

O papel da cromatografia no controle de qualidade, conformidade e na rastreabilidade das aguardentes

Felipe A. T. Serafim

Universidade de São Paulo, Instituto de Química de São Carlos, Av. Trabalhador São-carlense 400, 13560-970, São Carlos (SP), Brasil

felipethobias@gmail.com
+55 16 99116-5988.

Resumo

Uma abordagem a respeito da importância do uso da cromatografia na obtenção do perfil químico de amostras de aguardente de cana de açúcar foi elaborada. A caracterização química da bebida viabiliza a discussão no sentido de se estabelecer condições de produção que permitam a especificação de parâmetros de qualidade que possam garantir a segurança alimentar e a genuinidade da bebida para o consumidor.

Palavras-chave: Cachaça, Caracterização Química, Cromatografia.

Abstract

An approach about the importance of chromatography in the chemical profile of sugarcane spirits was elaborated. The chemical characterization of the distillate enables better discussions in order to establish the production conditions that allow establishing the quality parameters to guarantee the food safety and the genuineness of the distillate to the consumers.

Keywords: Cachaça, Chemical Characterization, Chromatography.

1. Introdução

A cromatografia é, em sua essência, um método físico de separação que se baseia nas diferentes interações moleculares que ocorrem entre os compostos presentes em uma mistura, a fase estacionária e a fase móvel de uma determinada técnica cromatográfica. De um modo geral, as moléculas com maior afinidade com a fase estacionária permanecem por um maior período tempo em contato com a mesma, enquanto que aquelas com menor afinidade não, promovendo-se o processo de separação (migração diferencial).¹⁻⁵

Embora alguns dos mecanismos envolvidos no processo de separação em cromatografia tenham sido reportados em trabalhos publicados em meados do século 19, a técnica só foi reconhecida no meio científico no início do século 20 com os trabalhos publicados pelo cientista russo Michael Semenovich Tswett. Ele identificou o mecanismo de adsorção no processo da separação de pigmentos coloridos extraídos de plantas, utilizando uma coluna de recheada com carbonato de cálcio, inulina e alumina.¹⁻⁶

Os métodos cromatográficos podem ser classificados com base no tipo de suporte empregado: a cromatografia planar e a cromatografia de coluna. A

técnica de cromatografia planar é representada pelas cromatografias em papel e em camada delgada. No primeiro caso, a separação e a identificação ocorrem a partir da interação entre dos componentes da mistura sobre a superfície de um papel (cuja fase estacionária é a celulose) e a fase móvel mais adequada para promover a separação. Já na cromatografia em camada delgada as interações ocorrem em uma camada fina de adsorvente (fase estacionária) sobre um suporte (geralmente uma placa de vidro). Em ambos os casos, ao ascender o papel e/ou a camada adsorvente por ação da capilaridade ou pela ação da gravidade, o solvente arrastará mais os compostos que interagiram menos com a fase estacionária, promovendo a separação dos mesmos.

Os métodos cromatográficos em colunas são classificados em três categorias de acordo com a natureza da fase móvel utilizada: cromatografia líquida (CL), cromatografia gasosa (CG) e a cromatografia supercrítica (CS).¹⁻⁹

É possível também classificar o método cromatográfico considerando o mecanismo de equilíbrio/interação entre o analito e a natureza da fase líquida e da fase estacionária. Tais condições revelam que existem dois tipos de cromatografia gasosa, cinco tipos de cromatografia líquida, e outro considerando o estado físico da fase líquida - a cromatografia de fluido supercrítico (**Tabela 1**).

Tabela 1. Classificação dos métodos cromatográficos em colunas, de acordos com o tipo de interação e a natureza das fases estacionárias.^{1,2}

Classificação	Método Específico	Fases Estacionárias	Tipo de Equilíbrio
Cromatografia Gasosa (GC)	Gás-Sólido (CGS)	Sólido (sílica/alumina)	Adsorção
	Gás-Líquido (CGL)	Líquido adsorvido ou ligado a um sólido	Partição (Gás-Líquido)
Cromatografia Líquida (CL)	Líquido/Líquido ou partição	Líquido adsorvido ou ligado a um sólido	Partição (Líquido-Líquido)
	Líquido/Sólido ou adsorção	Sólido	Adsorção
	Troca Iônica	Resina trocadora de Íons	Troca Iônica
	Exclusão por Tamanho	Líquido nos interstícios poliméricos	Partição/
	Afinidade	Grupos funcionais específicos ligados a uma superfície sólida	Partição (Grupo Funcional-Líquido)
Cromatografia Supercrítica (CS)		Espécies orgânicas ligadas a um sólido	Partição (Fluido- Fase ligada)

A cromatografia pode também ser combinada com diferentes sistemas de detecção, o que lhe confere inúmeras vantagens. O acoplamento de um cromatógrafo com um detector do tipo espectrômetro de massas combina alta seletividade e eficiência de separação das técnicas cromatográficas com a possibilidade de se obter informações sobre a estrutura molecular (massa molecular, por exemplo). Outros tipos de acoplamento de detecção são comumente observados para o caso da cromatografia líquida: a detecção ultravioleta (CL-DAD), a de Ressonância Magnética Nuclear (CL-RMN), a Detecção de Índice de Refração (CL-IR), a Detecção Eletroquímica (CL-DE) e a de Espectrometria de Massas (CL-EM). Todo o tipo de acoplamento tem sido contribuído para o aumento do número de compostos a serem analisados, estando a escolha do tipo de detecção, condicionada às propriedades físico-químicas dos analitos e da proposta analítica.^{1-5,7-9}

A versatilidade cromatográfica em muitas das suas vertentes, e a sua facilidade de operação, tornam-na a técnica de separação mais empregada nas indústrias petroquímicas, veterinárias, farmacêuticas, alimentícias, cosméticos, forense, laboratórios de análises clínicas, ambiental e em vários outros campos da ciência e da pesquisa. Como vantagens, ela contempla uma ampla gama de amostras altamente complexas, requerendo-se pequenas quantidades, tanto para fins qualitativos quanto quantitativos. A determinação dos constituintes presentes em amostras biológicas (urina e sangue) a fim de avaliar o efeito de uma determinada doença em um dado organismo; a determinação de resíduos de agrotóxicos em amostras de alimentos, na atmosfera, solos a fim de avaliar o grau de contaminação dos mesmos são, dentre muitas outras, alguns exemplos de aplicações das técnicas cromatográficas.⁷⁻⁹

O objetivo deste trabalho é mostrar a importância da avaliação cromatográfica na certificação da garantia da qualidade e da conformidade das aguardentes de cana de açúcar (cachaça) produzidas em território nacional, além da caracterização das etapas de sua produção.

Para tanto, deve-se se conhecer a importância cultural e econômica do destilado brasileiro, além das etapas de sua produção.

2. Aguardente de Cana de Açúcar (Cachaça)

A produção da aguardente de cana no Brasil teve sua origem em meados de 1532 – 1948 nas capitâncias de Pernambuco e de São Vicente – SP, onde Martin Afonso de Souza foi o responsável por introduzir a cultura de cana-de-açúcar em território nacional.¹⁰⁻¹⁴

A aguardente de cana de açúcar é o produto resultante do processo de destilação do caldo de cana fermentado (chamado de vinho) sendo classificada pela atual legislação de acordo com seu teor alcoólico expresso em porcentagem por volume. É chamada de cachaça quando o teor alcoólico encontra-se na faixa de 38-48% v/v e de aguardente quando entre 38-54% v/v. É evidente com base nesta definição, que toda cachaça é uma aguardente, mas que o inverso não.¹⁵

A aguardente é a segunda bebida alcoólica mais consumida em território nacional, sendo superada apenas pelo consumo de cerveja (Figura 1). De acordo com o Programa Brasileiro de Desenvolvimento da Cachaça (PBDAC) a cachaça é o terceiro destilado mais consumido no mundo. O Brasil possui uma capacidade de produção de aproximadamente 1,2 bilhões litros/ano, mas a produção é contabilizada em cerca de 800 milhões de litros/ano, sendo apenas 1 % desta, voltada para a exportação.¹⁶

De acordo com o último censo nacional do IBGE de 2016, tais números estão representados por 11.024 estabelecimentos produtores no país, devidamente registrados no Ministério de Agricultura e Receita Federal. Entretanto, as estimativas somadas de associações regionais estipulam aproximadamente 15 mil estabelecimentos e cerca de quatro mil marcas diferentes de aguardente. Ou seja, embora 90% da produção em volume esteja de acordo com a legislação

vigente, estima-se que 85% dos produtores, na maioria micro e pequenos empresários, façam parte de uma produção informal. Cerca de 40 mil produtores estão majoritariamente distribuídos por nove estados conforme os dados da Tabela 2.¹⁶

Tabela 2. Principais Estados Produtores de Cachaça.¹⁶

Estados Produtores	Produção Nacional (%)
São Paulo	42,2
Pernambuco	12,1
Ceará	12,1
Rio de Janeiro	8,0
Goiás	8,0
Minas Gerais	8,0
Paraná	4,0
Bahia	2,0
Paraíba	2,0

O estado de São Paulo é o maior produtor de cachaça do país, sendo predominante a cachaça de coluna. Os estados de Minas Gerais e do Rio de Janeiro destacam-se pela tradição de seus produtos artesanais (cachaça de alambique), em particular, os destilados das regiões de Salinas (MG) e de Paraty (RJ), respectivamente.

De acordo com o Instituto Brasileiro de Cachaça, 8,41 milhões de litros de cachaça foram exportados para 77 países em 2018, gerando uma receita de US\$ 15,61 milhões. Embora os números pareçam bons, eles representam o primeiro decréscimo (1,24% em valor e de 3,80% em volume), nos últimos dez anos. A Figura 1 mostra a relação dos principais países importadores de 2018.¹⁶

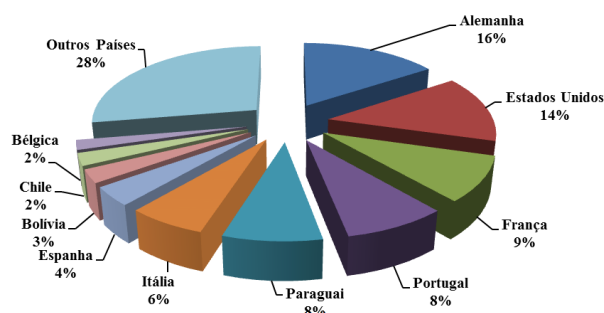


Figura 1. Principais Países Importadores de cachaça.¹⁶

A produção nacional de cachaça é fruto de uma tradição centenária, a qual é caracterizada por uma produção familiar, de destilarias de médio e grande porte, além de distribuidores independentes. Como não existe um método padrão de se produzir os destilados, diferentes métodos têm sido aplicados, propiciando a produção de uma bebida com características químicas e sensoriais diversificadas.

3. Etapas de Produção de Aguardente

O sistema de produção da aguardente de cana-de-açúcar pode ser dividido entre as seguintes etapas: a colheita da cana de açúcar, a obtenção e o preparo do mosto, a fermentação, a destilação do vinho, e o posterior envelhecimento do destilado (Figura 2).

Espécies híbridas de cana de açúcar têm sido utilizadas durante na plantação, uma vez que promove o crescimento de plantas com um maior teor de açúcar e sementes que florescem em diferentes períodos de maturação, permitindo-se assim, a extensão do período da safra. Depois de cortada, a cana madura, fresca e limpa deve ser moída num prazo máximo de 36 horas a fim de evitar deteriorações provocadas por possíveis contaminações bacterianas, que podem ocasionar menor rendimento em termos de concentração alcoólica e baixa qualidade do destilado. O caldo da cana é decantado, filtrado para em seguida ser preparado para o processo de fermentação, quando o seu teor de sólidos

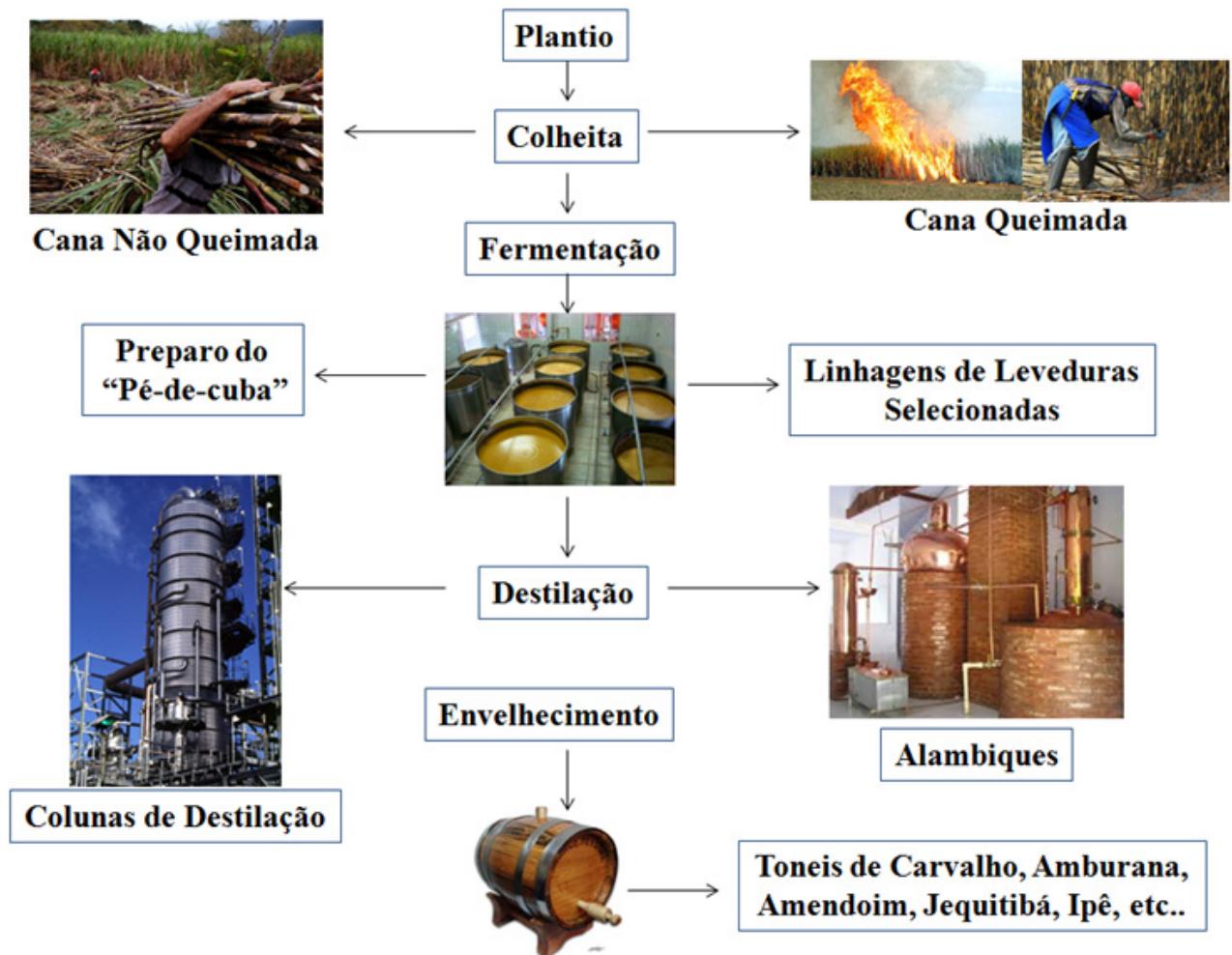


Figura 2. Fluxograma das principais etapas da produção de cachaça.

solúveis estiver entre 14 e 18 graus Brix.¹⁷⁻²⁰

É durante o processo fermentativo que ocorre a transformação do açúcar em álcool (etanol, principalmente) pela ação das leveduras do gênero *Saccharomyces cerevisiae*, e também onde são originados subprodutos como ácidos orgânicos, ésteres, aldeídos, cetonas, alcoóis superiores, dentre outros compostos, os quais formarão o buquê da bebida.¹⁷⁻²⁰ Após a fermentação, o mosto se transforma no vinho o qual é posteriormente destilado. O processo de destilação pode ser conduzido de forma descontínua ou contínua, utilizando-se de alambiques de cobre ou colunas de aço inox, respectivamente. Além do tipo de aparelho em

que se realizará a destilação, a qualidade do destilado irá depender das variáveis relativas aos procedimentos operacionais dos produtores, cujo controle é muito importante. A intensidade de calor aplicado na base do equipamento, o teor alcoólico do vinho, o modo do processamento da etapa de cortes, quando se utilizam alambiques, além de fatores regionais, tais como clima, solo e relevo são variáveis a serem consideradas.¹⁷⁻²⁰

O envelhecimento, embora seja opcional, é uma etapa crucial do processo que leva ao aprimoramento da qualidade sensorial dos destilados. O armazenamento é feito, preferencialmente, em barris de madeira por períodos de tempo variados. Nesta etapa ocorre a

extração dos componentes da madeira, principalmente os polifenóis, além das mais variadas reações químicas entre estes compostos, o etanol e o oxigênio presentes na bebida. Diferentes tipos de madeiras podem ser utilizados na confecção do tonel, conferindo ao destilado, propriedades sensoriais peculiares. Os tipos de madeiras mais utilizados são: o carvalho, o jequitibá, o cedro, o amendoim, a umburana, ipê, bálsamo dentre outros.

O conhecimento sobre os perfis químico da cachaça conduz, naturalmente, à identidade química intrínseca do destilado (tipificação), a qual compreende uma percepção que vai muito além dos requisitos de uma certificação. A certificação restringe-se aos itens controlados pela legislação, fornecendo somente o atestado de conformidade. Já a tipificação fornece uma impressão digital do produto com ênfase em suas propriedades químicas e sensoriais, sendo o modo de processamento da bebida, os maiores responsáveis pela origem sua identidade química.

As técnicas cromatográficas têm sido a principal ferramenta analítica para o detalhamento da composição química do destilado. Seus resultados gráficos, aliados ao tratamento dos dados, permitem a caracterização química de parte das etapas de produção da cachaça, além de atestar a sua conformidade perante a legislação brasileira.

Uma das primeiras contribuições relevantes da cromatografia para a caracterização química do destilado brasileiro, ao considerar a sequência da sua produção, foi a análise de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), para avaliar a influência da utilização de queima ou não da cana-de-açúcar para a obtenção do caldo. Os HPAs pertencem à classe dos compostos pró-carcinogênicos e são formados pela combustão incompleta da matéria orgânica em altas temperaturas, possuindo como propriedades físico-químicas o fato de fluorescerem, devido à sua estrutura molecular, e apresentarem altos pontos de ebulição. Assim, para análise dos mesmos nas amostras de aguardente utiliza-se com frequência a cromatografia líquida com detecção por fluorescência (LC-FLU), utilizando uma coluna de fase reversa C18 (octadecilsilano) como fase estacionária

e uma mistura acetonitrila/água (1:1v/v) como fase móvel.²¹⁻²² Os resultados típicos (Figura 3) mostraram que as aguardentes quando produzidas com canas de açúcar queimadas apresentam maiores concentrações de HPAs. Isso sugere uma discussão a respeito de um maior controle destes compostos por parte da legislação, não só na cachaça, mas também na composição do álcool desidratado utilizado como combustível de

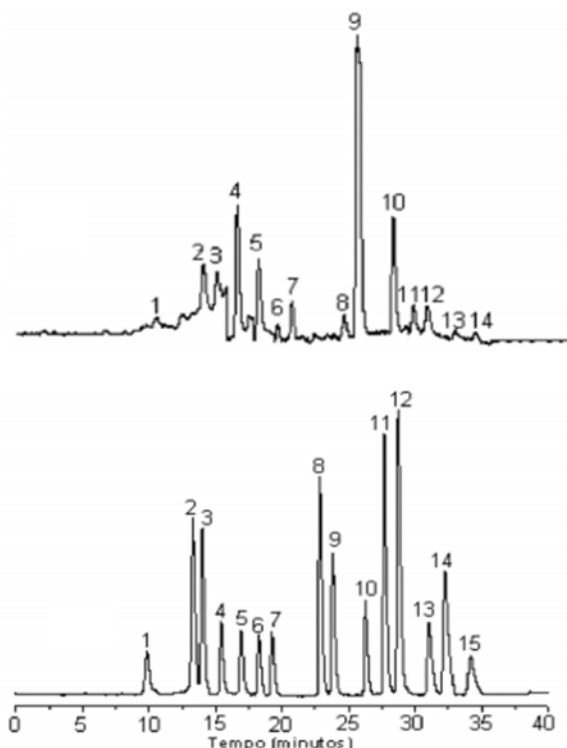


Figura 3. Cromatogramas típicos de análise de HPAs em amostras de aguardente e de padrões analíticos. 1 = naftaleno, 2 = acenafteno, 3 = fluoreno, 4 = fenantreno, 5 = antraceno, 6 = fluoranteno, 7 = pireno, 8 = benzo[a] antraceno, 9 = criseno, 10 = benzo[b]fluoranteno = 11 = benzo[k]fluoranteno, 12 = benzo[a]pireno, 13 = dibenzo[a,h] antraceno, 14 = benzo[g,h,i]perileno, 15 = indeno[1,2,3-c,d]pireno.²¹

automóveis. Neste caso, quando presentes, os HPAs não são degradados nas temperaturas de combustão dos motores, sendo expelidos na atmosfera.²¹

Seguindo a mesma linha de raciocínio, a próxima etapa fermentativa é avaliada. Dois modos de

se processar a fermentação são comumente utilizados pelos produtores de aguardente. Um utiliza-se do método de preparo do “pé de cuba”, cujo objetivo é aumentar a população das leveduras presentes na região onde se produz a aguardente de forma natural, a fim de utilizá-las para dar início ao processo de fermentação. O outro método utiliza as leveduras selecionadas ou industriais (ex. fermento *fleischmann*) em um processo de “inoculação direta”.¹⁷⁻²⁰

Cromatografia foi novamente utilizada para avaliar os perfis quantitativos dos compostos químicos analisados nas aguardentes produzidas utilizando-se leveduras selecionadas (ou industriais) e leveduras “naturais”. Ambos os tipos de aguardentes apresentaram perfis quantitativos relevantes contendo metanol e alcoóis superiores. Entretanto, diferenças consideráveis foram encontradas quando comparadas as concentrações de ésteres, de aldeídos, de cetonas, de carbamato de etila, de dimetilsulfeto e de ácido acético.²³

A concentração do ácido acético nos destilados oriundos de fermentação natural é, em média, sete vezes maior que a do destilado fermentado com levedura industrial. Comportamento semelhante foi observado com relação à concentração de dimetilsulfeto (DMS) cuja diferença foi de aproximadamente sete vezes maior para os destilados oriundos de levedura “natural”. Já a concentração de lactato de etila foi treze vezes maior para amostras oriundas de fermentação natural.²³

A conclusão desse estudo é que essas diferenças são devidas às condições de produção que cada método de inoculação, promovendo a produção de cachaças com perfis químicos diferentes, os quais podem influenciar na qualidade da bebida.²³

Outros trabalhos compararam a composição química de aguardentes de cana-de-açúcar fermentadas por diferentes cepas comerciais da levedura *Saccharomyces cerevisiae* isoladas utilizando os mesmos métodos cromatográficos de análise, mostrando que

uma grande variedade de cachaça pode ser produzida utilizando estirpes diferentes.^{24, 25}

Para a análise de metanol, alcoóis superiores e dos ácidos carboxílicos tem sido utilizado um cromatógrafo para fase gasosa acoplado a detector de ionização de chama, um sistema de injeção de amostra no modo splitless, hidrogênio como gás de arraste e uma coluna do tipo HP-FFAP (polietileno glicol esterificado) como

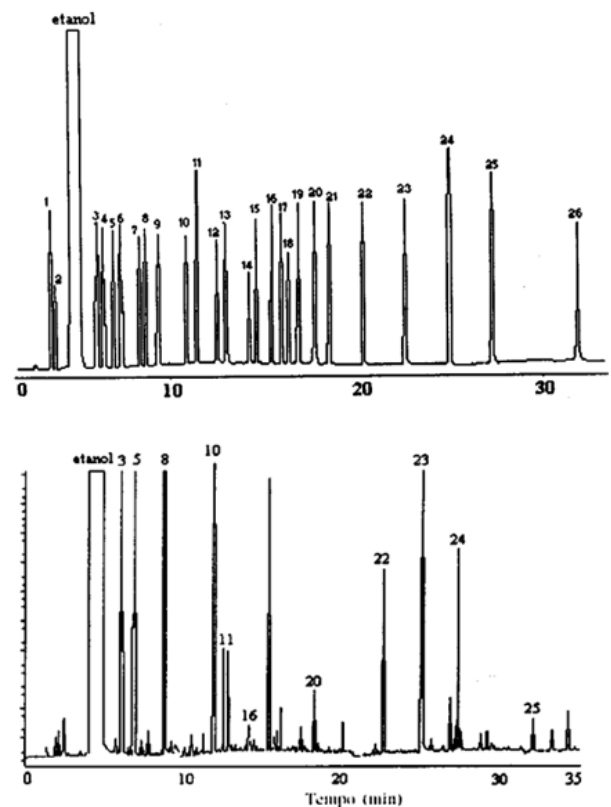


Figura 4. Cromatograma típico dos padrões dos 13oncluí, ésteres e ácidos carboxílicos e de uma mostra de cachaça: (1) acetato de etila (2) metanol (3) 2-butanol (4) n-propanol (5) acetato de butila, (6) isobutanol, (7) n-butanol, (8) acetato de amila, (9) álcool isoamílico (10) heptanoato de etila (11) hexanol (PI) (12) caprilato de etila (13) ácido acético (14) ácido propiônico (15) ácido isobutírico (16) ácido n-butírico (17) ácido isovalérico (18) benzoato de etila (19) ácido n-valérico (20) ácido isocaprílico (21) ácido n-caprílico (22) ácido heptanóico (23) ácido caprílico (24) ácido nonanóico (PI), (25) ácido cáprico e (26) ácido láurico.²⁶

fase estacionária.²⁶ A Figura 4 ilustra um perfil típico de uma amostra de cachaça submetida a análise por cromatografia gasosa nas condições descritas.

Aldeídos e cetonas, embora voláteis, tem sido analisados via cromatografia líquida. Para tanto, são utilizados um sistemas LC/DAD/UV-vis, uma coluna de fase reversa tendo C18 como fase estacionária, e uma mistura acetonitrila/metanol (85:15 v/v) como fase móvel. O interessante neste caso é que para evitar a supressão da região espectral dos aldeídos e cetonas pelos solventes, ambos são submetidos a um processo de derivatização. 2,4-dinitrofenilidrazina (2,4-DNPH) reagem com os aldeídos e cetonas, produzindo as suas respectivas hidrazonas as quais absorvem em regiões

espectrais diferentes.²⁷ A Figura 5 ilustra uma separação típica de aldeídos e cetonas derivatizados, empregando as condições analíticas descritas.

Para a análise dos ésteres, usualmente é utilizada injeção direta de 1 μ L em modo split (1:15) de amostra em um cromatógrafo para fase gasosa acoplado à um espectrômetro de massa (CG-EM), empregando-se impacto eletrônico (70 eV) como forma de ionização. Hélio é utilizado como gás de arraste (fase móvel) e uma coluna com polietileno glicol como fase estacionária.²⁸ Os mesmos ésteres podem ser também analisados via GC utilizando um detector de ionização em chama (FID); entretanto, a análise dos ésteres minoritários pode ser prejudicada devido baixa

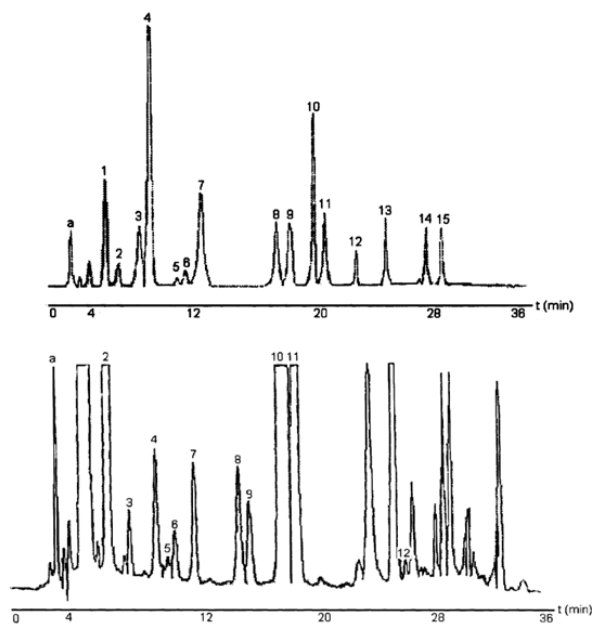


Figura 5. Cromatograma dos padrões analíticos das hidrazonas (2,4-DNPH derivados) dos aldeídos e cetonas; e da amostra de cachaça. (1) acetilacetona; (2) oncluíram ; (3) 2,3-butanodiona; (4) acetaldeído; (5) furfuraldeído; (6) acroleína; (7) acetona; (8) propionaldeído; (9) butiraldeído; (10) valeraldeído; (11) ciclopentanona; (12) heptanaldeído; (13) acetofenona; (14) nonaldeído; (15) decanaldeído.

27

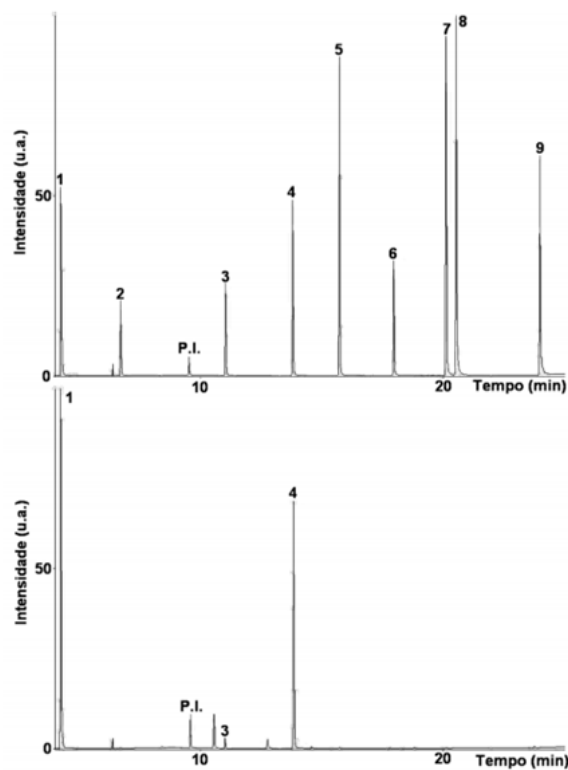


Figura 6. Cromatograma típico obtido por CG-EM dos padrões analíticos; e de uma amostra de cachaça; Picos: (1) acetato de etila (2) butanoato de etila; (3) hexanoato de etila; (4) lactato de etila; (5) octanoato de etila (6) nonanoato de etila; (7) decanoato de etila (8) octanoato de iso-amila; (9) dodecanoato de etila e (P.I.) 4-metil-2-pentanol.²⁸

sensibilidade do FID.²⁸ A Figura 6 ilustra uma separação típica de padrões analíticos detectados em cachaça, empregando as condições descritas.

Outra etapa considerada uma das mais importantes da produção de cachaça é o processo de destilação o qual, conforme já exposto, pode ser conduzido utilizando alambiques de cobre e colunas de aço inoxidável. A produção de cachaça em larga escala (cachaça ‘industrial’), caracteriza-se pelo processo de destilação realizado de modo contínuo em colunas de aço inox.¹⁷⁻²⁰

Na produção em pequena escala (cachaça ‘artesanal’), o processo de destilação é realizado em alambiques de cobre, onde ocorre a separação do destilado em três diferentes frações através do processo denominado ‘corte’. A primeira fração a ser recolhida nesse processo é chamada de ‘cabeça’ e seu teor alcoólico varia entre 55 e 65% v/v. Sua separação remove o excesso dos compostos mais voláteis e ou mais solúveis em etanol do que em água. A segunda fração é o ‘coração’ (parte nobre do destilado), que é utilizada para fins comerciais, e possui teor alcoólico entre 43 a 45% v/v, correspondendo a 75 a 80% do volume total do destilado. A última fração, a ‘cauda’, começa a ser coletada quando o teor alcoólico do destilado que flui na bica do alambique é da ordem de 38% v/v, estendendo-se até que o seu volume atinja cerca de 10% do destilado total produzido. Nesta fração, encontra-se excesso de compostos menos voláteis que o etanol e mais solúveis em água do que em etanol. As frações cabeça e cauda são, geralmente descartadas, sendo reutilizadas por alguns produtores em uma próxima destilação, através da adição a um novo vinho.¹⁷⁻²⁰

Assim, de acordo com o procedimento especificado acima, o processo de destilação certamente influenciará a composição química das frações volátil e não-volátil do destilado. Roni et. Al., utilizou uma comparação entre o perfil químico quantitativo da composição de amostras destiladas em colunas de aço inox com alambiques de cobre. As diferenças mais acentuadas foram observadas

para os teores de carbamato de etila, benzaldeído e ácido acético.²⁹

O perfil químico dos ácidos graxos e dos hidroxiácidos também tem sido utilizado para avaliar a diferença entre os destilados de coluna e de alambiques. O método utilizado para a análise dos ácidos baseia-se na pré-concentração através da secagem completa da amostra e posterior adição de 200 µL de solução derivatizante (2,2,2-trifluoro-N-methyl-N-trimethylsilyl-acetamide (MSTFA) a fim de viabilizar a esterificação dos ácidos. 1 µL desta solução é injetada em um cromatógrafo para fase gasosa equipado com detector de ionização por chama. Uma coluna capilar do tipo DB-5 (5%-Phenylmethylpolysiloxane) é utilizada como fase estacionária, sendo o gás hidrogênio empregado como fase móvel.³⁰ Neste estudo, observou-se que as amostras de alambique apresentaram maiores concentrações dos ácidos mirístico, glicólico, palmítico, citramálico, láctico e acético com relação àquelas provenientes de coluna. O contrário se observa com respeito aos ácidos succínico, cáprico e láurico. As concentrações de ácido acético e o ácido láctico representam mais de 95% da acidez da bebida.³⁰

Cardeal et.al., facilmente diferenciou as frações do destilado por meio de uma análise de ‘fingerprint’ (impressão digital) utilizando dados obtidos através de cromatografia gasosa bidimensional abrangente acoplada a um espectrômetro de massa por tempo de voo (GC × GC / TOFMS).³¹

Os resultados apresentados por esses trabalhos demonstraram que os dois métodos de se processar a destilação produzem destilados com perfis químicos diferentes.³¹ Devido ao fato de as amostras terem sido obtidas a partir da destilação de vinhos diferentes, a possibilidade de esta diferença ser oriunda do processo fermentativo passou a ser questionado. Serafim et. Al., utilizaram amostras de um mesmo vinho a fim de evitar a influência da etapa fermentativa nos resultados. Trinta compostos orgânicos confirmaram que as frações ‘cabeça’, ‘coração’ e ‘cauda’, oriundos

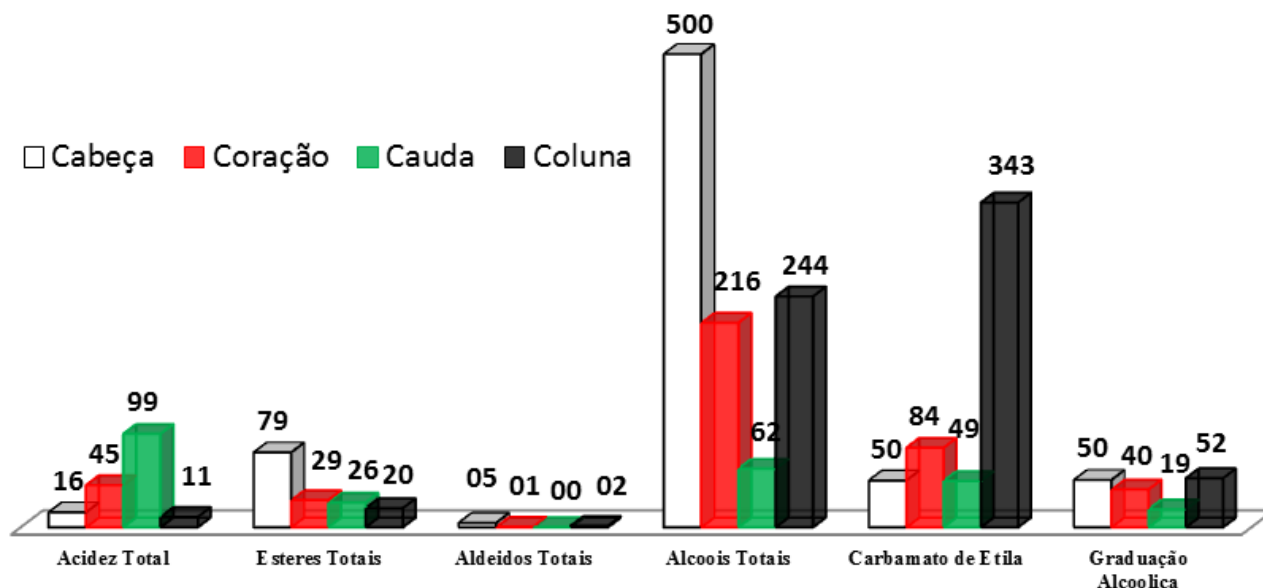


Figura 7. Perfil químico (mg.L^{-1}) dos destilados de Alambique e o de Coluna obtidos à partir de um mesmo vinho.³²

da destilação em alambiques e o destilado de colunas, são quimicamente distintos entre si. A Figura 7 sumariza a diferença no perfil químico das três frações oriundas da destilação em alambiques e o destilado de coluna.³²

Os dados permitiram uma discussão a respeito da rotulagem das cachaças de acordo com o processo pela qual esta foi destilada. Assim procedendo, os produtores entendem que poderão agregar valor ao destilado de acordo com o procedimento adotado na sua produção. Vale ressaltar que até o presente não há uma diferença formal entre estes destilados (o de alambique e o de coluna), perante a legislação.

O processo de envelhecimento da cachaça, embora opcional, é considerado como a “lapidação sensorial da bebida”. Geralmente, ele segue os princípios dos sistemas estrangeiros, principalmente o americano e o europeu, muito em função de suas produções de uísques utilizando barris de carvalho. Vale ressaltar que a madeira oriunda do carvalho (*Quercus*) não é uma espécie nativa, além do fato de que a exploração do carvalho no continente europeu mostra sinais de falência.

Neste sentido, e também com o intuito de introduzir ao destilado características genuinamente brasileiras, iniciam-se estudos voltados a estabelecer o perfil químico das madeiras nacionais, buscando alternativas ao carvalho, sem perder a qualidade da aguardente.

O emprego de madeiras típicas nacionais tem produzido destilado com aceitável apreciação sensorial. Entretanto, a sua produção sem nenhuma avaliação técnica pode trazer prejuízo à saúde do consumidor. Um exemplo é a utilização da madeira da canela sassafrás para a produção de tonéis e, consequentemente, serem utilizados no envelhecimento da bebida. Esta madeira promove a inserção do safrol (5-(2-propenil)-1,3-benzodioxol) no destilado, o qual foi banido pela agência federal americana responsável pela proteção e promoção da saúde pública (FDA – Food and Drugs Administration) por se tratar de um agente cancerígeno em ratos.^{33,34} Extratos de madeiras de jatobá e amendoim apresentaram concentrações elevadas de cumarina, cuja presença em bebidas alcoólicas deve ser monitorada; seu limite já é estabelecido em 10 mg/L .^{35,36}

Silva Dias, et al. 1998 (37) utilizando um cromatógrafo a líquido equipado com um detector de fluorescência (HPLC-DAD-fluorescência), operando em 280 nm (excitação) e em 313nm (emissão), com uma coluna C18 de fase reserva como fase estacionária, e uma mistura de solventes como fase móvel (A – água/ácido acético, 98:2 % v/v; B – metanol/água/ácido acético, 70:28:2% v/v) avaliaram a presença de compostos fenólicos em amostras de aguardentes envelhecidas.³⁷ Foi constatado que as amostras de carvalho apresentaram maiores concentrações de ácidos elágico e vanílico, enquanto que as amostras envelhecidas em amburana foram caracterizadas pela presença do ácido vanílico e do sinapaldeído. O balsamo, é caracterizado pelos teores de vanilina e ácido elágico; o jequitibá pelo ácido gálico; o jatobá pelo coniferaldeído; e o ipê pelos ácidos siríngeo e vanílico e coniferaldeído. Ou seja, as madeiras apresentaram potenciais marcadores químicos, os quais podem permitir a rastreabilidade do processo de envelhecimento.³⁷

Da Silva et. Al., (38) analisaram a presença de 14 compostos fenólicos e 2 cumarinas em extratos de cachaça envelhecidos em diferentes espécies de madeira utilizando método muito semelhante ao da Silvia Dias et al. 1998 (37). Entretanto, utilizou como detector tendo como analisador um aprisionador de íons (ion trap MS). O perfil cromatográfico obtido neste estudo pode ser observado na Figura 8. Neste trabalho os autores concluíram que os extratos de madeira brasileiros apresentaram maiores concentrações de cumarina e catequina, enquanto que nos extratos de carvalho as concentrações de seringaldeído e coniferaldeído foram superiores.³⁷

4. Conclusões

O que se pode observar neste contexto, é que a cromatografia diante de suas varias vertentes, tem auxiliado na caracterização do perfil químico qualitativo e quantitativo das amostras de cachaças. Tais resultados

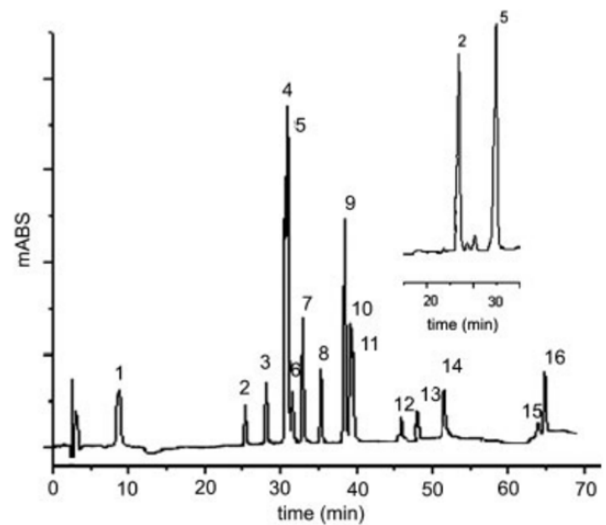


Figura 8. Perfil cromatográfico dos padrões analítico. (1) ácido gálico (2) catequina (3) ácido vanílico (4) vanilina (5) epicatequina (6) ácido seríngeo (7) seringaldeído (8) escopoletina (9) cumarina, (10) (11) sinapaldeído, (12) coniferaldeído (13) trans-resveratrol (14) ácido elágico (14) mirecetina (15) quercetina (16) eugenol.³⁷

permitem estabelecer parâmetros de qualidade e de conformidade, além de criar modelos de rastreabilidade química das etapas de produção das aguardentes, os quais podem garantir a segurança alimentar e a genuinidade da bebida para o consumidor.

Sabe-se que o perfil metabólico das *Saccharomyces cerevisiae*, principal levedura responsável pela conversão do açúcar em álcool durante o processo fermentativo, possui cerca 600 metabólitos identificados até o momento.³⁹ Ou seja, existem muitos compostos presentes nas aguardentes que ainda não foram identificados, mas que futuramente serão descobertos, muito provavelmente, utilizando-se da cromatografia. Esses resultados poderão auxiliar a cobrir algumas lacunas com relação ao processo de produção de aguardente como, por exemplo, a questão da origem regional do destilado, a correlação dos compostos responsáveis por atributos sensoriais específicos da bebida, dentre outros aspectos.

Referências

- [1] SKOOG, HOLLER, NIEMAN: Introdução às Separações Cromatográficas. SKOOG, D. A. (Ed), Princípios de Análise Instrumental, Bookman, (2002), 598-619.
- [2] SKOOG, WEST, HOLLER, CROUCH, Introdução às Separações Analíticas, THOMSON (Ed.), Fundamentos de Química Analítica, CENGAGE Learning (2006) 862-898.
- [3] COLLINS, C.H.; BRAGA, G.L., **Introdução aos Métodos Cromatográficos**, Campinas: UNICAMP, 1987.
- [4] LANÇAS, F. M. **Cromatografia em Fase Gasosa**, São Carlos: Acta, 1993.
- [5] LANÇAS, F. M. **Cromatografia líquida moderna: HPLC/CLAE**. Campinas: Átomo, 2016.
- [6] COLLINS, C. H. Michael Tswett e o “nascimento” da Cromatografia. **Scientia Chromatographica**, v.1, n.1, p.7-20, 2009.
- [7] MCNAIR HM.; Miller, J. M. **Basic gas chromatography**. Malden: Mass: Wiley-InterScience, 2009.
- [8] SNYDER, L. R.; Kirkland, J. J.; Dolan, J. W. **Introduction to modern liquid chromatography**. New York: Wiley; 2009.
- [9] HAGE, D. S. Chromatography. Principles and Applications of Clinical Mass Spectrometry p. 1-32. 2018 Editors Nader Rifai, Carl T. Wittwer, Andrea Rita Horvath. Elsevier Inc.
- [10] DA SILVA, J. M. **Cachaça - O mais brasileiro dos prazeres**, 2ª.; Anhembi-Morumbi: São Paulo, 2006.
- [11] SANTIAGO, R. C. M. **O Mito da Cachaça Havana - Anísio Santiago**, Cuatiara, 2007.
- [12] CÂMARA, M. **Cachaças - Bebendo e aprendendo - Guia prático de degustação**. Mauad, 2006.
- [13] VERARDO, E. **Cachaça – Um produto do agronegócio**. São Paulo: Ferrari e Artes Gráficas, 2006.
- [14] TRINDADE, A. G. **Cachaça - Um Amor Brasileiro**. Melhoramentos, 2006.
- [15] BRASIL. Instrução Normativa nº 13, de 29 de junho de 2005, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento; Diário Oficial da União, seção 1, p. 3-4, de 30/06/2005.; 2005; pp 3–4.
- [16] http://www.ibrac.net/index.php?option=com_content&view=article&id=46&Itemid=47. Acessado em 01 de novembro de 2019.
- [17] MUTTON, M. J. R.; MUTTON, M. A. Aguardente. VENTURINI, W. G. F. (Ed.). Tecnologia de bebidas, Edgard Blücher (2005), 485-524.
- [18] LIMA, U. A.; **Aguardente: fabricação em pequenas destilarias**. Piracicaba: FEALQ, 1999.
- [19] MAIA, A. B. R. A.; **Curso de Destilação da Cachaça**, Vassouras, 2000.
- [20] MUTTON, M. J. R.; MUTTON, M. A. Aguardente de cana. VENTURINI, F. W.G. (Ed.). Bebidas alcoólicas: ciência e tecnologia, Edgard Blucher (2010), 237-266.
- [21] GALINARO, C. A.; FRANCO, D. W. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em cachaça, rum, uísque e álcool combustível. **Química Nova**, v.32, n. 6, p. 1447-1451, 2009.
- [22] GALINARO, C. A.; CARDOSO, D. R.; FRANCO, D. W. Profiles of polycyclic aromatic hydrocarbons in brazilian sugar cane spirit: discrimination between cachaças produced from nonburned and burned sugar cane crops. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 3141-3147, 2007.
- [23] SERAFIM, F. A. T.; FRANCO, D. W.. Chemical traceability of industrial and natural yeasts used in the production of Brazilian sugarcane spirits. **Journal of Food Composition and Analysis**, 36, 98–105, 2015.
- [24] ALCARDE, A. R. et al. Composição química de aguardentes de cana-de-açúcar fermentadas por diferentes cepas de levedura *Saccharomyces cerevisiae*. **Química Nova**, v. 35, p. 1612-1618, 2012 .
- [25] SOARES, T.L. et al. Acompanhamento do processo de fermentação para produção de cachaça através de métodos microbiológicos e físico-químicos com diferentes isolados de *Saccharomyces cerevisiae*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, p. 184-187, 2011.
- [26] NASCIMENTO, R. F., et al. Influência do material do alambique na composição química das aguardentes de cana-de-açúcar. **Química Nova**, v. 21(6), p. 735-739, 1998.
- [27] CARDOSO, D. R.; et al. HPLC–DAD analysis of ketones as their 2,4-dinitrophenylhydrazones in Brazilian sugar-canespirits and rum. **Journal of Food Composition and Analysis**, v 16, p. 563-573, 2003.
- [28] NASCIMENTO, E. S. P.; Cardoso, D. R.; Franco, D. W. Comparação de técnicas de determinação de ésteres em cachaça. **Química Nova**, v. 32, n. 9,p. 2323-2327, 2009.

- [29] RECHE, R. V.; Franco, D. W. Distinção entre cachaças destiladas em alambiques e em colunas usando quimiometria. **Química Nova**, v. 32, n.2, p. 332-336, 2009.
- [30] SERAFIM, F. A. T. et al. Ácidos orgânicos em aguardentes produzidas em alambique e em coluna. **Química Nova**, v. 34, n. 1, p. 28-32, 2011.
- [31] CARDEAL, Z. L. et al. Comprehensive two-dimensional gas chromatography for fingerprint pattern. recognition in cachaça production. **Talanta**, v. 74, p. 793–799, 2008.
- [32] SERAFIM, F. A. T. et al. Comparação do perfil químico entre cachaças de um mesmo vinho destiladas em alambiques e em colunas. **Química Nova**, v. 35, p. 1412–1416, 2012.
- [33] HAGAN, E. C. et al. Toxic properties of compounds related to safrole. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 7, p. 18-24, 1965.
- [34] LOTLIKAR, P. D.; MICHAEL, B.; WASSERMAN, M. B. Effects of Safrole and Isosafrole Pretreatment on N- and Ring-Hydroxylation of 2-Acetamidofluorene by the Rat and Hamster. **Biochemical Journal**, v. 129, p. 937-943, 1972.
- [35] DA SILVA, A. A. et al. Coumarins and phenolic fingerprints of oak and Brazilian woods extracted by sugarcane spirit. **Journal of Separation Science**, v. 32, p. 3681-3691, 2009.
- [36] ZACARONI, L. M. et al. Determination of Phenolic Compounds and Coumarins in Sugar Cane Spirit Aged in Different Species of Wood, **Analytical Letters**, v. 44, n. 12, p. 2061-2073, 2011.
- [37] DIAS, S.; MAIA, A.; NELSON, D. Efeito de diferentes madeiras sobre a composição da aguardente de cana envelhecida. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, n. 3, p. 331-334, 1998.
- [38] DA SILVA, A. A. et al. Coumarins and phenolic fingerprints of oak and Brazilian woods extracted by sugarcane spirit. **Journal of Separation Science**, v. 32, p. 3681-3691, 2009.
- [39] DUNN, W. B.; ELLIS, D. I. Metabolomics: current analytical platforms and methodologies. **Trends in Analytical Chemistry, Amsterdam**, v. 24, p. 285-294, 2005.