



ISSN: 1984-3151

AVALIAÇÃO DOS PADRÕES DE IDENTIDADE E DE QUALIDADE DE AGUARDENTES DE FRUTAS

EVALUATION OF STANDARDS IDENTITY AND QUALITY FRUIT OF SPIRITS

**João Guilherme Pereira Mendonça¹; Maria das Graças Cardoso²; Wilder Douglas
Santiago³; Leonardo Milani Avelar Rodrigues⁴; Rodolfo Romaniello Cardoso⁵; Rafaela
Magalhães Brandão⁶**

- 1 Doutorando em Agroquímica. DQI/UFLA, 2014. Universidade Federal de Lavras - UFLA. Lavras, MG. joaoquimica@live.com
- 2 Doutora em Química. DQI/UFMG. Professora Associada do Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras - UFLA. Lavras, MG. mcardoso@dqi.ufla.br
- 3 Doutorando em Agroquímica. DQI/UFLA, 2014. Universidade Federal de Lavras - UFLA. Lavras, MG. wildaoquimica@msn.com
- 4 Doutorando em Ciências dos Alimentos. DCA/UFLA, 2014. Universidade Federal de Lavras - UFLA. Lavras, MG. leonardomilani19@yahoo.com.br
- 5 Graduando em Química. DQI/UFLA, 2014. Universidade Federal de Lavras - UFLA. Lavras, MG. rodolforomaniello@gmail.com
- 6 Graduanda em Química. DQI/UFLA, 2014. Universidade Federal de Lavras - UFLA. Lavras, MG. rbrandao@quimica.ufla.br

Recebido em: 06/06/2014 - Aprovado em: 20/11/2014 - Disponibilizado em: 30/11/2014

RESUMO: A produção de aguardentes de frutas pode ser dividida em diferentes etapas, similares à produção da cachaça. As características marcantes nestas aguardentes são o sabor e o aroma típicos de cada fruta. Durante o processo de fabricação destas bebidas, ocorrem diversas reações químicas que proporcionam a incorporação de grande variedade de compostos a essa, sendo responsáveis junto a todo o processo pela qualidade da bebida. Dentre estes compostos, citam-se os fenólicos, que atuam como antioxidantes, combatendo os radicais livres, evitando diferentes doenças, sendo benéficos para saúde. Na produção de aguardente, alguns contaminantes podem ser formados. Entre estes se cita o carbamato de etila (CE), que vem sendo amplamente estudado devido aos seus efeitos tóxicos e carcinogênico. Este trabalho teve como objetivos avaliar a qualidade físico-química e determinar a composição fenólica total, a atividade antioxidante e a concentração de CE de três aguardentes de frutas. Constatou-se que os parâmetros físico-químicos analisados e o CE estavam dentro dos limites estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), e que cada bebida analisada apresentava teores de compostos fenólicos baixos em relação aos teores encontrados para as frutas quando comparados com dados da literatura.

PALAVRAS-CHAVE: Aguardente de frutas. Compostos fenólicos. Atividade antioxidante.

ABSTRACT: The production of fruit spirits can be divided into different stages, similar to that of the production of cachaça. The striking features of these spirits is the taste and the aroma typical of each fruit. Various chemical

reactions occur during the process of manufacture of beverages that provide for the incorporation of a wide variety of compounds. These compounds are responsible for the quality of the beverage, together with the production process. These compounds include the phenolic substances, which act as antioxidants by eliminating free radicals, prevent different diseases, and are beneficial to health. Some contaminants can be formed in the production of spirits, including ethyl carbamate (CE), which has been widely studied for its toxic and carcinogenic effects. This study aimed to evaluate the physical-chemical quality and determine the total phenol content, the antioxidant activity and the concentration of CE in three fruit spirits. The physical-chemical parameters and the EC concentrations were within the limits established by the Ministry of Agriculture, Livestock and Supply (MAPA). Each drink analyzed contained low levels of phenolic compounds in relation to the levels found in the fruits when compared with literature data.

KEYWORDS: Fruit spirits. Phenolic compounds. Antioxidant activity.

1 INTRODUÇÃO

A produção de bebidas alcoólicas baseia-se na transformação dos açúcares presentes na cana-de-açúcar, frutas e cereais, em álcool etílico e dióxido de carbono, devido à ação de determinadas leveduras que catalisam o processo. O produto final pode ser consumido após tratamento mais simplificado de separação, como vinho, cervejas, cidras e outros, ou por processos de destilação onde são obtidos, por exemplo, a aguardente, uísque, vodca e outras bebidas fermento-destiladas. A aguardente de cana é uma bebida fermento-destilada, cuja origem vem desde o período colonial. A bebida, que era consumida inicialmente pelos escravos, ganhou as mesas dos senhores de engenho e atualmente atinge o mercado nacional e internacional recebendo o nome de “Cachaça do Brasil”. A ela são voltados vários planos e projetos do governo, contribuindo assim com a economia do país (CARDOSO, 2013).

De acordo com a Instrução Normativa nº 13, de 30 de junho de 2005, a cachaça é definida como sendo toda aguardente de cana-de-açúcar, que apresenta graduação alcoólica entre 38 e 48% em v/v, a 20 °C, e aguardente é a bebida com graduação alcoólica de 38 a 54% v/v a 20 °C, quando obtida do destilado alcoólico simples de cana-de-açúcar ou pela destilação do mosto fermentado do caldo de cana-de-açúcar, podendo ser adicionada de açúcares até 6 g L⁻¹, expressas em sacarose (BRASIL, 2005a). As

aguardentes de frutas são aquelas obtidas do destilado alcoólico simples a partir do suco integral, do suco concentrado ou da polpa, todos da mesma fruta, não podendo ser envelhecidas em tonéis de madeira com graduação alcoólica de 36 a 54% v/v a 20°C (BRASIL, 2011).

Com o aumento do consumo de aguardente de qualidade, a crescente importância e participação na economia do país, tanto no mercado interno quanto no externo, cada vez mais vem se exigindo que o processo de fabricação de aguardente seja baseado em práticas criteriosamente determinadas para obtenção de um produto padronizado e com qualidade comprovada nos aspectos físico-químicos e sensoriais (CARDOSO, 2013).

Compostos antioxidantes são encontrados naturalmente em frutas, sendo que algumas apresentam altas concentrações de determinados grupos (DUARTE-ALMEIDA *et al.*, 2006). Estudos realizados vêm mostrando a ação dos radicais livres e outros oxidantes como grandes responsáveis pelo envelhecimento e pelas doenças degenerativas associadas ao envelhecimento, como câncer, doenças cardiovasculares, catarata, declínio do sistema imune e disfunções cerebrais (SOUSA *et al.*, 2007).

Os compostos fenólicos são potentes antioxidantes e se encontram distribuídos no reino vegetal, especialmente nas frutas, verduras e bebidas como chá, café, cacau, cerveja, vinho e sucos (TEÓFILO *et*

al., 2011). Entre as frutas ricas em compostos fenólicos, citam-se limão, laranja, tangerina, cereja, uva, pera, maçã, mamão e ameixa.

Segundo Anjos *et al.* (2011a), na produção de cachaça, uma das etapas que não é obrigatória, mas que possibilita agregar valor à bebida, é o envelhecimento. Diversas reações ocorrem nesta etapa, além da incorporação de compostos oriundos da madeira, que influenciam significativamente as propriedades químicas e organolépticas da cachaça. Entre os compostos extraídos da madeira e incorporados à bebida, destacam-se os compostos fenólicos, que têm sido largamente estudados pelo fato de serem específicos para cada espécie de madeira utilizada para o armazenamento da bebida, bem como por apresentarem conhecidas propriedades antioxidantes.

A bebida produzida a partir da cana-de-açúcar, assim como as demais bebidas fermento-destiladas, apresenta em sua composição alguns contaminantes. Entre estes, destaca-se o carbamato de etila (CE), um contaminante orgânico altamente carcinogênico, por isso se torna alvo de inúmeras pesquisas, visando estas atenderem os padrões de identidade e à qualidade da bebida (CARDOSO, 2013; LABANCA; GLORIA, 2008a; ANJOS *et al.*, 2011b,).

O CE ($C_2H_5OCONH_2$) pode ser encontrado naturalmente em alimentos e bebidas. A preocupação relacionada à ocorrência deste contaminante em bebidas alcoólicas surgiu no início de 1985, quando no Canadá detectaram níveis relativamente altos de carbamato em aguardentes e outras bebidas, (LACHENMEIER; NERLICH; KUBALLA, 2006; UTHURRY *et al.*, 2004). No Brasil, a sua quantificação e determinação em aguardente de cana passaram a ser exigidas no ano de 2010, devido ao seu alto teor de toxicidade e carcinogênico (ZACARONI *et al.*, 2011).

O presente trabalho teve como objetivos avaliar o perfil físico-químico, o teor da composição fenólica total, a atividade antioxidante e determinar CE em três tipos aguardentes de frutas (ameixa, banana e tangerina).

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 MATERIAL E MÉTODOS

2.1.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

As três aguardentes de frutas (ameixa, banana e tangerina) utilizadas foram adquiridas nos mercados da cidade de Itajubá, sul de Minas Gerais.

2.1.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

As análises foram realizadas no Laboratório de Análises de Qualidade de Aguardentes do Departamento de Química (DQI) da Universidade Federal de Lavras (UFLA). As análises foram realizadas de acordo com as metodologias propostas pelo MAPA (BRASIL, 2005b). Todas as análises foram feitas em triplicata. Os parâmetros analisados foram: grau alcoólico (GA), acidez volátil (AV), ésteres (Es), aldeídos (Al), álcoois superiores (AS), cobre (Co), metanol (Me), furfural (Fu) e extrato seco (ES).

2.1.2.1 COMPOSIÇÃO FENÓLICA TOTAL

Os compostos fenólicos totais presentes nas amostras de cachaça foram determinados utilizando-se o método de Folin-Ciocalteu com modificações (ANJOS *et al.*, 2011a). Em 1 mL da amostra, foram adicionados 1 mL de etanol 40% e 5 mL de água destilada. Agitou-se, adicionou-se 0,5 mL da solução de Folin-Ciocalteu 50% e, após 5 minutos, 1 mL de solução de carbonato de sódio (Na_2CO_3) 5% foi adicionado à mistura reacional. Após agitação, os

tubos foram deixados em repouso por 60 minutos. Decorrido esse tempo, realizaram-se leituras espectrofotométricas a 725 nm (Shimadzu UV-1601 PC). As concentrações foram determinadas por meio da construção de uma curva analítica utilizando-se diferentes concentrações de ácido gálico em etanol 40% (10-100 mg L⁻¹). A concentração de polifenóis totais foi expressa em mg equivalente de ácido gálico por litro.

2.1.2.2 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A atividade antioxidante foi determinada de acordo com a metodologia proposta por Lin *et al.* (2005). Adicionaram-se 3,12 mL da solução de DPPH (2,2-difenil-picril-hidrazila) 0,004% (0,004g de DPPH para 100mL em álcool 95%), com 0,3mL amostra. Paralelamente preparou-se o controle com 0,3mL de etanol 95%. Incubou-se por 10 min no escuro a 30°C, e a absorbância foi medida após uma hora a 515nm. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

A inibição% foi calculada pela seguinte expressão:

$$\% \text{ de inibição} = \frac{[(\text{Abs. Controle} - \text{Abs. Amostra}) \times 100]}{\text{Abs. Controle}}$$

2.1.2.3 CARBAMATO DE ETILA

A determinação do carbamato de etila foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Anjos *et al.* (2011b). Utilizou-se um cromatógrafo líquido de alta eficiência HPLC Shimadzu, com duas bombas de alta pressão modelo LC-6AD, um detector de fluorescência (FLD) modelo RF- 10AXL, degaseificador modelo DGU-20A3, interface modelo CBM-20A e injetor automático com autoamostrador modelo SIL-10AF. As separações foram realizadas empregando-se uma coluna Agilent - Zorbax Eclipse AAA (4,6 x 150 mm, 5µm) conectada a uma pré-coluna Agilent - Zorbax

Eclipse AAA 4-Pack (4,6 x 12,5 mm, 5µm). A quantificação do carbamato de etila foi realizada utilizando-se o método de padronização externa. Os comprimentos de onda de excitação e emissão empregados foram 233 nm e 600 nm, respectivamente. O fluxo da fase móvel, composta por solução de acetato de sódio 20 mM (solvente A) e acetonitrila (solvente B), utilizado em toda a análise, foi de 0,75 mL min⁻¹, e o volume injetado das amostras e do padrão foi de 20 µL. A eluição foi realizada em sistema do tipo gradiente: 0 a 5 min (40-60% B); 5 a 10 min (60-70% B); 10 a 18 min (70-80% B); 18 a 19,5 min (80-90% B); 19,5 a 25 min (90-40% B); e 25 a 30 min (40% B).

2.1.3 DELINEAMENTO ESTATÍSTICO

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema de parcelas subdivididas no espaço. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Schott Knott ao nível de 95% de confiança, usando-se o programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2011). Foi aplicada também a análise das componentes principais (ACP) para averiguar e compreender uma possível similaridade entre as amostras quanto aos parâmetros grau alcoólico (GA), acidez volátil (AV), ésteres (Es), aldeídos (Al), álcoois superiores (AS), cobre (Co), metanol (Me), furfural (Fu), extrato seco (ES), composição fenólica e atividade antioxidante. Os resultados foram centrados em médias, para posterior análise. A análise foi realizada utilizando-se o programa CHEMOFACE (NUNES *et al.*, 2012).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da avaliação físico-química das aguardentes estão apresentados na Tabela 1.

De acordo com os dados obtidos, pode-se constatar que todos os parâmetros estão dentro dos limites permitidos pelo MAPA (BRASIL, 2005a).

A alta acidez presente na aguardente de ameixa pode ser atribuída a uma falta de controle durante o corte das frações cabeça, coração e cauda, ou a uma contaminação do próprio mosto fermentativo por bactérias acéticas e outras, seja durante o seu preparo, seja no manuseio com as ameixas. No caso da bebida produzida a partir da fruta, o aumento da acidez pode estar associado à parte do substrato que poderá sofrer fermentação acética, elevando assim a acidez e diminuindo o rendimento da produção de etanol (MASSON *et al.*, 2007).

Os ésteres são compostos formados por meio da reação entre os álcoois e os ácidos presentes na bebida. Estes compostos, juntamente com os álcoois superiores, aldeídos e ácidos, são responsáveis pela formação do seu sabor e aroma, compondo assim o chamado “flavour ou buquê” da aguardente (CARDOSO, 2013).

O cobre é um problema que preocupa os produtores de aguardente, especialmente no Estado de Minas Gerais, devido à produção artesanal que é feita em alambiques de cobre. A presença deste metal deve-se, principalmente, à dissolução do carbonato básico de cobre $[Cu_2(OH)_2CO_3]$, presente nas paredes internas do alambique, pelos vapores ácidos da bebida. A contaminação pode ser evitada fazendo-se uma cuidadosa higienização dos alambiques nas safras e entressafras, utilizando-se água e limão na primeira destilação ou utilizando-se filtros com adsorventes, como o carvão ativado resinas de troca iônica e adsorventes naturais (CARDOSO, 2013).

Tabela 1

Avaliações físico-químicas das aguardentes em estudo*

| Análises | Ameixa | Banana | Tangerina |
|-----------------|--------------|---------------|---------------|
| GA ¹ | 37,85 ± 0,07 | 40,13 ± 0,02 | 41,71 ± 0,01 |
| AV ² | 88,26 ± 0,16 | 27,75 ± 0,01 | 13,35 ± 0,01 |
| Es ² | 21,58 ± 0,04 | 32,56 ± 0,02 | 9,79 ± 0,01 |
| Al ² | 19,32 ± 0,04 | 6,63 ± 0,01 | 3,18 ± 0,01 |
| AS ² | 79,88 ± 1,21 | 257,03 ± 1,85 | 138,22 ± 0,02 |
| Fu ² | 3,78 ± 0,01 | 0,08 ± 0,01 | 0,04 ± 0,01 |
| Me ² | 65,68 ± 1,92 | 36,69 ± 0,64 | 25,36 ± 0,01 |
| Co ³ | 2,09 ± 0,01 | 0,47 ± 0,01 | 0,03 ± 0,01 |
| ES ⁴ | 5,84 ± 0,38 | 1,37 ± 1,72 | 0,01 ± 1,12 |

¹ % v/v; ² mg 100 mL⁻¹álcool anidro; ³ mg L⁻¹; ⁴ g L⁻¹; ND = não detectado; ** BRASIL, 2005a. Lp = limites permitidos

A presença de metanol na aguardente é indesejável, sendo este considerado um contaminante da bebida, devido aos seus efeitos tóxicos. Esse é originado pela degradação da pectina durante o processo fermentativo (ZACARONI *et al.*, 2011; CARDOSO, 2013). Todas as amostras encontraram-se dentro do limite estabelecido pelo MAPA para aguardentes de fruta, uma vez que a concentração de álcool metílico não deve ser superior a 400 mg/100mL álcool anidro, enquanto para aguardente de cana este valor é de 20 mg/100mL álcool anidro (BRASIL, 2005a; BRASIL, 2011). Para aguardentes de frutas, o limite é superior ao de cana-de-açúcar, pois a formação de metanol é acentuada durante a fermentação de sucos ou polpas de frutas, que geralmente são ricas em pectina.

Os resultados obtidos para a concentração de fenólicos totais e atividade antioxidante estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2

Concentração de fenólicos totais e atividade antioxidante das aguardentes em estudo

| Análises | Ameixa | Banana | Tangerina |
|--------------------------------------|------------------|-----------------|------------------|
| C. Fenólica (mg L ⁻¹) | 304,12 ± 2,23 | 6,83 ± 0,16 | 1,71 ± 0, 001 |
| A.Antioxidante (%) | 76,51 ± 1,41 | 35,60 ± 2,12 | – |

A concentração em mg L⁻¹ de compostos fenólicos totais foi obtida por regressão linear das concentrações do padrão de ácido gálico, sendo possível avaliar a linearidade do método pela estimativa do coeficiente de determinação referente à equação da curva ($y = 0,008x - 0,012$), obtida por regressão linear. O coeficiente de determinação foi de 0,999 mostrando a precisão da curva analítica, conforme recomendado na literatura (SNYDER; KIRKLAND; GLAJCH, 1997).

As concentrações de compostos fenólicos totais encontrados para a aguardente de banana e tangerina foi 6,83 e 1,71 mg L⁻¹ respectivamente. Oliveira *et al.* (2007), avaliando a atividade antioxidante de extratos vegetais, observou que a banana apresentou em sua polpa uma concentração de compostos fenólicos de 8,3 mg L⁻¹, enquanto que a casca da fruta apresentou um teor de fenólicos totais igual a 13,3 mg L⁻¹. Os resultados encontrados pelo autor corroboram aqueles encontrados neste trabalho para a aguardente de banana.

A polpa da banana verde é rica em compostos fenólicos solúveis, principalmente taninos, que, por meio de ligações cruzadas com as proteínas do interior da boca, causam a sensação de adstringência. Na medida em que a fruta amadurece, ocorre a polimerização desses compostos fenólicos, com a consequente diminuição na sensação de adstringência, ao mesmo tempo em que ocorre o aumento na doçura e na acidez. Além disso, em algumas cultivares, tais como a “Prata”, os compostos fenólicos chegam a quase desaparecer quando a fruta está muito madura, sendo que a maior concentração dos compostos fenólicos para esta fruta está presente na casca (ORMENESE, 2010).

Estudos de Marques *et al.* (2010), com fermentados acéticos, incluindo fermentados de tangerina e fermentados de tangerina com milho, encontraram teores de compostos fenólicos iguais a 276,1 mg L⁻¹ e de 343,6 mg L⁻¹ respectivamente. Neste mesmo período, Duzzioni *et al.* (2010), ao estudar a tangerina tangor, uma variedade de citrus, encontraram um valor de 5,52 mg L⁻¹. Segundo os mesmos autores, a composição de fenólicos totais pode variar devido ao clima, local, variedades da fruta.

A concentração da composição fenólica total presente na aguardente de ameixa apresentou-se em maior quantidade em relação às demais aguardentes, sendo seu teor de fenólicos totais de 304,12 mg L⁻¹. Voca *et al.* (2009), ao avaliarem três cultivares diferentes de ameixa, encontraram um teor de fenólicos totais de 321, 344 e 157,7 mg 100g⁻¹ para cada cultivar estudada, concluindo que o teor de fenólicos totais depende da variedade da fruta em estudo. Trabalhos anteriores de Chun *et al.* (2003), ao avaliarem onze variedades de ameixa, conseguiram obter um teor de fenólicos totais que variou entre 138 até 684 mg/100g expressos em ácido gálico, sendo os compostos mais encontrados flavonóides e catequinas. São muitos os trabalhos que descrevem o teor de fenólicos totais encontrados em ameixas, porém a maioria apresenta

os valores em mg/100g da fruta fresca, tornando-se difícil a comparação com os valores obtidos para a aguardente de ameixa. Ressalta-se, porém, que quantidades consideráveis destes compostos têm sido encontradas em diversas cultivares dessa fruta.

Anjos *et al.*, 2011a, ao avaliarem a composição fenólica total em cachaças envelhecidas em carvalho ao longo de um ano, observou que o teor destes compostos variou de aproximadamente 12 a 19 mg L⁻¹. Neste trabalho os autores determinaram a quantidade isolada dos seguintes compostos que são geralmente os mais encontrados em cachaças envelhecidas: ácido gálico, catequina, ácido vanílico, fenol, ácido siríngico, vanilina siringaldeído, ácido p-cumárico, cumarina, 4-metilumbeliferona, ácido o-cumárico e eugenol.

Os valores percentuais de inibição encontrados para a atividade antioxidante das aguardentes de ameixa, banana e tangerina foram de 76,51; 35,60, e não detectado respectivamente. A utilização do método do DPPH mostra-se como uma alternativa interessante, sendo de custo viável por utilizar reagentes acessíveis, pelo tempo gasto e por não necessitar de equipamentos sofisticados. Além disso, nesse método, a eficiência antioxidante é mensurada em temperatura ambiente, eliminando-se o risco potencial de degradação térmica de algumas das substâncias analisadas (ARBOS, 2009).

Oliveira *et al.* (2007), ao avaliarem a capacidade antioxidante em diferentes frutas, encontraram para a banana um percentual de inibição 74,5% na polpa e 36% na casca. Nesse trabalho, a aguardente de banana apresentou uma atividade antioxidante igual a 35,60 %.

Para frutas que apresentam grandes quantidades de ácido ascórbico, como várias cultivares de laranja, o percentual da atividade antioxidante encontrado por Oliveira *et al.*(2007) variou de 62,5% a 80,03%, o que

não pode ser observado no presente trabalho para a aguardente de tangerina.

Um ensaio para investigar a capacidade antioxidante de ameixas demonstrou que os ácidos clorogênicos, presentes em grandes quantidades nessa fruta, foram os maiores responsáveis por sua ação antioxidante seguidos das antocianinas, sendo esta relação inversa em ameixas vermelhas, nas quais as antocianinas apresentaram maior capacidade antioxidante. Logo, o consumo diário de 100 g de ameixas poderia promover efeito antioxidante semelhante ao da vitamina C (CHUN; KIM; LEE, 2003). Estes resultados aproximam-se dos encontrados no trabalho referente à aguardente de ameixa.

Devido à grande quantidade de parâmetros avaliados, a análise de componentes principais foi utilizada para compreender-se a similaridade entre as amostras, e verificou-se diferença na composição físico-química, compostos fenólicos e atividade antioxidante das amostras em estudo. Isso pode ser observado pelo gráfico Bi-Plot dos scores/loadings, em que o Componente Principal 1 (PC1, com 90,7% da variância) versus Componente Principal 2 (PC2, com 9,3% da variância) descreveu um total de 100% dos dados (Figura 1).

Analisando-se a Figura 1, correspondente ao gráfico biplot PC1 x PC2 dos loadings e scores, percebe-se que as aguardentes em estudo são diferentes, de acordo com as análises realizadas. A bebida de ameixa se relacionou com os teores de compostos fenólicos e a de banana se diferenciou das demais devido ao teor de álcool superior. Não houve correlação da aguardente de tangerina com algum dos parâmetros em estudo. Nota-se que algumas variáveis analisadas (extrato seco, grau alcoólico, cobre, metanol, aldeídos, furfural, acidez volátil e atividade antioxidante) concentraram -se próximas, ou em cima, da origem do plano principal. Ou seja, estas variáveis

possuem baixa representatividade, não diferenciando as aguardentes.

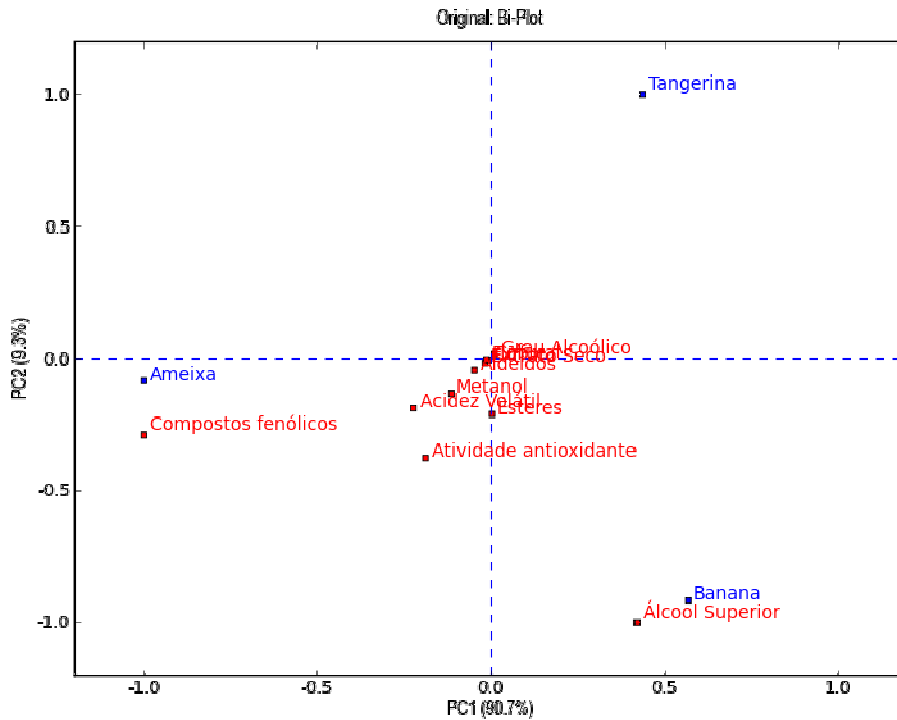


Figura 1 - Análises de componentes principais das aguardentes

A quantificação do CE nas amostras foi realizada por meio da construção de uma curva analítica obtida por regressão linear ($y = 10592,61x - 8200,84$; onde, y = área do pico e x = concentração de CE), plotando a área do pico versus a concentração da respectiva solução-padrão, sendo o coeficiente de determinação obtido de 0,9998. Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram estimados por meio dos parâmetros obtidos da curva analítica construída, conforme especificado por Harris (2008), encontrando-se os valores de $4,65 \mu\text{g L}^{-1}$ e $15,51 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. O tempo de retenção médio obtido para o CE foi de $13,1 \pm 0,1$ minutos (Figura 2).

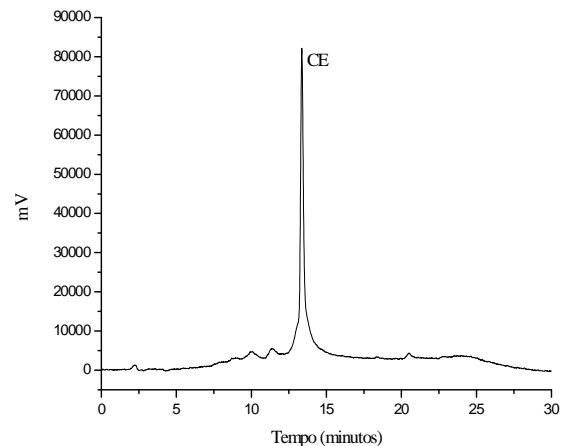


Figura - 2 Cromatograma de uma solução de CE na concentração de $100,00 \mu\text{g L}^{-1}$

Pelos dados descritos na Tabela 3, observa-se que foi detectada a presença do CE para as amostras em estudo, fato comprovado pelos respectivos cromatogramas das amostras.

O mecanismo de formação de CE em bebidas alcoólicas ainda não é bem compreendido. Em vinhos, os precursores são ureia, carbamilsfosfato, arginina e citrulina, formados durante a fermentação alcoólica e malolática (LABANCA; GLORIA; AFONSO, 2008b). Mosqueira (2007) menciona que as bebidas alcoólicas destiladas preparadas a partir de matérias-primas com teores naturalmente elevados em glicósidos cianogênicos, presentes em alguns frutos, como os de cerejas, ameixas ou pêssegos, podem ser responsáveis pela formação CE. Nas bebidas preparadas a partir destes produtos, o ácido cianídrico (HCN) pode liberar o íon cianeto (CN⁻) por hidrólise térmica ou enzimática durante o processo produtivo, reagindo com o etanol presente no meio, dando origem ao CE. Lelis (2006), estudando aguardentes de frutas, observou que foram encontrados valores elevados de CE, sendo que nas aguardentes de cereja, damasco e ameixa os valores foram de 100 até cerca de 5000 µg L⁻¹.

Tabela 3

Concentração de fenólicos totais e atividade antioxidante das aguardentes em estudo

| Amostras | Carbamato de etila (µg L ⁻¹) |
|-----------|--|
| Ameixa | 110,16 ± 0,02 |
| Banana | 59,76 ± 0,14 |
| Tangerina | 70,59 ± 0,08 |

Na Figura 3, encontra-se o cromatograma para o CE da aguardente de ameixa diluída 10 vezes, sendo sua concentração final de 110,16 µg L⁻¹.

Atualmente, o MAPA estabeleceu o limite máximo permitido de 150,0 µL⁻¹ para concentração de CE em aguardentes de cana. A preocupação com este

composto é de grande relevância, devido ao seu potencial carcinogênico.

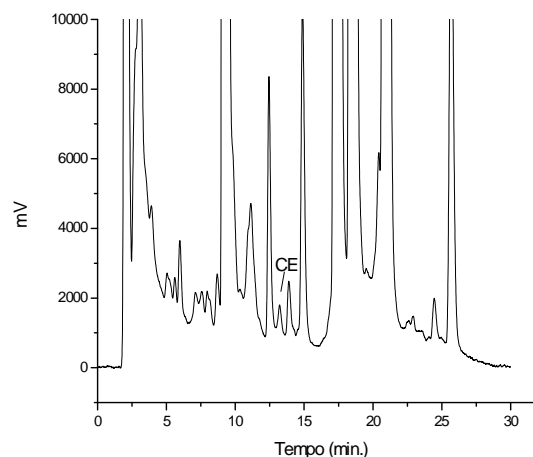


Figura 3 - Cromatograma da amostra de aguardente de ameixa, mostrando o pico relativo ao carbamato de etila (CE)

Na literatura não há trabalhos que descrevem a presença de CE em aguardentes de banana e tangerina. As concentrações de CE encontrados para estas aguardentes foram 59,76 e 70,59 µL⁻¹ respectivamente. Nas Figuras 4 e 5, encontram-se os cromatogramas para o CE destas aguardentes.

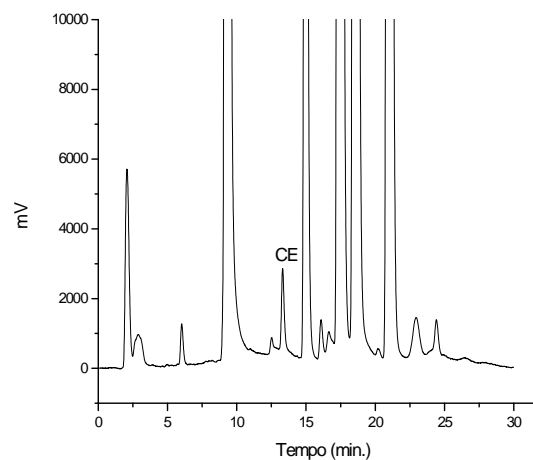


Figura 4 - Cromatograma da amostra de aguardente de banana, mostrando o pico relativo ao carbamato de etila (CE)

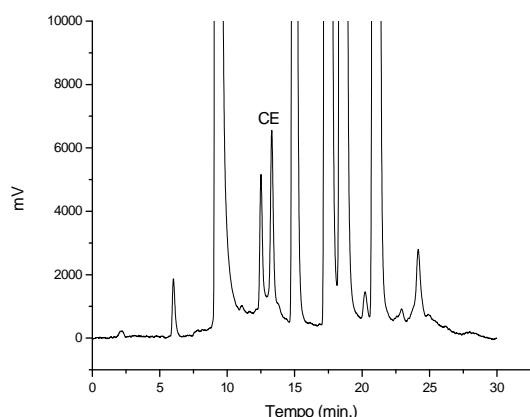


Figura 5 - Cromatograma da amostra de aguardente de tangerina, mostrando o pico relativo ao carbamato de etila (CE)

4 CONCLUSÃO

As amostras estudadas apresentaram valores das análises físico-químicas dentro dos limites estabelecidos pelo MAPA, para todos os congêneres analisados. As aguardentes analisadas apresentaram valores significativos para os teores de compostos

fenólicos totais, sendo que, na aguardente de ameixa, a concentração foi mais expressiva. Na aguardente de tangerina, não foi evidenciada nenhuma atividade antioxidante, sendo que as aguardentes de ameixa e banana apresentaram resultados significativos de inibição. Além disso, com a utilização da ACP, foi possível diferenciar e correlacionar as bebidas.

Todas as aguardentes apresentaram a presença do CE, porém abaixo do limite estabelecido pela legislação.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro e bolsa concedida.

REFERÊNCIAS

ANJOS, J. P. *et al.* Evolution of the concentration of phenolic compounds in cachaça during aging in an oak (*Quercus* sp.) barrel. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 22, 1307-1314, 2011a. ISSN: 1678-4790.

ANJOS, J. P. *et al.* Identificação do carbamato de etila durante o armazenamento da cachaça em tonel de carvalho (*Quercus* sp) e recipiente de vidro. **Química Nova**, São Paulo, v. 34, n. 5, 874-878, 2011b. ISSN: 0100-4042.

ARBOS, K. A. **Qualidade sanitária e nutricional de hortícolas orgânicas**. 161f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ, Paraná, 2009.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa n. 13**, de 29 de junho de 2005a.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa n. 24**, de 08 de setembro de 2005b.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Instrução Normativa nº 15**, de 31 de março de 2011.

CARDOSO, M. G. **Produção de aguardente de cana**. 3 ed. Lavras: Editora UFLA, 2013. 340p. ISBN: 9788581270272.

CHUN, O. K.; KIM, D.O.; LEE, C.Y. Superoxide radical scavenging activity of the major polyphenols in fresh plums. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n.27, 8067-8072, 2003. ISSN: 0021-8561.

DUARTE-ALMEIDA, J. M. *et al.* Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β -caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH.

Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, V.26, n. 2, 446 – 452, 2006. ISSN: 1678-457X.

DUZZIONI, A. G. *et al.* Determinação da atividade antioxidante e de Constituintes bioativos em frutas cítricas. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 21, n. 6, 643-649, 2010. ISSN: 0103-4235.

FERREIRA, D. F. SISVAR: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011. ISSN: 1413-7054.

HARRIS, D. C. **Análise química quantitativa**. 7.ed. Rio de Janeiro: LTC, 2008. 868p.

LABANCA, R. A.; GLORIA, M. B. A. Spectrophotometric determination of urea in sugar cane distilled spirits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, 5211-5215, 2008a. ISSN: 0021-8561.

LABANCA, R. A.; GLORIA, M. B. A.; AFONSO, R. Determination of ethyl carbamate in sugar cane spirits by gc-ms. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n.7, 1860-1864, 2008b. ISSN: 0100-4042.

LACHENMEIER, D. W.; NERLICH, U.; KUBALLA, T. Automated determination of ethyl carbamate in stone-fruit spirits using headspace solid-phase microextraction and gas chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, n. 1108, 116 - 120, 2006. ISSN: 0021-9673.

LELIS, V. G. **Ocorrência de carbamato de etila e sua formação em cachaça de alambique e em aguardente de cana-de-açúcar**. 66f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA, Viçosa, 2006.

LIN, Y. T. *et al.* Enhancement of antioxidant activity and inhibition of *Helicobacter pylori* by phenolic phytochemical-enriched alcoholic beverages. **Process Biochemistry**, London, v. 40, 2059-2065, 2005. ISSN: 0032-9592.

MARQUES, F. P. *et al.* Padrões de identidade e qualidade de fermentados acéticos comerciais de frutas e vegetais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.30, 119-126, 2010. ISSN: 1678-457X.

MASSON, J. *et al.* Parâmetros físico-químicos e cromatográficos em aguardentes cana queimada e não queimada. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.31, n.6, 1805-1810, 2007. ISSN: 1413-7054.

MOSQUEIRA, A. A. F. C. S. Carbamato de Etilo em Vinhos Portugueses. 72f. Dissertação (Mestrado em Controlo da Qualidade e toxicologia dos Alimentos) – UNIVERSIDADE DE LISBOA, Faculdade de Farmácia. Lisboa, 2007.

NUNES, C. A. *et al.* Chemoface: a Novel Free User-Friendly Interface for Chemometrics. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 11, p. 2003-2010, 2012. ISSN: 1678-4790

OLIVEIRA, M. S. *et al.* Atividade antioxidante e antifúngica de extratos vegetais. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.18, n.3, 267-275, 2007. ISSN: 0103-4235.

ORMENESE, R. C. S. C. **Obtenção de farinha de banana verde por diferentes processos de secagem e aplicação em produtos alimentícios**. 156f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS, Campinas, 2010.

SOUSA, C. M. *et al.* Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v.30, n.2, 2007. ISSN 0100-4042

SNYDER, L. R.; KIRKLAND, J. J.; GLAJCH, J. L. **Practical HPLC method development**. 2.ed. New York: J. Wiley, 1997. P. 694-697,1997. ISBN: 047100703X.

TEÓFILO, J. S. C. *et al.* Aquecimento de vinho tinto e suco de uva utilizados em preparações culinárias não afeta a capacidade antioxidante e o teor de fenóis totais. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 24, n.1, 153-159, 2011. ISSN: 1415-5273.

UTHURRY, C. A. *et al.* Ethyl carbamate concentrations of typical Spanish red wines. **Food Chemistry**. v. 88, n.3, 329 - 336, 2004. ISSN: 0308-8146.

VOCA, S. *et al.* Chemical Composition and Antioxidant Capacity of Three Plum Cultivars. **Agriculturae Conspectus Scientificus**. v.74, n.3, 273-276, 2009. ISSN: 1331-7776.

ZACARONI, L. M. *et al.* Caracterização e quantificação de contaminantes em aguardentes de cana. **Química Nova**, São Paulo, v. 34, n. 2, 320 - 324, 2011. ISSN: 0100-4042.