

ISOLADO PROTÉICO DE SOJA COMO FONTE DE NITROGÊNIO NA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA PARA PRODUÇÃO DE CACHAÇA

ELISANGELA MARQUES JERONIMO*
ELSON LUÍZ ROCHA SOUZA**
MARCELO DE ALMEIDA SILVA*
JULIANA CRISTINA SODÁRIO CRUZ*
GLAUBER JOSÉ DE CASTRO GAVA*
GIL EDUARDO SERRA***

O objetivo deste trabalho foi avaliar o uso de isolado protéico de soja como fonte orgânica de nitrogênio protéico para complementação do mosto de caldo de cana-de-açúcar e seu efeito na manutenção da viabilidade da levedura e qualidade da cachaça. Foram conduzidas fermentações em batelada, com reciclo do fermento, em escala piloto. A adição de isolado protéico de soja influiu positivamente na manutenção da viabilidade celular, podendo propiciar melhor qualidade ao fermento reciclado e redução do tempo de fermentação. Sua adição não influenciou os teores de compostos voláteis formados e a aceitação sensorial das cachaças.

PALAVRAS-CHAVES: *Saccharomyces cerevisiae*; VIABILIDADE CELULAR; COMPOSTOS VOLÁTEIS; ANÁLISE SENSORIAL.

* Pesquisadores da APTA Regional Centro-Oeste, Jaú, São Paulo (e-mail: elijeronimo@apta.sp.gov.br).

** Laboratório de Análise de Bebidas e Vinagres de Andradas, Ministério da Agricultura e do Abastecimento, Andradas, MG (e-mail: elson.souza@agricultura.gov.br).

*** Professor, Doutor em Agronomia (Aposentado), Departamento de Tecnologia de Alimentos, Área de Açúcar e Alcool, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, Campinas, SP (e-mail: ge.serra@uol.com.br).

1 INTRODUÇÃO

Cachaça é a denominação típica e exclusiva da aguardente de cana produzida no Brasil, com graduação alcoólica de 38 a 48% em volume a 20°C, obtida pela destilação do mosto fermentado de cana-de-açúcar e com características sensoriais peculiares (BRASIL, 2002). A avaliação da cachaça é efetuada com base na legislação brasileira (BRASIL, 1997), atualizada pela Instrução Normativa nº 13 de 29/06/2005 (BRASIL, 2005). Essa especifica que os voláteis totais e não alcóois (soma de aldeídos, ácidos voláteis, ésteres, furfural e alcóois superiores) não podem ser inferiores a 200 mg por 100 mL de álcool anidro, nem superiores a 650 mg por 100 mL de álcool anidro.

O Brasil produz cerca de 1,3 bilhão de litros de cachaça por ano, contando com mais de 30 mil produtores de todos os portes. No entanto, apenas 1% do total produzido é exportado (DADOS..., 2005). Sua valorização no mercado interno e para exportação tem incentivado a expansão de destilarias artesanais (alambiques), que pretendem produzir cachaça com melhor qualidade e valor agregado.

O processo de fermentação em batelada simples com reciclagem do inóculo sedimentado tem sido bastante utilizado por produtores de cachaça artesanal. O volume do inóculo sedimentado equivale normalmente a 20% do volume da dorna de fermentação. Segundo SCHWAN e CASTRO (2001) esse inóculo consiste de população mista de leveduras em torno de $3,6 \times 10^9$ UFC/mL e de $3,6 \times 10^4$ UFC/mL de bactérias.

Nas destilarias artesanais de cachaça, a qualidade do fermento reciclado tem sido comprometida pela baixa viabilidade da levedura que reduz a multiplicação celular e a massa de fermento em atividade. A complementação nitrogenada do mosto pode constituir prática benéfica no crescimento celular do fermento e melhoria da produtividade do processo, conforme RIBEIRO, LOPES e FERRARI (1987). Fontes nitrogenadas minerais, bastante empregadas, mostram resultados muitas vezes controversos (VASCONCELOS, 1987; RIBEIRO, LOPES e FERRARI, 1987; PINOTTI, 1991).

JORGENSEN (1959) e HENSCHKE e JIRANEK (1994) relataram que o nitrogênio orgânico assimilado pelas leveduras alcoólicas mediante vários sistemas de transporte e absorção são aminoácidos, amidas e pequenos peptídeos, uréia e amônia. Os substratos naturais (com nitrogênio orgânico) são mais adequados à incorporação de nitrogênio que os substratos amoniacais.

Para a produção de cachaça em processo artesanal não há estudos específicos sobre as características fermentativas da levedura, assim como sobre a qualidade da bebida, envolvendo a complementação nitrogenada na forma orgânica.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a adição de isolado protéico de soja, como fonte de nitrogênio protéico no caldo de cana, sobre a viabilidade celular do fermento e a qualidade química da cachaça obtida.

2 MATERIAL E MÉTODOS

As fermentações foram conduzidas em escala piloto e sistema de batelada simples com reaproveitamento das células de levedura (reciclo do pé-de-cuba) por sedimentação, simulando a prática nas unidades artesanais produtoras de aguardente.

Obteve-se caldo de cana-de-açúcar da variedade RB72 454, extraído em moenda de um único terno, filtrado em tela de aço inoxidável e pano de algodão e diluído a 14 °Brix. Utilizou-se também a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, linhagem UFMG-A905, isolada de alambique artesanal.

O tratamento consistiu na adição de isolado protéico de soja (Samprosoy 90 LH®) na concentração de 3,6 g/L, equivalente a 3310 mg de proteína/L.

Usou-se tanque de fermentação em aço inoxidável, encamisado, com 40 litros de capacidade útil, dotado de agitação lenta (20 rpm) e circulação de água aquecida para manter a fermentação com temperatura média de 37°C.

Na primeira batelada usou-se fermento proveniente de cultura pura, preparado conforme descrito por JERONIMO (2004). Nas demais bateladas, o fermento provinha do reciclo das células da fermentação

anterior. O final de cada fermentação foi determinado pela estabilização da leitura de °Brix.

O pé-de-cuba restante na dorna foi tratado com ácido sulfúrico (50%), visando redução do pH para 2,0-2,5, no tempo de residência de uma hora e meia para controlar possível contaminação bacteriana presente. O pé-de-cuba tratado foi recolhido para dar seqüência a próxima batelada de fermentação.

Realizou-se a destilação do mosto fermentado em alambique de cobre (capacidade útil de 30 L), com aquecimento a gás, temperatura do vinho controlada entre 91 a 97 °C. Foram destilados os vinhos obtidos nas fermentações 1, 3, 5 e 7.

As frações do destilado (“cabeça”, “coração” e “cauda”) foram sendo misturadas na ordem de sua obtenção até atingir a concentração média de 43,5% etanol (v/v), estabelecida como padrão nesse estudo. A incorporação da fração cabeça teve como critério o fato de que as aguardentes representadas apenas pela fração coração tornar-se-iam mais similares em sua composição, podendo mascarar diferenças entre os tratamentos.

A contagem de células e sua viabilidade celular foram determinadas em câmara de Neubauer com corante eritrosina, segundo BONNEU et al. (1991). Determinou-se o nitrogênio total no mosto e no vinho pelo método de Kjeldahl, conforme descrito por CALDAS (1998) e adaptado por JERONIMO e SERRA (2003).

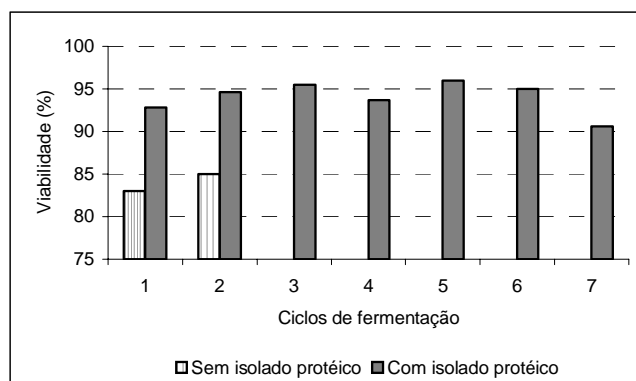
Nas cachaças obtidas foram determinados o teor de etanol, a acidez e os compostos voláteis. A determinação do grau alcoólico foi realizada em densímetro digital A. PAAR, modelo DMA 48. Para a determinação da acidez volátil, as amostras de cachaça foram previamente destiladas por arraste de vapor em Destilador Enochimico Gibertini e tituladas com NaOH 0,1 N e fenolftaleína como indicador (ABNT, 1997). As determinações de aldeídos, ésteres, propanol, isobutanol e álcool isoamílico foram realizadas em cromatógrafo a gás Shimadzu, modelo GC-17-A, com auto injetor, detector de ionização de chama e coluna cromatográfica capilar DB-WAX, conforme OLIVEIRA et al. (2005).

As cachaças obtidas da primeira e da quinta fermentação (quarto reciclo) foram submetidas à análise de aceitação, utilizando-se escala hedônica estruturada de nove pontos (STONE e SIDEL, 1993). Foram avaliados os atributos aroma, sabor e impressão global. A equipe sensorial foi composta por 30 julgadores não-treinados. As amostras codificadas foram servidas em cálices de vidro transparente, contendo 5 mL do produto, acompanhadas de biscoito, copo com água e ficha de avaliação.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A adição do isolado protéico de soja influenciou na viabilidade celular do inóculo, que se manteve elevada até o final do experimento com seis ciclos do pé-de-cuba (Figura 1).

FIGURA 1 – VIABILIDADE CELULAR (%) DO INÓCULO NOS EXPERIMENTOS SEM E COM ADIÇÃO DE ISOLADO PROTÉICO DE SOJA (5 g/L)

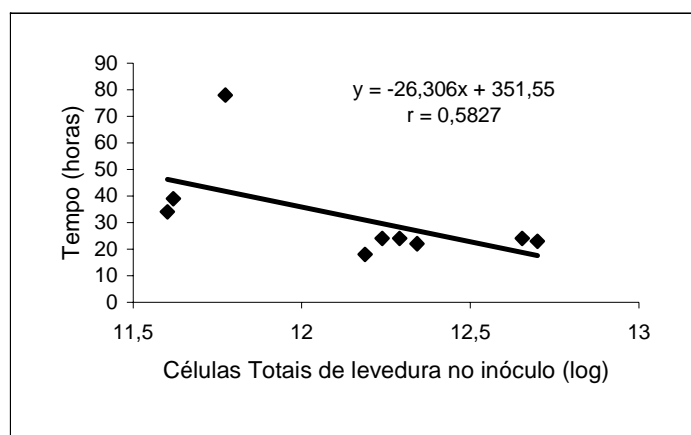


Em alguns tratamentos, o tempo de fermentação ultrapassou 70 horas já no primeiro ciclo de fermentação (Figura 2). Esse resultado inviabilizou a continuidade dos ciclos. Em dados não apresentados, os tratamentos que tiveram os tempos de fermentação acima de 70 horas foram aqueles sem complementação com a fonte de nitrogênio protéico.

Os tempos de fermentação mostraram-se notavelmente reduzidos no tratamento com maior quantidade de células totais de levedura (Figura 2), que por sua vez foram maiores em função da complementação com a fonte de nitrogênio protéico.

A concentração de células de levedura no inóculo manteve-se ao redor de 10^9 células/mL, enquanto que a quantidade de células totais foi reduzida de valores próximos a 10^{12} para 10^{11} na ausência de adição de isolado protéico de soja (Figura 2). Segundo PULZATTO (2000), a presença de nitrogênio protéico em quantidades adequadas constitui fator de extrema importância para a multiplicação celular da levedura. Essa autora verificou que o nitrogênio é assimilado durante a fase de crescimento da levedura, dando suporte a altas taxas de crescimento e estimulando a atividade fermentativa. JERONIMO e SERRA (2004) constataram que o extrato protéico de soja, preparado artesanalmente, mostrou-se como opção prática e apresentou efeito similar ao isolado protéico de soja utilizado neste estudo.

FIGURA 2 - DISPERSÃO DOS RESULTADOS DE QUANTIDADE DE CÉLULAS TOTAIS DE LEVEDURA (VIVAS E MORTAS) NO INÓCULO, EM LOG, E O TEMPO DE FERMENTAÇÃO EM CALDO DE CANA ENGLOBALANDO TODOS OS RESULTADOS OBTIDOS NOS EXPERIMENTOS SEM E COM ADIÇÃO DE ISOLADO PROTÉICO DE SOJA (5 g/L)



O teor de nitrogênio original da cana variou de 55 a 67% em relação ao nitrogênio protéico total no mosto complementado. Tal variação deve-se ao uso de cana coletada em diferentes períodos para a condução dos ensaios. O teor de nitrogênio protéico, monitorado nos mostos preparados ainda sem complementação com o isolado protéico de soja, variou de 4060 a 6850 mg/L. A quantidade adicionada de isolado protéico de soja foi equivalente a 3310 mg de proteína/L (Tabela 1). Na complementação com isolado protéico de soja, o consumo médio foi de cerca de 84% (Tabela 1). Observou-se que o nitrogênio protéico original no caldo de cana foi quase totalmente consumido, o que significa que esse nutriente estava em forma assimilável pela levedura. Sob o ponto de vista nutricional da levedura, os resultados mostraram que o nitrogênio protéico presente no caldo é insuficiente para suprir a nutrição da levedura em fermentação. São necessários ajustes nos níveis dos nutrientes disponíveis para a levedura, visando equilibrar seus efeitos benéficos sobre a viabilidade celular e o metabolismo fermentativo com níveis adequados de compostos secundários da fermentação (VASCONCELOS, 1987; RIBEIRO,

LOPES e FERRARI, 1987; ABRAMOV, ÉFENDIEVA e KOTENTO, 1994; DOMÍNGUEZ, NELSON e MAIA, 1997; JERONIMO, 2004).

O consumo mais elevado de nitrogênio protéico nas primeiras fermentações com adição de isolado protéico de soja indica que a levedura (após consumir maior quantidade dessa fonte de proteína) atinge estado nutricional adequado e reduz a sua demanda nas fermentações subseqüentes.

O uso do isolado protéico de soja não promoveu elevação nos teores de acidez (Tabela 2). A acidez das cachaças é de grande importância, pois durante sua produção os ácidos reagem com os alcóois presentes aumentando a formação dos ésteres (um dos constituintes responsáveis pelo aroma). O excesso de acidez promove sabor indesejado e ligeiramente “agressivo” em aguardente de cana, depreciando a qualidade da bebida (CHERUBIN, 1998).

Os teores de aldeídos não foram elevados (23,48 a 12,76 mg/100 mL de álcool anidro) e não mostraram relação definida com a clarificação e com a adição de N protéico (Tabela 2). Trata-se da fração mais volátil das bebidas alcoólicas (NYKANEM, 1986) e que têm odor pronunciado. Os aldeídos são formados durante a fermentação pela oxidação de alcóois, degradação oxidativa de Strecker de aminoácidos e autooxidação de ácidos graxos insaturados (NYKANEN e SUOMALAINEN, 1983).

Os teores de acetato de etila ficaram entre 14,33 e 22,44 mg/100 mL de álcool anidro (Tabela 2). O acetato de etila é o mais abundante éster das bebidas alcoólicas. OLIVEIRA et al. (2005) também encontraram níveis de produção desse composto considerados baixos (cerca de 9,00 a 36,00 mg/100 mL de álcool anidro) em aguardentes produzidas com diferentes cepas de levedura em batelada única. Os ésteres apresentam odor agradável de frutas e são considerados compostos importantes de aroma nas bebidas alcoólicas (LEHTONEM e JOUNELA-ERIKSON, 1983). Em quantidades excessivas conferem aroma indesejável e enjoativo (MAIA, 1994).

TABELA 1 - RESULTADOS PARA PROTEÍNA NO MOSTO, VINHO E CONSUMIDA, COM E SEM A ADIÇÃO DE ISOLADO PROTÉICO DE SOJA

	Mosto (mg/L)	Vinho (mg/L)	Proteína Consumida (%)
Fermentação*	SEM ADIÇÃO DE ISOLADO PROTÉICO DE SOJA		
1	5330	410	92,3
2**	5580	500	91,0
Fermentação*	COM ADIÇÃO DE ISOLADO PROTÉICO DE SOJA***		
1	8130	530	93,5
2	8640	500	94,2
3	8130	1000	87,7
4	9900	2060	79,2
5	7370	1300	82,4
6	8130	1360	83,3
7	8890	2650	70,2

*Fermentação 1 (inicial) = inóculo preparado em laboratório; fermentação 2 a 7 = inóculo obtido do reaproveitamento das células da fermentação anterior. ** Fermento em condições não-adequadas para proceder a continuidade dos ciclos; ***(5 g/L).

Os teores dos alcóois superiores, propanol, isobutanol e álcool isoamílico foram mais elevados nos tratamentos com adição de isolado protéico de soja (Tabela 2). Esses compostos formam quantitativamente o maior grupo de compostos responsáveis pelo aroma e sabor das bebidas alcoólicas e parte dos principais alcóois superiores produzidos pelas leveduras. São formados a partir de carboidratos e de aminoácidos, respectivamente na rota de biossíntese de aminoácidos e na de

catabolismo dos mesmos (NIKANEM e SOUMALAINEM, 1983; PIGOTT, 1989). Teores elevados de propanol têm sido correlacionados com aguardentes de qualidade inferior (ALMEIDA e BARRETO, 1971), o que é contraposto por resultados que mostram correlação positiva para sabor e impressão global de cachaças artesanais (SILVA, 2003; OLIVEIRA et al., 2004).

Todos os compostos avaliados neste estudo estão de acordo com os limites do padrão de identidade e qualidade da cachaça, definido pela legislação brasileira (BRASIL, 1997; BRASIL, 2005).

TABELA 2 - TEOR ALCOÓLICO (%V/V) E COMPOSTOS VOLÁTEIS (mg/100 mL ÁLCOOL ANIDRO) NAS CACHAÇAS OBTIDAS EM FERMENTAÇÃO EM BATELADA COM RECICLO DE CÉLULAS, COM E SEM A ADIÇÃO DE ISOLADO PROTÉICO DE SOJA

Fermentação ¹	°GL ²	AcVol ³	Actald ⁴	AcEtil ⁵	Prop ⁶	Isob ⁷	Isoam ⁸
SEM ADIÇÃO ISOLADO PROTÉICO DE SOJA							
1	43,50	27,60	23,40	14,33	35,36	91,78	253,54
COM ADIÇÃO DE ISOLADO PROTÉICO DE SOJA ⁹							
1	44,20	13,6	23,48	22,44	51,92	65,70	214,73
3	43,90	13,7	12,76	19,91	51,84	113,87	128,22
5	43,30	6,94	12,84	17,18	64,62	63,75	124,04
7	43,40	17,32	19,46	21,56	73,65	47,52	93,55

¹Fermentação 1 (inicial) = inóculo preparado em laboratório e fermentação 2 a 7 = inóculo obtido do reaproveitamento das células da fermentação anterior; ²Grau alcoólico (%v/v); ³Acidez volátil em ácido acético; ⁴Acetaldeído; ⁵Acetato de Etila; ⁶Propanol; ⁷Isobutanol; ⁸Álcool Isoamílico; ⁹5 g/L.

Para a aceitação sensorial foram pré-selecionadas as cachaças da primeira e quinta fermentação (4º reciclo). Todas as cachaças avaliadas sensorialmente foram aceitas (Tabela 3).

TABELA 3 - MÉDIAS DAS NOTAS¹ ATRIBUÍDAS PELOS JULGADORES PARA AROMA, SABOR E IMPRESSÃO GLOBAL DAS AMOSTRAS DE CACHAÇAS PRODUZIDAS EM ESCALA PILOTO, SEM E COM A ADIÇÃO DE ISOLADO PROTÉICO DE SOJA

FERMENTAÇÃO ²	AROMA ³	SABOR ⁴	IMPRESSÃO GLOBAL ³
SEM ADIÇÃO DE ISOLADO PROTÉICO DE SOJA			
1	6,07 ab	5,72 a	5,74 ab
COM ADIÇÃO ISOLADO PROTÉICO DE SOJA			
1	5,87 b	5,69 a	5,85 a
5	6,22 ab	5,46 ab	5,41 ab

¹Escala hedônica estruturada de 1 a 9 pontos (1 = desgostei muitíssimo, 5 = nem gostei/nem desgostei, 9 = gostei muitíssimo); ² fermentação 1 (inicial) = inóculo preparado em laboratório e fermentação 2 a 7 = inóculo obtido do reaproveitamento das células da fermentação anterior; ³ Teste de Duncan = 10%; ⁴ Teste de Duncan = 15%.

4 CONCLUSÃO

A adição de isolado protéico de soja influenciou positivamente na manutenção da viabilidade celular, podendo propiciar melhor qualidade ao fermento reciclado e redução do tempo de fermentação.

A adição de isolado protéico de soja ao mosto para a produção de cachaça não influenciou os teores de compostos voláteis formados e a aceitação sensorial das cachaças.

ABSTRACT

SOYA PROTEIN ISOLATED IN ALCOHOLIC FERMENTATION FOR THE PRODUCTION OF CACHAÇA

The goal of this work was to evaluate the use of soya protein isolated as a proteic nitrogen organic source for sugar cane juice complementation and the effect in the yeast cell viability maintenance and cachaça quality. Batch fermentations of sugarcane juice with yeast recycling were performed, in scale pilot. The soya protein isolated influenced positively the cellular viability maintenance, and consequently resulted in a better recycled ferment and a reduction in time of fermentation. The proteic nitrogen addition in the juice didn't affect the sensory acceptance of cachaça, and also didn't result in different levels of volatile compounds.

KEY-WORDS: *Saccharomyces cerevisiae*; **CELULAR VIABILITY**; **VOLATILE COMPOUNDS**; **SENSORY ANALYSIS**.

REFERÊNCIAS

- 1 ABRAMOV, S. A.; ÉFENDIEVA, D. A.; KOTENTO, S. T. Effect of the growth medium on the protein content of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v.30, n.2, p.225-227, 1994.
- 2 ALMEIDA, M. E. W.; BARRETO, H. H. C. Alcóois superiores em aguardente de cana por cromatografia gasosa. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.31, p.117-123, 1971.
- 3 ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 13856**: acidez titulável total, volátil total e fixa. São Paulo, 1997. 5 p.
- 4 BONNEU, M.; CROUZET, M.; URDACI, M.; AIGLE, M. Direct selection of yeast mutants with reduced viability on plates by erythrosine B. staining. **Analytical Biochemistry**, v.193, p.225-230, 1991.
- 5 BRASIL. Ministério da Agricultura. Decreto nº 2314 de 04 de setembro de 1997. Dispõe sobre o registro, classificação, padronização produção e fiscalização da bebidas. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 05 de setembro de 1997.
- 6 BRASIL. Ministério da Agricultura. Decreto nº 4062 de 21 de dezembro de 2001. Define expressões "cachaça" e "cachaça do Brasil" como indicações geográficas e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 03 de janeiro de 2002.
- 7 BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa nº 13 de 29 de junho de 2005. Aprova o regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para aguardente de cana e para cachaça. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 30 de junho de 2005.
- 8 CALDAS, C. **Manual de análises selecionadas para indústrias sucroalcooleiras**. Maceió: Sindicato da Indústria do Açúcar e do Alcool no Estado de Alagoas, 1998. 423 p.
- 9 CHERUBIN, R. A. **Efeitos da adição de benzoato de sódio na fermentação alcoólica para produção de aguardente de cana-de-açúcar (*Saccharum spp*)**. Piracicaba, 1998. 70 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- 10 DADOS estatísticos sobre cachaça. Disponível em: <www.pbdac.com.br>. Acesso em: 12 jul. 2005.
- 11 DOMÍNGUEZ, V. E. L.; NELSON, D. L.; MAIA, A. B. R. Influência do fubá e do farelo de arroz sobre a formação de produtos secundários da fermentação alcoólica. **STAB**, Piracicaba, v.15, n.4, p. 28-31, 1997.
- 12 HENSCHKE, P. A.; JIRANEK, V. Yeasts - metabolism of nitrogen compounds. In: FLEET, G. H. (ed). **Wine microbiology and biotechnology**. Chur, Switzerland: Hardwood Academic Publishers, 1994. 510 p.
- 13 JERONIMO, E. M.; SERRA, G. E. Adaptação do método de microkjeldhal para determinação de nitrogênio total em caldo de cana-de-açúcar In. SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS, 5., Campinas, 2003. **Anais...** Campinas: UNICAMP, 2003.

- 14 JERONIMO, E. M.; SERRA, G. E. Extrato de soja hidrolisado como fonte de nitrogênio protéico na fermentação alcoólica para produção de cachaça. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 19., Recife, 2004. **Anais...** Recife: UFPE, 2004.
- 15 JERONIMO, E. M. **O nitrogênio protéico na fermentação alcoólica e sua influência na qualidade da cachaça.** Campinas, 2004. 130 p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- 16 JORGENSEN, A. **Microbiologia de las fermentaciones industriales.** Zaragoza: Acribia, 1959. 591p.
- 17 LEHTONEN, M.; JOUNELA-ERIKSSON, P. Volatile and non-volatile compounds in the flavour of alcoholic beverages. In: PIGGOTT, J.R. **Flavour of distilled beverages: origin and development.** Flórida: Verlag Chemie International, 1983. p. 64-78.
- 18 MAIA, A. B. R. Componentes voláteis da aguardente. **STAB**, Piracicaba, v.12, n.6, p. 29-34, 1994.
- 19 NYKÄNEN, L.; SUOMAILAINEN, H. **Aroma of beer, wine and distilled alcoholic beverages.** Berlin: Academic Verlag, 1983. 413 p.
- 20 NYKÄNEN, L. Formation and occurrence of flavor compounds in wine and distilled alcoholic beverages. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.37, n.1, p.84-96, 1986.
- 21 OLIVEIRA, E. S.; ROSA, C. A.; MORGANO, M. A.; SERRA, G. E. Fermentation characteristics as criteria for selection of cachaça yeast. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 20, n. 1, p. 19-24, 2004.
- 22 OLIVEIRA, E. S.; CARDELLO, H. M. A. B.; JERONIMO, E. M.; SOUZA, E. L. R.; SERRA, G. E. The influence of different yeasts on the fermentation, composition and sensory quality of cachaça. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 21, p. 707-715, 2005.
- 23 PIGGOTT, J. R. **Distilled beverage flavour: recent developments.** Chinchester: E. Horwood, 1989. 352 p.
- 24 PINOTTI, R. F. Quantificação do nível de nitrogênio nas etapas do processo de produção de álcool. **STAB**, v.10, n.1, p.34-35, 1991.
- 25 PULZATTO, M. E. **Fatores que influem na obtenção de biomassa de levedura seca (*Saccharomyces cerevisiae*) da fermentação alcoólica.** Campinas, 2000. 112 p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- 26 RIBEIRO, F. J.; LOPES, J. J.; FERRARI, S. E. Complementação de nitrogênio de forma contínua no processo de fermentação alcoólica. **Brasil Açucareiro**, v.1, n.105, p.26-30, 1987.
- 27 SALIK, F. L. M.; POVH, N. P. Método espectrofotométrico para determinação de teores alcoólicos em misturas hidroalcoólicas. In: CONGRESSO NACIONAL DA STAB, 5. 1993, Águas de São Pedro. **Anais...** Piracicaba: STAB, 1993. p.262-266.
- 28 SCHWAN, R. F.; CASTRO, H. A. Fermentação alcoólica. In: CARDOSO, M. das G. (Ed.). **Produção de aguardente de cana-de-açúcar.** Lavras: UFLA, 2001. p. 45-47.
- 29 SILVA, C. L. C. **Seleção de linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* floculantes e linhagens não-produtoras de H₂S e sua influência na qualidade da cachaça.** Belo Horizonte, 2003. 99 p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais.
- 30 STONE, H.; SIDEL, J. L. **Sensory evaluation practices.** 2nd ed. San Diego: Academic Press, 1993. 336 p.
- 31 VASCONCELOS, J. N. Influência da complementação de nutrientes nitrogenados e fosfatados sobre o processo de fermentação alcoólica industrial. **Brasil Açucareiro**, v.4/5/6, n.105, p.41-48, 1987.

AGRADECIMENTO

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo suporte financeiro e pela bolsa de doutoramento concedida ao primeiro autor e à Bunge Alimentos pelo fornecimento do Samprosoy 90 LH®.