

VIVIANE GOMES LELIS

**OCORRÊNCIA DE CARBAMATO DE ETILA E SUA
FORMAÇÃO EM CACHAÇA DE ALAMBIQUE E EM
AGUARDENTE DE CANA-DE-AÇÚCAR**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Ciência e Tecnologia de Alimentos,
para obtenção do título de *Magister
Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2006

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

L541o
2006 Lelis, Viviane Gomes, 1980-
Ocorrência de carbamato de etila e sua formação em
cachaça de alambique e em aguardente de cana-de-açúcar
/ Viviane Gomes Lelis. – Viçosa : UFV, 2006.
xiii, 66f. : il. ; 29cm.

Orientador: José Benício Paes Chaves.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Viçosa.

Inclui bibliografia..

1. Cachaça - Análise. 2. Carbamato de etila - Análise.
3. Cachaça - Qualidade. 4. Aguardente - Análise.
5. Aguardente - Qualidade. 6. Bebidas destiladas.
I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22.ed. 663.16

VIVIANE GOMES LELIS

**OCORRÊNCIA DE CARBAMATO DE ETILA E SUA
FORMAÇÃO EM CACHAÇA DE ALAMBIQUE E EM
AGUARDENTE DE CANA-DE-AÇÚCAR**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Ciência e Tecnologia de Alimentos,
para obtenção do título de *Magister
Scientiae*.

APROVADA EM: 4 de agosto de 2006.

Prof. Luís Antônio Minim
(Co-orientador)

Prof^a. Nilda de Fátima Ferreira Soares
(Co-orientadora)

Prof. José Antônio Marques Pereira

Prof^a. Edimar Aparecida Filomeno Fontes

Prof. José Benício Paes Chaves
(Orientador)

A Deus
Meu guia

A minha mãe, Esmeralda
Amiga e companheira de todas as horas

As minhas irmãs,
Michelle e Amanda

A João Bosco e a Esmeralda,
Responsáveis por hoje eu estar aqui

A Rogério,
O ombro amigo para dividir
As alegrias e as dificuldades
As palavras confortadoras

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, por sempre me iluminar nos momentos difíceis.

À minha mãe Esmeralda Gomes Lelis, pela ajuda, amizade, incentivo e apoio.

Ao Rogério Lawrence Leite, pela ajuda e pelo conforto nos momentos difíceis. Pelas horas vazias que lhe proporcionei para que este trabalho fosse realizado.

Ao professor José Benício Paes Chaves, pela excelente orientação e aprendizado que me proporcionou.

Ao professor Paulo Henrique Alves da Silva, pelo seu laboratório e pela orientação na parte experimental das análises físico-químicas.

Ao professor José Antonio Marques Pereira, pelo seu laboratório para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao professor Afonso Mota Ramos, pelos materiais de suma importância para a pesquisa.

À Júlia Lessa e ao Rodrigo Siqueira Reis, pela dedicação, constância, disponibilidade e pelos extmosos auxílios durante a parte do experimento relacionada às análises físico-químicas.

Ao Luiz Gonzaga da Silva, “Seu Luiz”, pela ajuda, disponibilidade e dedicação nas tarefas realizadas nos laboratórios do Departamento de Tecnologia de Alimentos.

Ao Eduardo Rezende Pereira e à Carolina Jardim, pela ajuda, paciência e pelo acompanhamento na parte experimental de cromatografia.

Ao Joaquim, pela prestação de ajuda na aquisição das amostras.

Ao professor Gulab Newandram Jham, pela orientação e pelo acompanhamento na parte experimental de cromatografia.

Aos co-orientadores professor Luís Antônio Minim e professora Nilda de Fátima Ferreira Soares, pelas sugestões e participação na banca examinadora.

À Esther Dantas Costa e ao Danilo José Pereira da Silva, pelos aconselhamentos importantes para o desenvolvimento deste trabalho.

À Universidade Federal de Viçosa, pela enorme contribuição para a realização deste trabalho.

Ao CNPQ, pela bolsa muito importante para esta pesquisa.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, aos professores e funcionários do Departamento de Tecnologia de Alimentos, pela colaboração.

Aos produtores de cachaça e aguardentes, pelas bebidas doadas a esta pesquisa.

BIOGRAFIA

VIVIANE GOMES LELIS, filha de João Bosco Neves Lelis e Esmeralda Gomes Lelis, nasceu em Viçosa, Estado de Minas Gerais, em 28 de Novembro de 1980.

Graduou-se Engenheira de Alimentos em Janeiro de 2004 pela Universidade Federal de Viçosa.

Iniciou, em Março de 2004, o curso de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, na Universidade Federal de Viçosa.

ÍNDICE

RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	xi
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Qualidade da aguardente de cana.....	3
2.1.1. Generalidades.....	3
2.1.2. Acidez.....	4
2.1.3. Carbamato de etila em aguardentes de cana.....	5
2.1.4. Formação de carbamato de etila em alimentos e bebidas alcoólicas.....	8
2.1.4.1. Formação de carbamato de etila a partir de dietil piracarbonato e amônia e a partir de carbonato de dietila.....	8
2.1.4.2. Formação de carbamato de etila a partir da uréia, seus derivados e outros.....	9
2.1.4.3. Formação de carbamato de etila a partir de cianeto.....	10

2.1.5. Metodologia para a detecção do carbamato de etila em bebidas.....	13
3.Referências bibliográficas.....	15

OCORRÊNCIA DE CARBAMATO DE ETILA EM CACHAÇAS DE ALAMBIQUE E EM AGUARDENTES INDUSTRIAIS

RESUMO.....	19
ABSTRACT.....	20
1 Introdução.....	21
2 Material e métodos.....	24
2.1. Material experimental.....	24
2.2. Distribuição das amostras analíticas.....	25
2.3. Métodos.....	26
2.3.1. Determinação da acidez das bebidas.....	26
2.3.2. Determinação do grau alcoólico.....	27
2.3.3. Determinação do teor de carbamato de etila.....	27
3. Resultados e discussões.....	29
3.1. Acidez volátil e Grau Alcoólico das bebidas.....	29
3.2. Ocorrência de carbamato de etila nas bebidas.....	34
4. Conclusões.....	39
5. Referências bibliográficas.....	41

FORMAÇÃO DE CARBAMATO DE ETILA EM CACHAÇAS DURANTE ARMAZENAMENTO EM DIFERENTES RECIPIENTES

RESUMO.....	44
ABSTRACT.....	45
1 Introdução.....	46
2 Material e métodos.....	49
2.1. Material experimental.....	49
2.1.1. Descrição das amostras.....	49
2.1.2. Aquisição, armazenamento e preparo das amostras de cachaça.....	50
2.2. Método.....	52
2.2.1. Determinação do teor de carbamato de etila nas amostras de cachaça.....	52
3. Resultados e discussões.....	54
4. Conclusões.....	61
5. Referências bibliográficas.....	62
CONCLUSÕES GERAIS.....	65

RESUMO

LELIS, Viviane Gomes, M.S., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2006.
Ocorrência de carbamato de etila e sua formação em cachaça de alambique e em aguardente de cana-de-açúcar. Orientador: José Benício Paes Chaves. Co-Orientadores: Luís Antônio Minim e Nilda de Fátima Ferreira Soares.

Neste trabalho verificou-se a acidez volátil, o grau alcoólico e a ocorrência de carbamato de etila em cachaças de alambique e aguardentes industriais relacionando-os ao Estado onde foi produzida a bebida, ao tipo de estabelecimento (registrado ou não registrado no Ministério da Agricultura) e ao sistema de produção (destilação em alambique de cobre ou coluna de aço inoxidável). Além disto, avaliou-se a influência do tempo de armazenamento em tonéis de madeira, em recipientes de vidro âmbar e de vidro transparente na formação do carbamato de etila em cachaça de alambique. As análises de acidez volátil e de grau alcoólico foram realizadas conforme metodologia descrita pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Os teores de carbamato de etila foram determinados pelo método de padronização externa em sistema de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG/EM), utilizando o modo MSI (Monitoramento Seletivo de Íons) para a quantificação. Os valores obtidos para o grau alcoólico variaram de 32,4 a 50,3 °GL, sendo o teor médio de 40, 4 °GL. Observou-se que 16 (21,3 %) dentre 75 bebidas apresentaram o grau alcoólico abaixo de 38 °GL, que representa o valor mínimo exigido pela legislação vigente. Somente uma cachaça apresentou o grau alcoólico acima de 48°GL, limite

máximo para esta bebida. Dentre as bebidas analisadas, 24 (32 %) das 75 apresentaram acidez volátil acima do limite máximo oficial. Os valores obtidos das 75 bebidas para o carbamato de etila variaram de 20,13 a 948,23 $\mu\text{g/L}$, apresentando um teor médio de 383,71 $\mu\text{g/L}$. Somente 10 (13,3 %) das 75 bebidas apresentaram teores de carbamato de etila abaixo de 150 $\mu\text{g/L}$, que é o limite máximo permitido pela Instrução Normativa nº13 de 21 de junho de 2005. Destas, duas são aguardentes de cana industrial com marca, quatro cachaças de alambique com marca e quatro cachaças de alambique não registradas. Nas cachaças armazenadas, foram feitas análises para quantificação do carbamato de etila em todas as amostras coletadas nos tempos de estocagem de zero dia e 7, 21, 42 e 90 dias. Comparando os valores dos diversos recipientes de armazenamento, sem a separação por marca, foi possível perceber que o aumento do teor de carbamato de etila em madeira é de 23,15 %, em vidro transparente é de 53,96 % e em vidro âmbar é de 69,42 % até 90 dias. Sugere-se que mais estudos devem ser feitos ao longo da produção da cachaça para se obter melhor entendimento e implementar alterações de forma a minimizar a formação do carbamato de etila.

ABSTRACT

LELIS, Viviane Gomes, M.S., Universidade Federal de Viçosa, August, 2006.
Occurrence of ethyl carbamate and its formation in *caçaça* and in industrial sugar cane spirit. Adviser: José Benício Paes Chaves. Co-Advisers: Luís Antônio Minim and Nilda de Fátima Ferreira Soares.

It was studied the influence of storage time in wood casks, in amber glass containers and in transparent glass bottles in the formation of ethyl carbamate in *caçaça*. It was also verified the occurrence of ethyl carbamate, volatile acidity and alcoholic degree levels in *caçaça* and in industrial sugar cane spirit, relating them to the Brazilian State where the beverage was produced, to the establishment type (registered or not registered) and to the production system (distillation in copper alembic or in stainless steel columns). Analyses of volatile acidity and alcoholic degree levels were accomplished as methodology described by the Ministry of Agriculture, Livestock and Provisioning. Ethyl carbamate contents were determined by gas chromatography combined with mass spectrometry (GC/MS) in selected ion monitoring (SIM) mode, with external standard for quantification. *Caçaça* alcoholic degree levels varied from 32.4 to 50.3 °GL, with average value of 40.4 °GL. It was verified that 16 (21.3 %) out of 75 samples presented alcoholic degree lower than 38 °GL, which is the minimum value required by effective legislation. Only one *caçaça* sample was higher than 48 °GL, the legal upper limit for this beverage. Among the 75 analyzed samples, 24 (32%) presented volatile acidity value above the legal upper limit. Ethyl carbamate values of the 75 samples varied from 20.13 to 948.23 µg/L, with an average of 383.71

$\mu\text{g/L}$. Only 10 (13.3 %) out of the 75 samples presented ethyl carbamate levels lower than 150 $\mu\text{g/L}$, which is the upper limit allowed by June 13th, 2005, Brazilian Ministry of Agriculture Normative Instruction, to be effective in July, 2010. Among those 10 samples, 2 were from Brazilian industrial sugar cane spirits, 4 were *cachaça* with registered marks and 4 of them were *cachaça* not registered. As for ethyl carbamate formation during *cachaça* storage it was quantified at time zero (not more than 6 to eight hours after distillation), and at 7, 21, 42 and 90 days storage. Ethyl carbamate average values across samples increased 23.1 % in *cachaça* from wood casks, 54.0 % for transparent glass bottles and 69.4 % for amber glass bottles, at 90 days storage, as compared to time zero. Results and observations in this research lead to the suggestion that more studies shall be done to better understand ethyl carbamate formation along *cachaça* production process. This will make it possible to organize and implement corrective measures to bring its level to meet national and international regulatory limits.

1. INTRODUÇÃO GERAL

A demanda por bebidas destiladas de melhor qualidade e segurança ao usuário é crescente. Tem sido observado um grande progresso do setor produtivo no sentido de implementar tecnologias que melhorem a garantia da qualidade do que se produz.

Mediante esta realidade o Ministério Agricultura, por meio da Instrução Normativa Nº 13 de 29 de junho de 2005, aprovou o novo Regulamento Técnico para fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para Aguardente de Cana e para Cachaça. Este regimento trouxe mudanças nas exigências de qualidade destas bebidas destiladas, como a inclusão do limite de 150µg/L de carbamato de etila (BRASIL, 2005a).

O carbamato de etila pode ser encontrado em vários alimentos e bebidas fermentadas, como vinhos, saquê, uísques, aguardentes, pães, azeitonas, iogurtes, etc. A presença deste composto é uma preocupação para os produtores na atualidade, pois é potencialmente carcinogênico.

Nos últimos anos, várias pesquisas vêm sendo desenvolvidas para elucidar as causas da formação do carbamato de etila nas bebidas, principalmente no uísque e no vinho, com o objetivo de controlar seu aparecimento durante o processo produtivo.

No Brasil, a grande preocupação é com a cachaça e a aguardente de cana que, mediante alguns estudos, evidenciaram teores de carbamato de etila acima do limite estabelecido pela legislação vigente. Este fato pode representar uma barreira para as exportações do produto para varios países, principalmente os localizados na Europa e América do Norte.

Sendo assim, se faz necessário aprofundar os estudos sobre a formação do carbamato de etila em cachaça e aguardente de cana, uma vez que estes ainda se encontram insuficientes.

A qualidade destas bebidas deve sempre ser monitorada, uma vez que a legislação e os consumidores estão cada vez mais exigentes. Propriedades importantes da cachaça relacionadas à qualidade são, por exemplo, a acidez volátil e o grau alcoólico. A primeira pode elucidar se a fermentação está ocorrendo sem contaminações indesejadas, se o processo está sendo realizado de forma higiênica, entre outros. Já a segunda propriedade mencionada pode indicar se o grau alcoólico da bebida está ou não em conformidade com a legislação.

Segundo o SEBRAE – MG (2001), cerca de 85 % dos alambiques mineiros não possuem registro no Ministério da Agricultura. Embora não se conheça outro levantamento, é razoável pensar que esta proporção é semelhante nos outros Estados brasileiros produtores de cachaça de alambique. Sendo assim, é importante pesquisar cachaças e aguardentes de cana produzidas com registros e sem registros, aqui denominada não registrada, como foi feito neste estudo.

Diante do exposto, esta pesquisa teve como objetivos avaliar a ocorrência de carbamato de etila relacionando-o aos Estados onde foi produzida a bebida, ao tipo de estabelecimento (registrado ou não registrado) e ao sistema de produção (destilação em alambique de cobre, a cachaça de alambique, ou em coluna de aço inoxidável). Ao mesmo tempo, verificar a influência do tempo de armazenamento em tonéis de madeira, em recipientes de vidro âmbar e de vidro transparente na formação do carbamato de etila em cachaça de alambique.

Especificamente os objetivos foram:

a) Determinar carbamato de etila em amostras representativas de cachaça de alambique e de aguardente de cana industrial, produzidas em estabelecimentos registrados ou não registrados (no Ministério da Agricultura) da região sudeste do Brasil;

b) Determinar a acidez e o grau alcoólico de amostras de cachaça de alambique e de aguardente de cana industrial produzidas em estabelecimentos registrados ou não registrados;

c) Monitorar a formação de carbamato de etila de cachaça de alambique durante o armazenamento em tonéis de madeira, em recipientes de vidro âmbar e de vidro transparente.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Qualidade da aguardente de cana

2.1.1. Generalidades

A Instrução Normativa N° 13 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, de 29 de junho de 2005 define: “Aguardente de Cana é a bebida com graduação alcoólica de 38 % vol (trinta e oito por cento em volume) a 54 % vol. (cinquenta e quatro por cento em volume) a 20 °C (vinte graus Celsius), obtida do destilado alcoólico simples de cana-de-açúcar ou pela destilação do mosto fermentado de cana-de-açúcar, podendo ser adicionada de açúcares até 6 g/L (seis gramas por litro), expressos em sacarose” e “Cachaça é a denominação típica e exclusiva da Aguardente de Cana produzida no Brasil, com graduação alcoólica de 38 % vol (trinta e oito por cento em volume) a 48% vol (quarenta e oito por cento em volume), a 20 °C (vinte graus Celsius), obtida pela destilação do mosto fermentado de cana-de-açúcar com características sensoriais peculiares, podendo ser adicionada de açúcares até 6 g/L (seis gramas por litro), expressos em sacarose.”

Segundo CARDELLO e FARIA (1998), há no Brasil poucos estudos sobre a qualidade da aguardente de cana de açúcar. Porém em virtude das exigências dos mercados interno e externo, cresce a preocupação com a qualidade do produto.

Um importante instrumento para o monitoramento da qualidade da cachaça é a realização de análises físico-químicas, possibilitando a manutenção destas

características em níveis considerados adequados e a identificação de componentes indesejáveis na bebida, dentre outros aspectos (SEBRAE – MG, 2001).

A qualidade da aguardente de cana no Brasil é regulamentada pela Instrução Normativa N° 13, de 29 de junho de 2005 (BRASIL, 2005a) e pelo Decreto Federal nº 2314, de 04 de setembro de 1997, que dispõem sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas (BRASIL, 1997).

Segundo SILVA et al. (2003), a qualidade da cachaça somente é produzida e controlada se a indústria conhecer o processo e o produto, sem mitos e credices, ou seja, produzir com tecnologia, sobretudo com uma consciência ampla de qualidade entre todos os membros do sistema de produção.

No decorrer de todo o processo de fabricação de bebida alcoólica são originados diversos compostos secundários, dentre eles aldeídos, álcoois, ácidos e ésteres, denominados de compostos secundários. Estes apresentam importância na determinação da qualidade do produto final (NAGATO et al., 2001). Além destes compostos, é importante mencionar que algumas substâncias tóxicas, como o carbamato de etila e a presença de cobre, também podem comprometer a qualidade da bebida (LABANCA, 2004).

2.1.2. Acidez

Os ácidos estão entre os componentes da aguardente denominados produtos secundários da fermentação alcoólica. A acidez da aguardente de cana pode variar dentro de uma ampla faixa, dependendo do controle do processo de fermentação, relacionado a diversos fatores, como: estirpe da levedura predominante no pé-de-cuba, pureza da fermentação, tempo e temperatura de fermentação, e o manejo do vinho. O ácido acético é o principal componente da fração ácida das aguardentes (SILVA et al., 2003).

A acidez volátil em aguardentes de cana, expressa em miligramas de ácido acético por cem mililitros de álcool anidro, tem como valor máximo permitido de 150 (BRASIL, 2005b). Níveis elevados de acidez volátil na cabeça são considerados indicativos de más condições higiênicas nos ambientes de moagem da cana e de fermentação do mosto. Isto pode ocorrer como resultado de contaminação do mosto por bactérias da fermentação acética.

2.1.3. Carbamato de etila em aguardentes de cana

O Ministério da Agricultura, por meio da Instrução Normativa N° 13 de 29 de junho de 2005, promoveu mudanças nas exigências desta bebida, como a inclusão do limite de 150 µg/L do contaminante carbamato de etila (BRASIL, 2005a).

O carbamato de etila é um carcinógeno conhecido para animais em testes de laboratório, o que significa que ele pode ser considerado como um potencial carcinogênico para o homem (SCHLATTER e LUTZ, 1990; FIELD e LANG, 1988; MIRVISH, 1968).

Como um composto biologicamente ativo, foi primeiramente utilizado como hipnótico, anestésico e também como co-solvente em algumas sínteses de fármacos. Em testes de toxicidade em animais, foi verificado ser um causador de adenomas pulmonares (FIELD e LANG, 1988), papilomas de pele, linfomas malignos, hepatomas, carcinomas mamários, tumores de ovários, hemangiomas hepáticos e tumores melanóticos de pele e de íris, entre vários outros. Desta forma, há um consenso que o teor de carbamato de etila em alimentos deva ser o menor possível (BOSCOLO, 2001).

NOVAES (1996), em uma revisão de literatura sugeriu que a quantidade máxima de carbamato de etila supostamente tolerável na ingestão diária de seres humanos seria de 0,3 µg/Kg de peso corpóreo. Sendo assim, por exemplo, uma pessoa com 60 kg poderia ingerir diariamente aproximadamente 18 µg de carbamato de etila, o equivalente a 100 mL (cerca de uma dose e meia) de aguardente que tivesse 180 µg/L de carbamato de etila.

Em 1972, o Comitê da FAO/WHO de especialistas em aditivos para alimentos suspendeu o uso do conservante dietil pirocarbonato em alguns tipos de produtos, como sucos de frutas, cervejas e vinhos, pois ao reagir com amônia naturalmente presente no meio, levava a um aumento nos teores de carbamato de etila nessas bebidas (NAGATO et al., 2003). Em 1985, o Canadá estabeleceu limites para carbamato de etila em bebidas alcoólicas por meio do “Health and Welfare Department”: vinho de mesa 30 µg/L; vinhos fortificados (tipos do Porto e “jerez”) 100 µg/L; bebidas destiladas 150 µg/L; aguardentes de frutas e licores 400 µg/L (NAGATO et al., 2003; ANDRADE-SOBRINHO et al., 2002; NOVAES, 199_). Em maio de 1988, na França, após vários estudos organizados pela O. I. V. (Office Internationale de la Vigne e du Vin) sobre o carbamato de etila, pesquisadores concluíram que ainda não era possível propor limites

para o composto em questão. Sugeriram que novos trabalhos deveriam ser conduzidos no país (França) para se obter melhor avaliação sobre o risco causado pelo consumo desses produtos e para se obter solução adequada para a redução ou a eliminação deste composto (NAGATO et al., 2003). No ano seguinte, em 1989, nos Estados Unidos, foi feito um acordo entre a FDA (Food and Drug Administration) e os produtores de vinhos e bebidas destiladas estabelecendo um plano de redução dos níveis de carbamato de etila nas bebidas. A partir de janeiro de 1989, os limites para carbamato de etila foram assim fixados: uísques (125 µg/L), vinhos de mesa (15 µg/L) e vinhos aperitivos (60 µg/L) (NAGATO et al., 2003; NOVAES, 199_). Segundo ANDRADE-SOBRINHO et al. (2002), o FDA publicou nota na qual os produtores de uísque americano se comprometeram, a partir de março de 1990, a limitar o teor de carbamato de etila em 125 µg/L.

No Brasil, este assunto foi mencionado pela primeira vez em 1991, no Simpósio Sobre Produção e Qualidade das Aguardentes, realizado na UNESP, Campus de Jaboticabal. Nesta oportunidade foi recomendada a não utilização da uréia como coadjuvante da fermentação em destilarias de aguardente de cana, visto que esta amida é um grande precursor do carbamato de etila (POLASTRO et al., 2001; NOVAES, 1996). Em 29 de junho de 2005, por meio da Instrução Normativa Nº 13, o Carbamato de Etila passa a ter seu limite definido em quantidade não superior a 150 µg/L, na aguardente de cana e na cachaça de alambique (BRASIL, 2005a), exigência esta proposta para entrada em vigor a partir de junho de 2010.

Segundo LABANCA (2004), os teores mais elevados de carbamato de etila estão associados às bebidas alcoólicas, porém, teores mais baixos estão relacionados a alimentos fermentados, como pães, iogurtes e molho de soja.

O carbamato de etila ou uretana é encontrado naturalmente, em baixas concentrações (traços) em diferentes bebidas alcoólicas e em alguns alimentos fermentados (NAGATO et al., 2000; BERTRAND et al., 1990; AYLOTT et al., 1987). Em aguardentes de frutas são encontrados os valores mais elevados de carbamato de etila. Por exemplo, em aguardentes de cereja, damasco ou ameixa tem-se encontrado valores desde 100 até cerca de 5000 µg/L, podendo até alcançar 12000 µg/L. Quando se observa uísques, o do tipo “Bourbon” normalmente contém teores de carbamato de etila, sendo que alguns chegam a cerca de 100 µg/L. São detectados teores de carbamato de etila bem baixos em cerveja, até 6,6 µg/L. Os valores de carbamato de etila normalmente encontrados em vinhos de mesa variam desde não detectados até 30 µg/L.

Todavia, foram detectados valores de carbamato de etila de até 60 µg/L em vinhos com maior concentração de álcool etílico (fortificados). Em saquês foram detectados teores de carbamato de etila desde menores de que 5 até 60 µg/L. Alimentos fermentados possuem teores bem baixos de carbamato de etila, geralmente de não detectado até 5 µg/kg. Mas, em pães, 12 µg/kg, e molhos de soja podem conter quantidades maiores, até 60 µg/kg. Nas aguardentes de cana brasileiras são encontrados altos níveis de carbamato de etila, variando desde 100 µg/L até 1.500 µg/L (NAGATO et al., 2003).

Carbamato de etila (fórmula molecular H₂NCOOC₂H₅), uretana ou etiluretana é o éster etílico do ácido carbâmico e se apresenta na forma de cristal incolor, inodoro, de sabor salino refrescante e levemente amargo (Figura 1). Apresenta ponto de fusão entre 48° e 50 °C, ponto de ebulição entre 182° e 184 °C (NAGATO et al., 2003; NOVAES, 1996) e massa molar 89,09 g/mol. É muito solúvel em água, álcoois, éter, cetonas, ésteres e solventes clorados. A solução aquosa é neutra. O modo de se preparar o carbamato de etila é por meio do aquecimento de uréia com álcool etílico sob pressão (NAGATO et al., 2003).

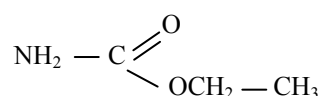
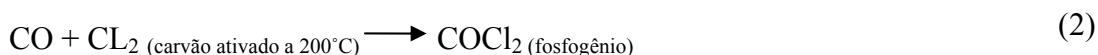
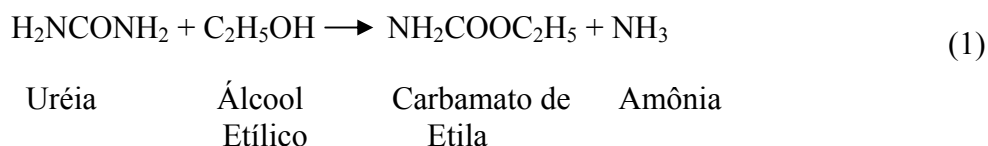


Figura 1 – Estrutura química do carbamato de etila.

Segundo ARESTA et al. (2001), o carbamato de etila é obtido industrialmente pela reação direta de uréia com etanol (Eq. 1). LABANCA (2004) acrescenta que outra forma industrial de obtenção é a partir do fosfogênio e da cianamida. Através deste último, o processo inicia-se com uma reação entre o monóxido de carbono e o cloro, conforme as reações ilustradas abaixo (Eq. 2 e 3).



De maneira natural, em bebidas destiladas, a formação do carbamato de etila pode ocorrer antes, durante e após a etapa de destilação pela reação do etanol com alguns compostos nitrogenados. NAGATO et al. (2003) completam que o produto fermentado aquecido, como em bebidas destiladas, tem o seu nível de carbamato de etila aumentado ainda mais. Esta formação é dependente da concentração dos reagentes, temperatura, pH, luz e tempo de armazenamento.

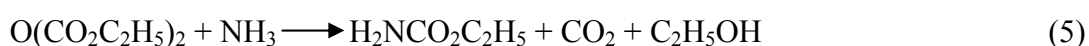
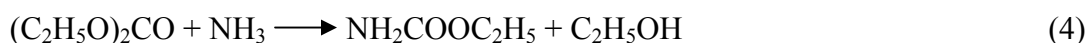
Em pesquisa realizada por ANDRADE-SOBRINHO et al. (2002), das 126 amostras de cachaça analisadas em relação ao teor de carbamato de etila, 34 foram destiladas em alambique e 69 em coluna (para as demais amostras não foi possível a obtenção desta informação). Com os resultados, as amostras destiladas em alambique representaram um maior percentual com teor de carbamato de etila menor ou igual a 150 µg/L. Nas faixas de concentração entre 401 a 1000 µg/L e acima de 1000 µg/L, notou-se um crescente aumento percentual das amostras destiladas em coluna. Referindo-se aos teores médios de carbamato de etila, as amostras destiladas em alambique foram de 630 µg/L e em coluna foi de 930 µg/L.

2.1.4. Formação de carbamato de etila em alimentos e bebidas alcoólicas

2.1.4.1. Formação de carbamato de etila a partir de dietil piracarbonato e amônia e a partir de carbonato de dietila

Pesquisas sobre a formação do carbamato de etila em alimentos começaram no início da década de 70. Esta formação a partir do carbonato de dietila, um aditivo de alimento usado para controlar atividade microbiana, foi proposta por reagir com amônia presente em vinhos (Eq. 4) (ARESTA et al., 2001).

BATTAGLIA et al. (1990), em sua revisão defende que nesta mesma época foi demonstrada que a decomposição do dietil piracarbonato (DEPC) na presença de amônia produziria o carbamato de etila. Esta evidência levou a severas restrições para o uso de DEPC como um aditivo alimentar antimicrobiano e, em alguns casos, foi banido totalmente o seu uso. Esta reação de formação do carbamato de etila pode ser visualizada na equação (Eq. 5).



Estes não são os únicos caminhos para a formação do carbamato de etila. Como um problema de fato, o carbamato de etila pode ser formado seguindo diferentes rotas, de acordo com a natureza do alimento ou bebida considerado e dos precursores disponíveis na matéria-prima (ARESTA et al., 2001).

2.1.4.2. Formação de carbamato de etila a partir da uréia, seus derivados e outros

Como fonte de nitrogênio para as leveduras, a uréia, no passado, era adicionada à dorna de fermentação. Porém, atualmente sabe-se que não é aconselhável, pois este composto pode reagir com o etanol produzindo o carbamato de etila, o qual é considerado carcinogênico. Sendo assim, ela não é mais utilizada (LABANCA, 2004).

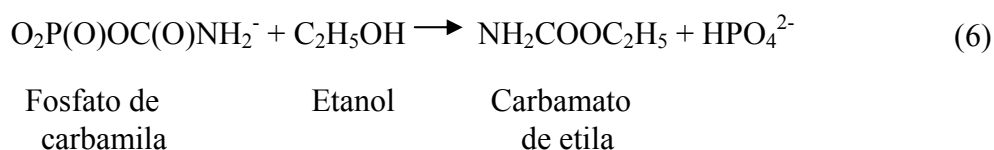
A elevação da temperatura nas etapas do processamento do produto acelera a formação de carbamato de etila (ARESTA et al., 2001; AYLOTT et al., 1990; BATTAGLIA et al., 1990). Em pesquisas realizadas no Canadá, percebeu-se que a uréia poderia contribuir para a formação do carbamato de etila, mas que também, quando não adicionada, esta formação também ocorria (POLASTRO, et al., 2001; BATTAGLIA et al., 1990). A uréia é um metabólito natural na rota dos aminoácidos (ex.: arginina) e do ácido nucléico, e esta deve ser assumida estar presente, embora em pequenas quantidades, na maioria dos processos fermentativos. Assim, há a possibilidade de formação do carbamato de etila em todas as fermentações alcoólicas (NAGATO et al., 2003; BATTAGLIA et al., 1990).

Derivados naturais da uréia ou precursores como alantoína, ácido β -ureidopropiônico, citrulina (BATTAGLIA et al., 1990; MACKENZIE et al., 1990) e vários N-carbamil α -aminoácidos têm sido mostrados como precursores do carbamato de etila, mas somente em modelos experimentais (AYLOTT et al., 1990; BATTAGLIA et al., 1990). Muitos destes compostos, como a uréia, o fosfato de carbamila, os N-carbamil aminoácidos e a citrulina, são encontrados no vinho e podem reagir com o etanol em pH ácido, formando o carbamato de etila (NAGATO et al., 2003).

De fato, em estudos posteriores, a formação de carbamato de etila em vinhos foi correlacionada com a concentração de uréia e a produção aumentou substancialmente com o aumento da temperatura. A maioria da uréia produzida no vinho vem da degradação da arginina via atividade catabólica da arginase. Altos níveis de uréia podem ocorrer em vinhos produzidos a partir de uvas com altas quantidades de arginina

(ARESTA et al., 2001). De acordo com BATTAGLIA et al. (1990), a uréia, surgindo a partir da quebra da arginina, é responsável por 40 a 50% do carbamato de etila formado durante a fermentação do suco de uva “Chardonnay”.

Fosfato de carbamila (FC) produzido pelo fermento (*Saccharomyces cerevisiae*) pode reagir com etanol para gerar carbamato de etila em vinho (Eq. 6). FC vem da síntese da arginina catalisada pela carbamil sintase envolvendo ATP, CO₂ e amônia (ARESTA et al., 2001; BATTAGLIA et al., 1990).



A formação de carbamato de etila em bebidas destiladas antes da destilação provavelmente segue o mesmo caminho apresentado e proposto para vinhos, mas esta contribuição para a quantidade final não é significativa, porque o carbamato de etila tem um ponto de ebulição de 185 °C e o processo de destilação remove quase todo carbamato de etila formado (ARESTA et al., 2001).

2.1.4.3. Formação de carbamato de etila a partir do cianeto

Na década de 80, estudos mostraram que em brandies de cereja e de ameixa o carbamato de etila não estava sendo formado em sua maior parte na trituração ou durante a destilação, mas principalmente no destilado. Embora níveis de carbamato de etila poderiam estar reduzidos significativamente em destilados frescos, a formação novamente do carbamato de etila ocorreu durante o armazenamento, especialmente com a exposição à luz. Mais tarde, outros trabalhos mostraram que o ar (oxigênio) é essencial para a formação do carbamato de etila (BATTAGLIA et al., 1990).

Armazenamento de destilados em garrafas de vidro verde ou marrom, tanto no escuro quanto sob várias fontes de luz, demonstrou que um processo fotoquímico deve estar envolvido. Armazenar em garrafas de vidro marrom (ou outro recipiente que tenha ausência de luz em seu interior) mostrou ser a mais eficiente medida para supressão da formação do carbamato de etila (BATTAGLIA et al., 1990).

O passo inicial (Eq. 7) na formação do carbamato de etila é pensado envolver a oxidação do cianeto para cianato. O carbamato de etila é então formado pela bem

conhecida reação (Eq. 8) de cianato e álcoois formando o carbamato de etila (NAGATO et al., 2003; BATTAGLIA et al., 1990).



A necessidade da presença de uma espécie oxidante tem sido confirmada com a formação do carbamato de etila no escuro pela adição de diacetil ou peróxido de hidrogênio em soluções então estáveis de etanol, cianeto e diacetil (BATTAGLIA et al., 1990). Christoph et al. (1987), citado por BATTAGLIA et al. (1990), também propuseram que peróxidos ou radicais livres resultantes de fontes como benzaldeído e íons cúprico poderiam participar da reação de formação de carbamato de etila na presença de luz.

O íon cianeto (CN^-) tem sido indicado como o mais importante precursor do carbamato de etila em bebidas destiladas (MACKENZIE et al., 1990). Este íon é formado pela ação enzimática e clivagem térmica de glicosídeos cianogênicos. A cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.), a matéria-prima para cachaça, é classificada como colheita cianogênica, sendo que esta fonte específica de cianeto ainda é desconhecida (ARESTA et al., 2001).

Duas rotas químicas têm sido propostas ser as mais prováveis de ocorrer para a formação do carbamato de etila a partir do cianeto. A primeira é baseada na complexação do cianeto pelo Cu^{++} , proveniente do aparelho destilador, seguida pela oxidação a cianogênio, com subsequente desproporcionamento para cianato. O cianato pode reagir com etanol e formar o carbamato de etila (Esquema 1). O cobre é mais comumente liberado do equipamento de destilação, alambique, coluna ou parte deles, pela corrosão (BOSCOLO, 2001).

Esquema 1



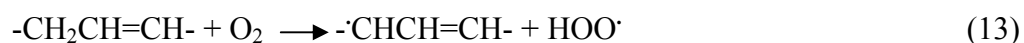


Diferentes espécies de complexos aniônicos cobre-cianeto (CuCN , $\text{Cu}(\text{CN})_2^-$, $\text{Cu}_2(\text{CN})_3^-$ e $\text{Cu}_3(\text{CN})_4^-$) foram detectados na panela de destilação, apoiando a idéia de que a formação do carbamato de etila poderia iniciar durante a etapa de destilação (BATTAGLIA et al.,1990).

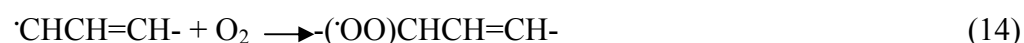
A segunda via é baseada na própria oxidação sob a luz UV de compostos insaturados presentes em bebidas alcoólicas, os quais produzem radicais livres (orgânicos ou hidroperóxidos), o qual catalisa a oxidação de cianeto a cianato (Esquema 2) (ARESTA et al.,2001).

Esquema 2

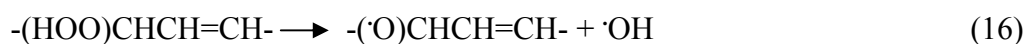
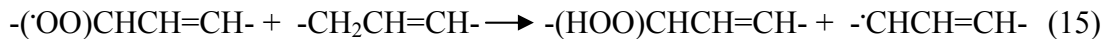
Período de iniciação



Período de propagação



Período da oxidação própria



Hipótese de formação do carbamato de etila



Os fatores que influenciam a formação do carbamato de etila a partir do cianeto são: pH, luz, quantidade de etanol, temperatura e concentração de íons Cu^{++} em bebidas.

Há indicações de que todo o carbamato de etila é formado entre 24 e 48h após a destilação (ARESTA et al., 2001).

Vários fatores ainda requerem pesquisas para elucidar as reações que geram o carbamato de etila a partir de precursores nitrogenados em bebidas destiladas e a regra dos íons metálicos (Cu, e outros) (ARESTA et al., 2001).

2.1.5 Metodologia para a detecção do carbamato de etila em bebidas

Um diverso número de técnicas tem sido descrito na literatura para análise de carbamato de etila em bebidas alcoólicas. A cromatografia gasosa é a técnica mais empregada, utilizando-se colunas capilares e sistemas seletivos de detecção (NAGATO et al., 2003).

A teoria da Cromatografia em Fase Gasosa encontra-se bem estabelecida desde o início da década de 60 (LANÇAS, 1993). Gases ou substâncias volatilizáveis podem ser separados utilizando esta técnica (COLLINS, 1997).

Devido ao fato de bebidas fermento-destiladas, em geral, serem matrizes complexas, freqüentemente são detectados mais de 400 compostos na faixa de concentração inferior a 1000 µg/L, por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (GC-FID) (BOSCOLO, 2001).

Os detectores de massa apresentam diversas vantagens em relação a outros detectores pela razão de apresentarem grande seletividade, sensibilidade e do fato de poderem fornecer informações estruturais a respeito dos compostos eluídos da coluna. Isto possibilita a identificação inequívoca da grande maioria dos compostos de interesse em cromatografia gasosa (LANÇAS, 1993).

Para a quantificação de carbamato de etila, os trabalhos utilizando GC/MS (cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa) fazem o Monitoramento Seletivo dos Íons (modo MSI), característicos do espectro de massa para este composto. São selecionados os seguintes íons de massa: m/e 44, 62, 74 e 89 e outros íons de alguns isótopos quando esses são usados como padrão interno (NAGATO et al., 2003).

Em trabalho desenvolvido por ANDRADE-SOBRINHO et al. (2002), testes preliminares revelaram que o carbamato de propila, geralmente usado como padrão interno na determinação de carbamato de etila, em solução etanólica pode sofrer transesterificação. Mediante isto, neste trabalho optou-se pelo emprego do método do padrão externo, com o carbamato de etila, para quantificação.

Alguns padrões internos utilizados incluem: carbamatos de metila, de n-propila, de n-butila, de n-terc-butila (BATAGLIA et al., 1990).

Bebidas destiladas como uísque, aguardente não adoçada, conhaque, gim, rum e vodka contendo pouca quantidade de sólidos, podem ser injetadas diretamente ao sistema de cromatografia sem prévia extração, ou com mínima preparação da amostra. Amostras contendo significantes quantidades de interferentes, como vinhos, cervejas, saquês, licores e similares, requerem as fases de extração e purificação antes de serem injetadas no cromatógrafo (NAGATO et al., 2003).

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE-SOBRINHO, L. G. de; BOSCOLO, M.; LIMA-NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Carbamato de etila em bebidas alcoólicas (cachaça, tiquira, uísque e grapa). **Quím. Nova.** [online]. nov./dez. 2002, vol.25. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422002000700005&lng=pt&nrm=iso> . Acesso em: 20 de junho de 2004.

ARESTA, M.; BOSCOLO, M.; FRANCO, D. W. Cooper (II) catalysis in cyanide conversion into ethyl carbamate in spirits and relevant reactions. **J. Agric.Food Chem.**, Washington, v. 49, n. 6, p. 2819-2824, 2001.

AYLOTT, R. I.; COCHRANE, G. C.; LEONARD, M. J.; MACDONALD, L. S.; MACKENZIE, W. M.; MCNEISH, A. S.; WALKER, D. A. Ethyl carbamate formation in grain based spirits. Part I: Post-distillation ethyl carbamate formation in maturing grain whisky. **J. Inst. Brew.**, London, v. 96, n. 4, p. 213-221, 1990.

AYLOTT, R. I.; MCNEISH, A. S.; WALKER, D. A. Determination of ethyl carbamate in distilled spirits using nitrogen specific and mass spectrometric detection. **J. Inst. Brew.**, London, vol. 93, n. 5, p. 382-386, 1987.

BATTAGLIA, R.; CONACHER, R. B. S.; PAGE, B. D. Ethyl carbamate (urethana)in

alcoholic beverages and foods: a review. **Food Addit. Contam.**, London, v. 7, n. 4, p. 477-496, 1990.

BERTRAND, A.; BERTSCH, K.; SEGUR, M. C. **Elimination du précurseur du carbamate d'éthyle dans les eaux-de-vie de vin.** In: 1° Symposium International sur les eaux-de-vie traditionnelles d'origine viticole, Lavoisier – TEC & DOC, Paris, 1990. p. 189 – 194.

BOSCOLO, M. **Caramelo e carbamato de etila em aguardente de cana. Ocorrência e quantificação.** São Paulo, 2001. 100 f. Tese (Doutorado em Ciências em Química Analítica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2001.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Instrução Normativa N° 13 de 29 de junho de 2005. Regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para aguardente de cana e para cachaça. **Diário Oficial** (da República Federativa da Brasil), Brasília, n. 124, quinta-feira, 30 de junho de 2005. Seção 1.(a)

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria n° 76, de 26 de novembro de 1986. **Dispõe sobre métodos analíticos de bebidas e vinagres.** Disponível em: <www.agricultura.gov.br>. Acesso em: 25/09/2005.(b)

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto n° 2314, de 04 de setembro de 1997. **Regulamenta a Lei n° 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas.** D.O.U. - Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 05 de setembro de 1997.

CARDELLO, H. M. A. B. e FARIA, J. B. Análise descritiva quantitativa da aguardente de cana durante o envelhecimento em tonel de carvalho (*Quercus alba* L.). **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, Maio/Jul. 1998, vol.18, no.2, p.169-175.

COLLINS, C. H. **Introdução a métodos cromatográficos.** 7. ed. Campinas: Editora da UNICAMP, 1997. 279 p.

FIELD, K. J.; LANG, C. M. **Hazards of urethane (ethyl carbamate): a review of the literature.** *Laboratory Animals*, London, V. 22, n. 3, p. 255-262, 1988.

LABANCA, R. A. **Teores de carbamato de etila, cobre e grau alcoólico em aguardentes produzidas em Minas Gerais.** 2004, Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Faculdade de Farmácia. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2004.

LANÇAS, F. M. **Cromatografia em fase gasosa.** São Carlos: Acta, 1993. 254 p.

MACKENZIE, W. M.; CLYNE, A. H.; MACDONALD, L. S. Ethyl carbamate formation in grain based spirits. Part II The identification and determination of cyanide related species involved in ethyl carbamate formation in scotch grain whisky. **J. Inst. Brew.**, London, July/August, 1990, Vol. 96, n. 4, p. 223-232.

MIRVISH, S. S. The carcinogenic action and metabolism of urethane and *N*-hydroxyurethane. **Advances in cancer Research.** Vol. 11, 1968. Academic Press, New York and London.

NAGATO, L. A. F.; NOVAES, F. V.; PENTEADO, M. de V. C. Carbamato de etila em bebidas alcoólicas. **Bol. SBCTA**, Campinas, 37(1): 40-47, jan.-jun. 2003.

NAGATO, L. A. F.; DURAN, M. C.; CARUSO, M. S. F.; BARSOTTI, R. C. F.; BADOLATO, E. S. G. Monitoramento da autenticidade de amostras de bebidas alcoólicas enviadas ao Instituto Adolfo Lutz em São Paulo. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 21 (1) : 39-42, jan.-abr. 2001.

NAGATO, L. A. F.; SILVA, O. A.; YONAMINE, M.; PENTEADO, M. de V. C. Quantification of ethyl carbamate (EC) by gas chromatography and mass spectrometric detection in distilled spirits. **Alimentaria, Revista de tecnologia e higiene de los alimentos**, Madrid, n. 311, p. 31-36, abril 2000.

NOVAES, F. V. **Carbamato de etila em aguardente de cana.** Piracicaba: Escola

Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, 1996. 11 p. Publ. Interna.

NOVAES, F. V. **Carbamato de etila em aguardente de cana.-Tópicos.** Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, [199_]. 7 p. Publ. Interna.

POLASTRO, L. R.; BOSO, L. M.; ANDRADE-SOBRINHO, L. G.; LIMA-NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Compostos nitrogenados em bebidas destiladas: cachaça e tiquira. *Ciênc. Technol. Aliment.*, Campinas, 21(1): 78-81, jan.-abr. 2001.

SEBRAE-MG. **Diagnóstico da cachaça de Minas Gerais.** Belo Horizonte, 2001. 241 p. Disponível em: <<http://www.sebraemg.com.br>>. Acesso em: 04 agosto 2005.

SCHLATTER, J. e LUTZ, W. K. The carcinogenic potential of ethyl carbamate (urethane): risk assessment at human dietary exposure levels. *Food Chem. Toxicol.*, Oxford, Vol.28, No. 3, p. 205-211. 1990.

SILVA, C. A. B.; CHAVES, J. B. P.; FERNANDES, A. R. Projetos de Empreendimentos Agroindustriais. Produtos de origem vegetal. In: CHAVES, J. B. P.; FERNANDES, A. R.; SILVA, C. A. B. **Produção Artesanal de Cachaça de Qualidade.** Viçosa: Editora UFV, 2003. p. 59 - 118.

OCORRÊNCIA DE CARBAMATO DE ETILA EM CACHAÇAS DE ALAMBIQUE E EM AGUARDENTES INDUSTRIAIS

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo verificar a ocorrência de carbamato de etila em cachaças de alambique e aguardentes de cana industrial. Também foram determinados grau alcoólico e acidez volátil. As amostras foram de fabricantes de São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Espírito Santo e Ceará, de sistema de produção em destilador de cobre ou coluna de aço inoxidável e de estabelecimentos produtores registrados ou não registrados. As análises de acidez volátil e grau alcoólico foram realizadas conforme metodologia descrita pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Os teores de carbamato de etila foram determinados pelo método de padronização externa em sistema de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG/EM), utilizando o modo MSI (Monitoramento Seletivo de Íons) para a quantificação. Os valores obtidos para o grau alcoólico variaram de 32,4 a 49,2 °GL, sendo o teor médio de 40, 4 °GL. Observou-se que 16 (21,3 %) bebidas apresentaram o grau alcoólico abaixo de 38 °GL, que representa o valor mínimo exigido pela legislação vigente. Somente uma cachaça apresentou o grau alcoólico acima de 48 °GL, limite máximo para esta bebida. Dentre as bebidas analisadas, 24 (32 %) apresentaram acidez volátil acima do limite oficial máximo. Os valores obtidos das 75 bebidas para o carbamato de etila variaram de 20 a 948 µg/L, apresentando um teor médio de 378, 25 µg/L. Somente 10 das 75 bebidas apresentaram teores de carbamato de etila abaixo de 150 µg/L, que é o limite máximo permitido pela Instrução Normativa nº13 de 21 de junho de 2005. Destas, duas são aguardentes de cana industrial com marca, quatro cachaças de alambique com marca e quatro cachaças de alambique não registradas.

Palavras-chave: acidez, aguardente, cachaça, carbamato de etila, grau alcoólico.

ABSTRACT

OCCURRENCE OF ETHYL CARBAMATE IN BRAZILIAN CACHAÇA AND INDUSTRIAL SUGAR CANE SPIRITS

The objective in this research was to verify occurrence of ethyl carbamate and determine volatile acidity and alcoholic degree values in *cachaça* and in industrial sugar cane spirits. Beverages samples were obtained of producers from Brazilian States of São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Espírito Santo and Ceará. Seventy five beverages distilled either in still copper alembic or continuous stainless still columns were analyzed. Also, there were samples from informal establishments, not registered in Ministry of Agriculture Agency. Analyses of volatile acidity and alcoholic degree values were accomplished as methodology described by Ministry of Agriculture Agency for quality standards. Ethyl carbamate was determined by gas chromatography combined with mass spectrometry (GC/MS) in selected ion monitoring (SIM) mode, with external standard for the quantification. Alcoholic degree values varied from 32.4 to 49.2 °GL, with an average of 40.4 °GL. Sixteen out of 75 samples presented alcoholic degree values below 38 °GL, which is the minimum value required by law in Brazil. Only one *cachaça* sample presented alcoholic degree value above 48 °GL, the upper legal limit for this beverage. Twenty four out of 75 samples (32 %) presented volatile acidity levels above the upper legal limit. Values of ethyl carbamate for the 75 samples varied from 20 to 948 µg/L, with an average of 378.25 µg/L. Only 10 out of the 75 beverages presented ethyl carbamate values below 150 µg/L. This is the maximum limit to be allowed by Brazilian regulatory standards to be effective from July 2010. Among those 10 samples, 2 were industrial sugar cane spirits, 4 were *cachaça* samples registered in Ministry of Agriculture Agency, and 4 samples were not registered *cachaça*.

key Words: acidity, brazilian industrial spirits of the sugar cane, brazilian *cachaça*, ethyl carbamate, alcoholic degree.

1. INTRODUÇÃO

A aguardente de cana brasileira é uma das bebidas alcoólicas fermento-destiladas mais produzidas no mundo (NOBREGA, 2003). É um produto de importância econômica crescente, de grande aceitação no mercado nacional, justificando, desta forma, a necessidade de se conhecer a composição físico-química desse tipo de bebida (PEREIRA et al., 2003).

A cachaça é a segunda bebida alcoólica mais consumida pelos brasileiros. Estima-se o consumo de 70 milhões de doses diárias, representando em média, aproximadamente 6 L (habitante . ano⁻¹). De acordo com LIMA et al. (2006) é estimada uma produção de 1,6 bilhão de litros por ano, sendo 90% de aguardente de cana industrial e 10% de cachaça de alambique.

Devido às exigências crescentes do mercado interno e externo, aumenta a preocupação com a qualidade do produto.

Um importante instrumento para o monitoramento da qualidade da cachaça é a realização de análises físico-químicas possibilitando a manutenção destas características em níveis considerados adequados (SEBRAE – MG, 2001).

A qualidade da cachaça e da aguardente de cana no Brasil é regulamentada pela Instrução Normativa N° 13, de 29 de junho de 2005 do Ministério da Agricultura, que aprova o “Regulamento Técnico para Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para Aguardente de Cana e para Cachaça” (BRASIL, 2005a) e pelo Decreto Federal n° 2314, de 04 de setembro de 1997, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o

registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas (BRASIL, 1997).

Apesar do grande volume produzido e comercializado, a qualidade de grande parte das cachaças e aguardentes de cana deixa muito a desejar, em virtude do fato de muitos leigos ou mesmo curiosos estarem à frente das unidades produtoras, executando o processo muitas vezes de maneira empírica e rudimentar, baseados no senso comum e informações errôneas que passam de pai para filho (LABANCA, 2004; BIZELLI et al., 2000).

Segundo SILVA et al. (2003), a qualidade da cachaça somente é produzida e controlada se a indústria conhecer o processo e o produto, sem mitos e credices, ou seja, produzir com tecnologia, sobretudo com uma consciência de qualidade completa entre todos os membros do sistema de produção.

No decorrer de todo o processo de fabricação da bebida são originados diversos compostos secundários, dentre eles aldeídos, álcoois, ácidos e ésteres, denominados compostos secundários. Estes apresentam importância na determinação da qualidade do produto final (NAGATO et al., 2001). Além destes compostos, é importante mencionar que algumas substâncias tóxicas, como o carbamato de etila e o cobre, também podem comprometer a segurança do produto (LABANCA, 2004).

Uma das propriedades da qualidade da cachaça e da aguardente de cana é a acidez. Segundo SILVA et al. (2003), a acidez da aguardente de cana pode variar dentro de uma ampla faixa, dependendo do controle do processo e dos ambientes de moagem e de fermentação, relacionado a diversos fatores, como: estirpe da levedura predominante no pé-de-cuba, pureza da fermentação, tempo e temperatura de fermentação, e o manejo do vinho. O ácido acético é o principal componente da fração ácida das aguardentes.

Outra importante propriedade da qualidade é o grau alcoólico, pois caracteriza a marca comercial do produto (SILVA et al., 2003). É importante elucidar o valor do grau alcoólico para verificar a legalidade da bebida.

Outro composto significativo a ser analisado em cachaça e aguardente de cana é o carbamato de etila. O carbamato de etila é um carcinógeno conhecido para animais em testes de laboratório, o que significa que ele pode ser considerado como um potencial carcinogênico para o homem (NAGATO et al., 2003; NOVAES, 1996; BATTAGLIA et al., 1990).

A Instrução Normativa Nº 13 de 29 de junho de 2005, que aprova o Regulamento Técnico para fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para

Aguardente de Cana e para Cachaça e estabelece o limite de 150 µg/L para o contaminante carbamato de etila (BRASIL, 2005a) que entrará em vigor a partir de junho de 2010.

A demanda por bebidas destiladas de melhor qualidade e segurança ao usuário é crescente. O Brasil sendo um dos maiores produtores e consumidores de bebidas alcoólicas destiladas do mundo, evidencia a importância do conhecimento dos níveis de ocorrência de uma substância potencialmente carcinogênica como o carbamato de etila, assim como o conhecimento da acidez e do grau alcoólico da bebida.

O objetivo deste trabalho foi verificar o perfil de cachaças de alambique e aguardentes de cana industrial em relação ao teor de carbamato de etila, grau alcoólico e acidez volátil, relacionando os resultados com o Estado de produção (São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Espírito Santo e Ceará), sistema de produção (em destilador de cobre ou coluna de aço inoxidável) e estabelecimento produtor (registrado ou não registrado).

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Material experimental

As bebidas são provenientes de sistema de destilação em alambique de cobre, ou em aparelho destilador composto pela predominância de cobre, considerado “alambique” ou em coluna de aço inoxidável, considerado o sistema de produção em “coluna”. Portanto, neste trabalho, quando é mencionada a expressão “cachaça de alambique”, significa aquela destilada em alambique de cobre (ou predominantemente de cobre). Já quando utiliza-se a expressão “aguardente de cana industrial”, refere-se à bebida destilada em coluna de aço inoxidável. O segundo, tipo de Estabelecimento, está associado ao fato do estabelecimento produtor ser registrado (formal) ou não registrado (informal).

Foram utilizadas 75 amostras no total, distribuídas em: 23 cachaças de alambique registradas no Ministério da Agricultura produzidas em Minas Gerais, 6 cachaças de alambique registradas no Ministério da Agricultura produzidas no Estado do Rio de Janeiro, 10 cachaças de alambique registradas no Ministério da Agricultura produzidas no Espírito Santo, 9 aguardentes de cana industrial registradas no Ministério da Agricultura de Estados variados (MG, SP, ES, CE e RJ) e 27 cachaças de alambique não registradas no Ministério da Agricultura, produzidas em Minas Gerais.

Bebidas registradas: Germana (MG), Bocaina (MG), Princesinha do Vale (MG), Seleta (MG), Olho de Boi (MG), João Mendes Prata (MG), João Mendes envelhecida em carvalho (MG), Lenda Mineira (MG), Rola Moça (MG), Rola Moça (coluna) (MG),

Guaraciaba Premium (MG), Guaraciaba (MG), Sabor de Minas (MG), Samba e Cana (MG), Bendita (MG), Rainha do Vale (MG), Boazinha (MG), Cachaça Salinas (MG), Rochinha (RJ), Paraty Cruck (RJ), Deneza (RJ), Coqueiro (RJ), Nêga Fulo (RJ), Fazenda Santa Rosa (RJ), Cerejeira (ES), Boa Esperança (ES), Ferreirinha (ES), Imigrante (ES), Imigrante envelhecida (ES), Fumacinha (ES), Fazenda Caianinha (ES), Cachoeira da Onça (ES), Thimotina (ES), Ypióca Envelhecida (CE), Ypióca Nova (CE), São Francisco (RJ), Velho Barreiro (SP), Caninha 51 (SP) e Sagatiba (SP).

As 27 cachaças de alambique não registradas foram divididas de acordo com a cidade de origem, pertencente a três das oito macrorregiões do Estado de Minas Gerais propostas pelo IBGE (2003), apresentado na Figura 1 (LABANCA, 2004). Estas cachaças foram 21 de fabricantes da zona da mata mineira, cinco da região metropolitana de Belo Horizonte e uma do Alto São Francisco.

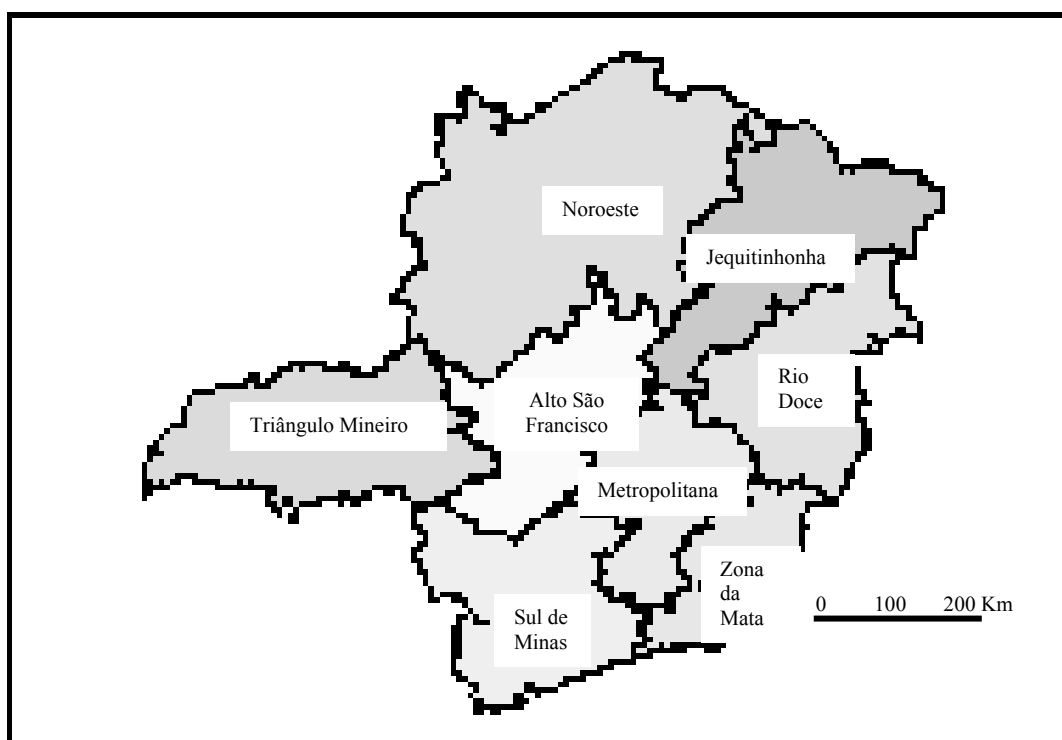


Figura 1 – Divisão do Estado de Minas Gerais em macrorregiões geográficas, segundo o censo agropecuário de 1996 (LABANCA, 2004).

2.2. Distribuição das amostras analíticas

Foram feitas análises para quantificação do carbamato de etila nas 75 bebidas. Foram consideradas bebidas diferentes aquelas com lotes distintos provenientes de um

mesmo estabelecimento produtor. Das 39 marcas comerciais (registradas no Ministério da Agricultura) adquiridas, nove tinham dois lotes. Das 26 cachaças de alambique de estabelecimentos não registrados uma tinha dois lotes.

Em 10 bebidas, que correspondem a cinco marcas comerciais de cachaças de alambique registradas no Ministério da Agricultura com dois lotes diferentes, foram realizadas análises em duplicata de três garrafas de cada lote. Neste caso, as bebidas foram adquiridas em garrafas distintas, conforme encontradas no mercado e ainda em dois lotes distintos. Porém, a divisão da produção por lotes ainda é uma prática pouco comum neste setor.

Com outras 25 bebidas registradas, que correspondem a 25 marcas com garrafas conforme as do mercado, foram realizadas análises em duplicata de três garrafas do mesmo lote. Dentre estas 25 bebidas, 18 são cachaças de alambique e sete são aguardentes industriais.

Para as bebidas que foram obtidas em garrações de vidro ou garrafas PET, sem separação em garrafas de vidro (como encontrado no mercado), mas que tinham dois lotes distintos, foi empregado o seguinte critério de análise: em oito bebidas registradas (três cachaças de alambique e uma aguardente industrial com dois lotes diferentes cada) e em duas não registradas (uma cachaça de alambique não registradas com dois lotes diferentes cada) foram realizadas análises de carbamato de etila em duplicata de cada um dos dois lotes.

As cinco bebidas registradas que chegaram ao laboratório em um único lote, sem separação em garrafas (conforme encontradas no mercado), foram analisadas em triplicata. Estas cinco bebidas correspondem a cinco cachaças de alambique registradas no Ministério da Agricultura.

As 25 bebidas restantes, cachaças de alambique não registradas, não tinham separação nem por garrafas (unidades) nem por lotes. Neste caso, cada bebida foi analisada em duplicata.

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico. O carbamato de etila (urethane) foi adquirido da Sigma-Aldrich.

2.3. Métodos

2.3.1. Determinação da acidez das bebidas

A análise de acidez volátil foi realizada conforme metodologia descrita pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, em duplicata (BRASIL, 2005b).

2.3.2. Determinação do grau alcoólico

O grau alcoólico foi determinado pelo método de densitometria em picnômetro de vidro conforme metodologia descrita pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2005b). Os picnômetros foram calibrados com água destilada, a 20 °C, e os dados coletados em duplicata. A partir da densidade foi determinado o grau alcoólico segundo a tabela de conversão presente na metodologia (BRASIL, 2005b).

2.3.3. Determinação do teor de carbamato de etila

Para a quantificação de carbamato de etila foi empregada a metodologia proposta por ANDRADE-SOBRINHO et al. (2002).

Foi empregado o método de padronização externa em sistema de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG/EM), utilizando o modo MSI (Monitoramento Seletivo de Íons) para a quantificação.

As análises foram realizadas em um cromatógrafo a gás, acoplado a um espectrômetro de massas (Shimadzu, modelo QP 5000), biblioteca Wiley 229; equipado com injetor automático split/splitless (Shimadzu, modelo, AOC-17) a 220 °C, coluna cromatográfica capilar de fase polar Supelcowax - 10 (30 m X 0,25 mm di X 0,25 µm filme), com programação de temperatura iniciando em 90 °C (permanência: 2 minutos), elevada a uma taxa de 10 °C/min até 150 °C (permanência: 2 minutos), e então elevada a uma taxa de 25,0 °C/min até 220 °C mantido por 4,20 min (Quadro 1). A temperatura da interface entre CG/EM foi de 220 °C. Hélio foi usado como gás de arraste (fluxo de 1,5 mL/min), injeção em modo splitless, sendo injetado 1 µL de amostra de forma direta. O espectrômetro de massas, com fonte de íons de impacto de elétrons a 70 eV, foi operado no modo MSI, sendo selecionados para monitoramento os íons m/z 62, 74 e 89.

Quadro 1 - Programação de temperatura do forno.

Razão	Temperatura (°C)	Tempo Mantido (min)
-	90,0	2,00
10	150,0	2,00
25	220,0	4,20

A partir de uma solução estoque de carbamato de etila a 1 mg/mL em etanol/água (40:60 v/v), foram preparadas as soluções-padrão para a construção da curva (0 – 0,4762 ng/ μ L). A quantificação foi realizada pela interpolação em curva padrão cujo coeficiente de correlação foi de 0,9939.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Acidez volátil e Grau Alcoólico das bebidas

No Quadro 2 são apresentadas as médias por bebidas da acidez volátil (em miligramas de ácido acético por 100 mililitros de amostra), do grau alcoólico (em °GL), da acidez volátil (em miligramas de ácido acético por 100 mililitros de álcool anidro) e do carbamato de etila (em µg/L).

Quadro 2 – Resultados das análises de acidez volátil, de grau alcoólico e de carbamato de etila das 75 bebidas analisadas.

Código da bebida	Acidez volátil (mg ácido acético/ 100 mL álcool anidro)	Carbamato de etila (µg/L)	Grau alcoólico (°GL)
1	280,7	383,93	34,0
2	181,6	109,89	39,8
3	60,3	270,81	38,1
4	34,7	658,22	37,8
5	80,3	551,16	43,4
6	89,6	535,94	43,4
7	114,2	630,84	44,1
8	185,6	462,37	39,8
9	119,4	475,23	38,5
10	52,5	474,94	35,1
11	55,7	151,23	38,7
12	295,3	578,75	41,5
13	114,1	412,82	40,4
14	74,9	427,00	41,1
15	241,3	360,31	34,5

Quadro 2 – Continuação

16	236,5	440,11	35,1
17	181,8	434,35	36,1
18	122,6	291,14	38,9
19	204,9	124,35	38,5
20	60,0	455,29	49,2
21	34,4	253,07	38,2
22	230,0	299,99	40,0
23	119,0	533,84	38,6
24	113,7	273,11	32,5
25	256,7	523,61	42,2
26	64,8	432,14	40,5
27	30,6	329,00	40,2
28	36,3	511,99	40,7
29	59,0	513,41	36,5
30	64,6	204,62	40,7
31	26,9	400,38	42,8
32	29,3	20,13	44,8
33	155,3	529,62	43,6
34	23,0	241,82	42,9
35	56,6	353,98	40,6
36	89,5	135,70	40,4
37	49,1	324,95	40,1
38	49,1	223,44	38,8
39	186,3	459,57	40,1
40	99,7	189,07	45,2
41	83,9	323,73	40,3
42	67,2	380,06	41,2
43	34,7	209,09	37,8
44	32,5	182,58	35,3
45	18,7	138,78	35,1
46	17,7	834,73	37,0
47	52,8	319,59	37,3
48	35,8	31,25	36,7
49	178,6	341,64	36,8
50	109,0	898,13	42,2
51	72,4	160,64	45,4
52	77,9	594,72	46,4
53	71,0	820,90	46,3
54	200,7	191,88	44,2
55	677,5	236,94	42,7
56	237,7	557,04	40,1
57	260,6	876,26	40,3
58	153,0	676,85	40,8
59	141,8	359,31	39,4

Quadro 2 – Continuação

60	183,0	393,52	41,3
61	164,1	334,59	42,0
62	207,9	378,69	47,4
63	166,2	320,35	43,5
64	161,1	514,17	40,8
65	117,2	636,34	42,0
66	66,2	174,49	39,7
67	116,7	134,44	42,2
68	71,4	948,23	41,4
69	107,5	602,77	36,7
70	50,4	85,99	39,1
71	108,9	99,07	42,2
72	50,1	345,17	39,3
73	43,4	143,59	45,4
74	61,4	208,22	42,8
75	322,2	343,04	43,8

A acidez volátil apresentou valor médio de $121,1 \pm 99,9$, com valor máximo de 677,5 e valor mínimo de 17,7 em mg ácido acético/ 100 mL álcool anidro (Quadro 2). Para o Grau alcoólico foram elucidados os seguintes resultados: média $40,5 \pm 3,3$ °GL; valor máximo 49,2 e mínimo 32,5 °GL. E para carbamato de etila foram: média $383,72 \pm 207,8$ µg/L; valor máximo 948,23 e mínimo 20,13 µg/L.

Das 75 bebidas analisadas, 24 (32 %) apresentaram acidez volátil acima do limite oficial máximo, que é de 150 miligramas de ácido acético por 100 mililitros de álcool anidro (BRASIL, 2005a). Já na pesquisa desenvolvida por PEREIRA et al. (2003), das 45 cachaças analisadas, apenas três (6,7 %) apresentaram-se fora do padrão exigido.

Das 27 bebidas não registradas, 15 (55,6 %) estão em conformidade com a legislação vigente em relação à acidez volátil. Dentre as 48 bebidas registradas, 36 (75 %) apresentam-se nesta mesma situação.

A acidez volátil elevada, em cachaças ou aguardentes, pode ser causada por vários motivos que podem ser solucionados. Após a extração do caldo da cana, as deteriorações que ocorrem no caldo antes da fermentação, prejudicam a qualidade da bebida, podendo torná-la condenável pelo excesso de acidez volátil. É importante então que não haja longa espera do vinho sem ser destilado, a fim de evitar fermentações secundárias, como a fermentação acética. Sendo assim, algumas formas para se evitar

estes inconvenientes durante a fermentação são: a manutenção da temperatura adequada (30-36°C), o uso do ambiente e equipamentos em adequadas condições de higiene, a realização da destilação imediatamente após o vinho atingir o grau zero (de açúcar), o cuidado de utilizar dornas de forma adequada para que não transbordem, o preparo do mosto com concentração adequada e a utilização de fermentos apropriados e ativos (SILVA et al., 2003).

Comparando ainda os valores encontrados da acidez volátil, as 9 bebidas produzidas com sistema de produção do tipo “coluna” estão de acordo com a legislação vigente. Já das 66 bebidas produzidas com o sistema de produção do tipo “alambique”, 36,4% apresentaram este mesmo perfil.

Os valores obtidos para o grau alcoólico das amostras dos cinco Estados variaram de 32,5 a 49,2 °GL, sendo o teor médio de 40, 4 °GL. Estes resultados mostraram uma variação menor, quando comparado ao estudo realizado por LABANCA (2004), em que se encontrou valores entre 29,2 e 57, 4 °GL.

Observou-se que 16 (51,3 %) bebidas apresentaram o grau alcoólico abaixo de 38 °GL, que representa o valor mínimo exigido pela legislação vigente. Somente uma cachaça apresentou o grau alcoólico acima de 48 °GL, limite máximo para esta bebida. Porém, não foram encontrados valores acima do limite superior que é de 54 °GL para as aguardentes (BRASIL, 2005a).

Uma das possíveis causas para uma cachaça ou aguardente com grau alcoólico abaixo do limite permitido é a prática de longas esperas do vinho antes da destilação. Este procedimento acarreta perdas por evaporação do álcool. Além disto, no caso dos processos artesanais como as bebidas não registradas, o alambiqueiro precisa ser bem treinado e se preocupar principalmente com a execução da destilação. Isto se faz necessário para que as frações (cabeça, coração e cauda) sejam obtidas conforme o padrão da bebida (SILVA et al., 2003).

O valor médio do grau alcoólico encontrado por Estado mostra que as bebidas fora da legislação vigente, ou seja, abaixo do limite mínimo, são do Ceará e de São Paulo. Já as dos Estados de Minas Gerais, Espírito Santo e Rio de Janeiro tiveram a média dentro do limite exigido. É importante ressaltar que a amostragem realizada nestes três últimos Estados é maior do que os dois citados anteriormente (Quadro 3).

Quadro 3 - Valores da média (°GL), desvio padrão e coeficiente de variação dos resultados segundo o Estado onde foi produzida a bebida.

Estado	Média	Desvio Padrão	Coeficiente de Variação
CE	36,55	1,44	3,95
ES	41,78	2,22	5,30
MG	40,76	3,43	8,42
RJ	38,37	3,78	9,84
SP	36,98	1,03	2,79

Ao se estratificar os dados médios por sistema de produção (alambique ou coluna) e por estabelecimento (registrado ou não registrado), observa-se que tanto as bebidas produzidas em alambique de cobre quanto em coluna apresentam um valor médio do grau alcoólico em conformidade com a legislação em vigor (BRASIL, 2005a) (Quadro 4).

Quadro 4 – Valores da média (°GL), desvio padrão e coeficiente de variação dos resultados segundo o sistema de produção.

Sistema de Produção	Média	Desvio Padrão	Coeficiente de Variação
Alambique	40, 56	3, 32	8,19
Coluna	39, 56	4, 06	10, 27

Em relação aos estabelecimentos não registrados e registrados os resultados médios encontrados também estão de acordo com a Instrução Normativa N° 13 de 29 de junho de 2005 (Quadro 5).

Quadro 5 – Valores da média (°GL), desvio padrão e coeficiente de variação dos resultados segundo o estabelecimento.

Estabelecimento	Média	Desvio Padrão	Coeficiente de Variação
Não registrado	41, 97	2, 83	6, 74
Registrado	39, 56	3,46	8, 74

Das 48 cachaças de alambique e aguardentes industrial elaboradas em estabelecimentos registrados, 14 apresentaram-se com grau alcoólico abaixo de 38 °GL. Este resultado indica, então, que 29,2% das bebidas registradas estão em não conformidade com a legislação vigente (BRASIL, 2005a). Já em relação às 27 não

registradas, duas bebidas estavam em desacordo com a legislação, o que equivale a 7,4% das bebidas analisadas (Quadro 2).

Analisando as cachaças e aguardentes produzidas em estabelecimentos não registrados, é possível ainda evidenciar outras informações. Mediante este grupo de dados, a média foi de 41,97 °GL. O menor valor encontrado foi de 36,65 °GL, sendo que apenas duas bebidas apresentaram o valor do grau alcoólico abaixo do limite estabelecido pela legislação vigente, ou seja, apenas 7,4 % das amostras não registradas. As outras 25 bebidas não registradas tiveram seus valores dentro da faixa exigida entre 38 e 54 °GL (BRASIL, 2005a). Isto evidencia que as amostras não registradas (7,4 % não conformes) estão seguindo melhor as exigências da legislação que as registradas (29,2 % não conforme).

Estratificando os resultados das cachaças de alambique não registradas em relação às macrorregiões do Estado de Minas Gerais, obtiveram-se os seguintes valores de grau alcoólico: das quatro cachaças analisadas provenientes da macrorregião Metropolitana, a média foi $44,26 \pm 1,70$ °GL; das 22 cachaças analisadas provenientes da Zona da Mata, a média foi de $41,61 \pm 2,87$ °GL; a cachaça analisada do Alto São Francisco teve como resultado para grau alcoólico 40,75 °GL.

Das 75 bebidas analisadas, 38 registradas apresentaram rótulo com o valor do seu respectivo grau alcoólico. Comparando os valores de grau alcoólico encontrados nas análises somente quatro bebidas tinham valor similar àquele encontrado no rótulo. Dentro destas 38 bebidas registradas, 28 apresentaram o valor do grau alcoólico inferior ao apresentado no rótulo, e seis apresentaram valor superior. Mediante esta situação, percebe-se o descontrole deste indicador de qualidade pela maioria dos produtores registrados.

3.2. Ocorrência de carbamato de etila nas bebidas

Os valores de carbamato de etila obtidos nas 75 bebidas variaram de 20 a 948 µg/L, apresentando um teor médio de 378,25 µg/L (Quadro 3). LABANCA (2004) verificou uma média de 893 µg/L de carbamato de etila em 71 aguardentes produzidas em Minas Gerais que variou de <30 a 2609 µg/L.

Mediante a Instrução Normativa N°13 de 21 de junho de 2005, o limite máximo permitido deste contaminante é de 150 µg/L.

Somente 10 das 75 bebidas apresentaram teores de carbamato de etila abaixo de

150 $\mu\text{g/L}$ (Figura 2). Destas, duas são aguardentes de cana industrial com marca, quatro cachaças de alambique com marca e quatro cachaças de alambique não registradas.

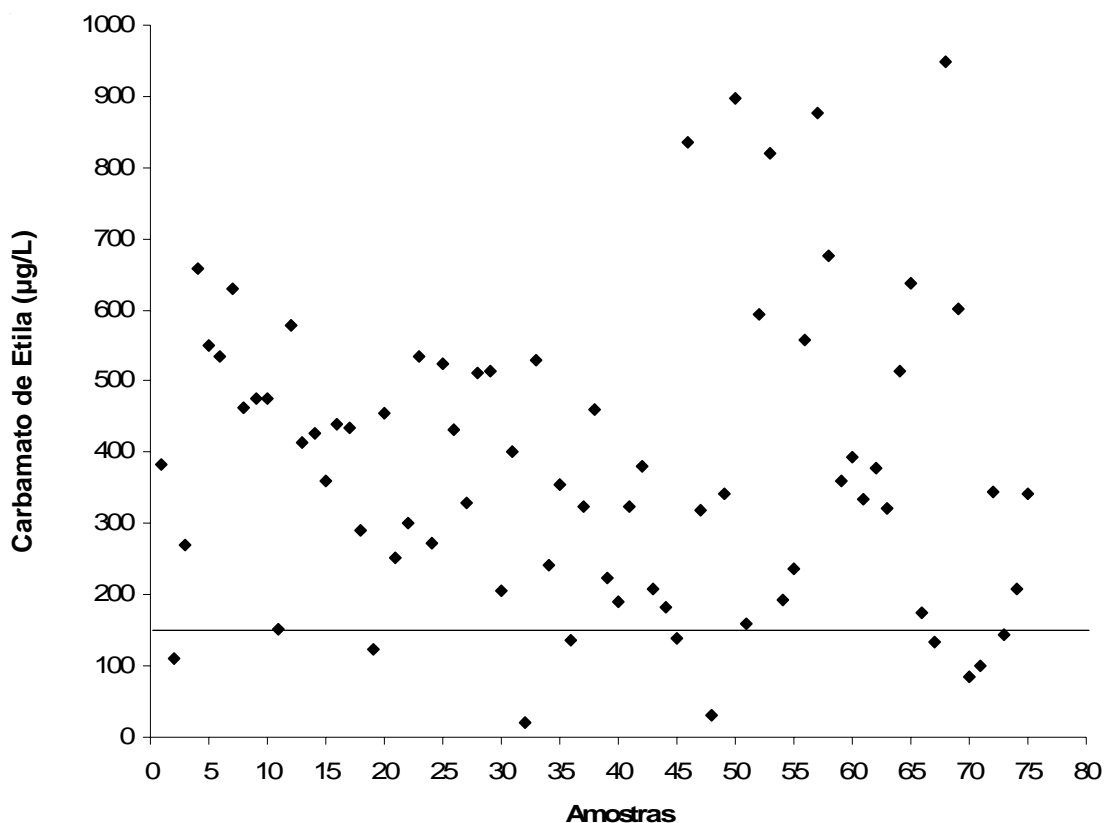


Figura 2 – Teores de carbamato de etila nas diferentes amostras analisadas e o limite máximo estipulado pela Instrução Normativa N°13 (BRASIL, 2005a).

Acima de 400 $\mu\text{g/L}$ de carbamato de etila foram encontradas 32 bebidas, dentre elas, 10 são cachaças de alambique não registradas, 21 são cachaças de alambique registradas e uma aguardente de cana industrial. Talvez este resultado esteja relacionado com o aparelho destilador, pois o cobre é um dos possíveis componentes que contribuem para a formação do carbamato de etila. Sendo assim, o fato de apenas uma aguardente de cana industrial, que é destilada em coluna de aço inoxidável, enfatiza que a formação do carbamato de etila ocorre com menor frequência em produtos com este perfil, embora a amostragem tenha sido pequena.

Estratificando em relação aos Estados de produção das bebidas, pode-se perceber que a maior média do teor de carbamato de etila foi encontrada no Estado de São Paulo, sendo esta de 577,16 $\mu\text{g/L}$. Já os outros Estados apresentaram as seguintes médias, em ordem decrescente: Minas Gerais foi de 411,47 $\mu\text{g/L}$; Rio de Janeiro foi de

344,16 µg/L; Espírito Santo foi de 280,30 µg/L e Ceará foi de 195,84 µg/L (Quadro 6).

Quadro 6 – Média do teor de carbamato de etila (µg/L), número de amostras (n) e desvio padrão de acordo com o Estado onde foram produzidas as bebidas.

Estado	Média	N	Desvio Padrão	Coefficiente de Variação (%)
CE	195,84	2	18,75	9,57
ES	280,30	11	149,50	53,34
MG	411,47	52	211,49	51,40
RJ	344,16	8	185,98	54,04
SP	577,16	2	364,26	63,11

Ao se analisar a média do teor de carbamato de etila das 75 bebidas por sistema de produção, verifica-se que a média das aguardentes de cana industrial é menor (289,88 µg/L) do que a média das cachaças de alambique (396,52 µg/L) (Quadro 7). Este resultado era esperado pelo fato de o cobre, proveniente do aparelho destilador, poder contribuir para a formação do carbamato de etila (LABANCA, 2004; BOSCOLO, 2001; ARESTA, 2001). Sendo assim, aquelas amostras que foram destiladas em alambique de cobre tiveram a média da formação de carbamato de etila superior.

O cobre é um elemento essencial na produção da cachaça, pois diminui o teor de compostos sulfurados e de aldeídos que poderiam prejudicar a qualidade sensorial dos destilados, assim como também pode ser prejudicial à saúde, dependendo do seu nível de ocorrência. Além deste fato, estudos atuais associam esse íon a processos oxidativos e síntese do carbamato de etila. Existem métodos simplificados de controle desse metal em aguardentes, como pelo processo eficiente de higienização do destilador a fim de remover o azinhavre formado (carbonato básico de cobre solúvel em ácido), ou pela presença desse metal apenas na parte ascendente do destilador (CANTANHEDE et al., 2005). O excesso de cobre da cachaça pode ser eliminado ainda pelo uso de colunas de resina de troca iônica, após a destilação (LIMA et al., 2006)

CANTANHEDE et al. (2005) pesquisou a utilização de matrizes organofuncionalizadas Si-Dia - sílica modificada com aminopropiltriétoxisilano e Si-Ti-Dia sílica-titânia modificada com trimetóxisilil (propil) etilenodiamanina, como agentes removedores de íons cobre (Cu⁺⁺). Eles concluíram que estas matrizes conseguem diminuir aproximadamente 80% os teores deste íon no destilado.

Em trabalho realizado por BIZELLI et al. (2000), foi concluído que o processo

de dupla destilação permitiu a redução dos teores de cobre em aguardente de cana.

O emprego das matrizes, Si-Dia e Si-Ti-Dia, ou a bidestilação poderiam constituir opções, portanto, para a diminuição do cobre e, conseqüentemente, da formação do carbamato de etila.

Quadro 7 – Média do teor de carbamato de etila ($\mu\text{g/L}$), número de amostras (n) e desvio padrão de acordo com o sistema de produção das 75 bebidas.

Sistema de Produção	Média	n	Desvio Padrão	Coefficiente de Variação (%)
Alambique	396,52	66	203,07	51,21
Coluna	289,88	9	230,47	79,51

Para evitar a contribuição do cobre na formação do carbamato de etila, algumas sugestões poderiam diminuir o teor de cobre em destilados, como: a realização de uma eficiente higienização do destilador a fim de remover o azinhavre formado; ou o emprego das matrizes, Si-Dia e Si-Ti-Dia; ou a utilização do processo de bidestilação; ou a presença desse metal apenas na parte ascendente dos vapores durante o processo de destilação; ou o uso de filtros de resina de troca iônica ou de carvão ativado, após a destilação; ou, ainda, a substituição do aparelho destilador de cobre por um de aço inoxidável. Porém, esta última opção poderia comprometer a qualidade sensorial da bebida.

Em relação ao estabelecimento de produção, registrado ou não registrado, foi possível perceber que a média proveniente do não registrado ($421,37 \mu\text{g/L}$) foi maior do que a do registrado ($362,54 \mu\text{g/L}$) (Quadro 8). Este resultado pode estar relacionado ao fato de que no grupo das registradas estejam a maioria das bebidas que foram destiladas em coluna de aço inoxidável. Já no grupo das não registradas, apenas duas bebidas foram destiladas em coluna de aço inoxidável, embora esta amostragem seja pequena.

Das 48 bebidas registradas, o menor valor encontrado foi $20,13 \mu\text{g/L}$ e o maior valor foi $834,73 \mu\text{g/L}$. Dentro deste grupo apenas seis apresentaram as médias abaixo de $150 \mu\text{g/L}$. Um teor de carbamato de etila acima de $400 \mu\text{g/L}$ foi encontrado em 22 bebidas.

Quadro 8 – Média do teor de carbamato de etila ($\mu\text{g/L}$), número de amostras (n) e desvio padrão de acordo com o tipo de estabelecimento de produção das 75 bebidas.

Estabelecimento	Média	n	Desvio Padrão	Coefficiente de Variação (%)
Não registrado	421,37	27	259,61	61,61
Registrado	362,54	48	171,56	47,32

Ao se analisar as cachaças e aguardentes produzidas em estabelecimentos não registrados, é possível ainda evidenciar outras informações. Mediante este grupo de dados, a média encontrada do teor de carbamato de etila foi de 421,37 $\mu\text{g/L}$. O menor valor encontrado foi 85,99 $\mu\text{g/L}$ e o maior foi 948,23 $\mu\text{g/L}$, sendo que apenas quatro amostras apresentaram o valor do teor de carbamato de etila abaixo do limite de 150 $\mu\text{g/L}$ estabelecido pela legislação vigente. As outras 23 amostras não registradas apresentaram não conformidade com o padrão estabelecido (BRASIL, 2005a).

Estratificando os resultados das cachaças de alambique não registradas em relação às macrorregiões do Estado de Minas Gerais, obteve-se os seguintes valores de carbamato de etila: das 4 cachaças analisadas provenientes da macrorregião Metropolitana, a média foi 352,41 \pm 291,86 $\mu\text{g/L}$; das 22 cachaças analisadas provenientes da Zona da Mata, a média foi de 422,29 \pm 253,36 $\mu\text{g/L}$; a cachaça analisada do Alto São Francisco teve como resultado 676,85 $\mu\text{g/L}$ de carbamato de etila.

4. CONCLUSÕES

Conclui-se que, segundo a amostragem realizada, mais bebidas registradas estão em conformidade com a legislação vigente do que as não registradas em relação à acidez volátil. Comparando-se o sistema de produção, mais bebidas do tipo coluna estão de acordo com a legislação vigente para acidez.

Observou-se que 16 das 75 bebidas apresentaram o grau alcoólico abaixo de 38 °GL, que representa o valor mínimo exigido pela legislação vigente. Este é um número elevado, visto que o grau alcoólico é uma das propriedades que pode ser controlada mais facilmente.

Em relação aos Estados de produção das bebidas analisados, a maior média do teor de carbamato de etila foi encontrada no Estado de São Paulo. Em relação ao sistema de produção, verificou-se que a média das aguardentes de cana industrial é menor do que a média das cachaças de alambique. Tendo como referência o estabelecimento de produção, registrado ou não registrado, foi possível observar que a média proveniente do não registrado foi maior do que a do registrado.

Conclui-se que é necessário melhorias nos processos de produção e de controle de cachaça de alambique e de aguardente de cana industrial, pois parte dos resultados encontrados, tanto para grau alcoólico quanto para acidez volátil e carbamato de etila, estão em desacordo com a legislação vigente.

Em relação ao carbamato de etila, fica evidente a importância da realização de mais estudos para elucidarem todas as possibilidades de formação deste composto. Para isto, se faz necessário pesquisar a produção da cachaça, desde o plantio da cana até o

armazenamento da bebida pronto, para verificar todas as possíveis causas de formação do carbamato de etila para, então, poder evitar o seu surgimento.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE-SOBRINHO, L. G. de; BOSCOLO, M.; LIMA-NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Carbamato de etila em bebidas alcoólicas (cachaça, tiquira, uísque e grapa). **Quím. Nova.** [online]. nov./dez. 2002, vol.25. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422002000700005&lng=pt&nrm=iso> . Acesso em: 20 de junho de 2004.

ARESTA, M.; BOSCOLO, M.; FRANCO, D. W. Cooper (II) catalysis in cyanide conversion into ethyl carbamate in spirits and relevant reactions. **J. Agric. Food Chem.**, Washington, v. 49, n. 6, p. 2819-2824, 2001.

BATTAGLIA, R.; CONACHER, R. B. S.; PAGE, B. D. Ethyl carbamate (urethana) in alcoholic beverages and foods: a review. **Food Addit. Contam.**, London, v. 7, n. 4, p. 477-496, 1990.

BIZELLI, L. C.; RIBEIRO, C. A. F.; NOVAES, F. V. Dupla destilação da aguardente de cana: teores de acidez e de cobre. **Scient. Agríc.**, Piracicaba, v. 57, n. 4, p. 623-627, out-dez. 2000.

BOSCOLO, M. **Caramelo e carbamato de etila em aguardente de cana.** Ocorrência e quantificação. 2001. 100 f. Tese (Doutorado em Ciências em Química Analítica) –

Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos - SP.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 2314, de 04 de setembro de 1997. Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. D.O.U. - Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 05 de setembro de 1997.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Instrução Normativa N° 13 de 29 de junho de 2005. Regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para aguardente de cana e para cachaça. Diário Oficial da União. N° 124, quinta-feira, 30 de junho de 2005. Seção 1. (a)

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 76, de 26 de novembro de 1986. **Dispõe sobre métodos analíticos de bebidas e vinagres.** Disponível em: <www.agricultura.gov.br>. Acesso em: 25/09/2005. (b)

CANTANHEDE, L. B., LIMA, J. B. de, LOPES, G. S.; FARIAS, R. F.; BEZERRA, C. W. B. Uso de sílica e sílica-titânia organofuncionalizadas para a remoção de Cu(II) em aguardentes. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, jul./set. 2005, vol.25, no.3, p.500-505.

LABANCA, R. A. **Teores de carbamato de etila, cobre e grau alcoólico em aguardentes produzidas em Minas Gerais.** 2004, Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Faculdade de Farmácia. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2004.

LIMA, A. J. B.; CARDOSO, M. G.; GUERREIRO, M. C.; PIMENTEL, F. A. Emprego do carvão ativado para remoção de cobre em cachaça. **Quím. Nova**, Piracaba, Vol. 29, N 2, 247-250, 2006.

NAGATO, L. A. F.; DURAN, M. C.; CARUSO, M. S. F.; BARSOTTI, R. C. F.; BADOLATO, E. S. G. Monitoramento da autenticidade de amostras de bebidas alcoólicas enviadas ao Instituto Adolfo Lutz em São Paulo. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**,

Campinas, 21 (1) : 39-42, jan.-abr. 2001.

NAGATO, L. A. F.; NOVAES, F. V.; PENTEADO, M. de V. C. Carbamato de etila em bebidas alcoólicas. **Bol. SBCTA**, Campinas, 37(1): 40-47, jan.-jun. 2003.

NOBREGA, I. C. C. Análise dos compostos voláteis da aguardente de cana por concentração dinâmica do “headspace” e cromatografia gasosa-espectrometria de massas. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 23 (2) : 210 – 216, maio-ago. 2003.

NOVAES, F. V. **Carbamato de etila em aguardente de cana**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, 1996. 11 p. Publ. Interna.

PEREIRA, N. E.; CARDOSO, M.G.; AZEVEDO, S. M.; MORAIS, A. R.; FERNANDES, W.; AGUIAR, P. M. Compostos secundários em cachaças produzidas no Estado de Minas Gerais. **Ciênc. Agrotec.**, Lavras. V.27, n.5, p.1068-1075, set./out., 2003.

SEBRAE-MG. **Diagnóstico da cachaça de Minas Gerais**. Belo Horizonte, 2001. 241 p. Disponível em: <<http://www.sebraemg.com.br>>. Acesso em: 04 agosto 2005.

SILVA, C. A. B.; CHAVES, J. B. P.; FERNANDES, A. R. Projetos de Empreendimentos Agroindustriais. Produtos de origem vegetal. In: CHAVES, J. B. P.; FERNANDES, A. R.; SILVA, C. A. B. **Produção Artesanal de Cachaça de Qualidade**. Viçosa: Editora UFV, 2003. p. 59 - 118.

FORMAÇÃO DE CARBAMATO DE ETILA EM CACHAÇAS DURANTE ARMAZENAMENTO EM DIFERENTES RECIPIENTES

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo verificar a influência do tempo de armazenamento em tonéis de madeira (jequitibá, angelim e carvalho), em recipientes de vidro âmbar ou de vidro transparente na formação do carbamato de etila em cachaça de alambique. Foram utilizadas amostras de duas marcas de cachaças de alambique recém destiladas, armazenadas durante um período de três meses. As amostras foram coletadas diretamente do reservatório no dia em que foram destiladas e depois armazenadas nos diversos recipientes. As coletas foram feitas em três dias diferentes. Foram feitas análises para quantificação do carbamato de etila nos períodos de armazenamento de zero dia e 7, 21, 42 e 90 dias. Os teores de carbamato de etila foram determinados pelo método de padronização externa em sistema de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG/EM), utilizando o modo MSI (Monitoramento Seletivo de Íons) para a quantificação. Comparando os valores dos diversos recipientes de armazenamento, sem a separação por marca, foi possível observar um aumento de 23,15 % de carbamato de etila em madeira, 53,96 % em vidro transparente e 69,42 % em vidro âmbar aos 90 dias em relação ao tempo zero.

Palavras-chave: carbamato de etila, cachaça, armazenamento, tonel de madeira, vidro âmbar, vidro transparente.

ABSTRACT

FORMATION OF ETHYL CARBAMATE IN BRAZILIAN *CACHAÇA* DURING STORAGE IN DIFFERENT CONTAINER MATERIALS

This research had the objective of verifying effect of storage time in wood casks, jequitibá, angelim or carvalho, in amber glass bottles and in transparent glass bottles on ethyl carbamate formation in *cachaça*, the Brazilian distilled beverage. Samples of 2 *cachaça* brands were used. Samples were drawn directly from storage reservoir on day of distillation and than immediately transported to laboratory facilities and stored in appropriate containers. Sample drawing occurred in three different days. Ethyl carbamate identification and quantification were done on newly distilled *cachaça* (time zero), and also at 7, 21, 42 and 90 days storing. This was determined by gas chromatography combined with mass spectrometry (GC/MS) in selected ion monitoring (SIM) mode, with external standard for the quantification. Ethyl carbamate content increased 23.15 % in wood casks; 53.96 % in transparent glass bottles, and 69.42 % in amber glass bottles at 90 days storing, as compared to contents at time zero.

key Words: ethyl carbamate, brazilian *cachaça*, storage, wood barrel, glass amber, transparent glass.

1. INTRODUÇÃO

O carbamato de etila é um carcinógeno conhecido para animais em testes de laboratório, o que significa que ele pode ser considerado como um potencial carcinogênico para o homem (SCHLATTER e LUTZ, 1990; FIELD e LANG, 1988; MIRVISH, 1968). É formado naturalmente, em baixas concentrações, em diferentes bebidas alcoólicas e alimentos fermentados (BERTRAND et al., 1990).

É um composto biologicamente ativo, tendo sido primeiramente utilizado como hipnótico, anestésico e também como co-solvente em algumas sísteses de fármacos. Em testes de toxicidade em animais, foi verificado ser um causador de adenomas pulmonares (FIELD e LANG, 1988), papilomas de pele, linfomas malignos, hepatomas, carcinomas mamários, tumores de ovários, hemangiomas hepáticos e tumores melanóticos de pele e de íris, entre vários outros. Desta forma, há um consenso que o teor de carbamato de etila em alimentos deva ser o menor possível (BOSCOLO, 2001).

Um movimento mundial relacionado à formação de carbamato de etila em alimentos fermentados iniciou-se em 1978. Em 1985, o Canadá estabeleceu limites de quantidade em bebidas alcoólicas por meio do seu Departamento de Saúde e Bem Estar (NOVAES, 199_). Após este fato, outros países aderiram a estas exigências que se tornaram barreiras para exportação de produtos que se apresentavam fora dos padrões estabelecidos por este país.

No Brasil, o assunto foi mencionado em 1991, no Simpósio Sobre Produção e Qualidade das Aguardentes, realizado na UNESP, Jaboticabal. Nesta oportunidade foi recomendada a não utilização da uréia como coadjuvante da fermentação em destilarias

de aguardente de cana, visto que esta amida é um grande precursor do carbamato de etila (NOVAES, 199_). Em 29 de junho de 2005, por meio da Instrução Normativa N° 13, o carbamato de etila passou a ter seu limite definido em quantidade não superior a 150 µg/L, na aguardente de cana e na cachaça de alambique (BRASIL, 2005), exigência esta proposta para entrar em vigor a partir de junho de 2010.

O carbamato de etila é encontrado em vinhos, derivados de vinho, saquê, cerveja, licores, bebidas destiladas como aguardentes de frutas, aguardente de cana, uísques, em quantidades que vão desde menores do que 5 até 1.000 µg/L e ocasionalmente excedem 1.000µg/L em alguns tipos de bebidas destiladas. Além destes, o composto em questão pode estar presente em alimentos fermentados tais como molhos de soja, pães, iogurtes, azeitonas, em níveis que podem ser desde não detectado até algumas dezenas de µg/L (NAGATO et al., 2003).

Carbamato de etila (fórmula molecular H₂NCOOC₂H₅), uretana ou etiluretana é o éster etílico do ácido carbâmico e se apresenta na forma de cristal incolor, inodoro, de sabor salino refrescante e levemente amargo. Apresenta ponto de fusão entre 48° e 50 °C, ponto de ebulição entre 182° e 184 °C (NAGATO et al., 2003; NOVAES, 199_) e massa molar 89,09. É muito solúvel em água, álcoois, éter, cetonas, ésteres e solventes clorados e sua solução aquosa é neutra. O modo de se preparar o carbamato de etila é por meio do aquecimento de uréia com álcool etílico sob pressão (NAGATO et al., 2003) (Figura 1).

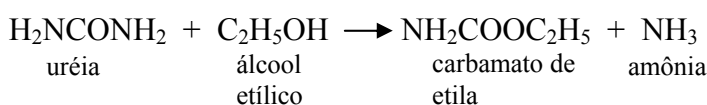


Figura 1 – Esquema de preparação do carbamato de etila.

O Brasil é um dos maiores produtores e consumidores de bebidas alcoólicas destiladas do mundo. Daí a importância de se conhecer os níveis de ocorrência de uma substância potencialmente carcinogênica como o carbamato de etila em tais produtos, pois além dos aspectos de saúde pública, a sua presença em concentrações superiores a 150 µg/L constitui também uma barreira para exportações para a Europa e América do Norte (ANDRADE-SOBRINHO, 2002). São diversos os países que adquirem o produto brasileiro, sendo a Alemanha e o Paraguai os que mais importaram cachaça do Brasil

em 1999, que juntos representaram um total de 46,5 % das exportações brasileiras naquele ano (LABANCA, 2004).

De maneira natural, a formação do carbamato de etila pode ocorrer antes, durante e após a destilação pela reação do etanol com alguns compostos nitrogenados (ARESTA, 2001; BOSCOLO, 2001). O produto fermentado aquecido, como em bebidas destiladas, tem o seu nível de carbamato de etila aumentado ainda mais. Esta formação é dependente da concentração dos reagentes, temperatura, pH, luz e tempo de armazenamento (ARESTA, 2001; NAGATO et al., 2003).

Armazenamento de destilados em garrafas de vidro verde ou marrom, tanto no escuro quanto sob várias fontes de luz, demonstrou que um processo fotoquímico deve estar envolvido. Armazenar em garrafas de vidro marrom (ou outro recipiente que tenha ausência de luz em seu interior) mostrou ser a mais eficiente medida para supressão da formação do carbamato de etila (BATTAGLIA et al., 1990).

O envelhecimento em barris de madeira é uma etapa importante na produção de bebidas destiladas, pois afeta acentuadamente na composição química e na formação do aroma, do sabor e da cor (DIAS et al, 2002). Além disto, a madeira pode constituir uma barreira para entrada de luz no recipiente contendo a cachaça.

Diante do exposto, esta pesquisa teve como objetivo verificar a influência do tempo de armazenamento em tonéis de madeira, em recipientes de vidro âmbar e de vidro transparente na formação do carbamato de etila em cachaça de alambique recém destilada.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material experimental

2.1.1. Descrição das amostras

Foram utilizadas amostras de duas marcas de cachaças de alambique recém destiladas, armazenadas em diferentes recipientes durante um período de três meses em laboratório do Departamento de Tecnologia de Alimentos - UFV. As amostras foram coletadas diretamente do reservatório no dia em que foram destiladas. As coletas foram feitas em três dias diferentes. O transporte foi realizado em galões de água mineral de polietileno de 20 L e, em seguida, as amostras foram transferidas para os respectivos recipientes em que foram armazenadas.

Os recipientes utilizados foram: tonéis de carvalho, angelim e jequitibá, com capacidade de 30 L cada um; garrações de vidro âmbar, com capacidade para 5 L; garrafas de vidro transparente com capacidade para 1 L (Figura 2).



Figura 2 - Laboratório do Departamento de Tecnologia de Alimentos – UFV onde foram armazenadas as cachaças em tonéis de madeira, vidros âmbar e vidros transparentes durante três meses.

2.1.2. Aquisição, armazenamento e preparo das amostras de cachaça

No primeiro dia de coleta, foi trazido um volume de 30 L da cachaça de alambique de cada marca. Este volume foi distribuído da seguinte forma: 20 L no tonel de madeira de jequitibá; 5 L no garrafão de vidro âmbar e 5 L em 5 garrafas de vidro transparente de 1 L cada. Este procedimento foi realizado para as duas marcas de cachaça de alambique, conforme ilustrado no Quadro 1.

No segundo e terceiro dias de coleta, foi realizado o mesmo procedimento mencionado acima, porém, no segundo dia foi utilizado tonel de madeira de angelim e no terceiro dia tonel de madeira de carvalho (Quadro 1). Os tonéis desta pesquisa são reutilizados e têm capacidade para 30 L.

Quadro 1 – Distribuição das amostras nos recipientes de armazenamento e os dias em que foram coletadas nas cachaçarias.

Amostras	Dia 08/09/05	Dia 09/09/05	Dia 12/09/05
	1 Tonel de jequitibá (20 L)	1 Tonel de angelim (20 L)	1 Tonel de carvalho (20 L)
Cachaça de Alambique Marca 1 (destilador de cobre)	1 Garrafa de vidro âmbar (5 L) 5 Garrafas de vidro transparente (1 L cada)	1 Garrafa de vidro âmbar (5 L) 5 Garrafas de vidro transparente (1 L cada)	1 Garrafa de vidro âmbar (5 L) 5 Garrafas de vidro transparente (1 L cada)
	1 Tonel de jequitibá (20 L)	1 Tonel de angelim (20 L)	1 Tonel de carvalho (20 L)
Cachaça de Alambique Marca 2 (destilador de cobre)	1 Garrafa de vidro âmbar (5 L) 5 Garrafas de vidro transparente (1 L cada)	1 Garrafa de vidro âmbar (5 L) 5 Garrafas de vidro transparente (1 L cada)	1 Garrafa de vidro âmbar (5 L) 5 Garrafas de vidro transparente (1 L cada)

No mesmo dia em que as amostras chegaram das cachaçarias, tempo zero, tiveram amostra de 300 mL coletadas e armazenadas em garrafas de vidro de 500 mL, tampadas, sendo o recipiente todo envolto com papel alumínio, para impedir a passagem de luz. Feito isto, estas garrafas foram colocadas em um freezer a uma temperatura de aproximadamente -28 °C, para aguardar a realização da análise cromatográfica do teor de carbamato de etila.

Os tonéis de madeira, as garrafas de vidro âmbar e os vidros transparente contendo as amostras ficaram dispostos em um ambiente fechado (laboratório) sob 12 horas de luz ligada e 12 horas de luz apagada, de segunda-feira a sexta-feira. Nos finais de semana, a luz permanecia apagada, buscando simular um local onde é feita a comercialização deste tipo de mercadoria.

As amostras analisadas quanto ao teor de carbamato de etila foram armazenadas nos três diferentes recipientes (madeira, vidro âmbar e vidro transparente) durante três meses. No decorrer do período de armazenamento, amostras foram coletadas, acondicionadas em garrafas de vidro de 700 mL, tampadas e envolvidas com papel alumínio. Feito isto, estas garrafas foram guardadas no freezer, conforme explicado

anteriormente para o tempo zero. Este procedimento de congelar ou resfriar as amostras foi realizado afim de que todas elas, em diferentes tempos de armazenamento, aguardassem a análise de cromatografia gasosa – espectrometria de massa para a verificação do teor de carbamato de etila. Este tipo de análise deve ser feito continuamente, para evitar que as condições cromatográficas (tunning) variem de uma leitura para outra.

Sendo assim, foram coletadas amostras de cachaça de alambique para análise de carbamato de etila nos períodos de armazenamento de zero dia e 7, 21, 42 e 90 dias.

Para todas as amostras coletadas para congelamento (-28 °C) foram realizados os mesmos procedimentos, com exceção das coletadas com 42 dias, estas foram colocadas em um freezer com temperatura de -13 °C. As amostras referentes aos 90 dias foram apenas levadas para uma câmara de refrigeração a 2 °C para aguardar as análises cromatográficas, uma vez que estas se iniciaram quando completou o terceiro mês.

No terceiro mês, todas as amostras, antes em freezers, foram transferidas para a câmara de refrigeração a 2 °C. No dia em que as amostras foram submetidas às análises cromatográficas, estas foram colocadas à temperatura ambiente.

2.2. Método

2.2.1. Determinação do teor de carbamato de etila nas amostras de cachaça

Foram feitas análises para identificação e quantificação do carbamato de etila em todas as amostras coletadas nos períodos de armazenamento de zero dia e 7, 21, 42 e 90 dias, em duplicata. Neste trabalho foi empregada a metodologia proposta por ANDRADE-SOBRINHO et al. (2002).

Foi empregado o método de padronização externa em sistema de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG/EM), utilizando o modo MSI (Monitoramento Seletivo de Íons) para a quantificação.

As análises foram realizadas em um cromatógrafo a gás, acoplado a um espectrômetro de massas (Shimadzu, modelo QP 5000), biblioteca Wiley 229; equipado com injetor automático split/splitless (Shimadzu, modelo, AOC-17) a 220 °C, coluna cromatográfica capilar de fase polar Supelcowax - 10 (30 m X 0,25 mm di X 0,25 µm filme), com programação de temperatura iniciando em 90 °C (permanência: 2 minutos), elevada a uma taxa de 10 °C/min até 150 °C (permanência: 2 minutos), e então elevada a uma taxa de 25,0 °C/min até 220 °C mantido por 4,20 min (Quadro 2). A temperatura da

interface entre CG/EM foi de 220 °C. Hélio foi usado como gás de arraste (fluxo de 1,5 mL/min), injeção em modo splitless, sendo injetado 1 µL de amostra de forma direta. O espectrômetro de massas, com fonte de íons de impacto de elétrons a 70 eV, foi operado no modo MSI, sendo selecionados para monitoramento os íons m/z 62, 74 e 89.

Quadro 2 - Programação de temperatura do forno.

Razão	Temperatura (°C)	Tempo Mantido (min)
-	90,0	2,00
10	150,0	2,00
25	220,0	4,20

A partir de uma solução estoque de carbamato de etila a 1 mg/mL em etanol/água (40:60 v/v), foram preparadas as soluções-padrão para a construção da curva (0 – 0,4762 ng/µL). A quantificação foi realizada pela interpolação em curva padrão cujo coeficiente de correlação foi de 0,9939.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

O tempo de retenção do padrão externo, o carbamato de etila, foi de 7,815 min, representado na Figura 3.

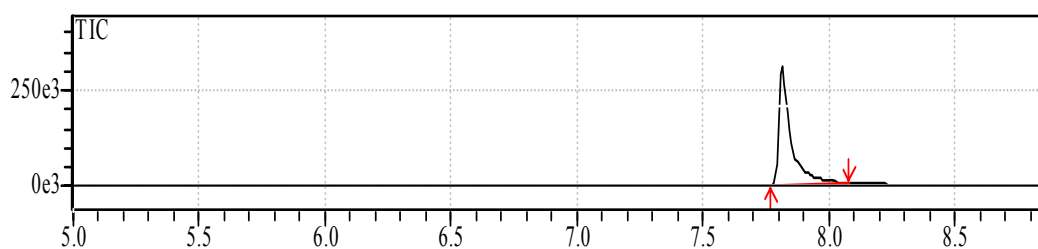


Figura 3 – Cromatograma típico do carbamato de etila usado como padrão externo, tendo como tempo de retenção 7, 815 min.

Nos gráficos das Figuras 4, 5 e 6 estão representados os teores de carbamato de etila encontrados nas cachaças de alambique, marcas 1 e 2, armazenadas em tonel de jequitibá, angelim e carvalho. Pode-se perceber que existe a tendência de aumento do teor de carbamato de etila com o passar dos dias, mesmo estando armazenadas em um recipiente de madeira.

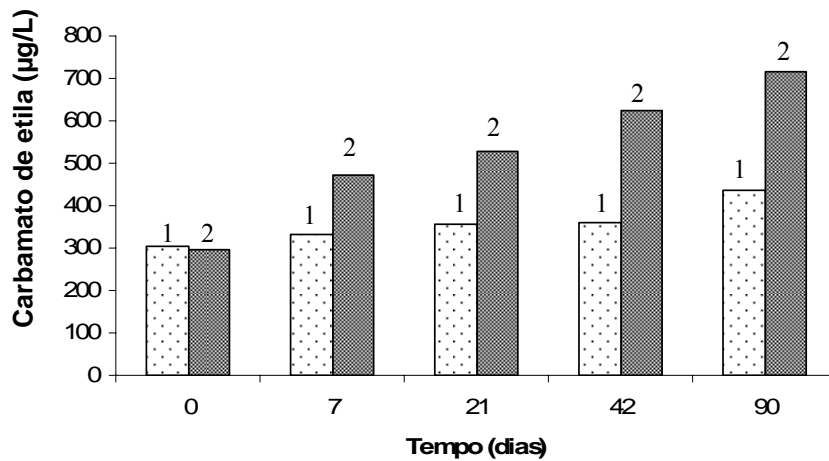


Figura 4 - Teores de carbamato de etila ($\mu\text{g/L}$) encontrados nas cachaças de marcas 1 e 2 armazenadas em tonel de jequitibá durante três meses.

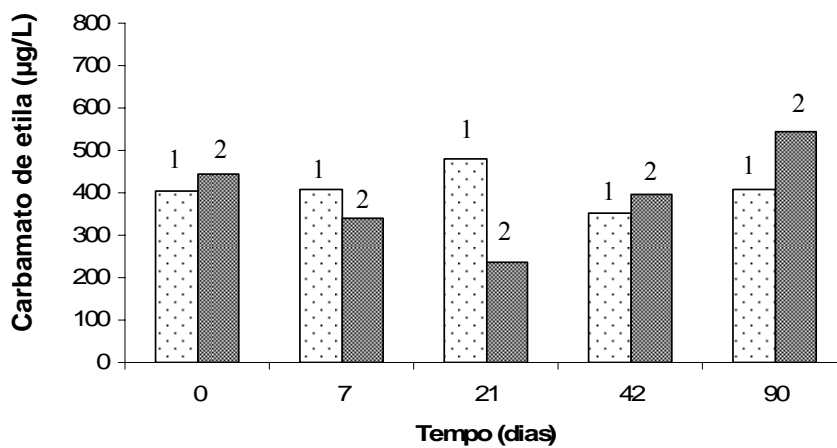


Figura 5 - Teores de carbamato de etila ($\mu\text{g/L}$) encontrados nas cachaças de marcas 1 e 2 armazenadas em tonel de angelim durante três meses.

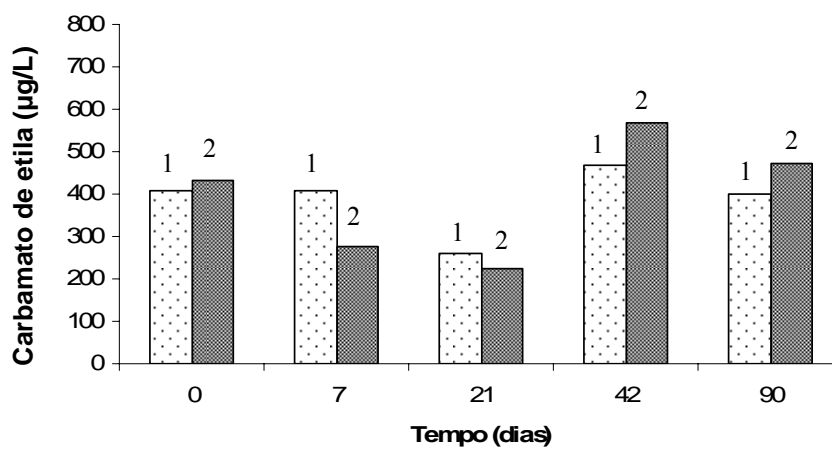


Figura 6 - Teores de carbamato de etila ($\mu\text{g/L}$) encontrados nas cachaças de marcas 1 e 2 armazenadas em tonel de carvalho durante três meses.

Em virtude da diminuição da incidência da luz, pelo fato do recipiente ser de madeira de jequitibá, esperava-se que a quantidade de carbamato de etila não aumentasse com o tempo, porém, este aumento ocorreu. Além disto, a marca 2, sob as mesmas condições da 1, teve seu teor de carbamato de etila aumentado 2,4 vezes no período do dia zero aos 90 dias de armazenamento. Já a amostra de marca 1 teve um aumento de 1,4 vezes em relação ao valor inicial. Esta diferença entre uma marca e outra pode ser em função da quantidade de precursores presentes inicialmente.

Os resultados obtidos das amostras armazenadas em tonel de angelim elucidam pequenas variações no decorrer do período de armazenamento. O teor de carbamato de etila encontrado aos 90 dias foi bem próximo do achado no dia zero, na marca 1. Este fato era esperado em função da diminuição da incidência de luz na bebida. Na marca 2 houve um pequeno aumento (1,2 vezes) no mesmo período, mesmo assim, foi menor em relação ao encontrado em jequitibá.

Os resultados das cachaças armazenadas em tonel de carvalho mostram variações no decorrer do período de armazenamento, sendo que, aos 90 dias foi muito próximo do resultado no dia zero.

No gráfico da Figura 7 estão representadas as médias dos teores de carbamato de etila em função do tempo de armazenamento em cada um dos três recipientes, ou seja, vidro âmbar, vidro transparente e madeira. Estas médias foram calculadas a partir de seis valores que correspondem a duas marcas coletadas em três dias diferentes. Pode-se perceber que os teores de carbamato de etila aumentam, mesmo tendo uma diminuição da exposição à luz, nos casos da madeira e vidro âmbar. No entanto, é importante ressaltar que, mesmo diminuindo a exposição à luz com o uso da madeira, as cachaças ficaram em condições de armazenamento diferentes das convencionais, ou seja, uma exposição à luz mais intensificada. Isto foi feito porque se teve como objetivo comparar três diferentes recipientes de armazenamento sob as mesmas condições, simulando um ambiente comercial de vendas de bebidas. O armazenamento convencional procede como DIAS (1997) fez em seu experimento, em cômodo com pouca iluminação e a uma temperatura entre 19 ° e 25 °C.

Comparando os valores dos diversos recipientes de armazenamento, madeira, vidro âmbar e vidro transparente, sem a separação por marca (Figura 7) é possível perceber que o aumento do teor de carbamato de etila em madeira é de 30,23 %, em vidro âmbar é de 69,42 % e em vidro transparente é de 53,96 % durante os 90 dias.

Era esperado que o aumento do teor de carbamato de etila fosse maior nas

cachaças armazenadas em garrafas de vidro transparente, em função da maior passagem de luz através do recipiente contendo a cachaça. Todavia, este fato ocorreu nas armazenadas em vidro âmbar, a justificativa para este fato poderá ser verificada em estudos futuros.

A madeira é o recipiente que permite a menor passagem de luz dentre os três, isto provavelmente acarretou um menor aumento do teor de carbamato de etila nas cachaças durante o período de armazenamento.

Observou-se que, nas amostras de cachaças armazenadas em vidro transparente, houve aumento do carbamato de etila (Figura 7). Este fato era esperado em função destas bebidas não estarem protegidas contra a luz.

No experimento realizado por AYLOTT et al. (1990), amostras de destilados engarrafados em vidros de cor clara foram expostos à luz artificial intensa fluorescente no laboratório por 72 horas, a 43 °C. Os destilados apresentaram níveis crescentes de carbamato de etila, sendo que esta formação de carbamato de etila foi completada após o período de três dias, como pode ser percebido também neste trabalho.

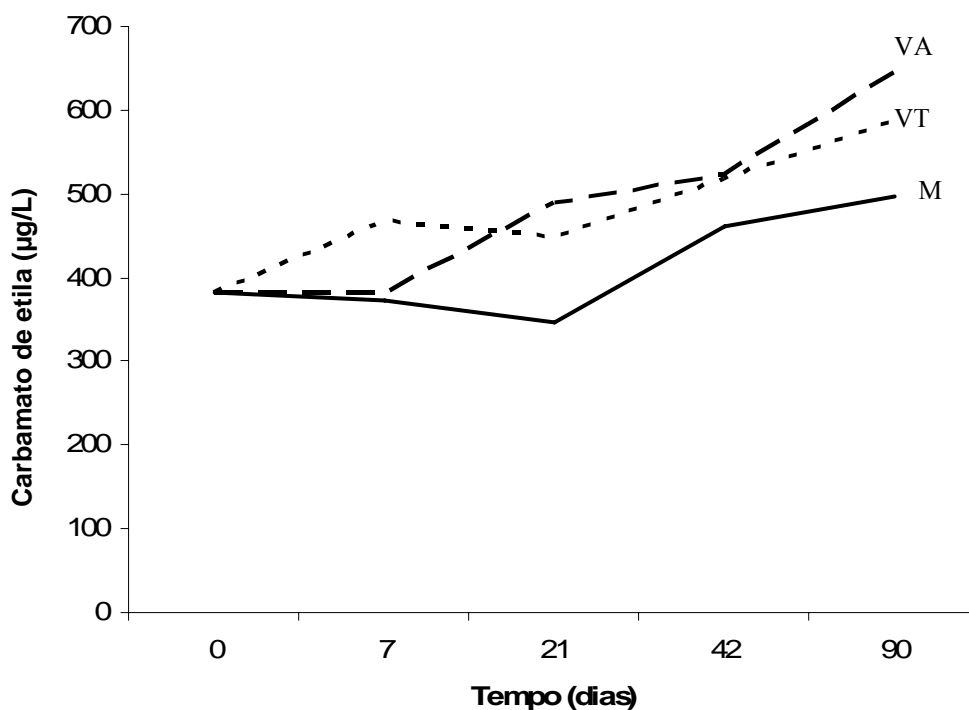


Figura 7 - Variação do teor médio de carbamato de etila com o tempo de armazenamento das cachaças das marcas 1 e 2 em vidro âmbar (VA), em vidro transparente (VT) e em madeira (M).

AYLOTT et al. (1990) realizaram um trabalho com uísque obtido de vários cereais (Scotch grain whisky) recém destilado armazenado também em tonéis de carvalho, porém em condições normais de armazenamento. Durante o período de estudo, níveis de carbamato de etila aumentaram rapidamente nas três primeiras semanas de maturação e variaram de 45 a 65 µg/L ao final do primeiro ano (Quadro 3). Eles concluíram que a concentração final de carbamato de etila no produto destilado é dependente da concentração inicial medida após a destilação, mais a que é formada na presença de precursores (NAGATO et al., 2003).

Quadro 3 – Parte dos resultados de AYLOTT et al. (1990) com o valor médio e a faixa de variação do teor de carbamato de etila durante um ano de armazenamento em tonel de carvalho.

Concentração de carbamato de etila (µg/L)									
Período do experimento (dias)									
0	3	7	14	21	28	42	90	180	360
12	39	48	61	64	55	59	59	58	54
	(30-45)	(40-55)	(50-75)	(55-85)	(40-65)	(45-75)	(45-75)	(45-65)	(45-65)

É importante mencionar que as duas cachaças recém destiladas tiveram um tempo, em média de 8 a 12 horas, entre sua coleta no reservatório da indústria e a retirada das amostras de 300mL para o freezer. Há indicações de que o carbamato de etila é formado entre 24 e 48h após a destilação (ARESTA et al., 2001). Sendo assim, parte do carbamato de etila já poderia ter se formado no período entre a coleta e o armazenamento nos respectivos recipientes, que corresponde ao tempo zero nesta pesquisa.

Ao analisar ainda o armazenamento em madeira, agora estratificando-o por marca, pode-se verificar que o aumento do teor de carbamato de etila ocorre com maior intensidade na cachaça de marca 2 (Quadro 4). Isto pode ser devido à maior presença de precursores de carbamato de etila em relação à marca 1, conforme mencionado por AYLOTT et al. (1990), concluindo que a concentração final de carbamato de etila no produto destilado é dependente da concentração inicial medida após a destilação, mais a que é formada na presença de precursores.

Quadro 4 – Médias* do teor de carbamato de etila ($\mu\text{g/L}$) nas duas marcas durante o período de armazenamento em madeiras (jequitibá, angelim e carvalho).

Marcas	Tempo de armazenamento (dias)				
	0	7	21	42	90
Marca 1	371,70 (55,67)	382,45 (42,87)	365,21 (100,97)	394,92 (58,81)	414,81 (16,70)
Marca 2	390,58 (74,26)	363,02 (91,73)	328,90 (155,66)	528,93 (108,01)	577,98 (19,84)

* Valores entre parânteses são do desvio padrão.

Em relação às cachaças armazenadas em vidro âmbar, pode-se perceber um aumento crescente com o passar dos dias de armazenamento, mesmo sendo em um recipiente em que a passagem da luz é diminuída (Figura 8). É possível ainda perceber que o aumento do teor de carbamato de etila da marca 1 é maior que o da marca 2. A variação entre uma marca e outra pode ser devido ao fato de uma possuir um perfil de precursores diferente da outra.

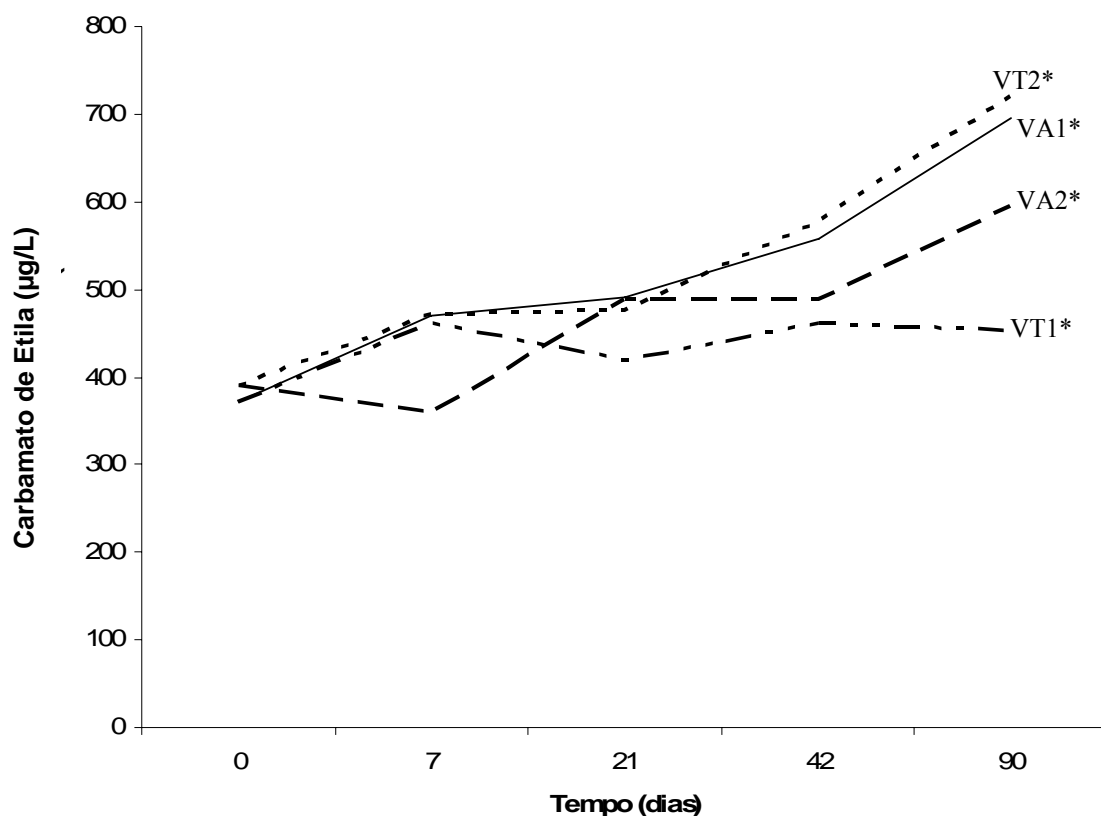


Figura 8 – Variação do teor médio de carbamato de etila com o tempo de armazenamento da cachaça da marca 1 em vidro âmbar (VA1), da cachaça da marca 2 em vidro âmbar (VA2), da cachaça da marca 1 em vidro transparente (VT1) e da cachaça da marca 2 em vidro transparente (VT2).

Averiguando os resultados de carbamato de etila das 2 marcas, separadamente, para o tratamento em vidro transparente, tem-se que o aumento da marca 2 é maior que o da marca 1 (Figura 8). Provavelmente este fato está relacionado à composição das amostras em relação à presença de precursores.

É importante mencionar nesta discussão que, segundo NAGATO et al. (2003), outras vias de formação do carbamato de etila ainda podem existir, já que a composição do meio pode apresentar variações, como por exemplo, de precursores.

4. CONCLUSÕES

Em todos os recipientes utilizados para armazenamento da cachaça, madeira, vidro âmbar e vidro transparente, ocorreu aumento do teor de carbamato de etila durante o período de armazenamento.

A luz deve ser um contribuinte para a formação do carbamato de etila, pelo fato de que o aumento do seu teor em amostras armazenadas em vidro transparente ter sido maiores do que nas armazenadas em madeira.

O aumento do teor de carbamato de etila em madeira foi menor do que em vidro transparente que, por sua vez, foi menor do que em vidro âmbar. A madeira mostrou-se o melhor recipiente para o armazenamento da cachaça.

Fica evidente a importância da realização de mais estudos para elucidarem todas as possibilidades de formação deste composto. Para isto, se faz necessário pesquisar a produção da cachaça, desde o plantio da cana até o armazenamento da bebida pronta, para verificar, por exemplo, quais precursores presentes em cada etapa de produção. Sendo assim, poderá ser evitada a presença do carbamato de etila na cachaça além dos limites permitidos pela legislação.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE-SOBRINHO, L. G. de; BOSCOLO, M.; LIMA-NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Carbamato de etila em bebidas alcoólicas (cachaça, tiquira, uísque e grapa). **Quím. Nova.** [online]. nov./dez. 2002, vol.25. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422002000700005&lng=pt&nrm=iso> . Acesso em: 20 de junho de 2004.

ARESTA, M.; BOSCOLO, M.; FRANCO, D. W. Cooper (II) catalysis in cyanide conversion into ethyl carbamate in spirits and relevant reactions. **J. Agric.Food Chem.**, Washington, v. 49, n. 6, p. 2819-2824, 2001.

AYLOTT, R. I.; COCHRANE, G. C.; LEONARD, M. J.; MACDONALD, L. S.; MACKENZIE, W. M.; MCNEISH, A. S.; WALKER, D. A. Ethyl carbamate formation in grain based spirits. Part I: Post-distillation ethyl carbamate formation in maturing grain whisky. **J. Inst. Brew.**, London, v. 96, n. 4, p. 213-221, 1990.

BATTAGLIA, R.; CONACHER, R. B. S.; PAGE, B. D. Ethyl carbamate (urethana) in alcoholic beverages and foods: a review. **Food Addit. Contam.**, London, v. 7, n. 4, p. 477-496, 1990.

BERTRAND, A.; BERTSCH, K.; SEGUR, M. C. **Elimination du précurseur du carbamate d'éthyle dans les eaux-de-vie de vin.** In: 1° Symposium International sur

lês eaux-de-vie traditionnelles d'origine viticole, Lavoisier – TEC & DOC, Paris, 1990. p. 189 – 194.

BOSCOLO, M. **Caramelo e carbamato de etila em aguardente de cana. Ocorrência e quantificação.** 2001. 100 f. Tese (Doutorado em Ciências em Química Analítica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Instrução Normativa N° 13 de 29 de junho de 2005. Regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para aguardente de cana e para cachaça. **Diário Oficial da União.** N° 124, quinta-feira, 30 de junho de 2005. Seção 1.

DIAS, S. M. B. C. **Efeito de diferentes tipos de madeira sobre a composição química da aguardente de cana envelhecida.** 1997, Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Faculdade de Farmácia. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1997.

DIAS, S. M. B. C.; MAIA, A. B. R. A.; NELSON, D. L. **Utilização de madeiras nativas no envelhecimento da cachaça de alambique.** Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v. 23, n. 217, p. 46-51, 2002.

FIELD, K. J.; LANG, C. M. **Hazards of urethane (ethyl carbamate): a review of the literature.** Laboratory Animals, London, V. 22, n. 3, p. 255-262, 1988.

LABANCA, R. A. **Teores de carbamato de etila, cobre e grau alcoólico em aguardentes produzidas em Minas Gerais.** 2004, Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Faculdade de Farmácia. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2004.

MIRVISH, S. S. The carcinogenic action and metabolism of urethane and *N*-hydroxyurethane. **Advances in cancer Research.** Vol. 11, 1968. Academic Press, New York and London.

NAGATO, L. A. F.; NOVAES, F. V.; PENTEADO, M. de V. C. **Carbamato de etila**

em bebidas alcoólicas. Bol. SBCTA, Campinas, 37(1): 40-47, jan.-jun. 2003.

NOVAES, F. V. **Carbamato de etila em aguardente de cana.-Tópicos.** Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Dep. De Ciência e Tecn. Agroind., [199_]. 7 p. Publ. Interna.

SCHLATTER, J. e LUTZ, W. K. The carcinogenic potential of ethyl carbamate (urethane): risk assessment at human dietary exposure levels. **Food Chem. Toxicol.**, Oxford, Vol.28., No. 3, p. 205-211. 1990.

CONCLUSÕES GERAIS

Conclui-se que, em relação ao limite oficial de acidez volátil, mais bebidas registradas estão em conformidade com a legislação vigente que as não registradas. Comparando-se o sistema de produção, mais bebidas do tipo coluna estão de acordo com a legislação vigente.

É elevada a proporção de bebidas com o valor do grau alcoólico abaixo do limite oficial, visto que esta propriedade pode ser controlada facilmente.

As bebidas provenientes de São Paulo apresentaram maior média do teor de carbamato de etila dentre os Estados analisados. Em relação ao sistema de produção, verificou-se que a média das aguardentes de cana industrial é menor do que a média das cachaças de alambique. Tendo como referência o estabelecimento de produção, registrado ou não registrado, foi possível perceber que a média proveniente do não registrado foi maior do que a do registrado.

Em todos os recipientes utilizados para armazenamento da cachaça de alambique, madeira, vidro âmbar e vidro transparente, observou-se um aumento do teor de carbamato de etila durante o período de armazenamento.

A luz deve ser um contribuinte para a formação do carbamato de etila, pelo fato de que o aumento do seu teor em amostras armazenadas em vidro transparente ter sido

maiores do que nas armazenadas em madeira.

Mediante os resultados obtidos foi possível perceber que o aumento do teor de carbamato de etila em madeira foi menor do que em vidro transparente que, por sua vez, foi menor do que em vidro âmbar. A madeira mostrou-se o melhor recipiente para o armazenamento da cachaça.

Conclui-se que talvez a elevação da temperatura do ambiente, devido à luz acesa, tenha influencia sobre a formação de carbamato de etila em cachaça armazenada em madeira, embora não tenha sido controlada.

Conclui-se que é necessária uma melhora nos processos de produção e de controle de cachaça de alambique e de aguardente de cana industrial, pois parte dos resultados encontrados, tanto para grau alcoólico quanto para acidez volátil e carbamato de etila, estão em desacordo com a legislação vigente.

Em relação ao carbamato de etila, fica evidente a necessidade da realização de mais estudos para elucidarem todas as possibilidades de formação deste composto, para que, então, seja possível evitá-la.