

# Tratamento físico-químico do caldo de cana produz cachaça de qualidade<sup>1</sup>

## Physico-chemical treatment of sugarcane juice produces quality cachaça

Mara Lucia Dias Ribeiro<sup>2</sup>, Osania Emerenciano Ferreira<sup>3</sup>, Vitor Teixeira<sup>2</sup>, Miguel Angelo Mutton<sup>2</sup> e Márcia Justino Rossini Mutton<sup>2\*</sup>

**RESUMO** - A cachaça é a aguardente produzida a partir da destilação do fermentado de caldo de cana. Atualmente destaca-se por ser a segunda bebida alcoólica mais consumida no Brasil e a terceira destilada no mundo. Diversos fatores afetam negativamente a cadeia produtiva, entre eles o tratamento do caldo e a levedura utilizada. Neste sentido, o objetivo do trabalho foi avaliar a influência do tipo de fermento e o tratamento do caldo sobre a qualidade do destilado. O experimento foi realizado na safra 2014/2015, utilizando-se a variedade SP83-2847. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com parcelas subdivididas, com 9 repetições. As parcelas foram constituídas pelo modo de tratamento do caldo (caldo clarificado e não clarificado) e as subparcelas os tipos de fermento (Natural e CA-11). Foram determinadas características químicas do mosto, como Sólidos Solúveis Totais (SST), Compostos Fenólicos Totais (CFT), Açúcares Redutores Totais (ART) e Acidez Total. No processo fermentativo avaliou-se a viabilidade das células e brotos e o índice de brotamentos. No vinho determinou-se o SST, ARRT, pH, acidez total, teor alcoólico, glicerol e eficiência fermentativa. Determinou-se a composição das cachaças através da quantificação de aldeídos totais, ésteres totais, metanol, acroleína, carbamato de etila, furfural, acidez volátil e coeficiente de congêneres. Analisou-se ainda condutividade elétrica, turbidez e pH, sendo os componentes secundários determinados por cromatografia gasosa. O tratamento prévio do caldo resultou em mosto de condições ideais para a levedura. A levedura CA-11 apresentou maiores teores de viabilidade celular. A associação entre tratamento de caldo e uso de fermento selecionado resulta em cachaça de composição mais equilibrada.

**Palavras-chave:** Caleagem simples. Bebida destilada. Cana-de-açúcar. Fermento nativo. CA-11.

**ABSTRACT** - Cachaça is the spirit produced from the distillation of fermented sugarcane juice. It is currently the second most consumed alcoholic beverage in Brazil, and the third most-distilled drink in the world. Several factors negatively affect the production chain, including treatment of the juice and the yeast employed. The aim of this study therefore, was to evaluate the influence of the type of yeast and treatment on the quality of the distillate. The experiment was carried out during the 2014/2015 season, using the SP83-2847 variety of sugarcane. The experimental design was completely randomised into split lots with nine replications. The lots consisted of the type of treatment (clarified and non-clarified juice), and the sub-lots, of the types of yeast (Natural and CA-11). Chemical characteristics of the must were determined, such as Total Soluble Solids (TSS), Total Phenolic Compounds (CFT), Total Reducing Sugars (ART) and Total Acidity. During the fermentation process, the viability of the cells and shoots, and the sprouting index were evaluated. The SST, ARRT, pH, total acidity, alcohol content, glycerol and fermentation efficiency were determined in the sugarcane must. The composition of the cachaças was determined by quantification of total aldehydes, total esters, methanol, acrolein, ethyl carbamate, furfural, volatile acidity and congener coefficient. Electrical conductivity, turbidity and pH were also analysed, secondary components being determined by gas chromatography. Pre-treatment of the juice resulted in ideal conditions for the yeast. The CA-11 yeast showed higher levels of cell viability. The interaction between treatment and selected yeast, results in a cachaça of a more-balanced composition.

**Key words:** Simple liming. Distilled beverage. Sugarcane. Native yeast. CA-11.

DOI: 10.5935/1806-6690.20170053

\*Autor para correspondência

Recebido para publicação 03/12/2015; aprovado em 17/08/2016

<sup>1</sup>Parte da dissertação de mestrado da autora Mara Lucia Dias Ribeiro ([http://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/138045/ribeiro\\_mld\\_me\\_jabo.pdf?sequence=3](http://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/138045/ribeiro_mld_me_jabo.pdf?sequence=3))

<sup>2</sup>Departamento de Tecnologia, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/Unesp/FCAV, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, S/N, Vila Industrial, Jaboticabal-SP, Brasil, 14.884-900, mara\_frutal@hotmail.com, vitor-nh@hotmail.com, miguel842@terra.com.br, marcia.mutton@gmail.com

<sup>3</sup>Departamento de Ciências Exatas e da Terra, Universidade do Estado de Minas Gerais/UEMG, osania.ferreira@hotmail.com

## INTRODUÇÃO

A cachaça é a segunda bebida alcoólica mais consumida no Brasil, e a terceira bebida destilada mais consumida no mundo. É obtida pela destilação do vinho de cana, com 38 - 48% de álcool, além de vários compostos que lhe conferem características peculiares (BRASIL, 2005).

Esta bebida tem se destacado como produto de crescente importância econômica, com grande aceitação nos mercados nacional e internacional, distinguindo-se de outras pela presença de componentes secundários que são formados durante o processo de fermentação do mosto, podendo ser eliminados durante o processo de destilação (ZACARONI *et al.*, 2011).

De acordo com o processo produtivo e a matéria-prima empregada, a bebida pode apresentar qualidades sensoriais agradáveis ao paladar ou compostos que depreciam a bebida. Neste sentido, o tratamento do caldo, destaca-se como etapa importante, possibilitando a redução de impurezas que atuam como precursores na formação de compostos que depreciam a composição do destilado, desqualificando a bebida.

Outro fator importante para construção da qualidade é o tipo de fermento utilizado. No sistema de produção artesanal de cachaça utiliza-se o fermento nativo ou natural, obtido do ecossistema de produção agroindustrial. Neste, um grande número de espécies podem estar presentes, geralmente apresentando pequena tolerância ao álcool, além de favorecerem a formação de diversos compostos que dificultam a padronização do produto (LIMA; BRUNO; SILVA, 2007).

Não obstante, a utilização de fermento selecionado proporciona fermentações mais puras e com maior eficiência, uma vez que se trabalha com uma massa sólida, contendo um aglomerado de células de *Saccharomyces cerevisiae*, que possuem melhor adaptação às condições de trabalho (ALCARDE; MONTEIRO; BELLUCO, 2012).

Os componentes da cachaça, classificados como secundários, são representados por produtos minoritários oriundos de reações provenientes dos processos de destilação, envelhecimento e principalmente da fermentação (CARDOSO, 2013; SOUZA; HENRIQUE; SILVA, 2013). Estes componentes são especialmente importantes, por conferirem aroma, gosto e “bouquet” especiais, definindo as características químico-sensoriais da bebida.

Para tanto, estes devem obedecer aos limites estabelecidos pela Instrução Normativa nº 13/2005 (BRASIL, 2005) e Instrução Normativa nº 28/2014 (BRASIL, 2014).

Neste contexto, avaliou-se a composição e a qualidade do destilado final produzido a partir da

fermentação de mosto tratado, empregando-se fermento natural e selecionado.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Matéria-prima

Utilizaram-se colmos de cana recém cortados, da variedade SP832847, provenientes da Fazenda Santa Clara, localizada à 21°14'05"S e 48°17'09"W, no município de Pitangueiras-SP. O experimento foi realizado na safra de 2014/2015, sendo os colmos maduros colhidos com valores médios da ordem de 20° SST médio, de outubro a novembro de 2014, manualmente, com desponte no ponto natural de quebra, sem queima prévia da palha e imediatamente processados.

### Delineamento experimental

O delineamento estatístico experimental foi o inteiramente casualizado em parcelas subdivididas com 9 repetições. Para a composição do tratamento primário, foram utilizados dois tipos de mosto (clarificado e não clarificado) e no secundário, dois tipos de fermento (natural e uma cepa comercial selecionada de *Saccharomyces cerevisiae* “CA-11”). Os resultados foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias comparadas segundo o teste de Tukey (5%).

### Preparo do mosto

O caldo foi extraído por moenda de laboratório e submetido à filtração (peneira de 60 mesh) para separação das impurezas grosseiras (bagacilho). Para obtenção do mosto não clarificado, realizou-se a diluição, ajustando-se a concentração de açúcares para 16 °SST e a temperatura para 28-32 °C, temperatura esta considerada ótima para o desenvolvimento fisiológico da levedura, proporcionando fermentações completas (consumo total de açúcares) (AMORIM; BASSO; ALVES, 1996). Para o mosto clarificado, após padronização a 16 °SST, adicionou-se hidróxido de cálcio até atingir pH 6,0, que através de reações com fosfatos dissolvidos na matéria prima resultam na coagulação das partículas em suspensão, formando precipitados insolúveis que adsorvem e arrastam as impurezas, tais como ácidos e compostos fenólicos (ALBUQUERQUE, 2011). Este material foi aquecido até a fervura. O caldo aquecido foi disposto em decantador de inox por 1 hora, sendo o sobrenadante recuperado a seguir.

No caldo clarificado, a ser inoculado com o fermento natural procedeu-se a correção do pH para 4,5 e temperatura de 32 °C obtendo-se o mosto apto a receber o inóculo. Para o mosto a ser inoculado com a levedura

CA-11, o ajuste do pH não foi realizado, uma vez que esta levedura apresenta como característica a habilidade de acidificar o meio, a temperatura foi de 32 °C. As características químico-tecnológicas dos caldos e mostos foram determinadas através dos teores de Sólidos Solúveis Totais (SST) (refratometria direta), pH (determinação direta, com correção de temperatura), Açúcares Redutores Totais (ART), Acidez Total (CTC, 2005) e Compostos Fenólicos Totais (FOLIN; CIOCALTEAU, 1927).

### Obtenção do fermento

A levedura selecionada CA-11 foi obtida em sua forma liofilizada. Para sua multiplicação hidratou-se 30 g do fermento, realizando-se a alimentação com caldo esterilizado até a obtenção da massa de células necessária para compor o pé-de-cuba. Para obtenção do fermento natural utilizou-se 2 kg de farelo de arroz; 2 kg de fubá de milho e suco de limão, em quantidade suficiente para formar uma pasta. A seguir o material foi colocado em saco de algodão, adicionando-se o caldo de cana diluído para favorecer a multiplicação das células, até a obtenção da massa de levedura necessária para compor o pé-de-cuba (CARDOSO, 2013).

### Condução do processo fermentativo

As fermentações foram conduzidas em dornas de aço inoxidável, capacidade útil de 6 L, em batelada alimentada, na temperatura de 32 °C, com recuperação do fermento por decantação. Utilizou-se 30 g de massa de levedura na concentração de  $10^6$  UFC mL<sup>-1</sup> do mosto a 16 °SST. O final da fermentação foi estabelecido quando o SST do vinho foi  $\leq 1,0$ , recuperando-se o vinho.

Avaliou-se a microbiota fermentadora através da viabilidade celular, de brotos e taxa de brotamento, no início e final da fermentação, utilizando-se metodologia descrita por Lee, Robinson e Wong (1981), além do SST e pH, determinando-se ainda a capacidade fermentativa.

### Caracterização do vinho e destilados

Os vinhos foram recuperados por centrifugação e caracterizado quanto ao SST, Acidez Total, Açúcares Redutores Residuais Totais (ARRT) (CTC, 2005), pH (leitura direta) e glicerol (McGOWAN *et al.*, 1993).

O vinho foi destilado em alambique de cobre, aquecido através de fogo direto até 50 °C e posterior aumento gradativo da temperatura, iniciando o processo destilação na temperatura de 78 °C, não ultrapassando 90 °C. Foi feita a separação das frações de cabeça, coração e cauda, com graduação alcoólica de 38 a 48% a 20 °C. A seguir, determinou-se o teor de etanol em densímetro automatizado (Anton Paar DMA-48).

### Caracterização dos destilados por cromatografia

As cachaças obtidas da fração de coração foram caracterizadas quanto aos teores de carbamato de etila de acordo com Anjos *et al.* (2011), no Laboratório do Departamento de Química da UFLA, Lavras-MG. Foram também qualificados os teores de acroleína, acidez volátil, acetaldeído, ésteres, metanol, álcoois superiores, propílico, isobutílico, isoamílico em cromatógrafo gasoso GC Varian 3900, acoplado com software Galaxie Chromatography, coluna Varian Capillary Column, CP – Wax 52 CB, 30 m 0,53 mm 1 um #CP8748. Injetou-se 1 µL de cada amostra, sob as seguintes condições: temperatura do injetor: 175 °C, temperatura do detector: 210 °C, empregando-se como gás de arraste: ar sintético.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Matéria-prima e processo fermentativo

A matéria-prima utilizada para produção do mosto consistiu de colmos maduros da variedade SP83-2847, na safra 2014/2015. A Tabela 1 apresenta

**Tabela 1** - Caracterização dos mostos clarificado e não clarificado

Mosto	SST	ART (%)	Acidez Total (g/L H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	CFT (mg L <sup>-1</sup> )
Não Clarificado	16,0 A	12,59 A	1,59 A	363 A
Clarificado	16,3 A	12,83 A	1,00 B	251 B
Teste F	2,94 <sup>ns</sup>	0,32 <sup>ns</sup>	5,64*	2,49**
DMS	0,41	0,89	0,52	43,78
CV	2,55	7,07	40,43	14,25

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. \*\*significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ ). \* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $0,01 \leq p < 0,05$ ). ns não significativo ( $p > 0,05$ ). CV% = Coeficiente de variação. DMS = Diferença mínima significativa

os valores médios determinados para os mostos, clarificado e não clarificado, produzidos. Quando se compara estes tratamentos verifica-se que não houve diferenças significativas para SST e ART. Entretanto, o mosto resultante do tratamento do caldo apresentou menores valores de Acidez Total e CFT em relação ao não clarificado, decorrente da eliminação de impurezas presentes no caldo. Este fato é especialmente importante, pois os ácidos (CAMOLEZ; MUTTON, 2005) e compostos fenólicos (RAVANELI *et al.*, 2011) são inibidores das leveduras durante o processo fermentativo reduzindo significativamente a viabilidade de células e brotos.

Avaliando a viabilidade de brotos e a taxa de brotamento (Tabela 2) observou-se que não houve diferença para o tipo de fermento empregado e tratamento do mosto. Entretanto, a levedura CA-11 apresentou 8% a mais de células vivas no início e final do processo fermentativo. Esta característica é muito importante quando se considera a proporção entre o número de células vivas, a concentração de açúcares no substrato e a produção de compostos secundários do processo. Neste sentido verifica-se que a CA-11 se destaca em relação ao fermento natural, demonstrando maior habilidade para desdobrar os açúcares, manter uma maior viabilidade de células durante a fermentação e possibilitar a obtenção de destilado de melhor qualidade. Além disso, a maior

quantidade de células vivas proporciona maior número de ciclos, fermentações mais rápidas, diminuindo as contaminações, incrementando a eficiência do processo com possível redução de custos. Este comportamento está em consonância com os relatos de Amorim, Basso e Alves (1996), que apontam que a viabilidade das células deve estar entre 80 e 90% e a porcentagem de brotamentos de 5 a 15% para uma boa condução do processo fermentativo.

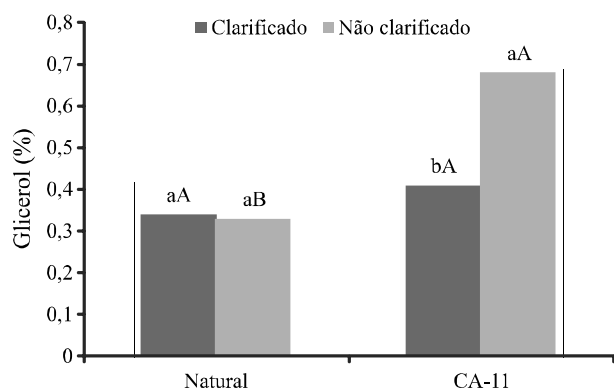
Da ação do tratamento de caldo e tipo de fermento sobre as características tecnológicas do vinho, verificou-se que não ocorreram diferenças para SST, ART, acidez total, teor alcoólico e eficiência fermentativa para ambos os tratamentos, que foram da ordem de 0,7; 0,10%; 3,10 g L<sup>-1</sup>; 6,6 e 70%, respectivamente. Contudo, observou-se que a clarificação do caldo resultou em mostos cujas fermentações produziram vinhos com menores teores de glicerol, quando utilizou-se a levedura CA-11 (Figura 1). Estes valores foram menores que os determinados por Montijo *et al.* (2014), que avaliando a produção de cachaça, utilizando a levedura CA-11, obtiveram valores de glicerol da ordem de 0,70%. Deve-se destacar que o glicerol é um composto sintetizado pela levedura a fim de manter o equilíbrio redox celular, sendo formado na mesma via metabólica do etanol, competindo pela utilização do poder redutor (NADH), motivo pelo qual a síntese deste composto é inversamente proporcional à do etanol (SILVA; MACK; CONTIERO, 2009).

**Tabela 2** - Valores médios obtidos para Viabilidade Celular, Viabilidade de Brotos e Índice de Brotamentos das leveduras Natural e CA-11, no início e final da fermentação de mostos obtidos a partir de caldo original e clarificado

Mosto (M)	Brotamento		Viabilidade Brotos		Viabilidade Celular	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Clarificado	17,95 A	22,75 A	85,75 A	85,57 A	74,19 A	75,87 A
Não Clarificado	15,49 A	26,70 A	84,78 A	88,71 A	79,02 A	80,97 A
Teste F (M)	0,34 <sup>ns</sup>	1,18 <sup>ns</sup>	0,05 <sup>ns</sup>	0,49 <sup>ns</sup>	2,67 <sup>ns</sup>	2,56 <sup>ns</sup>
DMS	8,48	7,39	8,33	9,04	6,02	6,50
CV	74,65	43,99	14,21	15,28	11,57	12,20
Fermento (F)	-	-	-	-	-	-
Natural	17,27 A	27,59 A	82,28 A	86,90 A	72,46 B	74,69 B
CA-11	16,16 A	21,86 A	88,25 A	87,38 A	80,75 A	82,15 A
Teste F (F)	0,07 <sup>ns</sup>	2,49 <sup>ns</sup>	2,18 <sup>ns</sup>	0,01 <sup>ns</sup>	7,87 <sup>**</sup>	5,47 <sup>*</sup>
DMS	8,48	7,39	8,33	9,04	6,02	6,50
CV	74,65	43,99	14,21	15,28	11,57	12,20
Inter. MxF	0,94 <sup>ns</sup>	0,97 <sup>ns</sup>	5,92 <sup>*</sup>	1.0470 <sup>ns</sup>	0,65 <sup>ns</sup>	0,60 <sup>ns</sup>

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,05 de probabilidade; ns - Não significativo; \*Significativo a nível de 0,05; \*\*Significativo a nível de 0,01. DMS - Desvio Mínimo Significativo. CV - Coeficiente de Variação. Inter. MxF - Interação entre Mostos e Fermentos

**Figura 1** - Interação entre tratamento do caldo e leveduras para o parâmetro glicerol do vinho



Letras minúsculas comparam tratamento do caldo (DMS = 0,16) e letras maiúsculas comparam leveduras (DMS = 0,16). CV(%)=38,44. Jaboticabal-SP. Safra 2014/2015

### Composição das cachaças

Na Tabela 3 estão apresentados os valores obtidos para a composição das cachaças. Observou-

se que a utilização do fermento selecionado CA-11 resultou em destilado de melhor qualidade em relação ao fermento natural, uma vez que houve menor coeficiente de congêneres, aldeídos totais, ésteres totais, acidez volátil e álcoois superiores. Deve-se destacar que estes compostos estão diretamente relacionados à característica sensorial da bebida, sendo que maiores teores resultam em destilados de menor qualidade e normalmente não preferidos pelo consumidor (CARDOSO, 2013; ODELLO *et al.*, 2009). Não obstante, cabe destacar que todos estes compostos apresentavam-se dentro dos limites estabelecidos pela legislação vigente (BRASIL, 2005).

Para furfural, verificou-se que os tratamentos resultaram em destilados que apresentaram teores acima dos limites legais. Deve-se destacar que o furfural é resultante da pirólise do bagaço de cana ou de leveduras durante o processo de destilação (CARDOSO, 2013). Neste sentido, pode-se observar a necessidade de um tratamento de caldo mais eficiente associado a uma adequada decantação do vinho depois de concluída a fermentação, objetivando a separação da levedura.

**Tabela 3** - Resultados obtidos para a composição das cachaças a partir dos tratamentos estudados

Componentes Analisados	Mín.	Máx.	Fermento nativo		CA-11	
			MC	MNC	MC	MNC
Graduação alcoólica (°GL v/v)	38	48	41,58	40,78	40,30	42,11
Aldeídos totais*		30	65,01	61,61	14,11	43,50
Ésteres totais*		200	37,16	32,75	9,15	20,23
Metanol*		20	3,13	4,04	0,97	1,86
Acroleína*		5	10,77	13,56	n.d.	n.d.
Carbamato de etila (µg/L)		210	28,43	34,56	25,67	25,47
Furfural*		5	32,31	30,15	14,95	12,13
Acidez volátil*		150	109,7	117,7	44,7	34,2
Coefficiente de congêneres	200	650	475,59	479,84	278,85	364,97
Condutividade elétrica 25°C (µs)			30,4	27	20,0	17,0
Turbidez (NTU)			0,84	0,53	0,60	0,26
pH (potencial hidrogeniônico)			4,57	4,55	4,80	4,72
Soma de comp. secundários						
Alc. sec. butílico*		10	14,61	33,64	0,76	0,87
N-propanol*			131,80	134,65	72,80	57,65
Isobutanol*			62,80	65,20	42,49	55,39
n-butanol*		3	2,08	3,94	2,11	3,01
Isoamílicos*			146,50	155,48	125,36	141,88
Álcoois superiores*	Até 360	360	341,11	355,33	240,64	254,91

As abreviações das letras significam MC=Mosto Clarificado; MNC=Mosto Não Clarificado. Álcoois superiores = (isobutílico + isoamílicos + n-propílico); Congêneres = (acidez volátil + ésteres + aldeídos + furfural/hidroxiacetilfurfural + álcoois superiores); \*mg/100mL

Considerando-se a concentração de acroleína nas bebidas, observou-se presença somente na bebida resultante do processo de fermentação utilizando-se o fermento natural. Este composto é indesejável pois em contato com humanos resulta em irritações nos olhos, pele, membranas mucosas, bem como no trato respiratório (OSORIO; CARDEAL, 2013). Origina-se no processo de fermentação, podendo ser formada pela desidratação do glicerol ou por contaminação bacteriana (CARDOSO, 2013).

Para a análise quantitativa dos teores de carbamato de etila, os resultados situaram-se bem abaixo das especificações, atendendo ao padrão de identidade e qualidade estabelecido pela legislação brasileira. Cabe destacar que o carbamato de etila apresenta ações carcinogênicas. Esta molécula pode ser formada durante todo o processo produtivo, pela reação entre etanol e alguns processos nitrogenados, como ureia, carbamila fosfatos, n-carbamil aminoácidos, cianetos, entre outros; dentre estes a ureia é o principal precursor para a formação do carbamato de etila (CARUSO; NAGATO; ALABURTA, 2010).

## CONCLUSÕES

1. O tratamento prévio do caldo possibilita condições ideais para a levedura no processo fermentativo;
2. A utilização da levedura selecionada CA-11 apresenta maior viabilidade celular em relação ao fermento natural;
3. A associação entre tratamento de caldo e uso de fermento selecionado resulta em cachaça de composição mais equilibrada.

## REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, F. M. **Processo de fabricação do açúcar**. 3. ed. Recife: Editora Universitária UFPE, 2011. 449 p.

ALCARDE, A. R.; MONTEIRO, B. M. S.; BELLUCO, A. E. S. Composição química de aguardentes de cana-de-açúcar fermentadas por diferentes cepas de leveduras *Saccharomyces cerevisiae*. **Química Nova**, v. 35, n. 8, p. 1612-1618, 2012.

AMORIM, H. V.; BASSO, L. C.; ALVES, D. M. G. **Processos de produção de álcool**. Piracicaba: Centro de Biotecnologia Agrícola, 1996. 103 p.

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**, v. 34, n. 5, p. 874-878, 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 28, de 8 de agosto de 2014. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 11 ago. 2014, Seção 1.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 13, de 30 de junho de 2005. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 30 jun. 2005, Seção 1.

CAMOLEZ, M. A.; MUTTON, M. J. R. Influência de microrganismos contaminantes sobre o processo fermentativo. **STAB-Sociedade dos Técnicos Açucareiros e Alcooleiros do Brasil**, v. 23, n. 5, p. 44-47, 2005.

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

CARUSO, M. S. F.; NAGATO, L. A. F.; ALABURTA, J. Benzo(a)pireno, carbamato de etila e metanol em cachaças. **Química Nova**, v. 33, n. 9, p. 1973-1976, 2010.

CENTRO DE TECNOLOGIA CANAVIEIRA. **Manual de métodos de análises para açúcar**. Piracicaba: Laboratório de Análises, 2005. CD-ROM.

FOLIN, O.; CIOCALTEAU, V. On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 73, n. 2, p. 627-50, 1927.

LEE, S. S.; ROBINSON, F. N.; WONG, H. Y. Rapid determination of yeast viability. *In*: BIOTECHNOLOGY BIOENGINEERING SYMPOSIUM, 11. Gatlingburg. **Anais...** Gatlingburg, 1981.

LIMA, J. R.; BRUNO, L. M.; SILVA, J. L. A. Potencial de utilização de leveduras “killer” para produção de cachaça. **Revista Ciência Agronômica**, v. 38, n. 4, p. 366-371, 2007.

McGOWAN, M. W. *et al.* Peroxidase-coupled method for colorimetric determination of serum glicerides. **Clinical Chemistry**, v. 29, p. 538-542, 1993.

MONTIJO, N. A. *et al.* Yeast CA-11 fermentation in must treated with Brown and green propolis. **African Journal of Microbiology Research**, v. 8, n. 39, p. 3515-3522, 2014.

ODELLO, L. *et al.* Avaliação sensorial da cachaça. **Química Nova**, v. 32, n. 7, p. 1839-1844, 2009.

OSORIO, V. M.; CARDEAL, Z. L. Analytical methods to assess carbonyl compounds in foods and beverages. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 24, n. 11, p. 1711-1718, 2013.

RAVANELI, G. C. *et al.* Spittlebug impacts on sugar cane quality and ethanol production. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 2, p. 120-129, 2011.

SILVA, G. P.; MACK, M.; CONTIERO, J. Glycerol: a promising and abundant carbon source for industrial microbiology. **Biotechnology Advances**, v. 27, n. 1, p. 30-39, 2009.

SOUZA, R. A.; HENRIQUE, R. S.; SILVA, M. T. P. Perfil sensorial de cachaças industriais produzidas no sudeste do Brasil safra 2008/2009. **Revista Agrotecnologia**, v. 4, n. 1, p. 97-108, 2013.

ZACARONI, L. M. *et al.* Caracterização e quantificação de contaminantes em aguardentes de cana. **Química Nova**, v. 34, n. 2, p. 320-324, 2011.