

DISTINÇÃO ENTRE CACHAÇAS DESTILADAS EM ALAMBIQUES E EM COLUNAS USANDO QUIMIOMETRIA

Roni Vicente Reche e Douglas Wagner Franco*

Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, CP 780, 13560-970 São Carlos – SP, Brasil

Recebido em 20/2/08; aceito em 6/10/08; publicado na web em 5/2/09

DISTINCTION BETWEEN CACHAÇAS DISTILLED IN POT STILLs AND IN COLUMNS USING CHEMOMETRICS. One hundred fifteen cachaça samples derived from distillation in copper stills (73) or in stainless steels (42) were analyzed for thirty five items by chromatography and inductively coupled plasma optical emission spectrometry. The analytical data were treated through Factor Analysis (FA), Partial Least Square Discriminant Analysis (PLS-DA) and Quadratic Discriminant Analysis (QDA). The FA explained 66.0% of the database variance. PLS-DA showed that it is possible to distinguish between the two groups of cachaças with 52.8% of the database variance. QDA was used to build up a classification model using acetaldehyde, ethyl carbamate, isobutyl alcohol, benzaldehyde, acetic acid and formaldehyde as chemical descriptors. The model presented 91.7% of accuracy on predicting the apparatus in which unknown samples were distilled.

Keywords: pot still; column; chemometrics.

INTRODUÇÃO

Em 2005 o Brasil exportou 10,8 milhões de litros de cachaça¹ (aproximadamente 1% do total produzido),² o que representa um pequeno acréscimo em comparação a 7,3 milhões de litros em 1999, ano em que o governo decidiu promover a cachaça nos mercados estrangeiros.¹ Em 2006 as exportações cresceram aproximadamente 15% em relação a 2005, sendo a maioria destinada a países como Alemanha e Portugal. Novos mercados, como a Lituânia, vêm sendo explorados.³ A indústria de cachaça do Brasil, que emprega 400 mil pessoas e produz mais de 5 mil marcas, estima que as exportações em 2010 atingirão 30 milhões de litros.¹⁻³

O impacto desta produção e a ampliação do mercado vêm incentivando melhorias, implementação de controles mais rígidos^{4,5} e estudos mais detalhados, quer sobre o processo de produção, quer sobre as qualidades químicas e sensoriais da cachaça.⁶⁻¹⁴

Os dois processos de destilação do vinho (mosto fermentado) mais utilizados para a produção de cachaça são destilação em alambique de cobre (destilação em batelada) e destilação em coluna de aço inoxidável (destilação contínua). Outros sistemas de destilação já foram testados,^{12,13} mas não apresentaram melhorias significativas na qualidade da cachaça em relação aos processos supracitados.

Na destilação em alambique, o destilado é dividido (“corte” do destilado, pela medida da graduação alcoólica) em três frações: cabeça (78% v/v), coração (57% v/v) e cauda (27% v/v).^{12,13,15-18} O resíduo da destilação, conhecido como vinhaça, pobre em etanol e rico em água, pode ser reutilizado como repositor de minerais e água na lavoura.^{18,19}

Na destilação realizada em coluna de aço inoxidável não ocorre a separação do destilado em frações, pelo fato de que este sistema é contínuo, ou seja, a alimentação da coluna com vinho e a saída do destilado acontecem simultaneamente e durante todo o processo.^{18,19} Outro fator importante na destilação em coluna é a quantidade de pratos teóricos que esta possui.¹⁸ Um alambique simples possui apenas um prato, enquanto que nas colunas de baixo grau (utilizadas na produção de aguardente) o número varia de 15 a 20 pratos.^{18,20} O

número de pratos, a composição do material da coluna e do alambique e o fato de que no alambique se separam as frações explicam em grande parte as diferenças na composição química das aguardentes de coluna e de alambique.^{18,19}

Alambiques e colunas também são utilizados na produção de outros destilados. Destilados de cidra produzidos em alambique¹⁷ apresentam maiores teores de metanol que os destilados em coluna, enquanto que esta produz um destilado mais rico em álcoois superiores. Furfuraldeído é mais abundante nos destilados de alambique que nos de coluna.¹⁵

Experimentos realizados com destilado de pêra,¹⁶ utilizando diferentes tipos de alambiques, demonstraram que etanol, álcoois superiores e acetaldeído estão presentes em maiores teores nas primeiras frações, diminuindo ao longo da destilação. Acetaldeído é o componente que diminui mais drasticamente. Furfuraldeído apresentou um comportamento oposto aos compostos supracitados, sendo encontrado em maiores teores nas últimas frações¹⁶ em virtude do ponto de ebulição deste composto (167 °C).

Em outro estudo, relacionando a influência do processo de destilação e da composição do destilador na formação de carbamato de etila em aguardentes de cana-de-açúcar,²⁰ observou-se uma dependência entre a concentração de carbamato de etila, a geometria do destilador e o processo de destilação.^{12,13,20}

Com o intuito de diferenciar quimicamente estes dois tipos de cachaça e contribuir para a tipificação do destilado nacional, foi realizado estudo com amostras coletadas no momento da destilação e os resultados analíticos avaliados utilizando-se técnicas quimiométricas.²¹⁻³¹

PARTE EXPERIMENTAL

Amostras

As 115 amostras foram coletadas diretamente no momento da destilação para confirmar o sistema utilizado e evitar qualquer modificação na composição química decorrente da adição de água para diluição ou açúcar para correções da bebida. As amostras foram armazenadas em frascos apropriados e posteriormente em geladeira.

*e-mail: douglas@iqsc.usp.br

Analitos (siglas)

Acetaldeído (AcH), formaldeído (MeH), 5-hidroxi-metil-furfuraldeído (5HMF), propionaldeído (PropH), furfuraldeído (HMF), crotonaldeído (2-ButH), iso-butiraldeído (IsoButH), butiraldeído (ButH), benzaldeído (BenzH), iso-valeraldeído (IsoValH), valeraldeído (ValH), 2,3-butanodiona monoxima (2,3-ButOM), acetofenona (ActO), ciclopentanona (CpentO), acetilcetona (AcO), álcool metílico (MeOH), álcool propílico (PrOH), álcool isobutílico (IsoBuOH), álcool *sec*-butílico (*sec*BuOH), álcool butílico (BuOH), álcool isopentílico (IsoPentOH), carbamato de etila (CE), ácido acético (HOAc), acetato de etila (HOOAc), dimetilsulfeto (DMS), manganês (Mn), alumínio (Al), sódio (Na), cálcio (Ca), magnésio (Mn), cobre (Cu), estrôncio (Sr), ferro (Fe), cádmio (Cd) e potássio (K) foram analisados nas cachaças coletadas, em função de sua importância na Legislação vigente e considerando a literatura.^{4-6,8,31,32}

Reagentes

Os padrões de álcoois (metílico, propílico, iso-butílico, *sec*-butílico, butílico e isopentílico), dimetilsulfeto, carbamato de etila, acetato de etila, aldeído (acetaldeído, formaldeído, 5-hidroxi-metil-furfuraldeído, propionaldeído, furfuraldeído, crotonaldeído, iso-butiraldeído, butiraldeído, benzaldeído, iso-valeraldeído e valeraldeído), ácido acético e cetona (2,3-butanodiona monoxima, acetofenona, ciclopentanona e acetilcetona) foram de grau cromatográfico (Carlo Erba - Milano, Itália e Mallinckrodt - Phittsburg, USA). As soluções estoque (1000 mg L⁻¹) para determinação dos íons metálicos (manganês, alumínio, sódio, cálcio, magnésio, cobre, estrôncio, ferro, cádmio e potássio) foram de grau analítico (Sigma-Aldrich - Milwaukee, USA e Merck - Darmstadt, Germany). A água utilizada foi previamente destilada e posteriormente desionizada por um sistema Milli-Q (Millipore - Bedford, USA).

Procedimentos analíticos

A determinação quantitativa dos íons metálicos,⁶ álcoois, acetato de etila e ácido acético,⁷ dimetilsulfeto,¹¹ aldeídos e cetonas⁹ e carbamato de etila¹⁴ foi realizada utilizando-se os métodos descritos na literatura.

Análise multivariada

Para a realização da análise multivariada, as amostras foram divididas da seguinte maneira: 82 amostras foram utilizadas para a realização da análise exploratória e para a criação do modelo de predição; outras 33 amostras foram utilizadas como teste do modelo de predição elaborado (amostras desconhecidas).

Os resultados analíticos obtidos foram autoescalonados (média zero e variância um) antes de se aplicar as técnicas quimiométricas, para assegurar uma distribuição de “pesos” equivalente em todas as variáveis do modelo.

Utilizou-se validação cruzada (*leave-one-out*) na elaboração do modelo de predição - uma amostra é retirada aleatoriamente do conjunto de dados, e um novo modelo é desenvolvido com as amostras ($n - 1$) restantes (chamado então de calibração). A amostra retirada é testada como uma primeira validação do modelo criado. Esse processo será contínuo até que seja criado um “ n ” número de modelos testados. Para cada amostra retirada, um modelo é criado e testado. A exatidão em classificação do modelo para “ n ” números de validações e testes é então determinada.^{22,24}

Entre os 35 compostos analisados, aqueles que no decorrer das análises quimiométricas apresentaram características semelhantes de

discriminação (análise do gráfico de pesos) foram excluídos (menores valores de pesos). As técnicas quimiométricas utilizadas foram:²¹⁻³¹ análise de fatores (*FA* - *Factor Analysis*);^{26,27} análise discriminante com calibração multivariada por quadrados mínimos parciais (*PLS-DA* - *Partial Least Square - Discriminant Analysis*);²⁹ análise discriminante quadrática (*QDA* - *Quadratic Discriminant Analysis*).^{30,31}

A realização da análise multivariada foi dividida em duas etapas. Na primeira, foi realizada a análise exploratória dos resultados analíticos, utilizando-se as técnicas de *FA* e *PLS-DA*. Em seguida, utilizou-se a técnica de *QDA* para elaboração de um modelo de predição e teste de amostras desconhecidas.

As análises quimiométricas foram realizadas utilizando-se o *Software Minitab R14* (*Minitab*® e *Minitab logo*® são marcas registradas da *Minitab Inc.*).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados analíticos obtidos estão reunidos nas Tabelas 1S e 2S (material suplementar). Entre todos os compostos analisados nas amostras de cachaça, as destiladas em colunas apresentaram notadamente maiores valores de mediana de carbamato de etila (CE) e benzaldeído (BenzH), enquanto que as amostras destiladas em alambique apresentaram principalmente maiores valores de mediana de cobre (Cu) e ácido acético (HOAc).

Um dos fatores relacionados com a presença de carbamato de etila (Figura 1S) nas amostras destiladas em coluna diz respeito à presença de ácido cianídrico. Como o HCN não é fixado na parte ascendente da coluna, devido à ausência de cobre, este atinge o condensador, reagindo com íons Cu(II), ocasionando a corrosão do condensador por vapores ácidos.³² A redução de Cu(II) a Cu(I) e a formação de cianogênio favorecem a formação de íons cianato que, ao reagirem com etanol, produzem o carbamato de etila.³²

Segundo a literatura,²⁰ quando o alambique é operado com altas taxas de refluxo, baixos rendimentos e baixas temperaturas de destilação (< 80 °C), existe uma tendência à redução nos teores de carbamato de etila. A geometria do alambique, o controle da temperatura e a taxa de refluxo são fatores que podem influenciar diretamente a presença deste composto.²⁰

Os teores de benzaldeído são mais elevados nas amostras destiladas em coluna em virtude da não separação do destilado nas frações cabeça, coração e cauda (destilação em alambique - Figura 2S). Um estudo em andamento em nosso Laboratório mostra que o benzaldeído é encontrado em maiores concentrações na fração cauda, sugerindo que este deva ser transportado por arraste a vapor na destilação em coluna.

Os teores de íons de cobre apresentaram o maior valor de mediana nas amostras destiladas em alambique, consistente com o fato do material que compõe o alambique ser basicamente cobre metálico. Os resultados obtidos para os teores de cobre estão coerentes com outros reportados na literatura (Figura 3S).^{6,12,13} As amostras que apresentaram teores elevados de cobre estão provavelmente relacionadas com a presença de “azinhavre” (CuCO₃.Cu(OH)₂) no destilador.^{6,12,13}

Ácido acético é encontrado nas amostras de cachaça como um co-produto da fermentação³³ utilizando como levedura a *Saccharomyces cerevisiae*. Encontra-se em maiores concentrações nas amostras destiladas em alambique (Figura 4S), devido à destilação do ácido acético ter início durante a destilação da fração coração (em função da solubilidade em água e do seu ponto de ebulição (118,1 °C) ser maior que o da água). A aeração do mosto durante a fermentação ou o corte das frações no momento errado pode proporcionar um aumento na concentração de ácido acético na fração coração.³⁴ O número de pratos teóricos envolvidos na destilação (1 para alambique simples e 15-20 para coluna de baixo grau) também é um fator que pode in-

fluenciar diretamente esta característica observada, pois a separação dos compostos e a conseqüente tendência à padronização da bebida será mais efetiva à medida que aumente o número de pratos teóricos do equipamento utilizado na destilação.

Esta padronização também pode ser observada para os teores de alguns compostos analisados. Como exemplo, pode-se citar o álcool isoamílico (Figura 5S). As amostras destiladas em coluna apresentam teores de álcool isoamílico na faixa de 110 e 350 mg/100 mL AA (Figura 5S), enquanto que para as amostras destiladas em alambique estes teores estão distribuídos em uma faixa maior de concentração, apresentando amostras com valores inferiores a 110 mg/100 mL AA e amostras com valores superiores a 350 mg/100 mL AA.

Conforme se observa, a simples comparação direta dos resultados analíticos sugere algumas diferenças entre as amostras destiladas em alambique e em coluna. Com o intuito de aprofundar esta investigação e verificar os compostos cujas concentrações apresentam maior variação entre as aguardentes destiladas em coluna e em alambique, estes resultados foram examinados utilizando-se técnicas quimiométricas.

Análise de fatores (FA – Factor Analysis)

A Figura 1 apresenta o gráfico de escores da FA, considerando os dois grupos de amostras (alambique e coluna) e 6 compostos (benzaldeído, carbamato de etila, formaldeído, 5HMF, ácido acético e propionaldeído) selecionados (ver Parte Experimental – Análise multivariada) como descritores químicos (Figura 2).

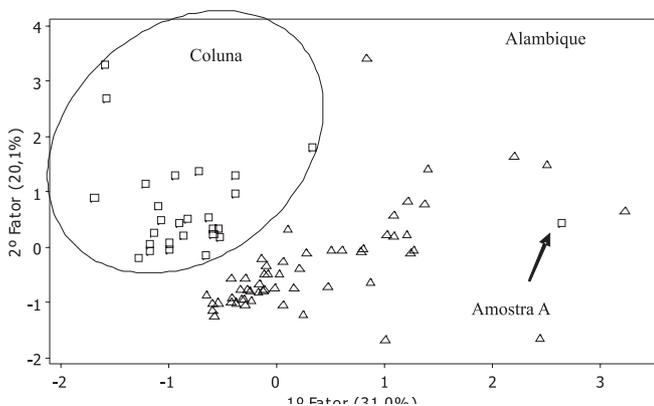


Figura 1. Gráfico de escores entre os fatores 1 e 2 da FA, sendo 27 amostras de coluna (\square) e 55 amostras de alambique (Δ)

Observa-se na Figura 1 a existência de dois grupos distintos, um mais disperso, representativo das amostras de cachaça destiladas em alambique, e outro, em uma área mais delimitada, representando as amostras de cachaça destiladas em coluna. A similaridade apresentada pelas amostras destiladas em coluna está provavelmente relacionada com o número de pratos envolvidos no processo de destilação e com o processo de produção, visto que na destilação em alambique, de caráter artesanal, existem parâmetros (fogo direto, vapor, temperatura, geometria do alambique, etc) nem sempre igualmente controlados pelos produtores. Na destilação em coluna estes parâmetros possuem um controle mais rígido, devido às características de uma produção industrial.

Dentre todas as 27 amostras destiladas em coluna, apenas uma amostra (amostra A) foi erroneamente agrupada no grupo das amostras destiladas em alambique (Figura 1). Provavelmente isto se deve à semelhança nos valores de concentração de 5-hidroxi-metil-furfuraldeído e ácido acético desta amostra com as amostras destiladas em alambiques, sendo considerada *outlier*. A Figura 2 apresenta o gráfico de pesos obtido nesta análise.

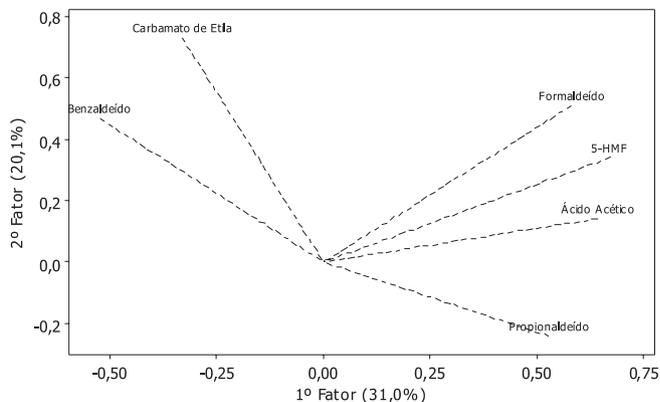


Figura 2. Gráfico de pesos das componentes 1 e 2 da FA

O 1º fator apresentou o 5-hidroxi-metil-furfuraldeído (região positiva) – formado por degradação térmica de pentoses³⁵ – e o benzaldeído (região negativa) como os dois compostos mais importantes (maiores valores de pesos), enquanto que para o 2º fator o carbamato de etila (região positiva) e o propionaldeído (região negativa) foram os compostos mais significativos. Os demais compostos (28 no total) foram excluídos por apresentarem características semelhantes a alguns dos 6 descritores considerados na análise.

Observa-se que para o conjunto das amostras destiladas em coluna, o carbamato de etila e o benzaldeído são os compostos que caracterizam melhor este grupo, enquanto que o formaldeído, o 5hmf, o ácido acético e o propionaldeído caracterizam melhor as amostras destiladas em alambique.

As porcentagens de explicação do conjunto de dados original para os três primeiros fatores foram: 31,0% para 1º fator; 20,1% para 2º fator e 14,9% para 3º fator, sendo que a porcentagem acumulada dos três primeiros fatores foi de 66,0%. A magnitude deste valor está conforme com valores reportados na literatura^{21,23,24} para aplicações desta metodologia.

Análise discriminante com calibração multivariada por quadrados mínimos parciais (PLS-DA – Partial Least Square Discriminant Analysis)

A Figura 3 apresenta o gráfico de escores considerando as componentes 1 e 2. O valor de variância obtido para cada componente está apresentado na Tabela 1.

Tabela 1. Valores de variância acumulada obtidos na PLS

Componentes	Variância acumulada (%)
1	24,8
2	43,1
3	54,2
4	67,4

Observa-se na Tabela 1 que as três primeiras componentes apresentam uma explicação da variância de 54,2%. O valor obtido por FA é superior quando consideramos os três primeiros fatores (66,0%). Comparando os valores de variância acumulada obtidos nas duas técnicas utilizadas como exploração dos dados, a FA apresenta-se como mais favorável que a PLS-DA.

No gráfico de escores da PLS-DA (Figura 3) observa-se a presença de dois grupos bem definidos, caracterizando uma diferença entre os dois processos de destilação. Na região positiva da componente 1 (C1) estão as 27 amostras destiladas em coluna, enquanto que as

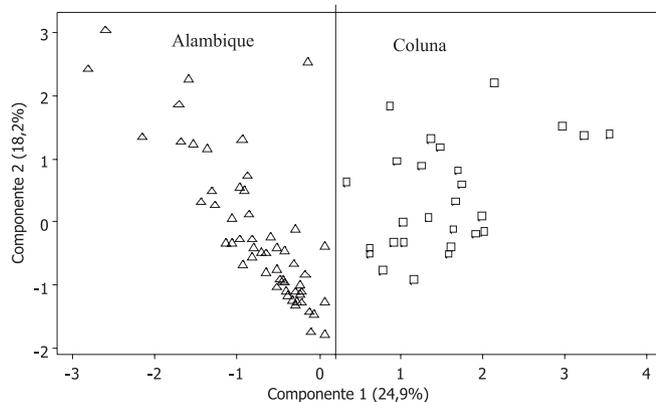


Figura 3. Gráfico de escores entre as componentes 1 e 2 da PLS

55 amostras destiladas em alambiques estão dispersas na região negativa da C1.

Os compostos mais importantes para cada grupo estão apresentados no gráfico de pesos (Figura 4). Novamente o carbamato de etila e o benzaldeído são os compostos mais importantes para a formação do grupo das amostras destiladas em coluna, enquanto formaldeído, 5-hidroxi-metil-furfuraldeído, DMS, cobre e butanol são os compostos mais importantes para a formação do grupo das amostras destiladas em alambiques de cobre.

Quando são comparados os gráficos de escores obtidos na PLS-DA e na FA, observa-se que na FA existe uma amostra considerada como *outlier*, enquanto que na PLS-DA os dois grupos formados estão melhor definidos (consegue-se traçar uma reta na C1 próximo ao valor de zero, separando os dois grupos). Não se observa a presença da amostra A, considerada *outlier* na Figura 1, como *outlier* na Figura 3. Este fato pode ser explicado em virtude da seleção de discriminantes diferentes na PLS-DA daqueles utilizados na FA.

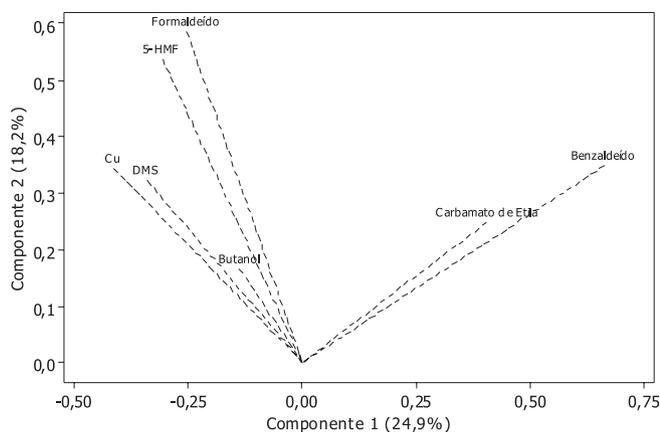


Figura 4. Gráfico de pesos das componentes 1 e 2 da PLS

Benzaldeído é o composto com maior valor de peso na região positiva da C1, enquanto o cobre possui o maior valor de peso na região negativa da C1. Na componente 2 (C2), formaldeído apresenta o maior valor de peso na região positiva e butanol o maior valor na região negativa (Figura 4).

Análise discriminante quadrática (QDA – Quadratic Discriminant Analysis)

A Tabela 2 apresenta os resultados obtidos aplicando-se aos resultados experimentais o método da QDA. Estes compreendem o desenvolvimento do modelo, a avaliação da robustez do modelo

por validação cruzada e a aplicação do modelo em amostras desconhecidas.

Os 6 descritores químicos considerados (ver Parte Experimental – Análise multivariada) foram acetaldeído, carbamato de etila, isobutanol, benzaldeído, ácido acético e formaldeído.

Observa-se na Tabela 2 que as porcentagens obtidas para cada grupo separadamente superou o valor de 96,4%, enquanto que a porcentagem total de acerto do modelo foi de 97,6%.

Tabela 2. Resultados do modelo, da validação cruzada e do teste de amostras desconhecidas obtido na análise de QDA

	Grupo verdadeiro					
	Modelo		Validação Cruzada		Grupo Teste	
	G1	G2	G1	G2	G1	G2
Alambique	53	0	51	1	15	0
Coluna	2	27	4	26	3	15
Total	55	27	55	27	18	15
Total Correto	53	27	51	26	15	15
Porcentagem (%)	96,4	100	92,7	96,3	83,3	100
Total de amostras	82		82		33	
Total corretas	80		77		30	
% Correta	97,6		93,9		91,7	

G1 = Amostras destiladas em alambique; G2 = Amostras destiladas em coluna

A validação cruzada do modelo apresentou uma porcentagem superior a 93,9% de confiabilidade na predição de amostras desconhecidas (Tabela 2). Observa-se ainda na Tabela 2 que quatro amostras de alambique e uma amostra de coluna foram classificadas de modo errôneo, apresentando uma porcentagem de 92,7% para a classificação de amostras destiladas em alambiques e 96,3% para amostras destiladas em colunas.

Após a validação cruzada este modelo foi testado com 33 amostras “desconhecidas”. Destas, apenas 3 amostras de alambique foram classificadas incorretamente e todas as amostras de coluna foram classificadas corretamente (Tabela 2). Este comportamento atesta que o modelo é eficiente na predição de qualquer uma das duas classes, tanto alambique (83,3%) quanto coluna (100%), com uma porcentagem total de acerto de 91,7%.

CONCLUSÕES

Observou-se que entre os 35 compostos analisados alguns apresentam faixas de concentração diferentes para as amostras destiladas em alambiques e colunas. Os que apresentaram diferenças mais acentuadas foram carbamato de etila, benzaldeído, ácido acético e cobre.

A análise de fatores conduziu a melhores resultados de explicação da variância do conjunto de dados original (66,0%) em relação à PLS-DA (54,2%) considerando os três primeiros fatores/componentes. Analisando os gráficos de escores apresentados pelas duas técnicas observa-se que a separação se torna mais evidente quando se utiliza PLS-DA, não existindo a presença de *outliers*. Neste caso, a separação pode ser efetuada traçando-se uma reta próxima do valor zero na C1, enquanto que quando se utiliza a análise de fatores se torna evidente a presença de um *outlier* e as amostras de alambique se encontram espalhadas nas regiões positiva e negativa dos dois fatores considerados.

A aplicação da técnica de QDA permitiu a elaboração de um modelo com porcentagem de confiança na predição de amostras desconhecidas de 93,9% após a validação cruzada (82 amostras). A aplicação deste modelo em amostras desconhecidas (33 amostras) conduziu a uma classificação correta de 91,7% destas amostras.

Os compostos que se repetiram como descritores químicos foram carbamato de etila, 5-hidroxi-metil-furfuraldeído, benzaldeído, ácido acético e formaldeído.

Existe um desejo manifesto dos produtores de cachaça artesanal em diferenciar seus produtos das ditas industriais. Este certamente é um item da tipificação da cachaça e que até o presente momento carecia de um embasamento técnico para seu controle e a inclusão no rótulo da bebida.

Considerando que os compostos benzaldeído, formaldeído, propionaldeído e acetaldeído (expressos como acetaldeído), isobutanol, 5HMF, ácido acético, cobre e carbamato de etila são controlados pela Legislação Brasileira,^{4,5} a adição de apenas dimetilsulfeto e butanol aos itens já controlados e seu tratamento pela metodologia descrita neste estudo irá atender a esta reivindicação dos produtores.

MATERIAL SUPLEMENTAR

Encontra-se disponível em <http://quimicanova.sqb.org.br>, na forma de arquivo PDF, com acesso livre. As Tabelas 1S e 2S apresentam os resultados dos 35 compostos analisados divididos por classes (alambique e coluna); as Figuras 1S a 5S mostram a distribuição da concentração de 5 analitos por classes (alambique e coluna).

AGRADECIMENTOS

À Dra. R. A. F. Romero, ao Dr. F. V. Novaes pelas valiosas discussões e sugestões feitas durante o desenvolvimento do trabalho, ao Ms. C. A. Galinaro pelo auxílio na correção da versão final do manuscrito e à CAPES, CNPq e FAPESP pelo suporte financeiro.

REFERÊNCIAS

1. <http://www.feirasdobrasil.com.br/revista.asp?area=noticias&codigo=7754>, acessada em Julho 2007.
2. <http://www.abrabe.org.br/mercado.php>, acessada em Outubro 2006.
3. <http://brasil.business-opportunities.biz/2006/03/23/cachaca-do-brasil-em-alta/>, acessada em Julho 2007.
4. BRASIL. Decreto, 4.072 de 03 de janeiro de 2002; *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 03/01/02. Seção 1, p. 50.
5. BRASIL. Instrução Normativa nº 13, de 29 de junho de 2005; *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 30/06/0505. Seção 1, p. 30.
6. Nascimento, R. F.; Bezerra, C. W. B.; Furuya, S. M. B.; Schultz, M. S.; Polastro, L. R.; Lima-Neto, B. S.; Franco, D. W.; *J. Food Compos. Anal.* **1999**, *12*, 17.
7. Boscolo, M.; Bezerra, C. W. B.; Cardoso, D. R.; Lima-Neto, B. S.; Franco, D. W.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2000**, *11*, 86.
8. Nascimento, R. F.; Cardoso, D. R.; Lima-Neto, B. S.; Franco, D. W.; *Chromatographia* **1998**, *48*, 751.
9. Nascimento, R. F.; Marques, J. C.; Lima-Neto, B. S.; De Keukeleire, D.; Franco, D. W.; *J. Chromatogr. A* **1997**, *782*, 13.
10. Cardoso, D. R.; Bettin, S. M.; Reche, R. V.; Lima-Neto, B. S.; Franco, D. W.; *J. Food Compos. Anal.* **2003**, *16*, 563.
11. Cardoso, D. R.; Andrade-Sobrinho, L. G.; Lima-Neto, B. S.; Franco, D. W.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2004**, *15*, 277.
12. Nascimento, R. F.; Cardoso, D. R.; Faria, J. B.; Lima-Neto, B. S.; Franco, D. W.; *Quim. Nova* **1998**, *21*, 735.
13. Cardoso, D. R.; Nascimento, R. F.; Lima-Neto, B. S.; Franco, D. W.; *Quim. Nova* **2003**, *26*, 165.
14. Andrade-Sobrinho, L. G.; Boscolo, M.; Lima-Neto, B. S.; Franco, D. W.; *Quim. Nova* **2002**, *25*, 1074.
15. Rodríguez, R.; Blanco, D.; Mangas, J. J.; *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 7969.
16. García-Llobodanin, L.; Achaerandio, I.; Ferrando, M.; Guëll, C.; López, F.; *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 3462.
17. Rodríguez, R.; Blanco, D.; Mangas, J. J.; *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 5709.
18. Almeida-Lima, U. *Aguardente: Fabricação em Pequenas Destilarias*, 1ª ed., FEALQ: Piracicaba, 1999.
19. Novaes, F. V.; *Engarrafador Moderno* **2000**, *72*, 46.
20. Bruno, S. N. F.; Vaitsman, D. S.; Kunigami, C. N.; Brasil, M. G.; *Food Chem.* **2007**, *104*, 1345.
21. Fernandes, A. P.; Santos, M. C.; Lemos, S. G.; Ferreira, M. M. C.; Nogueira, A. R. A.; Nóbrega, J. A.; *Spectrochim. Acta Part B* **2005**, *60*, 717.
22. Dupuy, N.; Dréay, Y. L.; Ollivier, D.; Artaud, J.; Pinatel, C.; Kister, J.; *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 9361.
23. Nozal, M. J.; Bernal, J. L.; Toribio, L.; Alamo, M.; Diego, J. C.; *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 3095.
24. Romero, R.; Sánchez-Viñas, M.; Gázquez, D.; Bagur, M. G.; *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 4713.
25. Cardoso, D. R.; Andrade-Sobrinho, L. G.; Leite-Neto, A. F.; Reche, R. V.; Isique, W. D.; Ferreira, M. M. C.; Lima-Neto, B. S.; Franco, D. W.; *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 3429.
26. Lavigne, B.; Workman, J.; *Anal. Chem.* **2006**, *78*, 4137.
27. Natera, R.; Castro, R.; García-Moreno, M. V.; Hernández, M. J.; García-Barroso, C.; *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 3345.
28. Galinaro, C. A.; Cardoso, D. R.; Franco, D. W.; *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 3141.
29. Nocairi, H.; Qannari, E. M.; Bertrand, E. V. D.; *Computational Statistics & Data Analysis* **2005**, *48*, 139.
30. Römisch, U.; Vandev, D.; Zur, K.; *Aust. J. Stat.* **2006**, *35*, 45.
31. Beltrán, N. H.; Duarte-Mermoud, M. A.; Bustos, M. A.; Salah, S. A.; Loyola, E. A.; Pena-Neira, A. I.; Jalocha, J. W.; *J. Food Eng.* **2006**, *75*, 1.
32. Aresta, M.; Boscolo, M.; Franco, D. W.; *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 2819.
33. Maia, A. B.; *STAB* **1994**, *12*, 29.
34. Boza, Y.; Horii, J.; *Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos* **2000**, *18*, 85.
35. Aquino, F. W.; Nascimento, R. F.; Rodrigues, S.; Casemiro, A. R. S.; *SBCTA* **2006**, *26*, 145.