

HETEROGENEIDADE DE ÁLCOOIS SECUNDÁRIOS EM AGUARDENTES BRASILEIRAS DE DIVERSAS ORIGENS E PROCESSOS DE FABRICAÇÃO

José Carlos Pires Pentead* e Jorge Cesar Masini

Instituto de Química, Universidade de São Paulo, Av. Prof. Lineu Prestes, 748, 05508-900 São Paulo - SP, Brasil

Recebido em 26/6/08; aceito em 11/12/08; publicado na web em 11/5/09

HETEROGENEITY OF SECONDARY ALCOHOLS IN BRAZILIAN SUGAR CANE SPIRITS FROM DIVERSE ORIGINS AND PROCESSES OF MANUFACTURE. Secondary alcohol concentrations in sugar cane spirits from different origins were determined by gas chromatography. A great variation in the concentration of the secondary alcohols was found in these spirits. Of the 33 brands analyzed, 8 of them were found to be out of conformity with the legislation. *Sec* butanol, for which the maximum allowed concentration level is 100 mg.L⁻¹ in absolute ethanol, was found within a concentration range between 5 mg.L⁻¹, the limit of quantitation (LQ) and 408 mg.L⁻¹ in absolute ethanol. Sugar cane samples from Salinas, MG, were the only ones that exhibited self similarity because of the low concentrations of *n*-butanol and *n*-amyl alcohol (< limit of detection LD).

Keywords: *sec* butanol; fermentation; sugar cane.

INTRODUÇÃO

A aguardente refere-se à bebida alcoólica obtida a partir da destilação do mosto fermentado da cana-de-açúcar, contendo 38 a 54% (v/v) de etanol a 20 °C e com características sensoriais peculiares. Sua produção está presente em todas as regiões do país, com cerca de 30 mil produtores e 5 mil marcas, produzindo um volume estimado de 1,3 bilhões de litros ao ano, sendo a terceira bebida destilada mais consumida no mundo e a principal bebida destilada consumida no Brasil.¹

Grande parte da produção não passa por um processo de padronização nas suas etapas de fermentação e destilação. A etapa de fermentação tem grande impacto na qualidade final do produto, sendo que o tipo de levedura, entre outras variáveis, influencia nos níveis dos contaminantes do produto final.^{2,3} Muitas das unidades produtoras são formadas por pequenos e micro empresários que não empregam um criterioso controle de processo, levando a produtos finais com características diferentes para cada lote.

Apesar de serem compostas predominantemente por água e etanol, as aguardentes apresentam também compostos minoritários, classificados como contaminantes e congêneres, os quais são formados durante os processos de fermentação e destilação, e que têm importante papel nas características organolépticas da bebida, ou seja, aroma, gosto e sabor. Entre os contaminantes, os álcoois com mais de dois átomos de carbono na cadeia principal são provenientes da oxidação dos aminoácidos durante o processo de fermentação. Esse processo de fermentação é delicado e influenciado por diferentes fatores como pH, concentração de nitrogênio no mosto, açúcar, dióxido de enxofre, conteúdo de álcool e temperatura.

A ausência de um controle rígido no processo de fermentação induz crescimento desordenado de microorganismos contaminantes, os quais causam significativa variabilidade dos caracteres da bebida. A falta de cuidados também na etapa de destilação influencia a qualidade da aguardente, resultando em bebidas que não atendem aos limites máximos de concentração de cobre estabelecidos pela legislação.^{4,5}

Neste trabalho, é apresentado um estudo do perfil dos níveis de concentração de álcoois minoritários das aguardentes disponíveis de diferentes origens no comércio, bem como uma classificação de amostras baseada em análise de componentes principais.

PARTE EXPERIMENTAL

Instrumentação e condição cromatográfica

A metodologia proposta para determinação dos álcoois secundários foi desenvolvida e aplicada utilizando um cromatógrafo a gás com detector de ionização em chama (GC/FID) Varian modelo GC-3800. A introdução das amostras foi realizada através do injetor automático Varian modelo 8200 empregando lavagem do sistema com metanol e posterior secagem com nitrogênio. O injetor automático possibilita diversas formas de injeção, as quais foram avaliadas para garantir a melhor reprodutibilidade de injeção. A aquisição dos dados foi feita através do software Star Advanced versão 4.52. No cromatógrafo empregou-se um injetor tipo divisor de amostra com insersor de diâmetro interno de 3,4 mm e uma coluna capilar de sílica fundida com fase estacionária quimicamente ligada de polietilenoglicol com 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro e 0,25 µm de espessura de filme (HP-Innowax J&W Scientific).

Parâmetros utilizados no cromatógrafo: gás de arraste nitrogênio ultra puro (pureza 99,999%); fluxo constante na coluna de 1 mL min⁻¹; temperatura do detector 250 °C; temperatura do injetor 220 °C; Injeção no modo divisor de amostra na razão 1:20 com duração de 2 min.

O programa de temperatura para aquecimento do forno do cromatógrafo foi de 35 a 150 °C com taxa de aquecimento de 5 °C min⁻¹, permanecendo a 150 °C por 5 min, seguindo-se aquecimento até 200 °C com taxa de aquecimento de 10 °C min⁻¹, totalizando uma corrida cromatográfica de 33 min.

Reagentes e soluções

Os padrões de álcoois secundários foram *n*-propanol 99,5% (Merck); isopropanol 99,7% (Merck); *n*-butanol 99,5% (Merck); isobutanol 98,5% (Fisher); *sec*-butanol 99,5% (Merck); *n*-amílico 99% (Riedel); isoamílico 99% (Merck); *terc*-amílico 99% (Carlo Erba); hexanol 98% (Fisher); heptanol 98% (Fisher); metanol 99,8% (Merck); etanol 99,5% (Merck); padrão interno 3-pentanol 98% (Aldrich).

Dentre as amostras selecionadas estão inclusas marcas com e sem o registro nos órgãos oficiais de controle, mas que podem ser encontradas no comércio local das cidades da Região Metropolitana

*e-mail: jocapen@iq.usp.br

de São Paulo, bem como em cidades do interior do estado, totalizando 33 amostras de aguardente produzidas principalmente no interior dos estados de São Paulo e Minas Gerais.

Procedimentos

A curva analítica foi obtida por injeção em triplicata de soluções de referência de álcoois secundários nas concentrações de 8, 40, 80, 190, 400 e 610 ppm (m/v), juntamente com o padrão interno 3-pentanol na concentração constante de 399 ppm (m/v). As amostras de aguardente foram analisadas seguindo o mesmo procedimento das soluções de referência empregando o padrão interno 3-pentanol,⁶ sem qualquer tratamento prévio.

O teor de etanol foi obtido através de sua respectiva densidade com o auxílio do densímetro digital Mettler modelo DE-45 com controle de temperatura e precisão de 0,0001 g mL⁻¹. As amostras de aguardentes foram injetadas em triplicata diretamente no densímetro. Os resultados foram convertidos automaticamente de densidade para teor de etanol (%v/v) a 20 °C. Para verificação do equipamento foram preparadas duas soluções etanólicas em meio aquoso nas concentrações de 30 e 50% (v/v).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 mostra um cromatograma típico de uma amostra de aguardente, evidenciando a presença de álcoois com 3 a 5 átomos de carbono, independentemente de serem isômeros ou não, como no caso dos álcoois sec (Rt = 8,77 min), iso (Rt = 11,20 min) e *n*-butanol (Rt = 12,77 min) para o tempo de corrida cromatográfica de 22 min (Figura 1).

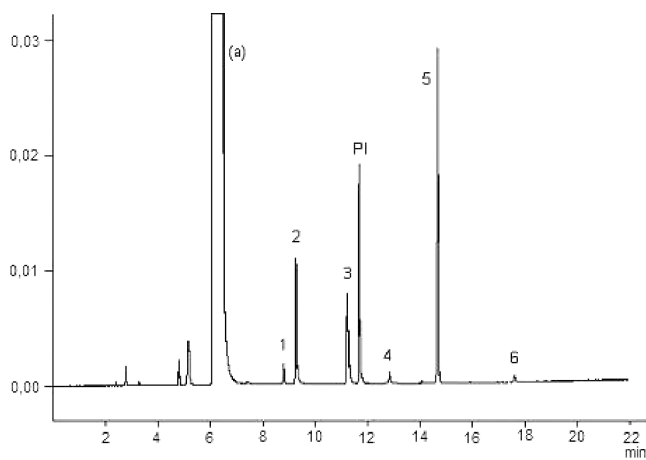


Figura 1. Cromatograma obtido por GC/FID correspondente à amostra de aguardente submetida ao método analítico proposto. Os picos cromatográficos são (a) metanol/etanol e acetato de etila, (1) *sec* butanol, (2) *n*-propanol, (3) isobutanol, (PI) 3-pentanol, (4) *n*-butanol, (5) isoamílico, (6) *n*-amílico

De acordo com o cromatograma mostrado na Figura 1, dentre os álcoois secundários, os picos que apresentam maior intensidade nas amostras estudadas são os do álcool isoamílico, seguido por *n*-propanol e isobutanol. Esse perfil cromatográfico também vem a ser seguido por grande parte das outras amostras de aguardente. A coluna cromatográfica empregada apresenta baixo poder de separação com respeito aos compostos metanol e acetato de etila (pico a, Figura 1). A eficiência de separação depende da quantidade de sorvente, de modo que a separação destes compostos poderia ser obtida caso fosse adotada uma coluna cromatográfica de maior extensão e/ou maior espessura de fase.⁷ Para um estudo investigativo ainda mais abrangente de componentes com características polares e apolares,

uma alternativa seria a técnica cromatográfica bidimensional (GC x GC), a qual utiliza duas colunas no processo de separação dos componentes.⁸

Os limites de detecção (LD) e os limites de quantificação (LQ) do método proposto foram obtidos a partir dos parâmetros estatísticos das curvas analíticas de calibração, sendo $LD = 3s_{y/x}/m$ e $LQ = 10s_{y/x}/m$, onde $s_{y/x}$ é o desvio padrão da regressão linear e m o coeficiente angular da reta.⁹ As soluções de referência foram preparadas em meio contendo etanol 50% (v/v) visando obter similaridade de matriz com as amostras de aguardente. Os valores de LD e LQ obtidos para os álcoois secundários estudados são reportados na Tabela 1. Verifica-se na Tabela 1 que a resposta do detector foi linear para todos os álcoois ($r = 0,9498$ a $0,9999$), com valores de LD entre 1 e 2 mg L⁻¹ e de LQ entre 4 e 6 mg L⁻¹, obtidos a partir de injeções feitas em triplicata.

Tabela 1. Coeficientes de correlação das curvas analíticas obtidas para os álcoois secundários, acompanhados dos limites de detecção e quantificação

analito	r ²	LD*	LQ
isopropanol	0,9498	1	4
<i>terc</i> -amílico	0,9995	2	6
<i>sec</i> -butanol	0,9996	2	5
<i>n</i> -propanol	0,9999	1	4
isobutanol	0,9999	2	5
<i>n</i> -butanol	0,9999	2	6
isoamílico	0,9999	2	5

mg L⁻¹ em etanol 50% (v/v)

As concentrações de etanol e dos álcoois secundários são mostradas na Tabela 2. Através dos resultados pode-se verificar que as concentrações de etanol presentes nas amostras estão dentro dos níveis permitidos pela legislação^{10,11} para aguardente (38 a 54% v/v a 20 °C), exceto as amostras n° 19 (37%) e 26 (56%). Um outro estudo descrito na literatura apresentou valor mínimo inferior (34,24% v/v a 20 °C), com valor médio de 40,23% v/v a 20 °C. O teor alcoólico médio encontrado de 44% de etanol é similar a outro estudo apresentado na literatura, realizado com 71 amostras de aguardente coletadas no mercado de Belo Horizonte (45,6% v/v).¹²

Os álcoois secundários maiores, tais como *terc* amílico e hexanol, não foram encontrados dentro do intervalo de quantificação para as amostras estudadas. Os três álcoois *n*-propanol, isobutanol e isoamílico são os predominantes entre as aguardentes estudadas, embora a regulamentação faça referências aos álcoois metanol, *sec*-butanol, *n*-butanol. O álcool isoamílico apresentou os níveis de concentração mais elevados (355 a 2022 mg L⁻¹ em etanol anidro) com média de 1124 mg L⁻¹, valor próximo àqueles descritos na literatura⁷ em amostras de aguardentes, para os quais a concentração média foi de 1380 mg L⁻¹. A presença do álcool isoamílico como predominante entre os álcoois secundários também tem sido evidenciada em aguardentes de cana-de-açúcar independente dos constituintes do destilador, tais como cobre, aço inox, alumínio ou porcelana.¹³ O álcool isobutanol apresentou níveis de concentração entre 125 e 688 mg L⁻¹. As aguardentes que pertencem ao grupo do estado de São Paulo produzidas de forma artesanal (12 a 15 e 17 a 21) apresentaram as menores concentrações de isobutanol, com destaque das amostras 20 (125 mg L⁻¹), 19 (151 mg L⁻¹) e 21 (189 mg L⁻¹). Por outro lado, as aguardentes produzidas no Paraná e São Paulo de forma industrial apresentaram os níveis mais elevados de isobutanol, tais como as amostras 16 (668 mg L⁻¹), 9 (616 mg L⁻¹) e 7 (605 mg L⁻¹).

Tabela 2. Concentração de álcoois encontrados em amostras de aguardente

álcoois											
n ^o	origem	et*	<i>n</i> -prop**	<i>n</i> -but	<i>sec</i> -but	isobut	<i>n</i> -amil	isoamil	<i>terc</i> -amil	hex	soma
1	PE	39	425	8	<LD	566	2	1549	<LD	<LD	2539
2	SP	39	541	7	110	485	2	1498	<LD	<LD	2523
3	SP	39	618	8	92	520	3	1332	<LD	<LD	2469
4	SP	39	386	8	115	324	<LD	1052	<LD	<LD	1762
5	SP	38	488	7	31	459	3	1633	<LD	<LD	2580
6	SP	38	562	10	111	503	4	1749	<LD	<LD	2814
7	SP	38	589	11	74	605	4	2022	<LD	<LD	3217
8	MG ^a	42	517	9	13	293	<LD	1074	<LD	<LD	1883
9	SP	40	721	<LD	30	616	4	1732	<LD	<LD	3070
10	RJ	43	323	<LD	<LD	430	3	1605	<LD	<LD	2358
11	MG ^a	41	3122	6	408	310	<LD	841	<LD	<LD	4273
12	SP	43	170	4	0	333	<LD	1047	<LD	<LD	1550
13	SP	47	400	3	6	314	<LD	936	<LD	<LD	1650
14	SP	44	564	5	5	255	<LD	1042	<LD	<LD	1861
15	SP	40	497	18	0	223	<LD	1065	<LD	<LD	1785
16	PR	39	0	10	142	668	3	2008	<LD	<LD	2676
17	SP	38	330	<LD	<LD	475	<LD	1603	<LD	<LD	2407
18	SP	41	336	3	36	420	<LD	1331	<LD	<LD	2087
19	SP	37	3197	4	80	151	<LD	355	<LD	<LD	3704
20	SP	44	99	19	0	125	<LD	652	<LD	<LD	877
21	SP	44	1561	5	92	189	<LD	518	<LD	<LD	2268
22	MG ^b	49	475	<LD	<LD	298	<LD	677	<LD	<LD	1451
23	MG	51	463	<LD	<LD	341	<LD	770	<LD	<LD	1574
24	MG	53	1224	<LD	262	382	<LD	803	<LD	<LD	2409
25	MG	45	545	<LD	41	354	<LD	1134	<LD	<LD	2033
26	MG	56	396	<LD	<LD	406	<LD	1072	<LD	<LD	1874
27	MG	43	345	<LD	<LD	454	<LD	1221	<LD	<LD	2020
28	MG	50	1369	<LD	35	134	<LD	378	<LD	<LD	1880
29	MG	50	874	<LD	<LD	357	<LD	927	<LD	<LD	2158
30	MG	53	535	<LD	35	425	<LD	1072	<LD	<LD	2033
31	MG	40	586	<LD	<LD	345	<LD	1044	<LD	<LD	1975
32	MG	49	758	<LD	48	255	<LD	880	<LD	<LD	1893
33	MG	53	994	<LD	<LD	171	<LD	470	<LD	<LD	1635
	min	37	0	3	0	125	2	355			877
	max	56	3197	19	408	668	4	2022			4273
	média	44	728	8	77	369	3	1124			2221
	norma	38 a 54		30	100						3600

et – etanol; *n*-but – *n*-butanol; *sec*-but – *sec*-butanol; isobut – isobutanol; *n*-amil – álcool *n*-amílico; *terc*-amil – álcool *terc*-amílico; hex – hexanol; soma = isoamil + isobut + *n*-prop; * %; ** mg.L⁻¹ em relação etanol anidro; norma – Instrução normativa nº13. a- Belo Horizonte, MG; b- Salinas, MG

As aguardentes produzidas nas cidades de Belo Horizonte ou Salinas no estado de Minas Gerais (8, 11, 22 a 33) apresentaram valores intermediários de concentração de isobutanol, com valores médios de 323 mg L⁻¹. Os níveis de concentração de *n*-propanol foram bastante irregulares nas amostras estudadas, com a amostra 16 apresentando valores <LQ, enquanto a amostra 19 apresentou uma concentração de 3197 mg L⁻¹. As amostras de aguardentes do estado de São Paulo, tais como 19 (3197 mg L⁻¹) e 21 (1561 mg L⁻¹), e as de Minas Gerais, 11 (3122 mg L⁻¹), 28 (1369 mg L⁻¹) e 24 (1224 mg L⁻¹) apresentaram concentrações de *n*-propanol superiores a 1000 mg L⁻¹, enquanto a média das amostras foi de aproximadamente 730

mg L⁻¹. Segundo a regulamentação vigente, a concentração de *sec* butanol não deve exceder 100 mg L⁻¹ em etanol anidro, sendo que a amostra da cidade de Belo Horizonte (11) apresentou concentração elevada de 408 mg L⁻¹. Entre as amostras pertencentes ao grupo de aguardentes industriais (1 a 7 e 9) também se determinaram concentrações de *sec*-butanol acima da legislação nas amostras 2 (110 mg L⁻¹), 4 (115 mg L⁻¹) e 6 (111 mg L⁻¹). No grupo de amostras artesanais (12 a 21), bem como nas aguardentes de Salinas, MG (23 a 33), as concentrações de *sec*-butanol estiveram dentro da faixa de valores permitidos pela legislação. O álcool *n*-amílico foi encontrado dentro dos limites de quantificação em praticamente todas as amostras do

grupo de aguardentes produzidas de forma artesanal (1 a 7 e 9), com exceção para a amostra 4 (<LQ). Uma alternativa para as aguardentes que apresentam altas concentrações de contaminantes que estão fora dos padrões da legislação vem a ser a mistura com outros lotes que apresentam níveis mais baixos desses contaminantes.¹⁴

As amostras do estado de Minas Gerais (Belo Horizonte e Salinas) e as aguardentes artesanais do estado de São Paulo apresentaram valores abaixo do limite de quantificação para o álcool *n*-amílico. Os níveis de concentração do *n*-butanol encontrados nas amostras variaram entre <LD e 19 mg L⁻¹ em etanol anidro. Estes níveis encontrados estão dentro dos valores preconizados na legislação para *n*-butanol, cuja concentração máxima permitida é de 30 mg L⁻¹ em etanol anidro. As amostras de aguardente procedentes de Salinas, MG (23 a 33) apresentaram valores, predominantemente, abaixo do limite de quantificação, enquanto na maior parte das demais amostras foram encontradas concentrações facilmente quantificáveis de *n*-butanol (1 a 7, 9, 10, 13 a 21). Essa grande oscilação dos níveis de concentração de contaminantes e congêneres também foi descrita na literatura com várias amostras de aguardente.¹⁵

Para termos uma avaliação mais abrangente dos resultados dos álcoois obtidos, tais como influência ou interação, foi empregada a análise de componentes principais (PCA). Para esta análise bidimensional, o conjunto de dados foi organizado em uma matriz de 5 colunas (concentração de álcoois propanol, *n*-butanol, isobutanol, *n*-amílico e isoamílico) e 24 linhas (amostras 1 a 11 e 22 a 33). Os dados obtidos da PCA geram os denominados componentes principais (PC's) no total de quatro. Verifica-se que o PC's 1 explica, ou contém, cerca de 52% da variância dos dados originais, com destaque para o efeito significativo para os álcoois isobutanol (-0,825787), *n*-amílico (-0,847557) e isoamílico (-0,956610). O PC's 2 apresentou cerca de 26% da variância, mas neste caso o efeito significativo observado foi para o álcool *sec*-butanol (-0,924458). Os PC's 1, 2, 3 e 4 juntos correspondem a cerca de aproximadamente 97% da variância acumulada, respectivamente. Esta distinção entre as amostras de aguardentes de diferentes procedências pode ser mais bem visualizada na projeção gráfica entre os PC1 e PC2. Nessa projeção bidimensional (Figura 2) pode-se verificar a presença de três conjuntos distintos - A, B e C. No conjunto A, com valores negativos de PC's 1, estão contidas as

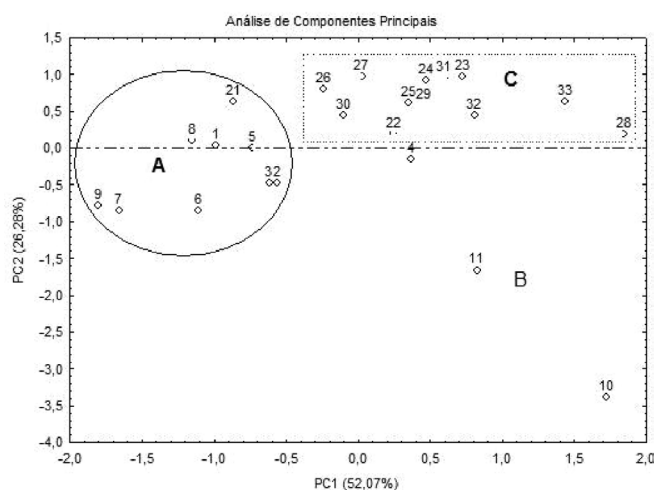


Figura 2. Projeção dos escores para a análise de álcoois secundários propanol, *n*-butanol, isobutanol, *n*-amílico e isoamílico para as diferentes amostras de aguardentes. C – compreende as amostras procedentes de Salinas, MG; B – compreende as amostras procedentes de Belo Horizonte, MG

amostras industriais do estado de São Paulo (2 a 7 e 9) e Pernambuco (1); no conjunto B, com valores positivos de PC's 1, e negativos de PC's 2, estão contidas as amostras dos estados de São Paulo (4), Rio de Janeiro (10) e da cidade de Belo Horizonte (11), enquanto o conjunto C, o qual tem valores positivos de PC's 2 e PC's 1, contém as amostras oriundas da cidade de Salinas, MG, que apresentaram principalmente baixas concentrações de álcoois *n*-butanol e *n*-amílico.

CONCLUSÕES

As aguardentes de diversas origens continuam a manter uma grande heterogeneidade com relação às concentrações de álcoois secundários, com conseqüente heterogeneidade das características organolépticas. Algumas amostras têm ainda outros agravantes, por apresentarem concentrações excessivas de alguns dos álcoois secundários, acima dos valores especificados pela legislação vigente para bebidas alcoólicas. Esses indicativos tornam ainda mais evidente que mais esforços serão necessários para tornar a aguardente um produto padronizado competitivo no comércio internacional. A ferramenta quimiométrica proporcionou uma visão mais abrangente nas diferentes procedências de aguardente.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPESP pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

1. Associação Brasileira de Bebidas-ABRABE-, Mercado, <http://www.abrabe.org.br>, acessada em Maio 2008.
2. Dato, M. C. F.; Júnior, J. M. P.; Mutton, M. J. R.; *J. Braz. Microbiol.* **2005**, *36*, 70.
3. Mamede, M. E. O.; Pastore, G. M.; *Cien. Tecnol. Aliment.* **2004**, *24*, 453.
4. Nascimento, R. F.; Bezerra, C. W. B.; Furuya, S. M. B.; Schultz, M. S.; Polastro, L. R.; Neto, B. S. L.; Franco, D. W.; *J. Food Comp. Anal.* **1999**, *12*, 17.
5. Garbin, R.; Junior, S. B.; Montano, M. A.; *Cienc. Rural*, **2005**, *35*, 1436.
6. Fitzgerald, G.; James, K. J.; Macnamara, K.; Stack, M. A.; *J. Chromatogr. A* **2000**, *896*, 351.
7. Boscolo, M.; Bezerra, C. W. B.; Cardoso, D. R.; Lima Neto, B. S.; Franco, D. W.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2000**, *11*, 86.
8. Cardeal, D. L.; de Souza, P.Q.; Gomes da Silva, M. D. R.; Marriott, P. J.; *Talanta* **2008**, *74*, 793.
9. Miller, J. N.; Miller, J. C.; *Estatística e Quimiometria para Química Analítica*, Prentice Hall: Nova Iorque, 2002.
10. Ministério da Agricultura e do Abastecimento; Decreto nº 4072, de 3 de janeiro de 2002.
11. Ministério da Agricultura e Pecuária e Abastecimento; *Instrução Normativa nº13*, de 29 de junho de 2005.
12. Labanca, R. A.; Glória, M. B. A.; Gouveia, V. J. P.; Afonso, R. J. C. F.; *Quim. Nova* **2006**, *29*, 1110.
13. Cardoso, D. R.; Lima Neto, B.; Franco, D. W.; Nascimento, R. F.; *Quim. Nova* **2003**, *26*, 165.
14. Vilela, F. J.; Cardoso, M. G.; Masson, J.; Anjos, J. P.; *Ciênc. Agrotec.* **2007**, *31*, 1089.
15. Miranda, M. B.; Martins, N. G. S.; Belluco, A. E. S.; Hori, J.; Alcarde A. R.; *Ciênc. Tecnol. Aliment.* **2007**, *27*, 897.