propílico (1-propanol). Apenas uma cachaça de coluna de inox (marca 5) e uma cachaça destilada em alambique (marca 3) excederam o limite máximo permitido pela legislação atual, sendo que em todas as demais cachaças os teores de alcoóis superiores apresentavam-se dentro dos limites estipulados pela legislação.

Os demais parâmetros físico-químicos analisados encontram-se em concordância com a legislação vigente

TABELA 4.1- Composição físico-químicas das cachaças de alambique e coluna

CACHAÇA	ALAMBIQUE			COLUNA			INSTRUÇÃO NORMATIVA/ MAPA (Ministerio da Agricultura, Pecuaria e abastecimento)
	Marca 1	Marca 2	Marca 3	Marca 4	Marca 5	Marca 6	
Amostra	1	2	3	4	5	6	
Açúcar totais (g/1000mL)	ND	ND	ND	17,6 ^b	26,6 ^a	21,5 ^b	0-30g/1000mL
Teor alcoólico %	39,1 ^f	42,9 ^b	46,3 ^a	40,1 ^e	40,6 ^c	40,7 ^d	38 a 48 %
Acetaldeído ou etanal (mg/100mL álcool anidro)	7,03 ^d	15,3 ^a	15,6 ^a	11,8 ^c	6,82 ^d	14,5 ^b	Máx. 30mg/100mL de álcool anidro
Acetato de etila ou etanoato de etila (mg/100mL álcool anidro)	75,4 ^a	15,4 ^b	70,3 ^a	21,6 ^b	22,7 ^b	16,8 ^b	Máx. 200mg/100mL de álcool anidro
Álcool n-butanol ou butanol (mg/100mL de etanol)	1,10 ^b	0,83 ^d	0,98 ^c	1,28 ^a	1,07 ^{bc}	1,29 ^a	Máx. 3mg/100mL
Álcool 2-butanol ou 2- butanol (mg/100mL de etanol)	2,29 ^b	0,02 ^e	1,88 ^c	1,12 ^d	9,94 ^a	0,12 ^e	Máx.10mg/100mL
Álcool isomálico ou o somatório 2-metil -1-butanol e 3-metil-1-butanol (mg/100mL de etanol)	171,7 ^b	141,2 ^c	153,5 ^c	204,7 ^a	203,8 ^a	192,0 ^a	Máximo 360mg/100mL (somatório de álcool isomalico,propanol e isobutanol)
Álcool propílico ou propanol (mg/100mL de etanol)	54,3 ^e	104,3 ^b	165,2 ^a	67,5 ^d	91,9 ^c	36,1 ^f	
Álcool isobutanol ou 2-metil-1-propanol (mg/100mL de etanol)	67,8 ^b	48,4 ^c	45,9 ^c	59,5 ^b	84,1 ^a	59,2 ^b	
Alcoóis Superiores (mg/100mL de etanol)	293,7 ^c	293,8 ^c	364,5 ^a	331,6 ^b	379,8 ^a	287,3 ^c	
Acidez volátil (mg /100mL de etanol)	32,67 ^c	9,75 ^a	102,6 ^a	23,13 ^d	40,90 ^b	13,25 ^e	Máximo-150mg/100mL de álcool anidro
Metanol (mg/100mL de etanol)	18,65 ^a	ND	19,77 ^a	8,0 ^b	ND	20,0 ^a	Máximo- 50mg /100 mL de álcool anidro

Valores médios em triplicata. ND- Não Detectado. Valores médios seguidos pela mesma letra na mesma linha são significativamente iguais pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

*- cachaças descansadas em tonéis de madeira

4.3.2 Teste de Aceitação e Mapas de Preferência Interno

Na Tabela 4.2, encontram-se apresentadas as médias dos atributos sensoriais obtidas no teste de aceitação. De acordo com a ANOVA, não foram detectadas diferenças significativas ($p > 0,05$) na aceitação das 06 (seis) marcas de cachaça avaliadas pelos 48 consumidores.

Para as seis amostras foram atribuídas pelos provadores médias quanto a impressão global em torno de 6, que corresponde na escala hedônica de nove pontos ao termo "gostei ligeiramente". No entanto, a simples média de aceitação, quando existem consumidores com atitudes opostas frente as diferentes marcas, pode fazer com que as notas de alguns provadores anule as de outros, resultando em médias de aceitação que podem não apresentar diferença significativa entre si (DORNELLES *et al.*, 2009). A adição de açúcar (sacarose) em cachaça objetiva suavizar o sabor e mascarar os possíveis defeitos de fabricação, tornando essa bebida mais agradável sensorialmente (ISIQUE *et al.*, 1998). Entretanto as cachaças que apresentaram açúcar não obtiveram médias mais altas para os atributos estudados.

TABELA 4.2- Médias das notas de aceitação das amostras das cachaças.

Cachaças	Marca	Aroma	Sabor	Impressão global
Destiladas em Alambique	1	6,69 ^a	6,18 ^a	6,08 ^a
	2	6,54 ^a	5,94 ^a	6,00 ^a
	3*	6,96 ^a	5,94 ^a	6,00 ^a
Destiladas em Coluna de Inox	4	6,13 ^a	5,89 ^a	5,77 ^a
	5	6,10 ^a	5,81 ^a	5,73 ^a
	6*	6,29 ^a	5,71 ^a	6,00 ^a

Escala Hedônica estruturada de nove pontos na qual 1 =desgostei muitíssimo e 9=gostei muitíssimo
Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas entre amostras (Teste de Tukey, $p < 0,05$).

Média

Marcas seguidas * são cachaças armazenadas em tonéis de madeira

A avaliação dos dados hedônicos por meio dos Histogramas de Frequência constitui uma alternativa para representar a aceitação e a rejeição dos consumidores em relação aos produtos analisados.

Portanto para melhor visualizar possíveis diferenças na aceitação das amostras, foi construído um histograma da distribuição das frequências das respostas dos provadores quanto ao aroma, o sabor e impressão global. Na escala hedônica de nove pontos, a categoria "nem gostei, nem desgostei" (valor 5) representa a região da indiferença afetiva do consumidor em relação ao produto, ficando a escala dividida então em duas regiões: a região de aceitação (notas de 6 a 9), e a região de rejeição do produto (notas de 1 a 4) (DORNELLES *et al.* 2009).

Na **FIG. 4.6** encontra-se representado a porcentagem das notas individuais de aceitação quanto a impressão global em três regiões: regiões de rejeição (RR), indiferença (RI) e aceitação (RA).

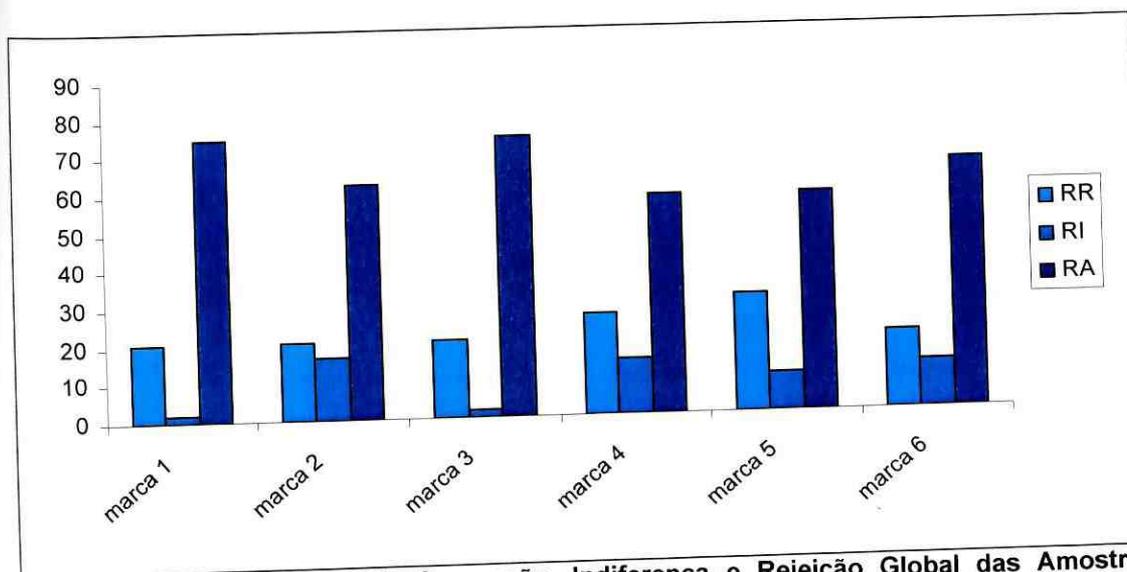


Figura 4.6- Porcentagem de Aprovação, Indiferença e Rejeição Global das Amostras de Cachaça. RR:Região de Rejeição; RI:Região de Indiferença;RA:Região de Aceitação.

Foi realizado correlações entre as porcentagens de aceitação quanto a impressão global e os teores de acetaldeído, acetato de etila, n-butanol, 2-butanol, álcool isoamilico, propílico, isobutanol, alcoóis superiores e acidez volátil.

TABELA 4.3- Coeficiente de correlação de Pearson entre as porcentagens de aceitação quanto à impressão global e resultados das análises físico-químicas

Coeficiente de Correlação de Person	
Acetaldeído	0,119 P= 0,822
Acetato de etila	0,878 * P = 0,021
Álcool n-butanol	-0,222 P = 0,673
Álcool 2-butanol	-0,222 P = 0,673
Álcool isoamílico	-0,476 P = 0,340
Álcool propílico	0,586 P= 0,222
Álcool isobutanol	-0,423 P= 0,403
Alcoóis Superiores	0,193 P = 0,714
Acidez volátil	0,618 P =0, 191
Coeficientes de correlação seguidos * são significativos a 5% de probabilidade	

As cachaças 4 e 5, destiladas em coluna de inox, apresentaram maiores porcentagem de rejeição (27,1% e 31,3% respectivamente), em relação as demais. A amostra 6, destilada em coluna de inox e armazenada em tonéis de madeira, obteve uma rejeição semelhante as cachaças destiladas em alambique de cobre: 20,8%.

As cachaças 1 e 3, destiladas em alambique de cobre apresentaram uma maior percentual de aceitação em relação a impressão global: 75%. Observa-se que apresentaram apenas uma nota cinco, ou seja, indiferença, o que parece indicar que os consumidores se posicionaram com maior segurança pela aprovação ou rejeição destas marcas.

As cachaças 4 e 5 obtiveram menor percentagem quanto a impressão global: 58,3%. As cachaça 2 e 6 apresentaram percentuais intermediários (62,5% 66,7%, quanto a impressão global, respectivamente).

Sugere-se que uma maior percentagem de aceitação destas duas marcas correlaciona-se com seus maiores teores de ésteres. Os teores elevados de ésteres são responsáveis pelo aroma típico, agradável e suave em cachaças, tendo como seu principal representante o acetato de etila que incorpora um aroma agradável de frutas (COLE & NOBLE, 1995).

Entre os compostos quantificados nas cachaças verificou que apenas o acetado de etila apresentou correlação significativa ($p \leq 0,05$) com a porcentagem de aceitação quanto à impressão global ($r = 0,878$).

SILVA (2006), OLIVEIRA (2001) não observaram correlação positiva entre os teores de ésteres e as médias das notas do atributo impressão global analisando cachaças produzidas por diferentes linhagens de *Saccharomyces cerevisiae*. Entretanto estes autores relatam apenas uma correlação positiva entre os teores de propanol e as médias das notas do atributo impressão global. Entretanto BOZA & HORII (1998) e ALMEIDA & BARRETO (1971), observaram que, juntamente com a acidez, os teores de álcool propanol influenciam negativamente na qualidade sensorial da cachaça.

De acordo com COLE & NOBLE (1995) o sabor perceptível em diferentes bebidas alcoólicas é resultante da interação de vários componentes, não sendo devido apenas a um composto de "impacto" e por isto, as correlações entre a aceitabilidade e os teores de componentes químicos podem não explicar a qualidade sensorial de uma bebida.

Propõe que a maior porcentagem de rejeição da cachaça 5, esta relacionada com um maior teor do álcool superior 2- butanol. Segundo MAIA & CAMPELLO (2006), a presença deste álcool está associada a contaminação por bactérias acetobúlicas durante o processo de fermentação, comprometendo a qualidade sensorial da cachaça.

De maneira geral, as cachaças destiladas em alambique de cobre tiveram um maior percentual de notas na região de aceitação em relação a impressão global. Porém entre as cachaças destiladas em coluna de inox, a marca 6, destacou-se,

apresentado um maior percentual de aceitação quanto a impressão global que a amostra 2, destilada em alambique de cobre. Sugere que o descanso desta cachaça em madeira tenha contribuído para uma maior porcentagem de notas na região de aceitação.

De acordo CARDOSO (2006), o armazenamento da cachaça em madeira, contribui para a melhoria das suas características sensoriais, pois torna a bebida mais suave. Podem ocorrer, ainda, reações químicas importantes, como reações de oxidação e esterificação, diminuindo os aromas considerados negativos, como acidez, sabor de álcool e amargor.

Todavia observa-se que a cachaça 3, produzida em alambique de cobre e descansada em madeira não diferiu da amostra 2 apresentando percentagens de aceitação e rejeição global quanto a impressão global semelhantes.

Assim como as cachaças destiladas em alambique de cobre (marcas 1,2,3) obtiveram maiores percentuais de aceitação em relação a impressão global comparativamente àquelas destiladas em coluna de aço inox (marca 4, 5 e 6) os resultados foram semelhantes quando o percentual de aceitação foram calculados em relação ao aroma e sabor das seis cachaças avaliadas, o que parece indicar que as características sensoriais aroma e sabor exercem influência significativa na avaliação da impressão global (aparência, aroma, sabor e textura) (FIG. 4.7 e FIG. 4.8).

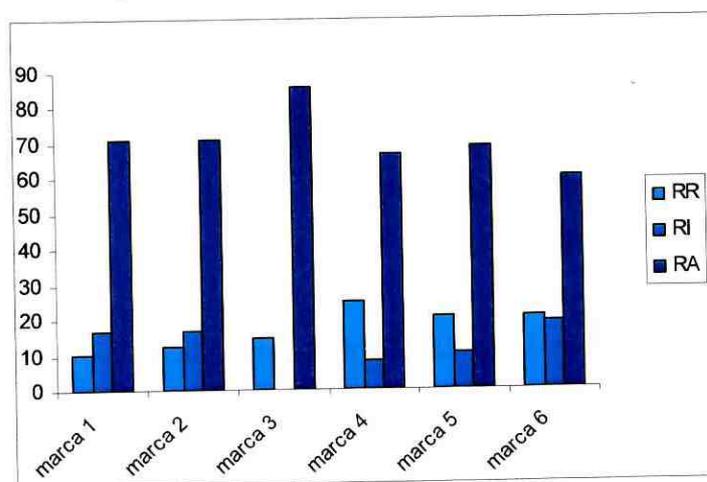


Figura 4.7- Porcentagem de Aprovação, Indiferença e Rejeição do Aroma das Amostras de

Cachaça. RR:Região de Rejeição; RI:Região de Indiferença; RA:Região de Aceitação.

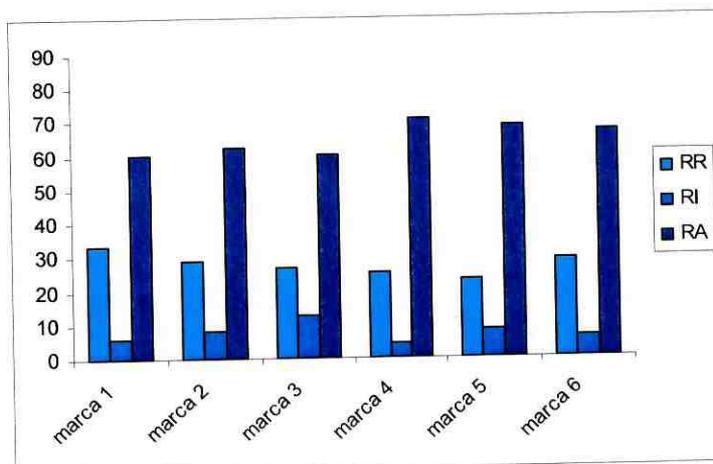


Figura 4.8- Porcentagem de Aprovação, indiferença e Rejeição do Sabor das Amostras de Cachaça. RR:região de rejeição; RI:região de indiferença; RA:região de aceitação.

A avaliação através de testes afetivos é, tradicionalmente, feita por meio de análise de variância e de teste de comparação de médias. Desta forma, para cada produto avaliado obtém-se a média do grupo de consumidores, assumindo que o critério de aceitabilidade dos consumidores seja homogêneo, o que implica que os valores obtidos desta forma podem não refletir a média real. Com isso pode estar ocorrendo perda de importantes informações (MINIM, 2006)

Por esta razão a variabilidade individual dos dados deve também ser considerada, bem como a estrutura dos dados analisada. Tais análises podem ser realizadas pelo método estatístico denominado Mapa de Preferência Interno. Este método possibilita considerar as características individuais dos consumidores nas respostas do teste de aceitação, como dimensões que ocupam posições ortogonais em uma representação gráfica (GREENHOFF & MACFIE, 1994).

Com base nos dados obtidos no teste de aceitação em relação a impressão global das seis marcas de cachaça, foi construído o Mapa de Preferência Interno (MDPREF). A primeira dimensão explicou 30,36% enquanto a o segundo, 26,63% FIG. 4.9 (a) e (b). A variabilidade dos dados foi explicada pela a soma das dimensões (56,99%).

A porcentagem de explicação das duas dimensões (56,99%) é considerada significativa; de acordo com MININ (2006), observam-se diferenças acentuadas com

relação às essas porcentagens; sendo encontrados valores de 32% a 97%. FORLIN (2006) avaliando a maturação de cachaças composta com extrato de madeira em garrafas pet encontrou uma explicação das duas dimensões de 51,27; GUINARD *et al.* (2001) estudando 24 amostras de cerveja relataram uma explicação das duas dimensões de 32,3%; CARDELLO & FARIA (2000) na avaliação de aceitação de aguardentes de cana e BEHRENS *et al.* (1995) na avaliação sensorial de vinhos reportam uma explicação de 89,84% e 45,4 % de explicação (soma das duas dimensão 1 e dimensão 2), respectivamente.

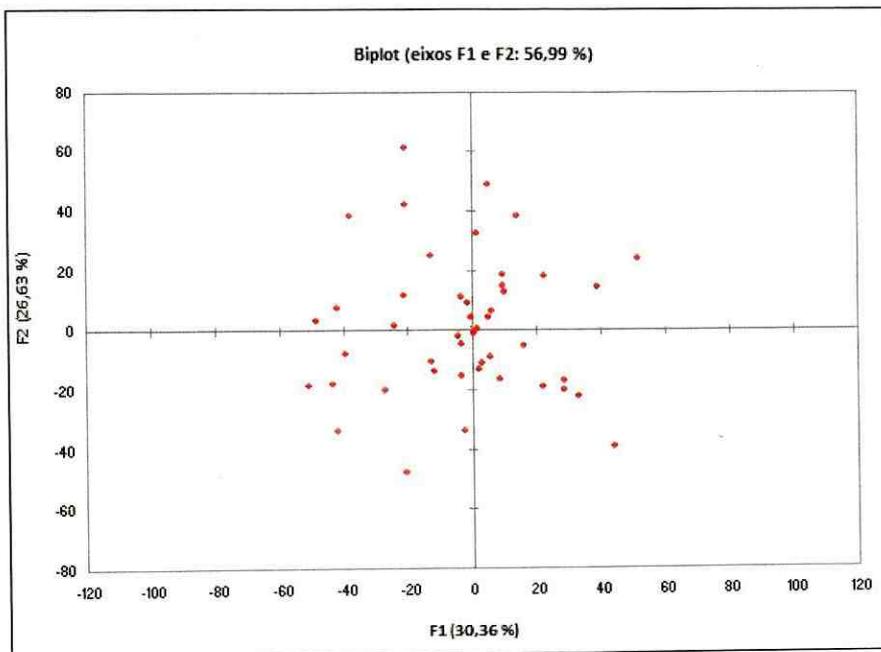
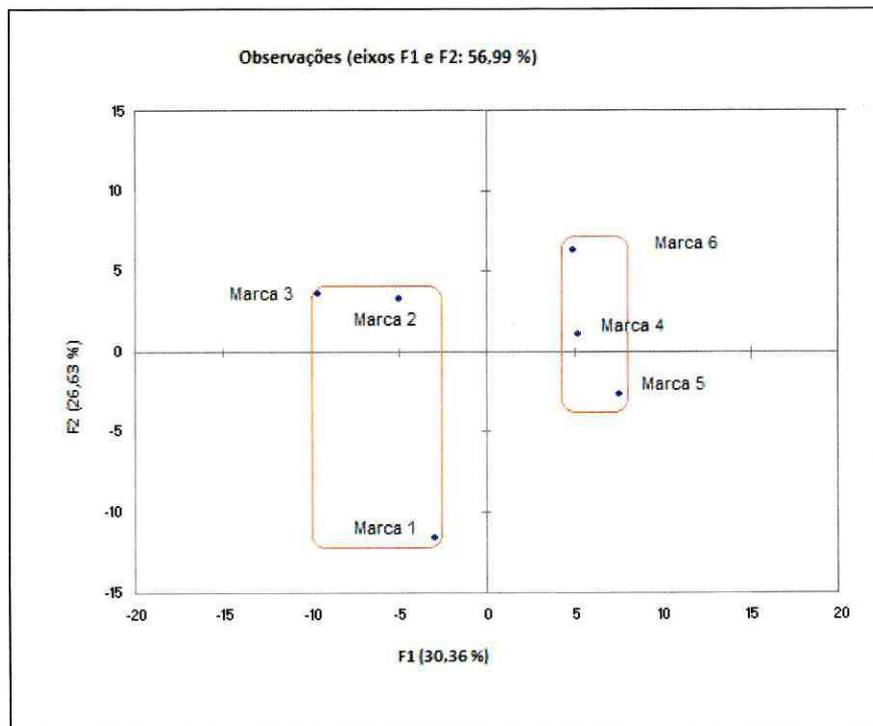


Figura 4.9- Mapa de Preferência Interno Interno gerado a partir dos dados de aceitação quanto a impressão global de 06 marcas de cachaça. a) Representação das marcas de cachaça b) Representação dos consumidores. Marca 1,2,3-destiladas em alambique de cobre. Marca 4,5,6-destiladas em coluna de inox.

Assim, apenas os dois primeiros componentes principais são suficientes para discriminar as amostras quanto à aceitação global.

Uma segmentação em dois grandes grupos de marcas pode, ser observada no Mapa de Preferência Interno (MDPREF), um localizado a esquerda do espaço sensorial afetivo do MDPREF, referente as amostras destiladas alambique de cobre um localizado a direita, referente as amostras destiladas coluna de inox.

As cachaças produzidas em alambique de cobre podem ser divididas em dois grupos, um formado pelas as cachaças 2 e 4, produzidas pela a AMPAQ e um outro formado pela a cachaça 1, produzida na região de Salinas.

Na FIG. 4.9 (a), cada ponto representa as correlações entre os dados de aceitação de um consumidor e os dois primeiros componentes principais. Os consumidores correlacionados com pelo menos um dos componentes consideram diferença na aceitação das amostras. Consumidores próximos ao centro do gráfico não se correlacionam com nenhum dos componentes principais, não contribuindo para discriminação das amostras por considerarem todas elas com aceitação semelhante.

4.3.3 Análise Descritiva Quantitativa

4.3.3.1 Pré-Seleção dos Provedores e Levantamento de Atributos

Foram pré-selecionados doze provedores, pelo teste triangular. Dos doze provedores pré-selecionados, dez correspondem ao gênero feminino e dois ao gênero masculino, com idade entre 18 e 45 anos, predominando a faixa etária de 18 a 25 anos de idade (66,7 %). A escolaridade mínima entre os provedores pré-selecionados foi de curso técnico e todos possuíam formação relacionada à área de alimentos.

Foram levantados 12 termos descritivos para as marcas de cachaças estudadas: irritação (IRRI), aroma alcoólico (ARAL), aroma de cana (ARCA), aroma de madeira (ARMD) sabor alcoólico (SBAL), sabor amadeirado (SBAL), gosto doce (GODO), gosto amargo (GOAM), gosto ácido (GOAC), sabor residual alcoólico (REAL), gosto residual amargo (REAM) e ardência residual (ARDE).

4.3.3.2 Seleção dos Provadores

Para a seleção da equipe final, os provadores avaliaram 3 marcas diferentes de cachaça comerciais com diferentes concentrações de sacarose: 0 gL⁻¹, 6 gL⁻¹, 20 gL⁻¹. Foram selecionados os provadores com boa capacidade discriminatória ($p_{amostras} < 0,50$) e de reprodutibilidade ($p_{repetições} \geq 0,05$) (Tabelas 4.4 e 4.5). Dos doze pré-selecionados dois, por motivos de saúde, não realizaram a última etapa do trabalho, sendo esta, portanto, realizada por somente dez provadores.

TABELA 4.4- Desempenho dos julgadores: níveis de probabilidade de F*, de todas as amostras derivados da análise de variância por julgador

Provador	CÓDIGO AMOSTRAS**											
	IRRI	ARAL	ARMD	ARCA	SBAL	SBMD	GODO	GOAM	GOAC	REAL	REAM	ARDE
1	0,02	0,04	0,69*	0,47	0,35	0,17	0,43	0,17	0,02	0,14	0,14	0,31
2	0,68*	0,19	0,62*	0,48	0,01	0,67*	<0,01	0,70*	0,21	0,24	0,43	0,30
3	0,07	0,26	0,01	0,44	0,32	0,05	0,28	0,15	0,49	0,49	0,48	0,60
4	0,48	0,39	0,16	1,00*	0,26	0,37	0,05	0,48	0,17	0,47	0,48	0,49
5	0,37	0,21	0,24	0,37	0,17	0,53	0,36	0,48	0,45	0,25	0,43	0,48
6	0,33	0,25	0,49	0,47	0,37	0,42	0,29	0,13	0,14	0,96*	0,37	0,47
7	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,56*	0,23	0,36	0,55*	0,78*	<0,01
8	0,44	0,45	0,43	0,26	0,44	0,02	0,02	0,19	0,18	0,44	0,48	0,44
9	0,25	0,47	0,47	0,48	0,17	0,49	0,05	0,38	0,25	0,46	0,21	0,43
10	0,18	0,21	0,09	0,10	0,18	0,16	0,29	<0,01	0,95	0,12	0,01	<0,01

* $p \geq 0,50$ - indica que o julgador não está contribuindo para a discriminação das amostras entre os tratamentos

**Código Amostras: IRRI- irritação, ARAL- aroma alcoólico, ARCA - Aroma de Cana, ARMA - Aroma Madeira, SBAL – sabor alcoólico; SBMDGODO – gosto doce; GOAM – gosto amargo; GOAC – gosto ácido; REAL – sabor residual alcoólico; REAM – gosto residual amargo; ARDE – ardência.

De acordo com os resultados obtidos, foram selecionados os provadores 1, 3, 4, 5, 6, 8, 9 e 10, visto que, os provadores 2 e 7 apresentaram valores de p de $F_{amostra} > 0,50$ para mais de um atributo, não sendo possível utilizá-los nos testes.

TABELA 4.5- Desempenho dos julgadores: níveis de probabilidade de F*, relacionados ao poder de repetibilidade de respostas

Provador	CÓDIGO AMOSTRAS**											
	IRRI	ARAL	ARMD	ARCA	SBAL	SBMD	GODO	GOAM	GOAC	REAL	REAM	ARDE
1	0,15	0,46	0,69	0,14	0,48	0,30	0,42	0,18	0,50	0,06	0,50	0,47
2	0,13	0,31	0,62	0,76	0,08	0,38	0,38	0,76	0,19	0,17	0,25	0,22
3	0,38	0,51	0,44	0,16	0,79	0,44	0,54	0,79	0,49	0,84	0,86	0,07
4	0,34	0,81	0,82	0,70	0,53	0,94	0,37	0,12	0,11	0,48	0,53	0,35
5	0,64	0,64	0,38	0,14	0,68	0,53	0,13	0,33	0,06	0,07	0,11	0,38
6	0,95	0,28	1,34	0,63	0,16	0,28	0,23	0,90	0,60	0,96	0,93	0,16
7	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,48	0,27	0,80	0,81	0,56	0,09
8	0,51	0,96	0,63	0,10	0,11	0,34	0,79	0,06	0,08	0,44	0,07	0,49
9	0,20	0,33	0,07	0,28	0,17	0,17	0,09	0,06	0,82	0,99	0,48	0,13
10	0,08	0,51	0,46	0,50	0,14	0,21	0,47	0,19	0,61	0,09	0,45	0,66

** $p \leq 0,05$ - Probabilidade igual ou inferior a 0,05 indica que o julgador não está tendo repetibilidade de suas respostas nas amostras.

** **Código Amostras: IRRI- irritação, ARAL- aroma alcoólico, ARCA - Aroma de Cana, ARMA - Aroma Madeira, ARSBAL - sabor alcoólico; GODO - gosto doce; GOAM - gosto amargo; GOAC - gosto ácido; REAL - sabor residual alcoólico; REAM- gosto residual amargo; ARDE - ardência.

4.3.3.4 Análise Descritiva Quantitativa das Cachaças

Os provadores selecionados (8 provadores) realizaram os testes finais para as cachaças, separadamente. As amostras foram, novamente, apresentadas de forma monádica com três repetições. As médias das notas sensoriais obtidas por cada atributo e para cada uma das amostras através da equipe selecionada estão apresentadas na Tabela 4.6.

TABELA 4.6- Escores médios das características sensoriais

Atributos	CÓDIGO AMOSTRAS**												
	IRRI	ARAL	ARMD	ARCA	SBAL	SBMD	GODO	GOAM	GOAC	REAL	REAM	ARDE	
Destiladas Alambique	Marca 1	2,1 ^a	2,9 ^a	1,4 ^a	1,7 ^a	5,1 ^a	1,7 ^a	1,0 ^a	5,0 ^a	4,2 ^a	5,0 ^a	5,4 ^a	4,7 ^a
	Marca 2	3,1 ^a	4,1 ^a	1,9 ^a	2,4 ^a	5,0 ^a	2,5 ^a	1,0 ^a	5,3 ^a	4,2 ^a	5,2 ^a	5,7 ^a	5,2 ^a
	Marca 3***	3,3 ^a	4,1 ^a	2,9 ^a	2,9 ^a	6,2 ^a	3,9 ^a	1,3 ^a	5,6 ^a	5,3 ^a	6,0 ^a	6,4 ^a	6,6 ^a
Destiladas Coluna Inox	Marca 4	2,3 ^a	3,0 ^a	1,6 ^a	1,6 ^a	5,4 ^a	2,5 ^a	3,6 ^b	3,9 ^a	4,2 ^a	4,8 ^a	4,4 ^a	4,5 ^a
	Marca 5	2,8 ^a	3,4 ^a	1,6 ^a	2,5 ^a	4,5 ^a	2,5 ^a	3,6 ^b	4,6 ^a	3,4 ^a	4,7 ^a	4,8 ^a	5,0 ^a
	Marca 6***	3,1 ^a	3,1 ^a	1,8 ^a	2,3 ^a	5,0 ^a	2,9 ^a	3,0 ^b	4,4 ^a	3,6 ^a	4,6 ^a	4,7 ^a	4,6 ^a

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas entre amostras (Teste de Tukey, $p < 0,05$). Média
 : **Código Amostras: IRRI- irritação, ARAL- aroma alcoólico, ARCA - Aroma de Cana, ARMA - Aroma Madeira, ARSBAL -
 sabor alcoólico; GODO - gosto doce; GOAM - gosto amargo; GOAC - gosto ácido; REAL - sabor residual alcoólico; REAM-
 gosto residual amargo; ARDE - ardência. Marcas seguidas.
 *** cachaças descansadas em tonéis de madeira

Ao observar os escores médios das características sensoriais (Tabela 4.6.) fornecidas pelo painel treinado, verifica-se que apenas o atributo gosto doce apresentou diferença significativa ao nível de 5%, Teste de TUKEY. A diferenciação quanto ao atributo GODO, gosto doce, era esperado visto que, as marcas 1, 2, 3 são cachaças mineiras produzidas em alambique de cobre e não apresentam açúcar na sua composição porque a legislação estadual não o permite; entretanto a percepção de um leve sabor adocicado pode estar associada a presença de congêneres, tais como os ésteres e alcoóis superiores. Alcoóis superiores e ésteres formam quantitativa e qualitativamente os grupos mais importantes presentes nas bebidas alcoólicas, sendo os alcoóis superiores os mais abundantes (BERRY, 1995).

Sugere-se que o atributo gosto doce contribuiu para a presença de regiões diferentes para aceitação global no Mapa de Preferência Interno (FIG. 4.9) separando das cachaças destiladas em alambique de cobre e em coluna de Inox ou em cachaças adoçadas e não adoçadas.

Os demais atributos não apresentaram diferenças significativas ao nível de 5%. Este resultado corrobora os resultados obtidos por PINHEIRO (2010), que estudando a análise descritiva quantitativa de cachaças e aguardentes obteve o destaque nos atributos coloração, aroma amadeirado e sabor alcoólico, diferenciando as amostras quanto ao envelhecimento e não quanto a origem de processamento.

Não houve diferenciação entre os atributos aroma de madeira e sabo r amadeirado entre as marcas de cachaças brancas (marca 1, 2, 4 e 5) e as marcas de cachaças de cachaças descansadas em madeira (marca 3 e 6); provavelmente o tempo de apenas seis meses de descanso em madeira não foram suficientes para influenciar nestes atributos.

4.3.3.5 Mapas de Preferência Externo

Foram compostos mapas de preferência externo (PREFMAP) relacionando a análise das medidas descritivas das cachaças com o conjunto de dados do teste de aceitação e mapa de preferência externo correlacionando os componentes voláteis com o conjunto de dados do teste de aceitação.

Na construção do PREFMAP relacionado a análise dos descritores das marcas das cachaças, os dados descritivos (**Tabela 4.6**) foram submetidos à Análise de Componentes Principais (PCA) (**FIG. 4.10**), gerando os escores de cada amostra nos componentes, e as correlações entre os atributos e os componentes principais.

Biplot (eixos F1 e F2: 84,94 %)

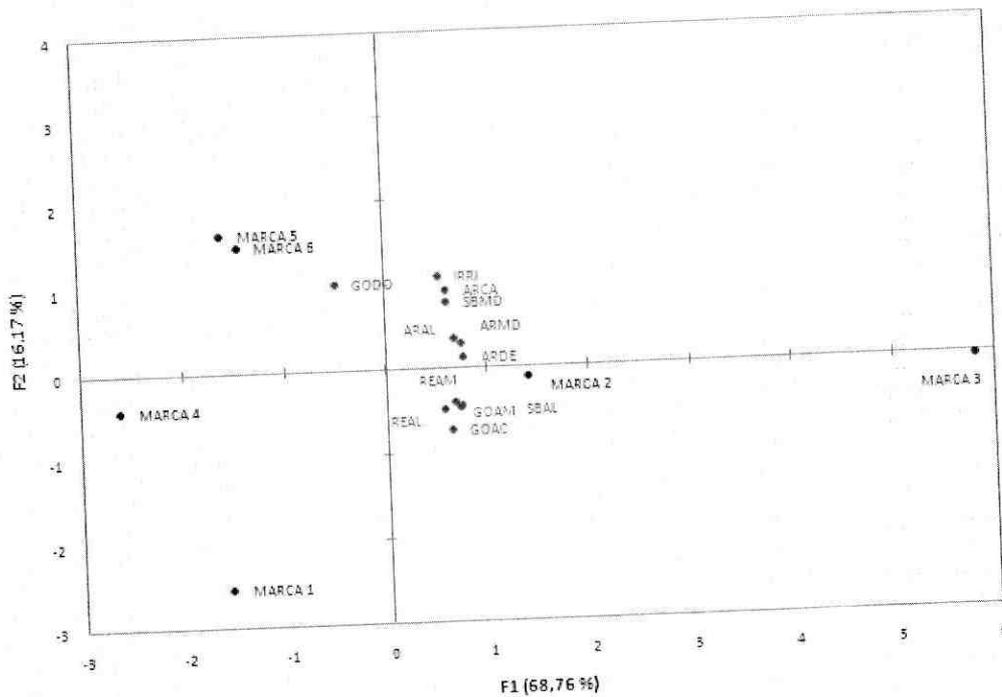


Figura 4.10-Análise de Componentes Principais dos Descritores das Cachaças. Legenda: IRRI- irritabilidade; ARAL- aroma alcoólico; ARCA , ARMD- aroma madeira, aroma de cana; SBAL- sabor alcoólico; SBMD - sabor madeira; GODO - gosto doce; GOAM - gosto amargo; GOAC - gosto ácido; REAL- sabor residual alcoólico; REAM- gosto residual amargo e ARDE- ardência.

Em seguida, foi utilizada análise de regressão para relacionar os dados de aceitação, em relação Impressão Global (Tabela 4.2), com os dados descritivos. Assim, buscou-se verificar a existência de uma relação funcional entre cada consumidor e os dois primeiros componentes principais. O modelo usado foi o linear (FIG. 4.10).

A FIG. 4.11 mostra a posição das seis amostras marcas de cachaça e a distribuição dos atributos sensoriais no espaço definido pela primeira e segunda dimensão. A primeira e segunda dimensões explicaram 84,94% da variação total. Com relação ao componente principal 1, as marcas 2 e 3, ambas cachaças destiladas em alambique de cobre, ficaram correlacionados na parte positiva desta dimensão. Enquanto que a marca 1 destilada em alambique de cobre e as marcas 4, 5 e 6, destiladas em coluna de inox ficaram negativamente correlacionados com esta

dimensão. Todos os atributos exceto o gosto doce foram positivamente correlacionados com esta dimensão, demonstrando que estes atributos possuem correlações positivas.

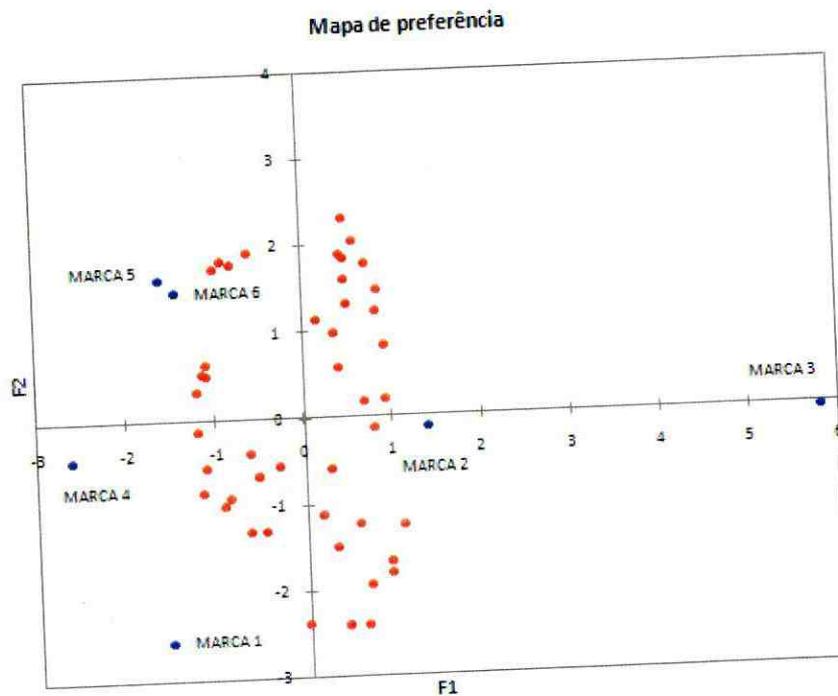


Figura 4. 11- Mapa de Preferência Externo Correlacionando Descritores Sensoriais e Aceitação Global. Legenda: IRRI- irritabilidade; ARAL- aroma alcoólico; ARCA , ARMD- aroma madeira, aroma de cana; SBAL- sabor alcoólico; SBMD - sabor madeira; GODO - gosto doce; GOAM - gosto amargo; GOAC - gosto ácido; REAL- sabor residual alcoólico; REAM- gosto residual amargo e ARDE- ardência.

Na segunda componente principal as marcas 5 e 6 e descritores sensoriais irritabilidade, aroma alcoólico, aroma de cana, aroma madeira, sabor madeira e ardência foram positivamente correlacionadas com essa dimensão. E as marcas de cachaças 1, 2, 3, 4 se correlacionaram negativamente com esta dimensão. Ao se analisar uma figura de análise de componentes principais, atributos que são muito próximos indicam correlações positivas entre eles, enquanto aqueles em direções opostas indicam correlações negativas (GREENHOFF & MACFIE, 1994). Observa-se, então, que o atributo gosto doce caracteriza as marcas de cachaça 4, 5 e 6. As marcas 2 e 3 se correlacionam positivamente com todos os outros atributos apresentando aroma e sabor mais acentuados e de acordo com o gráfico de

contorno (FIG. 4.12) estas marcas se localizam na região de maior aceitação, portanto, estas cachaças foram as mais aceitas quanto a impressão global (IG).

Gráfico de contorno

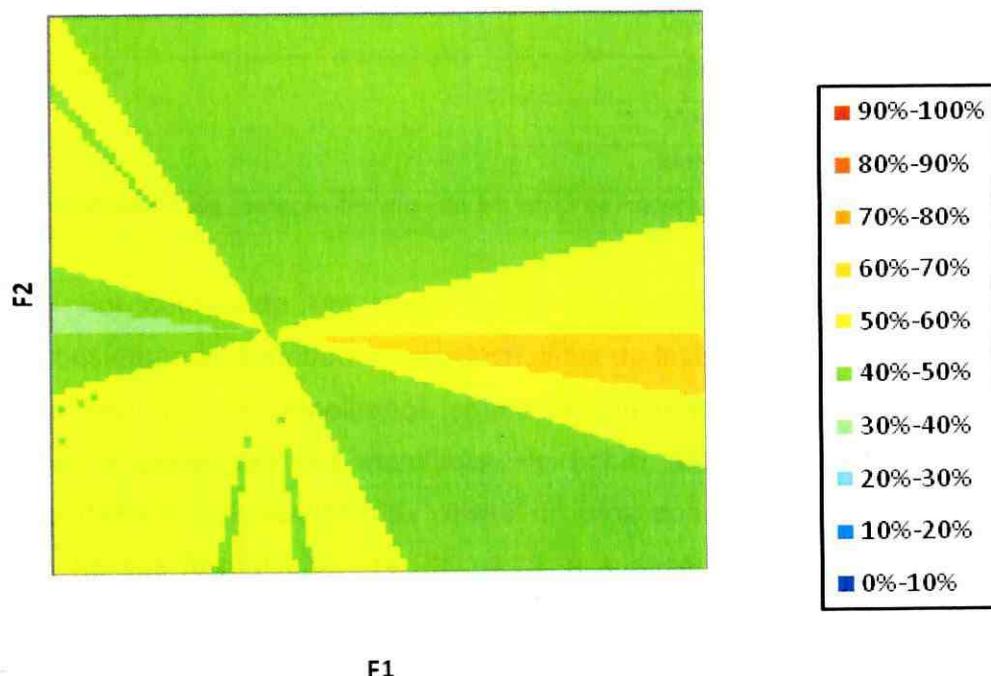


Figura 4. 12- Mapa de Contorno Correlacionando Descritores Sensoriais e Aceitação Global.

A Tabela 4.7 mostra a porcentagem de provadores satisfeitos com cada marca de cachaça considerando a análise de mapas de preferência externo. Nota-se que as cachaças destiladas em alambique de cobre foram as mais aprovadas, entretanto não foi permitido agrupar estas cachaças quanto os atributos sensoriais, observando o PREFMAP (FIG. 4.10). Foi possível separar as cachaças em três grupos distintos: marca 2 e 3 (destiladas em alambique de cobre); marcas 5 e 6 (destiladas em coluna de inox) e marca 1 e 4 (a primeira destilada em alambique e a segunda em coluna de inox).

TABELA 4.6- Percentual de provadores satisfeitos para cada marca de cachaça

Modo de destilação	Cachaça	% de aprovação
Alambique	Marca 1	58%
	Marca 2	60%
	Marca 3*	58%
Coluna Inox	Marca 4	44%
	Marca 5	50%
	Marca 6*	50%

Marcas seguidas * são cachaças descansadas em tonéis de madeira

Foi construído um novo gráfico de análise de componentes principais, desconsiderando o atributo gosto doce, visando investigar a importância deste descritor na semelhança sensorial das marcas de cachaças, visto que as cachaças destiladas em alambique de cobre não eram adoçadas enquanto as destiladas em colunas de inox possuíam uma concentração de açúcar superior a 6gL^{-1} na sua formulação. Na **FIG. 4.13**, a análise de componentes principais está representada graficamente em eixos ortogonais, explicando 87,52% da variação total das diferenças obtidas nas cachaças. Este gráfico corrobora a divisão das marcas das cachaças em 3 grupos distintos, realizada anteriormente.

Os compostos voláteis são os principais responsáveis pelo aroma e sabor dos destilados, e em geral, são principalmente os ésteres, os alcoóis superiores e aldeídos (PEREIRA *et al.*, 2003). Esses compostos constituem um grupo de produtos oriundos da fermentação do mosto e a sua natureza química bem como a concentração no vinho são dependentes da variedade e do grau de maturação da cana de açúcar, dos microorganismos envolvidos na fermentação e na condução do processo fermentativo (CARDOSO, 2001; SILVEIRA *et al.*, 2002).

De acordo OLIVEIRA (2001) e MAIA (2006) a destilação altera as características sensoriais das bebidas alcoólicas, uma vez que as quantidades dos compostos voláteis das bebidas alcoólicas absolutas e relativas são resultantes e influenciadas pela mesma.

Sugere-se que embora o modo destilação da cachaça influencie a qualidade sensorial da bebida, esta não seja determinante para sua caracterização sensorial, visto que é na etapa de fermentação que os compostos voláteis são formados. Sendo a destilação e a fermentação das cachaças etapas complementares para a formação do "bouquet" da bebida.

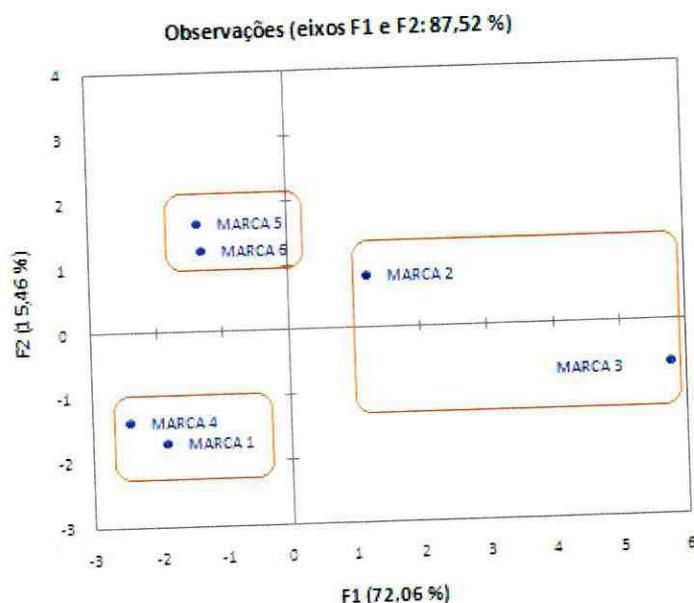


Figura 4.13- - Análise de Componentes Principais dos Descritores das Cachaças (exceto o gosto doce).

A duas dimensões da Análise de Componentes Principais (PCA) das componentes voláteis das seis marcas de cachaças (FIG. 4.14) explicaram 70,13% da variação das amostras; utilizando os dados desta análise e os correlacionado com os dados da aceitação global das cachaças elaborou-se um PREFMAP (FIG. 4.15). Observando estes gráficos percebe-se que não foi possível agrupar as marcas de cachaça; não existindo um analito físico-químico que caracterizasse as cachaças quanto o modo de destilação. Observa-se também que os provadores se encontram dispersos no espaço bidimensional, não havendo direcionamento quanto as qualidades físico-químicas (componente voláteis) das bebidas.

Este resultado confirma o estudo realizado por RECHE (2006) que analisando cachaças destiladas em alambique de cobre e coluna de inox o conjunto de

componentes voláteis não permitiu o agrupamento destas cachaças quanto ao processo de destilação.

Observações (eixos F1 e F2: 70,13 %)

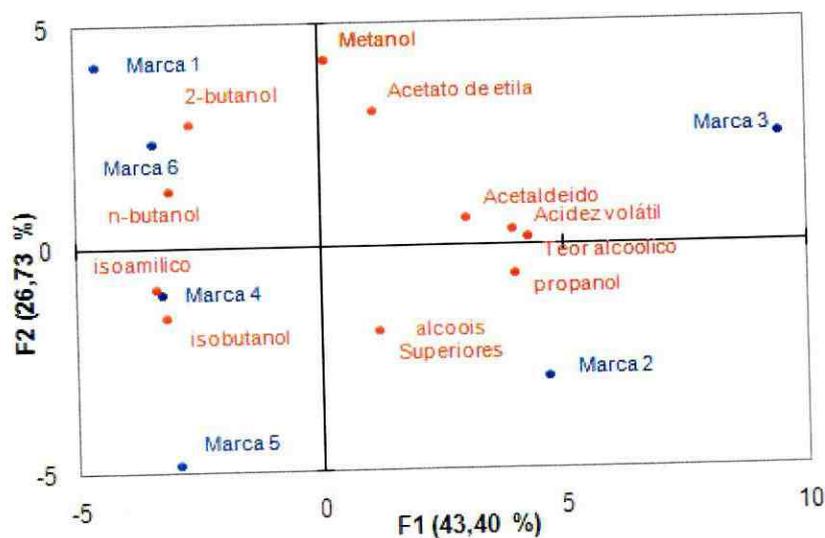


Figura 4.14- Análise de Componentes Principais dos Componentes Voláteis das Cachaças.

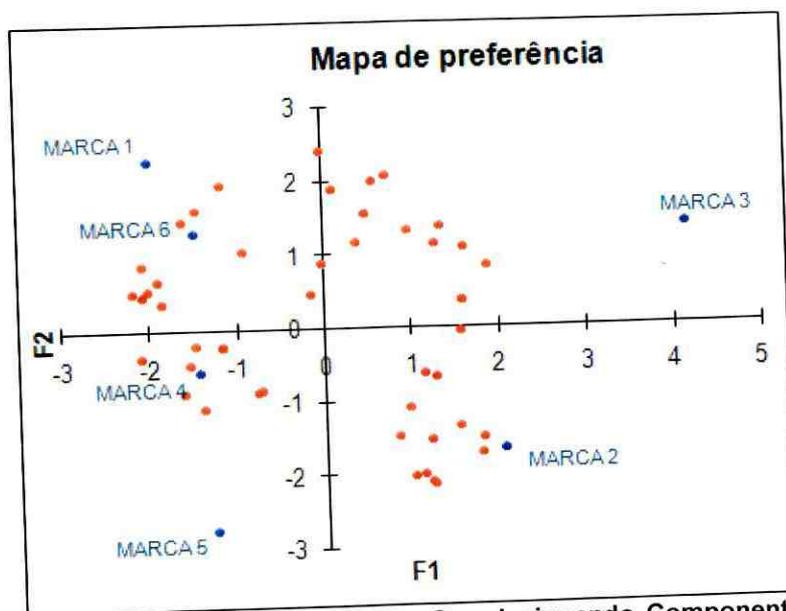


Figura 4.15- - Mapa de Preferência Externo Correlacionando Componentes Voláteis e Aceitação Global

4.4 CONCLUSÃO

Todas as amostras de cachaça apresentaram média de aceitação global, aroma e sabor próximo a seis (gostei moderadamente).

As cachaças destiladas em alambique de cobre e a cachaça destilada em coluna de inox e armazenada em madeira obtiveram uma maior aceitação global.

O Mapa de Preferência Interno apresenta regiões diferentes para aceitação global das cachaças destiladas em alambique de cobre e em coluna de inox.

O perfil sensorial das marcas de cachaças estudadas foi caracterizado doze termos descritivos: irritação, aroma alcoólico, aroma de cana, aroma de madeira, sabor alcoólico, sabor amadeirado, gosto doce, gosto amargo, gosto ácido, sabor residual alcoólico, gosto residual amargo e ardência residual.

Apenas que o atributo gosto doce apresentou diferença significativa ao nível de 5%, Teste de TUKEY para as seis marcas de cachaça.

Não foi possível agrupar as cachaças quanto ao modo de destilação observando os mapas de preferência externo (PREFMAP) relacionando a análise das medidas descritivas das cachaças com o conjunto de dados do teste de aceitação e mapa de preferência externo correlacionando os componentes voláteis com o conjunto de dados do teste de aceitação.

As cachaças destiladas em alambique de cobre foram as mais aprovadas quanto a impressão global de acordo com o gráfico de contorno dos descritores sensoriais.

4.5 BIBLIOGRAFIA

- ALMEIDA, M E. W.; BARRETO, H. H.C. Alcoóis superiores em cachaças de cana por cromatografia gasosa. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.31, p. 117-123, 1971.
- ASTM. American Society for Testing and Material. Guidelines for the selection and training of sensory panel members. **Philadelphia**: ASTM, 1981.
- BRASIL. Ministério da Agricultura – Decreto n. 4072 de 3 de janeiro de 2002. Dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a

- fiscalização de bebidas. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília**, 3 janeiro, 2002.
- BEHRENS, J. H, SILVA M. A., WAKELING I. W. Avaliação da aceitação de vinhos brancos varietais brasileiros através de testes sensoriais afetivos e técnica multivariada de mapa de preferência interno. **Ciência Tecnologia Alimentos**, v.19, n.2, p.214 – 220, 1999.
- BERRY, D. R. Alcoholic beverage fermentations. In: LEA, A. G. H.; PIGGOTT, J. R. (Eds.). **Fermented Beverage Production**. London: Blackie Academic & Professional, 1995. p. 32-44.
- BOZA, Y.; HORII, J. Influência da destilação sobre a composição e a qualidade sensorial da aguardente de cana. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, p. 391-396, 1998.
- BRASIL. Ministério da Agricultura – Decreto n. 4072 de 3 de janeiro de 2002. Dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília**, 3 janeiro, 2002.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa n. 13, de 29 de junho de 2005. Aprova o regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para aguardente de cana e para cachaça. **Diário oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 30 junho, 2005.
- CARDELLO, H. M. A. B; FARIA, J. B. Perfil Sensorial e Características Físico-Químicas de Aguardentes Brasileiras Envelhecidas e Sem Envelhecer. **Brazilian Journal of Food Technology**; v.3, p. 41-50, 2000.
- CARDOSO, M. G. **Produção de aguardente de cana-de-açúcar**. Lavras: Ed. UFLA, 2001. 264p.
- COLE, V.C.; NOBLE, A.C. Flavor chemistry and assessment. In: LEA, A.G.H.; PIGGOTT, J.R. **Fermented beverage production**. London: Blackie Academic & Professional, 1995. p. 361-385, 1995.
- COPELLO, M. A mais brasileira das bebidas. **Gazeta Mercantil**. Caderno de Fim de semana, 30 de novembro de 2004.

- FORLIN, F. J. **Maturação de cachaça em recipientes de poliéster com extrato de madeira de carvalho.** Campinas. Campinas: Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas. 2005. 176 p. (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) .
- GRAVATÁ, C. E. S. **Manual da cachaça artesanal.** 2.ed. Belo Horizonte: Carlos Eduardo Gravatá, 1992,81p.
- GUINARD, J, X; BUNSAKU, U.; SCHLICH, P. Internal and external mapping of preferences for commercial lager beers: comparison of hedonic ratings by consumers blind versus with knowledge of brand and price. **Food Quality Preference**, v.12, p.243-255, 2001.
- DORNELLES, A. S.; RODRIGUES, S. ; GARRUTI, D. S. Aceitação e perfil sensorial das cachaças produzidas com Kefir e *Saccharomyces cerevisiae*. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, vol.29, n.3 , pp. 518-522, 2009.
- GREENHOFF, K. & MACFIE, H. J. H. Preference Mapping in Practice. In: MACFIE, H. J. H. AND THOMSON, D. M. H. **Measurement of Food Preferences.** London: Blackie Academics and Professional, cap.6, p. 137-166. 1994.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz:** métodos químicos e físicos para a análise de alimentos. São Paulo: 1. ed. Cap. 9, p.403. 2008.
- ISIQUE, W. D.; CARDELLO, H. M. A. B.; FARIA, J. B. Teores de enxofre e aceitabilidade de cachaças de cana brasileiras. **Ciência e Tecnologia Alimentos**, v. 18, n.3, p. 356-359, 1998.
- LITCHEV, V. Influence of oxidation process on the development of the taste and flavor of wine distillates. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 40, n. 1, p. 31-35, 1989.
- MAIA, A. B. R. A.; CAMPELO, E. A. P. **Tecnologia da Cachaça de Alambique,** Editora SEBRAE/MG; SINDBEBIDAS: Belo Horizonte, 2006.
- MACFIE, H. J. Assessment of the sensory properties of food. **Nutrition Reviews**, v.48, n.2, p. 87-93,1990.
- MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory evaluation techniques.** 3 ed. Boca Raton: CRC, 1999. 390p.

- MILLER, G. L. Use of Dinitrosalicilic Acid Reagent for determination of Reducing Sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.
- MININ, V. P. R. **Análise sensorial: estudo com consumidores**. Viçosa-MG: UFV. 2006. 225 p.
- MIRANDA B. M.; MARTINS, N. G. S.; BELLUCO, A. E. S.; ALCARDE, A. R. Perfil físico-químico de aguardente durante envelhecimento em tonéis de carvalho. **Ciência e Tecnologia Alimentos**. vol.28, p. 84-89, 2008 .
- OLIVEIRA, E. S. **Características fermentativas, formação de compostos voláteis; e qualidade da aguardente de cana obtida por linhagens de leveduras isoladas em destilarias artesanais**. 2001. 135p. Campinas: Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas. 2004. 149 p. (Doutorado em Tecnologia de Alimentos).
- PEREIRA, N. E.; CARDOSO, M. das G.; AZEVEDO, S. M.; MORAIS, A. R. de; FERNANDES, W.; AGUIAR, P. M. Compostos secundários em cachaças produzidas no Estado de Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 27, n. 5, p. 1068-1075, 2003.
- PERYAM, D. R.; PILGRIM, F. J. **Hedonic scale method of measuring food preferences**. In: FOOD TECHNOLOGY SYMPOSIUM. Chicago, 1957.
- PINHEIRO, S. H. M. **Avaliação sensorial das bebidas aguardente de cana industrial e cachaça de alambique**, 2010. 113 p. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. 2004. 129 p. (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos).
- RECHE, R. V. **Aspectos da tipificação da aguardente**. São Carlos: Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2006. 154p. (Dissertação, Mestrado em Química Analítica).
- SHIROSE, I. Análise Sequencial de Wald e sua Aplicação à seleção de julgadores para avaliação organoléptica. **Boletim do ITAL**, vol. 50, p. 57-77, 1977.
- SILVA, C. L. C.; ROSA, C. A.; MAIA, B. R. A.; OLIVEIRA, E. S. Qualidade química e sensorial de cachaças produzidas com quatro linhagens de *Saccharomyces Cerevisiae* (floculantes, não-produtoras de H₂S e de referência). **Boletim do CEPPA**, Curitiba v. 24, n. 2, p. 405-422, 2006.

- SILVEIRA, L. C. I.; BARBOSA, M. H.P.; OLIVEIRA, M. W. **Manejo de variedades de cana-de-açúcar predominantes nas principais regiões produtoras de cachaça em Minas Gerais**. Informe Agropecuário, EPAMIG, v. 23, n.217, p.25-32, 2002.
- STONE, H.; SIDEL, J.; OLIVER, S.; WOOLSEY, A.; SINGLETON, R. C. Sensory evaluation by quantitative descriptive analysis. **Food Technology**, v. 28, p. 24-34, 1974.
- STONE, H.; SIDEL, J.L. **Sensory evaluation practices**. 2. ed. San Diego: Academmic Press Inc., 1993. 338 p.

CAPÍTULO 5 – INFLUENCIA DA ADIÇÃO DE AÇÚCAR NA PERCEPÇÃO DOS DESCRITORES SENSORIAIS DA CACHAÇA

RESUMO

Descoberta entre os anos de 1534 e 1549, a aguardente de cana (*Saccharum officinarum* L.) foi a primeira bebida destilada da América Latina, obtida a partir do processo de produção do açúcar. Assim se originou uma bebida alcoólica, genuinamente brasileira, denominada cachaça. A legislação brasileira define cachaça como a aguardente de cana produzida no Brasil, com graduação alcoólica de 38 a 48% (v/v), a 20 °C, acrescida ou não de açúcares até um limite de 6 g L⁻¹. Entretanto, cachaças com quantidades de açúcares situadas entre 6 g L⁻¹ a 30 g L⁻¹ são definidas, segundo a legislação vigente, como adoçadas. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito da adição de açúcar em cachaças, de marcas distintas, com diferentes teores alcoólicos e, ainda, o impacto na percepção de atributos sensoriais utilizando a Análise Descritiva Quantitativa modificada (ADQm). Foram considerados os seguintes descritores sensoriais: sabor alcoólico; gosto doce; gosto amargo; gosto ácido; sabor residual alcoólico; gosto residual amargo e ardência residual. Os resultados demonstraram que cachaças com teores alcoólicos mais elevados dificultam a percepção do gosto doce, sendo que o mesmo pode interferir na percepção dos atributos, tais com: gosto ácido, gosto amargo e gosto amargo residual e que cachaças que apresentam maior intensidade no atributo sensorial gosto doce, tendem a exibir uma menor intensidade nas percepções sensoriais do gosto amargo e amargo residual.

5.1 OBJETIVOS

O objetivo do presente trabalho avaliar o efeito da adição de açúcar em cachaças, de marcas distintas, com diferentes teores alcoólicos e, ainda, o impacto na percepção de atributos sensoriais utilizando a Análise Descritiva Quantitativa modificada (ADQm).

5.2 MATERIAIS E MÉTODOS

5.2.1 Material

Foram objeto de estudo sensorial três marcas de cachaça, adquiridas comercialmente no município de Belo Horizonte – MG; que apresentam entre si diferenças quanto à concentração alcoólica. Cada uma dessas cachaças foram amostradas em três distintas concentrações de sacarose: 0,0 g L⁻¹ (cachaça não adoçada); 6,0 g L⁻¹ (concentração máxima de açúcar para a cachaça ser considerada não adoçada segundo a legislação) e 20 g L⁻¹ (cachaça adoçada).

5.2.2 Teor Alcoólico

Determinado após a destilação das amostras de acordo com a massa específica do destilado a 20 °C. A massa específica foi determinada no densímetro automático calibrado, modelo DMA 450, marca Anton Paar.

5.2.3 Análise Sensorial

Os testes foram conduzidos no Laboratório de Análise Sensorial do Centro Universitário de Belo Horizonte (UNI-BH), em cabines individuais, sendo que as amostras foram apresentadas aos painelistas de forma monádica, em triplicata.

5.2.3.1 Análise Descritiva Quantitativa Modificada

O Aplicou-se o método de ADQm, baseado em STONE & SIDEL (1993), o qual avalia, seletivamente, os atributos de interesse nas amostras em estudo. Foram considerados os seguintes descritores sensoriais: sabor alcoólico; gosto doce; gosto amargo; gosto ácido; sabor residual alcoólico; gosto residual amargo e ardência residual. Utilizou-se 10 mL das amostras de cachaças, servidas em taças flauta (*flûte*) para *champagne*, de vidro transparente, capacidade 180 mL, marca

Nadir, linha *Gallant*, série 1078081021. As taças foram tampadas com filme de alumínio e codificadas com números aleatórios de três dígitos. A intensidade dos atributos foi avaliada em escala não estruturada de 9 cm, ancorada nos extremos com as palavras nenhum, pouco e muito. A compreensão dos atributos pelos provadores foi verificada e avaliada durante a seleção e treinamento da equipe sensorial.

5.2.3.1.1 Recrutamento e Pré-Seleção dos Provadores

Para composição do painel sensorial foram convidados alunos do curso de engenharia de alimentos, engenharia química e funcionários da UNI-BH. Realizou-se uma reunião para esclarecer os objetivos gerais dos testes, a frequência destes e a necessidade de seleção e treinamento. Os participantes assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Minas Gerais (Parecer nº ETIC161/08).

O poder discriminativo de cada julgador foi avaliado pelo Teste Triangular (ASTM, 1981), através da Análise Sequencial de Wald (SHIROSE, 1977). A cada julgador foram servidas três amostras, sendo duas iguais e uma diferente. Foram realizadas 12 sessões, nas quais era solicitado aos provadores identificar qual a amostra diferente, quanto ao teor alcoólico e a concentração de açúcar. O sistema de decisão foi realizado mediante o teste de hipóteses: $H_0: p_1 \leq p_0$; $H_1: p_1 > p_0$; utilizados os valores $p_0 = 0,33$ (máxima inabilidade aceitável); $p_1 = 0,66$ (mínima habilidade aceitável); para os riscos $\alpha = 0,05$ (aceita candidato sem acuidade sensorial) e $\beta = 0,05$ (rejeita candidato com acuidade sensorial).

5.2.3.1.2 Treinamento e Seleção Final de Julgadores

No primeiro dia de treinamento foram discutidos os pontos âncoras e estabelecidos os termos descritivos com o consenso de toda equipe. O treinamento dos julgadores constou da apresentação de cada atributo em triplicata, para que os mesmos conhecessem as amostras referências dos extremos da escala e, então, fossem capazes de discriminar os tratamentos com repetibilidade das respostas. Na avaliação do treinamento dos provadores foram usadas três amostras de cachaças comerciais. Aos painelistas era permitido consultar, em qualquer momento da realização dos testes, a lista de definições e as referências (Tabela 5.1).

Com as respostas obtidas, procedeu-se análise de variância (ANOVA) com três fontes de variação (amostra, provador e interação amostra x provador) para cada atributo. Em sequência, realizou-se outra ANOVA com duas fontes de variação (amostra e provador) para cada atributo e para cada provador. As características que validaram o treinamento foram: o poder de discriminação entre as amostras ($p(F) < 0,50$) e repetibilidade ($p(F) > 0,05$), sendo permitido que houvesse pelo menos um $p(F)_{amostra} \geq 0,50$ ou um $p(F)_{repetição} \leq 0,05$.

TABELA 5.1 Definições dos Termos Descritivos e das Amostras Referências

SABOR		
Atributos	Definição	Referências
Alcoólico	É o sabor característico de soluções alcoólicas	Fraco: Etanol a 20% Forte: Etanol a 50%
Doce	É o gosto doce percebido pelas papilas gustativas	Fraco: álcool de cereais a 20% Forte: álcool de cereais a 20% + 5% de sacarose
Amargo	É o gosto amargo, característico de cafeína	Fraco: álcool de cereais a 20% Forte: álcool de cereais a 20% + 0,4% de cafeína
Ácido	É o gosto ácido percebido pelas papilas gustativas	Fraco: álcool de cereais a 20% Forte: álcool de cereais a 20% + 1% de ácido cítrico
SABOR RESIDUAL		
Atributos	Definição	Referências
Alcoólico	Sabor de álcool que permanece por um período de tempo após ingestão de uma determinada substância	Fraco: Etanol a 20% Forte: Etanol a 50%
Gosto Amargo	É o amargor que permanece por um período de tempo após ingestão de uma determinada substância	Fraco: álcool de cereais a 20% Forte: álcool de cereais a 20% + 0,4% de cafeína
SENSAÇÃO RESIDUAL		
Atributos	Definição	Referências
Ardência	Sensação ardente percebida na língua e na garganta.	Fraco: Etanol a 20% Forte: Etanol a 50%

5.2.3.1.3 Avaliação das Amostras

Os julgadores avaliaram as amostras de cachaça em três repetições. Para quantificar cada descritor sensorial, empregou-se uma escala não estruturada de 9 cm, com a descrição nos pontos extremos (nenhum; fraco; forte). Os testes foram conduzidos em cabines individuais sob luz branca e as amostras servidas em taças flauta de vidro transparente de 180 mL, conforme descrito anteriormente. As taças foram tampadas e codificadas com números aleatórios de três algarismos. Para eliminar o sabor residual entre uma amostra e outra foram oferecidos água natural e torradas.

5.2.4 Análise Estatística dos Resultados

Os resultados da ADQ foram submetidos à ANOVA de dois fatores para avaliar se houve diferença sensorial entre as amostras estudadas ao nível de significância de 95%. E na comparação das médias utilizou-se o teste de comparação de médias de Ducan. Foi utilizado o programa estatístico livre Assistat, versão 7.6 beta. Realizou-se, ainda, a correlação de Pearson entre as médias dos atributos sensoriais e a média gosto doce das amostras estudadas.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1 Pré-Seleção e Seleção dos Provadores

Foram pré-selecionados doze provadores, pelo teste triangular. Para a seleção da equipe final, os provadores avaliaram três amostras de cachaça comerciais, com diferentes concentrações de açúcar, em três repetições. Os critérios adotados nesta seleção foram capacidade discriminatória ($p_{\text{amostras}} < 0,50$) e de reprodutibilidade ($p_{\text{repetições}} \geq 0,05$) dos provadores (**Tabelas 3.2 e 3.3**). Dos doze pré-selecionados três, por motivos adversos, não realizaram a última etapa do trabalho, sendo esta, portanto, realizada por somente nove provadores. Dentre esses nove, selecionaram oito, segundo os critérios anteriormente citados. A exclusão de um dos provadores deveu-se ao fato do mesmo não atingir capacidade de discriminação dos atributos avaliados e/ou repetibilidade nas avaliações em mais de dois atributos.

TABELA 5.2 Desempenho dos julgadores: níveis de probabilidade de F* (p) das amostras derivadas da análise de variância por julgador

PROVADOR	CÓDIGO AMOSTRAS**						
	SBAL	GODO	GOAM	GOAC	REAL	REAM	ARDE
1	0,35	0,43	0,17	0,02	0,14	0,14	0,31
2	0,32	0,28	0,15	0,49	0,49	0,48	0,60*
3	0,26	0,05	0,48	0,17	0,47	0,48	0,49
4	0,17	0,36	0,48	0,45	0,25	0,43	0,48
5	0,37	0,29	0,13	0,14	0,96*	0,37	0,47
6	0,44	0,56*	0,23	0,36	0,55*	0,78*	<0,01
7	0,44	0,02	0,19	0,18	0,44	0,48	0,44
8	0,17	0,05	0,38	0,25	0,46	0,21	0,43
9	0,18	0,29	<0,01	0,95*	0,12	0,01	<0,01

* $p \geq 0,50$ - indica que o julgador não está contribuindo para a discriminação das amostras entre os tratamentos

**Código Amostras: SBAL - sabor alcoólico; GODO - gosto doce; GOAM - gosto amargo; GOAC - gosto ácido; REAL - sabor residual alcoólico; REAM - gosto residual amargo; ARDE - ardência

TABELA 5.3 Desempenho dos julgadores: níveis de probabilidade de F* (p), relacionados ao poder de repetibilidade de respostas

PROVADOR	CÓDIGO AMOSTRAS**						
	SBAL	GODO	GOAM	GOAC	REAL	REAM	ARDE
1	0,48	0,42	0,18	0,50	0,06	0,50	0,47
2	0,08	0,38	0,76	0,19	0,17	0,25	0,22
3	0,79	0,54	0,79	0,49	0,84	0,86	0,07
4	0,53	0,37	0,12	0,11	0,48	0,53	0,35
5	0,68	0,13	0,33	0,06	0,07	0,11	0,38
6	0,16	0,23	0,90	0,60	0,96	0,93	0,16
7	0,44	0,48	0,27	0,80	0,81	0,56	0,09
8	0,11	0,79	0,06	0,08	0,44	0,07	0,49
9	0,17	0,09	0,06	0,82	0,99	0,48	0,13

* $p \leq 0,05$ (Probabilidade igual ou inferior a 0,05 indica que o julgador não está tendo repetibilidade de suas respostas nas amostras).

**Legenda: SBAL- sabor alcoólico; GODO - gosto doce; GOAM - gosto amargo; GOAC - gosto ácido; REAL - sabor residual alcoólico; REAM- gosto residual amargo e ARDE- ardência

5.3.2 Análise Descritiva Quantitativa das Cachaças

5.3.2.1 Avaliação de Diferentes Concentrações de Açúcar

Dos oito provadores selecionados, apenas sete realizaram os testes finais para as cachaças, visto que um dos painelistas apresentou problemas diversos, durante a análise sensorial, não podendo concluir os trabalhos. As três marcas de

cachaças foram apresentadas de forma monádica (três repetições). As médias das notas sensoriais, obtidas por cada atributo em cada uma das amostras através de seu teor alcoólico, estão apresentadas na **Tabela 5.4**.

TABELA 5.4 Valores Médios dos Atributos Sensoriais das Marcas de Cachaça Amostradas

AMOSTRAS	TEOR ALCOÓLICO %	SACAROSE	SBAL	GODO	GOAM	GOAC	REAL	REAM	ARDE
MARCA 1	39,1	0 g/L	4,8 ^a	0,8 ^a	5,7 ^a	4,2 ^a	5,0 ^a	5,0 ^a	4,7 ^a
		6 g/L	4,3 ^a	2,9 ^b	2,9 ^b	2,2 ^b	5,2 ^a	2,4 ^b	3,4 ^a
		20 g/L	4,2 ^a	3,8 ^b	2,9 ^b	2,2 ^b	6,0 ^a	2,7 ^b	3,6 ^a
MARCA 2	42,9	0 g/L	4,5 ^a	0,7 ^a	5,9 ^a	3,6 ^a	4,3 ^a	5,4 ^a	5,2 ^a
		6 g/L	5,8 ^a	0,8 ^a	4,7 ^{a,b}	2,9 ^a	5,7 ^a	4,7 ^a	6,0 ^a
		20 g/L	4,6 ^a	3,1 ^b	3,2 ^b	3,6 ^a	4,7 ^a	2,7 ^b	5,9 ^a
MARCA 3	46,3	0 g/L	5,8 ^a	0,8 ^a	6,1 ^a	4,9 ^a	5,8 ^a	5,3 ^a	6,4 ^a
		6 g/L	5,2 ^a	1,9 ^{a,b}	3,7 ^a	3,8 ^a	5,1 ^a	3,9 ^a	5,7 ^a
		20 g/L	5,2 ^a	2,9 ^b	4,3 ^a	3,3 ^a	5,0 ^a	4,2 ^a	5,6 ^a

*Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas entre amostras (Teste de Ducan, $p < 0,05$).

**Legenda: IRRI – irritabilidade; SBAL – sabor alcoólico; GODO – gosto doce; GOAM – gosto amargo; GOAC – gosto ácido; REAL – sabor residual alcoólico; REAM – gosto residual amargo; ARDE – ardência.

Segundo o exposto na **Tabela 5.4**, verificou-se que não houve diferença estatística, a nível de 5% no teste de Ducan, entre as três marcas de cachaças investigadas, em relação a nenhum atributo sensorial avaliado, apesar da diferença entre o teor alcoólico das amostras. Deve-se ressaltar que estas marcas de cachaças, adquiridas no comércio local de Belo Horizonte, são cachaças produzidas em alambique de cobre e não possuem açúcar na sua formulação.

A não diferenciação dos atributos sensoriais das marcas de cachaças pode ser explicada porque além dos seus componentes principais (água e etanol), a cachaça apresenta, ainda que em baixas concentrações, componentes secundários formados principalmente durante a fermentação alcoólica e selecionados pelo processo de destilação e pela etapa de maturação do destilado, influenciando o sabor da bebida e diminuindo a percepção agressiva do álcool (MAIA, 1994). Tais

componentes pertencem às classes funcionais dos ácidos, ésteres, aldeídos e alcoóis superiores responsáveis pelo sabor e aroma da bebida.

A adição de 6 g L⁻¹ de açúcar aumentou significativamente (5%) a percepção do gosto doce, apenas, na MARCA 1 de menor teor alcoólico (39,1%). No entanto, não interferiu na percepção deste atributo nas MARCAS 2 E 3, com teores alcoólicos mais elevados (42,9 % e 46,3% – respectivamente). Para a MARCA 1 não houve diferença significativa no descritor sensorial gosto doce entre as cachaças com 6 g L⁻¹ e 20 g L⁻¹; mas, a adição de 20 g L⁻¹ influenciou positivamente a percepção do gosto doce nas MARCAS 2 e 3. Estas cachaças apresentaram médias significativamente mais altas para o descritor sensorial nesta concentração de açúcar.

Sugere-se, então, que a diferença de percepção deste descritor sensorial pode estar relacionada com o teor de alcoólico, ou seja, cachaças com teor alcoólico maior dificultariam a percepção do gosto doce.

A MARCA 1, com teor alcoólico de 39,1 %, apresentou diferença significativa (5%) nos atributos sensoriais gosto ácido (GOAC), gosto amargo (GOAM) e gosto amargo residual (REAM) entre a cachaça não adoçada e a cachaça com 6 g L⁻¹ de sacarose, mas não apresentou diferença entre a cachaças com concentrações 6 g L⁻¹ e 20 g L⁻¹ de açúcar.

Na MARCA 2 (42,9% teor alcoólico), apenas a bebida acrescida de 20 g L⁻¹ apresentou médias menores para os atributos GOAM e REAM e a MARCA 3 (46,3% teor alcoólico) não apresentou diferença significativa entre nenhum dos atributos estudados, exceto o gosto doce. Sugere-se, portanto, que cachaças com teores alcoólicos mais elevados dificultem a percepção do gosto doce, sendo que o mesmo pode interferir na percepção dos atributos, tais com: gosto ácido, gosto amargo e gosto amargo residual.

5.3.2.2 Correlações entre o Atributo Doce e os Demais Atributos

Foi realizada a análise estatística descritiva do coeficiente de correlação de Pearson, ao se relacionar as médias do atributo gosto doce com todas as médias dos atributos investigados: gosto amargo; gosto ácido; sabor alcoólico; sabor residual alcoólico; gosto residual amargo e ardência residual.

Na **Tabela 5.5**, observa-se que o gosto doce tem uma correlação negativa com o gosto amargo ($r = -0,881$, $p = 0,02$) e com o gosto amargo residual ($r = -0,894$, $p = 0,01$), ou seja, apresentaram força e direção opostas. Não houve correlação significativa entre as médias do gosto doce e as médias do gosto ácido nas amostras estudadas. Pode-se, portanto, propor que cachaças as quais apresentam maior intensidade no atributo sensorial gosto doce, tendem a exibir uma menor intensidade nas percepções sensoriais do gosto amargo e amargo residual.

TABELA 5. 5 Coeficiente de correlação de Pearson entre as médias do atributo gosto doce e as médias dos atributos sensórias

Atributo Sensorial	Coeficiente de correlação de Pearson
Sabor Alcoólico	-0,596 P = 0,090
Gosto Amargo	-0,881* P = 0,002
Gosto Ácido	-0,632 P = 0,068
Sabor Residual Alcoólico	0,124 P = 0,750
Gosto Residual Amargo	-0,894* P = 0,001
Ardência	-0,509 P = 0,162

Coeficientes de correlação seguidos * são significativos a 5% de probabilidade

Alguns trabalhos relatam a existência de correlação entre os atributos sensoriais nos mais variados alimentos. DELLA MODESTA *et al.* (2005), estudando sucos de maracujá pasteurizados observaram que a sensação de adstringência foi menor em amostras onde o gosto doce apresentou-se mais intenso. Também, MAMEDE *et al.* (2010) perceberam uma correlação positiva entre o gosto amargo com o sabor queimado e a adstringência, analisando amostras de café solúvel

descafeinado. PFLANZER *et al.*(2010) observaram correlação positiva entre o descritor sabor de caramelo com os descritores aroma de caramelo e doçura; entre aroma de chocolate e aroma de leite, estudando o perfil sensorial e aceitação de bebida láctea achocolatada.

5.4 CONCLUSÃO

Cachaças com teores alcoólicos mais elevados dificultam a percepção do gosto doce, sendo que o mesmo pode interferir na percepção dos atributos, tais como: gosto ácido, gosto amargo e gosto amargo residual.

Cachaças que apresentam maior intensidade no atributo sensorial gosto doce, tendem a exibir uma menor intensidade nas percepções sensoriais do gosto amargo e amargo residual.

5.5 BIBLIOGRAFIA

- ASTM. American Society for Testing and Material. Guidelines for the selection and training of sensory panel members. **Philadelphia**: ASTM, 1981.
- DELLA MODESTA, R. C.; GONÇALVES, E.B.; ROSENTHAL, A.; SILVA A. L. S; FERREIRA, J. C. S. Desenvolvimento do perfil sensorial e avaliação sensorial/instrumental de suco de maracujá. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.25, n.2, p. 345-352 Abr/Jun. 2005.
- MAIA, A. B. R. Componentes voláteis da Aguardente. **Sociedade dos Técnico Açucareiros do Brasil**, Piracicaba, v.12, n.6, p. 29-34, 1994.
- MAMEDE M. E. O., PERAZZO K. K., MACIEL L. F., CARVALHO L.D. Avaliação sensorial e química de café solúvel descafeinado. **Alimentos e Nutrição**, v. 21, n. 2, p. 311-324, Abr./Jun. 2010.
- PFLANZER, S. B.; CRUZ, A. G.; HATANAKA, C. L.; MAMEDE, P. L.; CADENA, R.; FARIA, J. A. F., & SILVA, M. A. A. P. Perfil sensorial e aceitação de bebida láctea achocolatada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.30, n.2, p. 391-398 Abr/Jun. 2010.
- SHIROSE, I. Análise Seqüencial de Wald e sua Aplicação à seleção de julgadores para avaliação organoléptica. **Boletim do ITAL**, vol. 50, p. 57-77, 1977.

STONE, H.; SIDEL, J.L. **Sensory evaluation practices**. 2. ed. San Diego:
Academmic Press Inc., 1993. 338 p.

6 - CONCLUSÕES GERAIS

Através das técnicas analíticas empregadas, ESI(-)-MS e PCA, não foi possível discriminar cachaças industriais, destiladas em coluna de inox, das cachaças artesanais, destiladas em alambique de cobre. O agrupamento das amostras foi realizado segundo a presença ou ausência de açúcar nas mesmas.

A redistilação das cachaças não interferiu no ESI-MS, modo negativo das cachaças destiladas em alambique de cobre e coluna de inox.

As cachaças redestiladas produzidas em coluna de inox apresentaram no espectro ESI(-)-MS os mesmos íons característicos das cachaças produzidas em alambique de cobre e redestiladas: os íons de $m/z = 143$, $m/z = 171$, $m/z = 199$.

A análise de componentes confirmou a similaridade dos "Fingerprint" das cachaças estudadas após a sua redistilação, não permitindo a formação de grupos distintos.

Todas as amostras de cachaça apresentaram média de aceitação global, aroma e sabor próximo a seis (gostei moderadamente).

As cachaças destiladas em alambique de cobre e a cachaça destilada em coluna de inox e armazenada em madeira obtiveram uma maior aceitação global.

O Mapa de Preferência Interno apresenta regiões diferentes para aceitação global das cachaças destiladas em alambique de cobre e em coluna de Inox.

O perfil sensorial das marcas de cachaças estudadas foi caracterizado doze termos descritivos: irritação, aroma alcoólico, aroma de cana, aroma de madeira, sabor alcoólico, sabor amadeirado, gosto doce, gosto amargo, gosto ácido, sabor residual alcoólico, gosto residual amargo e ardência residual.

Apenas que o atributo gosto doce apresentou diferença significativa ao nível de 5%, Teste de TUKEY para as seis marcas de cachaça.

Não foi possível agrupar as cachaças quanto ao modo de destilação observando os mapas de preferência externo (PREFMAP) relacionando a análise das medidas descritivas das cachaças com o conjunto de dados do teste de aceitação e mapa de preferência externo correlacionando os componentes voláteis com o conjunto de dados do teste de aceitação.

As cachaças destiladas em alambique de cobre foram as mais aprovadas quanto a impressão global de acordo com o gráfico de contorno dos descritores sensoriais.

Cachaças com teores alcoólicos mais elevados dificultam a percepção do gosto doce, sendo que o mesmo pode interferir na percepção dos atributos, tais como: gosto ácido, gosto amargo e gosto amargo residual.

Cachaças que apresentam maior intensidade no atributo sensorial gosto doce, tendem a exibir uma menor intensidade nas percepções sensoriais do gosto amargo e amargo residual.

7- ANEXO

4.1-CAPITULO 4

A.1-Termo de consentimento e esclarecimento para a realização de teste de aceitação

Consentimento para Participação de Voluntários no Projeto

Caracterização Físico-Química e Sensorial de Cachaça de Alambique do Estado de Minas Gerais da Cachaça Industrial

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA PESQUISA

Por favor, leia atentamente todas as informações apresentadas a seguir. Caso compreenda e concorde com todos os itens, escreva seu nome com letra legível e assine nos campos existentes no final do texto.

Prezado(a) Senhor(a);

Você está sendo convidado a integrar um grupo de pessoas em idade adulta, para contribuir no desenvolvimento de um projeto de pesquisa que tem por objetivos diferenciar quimicamente e sensorialmente a cachaça de alambique e de coluna.

Sua atividade consistirá em realizar degustações periodicamente marcadas de diferentes cachaças, preenchendo uma ficha apropriada. Suas respostas serão utilizadas para avaliar as qualidades sensoriais dos produtos e sua aceitação.

O projeto será desenvolvido integralmente pela aluna Andréa Carrara Geócze, tendo como orientadora a professora Doutora Evelyn de Souza Oliveira e a professora Doutora Lúcia Helena E.S. Laboissière que têm responsabilidade pelo projeto e farão todo o acompanhamento e assistência nas etapas de degustações.

Toda e qualquer informação sobre o projeto, o desenvolvimento da pesquisa e a metodologia empregada foram previamente apresentados a todos os participantes e serão sempre transmitidos durante todo o período de duração das pesquisas.

Nesta pesquisa não haverá formação de grupos de controle ou placebo.

Caso, em qualquer momento da pesquisa, você não deseje realizar alguma atividade, ou prefira cancelar seu consentimento, poderá fazê-lo, sem que isso lhe traga qualquer prejuízo ou penalização.

Todos os dados fornecidos são confidenciais, sendo totalmente garantidos o sigilo das informações e a sua privacidade.

A SUA PARTICIPAÇÃO NO PROJETO TEM CARÁTER VOLUNTÁRIO E NÃO LHE TRARÁ NENHUM TIPO DE ÔNUS, REMUNERAÇÃO E BENEFÍCIO.

A.2.- Formulário para a Seleção e Recrutamento de Provedores para a Análise Sensorial (Teste de Aceitação)

FORMULÁRIO PARA A SELEÇÃO A ANÁLISE SENSORIAL

Prezado(a) Senhor(a);

Você está sendo convidado para participar de um teste de Aceitação de diferentes. Caso você se interesse a participar deste estudo, será necessário sua participação em todas as etapas da aplicação desta técnica. O período de duração deste projeto será no máximo de um ano, iniciando em agosto de 2008.

Caso concorde em participar deste projeto, complete o questionário com todas as informações solicitadas, sabendo-se que serão mantidas confidenciais.

Nome: _____ Data de nascimento: _____
Telefone: _____ E-mail: _____ Naturalidade: _____

Sexo masculino feminino

Assinale abaixo quais destilados que aprecia:

- Rum Uísque Cachaça
 Gim Tequila Saque
 Conhaque Outras: _____

Com que frequência você consome bebida alcoólica?

- Diariamente Nos fins de Semana Eventualmente

A.3 - Ficha utilizada no teste de aceitação

A.3.- Ficha de Avaliação das Amostras de Cachaça (Teste de Aceitação)

Nome: _____ Data: _____

Amostra n^o. _____

Por favor, avalie a amostra de cachaça utilizando a escala abaixo para cada um dos atributos apresentados, marcando com um X a opção da escala que melhor reflita o seu julgamento, descrevendo assim o quanto você gostou ou desgostou do produto.

Atributo	Sabor	Aroma	Impressão global
Gostei extremamente	()	()	()
Gostei muito	()	()	()
Gostei moderadamente	()	()	()
Gostei ligeiramente	()	()	()
Indiferente	()	()	()
Desgostei ligeiramente	()	()	()
Desgostei moderadamente	()	()	()
Desgostei muito	()	()	()
Desgostei extremamente	()	()	()

A.4-Termo de consentimento e esclarecimento para a realização de ADQ.

Consentimento para Participação de Voluntários no Projeto

Caracterização Físico-Química e Sensorial de Cachaça de Alambique do Estado de Minas Gerais da Cachaça Industrial

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA PESQUISA

Por favor, leia atentamente todas as informações apresentadas a seguir. Caso compreenda e concorde com todos os itens, escreva seu nome com letra legível e assine nos campos existentes no final do texto.

Prezado(a) Senhor(a);

Você está sendo convidado a integrar um grupo de pessoas em idade adulta, para contribuir no desenvolvimento de um projeto de pesquisa que tem por objetivos diferenciar quimicamente e sensorialmente a cachaça de alambique e de coluna.

A metodologia selecionada para a diferenciação sensorial das cachaças é a ANALISE DESCRITIVA QUANTITATIVA (ADQ), que requer um grupo treinado, que consiga identificar os atributos e perceber sua intensidade nos alimentos ou bebidas analisados. Para que esta metodologia seja bem aplicada é necessário à seleção dos provadores, seu treinamento e finalmente a avaliação dos produtos.

Caso você se interesse a participar deste estudo, será necessário sua participação em todas as etapas da aplicação desta técnica, demandando seu tempo e a sua boa vontade.

O período de duração deste projeto será no máximo de seis meses, iniciando em setembro de 2011.

O projeto será desenvolvido integralmente pela aluna Andréa Carrara Geócze, tendo como orientadora a professora Doutora Evelyn de Souza Oliveira (UFMG) e a professora Doutora Cléia Batista Dias Ornellas (UNI-BH) que têm responsabilidade pelo projeto e farão todo o acompanhamento e assistência nas etapas de degustações.

Toda e qualquer informação sobre o projeto, o desenvolvimento da pesquisa e a metodologia empregada foram previamente apresentados a todos os participantes e serão sempre transmitidos durante todo o período de duração das pesquisas.

Nesta pesquisa não haverá formação de grupos de controle ou placebo.

Caso, em qualquer momento da pesquisa, você não deseje realizar alguma atividade, ou prefira cancelar seu consentimento, poderá fazê-lo, sem que isso lhe traga qualquer prejuízo ou penalização.

Todos os dados fornecidos são confidenciais, sendo totalmente garantidos o sigilo das informações e a sua privacidade.

SUA PARTICIPAÇÃO NO PROJETO TEM CARÁTER VOLUNTÁRIO E NÃO LHE TRARÁ NENHUM TIPO DE ÔNUS, REMUNERAÇÃO E BENEFÍCIO.

A.5- Ficha de avaliação das Amostras de cachaças (ADQ)

<p>NOME: _____ DATA: _____ N° amostra: _____</p> <p>Faça um traço vertical na escala abaixo de acordo com a intensidade percebida para cada atributo:</p> <p>ATRIBUTOS</p> <p>SENSAÇÃO NASAL</p> <p>Irritante FRACO _____ FORTE</p> <p>AROMA</p> <p>Alcoólico FRACO _____ FORTE</p> <p>Amadeirado AUSENTE _____ FORTE</p> <p>Cana AUSENTE _____ FORTE</p> <p>Mosto Fermentado AUSENTE _____ FORTE</p> <p>SABOR</p> <p>Alcoólico FRACO _____ FORTE</p> <p>Amadeirado AUSENTE _____ FORTE</p>	<p>Gosto Doce AUSENTE _____ FORTE</p> <p>Gosto Amargo FRACO _____ FORTE</p> <p>Gosto Ácido FRACO _____ FORTE</p> <p>SABOR RESIDUAL</p> <p>Alcoólico FRACO _____ FORTE</p> <p>Gosto Res. Amargo FRACO _____ FORTE</p> <p>SENS. RESIDUAL</p> <p>Ardência FRACO _____ FORTE</p>
---	--

8- APÊNDICE

Parecer do CPEP/UFMG



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP

Parecer nº. ETIC 161/08

Interessado(a): Prof. Helmuth Guido Siebal Luna
Departamento de Química
ICEX - UFMG

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 10 de junho de 2008, após atendidas as solicitações de diligência, o projeto de pesquisa intitulado "Cachaça de alambique de Minas versus cachaça de Coluna" bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.

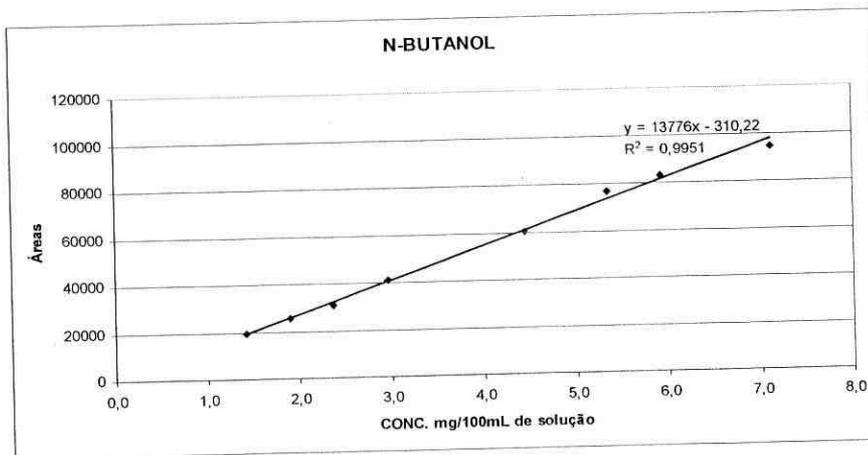
Profa. Maria Teresa Marques Amaral
Coordenadora do COEP-UFMG

CAPITULO 1

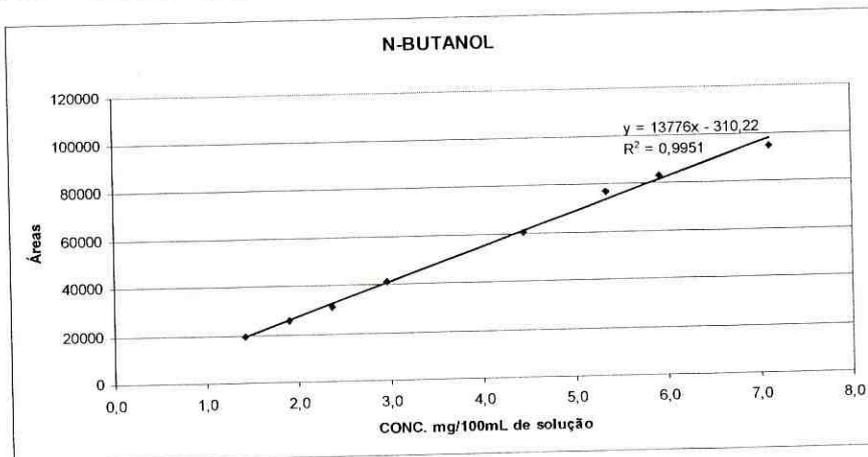
Curvas de Calibração

Curvas de Calibração

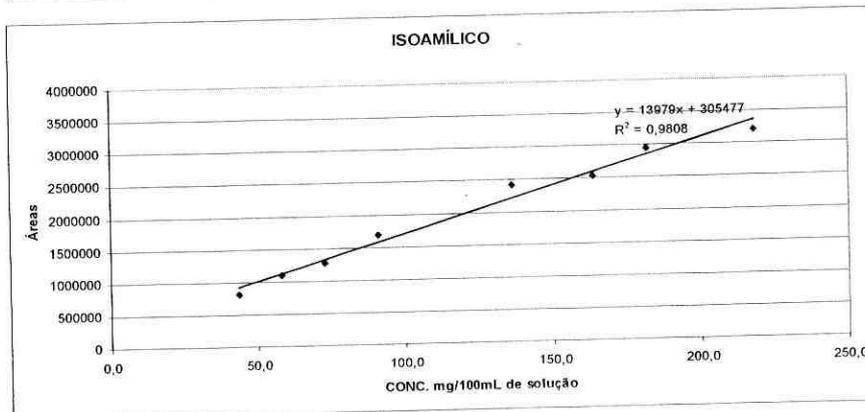
Álcool n- butanol



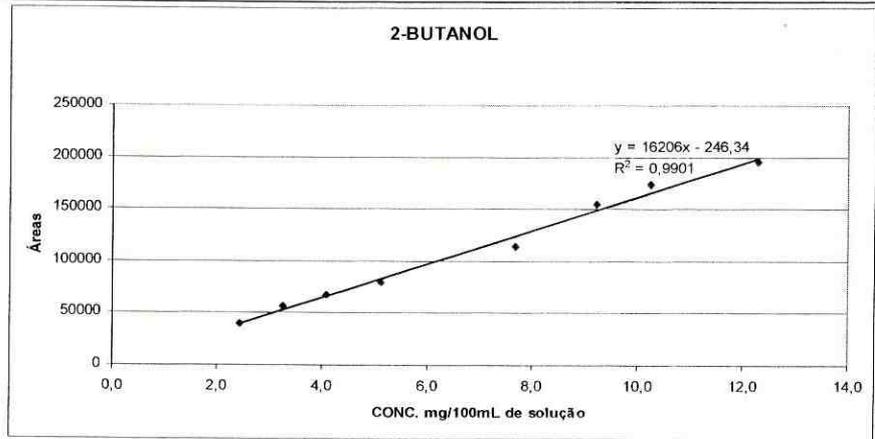
Acetato de etila



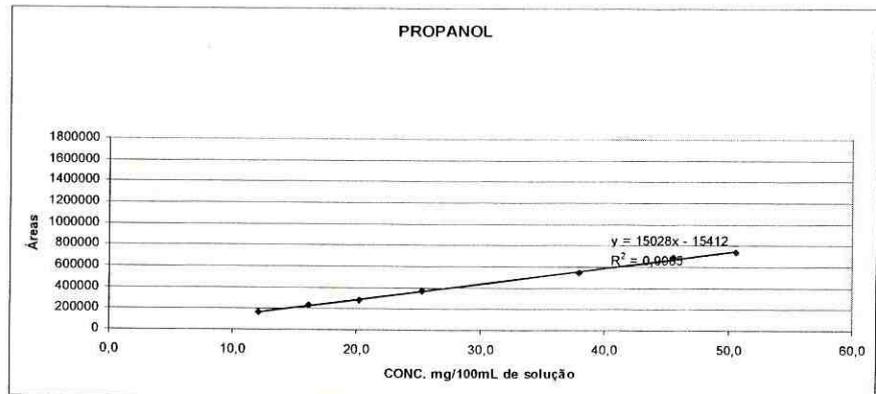
Álcool Isoamílico



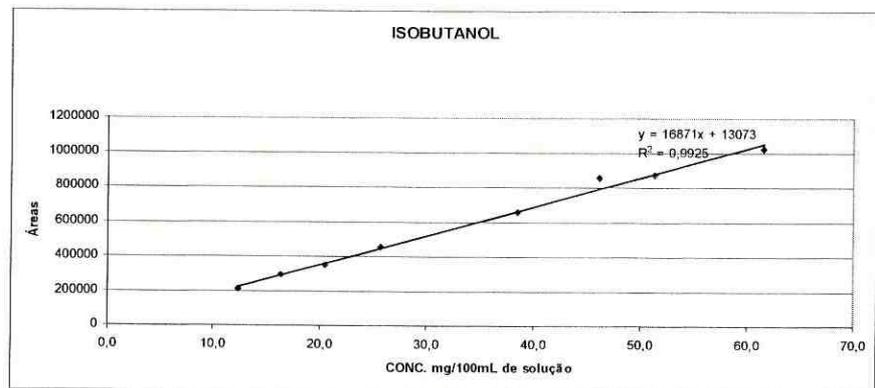
Álcool 2- butanol



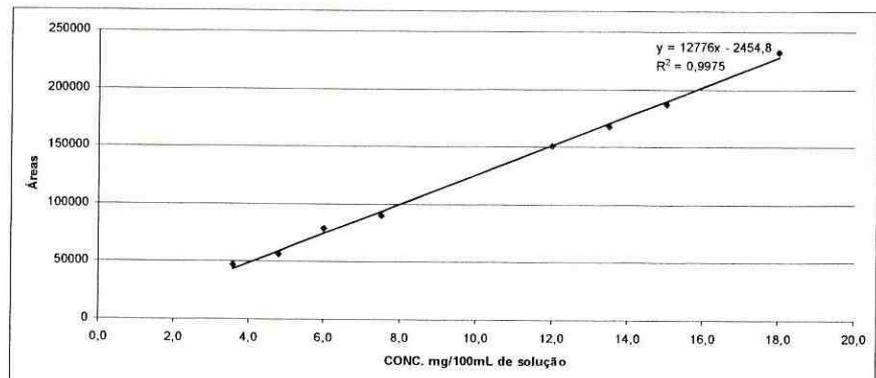
Álcool propanol



Álcool isobutanol



Acetaldeído



ANOVA- Análise Químicas

Anova - Metanol

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	5	1406.38500	281.27700	77.9161 **
Resíduo	12	43.32000	3.61000	
Total	17	1449.70500		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

ns não significativo ($p \geq .05$)

Anova -Acidez Volátil

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	5	15748.93134	3149.78627	11.6104 **
Resíduo	6	1627.74155	271.29026	
Total	11	17376.67289		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

ns não significativo ($p \geq .05$)

Anova - 2- butanol

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	5	208.69647	41.73929	5412.5258 **
Resíduo	12	0.09254	0.00771	
Total	17	208.78901		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

ns não significativo ($p \geq .05$)

Anova - Acetato de Etila

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	5	12369.98024	2473.99605	96.8069 **
Resíduo	12	306.67173	25.55598	
Total	17	12676.65198		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

ns não significativo ($p \geq .05$)

Anova - Álcool Isomilico

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	5	10720.55778	2144.11156	22.6319 **
Resíduo	12	1136.86000	94.73833	
Total	17	11857.41778		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

ns não significativo ($p \geq .05$)

Anova - Álcool Propanol

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	5	31403.51111	6280.70222	181.4300 **
Resíduo	12	415.41333	34.61778	
Total	17	31818.92444		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

ns não significativo ($p \geq .05$)

Anova - Álcool Isobutanol

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	2926.14500	585.22900	24.2214 **	
Resíduo	12	289.94000	24.16167	
Total	17	3216.08500		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

ns não significativo ($p \geq .05$)

Anova - Alcoóis Superiores Total

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	5	23913.50444	4782.70089	13.5645 **
Resíduo	12	4231.08000	352.59000	
Total	17	28144.58444		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

ns não significativo ($p \geq .05$)

Anova - Teor Alcoólico

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	5	102.01111	20.40222	36724.0000 **
Resíduo	12	0.00667	0.00056	
Total	17	102.01778		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

ns não significativo ($p \geq .05$)

ANOVA- Análise Sensoriais

Anova - Irritabilidade

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	5	8.50167	1.70033	0.2965 ns
Resíduo	42	240.89500	5.73560	
Total	47	249.39667		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

ns não significativo ($p \geq .05$)

Anova - Gosto Doce

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	5	67.05676	13.41135	6.3329 **
Resíduo	42	88.94404	2.11772	
Total	47	156.00080		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

ns não significativo ($p \geq .05$)

Anova - Aroma Alcoólico

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	5	11.68000	2.33600	0.5002 ns
Resíduo	42	196.13000	4.66976	
Total	47	207.81000		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

ns não significativo ($p \geq .05$)

Anova - Aroma Cana

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	5	10.11417	2.02283	0.3847 ns
Resíduo	42	220.84250	5.25815	
Total	47	230.95667		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

ns não significativo ($p \geq .05$)

Anova - Sabor Madeira

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	5	20.75750	4.15150	0.5710 ns
Resíduo	42	305.35500	7.27036	
Total	47	326.11250		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

ns não significativo ($p \geq .05$)

Anova - Sabor Alcoólico

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	5	25.32417	5.06483	1.3083 ns
Resíduo	42	162.59500	3.87131	
Total	47	187.91917		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

ns não significativo ($p \geq .05$)

Anova - Gosto Amargo

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	5	17.44854	3.48971	0.5661 ns

Resíduo	42	258.91625	6.16467
Total	47	276.36479	

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)
 * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)
 ns não significativo ($p \geq .05$)

Anova - Gosto Ácido

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	5	18.52354	3.70471	0.5186 ns
Resíduo	42	300.04625	7.14396	
Total	47	318.56979		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)
 * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)
 ns não significativo ($p \geq .05$)

Anova - Gosto Alcoólico Residual

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	5	11.44354	2.28871	0.7271 ns
Resíduo	42	132.20625	3.14777	
Total	47	143.64979		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)
 * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)
 ns não significativo ($p \geq .05$)

Matriz de dados (m X n) onde as linhas (m) foram as amostras (24 cachaças) e as colunas (n) as variáveis

199.08	141.01	143.08	143.10	143.11	171.03	171.07	171.08	171.09	171.10	171.14	172.14	183.94	184.98	185.49	199.17	200.17	202.88			
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10.88	0	0	0	0	14.12	0	8.49			
0	0	0	0	38.15	0	0	5.85	0	0	100	0	0	0	0	48.94	0	0			
0	0	0	0	11.81	0	0	0	0	0	39.44	0	0	0	0	19.87	0	0			
0	0	0	0	5.1	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	45.29	0	0			
6.03	5.34	0	5.03	14.95	0	0	0	0	8.4	100	0	0	0	0	64.88	0	0			
0	0	0	0	15.14	0	0	0	7.02	0	100	0	0	0	0	41.81	0	0			
0	0	0	0	18.95	4.23	7.83	0	0	0	100	0	0	0	0	32.25	0	0			
0	0	0	9.2	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	42.95	0	0			
0	0	0	0	39.07	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	13.43	0	0			
0	0	0	0	40.83	0	0	0	0	0	100	5.62	0	15.89	5.87	28.9	0	0			
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	10.05	0	0	85.84	0	0			
0.00	0	5.80	0	33.52	0	0	0.00	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0			
0.00	0	0	0	32.23	100	0	0	0	0	100	0	0	0	0	14.89	0	0			
0	0	0	0	43.54	0	0	0	0	0	100	5.29	0	0	0	30.55	0	0			
0	0.00	0.00	0.00	24.9	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	35.44	0	0			
0	0	0.00	0	40.03	0.00	0	0	0	0	100	7.89	0	0	0	25.47	0	0			
0	0	0.00	0	15.86	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	42.05	0	0			
0	0	0.00	0	15.86	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	43.49	0	0			
0	0	0.00	0	27.54	0	0	0.00	0	0	100	0.00	0	0	0	43.15	0	0			
0	0	0.00	0	0.00	0	0	0.00	0	0	100	6.72	0	0	0	59.23	0	0			
0	0	0.00	0	18.43	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	59.82	0	0			
0	0	0.00	0	12.73	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	75.15	0	0			
0	0	0.00	0	21.99	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	45.75	0	0			
0	0	0.00	0	6.72	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	51.41	7.15	0			
202.94	202.98	202.97	207.14	208.93	210.93	217.00	217.93	220.28	220.33	220.34	220.67	220.80	221.00	221.02	225.11	227.20	227.21	232.97	232.98	241.08
0	0	0	0	0	0	0	0	0	19.99	0	8.39	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7.85	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	5.445	0	0	0	0	0	0	0	0	3.8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	7.28	0	0	0	0	0	0	9.63	0	0	0	0	0	0	0	0	0	19.82
33.96	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5.33	0	0	0	0	11.28	0	0	0	0	9.45
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
35.13	0	0	0	0	0	0	0	5.48	48.32	0	9.47	0	5.14	5.21	0	0	12.47	0	8.14	0
7.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25.95	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.00	0	14.2	0	35.02	5.5	0	15.17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	48.07
0	0	0	0	0	0	0.00	0.00	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0	0.00
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0.00	0	0.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0.00	0	14.42	0	14.33	0	0	0	0	0	0	0.00	0	5.03	0	0	0	0	6.5
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5.58	0.00	0	0	11.08
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11.2
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

269	271	279	280	282	283	287	298	307	309	311	312	313	314	315	325
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1342.3	0	0	0	0	1308.4
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	551.4	0	0	0	0	791.5
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
116.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	718.5	0	0	0	0	998.9
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1211.3	0	0	0	0	2380.8
0	0	0	0	0	0	3215	0	0	0	13355.1	2435.4	0	0	0	15371.8
0	0	0	0	0	0	1527.2	0	0	0	5518.4	1223.8	0	0	0	5441.4
184.7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	571.5	0	0	0	0	994.5
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	3523	895.4	778.6	0	0	11379.5	2578.2	954.4	0	12215
0	0	0	0	0	0	2756.3	0	0	673.1	8278.6	0	3113.5	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	880	0	0	0	3228	637.6	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	3118.7	0	512.3	0	11335.3	2342.5	1081.6	0	0
0	0	0	0	0	0	0	697.6	0	0	3449.3	0	713.4	0	0	0
0	0	0	584.3	0	0	0	1152	0	0	2255.8	0	505.4	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	454.4	0	0	1605.9	0	370.1	0	380.6	3770.4
0	0	0	0	0	0	0	5215.1	0	0	22608.1	0	4288.9	0	0	24600.1
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	782.1	0	1284.3	608.3	0	0	2978.9	726.9	0	0	0	2995
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	282	0	0	0	0	456
0	0	259.6	0	0	0	0	523.9	0	0	1749.7	0	0	0	0	1721.7
0	0	0	319.7	0	0	0	0	0	0	2135.4	0	1114.1	0	1132.9	1632
0	0	0	676.4	0	0	0	0	0	0	1605.9	0	370.1	0	380.6	3770.4
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5753.2	0	0	0	0

326	327	328	330	331	338	339	340	341	342	353	355	354	357	377	378
0	0	0	0	0	0	0	0	6405	807	0	0	0	0	2842.8	478.2
0	0	0	0	0	0	912.5	0	1428.7	0	0	0	0	0	5433.6	837.6
0	0	0	0	0	0	0	0	5658.1	788	0	0	0	0	10941.3	1455.3
0	0	0	0	0	0	0	0	10754.6	1350.4	0	0	0	0	2122.2	0
0	0	0	0	0	0	0	0	5928.1	820	0	0	0	0	1952.1	0
0	0	0	0	0	0	0	0	8257.7	1053.5	0	0	459.3	0	3760.8	542.3
0	0	0	0	0	0	724.4	0	2950.5	0	0	0	0	0	2888.1	0
0	0	0	0	0	0	0	0	11851.4	853.3	0	0	0	0	5092.5	770.4
0	0	0	0	0	0	0	0	6542.2	0	0	0	0	0	6550.3	912.8
0	0	0	0	0	0	0	0	7928	1072.3	0	0	0	0	5121.2	719.5
0	0	0	0	0	0	0	0	6084.1	896.2	0	0	0	0	4149.8	652.1
0	0	0	0	0	0	2146	0	16210.6	1968	0	0	0	0	14447.2	2074.9
0	0	0	0	0	0	0	0	1637.6	203.2	0	0	0	0	1165.8	165.3
0	0	0	0	0	0	0	0	5434.4	754.3	0	0	0	0	2268.3	370.4
0	0	0	0	0	0	0	0	1942.3	251.5	0	0	0	0	611.8	0
0	0	0	0	0	0	0	0	5434.4	754.3	0	0	0	0	2268.3	370.4
0	0	0	0	0	0	795.2	0	7541.6	972.5	0	0	0	0	4980.8	728.5
0	0	0	0	0	0	1573.8	0	5514.2	0	0	0	0	0	4385.4	0
3366.9	0	0	0	0	0	12142	2774.4	1970.9	0	0	0	0	0	0	0
1320.5	0	0	0	0	0	4907.7	1084.3	0	0	0	0	0	0	0	0
220.1	0	0	0	0	0	1067.2	0	704.1	0	0	0	0	0	0	0
0	4547.7	0	1252.8	0	0	7643.4	1935.2	853.9	0	0	0	989.1	0	0	0
12971.5	3020.4	1544.4	842.5	0	0	0	12227.8	4509.7	0	0	0	0	0	0	0
6439.6	0	1245.1	732.8	0	0	5183.1	0	1233.8	623.7	0	0	0	692.6	0	0
11632.2	2150.5	1108.7	798.4	0	0	8289.5	0	0	1205.1	0	0	723.5	0	0	0
4738.3	848.3	460.4	615.9	0	373	0	4305.6	811.5	369	518.9	447.7	0	0	0	0
2222.3	515.9	707.2	1000.6	513.2	0	0	1834.4	0	0	0	0	0	0	0	0
725.1	352.4	0	0	0	0	4197.2	0	1042.5	0	0	0	640	0	0	0
0	5100.1	2264.2	0	0	0	19152.9	3936.5	0	2174.3	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	1515.6	0	609.9	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	759.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	526.2	0	0	0	0	1637.6	0	321.9	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	1785.6	1155.5	487.8	0	0	0	0	0	0	0
725.1	352.4	0	0	0	0	4197.2	0	1042.6	0	0	0	540	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	5918.4	0	0	0	0	0	3458.4	4313.2	0	0	0	1441	0	3551.3	0

379	380	387	388	389	404	413	417	421	422	423	431	432	438	439	447
1075	0	6439.2	917.2	0	0	0	1049.9	0	0	0	960.1	0	0	794.7	0
1784.9	0	1691.2	0	0	0	0	0	4405.1	0	3355.9	0	0	0	0	0
3757.5	492.4	5277.4	788.8	0	0	0	1806.9	0	0	0	1198.6	0	0	514.4	0
710.7	0	8053.1	1382.3	0	0	0	1723.4	0	0	0	3144.9	0	0	1028	0
660	0	5956.2	831.4	0	0	0	389.3	0	0	0	523.1	0	0	549.8	0
1351.2	0	7762.9	1184.6	0	0	0	1124.6	0	0	0	855.5	0	0	351.2	0
0	0	2922.5	0	0	0	0	0	2019.9	0	1980.9	523.2	0	0	0	0
2035.3	0	11557.3	1708.6	0	0	0	3533.1	0	0	0	3529.3	0	0	1948.2	747.8
2418.7	0	5327.5	855.1	0	0	0	0	0	0	0	2148.8	0	0	0	0
1774.1	0	6944.3	1045.2	0	0	0	848.5	0	0	0	1426.4	0	0	0	0
1455.9	0	6142.6	889.2	0	0	0	1545.1	0	0	0	1132.2	0	0	557.5	436.1
5017.8	0	17375.4	2579.1	0	0	0	3854.8	0	0	0	3380.8	0	0	0	0
5017.8	0	1596	233	0	0	0	462	0	0	0	290.5	0	0	110.8	138.3
799.9	0	6217.7	842.3	0	0	0	700.5	0	0	0	3380.8	0	0	0	0
198.6	0	2200.7	321.1	0	0	0	179.7	0	0	0	2095.1	353.7	0	0	0
799.9	0	6217.7	842.3	0	267.1	0	700.5	0	0	0	815.2	0	0	322.5	0
1773.5	0	3369.7	0	0	0	0	2838	1045.3	0	930.7	1843	0	0	1038.8	0
1854.4	0	6696.4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	803.3	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	271.6	0	0	0	0	0	0	0	0	602	0	0	424.5	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	795.8	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	523.8	0	0	0	988.1	0	0	0	528.1	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	655.4	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1851.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7624.5	0	0	1545.5	0
1800.4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1813.3	0	0	0	0

449	455	459	474	491	495	505	513	519	520	521	524	525	543	593	597	648	653
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	270.9	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	855.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1077.1
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	373	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	765.9
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7253.9	1490.8	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	643	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2372.3
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	115.6	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2372.3
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	509.9	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	2216.4	0	1276.7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	2535.1	0	2950	0	2515.9	0	0	0	0	0	0	0	0	5944.8
0	0	0	0	2403.2	0	3343.4	0	2445	797.5	0	0	0	0	0	0	0	1804.4
0	0	0	0	0	193.1	0	193.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	222.1
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
533.9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	575.7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	628.6	0	578.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	3759.7	0	4456.2	0	4088.7	0	0	0	0	0	0	0	0	2051.6
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	634.6	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	222.7	0	219.7	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	4000.6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3658.2
0	309.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	583.5	0	1498.7

525	543	593	597	648	653	659	667	668	676	681	692	683	684	685	697
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3767.3	988.2	316	0
0	0	0	0	0	1077.1	0	1256	0	0	931.1	0	969.7	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2857.7	730.3	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6965.6	1708.9	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	718.9	0	3975	1012	311.6	0
0	0	0	0	0	765.9	0	915.8	0	0	0	0	5505.8	1484.3	446.8	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2404.2	523.8	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10576.8	2653.6	813.7	0
1490.8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3916.9	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2853	774.3	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4596.4	1264.3	0	0
0	0	0	0	0	2372.3	0	4075.9	0	4424.3	2043.4	5845.8	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	808.8	218.9	0	0
0	0	0	0	0	2372.3	0	4075.9	0	4424.3	2043.4	5845.8	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	832.9	225	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3132.5	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8726.2	2120.1	601.6	0
0	0	0	0	0	0	0	1383	0	0	1099.3	0	2341.5	0	0	0
0	0	0	0	0	5944.8	0	5920.9	2037.7	0	5260.1	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	1804.4	0	1801.1	0	0	1685.1	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	222.1	0	330.4	0	0	341.4	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	407.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	538.4
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	2061.6	2573.4	0	0	0	1977.9	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	634.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	222.7	0	218.7	0	0	0	0	216.7	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	3658.2	0	5430.5	0	0	3011.9	0	12312.1	2739.9	0	0
0	0	0	0	0	1498.7	0	2073.5	670.5	0	976.2	0	12092.6	3023.7	890.4	0