

ÁCIDOS ORGÂNICOS EM AGUARDENTES PRODUZIDAS EM ALAMBIQUE E EM COLUNA

Felipe Augusto Tobias Serafim, Silmara França Buchviser, Carlos Alexandre Galinaro e Douglas Wagner Franco*

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

Fernando Valadares Novaes

Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, CP 9, 13418-900 Piracicaba – SP, Brasil

Recebido em 3/12/09; aceito em 5/8/10; publicado na web em 26/11/10

ORGANIC ACIDS IN SUGARCANE SPIRITS' FRACTIONS PRODUCED IN STILLs AND COLUMNS. The concentration of 14 organic acids of 50 sugarcane spirits samples was determined by gas chromatography using flame ionization detection. The organic acids analytical quantitative profile in stills and column distilled spirits from wines obtained from the same must were compared. The comparison was also carried in “head”, “heart” and “tail fractions of stills distilled spirits. The experimental data were analyzed by Principal Components Analysis (PCA) and pointed out that the distillation process (stills and column) strongly influences the lead spirits' organic acid composition and that producers' operational “cuts off” to produce “tail”, “heart” and “head”, fractions should be optimized.

Keywords: organic acids; stills; column.

INTRODUÇÃO

Segundo o Instituto Brasileiro da Cachaça,¹ as exportações desta bebida cresceram aproximadamente 18% em valor e 20% em volume, entre os anos de 2007 e 2008, gerando uma receita de US\$ 16 milhões.

Com o aumento da demanda por bebidas com elevado padrão de qualidade, a adoção de técnicas produtivas mais eficientes é desafio a ser superado pelos produtores. Dentre as etapas de produção da aguardente, a fermentação do mosto e a posterior destilação do vinho são as mais importantes para a obtenção de uma bebida com qualidades químicas e sensoriais superiores.^{2,3}

A produção de aguardente em larga escala é realizada em colunas de aço inoxidável, onde não há separação do destilado em frações. Trata-se de um processo contínuo de destilação em que a entrada do mosto fermentado (vinho) na coluna e as respectivas saídas do destilado e do vinhoto ocorrem simultaneamente. Neste caso, de cada tonelada de cana-de-açúcar processada podem ser obtidos de 140 a 170 L de aguardente a 47,5% de etanol em volume, a 20 °C, segundo o grau de maturação da cana-de-açúcar e as consequentes eficiências nas fases de extração do caldo, fermentação do mosto e destilação do vinho.

Na produção da aguardente em pequena escala, a destilação ocorre em batelada nos denominados alambiques. Durante o processo, o destilado é separado em três diferentes frações. A primeira é denominada “cabeça” e seu teor alcoólico varia entre 55 e 65% em volume, a 20 °C, sendo o volume coletado correspondente a 5 a 10% do volume total destilado. A segunda fração, o “coração” (parte nobre do destilado), possui teor alcoólico entre 43 a 45% em volume, a 20 °C, correspondendo a 75 a 80% do volume destilado; e, a última fração, denominada “cauda” ou “água fraca”, começa a ser coletada quando o teor alcoólico do destilado que flui na bica do alambique é da ordem de 38% em volume, a 20 °C, estendendo-se até que o seu volume atinja cerca de 10% do destilado total produzido. Nestas pequenas unidades, a cada tonelada de cana processada podem ser obtidos de 80 a 120 L de aguardente (fração “coração”), em função também da eficiência daquelas três fases operacionais do processo.^{4,6}

Embora a fermentação e a destilação tenham sido introduzidas

empiricamente no país há quase 5 séculos,⁵ não existe na prática, principalmente junto aos pequenos produtores, uma uniformidade quanto à condução do processo fermentativo e, tampouco, em relação ao critério utilizado na separação das frações dos seus destilados em alambique.

Dentre os compostos secundários que são formados durante a etapa de fermentação do mosto, destacam-se os ácidos orgânicos. Estes exercem forte influência sobre a qualidade e as propriedades sensoriais das bebidas e na estabilidade do mosto durante a etapa fermentativa.⁷⁻¹² As moléculas dos ácidos podem penetrar nas células dos micro-organismos por difusão simples, interferindo no metabolismo das mesmas, alterando a reposição e a absorção de nutrientes e o crescimento celular, promovendo assim, certo controle biológico.¹² A presença de seus respectivos ésteres confere à bebida características sensoriais diferenciadas, agregando a ela aromas e sabores frutados e achocolatados.¹³⁻¹⁵

A presença dos ácidos orgânicos no destilado está também relacionada aos cuidados dispensados durante a produção da bebida. Os ácidos acético e láctico geralmente estão associados à contaminação do mosto por micro-organismos.¹⁶⁻¹⁸ Portanto, ambos podem ser indicadores dos controles antisséptico e de temperatura utilizados pelos produtores no decorrer do processo fermentativo. Já a presença de ácidos graxos no destilado deve-se à sua formação na etapa aeróbica do processo, durante a qual a levedura sintetiza a biomassa para seu crescimento populacional.¹⁹ A falta de uma filtração eficiente do vinho pode permitir um aumento do teor de leveduras presentes no interior do destilador, o que resultará no aumento da concentração de ácidos graxos no destilado.²⁰

Neste trabalho, tomando-se como indicadores do processo os ácidos orgânicos (láctico, pirúvico, oxálico, malônico, succínico, glutárico, cáprico, citramálico, málico, láurico, cítrico, mirístico e palmítico), buscou-se conhecer o perfil dos mesmos nas três diferentes frações resultantes do processo de produção de aguardentes em alambique, assim como no destilado único produzido em coluna, para então se obter mais informações sobre o fracionamento do destilado. Para tanto, os resultados analíticos referentes às concentrações dos ácidos orgânicos foram analisados por métodos quimiométricos utilizando, neste caso, a análise de componentes principais (PCA – *Principal Component Analysis*), através do software *Minitab 15 English Statistical*.

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

PARTE EXPERIMENTAL

Foram determinados os perfis dos ácidos orgânicos nas três frações do destilado (cabeça, coração e cauda) em 15 amostras de aguardente de cana produzidas em alambique, provenientes de diferentes produtores. Cinco destas amostras, oriundas do mesmo mosto fermentado de caldo de cana (vinho), foram submetidas à destilação em alambique e em coluna. Os reagentes e os solventes utilizados foram sempre de grau analítico (Fluka, Sigma Aldrich) e de grau HPLC (Merck, Mallinckrdt), respectivamente. Nas diluições e no preparo das soluções, foi utilizada água deionizada, obtida em sistema Milli-Q (Millipore).

O método de análise dos ácidos orgânicos foi adaptado da literatura.²¹⁻²⁴ Após pré-concentração através da secagem completa de 20 mL de amostra à temperatura ambiente, efetuou-se a adição de 200 µL de solução derivatizante (100 µL de 2,2,2-trifluoro-N-methyl-N-trimethylsilyl-acetamide (MSTFA)/100 µL de solução de ácido nonanoico em ACN). O volume de 1 µL desta solução foi injetado no cromatógrafo de fase gasosa (CG) Hewlett-Packard modelo 5890, equipado com detector de ionização por chama (*Flame Ionization Detection* - FID), com coluna capilar DB-5 (5%-Phenylmethylpolysiloxane) com dimensões de 50 m x 0,20 mm x 0,33 µm. A quantificação foi realizada com o auxílio de curva de calibração e padrão interno (ácido nonanoico). A confirmação de cada um dos analitos foi efetuada por adição de padrões e por comparação dos tempos de retenção relativos das amostras com os dos padrões analíticos, nas mesmas condições experimentais. Para a análise do ácido acético, utilizou-se o método analítico descrito por Boscolo *et al.*²⁵

As concentrações dos ácidos orgânicos presentes nas amostras foram finalmente submetidas à análise de componentes principais, utilizando-se o software *Minitab 15 English Statistical*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O perfil cromatográfico de uma solução contendo os padrões dos derivados de ácidos orgânicos em uma amostra de aguardente e os correspondentes perfis cromatográficos típicos obtidos para as três frações do destilado podem ser observados na Figura 1S, material suplementar.

Em trabalhos anteriores^{9,26} foram determinadas as concentrações de ácidos orgânicos em aguardentes obtidas no comércio. Neles foram reportados os ácidos acético, propiônico, isobutírico, n-butírico, isovalérico, n-valérico, iso-caproico, n-caproico, n-heptanoico, n-caprílico, cáprico, láurico, mirístico e palmítico. Estes quatro últimos também foram determinados neste trabalho e apresentaram teores médios inferiores aos encontrados na literatura (Tabela 1), provavelmente devido ao fato das amostras aqui estudadas serem recém-destiladas e não envelhecidas, já que, como se sabe, o envelhecimento em recipientes de madeira resulta no aumento da acidez total das aguardentes, devido à incorporação dos ácidos orgânicos extraídos da madeira do tonel.²⁷⁻³⁰

Tabela 1. Teores médios (mg/100 mL de AA^a) dos ácidos graxos (C2, C10-C16) nas amostras de aguardentes da literatura¹⁰ e dos destilados de alambique e de coluna

Ácidos	Aguardente tipo A ^b	Aguardente tipo B ^b	Aguardente tipo C ^b	Alambique	Coluna
acético (C2)	57,5	99,2	72,8	79,3	62,9
cáprico (C10)	2,0	1,60	1,37	0,20	0,78
láurico (12)	0,73	0,60	0,54	0,12	0,13
mirístico (C14)	0,52	0,40	0,37	0,07	0,03
palmítico (C16)	1,10	0,39	0,55	0,31	0,22

As presenças dos ácidos malônico, glutárico, málico e cítrico não foram detectadas pela metodologia utilizada, indicando que suas concentrações são inferiores aos respectivos limites de detecção (Tabela 2). Apesar de constatada a presença do ácido oxálico nas amostras, sua quantificação não foi possível devido à instabilidade térmica do derivado silânico (Oxálico-TMS₂), problema já anteriormente reportado na literatura.²¹ A ausência do ácido málico também pode ser devida à fermentação malolática, que converte o ácido málico em ácido láctico, diminuindo assim, o teor desse ácido.³¹

Aguardente de alambique e de coluna

A comparação entre os perfis dos ácidos orgânicos das aguardentes produzidas em alambique e em coluna foi baseada nos resultados de 5 amostras de aguardente de procedência diversa e cujos vinhos foram divididos em duas partes, sendo uma destilada em alambique e a outra em coluna. Como pode ser observado na Figura 1, as concentrações dos ácidos mirístico, glicólico, palmítico, citramálico, láctico e acético foram superiores nas amostras destiladas em alambique com relação àquelas provenientes de coluna. O contrário se observa com respeito aos ácidos succínico, cáprico e láurico. Tal fato pode ser explicado principalmente pela grande diferença existente na geometria dos aparelhos de destilação empregados no processo de destilação, já que, enquanto o alambique possui apenas um estágio de destilação, a coluna é constituída por 15 a 20 estágios³² sobrepostos e interligados entre si.

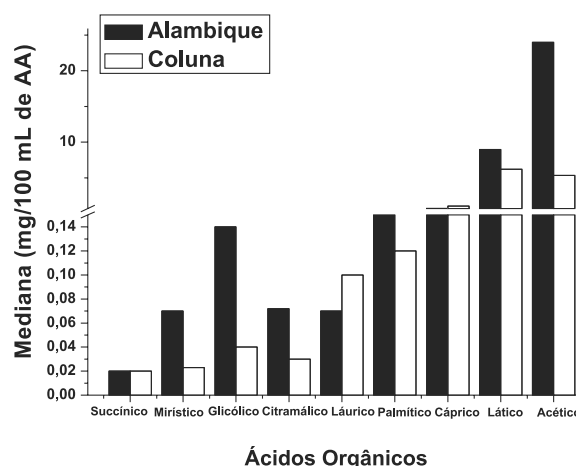


Figura 1. Comparação dos valores de medianas de concentração dos ácidos orgânicos presentes nos destilados de alambique (coração) e de coluna em amostras oriundas do mesmo mosto fermentado

No caso da produção do destilado em alambiques, além do seu fracionamento em três diferentes porções (cabeça, coração e cauda), o equilíbrio do efeito conjugado de alguns parâmetros tais como teor alcoólico do vinho, temperatura de destilação (entre 85 e 96 °C), geometria e material de construção do aparelho, diâmetro da saída dos vapores (início da alonga), sistema de resfriamento no topo da coluna (capelo ou deflegmador)³³ e teor alcoólico do destilado final também devem ser levados em consideração. Esta conjugação de fatores certamente influi na composição química do destilado.

Com o objetivo de verificar similaridades na composição química da bebida, conforme já observado em outros trabalhos,³⁴⁻³⁶ aplicou-se a análise multivariada aos teores de ácidos orgânicos presentes nos destilados de alambique e de coluna. A análise de componentes principais aplicada aos resultados que compõem a Figura 1 deu origem aos gráficos de *scores* e de *loading*, apresentados nas Figuras 2 e 3, respectivamente.

Tabela 2. Valores dos limites de detecção da metodologia, das médias e medianas de concentração (mg/100 mL de A.A) dos ácidos analisados nas frações de “cabeça”, “coração” e “cauda” do destilado

Ácidos orgânicos	Limite de detecção (ppb)	Recuperação (%)	Cabeça		Coração		Cauda	
			Média	Mediana	Média	Mediana	Média	Mediana
Lático	25,0	60	5,11	2,98	11,0	8,97	39,2	23,8
Glicólico	50,0	72,3	1,40 x 10 ⁻¹	1,30 x 10 ⁻¹	1,90 x 10 ⁻¹	1,40 x 10 ⁻¹	1,56	2,20 x 10 ⁻¹
Pirúvico	50,0	12	4,00 x 10 ⁻²	4,00 x 10 ⁻²	2,10 x 10 ⁻¹	2,00 x 10 ⁻¹	5,00 x 10 ⁻¹	3,70 x 10 ⁻¹
Succínico	25,0	97	2,40 x 10 ⁻²	1,80 x 10 ⁻²	4,00 x 10 ⁻²	2,00 x 10 ⁻²	1,80 x 10 ⁻¹	5,00 x 10 ⁻²
Citramálico	100	80	4,40 x 10 ⁻²	4,20 x 10 ⁻²	7,60 x 10 ⁻²	7,20 x 10 ⁻²	1,30 x 10 ⁻¹	1,10 x 10 ⁻¹
Cáprico	250	18	2,54	1,02	7,30 x 10 ⁻¹	4,60 x 10 ⁻¹	6,00 x 10 ⁻¹	2,10 x 10 ⁻¹
Láurico	50,0	93	4,70 x 10 ⁻¹	2,78 x 10 ⁻¹	1,20 x 10 ⁻¹	7,00 x 10 ⁻²	1,40 x 10 ⁻¹	9,00 x 10 ⁻¹
Mirístico	5,00	93	1,70 x 10 ⁻¹	1,60 x 10 ⁻¹	7,00 x 10 ⁻²	7,00 x 10 ⁻²	1,00 x 10 ⁻¹	7,90 x 10 ⁻²
Palmítico	50,0	95	7,00 x 10 ⁻¹	4,80 x 10 ⁻¹	3,10 x 10 ⁻¹	3,00 x 10 ⁻¹	2,20 x 10 ⁻¹	2,00 x 10 ⁻¹
Acético	5,00	99,9	126	9,36	95,3	24,0	312	45,0
Málico	25,0	87	< LD*	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
Glutárico	25,0	102	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
Cítrico	200	88	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
Malônico	1,00 x 10 ³	98	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD

*<LD = Menor que o Limite de Detecção

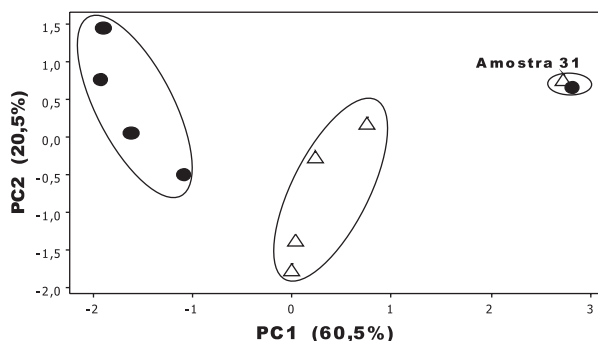


Figura 2. Gráfico de scores da análise de componentes principais (● coluna; △ alambique)

A diferença quantitativa dos teores de ácidos orgânicos, observada nos destilados da fração coração do alambique e do produto de coluna, explica a formação dos dois grupos observados no gráfico de scores.

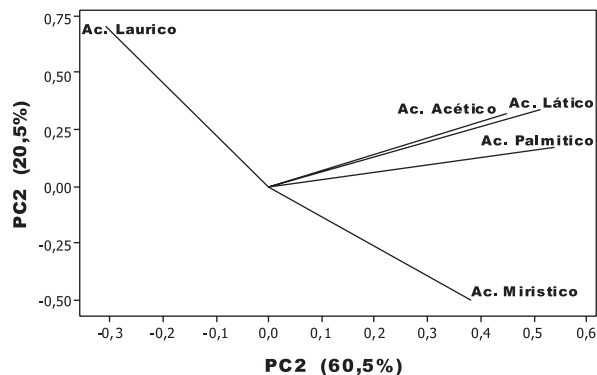


Figura 3. Gráfico de loading da análise de componentes principais

O gráfico de loading indica que dentre os 9 ácidos analisados, os ácidos acético, láctico, mirístico, láurico e palmítico apresentam

características que permitem a distinção entre os dois tipos de destilados, explicando através das somas das duas primeiras componentes principais 81,0% da variância do conjunto dos dados originais (PC1 = 60,5% x PC2 = 20,5%).

Nota-se ainda na Figura 2 a presença de um outlier correspondente à amostra 31, comportamento que pode ser explicado considerando-se as elevadas concentrações de ácidos acético e láctico, valores que indicam que a etapa fermentativa e sua posterior destilação podem não ter sido conduzidas de maneira apropriada.³⁷

Perfil dos ácidos orgânicos nas frações cabeça, coração e cauda

Foram elaborados os perfis quali e quantitativo dos ácidos orgânicos presentes nas três frações - cauda, coração e cabeça - obtidas no processo de destilação em alambique, de 15 amostras de aguardentes coletadas diretamente dos alambiques dos diferentes produtores. Na Figura 4 estão apresentados os valores das medianas de concentração destes ácidos nas referidas frações.

Como se pode observar, as concentrações dos ácidos acético, succínico, glicólico, citramálico e láctico são muito superiores na fração cauda com relação às outras duas. Tal comportamento pode estar associado ao caráter hidrofílico³⁸ mais acentuado desses compostos, uma vez que o teor de água na fração cauda (aproximadamente 85%) é bem superior às demais.

No caso dos ácidos cáprico, láurico, mirístico e palmítico, cujas solubilidades em etanol são maiores do que na água,³⁸ as concentrações encontradas foram superiores na fração cabeça, com maior teor alcoólico (65%).

A composição em alcoóis superiores e de aldeídos no destilado apresentou uma distribuição ao longo das três frações do destilado de alambique coerente com suas respectivas solubilidades em água e etanol³⁹ e, mais propriamente, de acordo com seus respectivos coeficientes de purificação,⁴⁰ comportamento semelhante ao observado na distribuição dos ácidos orgânicos.

A aplicação da análise de componentes principais aos resultados obtidos originou os gráficos de scores e de loading apresentados, res-

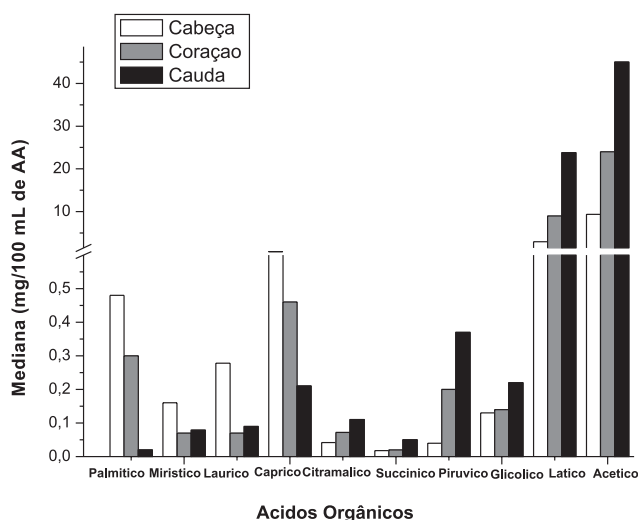


Figura 4. Valores de medianas de concentração para os teores de ácidos orgânicos presentes nas três frações dos destilados de alambique, para 15 amostras distintas

pectivamente, nas Figuras 5 e 6. A soma dos primeiras componentes principais (PC1 + PC2) permite explicar 91,3% da variação dos dados originais, permitindo observar-se (Figura 5) uma tendência à formação de três grupos representados pelas frações de cauda, coração e cabeça.

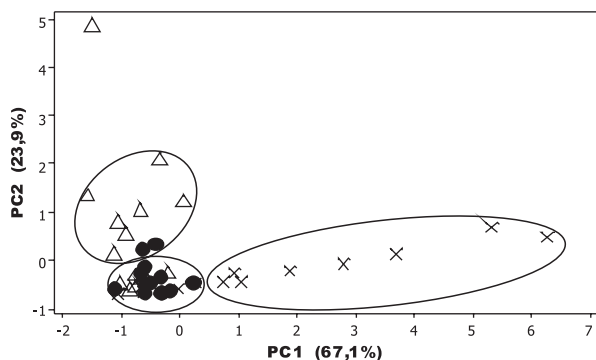


Figura 5. Gráfico de scores da análise de componentes principais (X cabeça; ● coração; △ cauda)

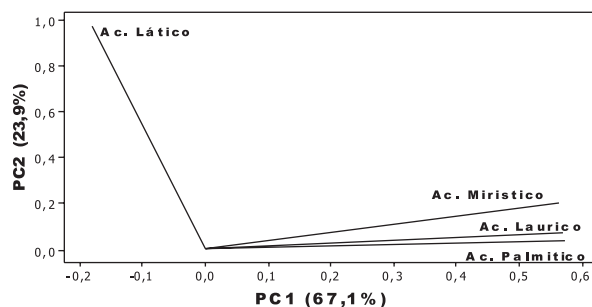


Figura 6. Gráfico de loading da análise de componentes principais (PC1 x PC2)

Com o gráfico de *loading*, Figura 6, verifica-se também, através do componente PC1 (67,4%), que o ácido láctico e os ácidos láurico, mirístico e palmítico são os principais responsáveis pela distinção observada entre as frações cauda e cabeça, respectivamente. No caso da PC2 (23,9%) também se observa acentuada influência do ácido láctico na diferenciação de parte das amostras relativas às frações de cauda e coração.

O grupo correspondente à fração coração foi o que apresentou menor dispersão, contendo amostras correspondentes às outras duas frações (*outliers*). Isso pode ser consequência dos *outliers* presentes na fração coração, mas pertencentes à fração cauda, apresentarem um valor da mediana da concentração de 11,1 mg/100 mL de A.A para o ácido láctico, valor este muito próximo ao valor da mediana das amostras da fração coração (8,75 mg/100 mL de A.A). Para os *outliers* oriundos da fração cabeça, o valor da mediana da concentração dos ácidos palmítico e mirístico foi de 0,22 e 0,06 mg/100 mL de A.A, respectivamente, enquanto que para as amostras da fração coração foi de 0,30 e 0,07 mg/100 mL de AA.

As amostras responsáveis pela formação do grupo correspondente à fração cauda (Figura 5) apresentaram um valor da mediana da concentração de 54,6 mg/100 mL de AA para o ácido láctico. Já as amostras responsáveis pela formação do grupo da fração cabeça apresentaram um valor de mediana de 0,70 e 0,14 mg/100 mL de AA para os ácidos palmítico e mirístico, respectivamente. Como pôde ser observado, os valores de mediana de concentração para os respectivos descritores das frações de cauda e cabeça são muito superiores aos observados para as amostras que compõem o grupo da fração coração.

Assim, no que diz respeito ao perfil dos ácidos orgânicos nas frações, nas aguardentes produzidas em alambique, observa-se que parte do destilado que é descartado (frações cauda e cabeça) possui perfil semelhante ao “coração” do destilado.

CONCLUSÕES

No tocante aos teores de ácidos orgânicos, a aplicação da análise das componentes principais aos resultados analíticos para os destilados de alambique e de coluna (oriundos do mesmo vinho) evidencia que o tipo do aparelho de destilação influencia na composição quantitativa dos ácidos orgânicos da bebida. Tal fermenta quimiométrica também permitiu distinguir os destilados cujos teores de ácidos láctico e acético se mostraram muito acima da média, indicando uma provável fermentação mal conduzida. Nota-se também que, embora exista uma tendência de distinção entre as frações de “cabeça”, “cauda” e “coração” do destilado de alambique, esta distinção ainda deixa muito a desejar e que as condições experimentais para se realizar os “cortes” durante o processo de destilação em alambique necessitam de uma melhor padronização.

Para uma análise mais criteriosa sobre a melhor maneira de se realizar os “cortes” durante a destilação em alambiques, há a necessidade de se observar também a composição química das frações com respeito aos demais compostos que compõem o destilado.

MATERIAL SUPLEMENTAR

No material suplementar, disponível em <http://quimicanova.s bq.org.br>, na forma de arquivo PDF, com acesso livre, encontram-se o perfil cromatográfico dos derivados silânicos dos ácidos orgânicos para os padrões analíticos e cada fração do destilado de alambique (Figura 1S), a concentração dos ácidos orgânicos nas amostras de aguardentes da fração coração de alambiques e de colunas oriundas do mesmo vinho. (Tabela 1S), bem como o resultado das três frações do destilado de alambique (Tabela 2S), além dos valores médios e de mediana dos quatro descritores das amostras correspondentes a cada fração do destilado e dos seus *outliers* (Tabela 3S).

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, à CAPES e à FAPESP pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

1. <http://www.ibrac.net>, acessada em Outubro 2009 e Novembro 2010.
2. Reche, R. V.; Leite-Neto, A. F.; Silva, A. A.; Galinaro, C. A.; De Osti, R. Z.; Franco, D. W.; *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 6603.
3. Nascimento, R. F.; Cardoso, D. R.; Lima-Neto, B. S.; Faria, J. B.; Franco, D. W.; *Quim. Nova* **1998**, *21*, 735.
4. Mutton, M. J. R.; Mutton, M. A. Em *Tecnologia de bebidas: matéria prima, processamento, BPF/APPCC, legislação e mercado*; Venturini, W. G. F., ed.; 1ª ed., Edgard Blucher: São Paulo, 2005.
5. Lima, U. A.; *Aguardente: fabricação em pequenas destilarias*, 1ª ed., FEALQ: Piracicaba, 1999.
6. Bizelli, L. C.; Ribeiro, C. A. F.; Novaes F. V.; *Scientia Agricola* **2000**, *57*, 623.
7. Giasi, P.; Horne, J.; Lawless, H. T.; *Chemical Senses* **1996**, *21*, 397.
8. Lay-Kenow, N.; *Anal. Chim. Acta* **2002**, *465*, 309.
9. Nascimento, R. F.; Cardoso, D. R.; Lima-Neto, B. S. N.; Franco, D. W.; *Chromatographia* **1998**, *48*, 751.
10. Campos, F. M.; Figueiredo, A. R.; Hogg, T. A.; Couto, J. A.; *Food Microbiol.* **2009**, *26*, 409.
11. Yang, Z.; Fang, Q.; Nout, R. M. J.; Ji, B.; Zhou, F.; Zhang, H.; *Eur. Food Res. Technol.* **2008**, *227*, 1183.
12. Azeredo, H. M. C.; *Fundamentos de Estabilidade de Alimentos*, 1ª ed., Técnica: Fortaleza, 2004, cap. 5.
13. Burdock, G. A.; *Fenaroli's Handbook of Flavor Ingredients*, 4th ed.; CRC Press: Washington, 2001.
14. Goss, K. A.; Alharethi, R.; Laposata, M.; *Alcohol* **1999**, *17*, 241.
15. Nascimento, E. S. P.; Cardoso, D. R.; Franco, D. W.; *Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 5488.
16. Schwan, R. F.; Mendonça, A. T.; Da Silva, J. J.; Rodrigues, V.; Wheals, A.; *Antonie van Leeuwenhoek* **2001**, *79*, 89.
17. Costa, V. M.; Basso, T. O.; Angeloni, L. H. P.; Oetterer, M.; Basso L. C.; *Ciênc. Agrotec* **2008**, *32*, 503.
18. Carvalho-Netto, O. V.; Rosa, D. D.; Camargo, L. E. A.; *Scientia Agricola* **2008**, *65*, 508.
19. Nykänen, L.; Nykänen, I. Em *Distilled Beverages*; Maarse, H., ed.; Marcel Dekker: New York, 1991, cap. 15.
20. Suomalainen, H.; Nykänen, L.; Eriksson, K.; *Am. J. Enology and Viticulture* **1974**, *25*, 179.
21. Lay-Keow, Ng.; Lafontaine, P.; Harnois J.; *J. Chromatogr.* **2000**, *873*, 29.
22. Park, Y. J.; Kim, K. R.; Kim, J. H.; *J. Agric. Food Chem.* **1999**, *47*, 2322.
23. Lay-Keow, Ng.; Hupe, M.; Vanier, M.; Moccia, D.; *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 1132.
24. Blau, K.; Halket, J. Em *Handbook of Derivatives for Chromatography*; Evershed, R. P., ed.; Wiley: Chichester, 1993, cap. 5.
25. Boscolo, M.; Bezerra, C. W. B.; Cardoso, D. R.; Lima Neto, B. S.; Franco, D. W.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2000**, *11*, 86.
26. Nascimento, R. F.; Cardoso, D. R.; Keukeleire, D.; Lima N., B. S.; Franco, D. W.; *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 6070.
27. Nykänen, L.; *Am. J. Enology and Viticulture* **1986**, *37*, 84.
28. Lee, K. -Y. M.; Paterson, A.; Piggott, J. R.; Richardson, G. D.; *J. Institute of Brewing* **2001**, *107*, 287.
29. Conner, J. M.; Paterson, D. A.; Birkmyre, L.; Piggott, J. R.; *J. Institute of Brewing* **1998**, *105*, 287.
30. Baldwin, S.; Black, A. R.; Andreasen, A. A.; Adams, S. L.; *J. Agric. Food Chem.* **1967**, *15*, 381.
31. Lea, A. G. H.; Piggott, J. R.; *Fermented Beverage Production*, 2nd ed., Kluwer Academic/Plenum Publishers: New York, 2003.
32. Reche, R. V.; Neto, A. F. L.; Silva, A. A.; Galinaro, C. A.; De Osti, R. Z.; Franco D. W.; *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 6603.
33. Maia, A. B. R. A.; *Curso de Destilação da Cachaça*, Vassouras, 2000, cap. 5.
34. Galinaro, C. A.; Franco, D. W.; *Quim. Nova* **2009**, *32*, 1447.
35. Sampaio, O. M.; Reche, R. V.; Franco, D. W.; *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 1661.
36. Silva, A. A.; Nascimento, E. S. P.; Cardoso, D. R.; Franco, D. W.; *J. Sep. Sci.* **2009**, *32*, 1.
37. Cardozo, R. M. D.; Martins, J. F. P.; França, A.; *Resumos da III Jornada Nacional da Agroindústria*, Bananeiras, Brasil, 2008.
38. Weast, R. C.; *Handbook of Chemistry and Physics*, 58th ed., CRC Press: Florida, 1978.
39. Galinaro, C. A.; Silva, A. A.; Cardoso, D. R.; Franco D. W.; *Resumos da 31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*, Águas de Lindóia, Brasil, 2008.
40. Novaes, F. V.; *Noções Básicas Sobre a Teoria da Destilação Alcoólica*, ESALQ/USP, Piracicaba, 1994, publicação interna.