



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO



DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DOMÉSTICAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE  
ALIMENTOS

SÔNIA PAULA ALEXANDRINO DE OLIVEIRA

**NÍVEIS DE CONGÊNERES, CARBAMATO DE ETILA E OUTROS  
CONTAMINANTES EM RUNS E UÍSQUES DE CONSUMO POPULAR NO BRASIL**

Recife – PE

Fevereiro de 2012

**SÔNIA PAULA ALEXANDRINO DE OLIVEIRA**

**NÍVEIS DE CONGÊNERES, CARBAMATO DE ETILA E OUTROS  
CONTAMINANTES EM RUNS E UÍSQUES DE CONSUMO POPULAR NO BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal Rural de Pernambuco como exigência para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

**Orientador:** Prof. Dr. Ian Carneiro da Cunha Nóbrega

**Co-orientador(a):** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Vera Lúcia Arroxelas Galvão de Lima

Recife - PE

Fevereiro de 2012

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DOMÉSTICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE  
ALIMENTOS

**NÍVEIS DE CONGÊNERES, CARBAMATO DE ETILA E OUTROS  
CONTAMINANTES EM RUMS E UÍSQUES DE CONSUMO POPULAR NO BRASIL**

Por **Sônia Paula Alexandrino de Oliveira**

Esta dissertação foi julgada para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos e aprovada em 29/02/2012 pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos em sua forma final.

Banca Examinadora:

---

Prof. Dr. Ian Carneiro da Cunha Nóbrega – UFRPE (Presidente)

---

Prof. Dr. André Fernando Lavorante - UFRPE (Membro externo)

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Paula Silveira Paim – UFPE (Membro externo)

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Daniela Maria do Amaral Ferraz Navarro – UFPE (Membro Externo)

Recife – PE  
2012

*À minha mãe, Luciene Rodrigues da Silva Alexandrino,  
exemplo de mãe e amiga.*

*Ao meu esposo, José Dorivaldo Florêncio de Oliveira,  
por todo apoio e incentivo.*

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pelas oportunidades que me foram dadas na vida e por me fornecer sabedoria e perseverança suficiente para transpor qualquer percalço em meu caminho me guiando sempre na direção mais acertada.

Aos meus pais, Luciene R. da S. Alexandrino e João Batista Alexandrino, pelo amor incondicional e dedicação que sempre dispuseram aos filhos.

Ao meu marido, José Dorivaldo F. de Oliveira, que sempre esteve ao meu lado em todos os momentos me dando atenção, amor e que sempre esteve disposto a me mostrar que devemos sempre lutar pelo que desejamos, mesmo que as chances de sucesso sejam mínimas.

A todos os familiares, que sempre me apoiaram e incentivaram em todo o decorrer da minha vida.

Ao Prof. Dr. Ian Nóbrega, meu orientador, ofereço meus sinceros agradecimentos pela disponibilidade, conhecimento repassado e incentivo em trabalhar neste projeto.

Ao MCT/CNPq, por meio dos Editais 70/2009 (processo 552883/2010-7) e 14/2009 - Universal (processo 474644/2009-0), pela concessão da bolsa de Mestrado e apoio financeiro à pesquisa, respectivamente.

Ao PGCTA/UFRPE, por dar o apoio necessário para a realização do Mestrado.

As minhas amigas do Mestrado que sempre disponibilizaram um ombro amigo para lamentações. E quantas lamentações.

Ao Laboratório de Agrotóxicos e Contaminantes em Alimentos e Bebidas Alcoólicas-LABTOX do Instituto de Tecnologia de Pernambuco- ITEP por todo apoio técnico, espaço e equipamentos cedidos para que essa pesquisa fosse realizada.

Ao meu amigo Raimundo Filho, que com sua grande sabedoria e paciência tornou suportável alguns dos percalços encontrados durante o estágio no LABTOX e por todo seu conhecimento deixado a minha disposição.

Aos funcionários do LABTOX, em especial Marcelo e Jadson, pela ajuda constante durante o período de realização dos ensaios e a todos os demais que de alguma forma estiveram envolvidos na execução desta pesquisa.

## RESUMO

Dentre as várias substâncias tóxicas encontradas em bebidas alcoólicas, especialmente nas destiladas, o carbamato de etila (CE), um reconhecido carcinógeno de natureza orgânica, tem despertado grande atenção dos órgãos de fiscalização e pesquisadores. Em 2005, após constatação que a cachaça, a bebida alcoólica destilada mais consumida no Brasil, possuía elevado nível deste contaminante, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) estabeleceu uma tolerância de 150 µg de CE por litro de cachaça (a entrar em vigor em junho de 2012), porém outras bebidas destiladas de consumo popular, tais como runs e uísques produzidos no Brasil, ficaram livres deste controle. Assim, diante do desconhecimento do nível de CE, aliada a carência de informações sobre os perfis químicos de runs e uísques produzidos no Brasil, esta pesquisa teve como objetivo quantificar congêneres (acidez volátil, aldeídos, ésteres, furfural e alcoóis superiores), CE e outros contaminantes (metanol, acroleína, sec-butanol, cobre, chumbo e arsênio) nestas bebidas. Foram amostradas 15 marcas de rum e 9 marcas de uísque, todas do segmento de consumo popular (definidas com base no preço – até R\$35,00 por unidade). Com exceção de duas marcas de rum, todas as demais estavam adequadas quanto aos limites estabelecidos pelo MAPA para o somatório de congêneres. Também foi observada adequação dos níveis de metanol, cobre, chumbo, arsênio e sec-butanol à legislação vigente. Quanto ao CE, foram verificados níveis acima de 50 µg.L<sup>-1</sup> (limite de quantificação do método) em quatro marcas amostradas, uma de uísque (86 µg.L<sup>-1</sup>) e três de rum (115, 340 e 278 µg.L<sup>-1</sup>), portanto, a maioria (83%) apresentou adequação quanto ao nível internacionalmente tolerado para o contaminante em destilados (150 µg.L<sup>-1</sup>). No caso particular do CE em rum, observou-se que as duas marcas que ultrapassaram (126% e 85%) a citada tolerância também apresentaram níveis relativamente elevados de metanol. De um modo geral, os resultados indicam que os processos de destilação empregados na produção de runs e uísques no Brasil, notadamente a destilo-retificação, são adequados para controlar o nível de congêneres, CE e outros contaminantes. Este trabalho também mostrou que apesar do rum e da cachaça se originarem da mesma matéria-prima (cana-de-açúcar), o nível do CE no rum é comparativamente menor. Tal fato está provavelmente relacionado ao processo de destilação ou ao tratamento

físico-químico pelo qual o caldo de cana é submetido (conversão em melaço) na produção do rum.

**Palavras-chave:** Compostos secundários, uretana, metais pesados, bebidas destiladas, qualidade.

## ABSTRACT

Among the various toxic substances found in alcoholic beverages, especially in spirits, ethyl carbamate (EC), a recognized carcinogen of organic nature, has drawn great attention to food inspecting authorities and researchers. Taking into account various scientific studies showing that cachaça, the most consumed spirit in Brazil, has high levels of EC, the Brazilian Ministry of Agriculture, Livestock and Food Supply (MAPA) established an EC limit ( $150 \mu\text{g.L}^{-1}$ ) for the beverage in 2005 (which is coming into effect in June 2012), but other consumed spirits in Brazil, such as rums and whiskies, are not subjected to EC control by MAPA. Given the lack of information on the chemical profiles of rums and whiskies produced in Brazil, the objective of this study was to quantify congeners (volatile acids, aldehydes, esters, furfural, higher alcohols), EC and other contaminants (methanol, acrolein, sec-butanol, copper, lead and arsenic) in these beverages. Fifteen brands of rum and nine brands of whisky were sampled. All brands were low-priced (below US\$20 per bottle) and recorded (licit). With the exception of two brands of rum, all brands complied with MAPA regulation for total congeners. With respect of EC, levels above  $50 \mu\text{g.L}^{-1}$  (limit of quantification) were observed in one brand of whisky ( $86 \mu\text{g.L}^{-1}$ ) and three brands of rum ( $115$ ,  $340$  e  $278 \mu\text{g.L}^{-1}$ ). Therefore, the majority (83%) of sampled brands complied with the international EC limit for spirits ( $150 \mu\text{g.L}^{-1}$ ). It was also observed that the two brands of rum which exceeded the EC limit (126% and 85%) also presented relatively high levels of methanol. In general terms, the results indicate that distillation processes used in rum and whisky production in Brazil, notably column distillation and rectification, are suitable for controlling EC and other contaminants. Although rum and cachaça originate from the same raw material (sugar cane), EC levels in rum is comparatively lower. This observation is probably related to the distillation process (column distillation and rectification) or the physicochemical treatment by which the sugar cane juice is subjected (conversion into molasses) in rum production.

**Keywords:** secondary compounds, urethane, heavy metals, spirits, quality.

## LISTA DE TABELAS

	Pág.
<b>Tabela 1.</b> - Preço e características gerais dos runs amostrados, de acordo com informações disponíveis nos rótulos.....	45
<b>Tabela 2.</b> - Níveis* de etanol (grau alcoólico real), acidez volátil (em ácido acético), aldeídos (em aldeído acético) ésteres (em acetato de etila), alcoóis superiores ( <i>n</i> -propílico, isobutílico e isoamílico) e contaminantes (CE e metanol) nos runs amostrados.....	48
<b>Tabela 3.</b> - Resumo dos resultados* (valores máximos, mínimos e médios) de grau alcoólico real, acidez volátil, ésteres, alcoóis superiores totais, congêneres totais, metanol, CE nas 15 marcas de rum.....	49
<b>Tabela 4.</b> - Preço e características gerais dos uísques amostrados, de acordo com informações disponíveis nos rótulos.....	61
<b>Tabela 5.</b> - Níveis* de etanol (grau alcoólico real), acidez volátil (em ácido acético), aldeídos (em aldeído acético) ésteres (em acetato de etila), alcoóis superiores ( <i>n</i> -propílico, isobutílico e isoamílico) e contaminantes (CE, metanol e cobre) nos uísques amostrados.....	63
<b>Tabela 6.</b> - Resumo dos resultados* (valores máximos, mínimos e médios) de grau alcoólico real, acidez volátil, ésteres, alcoóis superiores totais, congêneres totais, metanol, CE nas marcas de uísques.....	64

## LISTA DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
<b>Figura 1</b> - Fluxograma geral de fabricação do rum.....	34
<b>Figura 2</b> - Fluxograma geral de fabricação do uísque.....	39

## SUMÁRIO

	<b>Pág.</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	13
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	16
<b>2.1 Geral.....</b>	16
<b>2.2 Específicos.....</b>	16
<b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	17
<b>3.1 COEFICIENTE DE CONGÊNERES.....</b>	17
3.1.1 Acidez.....	18
3.1.2 Aldeídos.....	19
3.1.3 Ésteres.....	21
3.1.4 Alcoóis Superiores.....	22
<b>3.2 CARBAMATO DE ETILA COMO CONTAMINANTE EM BEBIDAS         ALCOÓLICAS.....</b>	24
3.2.1 Definição e mecanismos de formação.....	24
3.2.2 Aspectos toxicológicos.....	26
3.2.3 Ocorrência em bebidas alcoólicas.....	27
<b>3.3 OUTROS CONTAMINANTES EM BEBIDAS ALCOÓLICAS.....</b>	28
3.3.1 Metanol.....	28
3.3.2 Cobre.....	29
<b>3.4 RUM.....</b>	30
3.4.1 Definição.....	30
3.4.2 Tecnologia de produção.....	31
<b>3.5 UÍSQUE.....</b>	35
3.5.1 Definição.....	35
3.5.2 Tecnologia de produção.....	36
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	40

4.1 Amostras.....	40
4.2 Solventes e reagentes.....	41
4.3 Soluções de referência para análise de acetaldeído, alcoóis superiores, acetato de etila, metanol e furfural por cromatografia gasosa - Detector de ionização de chama.....	41
4.4 Soluções de referência para análise de carbamato de etila por cromatografia gasosa – Espectrometria de massas.....	42
4.5 Soluções de referência para análise de cobre, arsênio e chumbo por espectrometria de absorção atômica – Forno de grafite.....	42
4.6 Determinação de carbamato de etila (CE) .....	42
4.7 Determinação de teor alcoólico real.....	43
4.8 Determinação da acidez volátil.....	43
4.9 Determinação de metanol, acetaldeído, acetato de etila, alcoóis superiores e furfural.....	43
4.10 Determinação de cobre, chumbo e arsênio.....	44
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>45</b>
<b>5.1 RUM.....</b>	<b>45</b>
<b>5.1.1</b> Características gerais dos runs amostrados.....	45
<b>5.1.2</b> Análise do perfil químico do rum.....	47
5.1.2.1. Adequação à legislação em vigor.....	50
5.1.2.2. Carbamato de etila (CE) e metanol.....	57
<b>5.2 UÍSQUE.....</b>	<b>61</b>
<b>5.2.1</b> Características gerais dos uísques amostrados.....	61
<b>5.2.2</b> Análise do perfil químico do uísque.....	62
5.2.2.1 Adequação à legislação em vigor.....	65
5.2.2.2 Carbamato de etila (CE), metanol e cobre.....	69
<b>6. CONCLUSÕES.....</b>	<b>73</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>75</b>

## 1. INTRODUÇÃO

De acordo com a Associação Brasileira de Bebidas (ABRABE), o mercado de bebidas no Brasil possui um faturamento de R\$ 8 bilhões anuais, dos quais R\$ 2 bilhões correspondem a bebidas alcoólicas destiladas. O setor responde por 60 mil empregos diretos e outros 240 mil empregos indiretos (ABRABE, 2011).

Estima-se que 52% dos brasileiros maiores de idade consomem bebida alcoólica pelo menos uma vez ao ano. Embora a maior porcentagem de pessoas que bebem esteja nas classes A e B e na Região Sul, é nos Estados do Norte, do Centro-Oeste e do Nordeste e na classe E que se consome o maior número de doses a cada vez que se bebe (LARANJEIRA et al., 2007).

Em termos simples, as bebidas alcoólicas podem ser classificadas em fermentadas e destiladas. Porém, devido à grande diversidade dos processos de elaboração, uma classificação mais detalhada é conveniente, a saber: fermentadas (cerveja, vinho, fermentado de frutas, etc.), por mistura (licores, coquetéis, aperitivos, etc.), destiladas (cachaça, rum, uísque, brandy, aguardente de frutas, entre outras) e destilo-retificadas (vodca, gim, etc.). Apesar da diversidade nas formas de elaboração, entretanto, as bebidas alcoólicas apresentam um ponto em comum: todas são originárias de processos de fermentação alcoólica.

O desenvolvimento da fermentação alcoólica ocorre pela ação de enzimas provenientes de leveduras, que propiciam o desdobramento dos açúcares contidos nas matérias-primas com a formação de dois produtos principais: álcool etílico e dióxido de carbono. Além desses, há formação de pequenas quantidades de outros componentes, que recebem a denominação de produtos secundários da fermentação alcoólica ou congêneres, tais como ácidos carboxílicos, ésteres, aldeídos e alcoóis superiores, os quais são responsáveis pelas características sensoriais das bebidas alcoólicas (CARDOSO, 2006). Por fim, temos os chamados contaminantes de bebidas alcoólicas, que podem ser de natureza orgânica (carbamato de etila, metanol, acroleína, entre outros) ou inorgânica (cobre, chumbo, arsênio, entre outros).

Um dos contaminantes que vem recebendo maior atenção dos pesquisadores e órgãos de fiscalização de bebidas alcoólicas nas últimas décadas é o carbamato de etila (CE), cuja fórmula química é  $C_2H_5OCONH_2$ . CE é uma substância reconhecidamente genotóxica e carcinógena, tendo sido classificada em 2007 como provavelmente carcinogênica a humanos (Grupo 2A) pela Agência Internacional de Pesquisa sobre Câncer-IARC (IARC, 2010). Em termos de ocorrência, o CE está presente em vários alimentos fermentados, em especial bebidas alcoólicas destiladas, nas quais ele se forma a partir de reações entre etanol e compostos nitrogenados, tais como uréia, citrulina e cianeto de hidrogênio (EFSA, 2007).

No âmbito da saúde pública, preocupações sobre a presença do CE em bebidas surgiram em 1985, quando níveis relativamente elevados deste contaminante foram encontrados por autoridades canadenses em bebidas alcoólicas importadas, tais como uísque, licor, destilados de frutas e vinhos (CONACHER & PAGE, 1986). A partir deste e de outros relatos sobre a incidência de CE em bebidas, o Canadá estabeleceu em 1986 limites para CE em bebidas alcoólicas, notadamente uma tolerância de 150  $\mu\text{g}$  por litro de bebida destilada. O estabelecimento de limites para CE em bebidas alcoólicas no Canadá foi seguido por vários países, entre eles os Estados Unidos, França, República Tcheca e Alemanha (EFSA, 2007).

Preocupações com o CE em bebidas alcoólicas consumidas no Brasil surgiram em 2002, quando uma concentração média de 770  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  foi reportada a partir de uma ampla pesquisa na cachaça (ANDRADE SOBRINHO et al., 2002), a bebida destilada mais popular e consumida no Brasil. Em 2005, seguindo a legislação para CE de outros países, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) do Brasil, por meio da Instrução Normativa nº 13, estabeleceu uma tolerância de 150  $\mu\text{g}$  de CE por litro de cachaça (a entrar em vigor em junho de 2012). Porém, outras bebidas destiladas de consumo popular, tais como rums e uísques brasileiros, os quais são responsáveis por 13% e 24% do consumo de destilados no Brasil, respectivamente, (LARANJEIRA et al., 2007), ficaram livres deste controle.

Assim, diante do desconhecimento do nível de CE em rums e uísques, aliada a necessidade de mais informações sobre os perfis químicos destas bebidas, esta

pesquisa teve como objetivo determinar os níveis de congêneres (acidez volátil, aldeídos, ésteres, alcoóis superiores e furfural), CE e outros contaminantes (metanol, acroleína, *sec*-butanol, *n*-butanol, cobre, chumbo e arsênio) em runs e uísques de consumo popular no Brasil.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo geral**

Determinar os níveis de congêneres (componentes voláteis “não álcool”), carbamato de etila e outros contaminantes em runs e uísques de consumo popular no Brasil.

### **2.2. Objetivos específicos**

- Determinar o teor alcoólico real e os níveis dos seguintes congêneres: acidez volátil (expressa em ácido acético), aldeídos (expressos em acetaldeído), ésteres (expressos em acetato de etila), alcoóis superiores e furfural.
- Determinar os níveis do contaminante orgânico carbamato de etila;
- Determinar os níveis de outros contaminantes (orgânicos e inorgânicos), a saber: álcool metílico (metanol), acroleína (2-propenal), álcool *sec*-butílico (2-butanol), álcool *n*-butílico (1-butanol), cobre, chumbo e arsênio.
- Comparar os resultados obtidos com os valores fixados pelas respectivas normas do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para bebidas.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1. COEFICIENTE DE CONGÊNERES

De acordo com a legislação brasileira, o coeficiente de congêneres de bebidas alcoólicas, ou substâncias voláteis “não álcool”, ou componentes secundários “não álcool”, ou impurezas voláteis “não álcool”, é a soma da acidez volátil (expressa em ácido acético), aldeídos (expresso em acetaldeído), ésteres (expresso em acetato de etila), alcoóis superiores (expressos pelo soma dos alcoóis *n*-propílico, isobutílico e isoamílico), furfural e hidroximetilfurfural, todos expressos em miligramas por 100 mL<sup>-1</sup> de álcool anidro (BRASIL, 2005; BRASIL, 2009).

Os congêneres são oriundos de reações que ocorrem durante os processos de fermentação alcoólica, destilação e armazenamento em barris de madeira, mas principalmente do primeiro. Uma proporção harmônica desses compostos é desejável para que as diferentes bebidas apresentem características sensoriais agradáveis e peculiares (CARDOSO, 2006).

As quantidades encontradas desses compostos variam muito entre os tipos de bebidas (rum, uísque, vinho, cerveja, etc.) e até mesmo dentro da mesma categoria de bebida (branco, ouro, premium, envelhecido). Diversos fatores podem contribuir para a variação da qualidade e quantidade desses compostos (CARDOSO et al., 2004, SOUZA, 2006, SAMPAIO et al., 2008). Segundo Venturini Filho (2010), os principais compostos orgânicos presentes podem agrupar-se em alcoóis, ésteres, aldeídos e compostos adquiridos durante o envelhecimento, provenientes de quatro fontes fundamentais: o substrato de fermentação, a fermentação, a destilação e o processo de envelhecimento.

De acordo com Cardoso (2006), no processo de destilação a formação e o controle dos congêneres dependem de fatores como as características próprias do mosto fermentado, da separação correta das frações de corte (“cabeça”, “coração” e “cauda”), do tipo e tamanho do destilador, da temperatura e tempo da destilação, do material de fabricação do alambique ou coluna (cobre ou inox) e da higiene do destilador.

### 3.1.1. Acidez

O ácido orgânico volátil mais comum e abundante em bebidas destiladas é o ácido acético (NYKÄNEN, 1986). Tal ácido é responsável por 50 a 90% do conteúdo total de ácidos voláteis, sendo formado, principalmente, a partir do etanol em uma reação oxidativa, na qual o acetaldeído atua como intermediário (VENTURINI FILHO, 2010). A acidez moderada em um destilado alcoólico, assim como todos os congêneres, constitui um fator de qualidade, uma vez que, durante sua produção, os ácidos reagem com o etanol presente viabilizando a formação dos ésteres, responsáveis em grande parte pelo aroma da bebida. Porém, a acidez em excesso atribui sabor indesejado, depreciando a qualidade da bebida (CARDOSO, 2006; MAIA 1994).

Segundo Cardoso (2006), a alta acidez volátil presente em aguardentes pode ser atribuída à contaminação da cana ou do próprio mosto fermentativo por bactérias acéticas e outras, seja na estocagem da cana ou no próprio caldo de cana, fazendo com que parte do substrato sofra fermentação acética, elevando assim, a acidez e diminuindo o rendimento da produção de etanol. Outros fatores, como a escolha da cepa da levedura, pureza, tempo e temperatura da fermentação e aeração do mosto também influenciam os níveis da acidez. Níveis de ácido acético, segundo Venturini Filho (2010), também podem ser aumentados após a fermentação, durante o envelhecimento em barris de carvalho, pela reação de oxidação do acetaldeído.

O fracionamento correto das porções “cabeça”, “coração” e “cauda”, durante a destilação, é essencial para o controle dos níveis de ácido acético no produto recém-destilado. A maior concentração de ácido acético se encontra na metade final da fração “coração” e principalmente na fração “cauda”. Isso ocorre devido a sua temperatura de ebulição (118°C) e solubilidade em água, sendo assim destilado em maior quantidade no final do processo de destilação, quando os vapores estão mais pobres em álcool (CARDOSO, 2006). Alguns autores quantificaram níveis de acidez volátil em cachaça bidestilada e seus resultados afirmam que o processo de bidestilação é eficaz na redução da acidez (volátil) por fracionar novamente o destilado (BOZA E HORII, 1999; BIZELLI et al., 2000; CAVALCANTI, 2009; ALCARDE et al., 2011).

Não foram encontrados relatos sobre acidez volátil em runs e uísques produzidos no Brasil. Os poucos estudos encontrados sobre a ocorrência de acidez em runs e uísques foram realizados com marcas importadas diversas, tendo sido relatadas as seguintes médias: entre 46 e 60 mg.100mL<sup>-1</sup> de álcool anidro em amostras de rum (SOUZA, 2006; SAMPAIO et al., 2008) e entre 32 e 65 mg.100mL<sup>-1</sup> de álcool anidro em amostras de uísque (NASCIMENTO et al., 1998; ALCARDE et al., 2011).

O Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) estabelece que tanto no rum como no uísque a concentração de acidez volátil, expressa em ácido acético, não deverá ser superior a 150 mg.100mL<sup>-1</sup> de álcool anidro (BRASIL, 2011).

### **3.1.2. Aldeídos**

A maioria dos aldeídos são formados pela oxidação parcial de alcoóis primários por leveduras durante o processo fermentativo e tendem a desaparecer nas etapas finais pela oxidação à ácido acético. Também podem ser formados pela degradação de aminoácidos ou auto-oxidação de ácidos graxos. O principal aldeído encontrado em bebidas alcoólicas é o acetaldeído, que representa até 90% dos aldeídos encontrados em vinhos e bebidas alcoólicas destiladas. Os aldeídos são geralmente compostos muito voláteis (ponto de ebulição do acetaldeído é 21°C), de odores penetrantes e que interferem no sabor das bebidas, dependendo do tamanho de sua cadeia e da quantidade presente (NIKANEN, 1986; YOKOYA, 1995; CARDOSO, 2006).

De modo geral, aldeídos com até oito átomos de carbono apresentam aromas penetrantes, geralmente enjoativos, considerados indesejáveis em bebidas destiladas. Por outro lado, aldeídos com mais de dez átomos de carbono apresentam aroma agradável e são geralmente formados pela redução de ácidos graxos, sendo de ocorrência restrita na fermentação alcoólica (CARDOSO, 2006).

Do ponto de vista toxicológico, sabe-se que o acetaldeído é extremamente reativo e em quantidade elevada pode causar grandes danos ao sistema nervoso

central. Segundo a Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC), existem evidências suficientes que demonstram a carcinogenicidade do acetaldeído em animais e, portanto, é classificado como possivelmente carcinogênico para os seres humanos (Grupo 2B) (IARC, 1999).

Existem várias formas de evitar uma alta incidência de acetaldeído em bebidas. Uma delas, no caso de bebidas destiladas em alambique, é o fracionamento correto das frações “cabeça”, “coração” e “cauda”, ressaltando-se que grande parte da fração aldeídica, devido à alta volatilidade, é separada na primeira fração (“cabeça”) do destilado (CARDOSO, 2006). Outras formas de redução do acetaldeído incluem a utilização de leveduras geneticamente modificadas, o emprego de temperaturas mais baixas durante a fermentação e a diminuição do contato do ar com a bebida durante o armazenamento (LACHENMEIER & SOHNIUS, 2008).

Outros aldeídos como o furfural e o hidroximetilfurfural (HMF) costumam estar presentes em bebidas alcoólicas, especialmente nas destiladas. A formação desses compostos pode ocorrer na colheita da cana: o despalhe realizado com a queima pode provocar a desidratação de uma fração dos açúcares presentes na cana-de-açúcar, gerando furfurais. Na destilação, períodos prolongados de aquecimento do mosto fermentado produzem principalmente o furfural, através da pirogenação/decomposição térmica de açúcares residuais e matéria orgânica ou bagacilhos do vinho depositados no fundo do alambique, o que pode ser evitado utilizando um mosto fermentado sem excesso de matéria em suspensão (CARDOSO, 2006).

Não foram encontrados relatos sobre aldeídos em runs e uísques produzidos no Brasil. Alguns estudos encontrados sobre a ocorrência de aldeídos em runs produzidos em outros países relatam valores médios (em  $\text{mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$  de álcool anidro) de: 12,4 (NASCIMENTO, 1997), 10,0 (SOUZA, 2006), 16,9 e 4,5 (runs cubanos e não cubanos respectivamente; SAMPAIO et al., 2008). Em estudo realizado apenas com runs cubanos, Fernández-Trevejo et al. (2001) quantificaram aldeídos em 70 amostras de runs, que incluíam marcas de runs carta branca, carta ouro, extra-seco e envelhecido, tendo sido encontradas as seguintes médias (em  $\text{mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$  de álcool anidro): 8,8 (amostragem total), 4,0 (runs carta branca) e 11,2

(runs carta ouro). Já para amostras de uísques diversos, foram relatadas concentrações médias de aldeídos (em mg.100mL<sup>-1</sup> de álcool anidro) de 11,5 (NASCIMENTO et al., 1998), 7 (LACHENMEIER & SOHNIUS, 2008) e 9,9 (ALCARDE et al., 2011).

O Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), estabelece que para rum e uísque a concentração de aldeídos, expressa em acetaldeído, não deverá ser superior a 20 mg.100mL<sup>-1</sup> de álcool anidro (BRASIL, 2011).

### **3.1.3. Ésteres**

O aroma típico e agradável que as bebidas alcoólicas adquirem durante o envelhecimento deve-se principalmente à presença dos ésteres. Estes são formados principalmente pelo metabolismo intracelular das leveduras durante a fermentação e, em menor escala, por reações de esterificação que ocorre entre alcoóis e ácidos carboxílicos durante o envelhecimento da bebida (CARDOSO, 2006; CÂMARA et al., 2007; NASCIMENTO, 2007).

Os ésteres mais abundantes nas bebidas tendem a ser aqueles derivados dos ácidos e dos alcoóis mais abundantes (no caso das bebidas alcoólicas, o etanol e o ácido acético), o que justifica o fato do principal éster em aguardentes e da maioria das bebidas alcoólicas destiladas ser o acetato de etila (aproximadamente 80%). O acetato de etila, em pequenas concentrações, incorpora um aroma frutado agradável à bebida, porém em quantidades excessivas pode se tornar enjoativo (PIGGOTT & PATERSON, 1989; MAIA, 1994; CARDOSO, 2006; NASCIMENTO, 2007).

Uma quantidade significativa de ésteres é formada durante o metabolismo secundário intracelular das leveduras, cujos componentes chave da reação são o acetil-CoA e o etanol (NYKÄNEN, 1986). No processo de envelhecimento, a formação de ésteres ocorre por reações químicas diretas (esterificação) entre os ácidos carboxílicos e alcoóis presentes no destilado (NYKÄNEN, 1986; NASCIMENTO, 2007).

Não foram encontrados relatos sobre ésteres em runs e uísques produzidos no Brasil. Estudos sobre a ocorrência de ésteres em runs e uísques produzidos em outros países relatam médias (em mg.100mL<sup>-1</sup> de álcool anidro) de 7,2 e 7,9 em amostras de rum Bacardi encontrados por Lachenmeier et al., (2003) e Savchuk et al. (2007), respectivamente, e média de 0,7 em runs vietnamitas (LACHENMEIER et al., 2009a). Fernández-Trevejo et al. (2001), quantificaram os ésteres presentes em amostras de runs cubanos carta branca, carta ouro, extra-seco e envelhecido, tendo sido encontradas médias de ésteres (em mg.100mL<sup>-1</sup> de álcool anidro) de 17,2 (amostragem total), 9,3 (runs carta branca), 16 (runs carta ouro) e 26,3 (runs envelhecidos). Acetato de etila também foi quantificado em estudo realizado por Sampaio et al. (2008) em runs cubanos e não cubanos. Os autores encontraram médias (em mg.100mL<sup>-1</sup> de álcool anidro) de 19,9 (amostragem geral), 10,8 (runs cubanos) e 26,5 (runs não cubanos).

Estudando uísques, MacNamara & Hoffmann (1998) reportaram concentrações médias de ésteres (em mg.100mL<sup>-1</sup> de álcool anidro) de 70 e 7,2 em “malt whisky” e “blended whisky”, respectivamente. Nascimento (2007), traçou o perfil químico de 10 amostras de uísques importados, encontrando concentração média (em mg.100mL<sup>-1</sup> a.a) de 31,9, com variação de 14,1 a 86,9, semelhante aos resultados recentemente obtidos por Alcarde et al. (2011).

O Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), estabelece que a concentração permitida de ésteres, expressa em acetato de etila, não deverá ser superior a 200 mg.100mL<sup>-1</sup> de álcool anidro em rum e 150 mg.100mL<sup>-1</sup> de álcool anidro em uísque (BRASIL, 2011).

#### **3.1.4. Alcoóis Superiores**

No contexto de bebidas alcoólicas, alcoóis superiores normalmente se referem aqueles alcoóis com três (propílico), quatro (butílico) ou cinco (pentílico ou amílico) átomos de carbono. Eles se originam principalmente do catabolismo secundário intracelular, pelas leveduras, de aminoácidos, que por deaminação

oxidativa ou por transaminação, formam inicialmente ceto ácidos. Estes últimos, por descarboxilação, formam então aldeídos os quais, por redução enzimática, finalmente se convertem nos alcoóis superiores correspondentes (BELITZ et al., 2009). Com o aumento do número de átomos de carbonos, o aroma modifica-se e os alcoóis tornam-se oleosos diminuindo o valor comercial da bebida por torná-la enjoativa. Semelhante ao metanol e etanol, alguns desses alcoóis apresentam propriedades depressoras do sistema nervoso central (MAIA, 1994; YOKOYA, 1995).

As quantidades de alcoóis superiores produzidas pelas leveduras variam com as condições de fermentação, com o gênero e espécie da cepa utilizada (leveduras de alta ou baixa atividade). Além dos fatores relacionados com a levedura, outros fatores como a composição do meio (concentração de açúcares, concentração e tipo de fonte de nitrogênio), aeração do mosto, altas temperaturas e baixo pH (3-3,5) influenciam na concentração de alcoóis superiores (VILELA, 2005; CARDOSO, 2006).

Não foram encontrados relatos sobre alcoóis superiores em runs e uísques produzidos no Brasil. Os estudos encontrados referem-se a runs e uísques produzidos em outros países. Fernández-Trevejo et al. (2001), em estudo sobre runs diversos, encontraram médias de alcoóis superiores (em  $\text{mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$  a.a) de 63,4 (amostragem total), 50 (runs carta branca), 69,3 (runs carta ouro) e 97,2 (runs envelhecidos). Lachenmeier et al. (2003), utilizando a cromatografia de íons na detecção da adulteração de vodka e rum, encontraram média de alcoóis superiores de  $26,7 \text{ mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$  de a.a em amostras de rum suspeitas de fraude e mais que o dobro ( $58,2 \text{ mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$  de a.a) nas amostras originais de rum Bacardi, semelhante à média encontrada por Savchuk et al. (2007).

Em estudo com objetivo de diferenciar runs cubanos de não cubanos, Sampaio et al. (2008) encontraram concentrações médias de alcoóis superiores (em  $\text{mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$  a.a) de 127,2 (runs cubanos) e 63,3 (runs não cubanos), sendo essa maior diferença causada pela grande concentração de álcool isoamílico no rum cubano.

Analisando uísques diversos, González-Arjona et al. (1999) encontraram médias de alcoóis superiores (em  $\text{mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$  a.a) de 175, 502 e 276 em uísques irlandeses, americanos e escoceses, respectivamente. MacNamara & Hoffmann (1998), por sua vez, encontram concentrações médias (em  $\text{mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$  de a.a) de 735 e 360 para “malt whisky” e “blended whisky”, respectivamente.

O Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) estabelece que a concentração permitida de alcoóis superiores totais (expressa pelo somatório dos alcoóis *n*-propílico, isobutílico e isoamílico) não deverá ser superior a 260  $\text{mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$  de a.a em rum e 300  $\text{mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$  de a.a em uísque (BRASIL, 2011).

## **3.2. CARBAMATO DE ETILA COMO CONTAMINANTE EM BEBIDAS ALCOÓLICAS**

### **3.2.1. Definição e mecanismos de formação**

Do ponto de vista químico, carbamato de etila (CE,  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OCONH}_2$ ), também conhecido como uretana, é o éster etílico do ácido carbâmico ( $\text{HOCONH}_2$ ). Utilizado como agente anestésico em animais de laboratório por muitos anos, sabe-se hoje que o CE é uma substância reconhecidamente genotóxica e carcinógena. O CE ocorre em vários alimentos fermentados, em especial bebidas alcoólicas fermento-destilladas, nas quais ela se forma a partir de reações entre etanol e compostos nitrogenados, tais como uréia, citrulina e cianeto de hidrogênio (ZIMMERLI & SCHLATTER, 1991; EFSA, 2007).

Na maioria dos casos de bebidas alcoólicas destiladas, o principal precursor nitrogenado do CE é o cianeto de hidrogênio (HCN), normalmente derivado de matérias-primas de origem vegetal contendo cianoglicosídeos (ZIMMERLI & SCHLATTER, 1991; EFSA, 2007). Existem mais de 2000 espécies de plantas que produzem cianoglicosídeos, tais como mandioca, maracujá, pêssego, cana-de-açúcar, sorgo e cevada. Cianoglicosídeos são capazes de se decompor

enzimaticamente em açúcar e cianohidrino correspondentes, podendo ainda este último, por sua vez, se degradar rapidamente em cianeto de hidrogênio e uma aldose ou cetose (HAQUE & BRADBURY, 2002).

No processamento das bebidas fermento-destiladas, o mecanismo de formação principal do CE é relativamente simples: o cianeto ( $\text{CN}^-$ ), por meio de uma reação de oxidação, gera cianato ( $\text{CNO}^-$ ) e este por sua vez reage diretamente com etanol formando CE. A conversão de cianeto a cianato pode ocorrer com ou sem a presença de catalisadores. Alguns mecanismos de catálise já foram descritos e um deles indica o cobre como catalisador dessa reação. O cobre é normalmente encontrado em destilados como resultado de corrosão das partes internas do destilador (alambique ou coluna) feitas deste metal (ARESTA, 2001).

Além da presença de íons cobre, diversos fatores podem influenciar a formação de CE em bebidas destiladas, entre os quais se destacam: quantidade de etanol, disponibilidade de precursores nitrogenados, presença de substâncias oxidantes e temperatura da fermentação (ZIMMERLI & SCHLATTER, 1991; ANDRADE-SOBRINHO et al., 2002).

O CE pode ser formado antes, durante ou depois da destilação. Tendo em vista o seu elevado ponto de ebulição ( $184^\circ\text{C}$ ), o CE formado antes da destilação tende a ser pouco arrastado para o produto final. Esse arraste para o destilado, entretanto, depende do processo de destilação. Quando se aplica um único estágio de destilação (destilações simples), pequenas quantidades de CE são encontradas no destilado, porém quando são aplicadas destilações múltiplas, o CE normalmente não contamina o produto final. Estas observações demonstraram que a presença de CE em destilados envolve precursores altamente voláteis, tal como o HCN, que são arrastados com o etanol na destilação. Neste caso, o CE, na presença de HCN, etanol e cobre, se formaria rapidamente na pós-destilação (COOK et al., 1990; BRUNO et al., 2007; NÓBREGA et al., 2009).

### 3.2.2. Aspectos toxicológicos

De acordo com a Agência Internacional de Pesquisa sobre Câncer (IARC), o CE é classificado como provavelmente carcinogênico a humanos (grupo 2A). Ainda segundo a IARC, são enquadrados no grupo 2A os compostos para os quais há evidências limitadas da carcinogenicidade em humanos e indícios suficientes de carcinogenicidade em animais experimentais (IARC, 2010).

O CE é um carcinógeno com período de latência curto. Doses orais de 100 a 2000 mg de CE/kg de peso corporal tem se mostrado indutor de tumores em roedores e primatas não-humanos. Em roedores, o CE causa adenomas pulmonares, papilomas de pele, linfomas malignos, hepatomas, carcinomas mamários, tumores de ovários, hemangiomas hepáticos e tumores melanóticos de pele e de íris. Em humanos, a exposição ao CE a partir do consumo de alimentos e bebidas não alcoólicas foi estimada em 1 µg/ kg peso corporal/dia, exposição que se eleva a 5 µg/pessoa/dia quando considerados cenários de elevado consumo de bebidas alcoólicas. Nestes casos, as MOEs (margens de exposição) correspondentes são de 16.600 e 3.125, respectivamente, representando sério risco a tais consumidores (SCHLATTER et al., 2010).

O CE pode ser absorvido rapidamente e quase completamente a partir do trato gastrointestinal e da pele. Dentro do organismo, o mesmo é distribuído uniformemente pelo corpo e rapidamente eliminado. Mais de 90% do que é metabolizado é excretado em 24 horas como CO<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub> e H<sub>2</sub>O em humanos (IARC, 2010; ZIMERLI & SCHLATTER, 1991).

O metabolismo do CE envolve três vias principais: hidrólise, N-hidroxilação ou C-hidroxilação e oxidação da cadeia lateral. A oxidação da cadeia lateral é mediada pelo citocromo P-450 2E1, formando carbamato de vinila, o qual é oxidado a epóxido de carbamato de vinila. Este último tem sido reconhecido como o principal metabólito responsável pela carcinogenicidade do CE, uma vez que se liga covalentemente a nucléicos ácidos (DNA, RNA) e proteínas (GUENGERICH et al., 1991; LEE et al., 1998; HOFFLER et al., 2003; FAO/WHO, 2006 APUD EFSA, 2007).

### 3.2.3. Ocorrência em bebidas alcoólicas

No âmbito da saúde pública, preocupações sobre a presença de CE em bebidas alcoólicas surgiram em 1985, quando níveis relativamente elevados desta substância foram encontrados e relatados por autoridades canadenses em produtos alcoólicos importados (CONACHER & PAGE, 1986). A partir destes relatos, o Canadá estabeleceu limites de CE para algumas bebidas alcoólicas, notadamente uma tolerância de 0,15 mg (150 µg) por litro da maioria das bebidas alcoólicas destiladas. O estabelecimento de limites de CE para bebidas alcoólicas no Canadá foi seguido por vários países, entre eles Alemanha, Estados Unidos e França (EFSA, 2007).

Preocupações com o CE em bebidas alcoólicas no Brasil surgiram em 2002, quando uma concentração média de 770 µg.L<sup>-1</sup> foi reportada a partir de uma ampla pesquisa em cachaças comerciais no Brasil (ANDRADE SOBRINHO et al., 2002). Outros autores, estudando a ocorrência de CE em cachaças produzidas em Minas Gerais, também registraram teores médios de CE elevados, a saber: 1.206 µg.L<sup>-1</sup> (BAFFA JÚNIOR et al., 2007), 893 µg.L<sup>-1</sup> (LABANCA e GLÓRIA, 2008), 243 µg.L<sup>-1</sup> (BARCELOS et al., 2007) e 383,71 µg.L<sup>-1</sup> (LELIS, 2006).

A incidência de CE também é relativamente elevada em cachaças produzidas na região Nordeste. Nóbrega et al. (2009), detectaram concentrações de CE variando entre 55 a 700 µg.L<sup>-1</sup>, com média de 220 µg.L<sup>-1</sup>, em 25 marcas de cachaças de alambique produzidas na Paraíba. Em recente estudo realizado sobre cachaças produzidas no estado de Pernambuco, Nóbrega et al. (2011) quantificaram CE em 13 marcas de cachaça de alambique e 20 de coluna. Os valores variaram de <40 µg.L<sup>-1</sup> a 532,5 µg.L<sup>-1</sup>, com média de 64 µg.L<sup>-1</sup>. Valores que excediam o limite brasileiro de 150 µg.L<sup>-1</sup> foram encontradas em 18 das 33 marcas, sendo a maior porcentagem (89%) de cachaças destiladas em coluna.

Em recente pesquisa, Lachenmeier et al. (2010) avaliou o risco de câncer da população brasileira frente à exposição do CE presente na dieta, principalmente com relação à contaminação presente na cachaça e tiquira (aguardente de mandioca). A avaliação de risco revelou, como resultado de um amplo levantamento bibliográfico,

uma concentração média de CE em cachaças destiladas em alambique e em coluna de 380  $\mu\text{g.L}^{-1}$  e 490  $\mu\text{g.L}^{-1}$  respectivamente. A faixa de exposição diária ao CE pela população foi estimada em 0,1-0,2  $\mu\text{g}$  por kg de massa corporal (mc), sendo a cachaça o principal fator contribuinte (0,06-0,07  $\mu\text{g/kg mc}$ ). Em relação à MOE (margem de exposição), a média calculada foi de 1.300, fato considerado preocupante, visto que o valor de baixo risco foi estimado em MOEs maiores ou iguais a 10.000, indicando um risco significativo de câncer da população brasileira consumidora de bebidas alcoólicas, em especial de cachaça. Em conclusão, os autores ressaltaram que se o nível médio de CE nas cachaças estivesse em 150  $\mu\text{g.L}^{-1}$  (nível máximo tolerado pelo MAPA), haveria aumentos da MOE para patamares seguros.

### **3.3. OUTROS CONTAMINANTES EM BEBIDAS ALCOÓLICAS**

#### **3.3.1. Metanol**

Metanol é um álcool originado da degradação da pectina, um polissacarídeo presente na cana-de-açúcar e em vários frutos. A molécula de pectina é formada pela associação de centenas de moléculas de ácido galacturônico, que possuem fragmentos de moléculas de metanol, os quais são liberados durante o processo de fermentação. Sua concentração pode aumentar acentuadamente quando se incorpora ao mosto em fermentação polpa ou suco de frutos ricos em pectina (CARDOSO, 2006).

Segundo Maia (1994), o metanol, quando ingerido, é oxidado a ácido fórmico e posteriormente a  $\text{CO}_2$ , provocando acidose grave, que por sua vez afeta o sistema respiratório, podendo levar ao coma e até a morte. Os sintomas mais característicos da intoxicação por metanol são distúrbios visuais, cefaléia, vômitos e dores abdominais (CARDOSO, 2006).

As doses tóxicas do metanol no homem variam de indivíduo para indivíduo, no entanto uma ingestão de 10 a 100mL de metanol é suficiente para causar a

morte. Devido à grande solubilidade em água e afinidade por lipídeos, o metanol é rapidamente absorvido pelo trato digestivo, sendo encontrado em tecidos com altos teores de água e lipídeos, por exemplo, olhos, músculos e sangue. No organismo, o metanol é absorvido e metabolizado junto com o etanol, porém em menor velocidade, pois ambos são catalisados pela mesma enzima (álcool desidrogenase), competindo um com o outro (BADOLATO & DURAM, 2000; CARDOSO, 2006).

O Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) estabelece que em todas as bebidas alcoólicas destiladas a concentração de álcool metílico não deverá ser superior a 20 mg.100mL<sup>-1</sup> de álcool anidro, exceção dada as bebidas arac, rum (tolerância de 200 mg.100mL<sup>-1</sup> de álcool anidro) e aguardente de fruta (tolerância de 400 mg.100mL<sup>-1</sup> de álcool anidro) (BRASIL, 2011).

### **3.3.2. Cobre**

A presença do cobre na produção de cachaça está associada ao processo de destilação, visto que muitos alambiques podem ser total ou parcialmente confeccionados com esse metal. O cobre oxidado, ou carbonato básico de cobre, ou “azinhavre”, forma incrustações nas paredes dos alambiques que são dissolvidos pelos vapores ácidos e arrastados para o destilado durante a destilação (YOKOYA, 1995; CARDOSO et al., 2003).

Em altas concentrações, o cobre pode ser tóxico devido à afinidade do metal com grupos tiol (-SH) de muitas proteínas e enzimas, sendo associado a várias doenças (SARGENTELLI et al., 1996), além de ser catalisador na formação do carbamato de etila (ARESTA et al., 2001; BRUNO et al., 2007).

O cobre em baixas concentrações, entretanto, torna-se um metal desejado durante a fabricação de algumas bebidas alcoólicas por contribuir para a melhoria do sabor e do aroma. A presença dos íons cobre contribui com a eliminação de determinados odores desagradáveis atribuídos a compostos sulfurados, observados, por exemplo, em cachaças destiladas em alambiques confeccionados com outros materiais, tais como aço inox e vidro (CARDOSO, 2006).

O Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) estabelece que a concentração de cobre (Cu) não deverá ser superior a  $5 \text{ mg.L}^{-1}$  para a maioria das bebidas alcoólicas, incluindo as bebidas alvo do presente estudo: rum e uísque (BRASIL, 2011).

Os meios mais eficazes para evitar contaminação excessiva de cobre no destilado final é a higienização correta do alambique, evitando ou minimizando a formação do azinhavre. Nas bebidas que de alguma maneira foram contaminadas com excesso de cobre, existem várias maneiras de reduzir esse excesso. Um método bastante empregado para se reduzir o cobre em bebidas destiladas é o uso de filtros de carvão ativado ou filtros resinas que possibilitem a troca iônica com o cobre. Lima et al. (2006) testaram alguns métodos e chegaram à conclusão que a resina de troca iônica é muito eficiente na remoção de cobre de cachaças contaminadas, no entanto deve ser usada com cautela devido as alterações que pode promover no nível de congêneres da bebida. Outro meio possível de ser utilizado é a redestilação da bebida. Em estudo sobre o efeito da dupla destilação da cachaça, Bizelli et al. (2000) encontraram diferenças significativas nas concentrações de cobre entre amostras de cachaças duplamente destiladas ( $0,32 \text{ mg.L}^{-1}$ ) e destiladas uma única vez ( $2,67 \text{ mg.L}^{-1}$ ).

### **3.4. RUM**

#### **3.4.1. Definição**

Pela legislação brasileira, rum, ron ou rhum é definido como uma bebida com a graduação alcoólica de 35% a 54% em volume ( $20^{\circ}\text{C}$ ), obtida do destilado alcoólico simples de melaço, ou da mistura dos destilados de caldo de cana-de-açúcar e de melaço, envelhecidos, total ou parcialmente, em recipiente de carvalho ou madeira equivalente, conservando suas características sensoriais peculiares, podendo ser adicionado de açúcares até  $6 \text{ g.L}^{-1}$ , caramelo para a correção da cor e carvão ativado para sua descoloração. O coeficiente de congêneres não poderá ser inferior a 40 mg e nem superior a  $500 \text{ mg.100mL}^{-1}$  de álcool anidro. O rum pode ser

denominado leve (coeficiente de congêneres inferior a  $200 \text{ mg} \cdot 100\text{mL}^{-1}$  de álcool anidro), pesado (coeficiente de congêneres entre 200 e  $500 \text{ mg} \cdot 100\text{mL}^{-1}$  de a.a) ou envelhecido (quando a bebida for envelhecida, em sua totalidade, por período mínimo de dois anos) (BRASIL, 2009).

Como observado anteriormente, a legislação estabelece que o rum brasileiro pode ser obtido a partir de vários destilados alcoólicos pré-elaborados, portanto é conveniente o entendimento do que sejam alguns deles.

Entende-se por destilado alcoólico simples de origem agrícola o produto com graduação alcoólica entre 54 e 95% vol. a  $20^{\circ}\text{C}$ , destinado à elaboração de bebida alcoólica, e obtido pela destilação simples ou por destilo-retificação parcial seletiva de mosto ou subproduto proveniente unicamente de matéria-prima de origem agrícola de natureza açucarada ou amilácea, resultante da fermentação alcoólica (BRASIL, 2009).

O destilado alcoólico simples possui diversas classificações de acordo com a matéria-prima de sua origem. O destilado alcoólico simples de melaço é produto obtido da destilação do mosto fermentado do melaço, resultante da produção de açúcar, enquanto o destilado alcoólico simples de cana-de-açúcar é o produto obtido pelo processo de destilação do mosto fermentado de cana-de-açúcar (BRASIL, 2009).

### **3.4.2. Tecnologia de Produção**

Os substratos empregados exclusivamente para a fabricação do rum são derivados do processo de fabricação do açúcar; em primeiro lugar os caldos ou garapas (clarificados ou não), as espumas oriundas do processo de concentração, os resíduos das destilações e o melaço (VENTURINI FILHO, 2010).

Por ser um subproduto, o melaço ou mel final é o substrato mais conveniente para a fermentação alcoólica em função de seu preço relativamente mais baixo que o caldo de cana e pela facilidade de poder usá-lo diretamente após sua diluição com água. Os melaços constituem um líquido escuro, viscoso e doce, subproduto da

fabricação do açúcar cristal ou do açúcar demerara, resultante das etapas de centrifugação ou decantação do açúcar bruto. Pode ser utilizado para produção de álcool, em especial o etanol, como matéria-prima para fabricar aguardentes, rum, fermentos biológico ou usado como ração para animais (LIMA, 1983; NICOL, 2003; DELAVANTE, 2004; VENTURINI FILHO, 2010).

A escolha do melaço depende, além do preço, de parâmetros importantes, a saber: teor ideal de açúcares totais (55-56%) e açúcares redutores (52,2-53,2%), teor de cinzas inferior a 8%, compostos nitrogenados entre 1 e 1,5%, gomas menor que 2% e substâncias não fermentáveis inferior a 3%. Todas essas características dependerão da variedade de cana, tipo de solo e condições climáticas, dos métodos de cultivo, colheita, moagem e técnicas de recuperação de açúcar (NICOL, 2003).

Para uso na produção do rum, o melaço precisa ser clarificado ou diluído com água para obtenção de um teor de sólidos solúveis adequado (14-18 °Brix) e um pH ajustado para 4,0-5,5 (por meio da adição de ácido sulfúrico ou nítrico) a fim de diminuir a possibilidade de ataque bacteriano (VENTURINI FILHO, 2010). Outros tratamentos podem ser aplicados ao melaço a fim de melhorar sua qualidade, tais como: remoção de sólidos suspensos por meio de filtração ou por decantação (tornando o melaço mais claro), pasteurização para eliminação de microrganismos indesejados e adição de nutrientes (como sulfato de amônia) antes da inoculação de leveduras (MURTAGH, 1999; NICOL, 2003).

Após o preparo do mosto de melaço, o mesmo é inoculado com cepas selecionadas de leveduras (NICOL, 2003). Nos primeiros momentos da fermentação se emprega uma forte aeração destinada a incrementar a população de leveduras (2-3h). O tempo de fermentação varia entre 24 e 30h e é mantida numa faixa de temperatura entre 30 e 33°C. O avanço da fermentação é monitorado mediante o controle do Brix do mosto. A contaminação bacteriana é o principal problema que afeta os rendimentos da fermentação do rum, seguida do aparecimento da acroleína formada pela reação do glicerol produzido pelas leveduras com o Beta-hidroxipropionaldeído sintetizados por contaminantes bacterianos (VENTURINI FILHO, 2010). Os tanques de fermentadores são geralmente construídos em madeira, vidro, aço inoxidável, aço carbono ou mesmo de fibra reforçada. Do ponto de vista higiênico, o aço inoxidável é o material de melhor escolha (NICOL, 2003).

O processo de destilação do rum tem o objetivo primário de separar do vinho (mosto fermentado) todo o álcool produzido na fermentação alcoólica; e adicionalmente, garantir, mediante operação correta, a passagem dos congêneres favoráveis em quantidades adequadas para o produto final. A destilação do rum é realizada por dois métodos: batelada (duas etapas de destilação ou bidestilação) e por destilação contínua (VENTURINI FILHO, 2010). Segundo Nicol (2003), runs pesados são normalmente produzidos por destilação em batelada, enquanto runs leves são normalmente produzidos por destilação contínua.

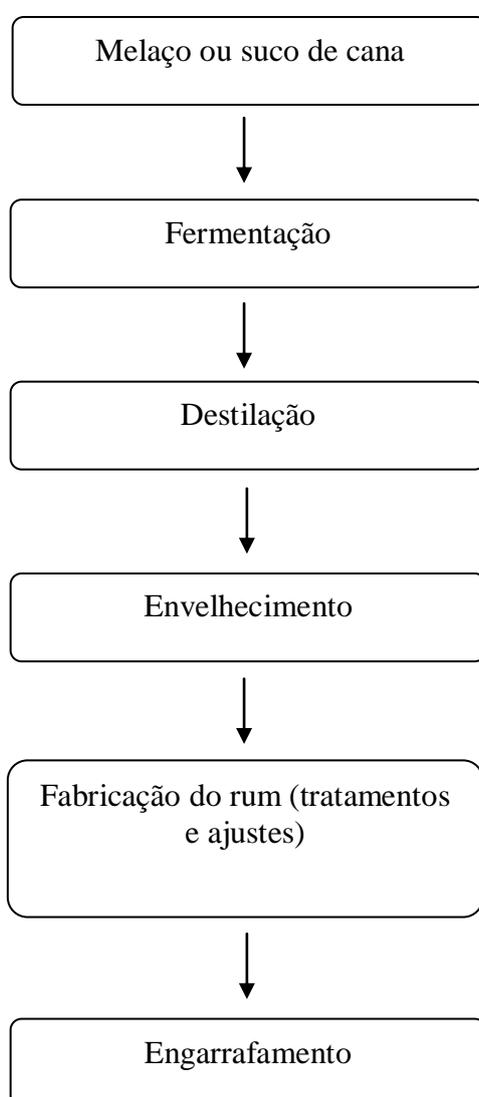
Na destilação descontínua ou em batelada, o melão fermentado é aquecido por vapor ou aquecimento direto através de fogo de lenha ou bagaço. Na primeira destilação se retira o álcool do mosto fermentado, fração denominada “cabeça”, geralmente descartada, que contém um teor excessivo de compostos voláteis tóxicos e indesejáveis que torna o sabor do destilado pungente e agressivo. Em uma segunda etapa se destila a fração que não foi descartada, chamada de “corpo” ou “coração”, fração rica em etanol e congêneres que dão as principais características do rum. As frações “cabeças” e “caudas” são acrescentadas ao vinho de um novo ciclo de destilação para enriquecê-lo em álcool. O processo continua até que a maior parte do álcool seja destilada, sobrando apenas a vinhaça. A parte mais importante e de maior volume (fração corpo) da última etapa de destilação seguirá para a etapa de envelhecimento (MURTAGH, 1999; NICOL, 2003; DELAVANTE, 2004; VENTURINI FILHO, 2010).

O método comum e mais confiável de maturar o rum, para torná-lo mais adequado ao consumo, é o envelhecimento em barris de carvalho ou pelo uso de extratos ou lascas do mesmo material (VENTURINI FILHO, 2010). Runs leves com baixos níveis de congêneres exigem pouco tempo de envelhecimento (alguns meses), enquanto que os runs pesados tendem a exigir muito mais para se tornar palatável com o envelhecimento (5 anos ou mais) (MURTAGH, 1999).

O carvalho tem uma forte influência sobre o sabor final do rum, em grande parte devido à extração de compostos como taninos, lignina, sais de cálcio e corantes. O tipo e a quantidade de compostos extraídos irão depender muito do tempo e temperatura de envelhecimento, assim como do tipo e tratamento dado ao barril de carvalho (MURTAGH, 1999).

As principais reações que ocorrem durante o envelhecimento que tornam o rum mais palatável são dadas pela combinação das reações físico-químicas dos componentes entre si e com o oxigênio disponível, a extração de produtos aromáticos da madeira de carvalho e sua transformação durante o tempo de guarda do líquido no interior do barril. O envelhecimento pode ser conduzido em uma só etapa e a uma só graduação alcoólica ou em várias etapas com duração variável segundo o tipo de produto e o sistema de fabricação (VENTURINI FILHO, 2010).

A Figura 1 apresenta um fluxograma básico da fabricação do rum.



**Figura 1.** Fluxograma geral de fabricação do rum

**Fonte:** Venturini-Filho (2010).

## 3.5. UÍSQUE

### 3.5.1. Definição

A legislação brasileira define uísque, whisky ou whiskey como bebida com graduação alcoólica de 38 a 54 % em volume, a 20°C, obtida do destilado alcoólico simples de cereais envelhecido, parcial ou totalmente maltados, podendo ser adicionado de álcool etílico potável de origem agrícola, ou de destilado alcoólico simples de cereais, bem como de água para redução da graduação alcoólica e caramelo para correção da cor. A depender da denominação do uísque (de puro malte, cortado/ "blended", etc.), exige-se que a bebida possua coeficiente mínimo de congêneres (em mg.100mL<sup>-1</sup> de álcool anidro) de: 350 (uísque de puro malte), 100 (uísque cortado/"blended" e uísque de cereais/grão) e 150 ("Bourbon Whisky") (BRASIL, 2009).

Dentre as quatro denominações de uísques, o "blended" é o mais popular no Brasil e no mundo. De acordo com a legislação brasileira, a denominação "blended whisky" é aplicada quando a bebida for obtida pela mistura de, no mínimo, 30% de destilado alcoólico simples de malte envelhecido, ou "malt whisky", sendo o restante formado por destilados alcoólicos simples de cereais, álcool etílico potável de origem agrícola ou ambos, envelhecidos ou não (BRASIL, 2009).

Como observado anteriormente, a legislação brasileira estabelece que o "blended whisky" pode ser obtido a partir de três produtos pré-elaborados, portanto é conveniente o entendimento do que sejam os mesmos.

O destilado alcoólico simples de origem agrícola é definido como produto com graduação alcoólica superior a 54 e inferior a 95% v/v a 20°C, destinado à elaboração de bebida alcoólica e obtido pela destilação simples ou por destiloretificação parcial seletiva de mosto ou subproduto proveniente unicamente de matéria-prima de origem agrícola de natureza açucarada ou amilácea. O destilado alcoólico simples possui diversas classificações de acordo com a matéria-prima de sua origem. O destilado alcoólico simples de malte envelhecido ou "malt whisky" define-se como produto obtido pelo envelhecimento do destilado alcoólico simples

de malte em tonéis de carvalho com capacidade máxima de setecentos litros, por período não inferior a dois anos. Por sua vez, o destilado alcoólico simples de cereal é o produto obtido pela destilação do mosto fermentado de cereais, maltados ou não (BRASIL, 2009).

Entende-se por álcool etílico potável de origem agrícola o produto com graduação alcoólica mínima de 95% vol., a 20°C, obtido pela destilação-retificação de mosto proveniente unicamente de matéria-prima de origem agrícola, de natureza açucarada ou amilácea, resultante da fermentação alcoólica, como também o produto da retificação de aguardente ou de destilado alcoólico simples (BRASIL, 2009).

### **3.5.2. Tecnologia de produção**

Os principais cereais utilizados para a elaboração de uísques são a cevada, milho, trigo ou centeio, permitindo a formulação de três tipos diferentes de bebida: uísque de malte (“malt whisky”), uísque de grão (“grain whisky”) e “blended whisky”, este último o mais consumido e popular de todos. A cevada (*Hordeum polystichum*) é utilizada principalmente na forma de malte, devido as características de sabor que proporciona ao destilado, porém, sua principal função na produção de destilados de cereais é como fonte de enzimas para converter o amido do malte e dos grãos não maltados, tais como trigo ou milho, em açúcares fermentáveis (VENTURINI FILHO, 2010).

A maltagem tem por finalidade elevar o conteúdo enzimático dos grãos de cevada por meio da síntese de amilases, proteases, glucanases e outras enzimas. O termo malte é atribuído ao produto da germinação controlada das sementes de cevada. O processo é constituído por três etapas: maceração, germinação e secagem. A maceração tem por objetivo fornecer volume de água suficiente para umedecer o grão de cevada, de forma que o embrião inicie o processo de germinação em temperaturas de 16 a 18°C, com tempo médio de 36 a 52h, para que os grãos atinjam um teor de umidade (grau de maceração) de 44 a 48%. Após essa etapa acontece a germinação, realizada a uma temperatura entre 18 e 20°C por

períodos de 3,5 a 6 dias. Os sinais visíveis de que os grãos estão germinados são o aparecimento de um germe branco em uma das extremidades e, ao mesmo tempo, um folículo (acrospira) por baixo da casca da cevada. O objetivo da secagem é obter um produto seco armazenável e impedir o posterior desenvolvimento da atividade biológica. O malte é seco até umidade inferior a 5%, em estufas de ar quente produzido pela queima da turfa, material vegetal que agrega um sabor característico ao malte (VENTURINI FILHO, 2010).

Após esse processo, as radículas são removidas e o malte segue para a etapa de mosturação onde é moído até a granulometria desejada e é então macerado a quente, momento em que as enzimas do malte sacarificam o amido, tornando-se mosto pronto para ser fermentado. Esses processos são seguidos de maneiras distintas para os diversos tipos de uísque (LIMA, 1983; DOLAN, 2003).

A etapa de fermentação na produção de uísque é similar a qualquer outra fermentação alcoólica, na qual os açúcares obtidos a partir da hidrólise do amido são metabolizados pelas leveduras e convertidos em etanol, CO<sub>2</sub>, subprodutos e material celular. As principais diferenças consistem nas matérias-primas utilizadas, nas cepas de leveduras, condições de fermentação e possíveis contaminações bacterianas. Outra importante diferença é a ausência da operação de inativação (fervura) de enzimas amilolíticas durante a mosturação, conseguido assim uma utilização mais completa de açúcares e aumento da produção de etanol. Na maioria das bebidas alcoólicas fermentadas, como também no uísque, ocorre a utilização de uma única espécie de microrganismo fermentador, geralmente a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, a qual é inoculada e mantida em temperatura controlada de aproximadamente 30°C. Os recipientes de fermentação (cubas) na indústria de destilação são construídos de madeira ou principalmente aço inoxidável. O processo fermentativo leva geralmente em torno de 48-72 h, antes desse tempo há pouca produção de congêneres. Porém, após esse tempo há grande risco de crescimento exagerado de microrganismos contaminantes (bactérias lácticas, acéticas e leveduras aeróbias) (CAMPBELL, 2003; PIGGOTT & CONNER, 2003; VENTURINI FILHO, 2010).

Para o uísque são utilizadas duas formas distintas de destilação (descontínuo em alambique ou contínua em colunas). O descontínuo de alambique, construídos

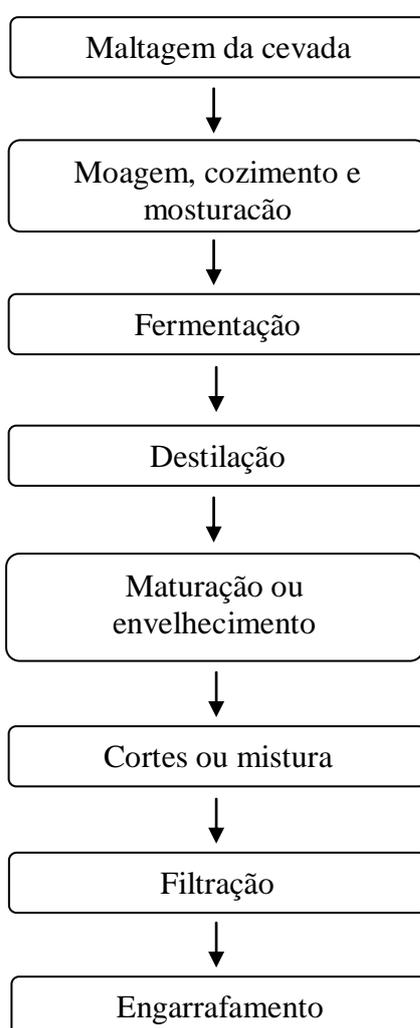
normalmente em cobre, que realizam duas ou até três destilações, permitem produzir um destilado fortemente saborizado. Já o processo contínuo de coluna é indicado para a produção de destilados mais suaves, utilizados geralmente como base para misturas ou formulação do “blended whisky” (PIGGOTT & CONNER, 2003; VENTURINI FILHO, 2010).

No sistema de destilação em batelada com dupla destilação, a primeira destilação não seletiva leva em média 5-6h. O mosto fermentado ou cerveja, com concentração média de 8% v/v de etanol, resulta em um destilado denominado vinho fraco ou vinho baixo com 21-23% v/v e está pronto para a segunda destilação. Na segunda destilação são coletadas três frações: “cabeça”, “coração” (uísque) e “cauda”. Somente a fração intermediária (coração), é encaminhada para o envelhecimento, as demais frações podem ser redestiladas juntamente com outros vinhos fracos. A fração “coração” começa a ser coletada com 75% v/v de etanol e continua até atingir o ponto de corte (57-64% v/v de etanol). A bebida que resulta da segunda destilação é muito clara e pode ser acrescentada água pura para que seja alcançado o teor de álcool adequado para cada tipo de uísque (LIMA, 1983; NICOL, 2003; PIGGOTT & CONNER, 2003; VENTURINI FILHO, 2010).

A maturação é uma etapa importante no desenvolvimento do sabor, uma vez que uísques recentemente destilados, geralmente apresentam características sensoriais inaceitáveis. Os períodos de guarda nos barris estão sujeitos às exigências legais de cada país. Durante o tempo em que o uísque passa em barris de carvalho ocorrem alterações na composição e na concentração dos compostos que influenciam o sabor e o aroma da bebida. Essas alterações podem ser ocasionadas por extração direta de componentes da madeira, decomposição de macromoléculas, reações entre componentes da madeira e constituintes do destilado e evaporação de compostos voláteis. Outras variáveis podem influenciar as características do produto final como o tipo de madeira utilizada para a fabricação do barril, tratamentos e método de fabricação e até mesmo as condições climáticas durante o armazenamento afetam a característica da bebida (CONNER et al., 2003; VENTURINI FILHO, 2010).

O corte (“blend”) consiste na mistura de diferentes tipos de uísques, em diferentes proporções, de um destilado pouco encorpado com vários destilados fortemente encorpados, visando a obtenção de um produto com atributos de sabor único. Tradicionalmente, essa mistura é realizada por pessoas especialistas em cortes, que possuem muitos anos de experiência e treinamento dentro das indústrias (VENTURINI FILHO, 2010).

A Figura 2 apresenta um fluxograma básico da fabricação do uísque.



**Figura 2.** Fluxograma geral de fabricação do Uísque

**Adaptado de:** Venturini Filho (2010).

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Amostras

Runs e uísques vinculados a 15 e 9 marcas comerciais, respectivamente, todas de consumo popular e produzidas legalmente em diversas partes do Brasil, foram adquiridas entre os meses de maio e dezembro de 2010 junto a distribuidora de bebidas Imigrantes Mercantil Ltda. ([www.imigrantesbebidas.com.br](http://www.imigrantesbebidas.com.br)), São Paulo-SP. Na medida do possível e com intuito de obter uma melhor representação do nível de carbamato de etila e de outros parâmetros químicos nas bebidas, foram adquiridas duas amostras (garrafas) por marca, o que resultou em um universo de 48 amostras, sendo 30 de rum (todas as 15 marcas foram obtidas em duplicata) e 18 de uísque (9 marcas obtidas em duplicata). Para fins deste trabalho, foram considerados runs e uísques de consumo popular aquelas bebidas distribuídas para todo o Brasil e com preços estipulados até um valor máximo de R\$35,00 por embalagem (garrafa) de 600 a 1.000 mL.

Para o rum, as marcas amostradas foram: Bacardi Carta Ouro, Bacardi Carta Blanca, Capitão dos Mares, Cordel Branco, Cordel Prata, Cordel Ouro, Kingston Branco, Kingston Envelhecido, Montilla Carta Ouro, Montilla Carta Branca, Montilla Carta Cristal, Mourisca Bianco, Mourisca Oro, Timoneiro Carta Oure e Timoneiro Carta Prata. No tocante aos uísques, foram coletadas as seguintes marcas: Old Eight, Wall Street, Cockland, Drury's, Gran Par, Mark One, Teacher's, Bell's e Natu Nobilis.

As características gerais das bebidas, por marca, incluindo classificação, estabelecimento produtor, local de produção, graduação alcoólica, ingredientes, cor da bebida, processo de destilação, entre outras, foram obtidas a partir de informações disponíveis nos rótulos dos produtos.

Resumos das informações constantes nos rótulos dos runs e uísques estão disponíveis nas Tabelas 1 e 4, respectivamente, da seção 5 (resultados e discussão) deste trabalho. Por questões éticas, as marcas dos runs e uísques foram substituídas por códigos em todas as tabelas de resultados.

Uma vez levantadas todas as informações nos rótulos das bebidas, as mesmas foram codificadas e armazenadas em sala mantida em temperatura de 18°C no Laboratório de Agrotóxicos e Contaminantes em Alimentos e Bebidas Alcoólicas (LABTOX) do Instituto de Tecnologia de Pernambuco (ITEP), local onde foram realizadas as análises.

#### **4.2. Solventes e reagentes**

As marcas dos solventes e reagentes utilizados nas determinações analíticas são descritas a seguir. Carbamato de etila, componentes secundários (acetato de etila, acetaldeído, alcoóis superiores), metanol, furfural e 1-pentanol da marca Dr. Ehrenstorfer (Augsburg, Alemanha). Etanol absoluto grau ACS e ácido nítrico de alta pureza da marca Carlo Erba (Rodano, Itália). Hidróxido de sódio p.a grau ACS (Merck Darmstadt, Alemanha), fenolftaleína (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil), solução eletrolítica de alumínio de potássio/cloreto de sódio (Gibertini, Milão, Itália) e as soluções de cobre, chumbo, arsênio, nitrato de paládio e nitrato de magnésio da marca Fluka (Suíça).

#### **4.3. Soluções de referência para análise de acetaldeído, alcoóis superiores, acetato de etila, metanol e furfural por cromatografia gasosa - detector de ionização de chama.**

As soluções de referência dos componentes secundários (acetaldeído, acetato de etila e alcoóis superiores), metanol, furfural e padrão interno (1-pentanol) foram preparadas a partir de diluições de soluções-estoque. As soluções-estoque continham as seguintes concentrações, em mg por 100mL de solução: acetaldeído: 7661, acetato de etila: 1981, *n*-propílico: 1797, isobutílico: 1661, isoamílico: 3435, metanol: 964 e furfural: 247. A solução-estoque de padrão interno continha 3238 mg de 1-pentanol por 100mL de solução. Foi utilizado etanol grau ACS como solvente no preparo das soluções. Alíquotas das soluções estoque foram misturadas e diluídas em etanol a 45%, obtendo-se sete concentrações. Estas soluções foram

utilizadas para construção das respectivas curvas analíticas. Por meio de regressão linear, foram determinados a equação da curva e o coeficiente de correlação.

#### **4.4. Soluções de referência para análise de carbamato de etila por cromatografia gasosa – espectrometria de massas.**

As soluções-referência de carbamato de etila foram preparadas a partir de diluições da solução-estoque que continha  $100 \text{ mg.L}^{-1}$ . Alíquotas da solução-estoque foram diluídas em etanol a 40%, obtendo-se cinco concentrações (50, 100, 150, 300,  $500 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ ). Estas soluções foram utilizadas para construção da curva analítica. Por meio de regressão linear, foram determinados a equação da curva e o coeficiente de correlação.

#### **4.5 Soluções de referência para análise de cobre, arsênio e chumbo por espectrometria de absorção atômica – forno de grafite.**

As soluções-referência de cobre, arsênio e chumbo foram preparadas a partir de diluições da solução-estoque que continham  $1000 \text{ mg.L}^{-1}$  cada. Alíquotas da solução-estoque foram diluídas em solução hidroalcoólica a 45% com 1% de ácido nítrico, obtendo-se concentrações  $10 \text{ mg.L}^{-1}$  para cobre e  $100 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$  para chumbo e arsênio. Estas soluções foram utilizadas para construção da curva analítica. Por meio de regressão linear, foram determinados a equação da curva e o coeficiente de correlação.

#### **4.6 Determinação de carbamato de etila (CE)**

As amostras foram submetidas à metodologia já consolidada para análise do CE na cachaça, de acordo com Nóbrega et al. (2009) e Nóbrega et al. (2011). Um autosampler Agilent 6873 foi utilizado para introduzir, em modo splitless,  $1 \text{ } \mu\text{L}$  de cada amostra em uma coluna capilar (Carbowax,  $60 \text{ m} \times 0,32 \text{ mm} \times 1 \text{ } \mu\text{m}$ ) instalada em cromatógrafo gasoso (GC) Agilent 6890 acoplado a um detector seletivo de massas (MS) Agilent 5973. O MS foi operado em modo de impacto eletrônico com uma energia de ionização de  $70 \text{ eV}$ , com hélio a  $1,5 \text{ mL.min}^{-1}$  como gás de arraste.

O forno do GC foi inicialmente mantido a 90°C (2 min), seguido por um incremento a 10°C.min<sup>-1</sup> até 150°C (0 min) e então a 40°C.min<sup>-1</sup> até 230°C. A temperatura do injetor foi de 250°C e a interface do CG com o MS foi mantida a 230°C. A quantificação foi realizada no modo SIM (*Single Ion Monitoring*) para o fragmento de massa (m/z) 62. Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram fixados em 10 e 50 µg.L<sup>-1</sup>, respectivamente.

#### **4.7 Determinação do teor alcoólico real**

Foi determinado utilizando-se 100 mL da amostra. Destilou-se cerca de 75% do volume inicial, o qual foi recolhido em balão volumétrico de 100 mL a temperatura ambiente, aferindo-se o restante com água ultra pura. O grau alcoólico real foi obtido a partir de medidas a 20°C, com o auxílio de um densímetro automático digital de leitura direta (Anton Paar<sup>®</sup> DMA 4500) e os resultados expressos em % de vol. de etanol.

#### **4.8 Determinação da acidez volátil**

A acidez volátil foi mensurada por volumetria de neutralização, com a utilização de solução de hidróxido de sódio (0,02 mol.L<sup>-1</sup>) em presença de fenolftaleína 1%, após separação dos compostos voláteis da amostra através da destilação por arraste de vapor em destilador eletrônico Gibertini. Na destilação por arraste de vapor foram destilados 10 mL da amostra, obtendo-se um volume final de 200 mL. Os resultados foram expressos em mg de ácido acético por 100 mL de álcool anidro.

#### **4.9 Determinação de metanol, acetaldeído, acetato de etila, alcoóis superiores e furfural**

As determinações de acetato de etila, acetaldeído, metanol, alcoóis superiores e furfural foram realizadas por meio de cromatógrafo gasoso CG (Thermo/Trace GC Ultra), software ChromQuest 4.1, equipado com coluna

Carbowax de 20m (60m x 0,25mm x 1 $\mu$ m) e detector de ionização de chama (FID). A quantificação foi feita por padronização interna, utilizando 1-pentanol. Foi introduzido 1  $\mu$ L de cada amostra através do sistema de injeção automática no modo splitless. A temperatura inicial do forno do GC foi de 60°C, seguido por um incremento a 10°C/min até 200°C. A temperatura do injetor foi de 230°C. A partir das curvas de calibração, as concentrações de cada analito foram obtidas em mg.100mL<sup>-1</sup>; entretanto, para expressar os resultados conforme exigido pela legislação em vigor (BRASIL, 2011), estes valores foram convertidos para mg.100mL<sup>-1</sup> de álcool anidro (a.a) utilizando-se a graduação alcoólica real de cada bebida.

#### **4.10 Determinação de cobre, chumbo e arsênio.**

Cobre, chumbo e arsênio foram analisados por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite. Foi utilizado um Espectrômetro Thermo Scientific, modelo GFS 97, software SOLA.AR, com corretor de fundo por lâmpada de deutério. Um auto-amostrador GFS 97 e um tubo de grafite com aquecimento longitudinal utilizando argônio como gás de purga, a uma temperatura de injeção de 40°C e comprimento de onda de 249,2nm para Cu, 283,3nm para Pb e 197,2 para As. Para cada um dos elementos foram programadas rampas de temperatura diferentes. A análise quantitativa foi realizada através do método de padrão externo e os resultados expressos em mg.L<sup>-1</sup> para cobre e  $\mu$ g.L<sup>-1</sup> para chumbo e arsênio.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 RUM

#### 5.1.1 Características gerais dos runs amostrados

A Tabela 1 apresenta as características gerais obtidas do rótulo de cada uma das 15 marcas de rum analisadas, assim como seus preços de aquisição por litro.

**Tabela 1.** Preço e características gerais dos runs amostrados, de acordo com informações disponíveis nos rótulos.

Marca	Designação	Ingredientes	Produtor	Origem <sup>a</sup>	Preço por litro (R\$)
R01	Carta Ouro	Destilado alcoólico simples de melão envelhecido e água desmineralizada	A	SP	25,5
R02	Carta Branca	Destilado alcoólico simples de melão envelhecido e água desmineralizada	A	SP	25,5
R03	Carta Branca	Destilado alcoólico simples de cana de açúcar e melão envelhecido em barris de carvalho.	B	SP	11,99
R04	Carta Branca	Destilado alcoólico simples de cana de açúcar e melão envelhecido em barris de carvalho, açúcar, corante caramelo e água desmineralizada.	C	SP	14,43
R05	Carta Ouro	Destilado alcoólico simples de melão envelhecido e água desmineralizada	C	SP	14,43
R06	Carta Prata	Destilado alcoólico simples de cana de açúcar, melão envelhecido em barris de carvalho e água desmineralizada.	C	SP	14,43
R07	Envelhecido	Destilado alcoólico simples de melão de cana de açúcar envelhecido	D	RS	15,78
R08	Carta Branca	Destilado alcoólico simples de melão de cana de açúcar envelhecido	D	RS	15,77
R09	Carta Branca	Destilado alcoólico simples de cana de açúcar e melão envelhecido em barris de carvalho, açúcar, corante caramelo e água desmineralizada.	E	PE	17,99

Continuação da **Tabela 1.**

Marca	Designação	Ingredientes	Produtor	Origem <sup>a</sup>	Preço por Litro (R\$)
R10	Carta Cristal	Destilado alcoólico simples de cana de açúcar e melaço envelhecido em barris de carvalho, açúcar e água desmineralizada.	E	PE	17,99
R11	Carta Ouro	Destilado alcoólico simples de cana de açúcar e melaço envelhecido em barris de carvalho, açúcar, corante caramelo e água desmineralizada.	E	PE	17,99
R12	Carta Branca	Destilado alcoólico simples de cana de açúcar envelhecido e de melaço e água potável	F	PR	11,99
R13	Carta Ouro	Destilado alcoólico simples de cana de açúcar envelhecido e de melaço e água potável	F	PR	11,99
R14	Carta Branca	Destilado alcoólico simples de cana de açúcar e melaço parcialmente envelhecido, extrato natural de carvalho, açúcar e água	G	SP	14,43
R15	Carta Ouro	Destilado alcoólico simples de cana de açúcar e ou melaço parcialmente envelhecido, extrato natural de carvalho, açúcar, corante caramelo e água	G	SP	14,43

<sup>a</sup> Origem refere-se ao estado (sigla) da federação onde a bebida é elaborada.

Relativo à constituição dos runs amostrados, apenas cinco (33%) são elaborados exclusivamente com destilado alcoólico simples de melaço, sendo os demais obtidos pela mistura de destilado alcoólico simples de cana de açúcar e destilado alcoólico simples de melaço.

A legislação vigente para rum (BRASIL, 2009) permite a mistura (corte) com destilados de igual natureza. Porém, não define porcentagens máximas de destilados alcoólicos simples de cana-de-açúcar ou destilado equivalente adicionado no corte dos runs, mas apenas que elas sejam em proporção necessária ao ajuste do coeficiente de congêneres, conservando as características sensoriais peculiares da bebida, cabendo ao produtor a combinação de sabores e colorações específicas.

A média de preço para as marcas de rum amostradas neste trabalho foi de 17,3 reais por litro de bebida, com preços que variaram de R\$ 11,99 a 25,5, valores

considerados altos quando comparados aos preços médios de bebidas similares como cachaças de consumo popular, que no mercado interno custam, em média, R\$ 7,00 por litro (VIDAL & GONÇALVES, 2008). Abramson et al. (2006) fez uma comparação entre os preços de bebidas alcoólicas com os preços dos cinco principais grupos da cesta básica na Paraíba e constatou que o preço médio das bebidas mais consumidas, como cerveja e cachaça é mais baixo que a maioria dos alimentos básicos. Entretanto, bebidas destiladas mais sofisticadas, como rum e uísque, começam a entrar no gosto das classes sociais de menor poder aquisitivo (LARANJEIRA et al., 2007), mesmo possuindo média de preço mais elevada que itens mais caros da cesta básica, tais como queijos, carnes e peixes.

De acordo com nossa amostragem nacional, a maioria das marcas de rum é produzida e/ou engarrafada no Estado de São Paulo (53%). Porém, dos 12 milhões de litros produzidos anualmente no País, a maior parcela de comercialização (77 %) dessa categoria de bebida pertence a marca “Ron Montilla”, da Pernod Ricard Brasil, que possui a região Nordeste como seu principal mercado consumidor (82%) (ABRABE, 2011; MONTILLA, 2011).

### **5.1.2 Análise do perfil químico do rum**

Os resultados das determinações dos níveis de etanol (grau alcoólico real), congêneres [acidez volátil em ácido acético, aldeídos em acetaldeído, ésteres em acetato de etila e alcoóis superiores (isoamílico, isobutílico e *n*-propílico)] e contaminantes (carbamato de etila, metanol e cobre) nas 15 marcas de rum são mostrados na Tabela 2, sendo um resumo dos resultados (valores mínimos, máximos e médios encontrados) apresentado na Tabela 3.

Além dos parâmetros anteriormente mencionados, foram realizadas análises de outros congêneres e contaminantes inorgânicos, a saber: acroleína, furfural, álcool *sec*-butílico, álcool *n*-butílico, chumbo, arsênio e cobre. Porém, os níveis destes parâmetros, em todas as amostras, ficaram abaixo dos limites de quantificação (LQ) do método, tornando-se pouco relevante a inclusão de tais informações nas tabelas.

**Tabela 2** – Níveis\* de etanol (grau alcoólico real), acidez volátil (em ácido acético), aldeídos (em acetaldeído) ésteres (em acetato de etila), alcoóis superiores (*n*-propílico, isobutílico e isoamílico) e contaminantes (CE e metanol) nos runs amostrados.

Marca	Grau alcoólico real (% vol.)	Congêneres (mg.100mL <sup>-1</sup> de álcool anidro)								Contaminantes	
		Acidez Volátil	Aldeídos	Ésteres	Alcoóis superiores			Soma dos alcoóis superiores	Soma dos Congêneres**	CE (µg.L <sup>-1</sup> )	Metanol (mg.100mL <sup>-1</sup> de a.a)
					<i>n</i> -propílico	Isobutílico	Isoamílico				
R01	38,1±0,0	26,8±0,0	7,6±0,2	16,1±0,0	16,45±2	9,0±0,6	28,9±1	54,4	105,0	<LQ	1,9±0,6
R02	38±0,0	22,1±0,0	4,0± 1,1	10,3±0,7	12,8±0,5	8,8±0,4	30,15±2	51,7	88,2	<LQ	0,9±0,6
R03	38,7±0,0	6,4±0,1	2,3± 0,0	10±0,0	14,1±0,0	25,5±0,0	54,4±0,0	94,0	112,8	115,4±0,7	0,6±0,0
R04	38,1±0,0	10,6±0,0	<LQ	8,8±0,3	2,6±0,3	4,4±0,2	15,3±1,4	22,3	42,5	<LQ	1,7±0,4
R05	38,4±0,2	15,4±0,1	4,6±0,5	12,9±0,4	5,0±0,2	7,8±0,2	23,5±0,8	36,3	69,2	<LQ	1,6±0,6
R06	38,2±0,1	84,7±2,9	<LQ	6,1±0,4	2,8±0,0	4,4±0,2	15,6±0,4	22,8	114,1	<LQ	1,8±0,6
R07	37,7±0,0	25,4±0,0	<LQ	1,5±0,4	<LQ	<LQ	1,1±0,1	1,67	29,4	<LQ	<LQ
R08	37,3±0,0	0,0±0,0	<LQ	1,8±0,0	0,25±0,0	0,32±0	1±0,0	1,57	4,2	ND	2,7±0,0
R09	38±0,0	105,5±4,9	<LQ	6±0,1	3,8±0,1	8,9±0,3	28,2±0,8	40,9	153,3	<LQ	2,4±2,2
R10	37,8±0,0	101,6±0,0	<LQ	7,3±0,0	3,7±0,0	6,7±0,0	19±0,0	29,4	138,7	<LQ	<LQ
R11	37,9±0,1	112,3±5,1	<LQ	6,0±1,0	4,1±0,7	9,9±0,6	30,9±2	44,9	164,1	<LQ	2,7±2,4
R12	38,6±0,0	5,5±0,1	4,2±0,0	7,0±0,0	24,3±0,0	15,5±0,0	38,9±0,0	78,7	95,4	340,5±0,0	7,44±0,0
R13	38,7±0,0	7,1±0,0	5,2±0,0	6,9±0,0	21,4±0,0	14,2±0,0	38,8±0,0	74,4	93,6	277,9±0,0	8,8±0,0
R14	39,8±0,9	64,8±8,6	<LQ	4,9±0,6	13,9±0,2	24,4±0,5	47,2±0,8	85,5	155,6	<LQ	0,8±0,6
R15	40,8±0,1	85,2±11,5	<LQ	2,5±0,7	3,3±0,1	6,5±0,4	13,9±0,7	23,8	111,9	<LQ	0,9±0,6
<b>Média***</b>	38,4	44,9	2,4	7,2	8,6	9,8	25,8	44,2	98,5	67,6	4,9

\* Níveis dos parâmetros obtidos pela média de duas amostras por marca ± desvio padrão. \*\* Soma dos congêneres (acidez volátil, aldeídos, ésteres e alcoóis superiores)

\*\*\* Média calculada considerando LQ e ND como metade dos valores dos limites de quantificação e detecção, respectivamente; <LQ, abaixo do limite de quantificação do método: aldeídos (<1,9 mg acetaldeído.100mL<sup>-1</sup> de álcool anidro), *n*-propílico (<0,5 mg.100mL<sup>-1</sup> de álcool anidro), isobutílico (<0,6 mg.100mL<sup>-1</sup> de álcool anidro), CE (<50 µg.L<sup>-1</sup>), metanol(<0,5 mg.100mL<sup>-1</sup> de álcool anidro). **ND** – CE não detectado (<10 µg.L<sup>-1</sup>).

**Tabela 3** – Resumo dos resultados\* (valores máximos, mínimos e médios) de grau alcoólico real, acidez volátil, ésteres, alcoóis superiores totais, congêneres totais, metanol, CE nas 15 marcas de rum.

Parâmetro	Unidade	Valor máximo	Valor mínimo	Valor médio ± desvio padrão
Grau alcoólico real	% vol. a 20 °C	40,8	37,3	38,4 ± 0,8
Acidez volátil	mg ác. Acético/100 mL <sup>-1</sup> álcool anidro	112,3	0,0	44,9 ± 40,6
Ésteres	mg acetato de etila/100 mL <sup>-1</sup> álcool anidro	16,1	1,5	7,2 ± 4
Aldeídos	mg aldeído acético/100 mL <sup>-1</sup> álcool anidro	7,6	<1,9	2,4 ± 2,1
Isobutílico	mg.100mL <sup>-1</sup> álcool anidro	25,5	<0,6	9,8 ± 7,1
Isoamílico	mg.100mL <sup>-1</sup> álcool anidro	54,4	1	25,8 ± 15,3
<i>n</i> -propílico	mg.100mL <sup>-1</sup> álcool anidro	24,3	<0,5	8,6 ± 7,6
Alcoóis superiores totais**	mg.100mL <sup>-1</sup> álcool anidro	94	1,57	44,2 ± 28
Congêneres totais***	mg.100mL <sup>-1</sup> álcool anidro	164,1	4,2	98,5±45,3
Metanol	mg.100mL <sup>-1</sup> álcool anidro	8,8	<0,5	4,9±2,4
Carbamato de etila	µg.L <sup>-1</sup>	340,5	<10	67,6±98,3

\*Valores mínimos e máximos por parâmetro considerando-se as médias por marca.

\*\*Alcoóis superiores totais correspondem a soma dos alcoóis *n*-propílico, isobutílico e isoamílico.

\*\*\*Congêneres totais correspondem a soma da acidez volátil, aldeídos, ésteres e alcoóis superiores totais.

### 5.1.2.1 Adequação à legislação em vigor

Nenhuma das marcas apresentou não conformidade no que diz respeito aos limites de teor alcoólico estabelecidos pela legislação para rum (35-54 % vol.). Porém, nas marcas R07 e R08, ambas elaboradas pelo estabelecimento D foram observados teores alcoólicos abaixo dos valores informados nos rótulos, a saber: -1,3 % vol. e -1,7 % vol., respectivamente.

De acordo com Lima & Nóbrega (2004), variações no teor alcoólico de bebidas destiladas podem acontecer por falhas no processo de corte (mistura ou “blend” de destilados com diferentes características para correção de grau alcoólico ou diluição com água) ou possível falha no processo de separação das frações “cabeça”, “coração” e “cauda” durante a destilação. Tais variações também podem estar relacionadas a perdas (de água ou etanol) durante o envelhecimento do destilado durante o seu armazenamento em barris. Neste aspecto, Nicol (2003) afirma que a baixa umidade do ambiente estimula a perda de água, enquanto a alta umidade favorece a perda de álcool a partir do barril.

Se levarmos em consideração o padrão estabelecido pela legislação em vigor para os runs designados como “leve” (até 200 mg de congêneres.100mL<sup>-1</sup> de álcool anidro) e “pesado” (até 500 mg de congêneres.100mL<sup>-1</sup> de álcool anidro), com os resultados mostrados nas Tabelas 2 e 3, constata-se que todas as marcas amostradas nesta pesquisa se enquadram na primeira designação.

Quanto à acidez volátil em ácido acético, os valores encontrados variaram desde zero até 112,3 mg.100mL<sup>-1</sup> de álcool anidro (a.a), com média de 44,9 (geral), 30,7 (carta branca) e 49,7 (carta ouro) (Tabelas 2 e 3). Portanto, todas as marcas estudadas estão em conformidade com a legislação (BRASIL, 2011), a qual tolera até 150 mg.100mL<sup>-1</sup> a.a.

Fernández-Trevejo et al. (2001), analisando a acidez em 70 amostras de runs cubanos de características diversas, encontraram médias de 21, 27 e 42 mg.100mL<sup>-1</sup> a.a para runs carta branca, carta ouro e envelhecido, respectivamente. Numa comparação mais equânime que a realizada por Fernández-Trevejo et al.

(2001), quando observamos os runs produzidos por um mesmo estabelecimento (R01 e R02; R04 e R05; R07 e R08; R09 e R11; R12 e R13; R14 e R15; Tabelas 1 e 2), observa-se o mesmo que os referidos autores, isto é, os runs carta ouro possuem maior acidez que os runs carta branca. Ressalta-se que, com exceção das marcas 14 (carta branca) e 15 (carta ouro), o teor de congêneres também é superior nos runs carta ouro. Essas observações estão possivelmente relacionadas ao processo de descoloração de runs brancos através de carvão ativo, o qual também promove uma redução geral no nível de congêneres na bebida, incluindo a acidez.

Essa redução pode ser reforçada por estudos que analisaram o efeito da filtração em carvão ativo no perfil químico de bebidas destiladas. Lima et al. (2006) observaram que o uso de carvão ativado possui efeito positivo na redução cobre e outros congêneres como a acidez em cachaça.

O ácido acético contribui para o aroma e sabor dos destilados e representam a maior parte (65-90%) dos ácidos orgânicos presentes (NYKÄNEN, 1986). Quando em excesso, entretanto, está intimamente ligado a contaminação da cana ou do mosto por bactérias acéticas. Outra hipótese é a transição do metabolismo aeróbico para o metabolismo anaeróbico das leveduras em fase de crescimento (MAIA & CAMPELO, 2005), podendo assim contribuir para sabores avinagrados à bebida.

Segundo Rota (2008), o processo de dupla destilação proporciona à bebida menores teores de acidez e melhor qualidade sensorial quando comparada à bebida monodestilada. A acidez elevada também pode ser evitada utilizando as boas práticas de fabricação (cuidados com a cana e fermento) e realizando o corte correto das frações “cabeça”, “coração” e “cauda”.

Segundo a Instrução Normativa nº 15 de 2011 do MAPA, a quantidade máxima permitida de aldeídos (em acetaldeído) no rum é de  $20 \text{ mg} \cdot 100\text{mL}^{-1}$  de a.a. Tendo-se em vista que nesta pesquisa os teores de aldeídos variaram entre  $< \text{LQ}$  ( $< 1,9 \text{ mg} \cdot 100\text{mL}^{-1}$  de a.a) e  $7,6 \text{ mg} \cdot 100\text{mL}^{-1}$  de a.a (Tabelas 3 e 4) e atingiram média geral de  $2,4 \text{ mg} \cdot 100\text{mL}^{-1}$  de a.a, de  $2,0 \text{ mg} \cdot 100\text{mL}^{-1}$  de a.a (carta branca) e  $3,8 \text{ mg} \cdot 100\text{mL}^{-1}$  de a.a (carta ouro), os runs estão em conformidade com a legislação brasileira. No entanto, abaixo das concentrações geralmente encontradas em rum por outros autores. Fernández-Trejejo et al. (2001), analisando o nível de aldeídos

em 70 amostras de rums cubanos de características diversas, reportaram médias (em mg.100mL<sup>-1</sup> de a.a) de 4,0 (carta branca) e 11,2 (carta ouro). Lachenmeier & Sohnius (2008), por sua vez, analisando 38 amostras de rum diversos coletadas entre os anos de 2000 e 2008 encontram uma média de 4 mg.100mL<sup>-1</sup> de a.a.

Nascimento et al. (1997), estudando o nível de acetaldeído em diversas bebidas importadas, encontraram uma concentração média de 12,4 mg.100mL<sup>-1</sup> de a.a em rums importados de Cuba e Jamaica. Esse valor médio foi próximo aos 10 mg.100mL<sup>-1</sup> a.a encontrados por Souza (2006) em rums comercializados no Brasil, porém abaixo dos 16,9 mg.100mL<sup>-1</sup> relatados por Sampaio et al. (2008) em rums cubanos.

Por ser uma substância associada ao mal estar depois da ingestão exagerada de bebida alcoólica, o acetaldeído faz referência ao aldeído de maior abundância em bebidas alcoólicas. A formação desse tipo de composto é resultado da ação de leveduras durante estágios preliminares do processo de fermentação, principalmente o acetaldeído, que tende a desaparecer no final, pela oxidação a ácido acético (CARDOSO, 2006).

Segundo Nykänen (1986), as principais reações que dão origem aos aldeídos são a oxidação de alcoóis e a auto-oxidação de ácidos graxos insaturados. A formação de aldeídos também ocorre durante a fermentação, pela degradação parcial de aminoácidos formando alcoóis superiores, os quais sofrem oxidação formando aldeídos correspondentes. Excesso de aldeídos pode estar associado a diversos fatores, entre eles a oxidação espontânea de ácidos ou atividade de bactérias contaminantes durante a fermentação (YOKOYA, 1995; NYKÄNEN, 1986; CARDOSO, 2006).

Quanto ao teor de ésteres em acetato de etila, a faixa encontrada neste estudo foi de 1,6 a 16,1 mg.100mL<sup>-1</sup> a.a, com médias (em mg.100mL<sup>-1</sup> a.a) de 7,2 (geral), 7,0 (carta branca) e 8,9 (carta ouro) (Tabela 3), valores dentro do limite tolerado pela legislação (< 200 mg.100mL<sup>-1</sup> de a.a).

Os níveis de ésteres em acetato de etila encontrados no presente estudo estão abaixo dos valores encontrados na literatura em rum. Fernández-Treveje et al.

(2001), quantificando ésteres (em acetato de etila) em runs cubanos, encontraram médias (em mg.100mL<sup>-1</sup> de a.a) de 17,2 (amostragem geral), 9,3 (runs carta branca), 16,0 (runs carta ouro) e 26,3 (runs envelhecidos).

Nascimento (2007), analisando o perfil químico de ésteres em acetato de etila em 10 amostras de rum (nacionais e importados), encontrou uma faixa de concentração de 2,6 a 124 mg.100mL<sup>-1</sup> de a.a, com média de 41,3 mg.100mL<sup>-1</sup> de a.a, valores estes bem superiores aos dos runs aqui estudados. Além disso, o autor constatou que os runs envelhecidos apresentaram valores superiores de ésteres quando comparados às amostras ditas brancas que não passaram pelo processo de envelhecimento.

Em contrapartida, uma concentração média de acetato de etila relativamente baixa foi encontrada por Lachenmeier et al. (2009a) em runs Vietnamitas (0,7 mg.100mL<sup>-1</sup> de a.a), tendo sido constatado que a bebida possuía características sensoriais que se assemelhavam a bebidas neutras como a vodca.

Em rum, como em diversas outras bebidas alcoólicas, o acetato de etila é o mais abundante dentre os ésteres. A principal origem dos ésteres, em bebidas alcoólicas, está no metabolismo secundário intracelular das leveduras durante a fermentação alcoólica. Estes ésteres são formados por reações enzimáticas entre ácidos ativados na forma de acetil-SCoA e alcoóis correspondentes. A formação de ésteres pós-fermentação também pode ocorrer pela reação química direta entre ácidos e alcoóis, porém, em escala bem menor que a via enzimática (NÓBREGA, 2003). Tal fato pode vir a explicar a maior concentração de ésteres em runs envelhecidos que nos runs brancos, como mostram os resultados de Fernández-Trevejo et al. (2001).

Ésteres são compostos chaves no rum, pois possuem características sensoriais peculiares e limiares de odor muito baixos e, portanto, assumem características de aroma mais marcantes (NÓBREGA, 2003; SOUZA, 2006). Concentrações muito baixas de ésteres em bebidas como o rum, costumam indicar execução de processos tecnológicos como bidestilação, filtração em carvão ativado, entre outros, que visam à padronização ou correção das propriedades sensoriais e visuais (NICOL; 2003).

O teor de acetato de etila é considerado por muitos autores um importante discriminante entre runs e outras bebidas destiladas como cachaça, uísque, tequila e até mesmo designações (branco, ouro, envelhecido, etc.) dentro da própria categoria (MAGNANI, 2009; SAMPAIO, 2006; SOUZA, 2006, MORAES, 2004).

A soma dos alcoóis superiores (isoamílico, isobutílico e *n*-propílico) encontrados nesse estudo variou de 1,6 a 94 mg.100mL<sup>-1</sup> de a.a, com média de 44,2 mg.100mL<sup>-1</sup> de a.a (geral), 53,5 mg.100mL<sup>-1</sup> de a.a (carta branca) e 46,8 mg.100mL<sup>-1</sup> de a.a (carta ouro) (Tabelas 2 e 3 ). Como a norma para rum permite um teor de alcoóis superiores de até 260 mg.100mL<sup>-1</sup> de a.a, todas as amostras deste estudo estão em conformidade com a legislação (BRASIL, 2011).

A média de alcoóis superiores para os runs “carta branca” está mais elevada que para os runs “carta ouro”. Porém, se observada as Tabelas 1 e 2, é possível perceber que dentro das marcas de um mesmo fabricante, os runs carta branca possuem níveis de alcoóis superiores menos elevados que os runs carta ouro. Tal tendência também foi constatada por Fernández-Trevejo et al. (2001) em runs cubanos carta branca (média de 50 mg.100mL<sup>-1</sup> de a.a) e rum carta ouro (média de 69,3 mg.100mL<sup>-1</sup> de a.a).

Médias de alcoóis superiores um pouco mais elevadas que as encontrados no presente estudo foram relatadas por Souza (2006) em marcas de rum comercializadas no Brasil (59,7 mg.100mL<sup>-1</sup> a.a). Em estudo comparativo, o autor percebeu que os alcoóis *n*-propílico e isobutílico apresentaram concentrações maiores nas amostras de cachaça do que nas de rum, podendo os mesmos serem considerados como discriminadores entre estas bebidas. Gutierrez (1993) propõe que o álcool isoamílico seja o principal álcool sintetizado durante a fermentação, chegando a contribuir com até 70% do total dos alcoóis superiores, dependendo da natureza da bebida.

Lachenmeier et al. (2003), utilizando a cromatografia de íons na detecção da adulteração de vodca e rum, encontraram média de alcoóis superiores de 26,7 mg.100mL<sup>-1</sup> de a.a em amostras suspeitas de fraude do rum Bacardi. Quando observado que o valor encontrado no rum original era aproximadamente o dobro (58,2 mg.100mL<sup>-1</sup> de a.a), ficou suspeito que a falsificação ocorreu por diluição ou

mistura com destilados neutros. Concentração muito baixa de alcoóis superiores, semelhante ao encontrado em rum suspeitos de fraude, também foram encontrados em runs produzidos no Vietnã (LACHENMEIER et al., 2009a).

Os alcoóis superiores são produzidos por meio de processos oxidativos de aminoácidos presentes no mosto e encontrados em concentrações relativamente altas em bebidas destiladas. Segundo Sampaio (2006), a concentração desses alcoóis é regulada por meio do manejo da fermentação, ou seja, pela cepa da levedura empregada, presença de sais e fermentação secundária, assim como pela presença de microrganismos contaminantes.

Os alcoóis superiores, assim como acetato de etila e outros compostos, são considerados por muitos autores como um importante grupo discriminante entre diferentes categorias de bebidas destiladas (MAGNANI, 2009; SAMPAIO, 2006; SOUZA, 2006, MORAES, 2004).

No que diz respeito aos congêneres totais encontrados (soma da acidez volátil, acetaldeído, acetato de etila e alcoóis superiores) nos runs, observou-se uma ampla faixa de concentração (4,2 a 164,1 mg.100mL<sup>-1</sup> a.a) e médias (em mg.100mL<sup>-1</sup> de a.a) de 98,5 (geral), 93,1 (carta branca) e 108,8 (carta ouro). Com exceção das marcas R07 (carta branca) e R08 (envelhecido), do mesmo fabricante, as quais atingiram níveis de congêneres de 4,2 e 29,3 mg.100mL<sup>-1</sup> de a.a, respectivamente, portanto fora (abaixo) dos limites estabelecidos pela legislação (40-200 mg.100mL<sup>-1</sup> a.a), todos os runs amostrados apresentaram conformidade quanto a esse parâmetro.

Os congêneres são componentes importantes na definição do perfil químico e sensorial de bebidas alcoólicas. As características sensoriais e os baixos valores de limiar de odor de alguns compostos desse grupo interferem diretamente no sabor, permitindo diferenciações entre as diversas bebidas e até mesmo entre estilos de uma mesma bebida (CARDOSO et al., 2004, SOUZA, 2006, SAMPAIO et al., 2008).

Em trabalho envolvendo 70 amostras de runs cubanos, Fernández-Trevejo et al. (2001) encontraram os seguintes níveis médios de congêneres (em mg.100mL<sup>-1</sup> a.a): 128,2 (geral), 84,1 (runs carta branca), 123,4 (runs carta ouro) e 177,0 (runs

envelhecidos). Embora os níveis de congêneres nos runs cubanos sejam um pouco superiores aos níveis encontrados nos runs amostrados neste estudo, ambos seguem a mesma tendência: menores concentrações de congêneres são encontradas em runs “carta branca”, seguida por runs “carta ouro”.

As designações carta branca ou ouro nos rótulos de runs brasileiros não estão relacionadas ao período de envelhecimento da bebida. Pela legislação, os runs brasileiros comuns, carta ouro ou branca, devem ser envelhecidos em recipientes de madeira por período mínimo de um ano salvo rum envelhecido cujo período mínimo é de dois anos. Supõe-se, entretanto, que para atingir baixa coloração ou mesmo ausência de cor, os runs designados como carta branca ou cristal (incolor) passam por processos mais intensos de filtração em carvão ativo, o qual também pode reduzir o nível geral dos congêneres na bebida. Por outro lado, também não se pode descartar a possibilidade dos runs carta ouro terem obtido suas colorações por meio da adição de corante caramelo, o qual é permitido, segundo a legislação, para “correção de cor”.

### 5.1.2.2 Carbamato de etila (CE) e metanol

As Tabelas 2 e 3 apresentam as concentrações de carbamato de etila (CE) nas 15 marcas amostradas de rum. Os valores variaram de não detectado (ND) a  $340,5 \mu\text{g.L}^{-1}$ , com média de  $67,6 \mu\text{g.L}^{-1}$ . Tendo em vista que a maioria das amostras (73,3%) apresentou concentrações abaixo do limite de quantificação do método ( $50 \mu\text{g.L}^{-1}$ ) (Tabela 1), a média calculada ( $67,6 \mu\text{g.L}^{-1}$ ) não reflete bem o perfil de CE nos rums brasileiros. Na verdade, apenas as marcas R03, R12 e R13 atingiram níveis de CE acima do LQ, a saber:  $115,4 \mu\text{g.L}^{-1}$ ,  $340,5 \mu\text{g.L}^{-1}$  e  $277,9 \mu\text{g.L}^{-1}$ , respectivamente. Tomando como base a tolerância de  $150 \mu\text{g.L}$  estabelecida por alguns países para bebidas destiladas (EFSA, 2007), constata-se que apenas duas marcas de rum (R12 e R13), ambas de um mesmo fabricante, ultrapassam este limite, ressaltando-se que a legislação brasileira para rum é omissa quanto ao CE. No Brasil a única bebida alcoólica que possui norma regulamentadora sobre o CE é a cachaça, cujo limite de CE também é  $150 \mu\text{g.L}^{-1}$  (BRASIL, 2005).

Pesquisas sobre CE em rums são escassas, dificultando a comparação de nossos resultados com o de outros autores. Dados apresentados por EFSA (2007), que reuni avaliações de CE feitas por vários países, entretanto, mostram dados conflitantes sobre níveis de CE em rums. Se por um lado os Estados Unidos apresentaram que em 19 amostras analisadas de rum, todas originadas de países membros da União Européia, as concentrações de CE foram muito baixas (faixa entre não detectado e  $57 \mu\text{g.L}^{-1}$ , com média de  $16 \mu\text{g.L}^{-1}$ ), por outro os níveis encontrados em 11 amostras de rum analisadas pela União Européia (a origem dos rums não foi mencionada) foram elevados (faixa entre não detectado e  $1.020 \mu\text{g.L}^{-1}$ , com média de  $328 \mu\text{g.L}^{-1}$ ).

Hasnip et al. (2007) relataram ocorrência de CE em diversas bebidas e alimentos, incluindo duas amostras de rum compradas em lojas de varejo no Reino Unido, nas quais foram encontrados níveis muito baixos de CE ( $\sim 16$  e  $72 \mu\text{g.L}^{-1}$ ).

Lachenmeier et al. (2009b) analisando amostras de uma bebida alcoólica mexicana que guarda algumas semelhanças com o rum, denominada cuxa, uma vez que ela também é produzida a partir da fermentação de um subproduto da

fabricação do açúcar de cana e posterior destilação, os autores encontraram uma concentração média de CE de  $10,0 \mu\text{g.L}^{-1}$ . Os autores sugerem que essa baixa concentração de CE na cuxa seja devido ao uso de um caldo proveniente da refinação parcial do açúcar bruto (que possivelmente não apresenta precursores de CE), em oposição ao caldo de cana utilizado na elaboração da cachaça, a qual é via de regra bastante contaminada com CE.

A baixa concentração de CE em runs pode ser causada por diversos fatores, entre eles, o de maior relevância é a tecnologia empregada no processo de destilação. Segundo Venturini Filho (2010), o rum pode ser obtido por dois sistemas de destilação distintos (batelada e coluna). No sistema em batelada, ocorrem duas destilações sucessivas em destiladores geralmente feitos de cobre. De acordo com Cook et al. (1990), valores baixos de CE em bebidas alcoólicas podem ser explicados pela utilização do sistema de dupla destilação empregado em alguns tipos de bebidas, visto que o CE transferido ao destilado e o formado após a destilação pela reação entre precursores voláteis e o etanol, por possuir elevado ponto de ebulição ( $182\text{-}184^\circ\text{C}$ ), seja eliminado ou reduzido a níveis não significativos após destilações sucessivas.

Resultados de estudos sobre a bidestilação em bebidas como cachaça e aguardente mostraram efetiva diminuição nos níveis de CE. Em trabalho recente, Galinaro & Franco (2011) estudaram os efeitos da redestilação simples em coluna em 15 aguardentes e constataram uma redução de 66,0 a 92,5 % do teor de CE (original). Redução de CE em cachaça bidestilada em alambique também foi reportada por Cavalcanti (2009). No entanto, Nóbrega et al. (2009), analisando a concentração de CE em 25 marcas comerciais de cachaça de alambique produzidas na Paraíba, constataram nível elevado de CE em algumas marcas bidestiladas, sugerindo que a dupla destilação por si só não garante a redução do contaminante.

A presença de cobre nos destiladores em batelada (alambiques) também pode vir a contribuir para a redução dos níveis de CE em bebidas destiladas, principalmente se sua presença for concentrada na parte ascendente do aparato de destilação, que possibilitará a reação de precursores como o cianeto, produzindo complexos pouco voláteis, favorecendo a formação de CE ainda dentro do destilador (BRUNO et al., 2007).

O sistema de destilação contínua em coluna tem ocupado bastante espaço na produção industrial do rum, o qual permite maior controle no quantitativo de componentes secundários e rendimento de etanol assim como de possíveis contaminantes como CE e metanol (VENTURINI FILHO, 2010). Alguns sistemas convencionais de destilação contínua em coluna possuem uma zona ou coluna depuradora (beer stripper), a qual remove a fração cabeça (heads) do destilado, sendo que nessa fração se concentra os componentes mais voláteis como o metanol e o precursor do CE (HCN), reduzindo as chances de formação de altos níveis de CE na pós-destilação. Outros sistemas, como o “Barbet”, conseguem ser ainda mais eficientes na remoção de impurezas voláteis da fração cabeça, utilizando processo semelhante de depuração (pre-stripping) (MURTAGH, 1999).

Embora a função primária do uso do carvão ativado no processamento do rum seja a de remoção da cor do destilado antes do envase, estudos feitos por Park et al. (2009) verificaram que é possível remover 47% do carbamato de etila presente em aguardentes de cana, utilizando a filtração com carvão ativo. Porém, como o carvão ativo tem a capacidade de reter compostos orgânicos de um modo geral, supõe-se o mesmo também provoque alterações na qualidade sensorial da bebida, podendo em alguns casos descaracterizá-la ou torná-la inaceitável ao consumidor.

No que diz respeito ao metanol, foram encontradas concentrações entre < LQ e 8,8 mg.100mL<sup>-1</sup> de a.a, com média de 4,9 mg.100mL<sup>-1</sup> de a.a (Tabelas 2 e 3). Todos os runs estão de acordo com as normas brasileiras se levado em conta a tolerância de 200 mg.100mL<sup>-1</sup> a.a estabelecido pela legislação (BRASIL, 2011).

Os níveis de metanol encontrados no presente estudo estão alinhados com as concentrações encontradas por Sampaio et al. (2008) em runs cubanos (4,8 mg.100mL<sup>-1</sup> de a.a) e de diversas nacionalidades (4,5 mg.100mL<sup>-1</sup> de a.a), bem como por Lachenmeier et al. (2003) em runs Bacardi (3,3 mg.100mL<sup>-1</sup> a.a). Porém, quando comparados as concentrações médias (em mg.100mL<sup>-1</sup> de a.a) de 1,4 (rum Bacardi Superior), 2,1 (runs vietnamitas) e 2,0 (runs cubanos) encontradas por Savchuk et al. (2007), Lachenmeier et al. (2009a) e Fernández-Trevejo et al. (2001), respectivamente, os níveis de metanol do presente estudo são relativamente elevados.

É interessante notar que o nível de metanol nas marcas R12 e R13, embora abaixo do limite máximo tolerado pela legislação ( $200 \text{ mg} \cdot 100\text{mL}^{-1} \text{ a.a}$ ), está 523% acima das demais marcas (Tabela 2). Ambas as marcas são provenientes de um mesmo produtor e também foram as únicas que apresentaram níveis de CE acima de  $150 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ . A presença relativamente elevada e concomitante destes dois contaminantes nas marcas R12 e R13 pode estar relacionada a falhas no processo de separação dos componentes da fração “cabeça”, na qual se concentra grande quantidade de componentes voláteis leves e altamente voláteis, tais como o metanol e o HCN (precursor do CE). Ressalta-se que o rum, assim como a aguardente de cana, pode ser obtido a partir do destilado alcoólico simples de cana-de-açúcar. Tal destilado é obtido a partir do mosto do caldo de cana-de-açúcar, o qual apresenta maior potencial de presença de cianoglicosídeos (precursores do HCN) quando comparado ao mosto do melaço ou açúcar de cana, como foi observado por Lachenmeier et al. (2009b).

O metanol é um álcool extremamente tóxico formado pela degradação da pectina, um polissacarídeo presente na cana-de-açúcar (CARDOSO, 2006). No que diz respeito à toxicidade do metanol, o mecanismo ocorre pela formação de ácido fórmico (a partir da metabolização do metanol), o qual provoca acidose grave no sangue, prejudicando a respiração e podendo levar ao coma muito rapidamente. Estudos afirmam que álcool etílico presente nas bebidas alcoólicas atenua os efeitos tóxicos da biotransformação do metanol por competir como substrato para a enzima álcool desidrogenase (CARDOSO, 2006). Publicações da OMS afirmam que a dose letal mínima em humanos fica entre  $0,3$  e  $1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ . Segundo Cardoso (2006) uma quantidade de metanol de  $15 \text{ mL}$  é suficiente para causar cegueira e a ingestão de  $10$  a  $100 \text{ mL}$  é fatal.

## 5.2 UÍSQUE

### 5.2.1 Características gerais dos uísques amostrados

A Tabela 4 apresenta as características gerais obtidas dos rótulos das nove marcas de uísque analisadas, assim como seus preços de aquisição por litro.

**Tabela 4.** Preço e características gerais dos uísques, de acordo com informações disponíveis nos rótulos.

Marca	Ingredientes	Fabricante	Origem <sup>a</sup>	Preço por litro R\$
W01	Malt Whisky, álcool etílico potável, raw grain whisky, corante caramelo	H	SP	22,99
W02	Malt Whisky importado da Escócia envelhecidos em barris de carvalho na origem e destilado alcoólico simples de cana de açúcar	I	PE	24,99
W03	Malt Whisky envelhecido, corante INS 150c, álcool e água.	J	RS	16,99
W04	Malt Whisky, álcool etílico potável, raw grain whisky, corante caramelo	H	SP	18,99
W05	Destilado alcóolico simples de malte envelhecido, destilado alcóolico simples de cereal envelhecido e água potável	L	PR	23,99
W06	Álcool e Malt whisky envelhecidos, corante	M	SP	18,35
W07	Destilado alcóolico de cereais envelhecidos (grain whisky), Malt whisky importados e corante caramelo INS 150 <sup>a</sup>	N	SP	27,4
W08	Malt whisky, grain whisky destilados e envelhecidos na origem e água desmineralizada.	I	PE	32,38
W09	Malt whisky escocês combinado com destilados nacionais envelhecidos	I	PE	25,42

<sup>a</sup> Origem refere-se ao estado (sigla) da federação onde a bebida é elaborada.

Das marcas amostradas, todas são denominadas de uísque cortado, ou “blended whisky”, termo que indica que a bebida foi obtida pela mistura de, no mínimo, trinta por cento de destilado alcoólico simples de malte envelhecido, ou “malt whisky”, com destilados alcoólicos simples de cereais, álcool etílico potável de origem agrícola ou ambos, envelhecidos ou não, com o coeficiente de congêneres não inferior a  $100 \text{ mg} \cdot 100\text{mL}^{-1}$  de a.a (BRASIL, 2009). A “blendagem” ou corte do uísque é o processo de mistura, em diferentes proporções, de um destilado neutro (pouco encorpado) com vários destilados fortemente encorpados com o intuito de criar sabores diferenciados e originais, obtendo-se um produto mais uniforme e de maior aceitação sensorial (VENTURINI FILHO, 2010).

Todas as amostras apresentaram cor típica de uísque, ou seja, amarelo ouro. A coloração característica do uísque provém do envelhecimento em barris de carvalho ou madeira equivalente por período mínimo de 2 anos. Nesse período, a bebida adquire características sensoriais em função do tipo de madeira e tratamento da mesma, como também do resultado da reação entre a madeira e congêneres, além da extração direta de compostos da madeira (PIGGOTT et al., 1995).

### **5.2.3 Análise do perfil químico dos uísques**

Os resultados das determinações dos níveis de etanol (grau alcoólico real), congêneres (acidez volátil em ácido acético, aldeídos em acetaldeído, ésteres em acetato de etila e alcoóis superiores – isoamílico, isobutílico e *n*-propílico) e contaminantes (carbamato de etila, metanol e cobre) nas nove marcas de uísques são mostrados na Tabela 5, sendo um resumo dos resultados (valores mínimos, máximos e médios encontrados) apresentado na Tabela 6.

Além dos parâmetros anteriormente mencionados, foram realizadas análises de outros congêneres e contaminantes inorgânicos, a saber: acroleína, furfural, álcool *sec*-butílico, álcool *n*-butílico, chumbo e arsênio. No entanto, os níveis destes parâmetros, em todas as amostras, ficaram abaixo dos limites de quantificação (LQ) do método, tornando-se pouco relevante a inclusão de tais informações nas Tabelas.

**Tabela 5.** – Níveis\* de etanol (grau alcoólico real), acidez volátil (em ácido acético), aldeídos (em acetaldeído), ésteres (em acetato de etila), alcoóis superiores (*n*-propílico, isobutílico e isoamílico) e contaminantes (CE, metanol e cobre) nos uísques amostrados.

Marca	Grau alcoólico real (% vol.)	Congêneres (mg.100mL <sup>-1</sup> de álcool anidro)							Contaminantes			
		Acidez Volátil	Aldeídos	Ésteres	Alcoóis superiores			Soma dos alcoóis superiores	Soma dos Congêneres**	CE (µg.L <sup>-1</sup> )	Metanol (mg.100mL <sup>-1</sup> de a.a)	Cu (mg.L <sup>-1</sup> )
					<i>n</i> -propílico	Isobutílico	Isoamílico					
W01	40,4±0,7	18,3±0,2	3,15±0,6	14,1±0,0	11,4±0,7	23,8±0,4	83±0,4	118,25	153,8	<LQ	2,1±0,1	0,2±0,0
W02	37,9±0,6	36,2±0,5	4,9±0,6	16,0±0,1	10,5±0,6	23,5±0,1	79,4±0,9	113,4	170,6	<LQ	2,1±0,1	0,1±0,0
W03	38,5±0,3	58,8±1	6,4±1,1	10,8±0,4	7,0±0,5	8,9±0,5	34,1±0,2	50,1	126,1	86,2±15,7	5,2±0,5	0,3±0,0
W04	39,5±0,1	19,7±0,0	2,6±1,7	14,4±0,0	10,8±1,1	24,3±1,5	85,8±1,6	121,05	157,8	<LQ	2,1±0,1	0,2±0,0
W05	38,9±1,2	26,4±0,5	2,3±1,4	14,6±0,3	11,7±0,8	23,5±1,7	87,4±0,5	122,65	166	<LQ	4,2±0,3	0,5±0,1
W06	39,6±1	16,5±0,5	3,1±1,1	13,2±0,5	12,2±0,2	20,8±1,9	76,8±2,7	109,9	142,7	<LQ	2,8±0,0	0,1±0,0
W07	42,2±2,4	25,3±1	4,2±0,2	24,1±0,6	46,1±0,8	52,8±0,8	77,7±4,4	176,65	230,2	<LQ	6,9±0,5	0,1±0,0
W08	39,9±0,0	35,8±0,2	4,7±0,8	27,4±0,9	54,7±1,2	57,1±0,2	95,4±3,1	207,35	275,3	<LQ	5,1±0,0	0,2±0,0
W09	38,9±0,0	21,9±0,1	3,6±0,1	21,7±0,2	13,3±0,0	34,2±0,5	100,3±1,3	147,95	195,3	<LQ	2,6±0,0	0,2±0,0
<b>Média***</b>	39,6	28,8	3,9	17,4	19,7	29,9	80	129,7	179,8	31,8	3,7	0,2

Níveis dos parâmetros obtidos pela média de duas amostras por marca ± desvio padrão. \*\* Soma dos congêneres (acidez volátil, aldeídos, ésteres e alcoóis superiores). \*\*\* Média calculada considerando <LQ e ND como metade dos valores dos limites de quantificação e detecção, respectivamente; <LQ - Abaixo do Limite de Quantificação: aldeído (<1,9 mg.100mL<sup>-1</sup> de álcool anidro), CE (<50 µg.L<sup>-1</sup>), cobre (<0,1 mg.L<sup>-1</sup>).

**Tabela 6-** Resumo dos resultados\* (valores máximos, mínimos e médios) de grau alcoólico real, acidez volátil, ésteres, alcoóis superiores totais, congêneres totais, metanol, CE e cobre nas marcas de uísques.

Componentes	Unidades	Valor máximo	Valor mínimo	Valor médio ± Desvio Padrão
Grau alcoólico real	% vol. a 20 °C	42,2	38	39,6±1,1
Acidez volátil	mg ác. acético/100 mL <sup>-1</sup> álcool anidro	58,8	16,5	28,8±12,5
Ésteres	mg acetato de etila/100 mL <sup>-1</sup> álcool anidro	27,4	10,8	17,4±5,3
Aldeídos	mg aldeído acético/100 mL <sup>-1</sup> álcool anidro	6,4	2,3	3,9±1,2
Isobutílico	mg.100mL <sup>-1</sup> álcool anidro	57,1	8,9	29,9±14,7
Isoamílico	mg.100mL <sup>-1</sup> álcool anidro	100,3	34,1	80±17,8
<i>n</i> -propílico	mg.100mL <sup>-1</sup> álcool anidro	54,7	7	19,7±16,6
Alcoóis superiores totais**	mg.100mL <sup>-1</sup> álcool anidro	207,35	50,1	129,7±41,9
Congêneres totais***	mg.100mL <sup>-1</sup> álcool anidro	275,3	126,1	179,8±44,2
Metanol	mg.100mL <sup>-1</sup> álcool anidro	6,9	2,1	3,7±1,6
Carbamato de etila	µg.L <sup>-1</sup>	86,2	<LQ	31,8±19,2
Cobre	mg.L <sup>-1</sup>	0,5	0,1	0,2±0,1

\*Valores mínimos e máximos por parâmetro considerando-se as médias por marca.

\*\*Alcoóis superiores totais correspondem a soma dos alcoóis *n*-propílico, isobutílico e isoamílico.

\*\*\*Congêneres totais correspondem a soma da acidez volátil, aldeídos, ésteres e alcoóis superiores totais.

### 5.2.2.1 Adequação à legislação em vigor

Os valores reais de etanol variaram de 38 a 42,2 % vol. (ou % v/v), com média de 39,6. Esses valores atendem ao que estabelece a legislação atual (38-54% vol.) para uísque, o que implica em 100% de atendimento às normas brasileiras (BRASIL, 2011).

Geralmente o uísque é envelhecido em barris de carvalho por anos, período de tempo em que ocorrem as diversas reações químicas e físicas que interferem composição e concentração de compostos que influem diretamente nas características gerais da bebida (VENTURINI FILHO, 2010). É durante o envelhecimento em barris de carvalho que pode ocorrer a evaporação de etanol. O barril, além de servir como recipiente desempenha o papel de membrana semipermeável que permite trocas gasosas entre o meio ambiente e a bebida (LIEBMANN & SCHERL, 1949).

Quanto ao nível de acidez volátil em ácido acético, a faixa encontrada (em  $\text{mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$  a.a) ficou entre 16,5 e 58,5, com média de 28,8, portanto todas as amostras estão de acordo com a legislação para tal parâmetro ( $<150 \text{ mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$  de a.a) (BRASIL, 2011).

O nível médio de acidez volátil encontrado no presente estudo está alinhado com o valor de  $32 \text{ mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$  de a.a encontrado por Nascimento et al. (1998) em uísques de diversas nacionalidades. Porém, está abaixo dos níveis médios relatados por Alcarde et al. (2011) em uísques importados puro malte 10 anos ( $64,4 \text{ mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$  a.a) e scotch whisky 12 anos ( $67,6 \text{ mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$  a.a).

O ácido predominante em bebidas fermento-destiladas como o uísque é o ácido acético, produzido pela oxidação do etanol por leveduras durante a fermentação alcoólica, como também por bactérias acéticas provenientes de contaminação, elevando a acidez e diminuindo o rendimento de etanol (NYKÄNEN 1986; CARDOSO, 2006).

Durante os estágios iniciais da maturação, a acidez total do uísque aumenta em até cinco vezes, começando a estabilizar somente após o primeiro ano

(LIEBMANN & SCHERL, 1949). O aumento da acidez total da bebida durante a longa maturação também tem a contribuição dos ácidos extraídos da madeira (CONNER, 2003; AYLOTT, 2003).

Baixa concentração de ácidos voláteis pode ser atingida por processos de dupla destilação, proporcionando à bebida melhor qualidade sensorial quando comparada à bebida monodestilada (ROTA, 2008).

A acidez volátil, entretanto, contribui para a formação do aroma e o sabor característico das bebidas alcoólicas destiladas. Uma acidez elevada em bebidas é sensorialmente desagradável, mas a presença de ácidos em pequena quantidade é de grande importância para a qualidade sensorial da bebida, tanto pelo próprio sabor do ácido quanto pela formação de ésteres, uma vez que durante o processo de fabricação, os ácidos reagem com os alcoóis presentes, aumentando a formação de ésteres responsáveis em grande parte pelo aroma da bebida (NYKÄNEN 1986).

Os níveis (em  $\text{mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$  a.a) de aldeídos, em aldeído acético ou acetaldeído, variaram de 2,3 a 6,4, com média de 3,9 (Tabelas 6 e 7). Portanto todas as amostras estão em conformidade quanto a esse parâmetro, o qual é tolerado pela legislação em até  $20 \text{ mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$  de a.a (BRASIL, 2011).

Os níveis de aldeídos encontrados no presente estudo estão abaixo dos níveis médios encontrados por diversos autores, a saber: Nascimento et al.(1998), média de  $11,5 \text{ mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$  de a.a em amostragem de uísques nacionais e importados; Lachenmeier & Sohnius (2008), média de  $7 \text{ mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$  de a.a em 37 amostras de uísques diversos; Alcarde et al. (2011), média de 10,9 e 8,6  $\text{mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$  de a.a em “malt whisky” e “scotch whisky”, respectivamente.

Os aldeídos, principalmente o acetaldeído, resultam da oxidação de alcoóis pelas leveduras durante os estágios preliminares do processo de fermentação, tendendo a diminuir bastante no final do processo devida sua posterior oxidação a ácido acético (CARDOSO, 2006). Por ser muito reativo, pode causar efeitos deletérios ao organismo, sendo considerado como possível carcinogênico em humanos (IARC grupo 2B) (IARC, 1999). Seu odor é altamente pungente em alta

concentração, mas em soluções diluídas exala um odor frutado agradável (LIU & PILONNE, 2000).

Para se evitar uma alta incidência de acetaldeído em bebidas, tem sido sugerido o uso de leveduras geneticamente modificadas (cepas com ADH2 parcialmente interrompido), ou mesmo a aplicação de alternativas mais simples, como emprego de temperaturas mais baixas e limitação do contato do ar com a bebida durante o armazenamento, diminuindo o processo oxidativo (LACHENMEIER & SOHNIUS, 2008).

Relativo ao nível de ésteres em acetato de etila, todas as amostras estão de acordo com a legislação vigente ( $<150 \text{ mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$  de a.a) (BRASIL, 2011) uma vez que nos uísques, foi constatada variação de 10,8 a 27,4, com média de  $17,4 \text{ mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$  de a.a.

O nível médio de ésteres encontrado no presente estudo está alinhado com concentrações reportadas por diversos autores, a saber: Aylott (2003), médias de 23 e  $18 \text{ mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$  a.a em uísques cortados e uísques de cereais, respectivamente; Alcarde et al. (2011), média de  $27 \text{ mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$  a.a em uísques puro malte e scotch envelhecidos; Nascimento (2007), média de  $32 \text{ mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$  a.a em uísques importados.

O aroma típico e agradável que o uísque e outros destilados adquirem durante o envelhecimento deve-se principalmente à presença dos ésteres. Estes são formados principalmente pelo metabolismo intracelular das leveduras durante a fermentação e em menor escala, por reações de esterificação que ocorre entre alcoóis e ácidos carboxílicos durante o amadurecimento, tornando-se os principais compostos voláteis responsáveis pela qualidade sensorial do uísque, atribuindo aromas “florais”, “frutados”, entre outros, característicos da bebida (CARDOSO, 2006; CÂMARA et al., 2007; NASCIMENTO, 2007).

A soma dos alcoóis superiores (*n*-propílico, isobutílico e isoamílico) nas amostras selecionadas resultou em concentrações que variaram de 50,1 a 207,3, com média de  $129,7 \text{ mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$  de a.a Todas as amostras encontram-se dentro do

limite máximo estabelecido pela legislação ( $<300 \text{ mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$  de a.a) (BRASIL, 2011).

Os níveis de alcoóis superiores encontrados no presente estudo estão alinhados com os valores reportados por Aylott (2003) em uísques cortados ( $163,0 \text{ mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$  de a.a), por González-Arjona et al. (1999) em uísques irlandeses ( $175,4 \text{ mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$  de a.a ) e Lachenmeier et al. (2009a) em uísques comercializados no Vietnã ( $124,4 \text{ mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$  de a.a). Em contrapartida, alguns autores como MacNamara & Hoffmann (1998), quantificaram valores bem superiores em uísques da categoria blended/cortado ( $360 \text{ mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$  de a.a).

Autores como González-Arjona et al. (1999) defendem que os alcoóis superiores fornecem dados valiosos sobre cada classe de uísque, em virtude do padrão e concentração que cada álcool costuma apresentar.

Caldeira et al. (2007), avaliando o padrão dos constituintes voláteis de uísques comerciais, observaram que dentre os alcoóis *n*-propílico, isobutílico e isoamílico, este último é geralmente encontrado em maior quantidade. Esse mesmo resultado pode ser observado no presente estudo (Tabela 5).

Depois do etanol, os congêneres voláteis mais abundantes em uísque são os alcoóis superiores (AYLOTT, 2003). Os alcoóis superiores ocorrem naturalmente em bebidas como subprodutos da fermentação alcoólica. Juntamente com os ésteres, são considerados de grande importância na composição do perfil aromático das bebidas. São compostos de origem metabólica, provenientes em grande parte do desvio do metabolismo dos aminoácidos pela levedura durante o processo fermentativo. Quando em excesso, tornam-se oleosos, daí a denominação usual de óleo fúsel, exalando forte aroma floral e descaracterizando e diminuindo a qualidade da bebida (CARDOSO, 2006).

A média de congêneres totais (soma da acidez volátil, aldeídos, ésteres e alcoóis superiores) para uísque foi de 179,7, com variação de 142,7 a 275,3  $\text{mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$  de a.a. Esses valores encontram-se dentro dos padrões exigidos pelas normas regulamentadoras brasileiras ( $>100 \text{ mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$  de a.a para uísques cortados e de cereais) (BRASIL, 2011).

Os principais congêneres são formados durante a etapa de fermentação. No entanto, a etapa de destilação é de suma importância para o balanceamento correto da quantidade desses congêneres que será transmitido ao destilado final (DOLAN, 2003). Uísques recém-destilados em geral, possuem sabor desagradável, necessitando da etapa de envelhecimento em barris de carvalho para findar em um produto de boa qualidade (PIGGOTT et al., 1995). É nesse processo de envelhecimento que ocorrem transformações na composição e quantidade dos congêneres, formando o perfil sensorial do uísque.

Assim sendo, é justo afirmar que o perfil químico do uísque seja definido pelo manejo da produção (fermentação, destilação, envelhecimento e padronização/blending) e qualidade da matéria-prima utilizada em cada tipo de uísque: puro malte, de cereais e “blended”.

#### **5.2.2.2 Carbamato de etila (CE), metanol e cobre**

As concentrações de CE encontrados nesse estudo foram baixas, variando de <LQ ( $50 \mu\text{g.L}^{-1}$ ) a  $86,2 \mu\text{g.L}^{-1}$ , com média de  $33,3 \mu\text{g.L}^{-1}$ . Das nove marcas amostradas de uísque, oito (88,9%) ficaram com nível de CE abaixo do limite de quantificação, sendo encontrados valores relevantes em apenas uma marca de uísque ( $86,2 \mu\text{g.L}^{-1}$ ).

O nível médio de CE encontrado em uísques no presente estudo está alinhado com concentrações relatadas por diversos autores. Battaglia et al. (1990), em revisão sobre CE em alimentos e bebidas, reportaram uma média de  $40 \mu\text{g.L}^{-1}$  em variados tipos de uísques. Aylott et al. (1990), por sua vez, encontraram um nível médio de  $48 \mu\text{g.L}^{-1}$  após analisarem 181 amostras de “blended whisky” importado (escocês). Finalmente, EFSA (2007) relatou uma média de  $40 \mu\text{g.L}^{-1}$  em 1.122 amostras de uísques originários da União Européia. Porém, concentrações mais elevadas foram reportadas em estudos realizados no Brasil por Farah-Nagato et al. (2000), em três amostras de scotch uísque (média de  $70 \mu\text{g.L}^{-1}$ ), e por Andrade-Sobrinho et al. (2002) em 19 amostras de uísques importados (média de  $140 \mu\text{g.L}^{-1}$ ).

Analisando os dados da literatura, incluindo os dados deste estudo, observa-se que a concentração média de CE em uísques não costuma ultrapassar o valor de  $100 \mu\text{g.L}^{-1}$ , chegando em muitos casos a ficar abaixo do limite de detecção do método (em geral  $10 \mu\text{g.L}^{-1}$ ). Isso demonstra atendimento do uísque às legislações de países que tem regulamentação para tal bebida, tais como o Canadá ( $150 \mu\text{g.L}^{-1}$ , aplicável às bebidas alcoólicas destiladas) e os EUA ( $125 \mu\text{g.L}^{-1}$ , aplicável ao uísque).

De acordo com Cook et al. (1990), valores baixos de CE em uísque podem ser explicados pelo fato do “malt whisky”, parte integrante e obrigatório do “blended whisky”, geralmente passar por etapas duplas de destilação, fazendo com que o CE formado e transferido para o primeiro destilado, por possuir elevado ponto de ebulição, seja eliminado ou reduzido a níveis não significativos após a segunda destilação.

Por outro lado, o outro componente do “blended whisky”, o “grain whisky”, que no Brasil pode ser representado pelo destilado alcoólico simples de cereais ou álcool etílico potável de origem agrícola, que normalmente possui graduação alcoólica acima de 90 % vol. (BRASIL, 2009), é via de regra obtido por processo de destilo-retificação, que quando bem conduzido reduz drasticamente os componentes secundários e contaminantes, incluindo o CE.

Outros fatores que também podem interferir na formação de CE em uísque é seleção de variedades de cevada com níveis naturalmente baixos de precursores, bem como a utilização de condições que controlam a formação de CE, como por exemplo a presença de cobre no aparato de destilação (AYLOTT et al., 1990).

O metanol é um álcool particularmente indesejável em bebidas. Origina-se da degradação da pectina, um polissacarídeo normalmente presente nas matérias-primas (por exemplo, cana-de-açúcar e frutas) utilizadas no processamento. No organismo, o metanol é oxidado a ácido fórmico e posteriormente a  $\text{CO}_2$ , provocando uma acidose grave (diminuição do pH sangüíneo) e afetando o sistema respiratório (CARDOSO, 2006).

No presente estudo, a concentração (em  $\text{mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$  a.a) máxima e mínima de álcool metílico em uísque foi de 6,9 e 2,1, com média de 3,7 (Tabelas 5 e 6). Esses valores, portanto, atendem os limites estabelecidos pela legislação para uísque ( $<20 \text{ mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$  de a.a) (BRASIL, 2011).

Os baixos níveis de álcool metílico encontrados no presente estudo estão alinhados com os valores encontrados por Lachenmeier et al. (2009a) em uísques produzidos no Vietnã ( $1,2 \text{ mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$  de a.a) e Alcarde et al. (2011) em uísques importados envelhecidos ( $4,7 \text{ mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$  de a.a). Concentração média mais elevada foi encontrada por Aylott et al. (2003) em uísques cortados ou blended ( $8,9 \text{ mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$  de a.a).

Segundo Aylott (2003), baixas concentrações de metanol costumam ser encontradas em uísques produzidos a partir de cereais fermentados (normalmente  $<25 \text{ mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$  a.a), enquanto que altas concentrações são sugestivas de misturas (cortes) do uísque com alcoóis não provenientes de cereais.

Os níveis de cobre (em  $\text{mg}\cdot \text{L}^{-1}$ ) encontrados nos uísques amostrados nesse estudo foram de 0,2 (média), com variação de 0,1 a 0,5. Todas as amostras se enquadram nos requisitos exigidos pela legislação quanto ao cobre no uísque (tolerância de até  $5 \text{ mg}\cdot \text{L}^{-1}$ ) (BRASIL, 2011).

Os baixos níveis de cobre encontrados no presente estudo estão alinhados com os valores encontrados por Navarro-Alarcon et al. (2007) em uísques espanhóis ( $1,01 \text{ mg}\cdot \text{L}^{-1}$ ) e Capote et al. (1999) em uísques venezuelanos ( $0,9 \text{ mg}\cdot \text{L}^{-1}$ ) e uísques escoceses ( $0,1 \text{ mg}\cdot \text{L}^{-1}$ ).

Normas internacionais da Organização Mundial de Saúde recomendam nível máximo de ingestão diária para adultos de 2 a 3  $\text{mg}/\text{dia}$  de cobre. No mercado internacional, diversos países não toleram bebidas com concentração de cobre superior a  $2 \text{ mg}\cdot \text{L}^{-1}$ , constituindo-se numa barreira não tarifária à exportação de bebidas destiladas brasileiras (VIDAL E GONÇALVES, 2008).

A presença do cobre na fabricação de uísque acontece há muito tempo. A liga de cobre era a preferida entre as outras por ser um metal maleável, bom condutor de calor e de fácil acesso (BATHGATE, 2003). Sua presença em excesso na bebida é

toxica ao organismo devido sua afinidade com o grupo tiol de muitas enzimas e proteínas. Entretanto, a presença de cobre nas porções ascendentes do aparato de destilação é essencial para a qualidade sensorial do destilado final, visto que o mesmo reage com compostos sulfurados de odor desagradável, presentes no mosto fermentado, evitando sua evaporação e consequente contaminação do destilado (CARDOSO, 2006; MAIA & CAMPELO, 2005).

Existem muitas maneiras de reduzir ou até eliminar a presença de cobre no destilado final. Alguns processos como a bidestilação (BIZELLI et al., 2000), filtração do destilado final em carvão ativo e resinas de troca iônica (SANTOS, 2009; KUNIGK et al., 2011) e adsorção com aluminossilicatos (alumina e bentonita) (CANTÃO et al., 2010) foram utilizados em aguardentes e cachaças. Contudo, tais processos não são aplicados corriqueiramente ao uísque, pois o mesmo não costuma apresentar alta concentração desse metal e por alterar a concentração dos congêneres. O próprio processo de bidestilação se encarrega de diminuir a concentração de cobre além de outros contaminantes.

## 6. CONCLUSÕES

- A maioria das 15 marcas de rums brasileiros amostrados nesta pesquisa possui níveis de congêneres de acordo com o que exige a norma brasileira para a bebida (40-200 mg.100mL<sup>-1</sup> de álcool anidro para rum leve), com exceção de duas marcas que apresentaram valores abaixo do limite inferior.
- Níveis relativamente elevados do contaminante carbamato de etila (115,4 µg.L<sup>-1</sup>, 340,5 µg.L<sup>-1</sup> e 277,9 µg.L<sup>-1</sup>) foram encontrados em três marcas de rum, sendo que duas delas (R12 e R13) ultrapassaram o limite de 150 µg.L<sup>-1</sup> estabelecido por vários países para bebidas destiladas.
- O nível do contaminante metanol nas marcas R12 e R13, embora abaixo do limite máximo tolerado pela legislação para rum (200 mg.100 mL<sup>-1</sup> de álcool anidro), ficou 523% acima das demais marcas. A presença relativamente elevada e concomitante de carbamato de etila (CE) e metanol nas duas marcas sugere falha no processo de remoção, por meio da destilação, dos componentes da fração “cabeça”, na qual se concentra grande quantidade de componentes voláteis leves e altamente voláteis, tais como o metanol e o HCN (precursor do CE).
- Diante dos resultados obtidos nos rums e objetivando a proteção dos consumidores, faz-se necessário o estabelecimento de controle normativo para o CE na bebida.
- Este trabalho também mostrou que apesar do rum e da cachaça se originarem da mesma matéria-prima (cana-de-açúcar), o nível de CE no rum é menor quando comparado aos resultados relatados na literatura para cachaça.
- Em relação às nove marcas de uísques amostradas nesta pesquisa, todos do tipo cortado (“blended”), os níveis de congêneres apresentaram-se dentro do exigido pela legislação brasileira para a bebida. Relativo aos níveis do contaminante CE, apenas uma marca de uísque apresentou níveis acima do limite de quantificação do método, com média de 86,2 µg.L<sup>-1</sup>, ainda assim 46% abaixo do limite tolerado internacionalmente para destilados.

- Diante dos resultados obtidos para uísques do tipo “blended” elaborados no Brasil, não se faz necessário o estabelecimento de controle normativo para o CE na bebida.
- Tomando-se como referência as normas brasileiras para rum, uísque e cachaça, todos os runs e uísques amostrados nesta pesquisa apresentaram conformidade quanto aos níveis dos contaminantes álcool metílico (metanol), acroleína (2-propenal), álcool *sec*-butílico (2-butanol), álcool *n*-butílico (1-butanol), chumbo, arsênio e cobre.
- De uma forma geral, os resultados indicam que os processos empregados na produção de runs e uísques no Brasil, notadamente a destilação-retificação, são adequados para controlar o nível de congêneres, CE e outros contaminantes nas bebidas.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRABE – Associação Brasileira de Bebidas. (2011). <http://www.abrabe.org.br/>. Acesso em 10 de dezembro de 2011.

ABRAMSON, C. I.; HOWARD, W.; ZOLNA, M.; NAIN, S.; AQUINI, I. S; ROCHA, H.; MORAES, Z.; PAGE, M. M. A Price Survey Comparison of Alcoholic Beverages with the Five Basic Food Groups in Paraiba, Brazil. **Journal of Social Sciences**, v. 2, n.4, p 100-103, 2006.

ALCARDE, A.R.; SOUSA, P.A.; BELLUCO, A. E. S. Chemical profile of sugarcane spirits produced by double distillation methodologies in rectifying still. **Ciência e Tecnologia Alimentar**, v. 31, p. 355-360, 2011.

ANDRADE-SOBRINHO, L. G.; BOSCOLO, M.; LIMA-NETO, B. S. & FRANCO, D. W. Carbamato de etila em bebidas alcoólicas (cachaça, tiquira e grapa). **Química Nova**, v.25, p.1074–1077, 2002.

ARESTA, M.; BOSCOLO, M.; FRANCO, D. W. Copper(II) Catalysis in Cyanide Conversion into Ethyl Carbamate in Spirits and Relevant Reactions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n.6, p. 2819-2824, 2001.

AYLOTT, R. Whisky Analysis. In: I. RUSSELL, **Whisky: Technology, Production and Marketing**. London: Academic Press. p.275–306, 2003.

AYLOTT, R; COCHRANME, G. C.; LEONARDL, J.; MACDONALDW, S.; MACKENZIE, M; MCNEISH, S.; WALKE, D.A. Ethyl carbamate formation in grain based spirits, part i: post-distillation ethyl carbamate formation in maturing grain whisky, **Journal of the Institute of Brewing**, v. 96, p. 213-221, 1990.

BADOLATO, E. S. G.; DURAN, M. C. Risco de intoxicação por metanol pela ingestão de bebidas alcoólicas. **Revista de Psiquiatria Clínica**, v. 27,n.2, 2000.

Disponível em: [http://www.hcnet.usp.br/ipq/revista/r27\(2\)/art90.htm](http://www.hcnet.usp.br/ipq/revista/r27(2)/art90.htm) - acesso em 21/10/2011.

BAFFA JÚNIOR, J. C., SOARES, N. F. F., PEREIRA, J. M. A. T. K., & MELO, N. R. Ocorrência de carbamato de etila em cachaças comerciais da região da zona da mata mineira – MG. **Alimentos e Nutrição**, v.18, n.4, p. 371–373, 2007.

BARCELOS, L. V. F.; CARDOSO, M. G.; VILELA, F. J.; ANJOS, J. P. Teores de carbamato de etila e outros componentes secundários em diferentes cachaças produzidas em três Regiões do Estado de Minas Gerais: Zona da Mata, Sul de Minas e Vale do Jequitinhonha. **Química Nova**, v. 30, n. 4, p.1009-1011, 2007.

BATHGATE, G. N. History of the development of whisk distillation. In: I. RUSSELL. **Whisky: Technology, Production and Marketing**. London: Academic Press. p.1 - 26. 2003.

BATTAGLIA, R.; CONACHER, H.B.S. & PAGE, B.D. Ethyl carbamate (urethane) in alcoholic beverages and foods: a review. **Food Additives and Contaminants**, v.7, p.477-496, 1990.

BELITZ H.-D; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P. **Food Chemistry**. Berlin: Springer-Verlag, 4th ed.,1070 p, 2009.

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

BOSCOLO, M.; BEZERRA, C. W. B; CARDOSO, D. R.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Identification and dosage by HRGC of minor alcohols and esters in Brazilian sugar-cane spirit. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.11, p 86-90, 2000.

BOZA, Y.; HORII, S. A. Influência do grau alcoólico e da acidez do destilado sobre o teor de cobre na aguardente de cana. **Boletim CEPPA**. v.18, n.1, p. 85-94, 2000.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº IN nº 15 de 31 de Março de 2011. **D.O.U** de, 01 de Abril de 2011. Seção I, n 63, p 4.

BRASIL. Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009. **D.O.U** de 05 jun 2009, Seção I, nº 106, p. 20

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 13, de 29 de junho de 2005. **D.O.U de 30 jun 2005**, Seção I, p. 3.

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, p.1345–1352, 2007.

CALDEIRA, M.; RODRIGUES, F; PERESTRELO,R.; MARQUES, J.C. ; CÂMARA J.S. Comparison of two extraction methods for evaluation of volatile constituents patterns in commercial whiskeys Elucidation of the main odour-active compounds. **Talanta**, v 74, p 78–90, 2007.

CÂMARA, J.S.; MARQUES, J.C; PERESTRELO, R.M; RODRIGUES, F.; OLIVEIRA, L.; ANDRADE, P.; CALDEIRA M. Comparative study of the whisky aroma profile based on headspace solid phase microextraction using different fibre coatings. **Journal of Chromatography A**, v.1150, p. 198-207, 2007.

CAMPBELL, I. Yeast and fermentation. In: RUSSELL, I. **Whisky: Technology, Production and Marketing**. London: Academic Press, 2003. p 155 – 180.

CANTAO, F. O; WALCLÉE, C. M.; CARDOSO, M. G.; ANJOS, J. P.OLIVEIRA, L. C. A. Avaliação e remoção de cobre em aguardentes de cana pela utilização dos aluminossilicatos: zeólita e bentonita. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, n. 5, p 1109-1115, 2010.

CAPOTE, T.; MARCÓ, L.M; ALVARADO, J.; GREAVES, E.D. Determination of copper, iron and zinc in spirituous beverages by total reflection X-ray fluorescence

spectrometry Original Research Article. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 54, n.10, p. 1463-1468, 1999.

CARDOSO, M. G., ed.; **Produção de Aguardente de Cana**, 2ª ed., Ed. UFLA: Lavras, 2006.

CARDOSO, D.R.; ANDRADE-SOBRINHO, L.G; LEITE-NETO,A.F.; RECHE, V.; ISIQUE,W.D.FERREIRA, M. M. C.; LIMA-NETO, B.S; FRANCO, D. W. Comparison between Cachaca and Rum Using Pattern Recognition Methods . **Journal of the Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 3429-3433, 2004.

CARDOSO, D.R.; LIMA-NETO, B.S.; FRANCO, D.W. Influência do material do destilador na composição química das aguardentes de cana. Parte II. **Química Nova**, v. 26, n.2, p.165-169, 2003.

CAVALCANTI, A. F. **Bidestilação em alambiques contendo dispositivos de prata e cobre e sua influência na qualidade da cachaça**. Dissertação (Mestrado). UNESP. 2009.

CONACHER, H.B.S. & PAGE, B.D. Ethyl carbamate in alcoholic beverages: a canadian case history. *Proceedings of Euro Food Tox II*. **European Society of Toxicology**, Schwerzenbach, Switzerland, p 237-242, 1986.

CONER, J.; REID, K.; JACK, K. Batch distillation. In: RUSSELL, I. **Whisky: Technology, Production and Marketing**. London: Academic Press, p. 155 – 180, 2003.

COOK, R.; MCCAIG, N.; MCMILLAN, J. M. B.; LUMSDEN, W. B. Ethyl Carbamate Formation in Grain-based Spirits Part III. The Primary Source. **Journal of the Institute of Brewing.**, v. 96, p. 233-244, 1990.

DELAVANTE, M. P. Rum- the commercial and technical aspects. In: **Distilled Spirits: Tradition and innovation**. Nottingham University Press, 2004.

DOLAN, T.C.S. Malt whiskies: raw materials and processing. In: RUSSELL, I. **Whisky: Technology, Production and Marketing**. London: Academic Press, p. 155 – 180, 2003.

EFSA – European Food Safety Authority. Ethyl carbamate and hydrocyanic acid in food and beverages. **EFSA Journal**, v. 551, p.1-44, 2007.

FARAH-NAGATO, L. A.; DURAN, M. C.; CARUSO, M.S.F.;BARSOTTI, R.C.F.;BADILATO, E.S.G. Monitoramento da autenticidade de amostras de bebidas alcoólicas enviadas ao Instituto Adolfo Lutz em São Paulo. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**,v 21, p 39-42, 2001.

FARAH-NAGATO, L. A.; SILVA, O. A.; YONAMINE, M.; PENTEADO, M. V. C. Quantitation of ethyl carbamate by gas chromatography and mass spectrometry detection in distilled spirit. **Alimentaria**, v.31, p 31-36, 2000.

FERNANDEZ-TREVEJO, E. O.; VERDÉS, J. A. A.; BOLÑANOS, L. O.V.; TÉLLES, O. L. M. Calidad de varios rones cubanos. **Revista Cubana de Alimentación y Nutrición**, v.15, n.2, p. 96-100, 2001.

GALINARO, C. A; FRANCO, D. W. Formação de carbamato de etila em aguardentes recém-destiladas; proposta para seu controle. **Química Nova**, v. 34, n. 6, p. 996-1000, 2011.

GONZÁLEZ-ARJONA, D.;GONZÁLEZ-GALLERO, V.; PABLOS, P.; GONZÁLEZ A. G. Authentication and differentiation of irish whiskeys by higher-alcohol congener analysis. **Analytica Chimica Acta**, v 381, n. 2-3, p 257-264, 1999.

GUTIERREZ, L. E. Produção de alcoóis superiores por linhages de *Saccharomyces* durante a fermentação alcoólica. **Scientia Agrícola**, v.50, n.3, p.464-472, 1993.

HAQUE, M. R.; BRADBURY, J. H. Total cyanide determination of plants and foods using the picrate and acid hydrolysis methods. **Food Chemistry**, v.77, p.107–114, 2002.

HASNIP, S.; CREWS, C.; POTTER, N.; CHRISTY, J.; CHAN, D.; BONDU, T.; MATTHEWS, W.; WALTERS, B.; PATEL, K. Survey of Ethyl Carbamate in Fermented Foods Sold in the United Kingdom in 2004. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.55, n.7, p. 2755-2759, 2007.

IARC – International Agency for Research on Cancer. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Volume 96: Alcoholic beverage consumption and ethyl carbamate (Urethane). **IARC**, Lyon, France. 2010.

IARC – International Agency for Research on Cancer. The Use of Short- and Medium-term Tests for Carcinogens and Data on Genetic Effects in Carcinogenic Hazard Evaluation. Edited by D.B. McGregor, J.M. Rice and S. Venitt, Scientific Publications No. 146, 1999.

KUNIGK, L.; SANTOS, M. C. R.; JURKIEWICZ, C. Remoção de íons de cobre de aguardente utilizando carvão ativo e resinas de troca iônica. **Acta Scientiarum: Technology**, v. 33, n. 1, p. 101-106, 2011.

LABANCA, R.A., GLÓRIA, M.B.A., & AFONSO, R.J.C.F. Determinação de carbamato de etila em aguardentes de cana por GC-EM. **Química Nova**, v.1, n.7, p. 1860–1864, 2008.

LACHENMEIER, D.W.; LIMA, M. C. P.; NÓBREGA, I. C. C.; PEREIRA, J. A. P.; KERR-CORREA, F.; KANTERES, F.; REHM, J. Cancer risk assessment of ethyl carbamate in alcoholic beverages from Brazil with special consideration to the spirits cachaça and tiquira. **Biomed Central**, v.10, p.10-266, 2010.

LACHENMEIER, D. W.; ANH, P. T. H.; POPOVA, S.; REHM, J. The Quality of Alcohol Products in Vietnam and Its Implications for Public Health. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v.6, p.2090-2101, 2009a.

LACHENMEIER, D. W.; KANTERES, F.; KUBALLA, T.; LÓPEZ M. G.; REHM, J. Ethyl Carbamate in Alcoholic Beverages from Mexico (Tequila, Mezcal, Bacanora, Sotol)

and Guatemala (Cuxa): Market Survey and Risk Assessment. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 6, p. 349-360, 2009b.

LACHENMEIER, D. W.; SOHNIUS; E. M. The role of acetaldehyde outside ethanol metabolism in the carcinogenicity of alcoholic beverages: Evidence from a large chemical survey. **Food and Chemical Toxicology**, v 46, p 2903–2911, 2008.

LACHENMEIER D. W.; ATTIG, R.; FRANK, W.; ATHANASAKIS, C. The use of ion chromatography to detect adulteration of vodka and rum. **European Food Research Technology**, v 218, p 105–110, 2003.

LARANJEIRA, R.; PINSKY, I.; ZALESK, M.; CAETANO, R. I Levantamento Nacional sobre os padrões de consumo de álcool na população brasileira. Revisão técnica científica: Paulina do Carmo Arruda Vieira Duarte. Brasília: **Secretaria Nacional Antidrogas (SENAD)**, 2007.

LEE, K. Y. M.; PATERSON, A.; PIGGOTT, J. R. Perception of whisky flavor reference compounds by Scottish distillers. **The Institute of Brewing & Distilling**, v. 106, p. 203-208, 2000.

LELIS, V. G. **Ocorrência de carbamato de etila e sua formação em cachaça de alambique e em aguardente de cana-de-açúcar**. 80f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa - Viçosa, 2006.

LIEBMANN, A. J.; SCHERL, B. Changes in whisky while maturing. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v.41, n.3, p. 534–543, 1949.

LIMA, A.J.B.; CARDOSO, M.G.; GUEREIRO, M.C.; PIMENTEL, F.A. Emprego do carvão ativado para remoção de cobre em cachaça. **Química Nova**, v. 29, n.2, p.247-250, 2006.

LIMA, A. K. S.; NÓBREGA, I. C. C. Avaliação de parâmetros de qualidade em aguardentes de cana produzidas no Estado da Paraíba. **Boletim CEPPA**, v. 22, n. 1, p. 85-96, 2004.

LIMA, U. A. Aguardentes. In: AQUARONE, E.; LIMA, U.A.; BORZANI, W. **Alimentos e bebidas produzidas por fermentação** (Série Biotecnologia). Edgard Blucher, v.5, cap. 4, p. 79-102, 1983.

LIU, S. Q.; PILONE, G. J. An overview of formation and role of acetaldehyde in winemaking with emphasis on microbiological implications. **International Journal of Food Science and Technology**, v 35, p 49-61, 2000.

MACNAMARA, K; HOFFMANN, A. Gas chromatographic technology in analysis of distilled spirits. **D. Wetzel and G. Charalambous (Ed) Instrumental Methods in Food and Beverage Analysis**. p 303-346, 1998.

MAGNANI, B. D. **Estudo Comparativo das Características Sensoriais do Rum e da Cachaça**. Dissertação (Mestrado). Programa de pós-graduação em alimentos e nutrição, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. 2009.

MAIA, A.B.R.A.; CAMPELO, E.A.P. **Tecnologia da cachaça de alambique**. Belo Horizonte: SEBRAE/MG, SINDIBEBIDAS, 129 p. 2005.

MAIA, A.B.R.A. Componentes secundários da aguardente: Açúcar, Álcool e Subprodutos. **Stab**, v.12, n.6, p.29-33, 1994.

MARRA, B.M. **Avaliação de parâmetros operacionais e remoção de congêneres secundários tóxicos para melhoria da qualidade da cachaça de alambique®**. Tese (Doutorado). Universidade de Brasília –UnB. 2008

MONTILLA, Montilla em números. Disponível em: [www.montilla.com.br](http://www.montilla.com.br). Acesso em 12 de setembro de 2011.

MORAES, J.S. **Estudo Comparativo das Características Químicas e Sensoriais do Rum e da Cachaça**. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, Araraquara-SP, 2004.

MURTAGH, J. E. Feedstocks, fermentation and distillation for production of heavy and light rums. In: **The alcohol textbook**: a reference for the beverages, fuel and industrial alcohol industries. 3<sup>a</sup> ed. Nottingham University Press. 1999.

NASCIMENTO, E.S.P. **Ésteres em aguardente de cana: seu perfil**. Dissertação (Mestrado). Instituto de Química de São Carlo. USP, 2007.

NASCIMENTO, R. F. CERRONI, J. L.; CARDOSO, D. R.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Comparação dos métodos oficiais de análise e cromatográficos para a determinação dos teores de aldeídos e ácidos em bebidas alcoólicas. **Ciência e Tecnologia Alimentar.**, v.18, n.3, p. 350-356, 1998.

NASCIMENTO, R. F.; MARQUES, J. C.; LIMA-NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Qualitative and quantitative high-performance liquid chromatographic analysis in Brazilian sugar cane spirits and other distilled alcoholic beverages. **Journal of Chromatography**, v. 782, p 13-23, 1997.

NAVARRO-ALARCON, M.; VELASCO, C.; JODRAL, A.; TERRÉS, C.; OLALLA, M.; LOPEZ, H.; LOPEZ, M. C.. Copper, zinc, calcium and magnesium content of alcoholic beverages and by-products from Spain: Nutritional supply. **Food Additives & Contaminants**, v. 24, p. 685-69, 2007.

NICOL, D.A. Batch distillation. In: RUSSELL, I. **Whisky: Technology, Production and Marketing**. London: Academic Press, p. 155 – 180, 2003.

NÓBREGA, I.C.C.; PEREIRA, J. A. P; PAIVA, J. E; LACHENMEIER,D.W. Ethyl carbamate in cachaça (Brazilian sugarcane spirit): Extended survey confirms simple mitigation approaches in pot still distillation. **Food Chemistry**, v. 127, p.1243–1247, 2011.

NÓBREGA, I.C.C.; PEREIRA, J.A.P.; PAIVA, J.E. & LACHENMEIER, D.W. Ethyl carbamate in pot still cachaças (Brazilian sugar cane spirits): Influence of distillation and storage conditions. **Food Chemistry**, v.117, p.693-697, 2009.

NÓBREGA, I.C.C. Análise dos compostos voláteis da aguardente de cana por concentração dinâmica do “headspace” e cromatografia gasosa-espectrometria de massas. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.23, n.2, p. 210-216, 2003.

NYKÄNEN, L. Formation and occurrence off flavor compounds in wine and distilled alcoholic beverages. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 37, p.89-96, 1986.

PARK, S-R.; HA S-D.; YOON J-H.; LEE S-Y.; HONG K-P.; LEE E-H.; YEOM H-J.; BAE D-H. Exposure to ethyl carbamate in alcohol-drinking and nondrinking adults and its reduction by simple charcoal filtration. **Food Control**. v.20, p. 946-952, 2009.

PIGGOTT, J. R.; CONNER, J. M. Whiskies. In: LEA, A. G. H.; PIGGOTT, J. R. (Ed.). **Fermented Beverage Production**. 2nd ed. New York: Klumer Academic/Plenum Publishers, 2003. cap.11, p. 239-262. Disponível em : <http://books.google.com.br>. Acesso em 29/10/2011.

PIGGOTT, J.R.; CONNER, A, J.M; PATERSONA, A. Flavour development in whisky maturation. **G. Charalambous (Ed.), Food Flavors: Generation, Analysis and Process Influence**, Academic press, 1995.

PIGGOTT, J.R.; PATERSON, A. The contributions of the process to flavour in Scotch malt whisky. In PIGGOTT, J.R.; PATERSON, A. (Eds). **Distilled beverage flavours: recent developments**,1989.

ROTA, M. B. **Efeito da Bidestillação na Qualidade Sensorial da Cachaça**. Dissertação (mestrado). Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”-UNESP, 2008.

SAMPAIO, O.M.; RECHE,R.V; FRANCO D.W. Chemical Profile of Rums as a Function of their Origin. The Use of Chemometric Techniques for their Identification. **Journal of Agricultural and. Food Chemistry**, v. 56, p. 1661–1668, 2008.

SAMPAIO, O. M. **Diferenciação entre runs Cubanos e não Cubanos**. Dissertação (mestrado), Instituto de Química de São Paulo, 2006.

SARGENTELLI, V.; MAURO, A. E.; MASSABNI, A. C. Aspectos do metabolismo do cobre no homem. **Química Nova**, São Paulo, v. 19, n. 3, p. 290- 293, 1996.

SAVCHUK, S. A.; KOLESOV, G. M.; NUZHNYI, V. P.. Chromatographic Study of the Chemical Composition and Potential Toxicity of Spirits and Alcoholic Beverages. **Journal of analytical chemistry**, v. 62, p 575-582, 2007.

SANTOS, M. C. R. **Quantificação e remoção de aguardente de cobre me cana-de-açúcar**. Dissertação (mestrado). Intituto Mauá de Tecnologia. 2009.

SCHLATTER, J.; DINOVI, M.; SETZER, W. Application of the margin of exposure (MoE) approach to substances in food that are genotoxic and carcinogenic Example: Ethyl carbamate (CAS 51-79-6). **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, p.63–68, 2010.

SCHLATTER, J.; LUTZ, W.K. The carcinogenic potential of ethyl carbamate (urethane): risk assessment at human dietary exposure levels. **Food Chem. Toxicol.**, v.28, p.205-211, 1990.

SOUZA, M. D. C. A. **Identificação, quantificação e comparação das substâncias químicas responsáveis pelos aromas da cachaça de alambique e do rum comerciais tratados pelo processo de irradiação**. Tese de doutorado. IPEN- Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares. 2006

SOUZA, P.A. **Produção de aguardente de cana de açúcar por dupla destilação em alambique retificador**. Dissertação de mestrado. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Piracicaba – SP, 2009.

VENTURINI FILHO, V. G (coordenador). **Bebidas Alcoólicas: Ciência e Tecnologia** - São Paulo: Editora Blucher, vol. 1, 461 p, 2010.

VIDAL, F. M.; GONÇALVES, M; F. Produção de cachaça na área de jurisdição do BNB: mercado e estrutura da cadeia produtiva. SOBER- XLVI Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural. Rio Branco – Acre, 2008

VILELA, A. F.. **Estudo da adequação de critérios de boas práticas de fabricação na avaliação de fábricas de cachaça de alambique.** Dissertação (Mestrado). Faculdade de Farmácia da UFMG, Belo Horizonte, 2005.

YOKOYA, F. **Fabricação da aguardente de cana: série Fermentações Industriais,** N° 2ª; Campinas:Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia “André Tosello”. 92p, 1995.

ZIMMERLI, B.; SCHLATTER, J. Ethyl carbamate: analytical methodology, occurrence, formation, biological activity and risk assessment. **Mutation Research,** v. 259, p.325-350, 1991.