



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA QUÍMICA  
CURSO DE QUÍMICA INDUSTRIAL

**MATHEUS DUARTE COELHO**

**AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DE ENZIMAS NA PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO QUÍMICA E FÍSICO-QUÍMICA DA AGUARDENTE DE MANDIOCA “*Manihot esculenta*” (TIQUIRA)**

São Luís  
2017

**MATHEUS DUARTE COELHO**

**AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DE ENZIMAS NA PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO QUÍMICA E FÍSICO-QUÍMICA DA AGUARDENTE DE MANDIOCA “*Manihot esculenta*” (TIQUIRA)**

Monografia apresentada ao curso de Química Industrial da Universidade Federal do Maranhão, como requisito para obtenção do grau de Bacharel em Química Industrial.

Orientador: Prof. Dr. Victor Elias Mouchrek Filho

São Luís  
2017

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a)  
autor(a). Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

Duarte Coelho, Matheus.

AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DE ENZIMAS NA PRODUÇÃO E  
COMPOSIÇÃO QÍMICA E FÍSICO-QUÍMICA DA AGUARDENTE DE  
MANDIOCA " Manihot esculenta" TIQUIRA / Matheus  
Duarte Coelho. - 2017.

45 f.

Orientador(a): Victor Elias Mouchrek Filho. Monografia  
(Graduação) - Curso de Química Industrial,  
Universidade Federal do Maranhão, SÃO LUÍS-MA, 2017.

1. AGUARDENTE. 2. Enzimas. 3. Mandioca. 4.  
Sacarificação. I. Elias Mouchrek Filho, Victor. II.  
Titulo.

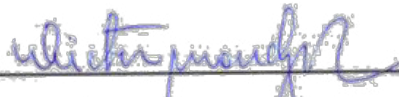
**MATHEUS DUARTE COELHO**

**AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DE ENZIMAS NA PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO QUÍMICA E FÍSICO-QUÍMICA DA AGUARDENTE DE MANDIOCA "*Manihot esculenta*" (TIQUIRA)**

Monografia apresentada ao curso de Química Industrial da Universidade Federal do Maranhão, como requisito para obtenção do grau de Bacharel em Química Industrial.

Aprovada em 30 / 01 / 2017

**BANCA EXAMINADORA**



**Prof. Dr. Victor Elias Mouchrek Filho (Orientador)**  
Doutor em Química Analítica  
Departamento de Tecnologia Química



**Helene do Carmo Castro Lacerda**  
Bacharel em Química Industrial



**Dionney Andrade de Sousa**  
Bacharel em Química Industrial

## RESUMO

A mandioca (*Manihot esculenta*) é atualmente a quarta mais importante cultura de produção de alimentos do mundo e a principal na região tropical. Na alimentação humana, a raiz é muito consumida na forma de farinha. Os maiores produtores mundiais de mandioca são os países de terceiro mundo, com isso, a mandioca é uma cultura de subsistência, sem valor comercial significativo em termos mundiais. O Maranhão é conhecido pela produção da tiquira, oriunda da fermentação alcoólica de beijus, uma bebida destilada com alto teor de álcool etílico, de origem indígena, sendo produzida artesanalmente, em cerca de treze municípios do Estado e cuja matéria prima é a mandioca. A legislação brasileira classifica a tiquira como uma bebida alcoólica fermento-destilada, cuja graduação alcoólica pode variar de 36º a 54º GL, sendo obtida do destilado simples do mosto de mandioca fermentado. Visto que o processo de fabricação tradicional demanda de 20 a 22 dias, o presente trabalho viabiliza uma otimização de tempo dos processos de liquefação e sacarificação do amido, utilizando enzimas comerciais, a  $\alpha$ -amilase (Liquozyme® Supra) de origem bacteriana e a glucoamilase (AGM® 300L) de origem fúngica. Foram executadas as etapas de liquefação, sacarificação, fermentação, destilação e em seguida realizou-se as análises químicas e físico-químicas. Os resultados demonstraram que a tiquira produzida a partir da massa de mandioca está de acordo com os parâmetros estabelecidos pela legislação, exceto para a acidez volátil, que apresentou valor superior ao máximo permitido.

**Palavras-chave:** Aguardente. Enzimas. Mandioca. Sacarificação.

## ABSTRACT

The manioc is in now days the fourth most important food production in the world and it is the principal in the tropic soil. In human feeding, the root is frequently consumed in the flour form. The main producers of manioc in the world are the third world countries, which makes the manioc a culture of sub existence, with no significant commercial value in the world. The Maranhão is known by the tiquira production, in which comes from the ethyl fermentation of beijus, a distilled drink with high volume of ethylic alcohol , from indigenous origin , being handmade produced, in around thirteen counties of the state, in which the prime matter is the manioc. The Brazilian legislation classifies the tiquira as an alcoholic drink ,yeast-distilled , whose the graduation of alcohol may vary from 36° a 54° GL, coming from the simple distilled manioc fermented. Known that the traditional fabrication process demands from 20 to 22 days, the current labor sees a better use of time in the liquefaction process and saccharose process of the amylum, using comercial enzymes, a  $\alpha$ -amilase (Liquozyme® Supra) of bacterial origins and the glucoamylase (AGM® 300L). Is has been executed the steps of liquefaction, sacchrose process, fermentation, distillation and following it was made the chemical analyses and fysical-chemical analyses. The results show that the tiquira produced from the manioc pasta is aligned with the parameters established by the legislation, except from the volatile acidity, in witch has shown a higher value to the maximum allowed.

**Key words:** Brandy. Enzyme. Manioc. Saccharose Process.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 01</b> -Fórmula estrutural do cristal violeta	13
<b>Figura 02</b> -Fluxograma de produção de tiquira por via enzimática e a partir da massa da mandioca	23
<b>Figura 03</b> -Solução água /massa da mandioca	24
<b>Figura 04</b> -Teste de amido, antes e depois da utilização de enzimas	24
<b>Figura 05</b> -Dorna de fermentação	25
<b>Figura 06</b> -Alambique de cobre	25
<b>Figura 07</b> -Alcoômetro de Gay-Lussac	26
<b>Figura 08</b> -Aparelho borbulhador	27
<b>Figura 09</b> -Banho-maria com cápsulas	30
<b>Figura 10</b> -Espectrofotômetro de Absorção Atômica	32

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 01</b> Valores de pH e °Brix durante o processamento da aguardente de mandioca	35
<b>Tabela 02</b> Resultados obtidos para as análises físico-químicas	36

---



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	11
<b>2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	15
2.1 ETAPAS DO PROCESSO DE OBTENÇÃO DA TIQUIRA.....	15
2.2 PREPARAÇÃO DA MATÉRIA PRIMA .....	15
2.3 SACARIFICAÇÃO E FERMENTAÇÃO .....	16
2.4 DESTILAÇÃO .....	18
2.5 METAIS PESADOS EM BEBIDAS ALCOÓLICAS .....	19
2.5.1 Metodologia para a determinação de metais em bebidas alcoólicas.....	19
2.5.2 Cobre .....	20
<b>3 OBJETIVO</b> .....	21
3.1 GERAL.....	21
3.2 ESPECÍFICOS.....	21
<b>4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL</b> .....	22
4.1 COLETAS DAS AMOSTRAS.....	22
4.2 PRODUÇÃO E ANÁLISES DA AGUARDENTE DE MANDIOCA POR VIA ENZIMÁTICA.....	22
4.3 GRAU ALCOÓLICO .....	25
4.4 ACIDEZ TOTAL TITULÁVEL .....	26
4.5 ACIDEZ VOLÁTIL .....	27
4.6 ÉSTERES.....	28
4.7 EXTRATO SECO .....	29
4.8 DETERMINAÇÃO DO pH.....	30
4.9 DETERMINAÇÃO DE COBRE .....	31
4.10 DENSIDADE RELATIVA A 20°C.....	32
4.11 CINZAS.....	33
4.12 ÁCIDO CIANÍDRICO .....	33
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	35
5.1 PRODUÇÃO DA AGUARDENTE DE MANDIOCA POR VIA ENZIMÁTICA.....	35
5.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS.....	36
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	39
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	40
<b>ANEXOS</b> .....	43

## 1 INTRODUÇÃO

A mandioca (*Manihot esculenta*) é atualmente a quarta mais importante cultura de produção de alimentos do mundo e a principal na região tropical. As raízes de mandioca constituem alimento em vários países tropicais, sendo a principal fonte de carboidratos. Botanicamente, a mandioca pertence à família *Euforbiácea* e ao gênero *Manihot*, com grande número de espécies sendo a mais comum a *Manihot esculenta*, Crantz. Na alimentação humana, a raiz é muito consumida na forma de farinha.

Os maiores produtores mundiais de mandioca são os países de terceiro mundo, com isso, a mandioca é uma cultura de subsistência, sem valor comercial significativo em termos mundiais (NAGIB, 1999) A raiz da planta e seus subprodutos são consumidos por mais de 800 milhões de pessoas. Em algumas regiões, como nordeste brasileiro, Gana, Nigéria e algumas ilhas da Indonésia, mais de 70% das calorias consumidas diariamente pela população vêm da mandioca (NAGIB, 1999). Entre todas as culturas, a mandioca é apontada por diversos estudos científicos como a de mais alta produtividade de calorias, a de maior eficiência biológica como produtor de energia e a de melhor adaptação a solos deficientes em nutrientes.

De todos os cultivares americanos, talvez o mais difundido e mais importante para a dieta indígena seja a mandioca. Todas as variedades de mandioca têm, por quilo de produto fresco, entre 15 e 400 mg de ácido cianídrico (HCN) (NAGIB, 1999). Por ser um forte veneno, poucas variedades podem ser consumidas sem um processamento prévio para destoxificação: apenas as denominadas “aipim” (no Rio de Janeiro), “macaxeira” (no Nordeste) ou “mandioca doce” de maneira mais geral precisa apenas de cozimentos para se tornarem consumíveis. Na maioria das variedades a quantidade de HCN é letal, o que exige um processamento adicional para eliminar esse ácido, mais conhecido como o “ácido prússico”. Entre outros meios de preparação e consumo, no interior do estado do Maranhão, a mandioca é utilizada também como a principal matéria-prima na produção de aguardentes de mandioca (tiquiras).

## **Aguardente de mandioca: tiquira**

A tiquira é uma bebida destilada com alto teor de álcool etílico, de origem indígena, sendo produzida artesanalmente, em cerca de 13 municípios do Estado do Maranhão e cuja matéria prima é a mandioca. Segundo a legislação brasileira as aguardentes são regulamentadas pelo Decreto Federal do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento-MAPA. O decreto 6.871 de 4 de julho de 2009 regulamenta a Lei 8.918 de 14 de julho de 1994, que descreve a padronização, classificação, registro, inspeção, produção e fiscalização de bebidas.

A tiquira é produzida a partir da fermentação alcoólica de beijus da mandioca. Há relatos de cronistas do século XVI de que os indígenas tomavam uma bebida fermentada feita com mandioca e para sua produção era necessária uma prévia mastigação das raízes de mandioca cozidas, provocando a sacarificação, para ativar a fermentação.

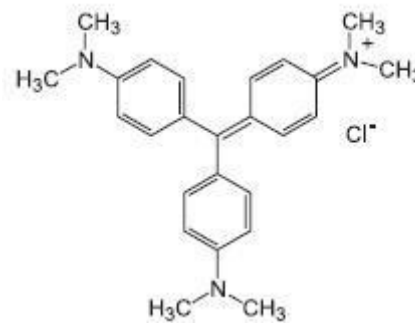
Não se sabe da origem desta bebida, mas a fabricação estendia-se das tribos do litoral até o sertão, seguindo o mesmo processo de produção. Existem também relatos do final do século XIX, de uma bebida de origem indígena feita de mandioca muito difundida no Amazonas produzida por destilação, denominada na língua tupi de “tikira”, cujo significado é líquido que goteja, que pinga do alambique (CASCUDO, 1993). Existe, portanto, uma semelhança muito grande com os nomes populares da aguardente atribuída por razões semelhantes.

Apesar da produção da tiquira ser modesta em relação à da aguardente de cana-de-açúcar (aproximadamente 2 bilhões de litros/ano), alguns fatores justificam o seu estudo, tais como: a sua larga aceitação regional (toda a produção encontra mercado); as condições inadequadas, em termos de higiene, em que alguns alambiques trabalham; o fato da flora microbiana utilizada nas etapas de sacarificação e fermentação ser colhida ao acaso, ou seja, diversas linhagens selvagens competindo no processo, com implicações importantes na composição e qualidade do destilado (proporção e natureza dos secundários), tempo e rendimento da produção; um teor médio elevado de íons cobre e a presença marcante de íons  $\text{CN}^-$ .

Outro interesse que essa bebida desperta é com relação à elucidação dos compostos responsáveis pela sua coloração. É prática comum entre os produtores a adição de folhas de tangerina (*Citrus reticulata* Blanco) ao vinho, durante a etapa da

destilação. Estas folhas conferem uma tonalidade levemente azulada ao destilado (BOSCOLO, 2001). Entretanto, a exemplo de outras aguardentes, como a Caninha Azuladinha, algumas tiquiras chegam à mesa do consumidor com uma coloração violeta. Ao contrário da tiquira levemente azulada, a tiquira violeta não perde sua coloração com o tempo. A essa coloração é verificada a presença de um corante do grupo dos trifenilmetanos, o cloreto de hexametilpararosnilina, também chamado de cristal violeta (CV) (Figura 1), O cristal violeta está sendo adicionado à bebida, na condição de corante alimentício. Esta substância, desde 1890, é de amplo uso na medicina e como corante em processos industriais (SAQUID, 2003). É um agente anti-séptico indicado para infecções, particularmente as oriundas de bactérias gram-positivas, e alguns outros patógenos como, por exemplo, a *Cândida* sp., e bastante comercializada em soluções aquosas nas concentrações de 1 a 2%. (DACAMPO, 1990)

**Figura 1.** Fórmula estrutural do cristal violeta (cloreto de hexametilpararosnilina)



Fonte: Catálogo produtos Merck Millipore<sup>1</sup>

A legislação brasileira classifica a tiquira como uma bebida alcoólica fermento-destilada, cuja graduação alcoólica pode variar de 36<sup>o</sup> a 54<sup>o</sup> GL, sendo obtida do destilado simples do mosto de mandioca fermentado. O destilado deve ter o aroma e o sabor dos elementos naturais contidos no mosto fermentado, derivados do processo fermentativo ou formado durante a destilação (MAPA 1997).

Em bebidas alcoólicas destiladas, muitos compostos que são responsáveis pelo odor e sabor, são voláteis. Os principais compostos são: álcoois, ácidos carboxílicos, aldeídos, cetonas, ésteres, como também compostos nitrogenados e sulfurados, compostos fenólicos, terpenos e outros.

<sup>1</sup> Disponível em: < <http://migre.me/w0t0l> > Acesso em jan. 2017.

A presença destes compostos é influenciada pela matéria prima e pelas etapas do processo de produção, onde cada etapa tem influência particular na qualidade do produto. Muitas pesquisas têm sido desenvolvidas para correlacionar as características sensoriais e a composição química dos componentes em bebidas alcoólicas.

Os metais, os carbonatos e, principalmente, o cianeto (espécie extremamente tóxica) estão entre os principais componentes, em termos de interesse, nos estudos voltados para a qualidade da tiquira. Na maioria dos casos, tanto os carbonatos como os metais são tóxicos e prejudicam a qualidade da bebida. Uma exceção é o cobre que precisa estar presente durante o processo de obtenção da tiquira porque este metal é responsável pela eliminação de sulfeto, eliminando também, sabor e odor indesejáveis. Já o cianeto é extremamente tóxico mesmo em concentrações muito baixas.

O presente trabalho utiliza a massa de mandioca para produção de tiquira por via enzimática, como forma de aperfeiçoamento do método tradicional que leva em média vinte dias para a produção, e com a utilização de enzimas o tempo cai para em média três dias. O processo utiliza as enzimas comerciais  $\alpha$ -amilase (Liquozyme® Supra) de origem bacteriana e resistente ao calor para a fase de liquefação e a glucoamilase (AGM® 300L) de origem fúngica para a conversão do amido em glicose, acelerando o processo de liquefação e sacarificação do mosto e a utilização de levedura (*Sacharomy cescerivisae*) para fermentação. Uma boa aguardente, além de atender às exigências legais com relação à sua composição, deve também, apresentar qualidades sensoriais capazes de satisfazer as expectativas de seus consumidores (JANZANTTI, 2004). Após obtenção do destilado, realizou-se as análises químicas e físico-químicas a fim de comparar a qualidade da aguardente com a legislação brasileira vigente.

## **2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

### **2.1 Etapas do processo de obtenção da tiquira**

Para produzir álcool a partir do amido, são necessárias as etapas de gelificação do amido, liquefação e sacarificação em açúcares, fermentação alcoólica e destilação. Por meio desse processo se dá a produção da tiquira (CEREDA, 2005; RIBEIRO, 2011). A seguir, descrevem-se alguns aspectos importantes das etapas de produção da tiquira.

### **2.2 Preparação da matéria prima**

A mandioca mostra-se um dos tubérculos que mais se destaca no que se refere a um alto teor de carboidratos, na forma de açúcares, amido e outros polissacarídeos. Sendo assim uma matéria-prima facilmente fermentável para a produção de bebidas alcoólicas e etanol. Cultivada em todos os estados brasileiros, sua produção tem sido dirigida tanto para o consumo direto como para a indústria de processamento (CENI et al., 2009; COSTA, 2010; OLIVEIRA, 2011; VENTURINI FILHO; MENDES, 2003).

A mandioca, que é a matéria prima para a fabricação da tiquira deve ser muito bem lavada, descascada, ralada, prensada e esfarelada para a preparação dos beijus. Na forma de produção tradicional o beiju é a massa de mandioca ralada, peneirada e aquecida sobre uma chapa metálica de forma arredondada a qual é devidamente aquecida. Depois de assados os beijus são colocados em prateleiras e cobertos com palhas de bananeira ou de babaçu onde permanecerão até o desenvolvimento de fungos.

As qualidades da mandioca que é caracterizada pela variedade, tempo de colheita e praga agrícola, têm importância relevante nas operações de fermentação e destilação, no rendimento e na qualidade do produto final (tiquira).

### 2.3 Sacarificação e fermentação

É necessário realizar a sacarificação dos amiláceos devido aos agentes responsáveis pela fermentação não possuírem enzimas capazes de degradar os amidos.

A sacarificação é o processo de transformação do amido em açúcares fermentescíveis. Na produção de aguardente de mandioca (tiquira), processa-se a sacarificação por via enzimática utilizando o método do farelo enzimático (enzima não purificada) onde os agentes de hidrólise são as enzimas  $\alpha$ -amilase e a  $\beta$ -amiloglicosídeo ( $\beta$ -amilase), produzidas pelos fungos que se desenvolvem naturalmente nos beijus. Devido à complexidade da estrutura molecular do amido, para o processo, torna-se necessário sua conversão em estruturas mais simples, os açúcares, somente nessa forma pode ser utilizado na produção de etanol e bebidas alcoólicas (ALCARDE et al., 2010; ASQUIERI et al., 2009; CANCELIER et al., 2013; RIZZON; MENEGUZZO, 2008)

As enzimas utilizadas na pesquisa foram necessárias para as etapas de liquefação e sacarificação do amido, a  $\alpha$ -amilase (Liquozyme<sup>®</sup>Supra) de origem bacteriana e resistente ao calor para a fase de liquefação e a glucoamilase (AGM<sup>®</sup>300L) de origem fúngica que converte o amido em glicose. A liquefação é catalisada pela enzima promovendo a hidrólise do amido em dextrinas e polímeros menores. A segunda enzima completa a hidrólise produzindo glicose. As enzimas comerciais são produzidas por empresas especializadas em condições de pronta utilização em forma de pó, granuladas ou líquidas (ZURITA, 2010).

Estruturalmente, o amido é um homopolissacarídeo composto de unidades de D-glicose, e é constituído por dois polímeros: amilose e amilopectina que estão ligados por pontes de hidrogênio, e diferenciam-se quanto ao peso molecular, ao grau de polimerização de suas cadeias e à disposição dos mesmos no interior do grânulo (OLIVEIRA, 2008).

A enzima Liquozyme hidrolisa as ligações  $\alpha$ -1,4 da cadeia de amido, ou seja, ocorre a hidrólise da cadeia linear do amido (amilose). A hidrólise da solução de amido gelificado pela  $\alpha$ -amilase em polissacarídeos de menor peso molecular provoca uma rápida diminuição da viscosidade da pasta de amido e perda da capacidade de coloração por iodo. A diminuição da viscosidade da solução é chamada de liquefação do amido (PANDEY et al., 2005; PEIXOTO et al., 2003).

Depois do processo de liquefação e sacarificação existe a necessidade de transformação dos açúcares produzidos em álcool, através do processo de fermentação alcoólica. Fermentação é o processo bioquímico, que ocorre no citoplasma da levedura alcoólica, responsável pela transformação de açúcar em álcool etílico, que tem como produção final de álcool etílico e anidrido carbônico, além de outros produtos secundários (OLIVEIRA, 2008).

O termo fermentação vem do latim *fermentare* que significa “ferver”, uma alusão às bolhas que se formam pela eliminação do gás carbônico em um mosto em fermentação.

A fermentação alcoólica é a transformação dos açúcares do meio em álcoois, água e dióxido de carbono. A adição de açúcar tem sido utilizada como uma forma de padronizar o sabor de algumas bebidas destiladas, visando reduzir o forte sabor do etanol e eventuais defeitos sensoriais. Está é considerada a principal etapa no processo de produção de aguardente, pois uma boa fermentação produz uma aguardente de boa qualidade, porém uma fermentação defeituosa pode comprometer a qualidade do produto final. No decorrer da fermentação são produzidos os principais componentes químicos devido às atividades das leveduras (CARDELLO; FARIA, 2000).

O processo de fermentação constitui-se basicamente de três etapas, a fermentação inicial (preliminar), a principal (tumultuosa) e a fermentação complementar (final). Na fermentação inicial o consumo do açúcar acontece devido a multiplicação das leveduras, e nesta fase não ocorre a produção de álcool e a variação de temperatura é pequena. Durante a fermentação tumultuosa é significativo o desprendimento de dióxido de carbono,  $CO_2$ , e a produção de álcool é intensa, há formação de espuma, grande variação na temperatura do mosto de fermentação e uma diminuição na densidade, fato que se deve a conversão dos açúcares presentes em álcool e demais compostos líquidos. A fase final os açúcares restantes no mosto são consumidos, observa-se um aumento na acidez, diminuição na liberação de  $CO_2$  e temperatura, uma vez que ocorre a diminuição dos açúcares e conseqüentemente da produção de etanol. Quando a superfície do vinho se estabiliza e a espuma se torna escassa a fermentação está concluída (LIMA et al. 2001).

É importante ressaltar que no processo de produção artesanal da tiquira as etapas de sacarificação e fermentação ocorrem simultaneamente já que à medida



que o amido é transformado em açúcares fermentescíveis estes são transformados em álcoois, água e dióxido de carbono, além de outros componentes indesejáveis. Estas etapas são realizadas em tanques de madeira (chamados pelos produtores de coxos) onde são colocados os beijus e macerados com água. Esse processo ocorre naturalmente, com duração de quatro a seis dias, aproximadamente.

## **2.4 Destilação**

No vinho (mosto após a completa fermentação), são encontradas substâncias voláteis e fixas. Na destilação mosto fermentado, ocorrem reações, como: hidrólise, esterificação e produção de furfural. As quantidades verificadas desses compostos secundários variam entre as bebidas destiladas e a sua formação depende dos seguintes fatores: características próprias do mosto fermentado; definição das frações de corte na destilação; tipo e tamanho do destilador; temperatura e tempo da destilação; material de fabricação do alambique ou coluna e a limpeza do destilador (ALCARDE et al., 2010).

Os principais componentes da fração volátil são separados na ordem de seus pontos de ebulição, onde os compostos de menor ponto de ebulição do que o álcool etílico, são os primeiros a serem destilados, como é o caso do metanol presente na cachaça de cabeça (que corresponde a 10% do volume total destilado), a não separação da fração da cabeça pode acarretar em destilados com alto teor de metanol e aldeído acético que são tóxicos e tem limite máximo estabelecido na legislação e com concentrações elevadas de ésteres, que podem conferir um sabor enjoativo e desagradável ao destilado (ALCARDE et al., 2010; ASQUIERI et al., 2009; CANCELIER et al., 2013; RIZZON; MENEGUZZO, 2008).

Logo após, surge a cachaça de coração (ou de corpo) que contem a menor quantidade de substâncias voláteis como ácidos, álcoois superiores furfural e outros, constituindo desta forma a melhor fração do destilado (cerca de 80% do volume total) que é a cachaça boa para consumo. Por último, vem a cachaça de cauda em que a quantidade de álcool é pequena em relação a quantidade de água. Nesta fração, que corresponde a cerca de 10% do volume total destilado, encontra-se pouco etanol, muita água e substâncias cujo ponto de fusão é maior do que o do

etanol e o da água, conhecidos comumente como óleo fúsel. Acredita-se que este conjunto de substâncias que formam o óleo fúsel seja responsável pela “ressaca” e dor de cabeça que se sente após ingerir uma aguardente de baixa qualidade (STEVENS, 1960 e BATISTA, 2003).

Na produção de tiquira de caráter artesanal, majoritariamente, são usados apenas alambiques de cobre e a destilação é feita com fogo direto no alambique. Esta operação deve ser cuidadosa, pois um descuido no monitoramento pode resultar em uma tiquira com gosto de queimado por causa do excesso de calor.

## **2.5 Metais pesados em bebidas alcoólicas**

A determinação de metais pesados em bebidas alcoólicas é de grande importância, especialmente devido aos aspectos tóxicos que podem conduzir à formação de espécies muito indesejáveis. Nas aguardentes, em geral, a fonte de contaminação por cobre está no processo de destilação, pois os alambiques são construídos desse metal. Outros metais pesados como ferro, zinco, chumbo, cádmio, níquel e cobalto se devem, principalmente, à matéria prima e à água usadas no processo de produção. A importância do controle da concentração dos metais deve-se aos aspectos benéficos (em concentrações adequadas) e maléficos (que podem ser prejudiciais à saúde do consumidor) (FARIA 1989).

### **2.5.1 Metodologia para a determinação de metais em bebidas alcoólicas**

É interessante definir regras para a produção e exportação de aguardentes, bem como procedimentos de referência para quantificação de metais pesados visando garantir qualidade e credibilidade internacional na exportação destes produtos. Devido ao alto grau de toxicidade, a determinação de metais pesados como cobre, chumbo, zinco, níquel, cobalto, ferro, cádmio e outros, são de suma importância.

A presença de metais pesados no meio ambiente bem como os impactos causados por eles continua sendo motivo de permanente preocupação em busca de novos métodos analíticos. Durante os últimos anos as técnicas voltamétricas, a espectroscopia de absorção atômica e a cromatografia líquida de alta eficiência, se

tornaram técnicas importantes para a determinação de traços de muitos metais em amostra ambientais (FARIA 1989).

### 2.5.2 Cobre

O cobre é um elemento essencial, mas é também tóxico em concentrações elevadas, entretanto a intoxicação por cobre é muito rara. Estudos recentes mostram que consumir cobre em uma quantidade adequada (50 µg/Kg dia) durante a gravidez é importante para o bom desenvolvimento cerebral do bebê (PORTAMAN, 1970). A ingestão de altas doses pode acarretar, entretanto no homem, irritação e corrosão da mucosa, problemas hepáticos, renais, irritação do sistema nervoso e depressão, além da chamada “doença de Wilson” que é causada pelo acúmulo de cobre nos tecidos (SILVA, 2004).

Em bebidas alcoólicas, o cobre é controlado pela legislação brasileira, onde o máximo permitido é 5,0 mg L<sup>-1</sup> (5,0 ppm). O uso de alambiques de cobre reduz odores desagradáveis, perceptíveis quando a aguardente é destilada em recipientes de outro material que não apresente cobre em sua composição como o aço inox, por exemplo. A legislação de alguns países do hemisfério norte estabelece um limite inferior a 2 mg.L<sup>-1</sup> de cobre nos destilados alcoólicos, dificultando a sua exportação para estes países (MARELLI et al., 2013; MIRANDA et al., 2007).

### **3 OBJETIVO**

#### **3.1 Geral**

Avaliar a influência de enzimas na produção e na composição química e físico-química da aguardente de mandioca (Tiquira).

#### **3.2 Específicos**

- a) Analisar o processo de produção da tiquira empregando enzimas comerciais;
- b) Quantificar o teor de cobre total na tiquira pela técnica de espectrofotometria de emissão atômica (EEA);
- c) Determinar os parâmetros físico-químicos das tiquiras, no que se refere ao grau alcoólico real, densidade a 20 °C, extrato seco a 100 °C, acidez total, acidez volátil, acidez fixa, cinzas, ° Brix e pH;
- d) Determinar os parâmetros químicos da tiquira, no que se refere à acetato de etila e ácido cianídrico;
- e) Comparar os resultados obtidos com a legislação vigente.

## **4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL**

A pesquisa foi desenvolvida nas dependências do Laboratório de análises físico-químicas de Alimentos do Programa de Controle de Qualidade de Alimentos e Água, vinculado ao Departamento de Tecnologia Química do Centro de Ciências Exatas e Tecnologia da Universidade Federal do Maranhão, no laboratório de Bebidas e Águas e laboratório de Leite e Derivados do Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Maranhão, Campus São Luís-Maracanã e laboratório de análise de Solos da Universidade Estadual do Maranhão.

### **4.1 Coletas das amostras**

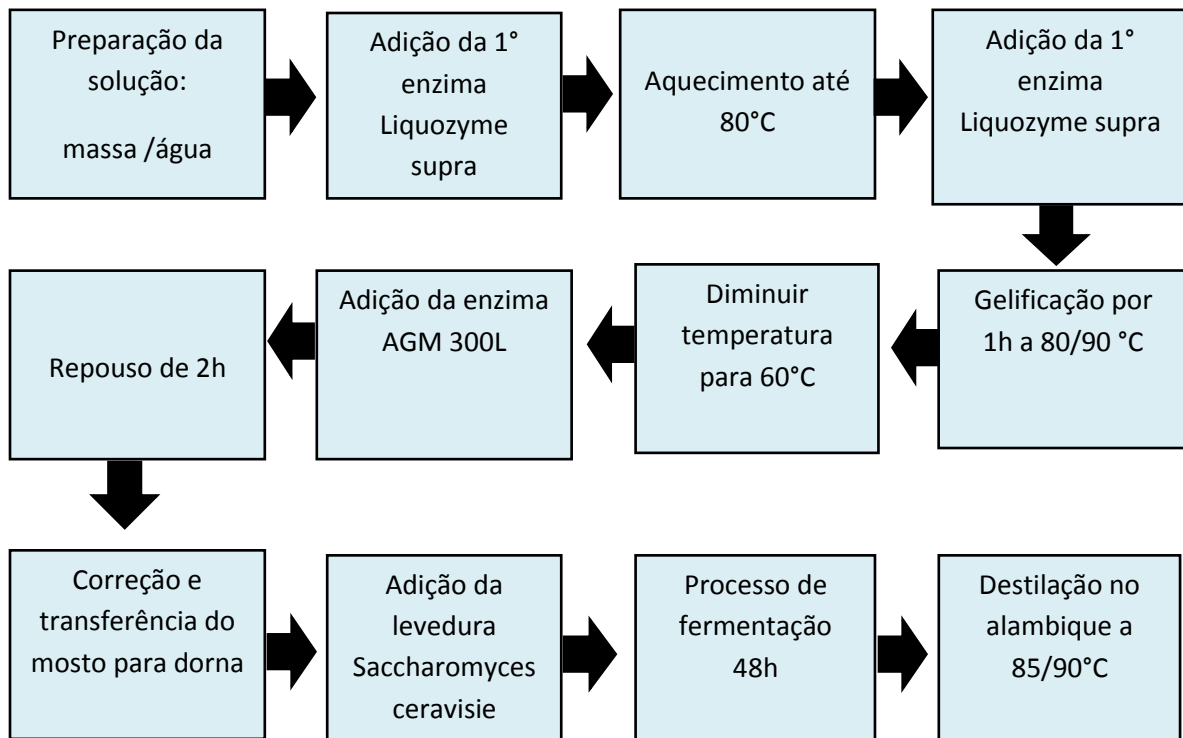
A massa da mandioca ralada utilizada para a produção de aguardente foi coletada no interior do Maranhão.

### **4.2 Produção e análises da aguardente de mandioca por via enzimática**

A produção e análise da aguardente Tiquira por via enzimática foi realizada nos laboratórios de Bebidas e Águas e de Leite e Derivados do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão, Campus São Luís- Maracanã, utilizando a massa de mandioca adquirida no interior do Maranhão.

O fluxograma apresentado na figura 2 demonstra as etapas de produção.

**Figura 2:** Fluxograma de produção de tiquira por via enzimática e a partir da massa da mandioca



**Fonte:** elaborada pelo autor

A massa da mandioca foi posta em uma panela contendo 15 litros de água (Figura 3). Com auxílio de um peagômetro digital pH/EC/TDS Hanna instruments, mediu-se o pH da solução. O teste para verificação de amido foi realizado, com a utilização de lugol, adicionando-se uma quantidade da solução em um tubo de ensaio e gotejando o lugol. Observou-se o aparecimento de uma coloração azulada, indicando a presença de amido.

**Figura 3:** Solução água /massa da mandioca



**Fonte:** Arquivo pessoal

Adicionou-se posteriormente 5 mL da enzima Liquozyme à solução. A panela foi levada ao fogo, em constante agitação e verificação da temperatura com auxílio de um termômetro. Quando a temperatura chegou a 80°C adicionou-se mais 4 mL da enzima e o aquecimento continuou por 1h em temperatura controlada de 80 a 90°C. Desligou-se o fogo e esperou-se a temperatura chegar a 60°C para adição de 6 mL da enzima sacarificante AGM 300L. Deixou-se em repouso por 2h. Realizou-se novamente o teste de lugol, verificando-se o desaparecimento da coloração azul (figura 4).

**Figura 4-** Teste de amido, antes e depois da utilização de enzimas



**Fonte:** Arquivo pessoal

Após o repouso, mediu-se o °Brix, pH, índice de refração e o volume do mosto sacarificado. A correção do mosto para o °Brix de 12 foi realizada com o acréscimo de 600 ml de água.

A correção do pH do mosto foi realizada com acréscimo de 50 mL de uma solução de ácido cítrico a 30%. Transferiu-se o mosto (já sem os resíduos sólidos) para uma dorna de fermentação (Figura 5), onde para a fermentação foi utilizado

105g de fermento biológico, *Saccharomyces cerevisiae*, a 1%. A fermentação aconteceu a temperatura ambiente de 30 – 32°C por 48h.

**Figura 5-** Dorna de fermentação



**Fonte:** Arquivo pessoal

Ao fim da fermentação, o mosto fermentado foi transferido para um alambique de cobre simples com capelo serpentina (figura 6) para a etapa da destilação. A destilação ocorreu com temperatura entre 80-90°C, separando as frações de: cabeça (5%), coração (90%) e (5%) cauda.

**Figura 6-** Alambique de cobre



**Fonte:** Arquivo pessoal

O destilado foi recolhido e armazenado para posterior análises químicas e físico-químicas.

### 4.3 Grau alcoólico

É determinado por meio de densidade com o alcoômetro graduado, e o resultado é expresso em volume percentual (%V), a graduação do alcoômetro tem como unidade o °GL (Gay Lussac) e deve estar devidamente calibrado.



Transferiu-se 250 mL da amostra para uma proveta e fez-se a medição com o alcoômetro de Gay-Lussac (Figura 7) imergindo o aparelho na proveta. O valor obtido na leitura é chamado de teor alcoólico aparente, que pode ser convertido em teor real através de valores tabelados (ANEXO A), que relaciona o teor aparente e a temperatura.

**Figura 7:** Alcoômetro de Gay-Lussac



**Fonte:** Arquivo pessoal

#### 4.4 Acidez total titulável

A acidez total titulável tem como fundamento uma reação de neutralização dos ácidos presentes na amostra, com uma solução padronizada de solução alcalina, podendo utilizar um indicador ou potenciômetro para indicar o ponto de equivalência da reação.

Transferiu-se 10 mL da amostra de tiquira para um erlenmeyer de 250 mL contendo 100 mL de água destilada, adicionou-se 3 gotas do indicador fenolftaleína. Titulou-se com uma solução alcalina padronizada de hidróxido de sódio 0,1 N até o surgimento e persistência da coloração rosa.

A resultado da acidez total é expresso em gramas de ácido acético por 100mL de amostra (g/100mL), e calculado pela seguinte expressão:

$$At = \frac{Eq.n.N}{10.V} \text{ (Equação 1)}$$

Onde:

N= Normalidade da Solução de hidróxido de sódio

n= Volume de solução de hidróxido de sódio gastos na titulação, em mL

At= Acidez total titulável

V=Volume de amostra, em mL

E= Equivalente grama de ácido acético (60)

#### 4.5 Acidez volátil

Utiliza-se uma técnica de arraste de vapor, utilizando o equipamento de açúcar redutor e acidez volátil MA 086/OR. A determinação dos ácidos voláteis que são extraídos no arraste de vapor será feita por titulação utilizando uma solução padronizada de hidróxido de sódio 0,1 N na presença do indicador fenolftaleína.

No aparelho borbulhador (Figura 8), foram inseridos 10 mL da amostra de tiquira e 250 mL de água destilada no gerador de vapor do aparelho de destilação.

Recolheu-se 100mL do destilado e a acidez foi titulada com hidróxido de sódio 0,1N na presença de fenolftaleína.

**Figura 8:** Aparelho borbulhador



Fonte: Arquivo pessoal

A acidez volátil ( $Av$ ) é dada pela expressão abaixo:

$$Av = \frac{Eq \cdot n \cdot N}{10 \cdot V} \text{ (Equação 2)}$$

Onde:

$Av$ = Acidez volátil

$n$ = Volume da solução de hidróxido de sódio gastos na titulação (mL)

$N$ = Normalidade da solução de hidróxido de sódio

$V$ = Volume da amostra (mL)

$Eq$ = Equivalente grama do ácido acético (60)

O resultado da acidez volátil é expresso em miligramas de ácido acético por 100 mL de álcool anidro, pela fórmula abaixo:

$$Av. a. a. = \frac{Av \cdot 100 \cdot 1000}{GR} \text{ (Equação 3)}$$

Onde:

$Av$ = Acidez volátil em mg/100 mL de álcool anidro

$GR$ = Grau alcoólico real (% vol.)

#### 4.6 Ésteres

A determinação dos ésteres é realizada por meio de titulação dos ácidos carboxílicos obtidos por transesterificação dos ésteres presentes nas bebidas. O valor desses ésteres será expresso em gramas de acetato de etila por 100 mL da amostra.

Com o auxílio de uma pipeta, transferiu-se 100 mL da aguardente de mandioca para um erlenmeyer de 500 mL e neutralizou-se com uma solução de

hidróxido de sódio devidamente padronizada, e na presença do indicador fenolftaleína. Após a neutralização adicionou-se mais 10 mL do hidróxido e o erlenmeyer foi posto em um banho-maria para refluxar por 1h.

Após o tempo do refluxo, resfriou-se rapidamente e foi adicionado 10 mL de uma solução de ácido sulfúrico 0,05 M, ocasionando o desaparecimento da coloração rosa. Titulou-se o excesso de ácido sulfúrico com solução de hidróxido de sódio 0,1 M até coloração rosa reaparecer.

A concentração de ésteres é expressa em miligramas de acetato de etila por 100 mL de álcool anidro, pela seguinte expressão:

$$Eaa = \frac{n \cdot N \cdot 8,8 \cdot 100}{V \cdot GR} \text{ (Equação 4)}$$

Onde:

*Eaa*= Concentração de ésteres em mg/100 mL de álcool anidro

*GR*= Grau alcoólico real

*n*= Volume em mL da solução de hidróxido de sódio gastos na titulação

*N*=Normalidade da solução de hidróxido de sódio gastos na titulação

*V*= Volume da amostra titulada (mL)

#### 4.7 Extrato Seco

Obtêm-se o extrato seco por pesagem do resíduo após evaporação, em bebidas com teor de matéria seca abaixo de 10g/L ou, por densimetria para bebidas com teor de matéria seca acima de 10g/L.

Com o auxílio de uma pipeta transferiu-se 25 mL da amostra para uma cápsula previamente seca em estufa a 110°C, resfriada no dessecador e tarada.

A cápsula mais amostra foi posta para evaporar em banho-maria a 100°C por 3h (Figura 9), e em seguida na estufa a 100°C por 30 min. Após a retirada da estufa, resfriou-se no dessecador e pesou-se a cápsula.

**Figura 9:** Banho-maria com cápsulas



**Fonte:** Arquivo pessoal

O extrato seco é expresso em g/L pela expressão:

$$Es = 40x(a - b) \text{ (Equação 5)}$$

Onde:

$Es$ = Extrato seco total (g/L)

$a$ = Massa da cápsula com o extrato

$b$ = Massa da cápsula

#### 4.8 Determinação do pH

A medida de pH é de extrema importância, dependendo do seu valor pode contribuir ou não para o crescimento de bactérias. Portanto é um fator determinante na qualidade dos alimentos e bebidas.

O pH foi determinado por meio de método potenciométrico, que tem como objetivo quantificar os íons  $H^+$  presentes na solução.

Determinou-se o pH com o pH/EC/TDS Hanna instruments, que é um medidor de bancada, previamente calibrado.

Para determinação o aparelho foi introduzido em um béquer contendo 100 mL da amostra de aguardente.

#### 4.9 Determinação de Cobre

As análises de cobre foram realizadas na Universidade Federal do Maranhão-UEMA no Laboratório de Solos.

Os métodos espectroscópicos são a principal técnica instrumental utilizada para a determinação de metais em aguardentes, têm sido amplamente utilizados na determinação de metais em baixas concentrações, por serem seletivos, altamente sensíveis, rápidos, confiáveis e possibilitarem muitas vezes, a análise direta de amostras sem tratamento prévio. Além disso, é possível se utilizar diferentes formas de atomização (chama, atomização eletrotérmica, etc). Por esse motivo, esta técnica foi escolhida neste trabalho para a determinação de cobre.

O princípio de funcionamento da técnica de Espectrofotometria de absorção atômica (EAA) explora as propriedades da matéria quando exposta a um agente externo.

O elemento a ser determinado no estado atômico vapor, absorve radiação de certo comprimento de onda pela excitação de átomos no estado fundamental para um nível eletrônico mais excitado. A quantidade de radiação absorvida está diretamente relacionada com a concentração dos átomos. Como instrumentação, pode ser usada uma chama ou o forno de grafite como atomizador, uma lâmpada de cátodo oco específica para o elemento a ser determinado, um monocromador capaz de rejeitar as outras linhas produzidas pela fonte e pelo atomizador e uma fotomultiplicadora responsável em transformar a radiação não absorvida em corrente elétrica.

O aparelho utilizado (Figura 10) foi um VARIAN série 720 ES (ICO Optical Emission Spectrometer). O teor de cobre (Cu) foi determinado por espectrofotometria de absorção atômica (plasma). Para isso foram preparadas soluções do íon metálico para a construção da curva analítica.

Prepararam-se soluções de concentrações: 1 mg/L ( $1,6 \times 10^{-5}$  mol/L); 2 mg/L ( $3,2 \times 10^{-5}$  mol/L); 3 mg/L ( $4,8 \times 10^{-5}$  mol/L); 4 mg/L ( $6,4 \times 10^{-5}$  mol/L) e 5 mg/L ( $8 \times 10^{-5}$  mol/L), a partir da diluição da solução padrão do metal com concentração de 1000 mg/L de procedência MERCK (TRITISOL). As diluições foram obtidas com micropipetas com escala de 10 a 200  $\mu$ L. Diluiu-se a amostra em 10 vezes, com um volume final de 50 mL, para a determinação do metal. Inicialmente foi feita uma

medida do branco, fazendo-se a determinação com água destilada. O branco foi usado para zerar o equipamento. Logo após foram feitas as medidas nas amostras.

**Figura 10:** Espectrofotômetro de Absorção Atômica.



Fonte: Arquivo pessoal

#### 4.10 Densidade Relativa a 20°C

Baseia-se na relação existente entre o peso específico da amostra a 20°C em relação ao peso específico da água a 20°C usando picnômetro ou acessório hidrostático com base no princípio de Arquimedes (no qual um corpo imerso em um líquido está sujeito a uma impulsão vertical do líquido, dirigida para cima, igual ao peso do líquido deslocado).

Pesou-se o picnômetro vazio e anotou-se a massa, em seguida realizou-se o mesmo procedimento, porém com água no picnômetro, e por fim pesou-se o picnômetro mais a amostra de aguardente.

Antes de todas as pesagens lavou-se o picnômetro com álcool a 95°GL e sem seguida secou-se com éter.

A densidade relativa a 20°C é dada pela expressão abaixo:

$$D_{20}^{20} = \frac{P_{am} - P_b}{P_{H_2O} - P_b} \text{ (Equação 6)}$$

Onde:

$D_{20}^{20}$  = Densidade Relativa a 20°C

$P_{am}$  = Massa do Picnômetro com amostra(g)

$P_{H_2O}$  = Massa do Picnômetro com água(g)

$P_b$  = Massa do Picnômetro vazio (g)

#### 4.11 Cinzas

A análise de determinação de cinzas em uma amostra de aguardente tem como fundamento a quantificação do resíduo, após eliminação da matéria orgânica e inorgânica volátil quando a amostra é incinerada a  $550^{\circ}\text{C} \pm 25^{\circ}\text{C}$ .

O cadinho foi aquecido a cerca de  $600^{\circ}\text{C}$  durante 10 minutos na mufla, em seguida resfriou-se no dessecador para então pesar.

Transferiu-se 25 ml da amostra para o cadinho, deixando evaporar em banho-maria. Em seguida o cadinho foi levado para a mufla a  $550^{\circ}\text{C} (\pm 25^{\circ}\text{C})$ , até que o resíduo torna-se claro. Após tirar o cadinho da mufla esfriou-se em dessecador e pesou-se.

O resultado das cinzas é dado em gramas por litro (g/L) e obtêm-se pela seguinte fórmula:

$$C = D \times (a - b) \text{ (Equação 7)}$$

Onde:

$C$  = Cinzas da amostra em gramas por Litro (g/L)

$a$  = Massa do cadinho com cinzas(g)

$b$  = Massa do cadinho (g)

$D$  = Fator relacionado à tomada de amostra ( $D=40$  p/ 25 mL e  $D=100$  p/ 10 mL)

#### 4.12 Ácido cianídrico

Titula-se o cianeto com íons prata utilizando como indicador difenilcarbazida.

Utilizando uma pipeta, transferiu-se 25 mL da amostra de aguardente para um balão de destilação de 500 mL. Adicionou-se 200 mL de água destilada e 10 mL



da solução de ácido tartárico a 5%. Recolheu-se em um erlenmeyer contendo 10 mL da solução de hidróxido de sódio 2,5% cerca de 100 mL do destilado. Transferir o conteúdo do erlenmeyer para um balão de 200 mL, e aferir com água destilada. Dividir em duas partes iguais e adicionar 3 gotas de difenilcarbazida. Titular uma das partes com nitrato de prata 0,01 N e utilizar a outra parte para comparação da cor.

O teor de ácido cianídrico expresso em mg/100 mL de álcool anidro, é calculado através da fórmula abaixo:

$$C_{AC} = \frac{n \times N \times Eq \times 100}{GR \times V} \times 100 \text{ (Equação 8)}$$

Onde:

$C_{AC}$ = Teor de ácido cianídrico me mg/100 mL de álcool anidro.

n= Volume em mL de nitrato de prata gasto na titulação.

N= Normalidade da solução de nitrato de prata.

Eq= Equivalente grama de ácido cianídrico (27).

V= Volume em mL da amostra.

GR= Grau alcoólico real em %vol.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Produção da aguardente de mandioca por via enzimática

Durante o início na produção da aguardente observou-se com atenção os valores de pH e °Brix para posteriormente realizar a correção do mosto. Um mosto com valores adequados de pH contribui para os níveis ideais de açúcares, a temperatura adequada para a levedura, uma boa decantação, favorece a ação fermentativa da levedura e inibi o desenvolvimento de bactérias.

A substituição da forma tradicional de fabricação de tiquira utilizando-se bolore, permite um melhor controle do tempo de liquefação e sacarificação, desde que o pH e a temperatura estejam na faixa ideal para a ação das enzimas utilizadas, que no caso são pH do mosto entre 4,0 a 5,0 e temperatura entre 26 a 32°C.

A tabela 1 apresenta os valores de pH e ° Brix obtidos nas diferentes etapas da produção.

**Tabela 1:** Valores de pH e °Brix durante o processamento da aguardente de mandioca.

ETAPAS DA PRODUÇÃO	pH	°Brix
Início	6,0	-
Após a Liquefação e sacarificação	6,5	12,8
Após a diluição do mosto	5,7	12,0
Após a correção da acidez do mosto	4,5	-
Após a fermentação	4,0	-

**Fonte:** elaborada pelo autor

## 5.2 Análises físico-químicas

As análises realizadas estão dispostas na tabela 2, que compara com os valores estabelecidos pela legislação brasileira, que dispõe sobre a Identidade e Qualidade da aguardente de mandioca.

**Tabela 2:** Resultados obtidos para as análises físico-químicas.

PARÂMETROS	UNIDADE	RESULTADOS	MAPA, RESOLUÇÃO Nº 15, DE 31.03.2011
Grau alcoólico real	°GL	36,0	36-54
Acidez total Titulável	mg de ácido acético/100 mL de álcool anidro	0,0125	---
Acidez volátil	mg de ácido acético/100 mL de álcool anidro	112,57	0-100
Ésteres	mg de acetato de etila/ 100mL de álcool anidro	0,178	0-200
Extrato seco	g/L da amostra	0,122	---
Determinação de pH	---	4,0	----
Determinação de cobre	mg de cobre/L de álcool anidro	0,3187	0-5
Ácido Cianídrico	mg de ácido cianídrico/100ml de álcool anidro	0,3829	0-5

**Fonte:** elaborada pelo autor

A aguardente apresentou um teor alcoólico de 36,0 °GL, valor que está em acordo com a faixa exigida pela Legislação do MAPA, onde o intervalo varia de 36 - 54 °GL para aguardente de mandioca (tiquira). O resultado obtido tem justificativa na adequação do pH do mosto para a faixa de 4,0 - 4,5, pois quando o pH se mantém superior a 5,0 o crescimento de bactérias é favorável e conseqüentemente prejudicial as leveduras. Quando o pH é mantido com valor inferior a 3,0 os ácidos podem destruir as células das leveduras, o que influenciará diretamente na produção do álcool durante a fermentação.

Para acidez total titulável o valor obtido foi de 0,0125mg de ácido acético/100ml de álcool anidro. No que diz respeito a acidez volátil, o valor encontrado foi de 112,57 mg de ácido acético/100 ml de álcool anidro, valor que está fora dos padrões exigidos pela Legislação , que é de até 100 mg /ml.

O ácido acético é um produto secundário da fermentação alcoólica, o lêvedo *Sacharomy cescerevisa* e na presença de oxigênio pode converter até 30% do açúcar do mosto em ácido acético. A alta acidez presente em aguardentes pode ser atribuída à contaminação da massa de mandioca ou do próprio mosto fermentativo por bactérias acéticas e outras, fazendo com que parte do substrato sofra fermentação acética, elevando, assim, a acidez e diminuindo o rendimento da produção de etanol.

Quanto aos ésteres em acetato de etila o valor obtido foi de 0,178, valor que encontra-se dentro dos padrões estabelecido pela legislação, que é de 200mg/100 ml de álcool anidro. Responsáveis em parte pelo aroma que a aguardente adquire com o envelhecimento são formados em reações de esterificação entre álcoois e ácidos carboxílicos durante o processo oxidativo. O principal éster encontrado na aguardente é o acetato de etila, que é responsável pelo aroma frutado, mas quando presente em grandes quantidades confere a bebida um sabor enjoativo.

O resultado encontrado para o parâmetro de extrato seco foi de 0,122 g/L de álcool anidro, a legislação vigente não possui padrão de extrato seco para tiquira.

A aguardente mostrou-se dentro do aceitável para o parâmetro de ácido cianídrico, que tem como padrão o valor máximo de 5mg/100 ml de álcool anidro. O íon cianeto (CN-) é altamente tóxico, pois tem capacidade de inibir a respiração celular, atuando em enzimas que possuem ferro (catalase, oxidase, citocromo), fazendo com que ocorra uma impossibilidade do consumo de oxigênio.

O valor de pH encontrado foi de 4,0, mesmo valor do mosto diluído. O mosto com pH entre 4,0 e 5,0 é favorável para o desenvolvimento de uma fermentação alcoólica mais pura, regular e mais rápida, prevenindo principalmente bactérias lácticas e acéticas.

A quantidade presente de cobre na tiquira foi de 0,3187mg/L de álcool anidro, o valor está dentro dos padrões determinados, que têm como máximo 5mg de cobre/L de álcool anidro. A contaminação por cobre pode ocorrer por conta do material que é utilizado na fabricação dos alambiques, o metal contribui para eliminação de alguns odores desagradáveis observado quando a aguardente é destilada em alambiques constituídos de outros materiais. O cobre em excesso torna-se tóxico devido à afinidade com grupos S-H presente em muitas proteínas e enzimas.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com a presente pesquisa foi possível constatar a eficiência do processo de produção de aguardente de mandioca (tiquira) por via enzimática, sendo uma alternativa que viabilizaria uma produção com um período de tempo muito mais curto em comparação com os processos que utilizam fungos utilizados na produção artesanal.

De acordo com os resultados das análises químicas e físico-químicas apresentados no presente trabalho, pode-se concluir que:

- O processo de produção por via enzimática mostrou-se uma opção viável para o processamento da tiquira.
- O procedimento adotado no trabalho mostrou-se uma forma eficaz de diminuir os resíduos da produção da tiquira.
- As enzimas foram bem sucedidas na fase de liquefação e sacarificação otimizando assim a produção da bebida.
- A tiquira mostrou-se estar de acordo com a legislação do MAPA, Resolução nº 15, de 31.03.2011., exceto para o parâmetro de acidez volátil.

Novos estudos ainda seriam relevantes, principalmente para avaliar a influência da qualidade da matéria-prima e os processos de produção para o parâmetro de acidez volátil.

## REFERÊNCIAS

- ABMC–**Associação Brasileira de Medicina Complementar**. Biblioteca de intoxicações. 2004. Disponível em: [http://www.medicinacomplementar.com.br/Biblioteca\\_de\\_Intoxicacoes.asp](http://www.medicinacomplementar.com.br/Biblioteca_de_Intoxicacoes.asp) Acesso em: 09 nov. 2016.
- ALCARDE, A. R.; SOUZA, P. A.; BOSQUEIRO, A. C.; BELLUCO, A. E. S. **Perfil físico químico de aguardente de cana-de-açúcar produzida por metodologias de dupla destilação em alambique simples**, Alimentos e Nutrição, v. 20, n. 3, p. 499-503, 2009.
- ALCARDE, R. A.; SOUZA, P. A.; BOSQUEIRO, A. C.; BELLUCO, A. E. S. Cinética de volatilização de componentes secundários da aguardente de cana-de-açúcar durante dupla destilação em alambique simples. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 13, n. 4, p. 271-278, 2010.
- ANDRADE SOBRINHO, L. G.; SILVA FILHO, P. J.; MARQUES, E. P.; BEZERRA, C. W. B.; MARQUES, A. B.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D. W.; **Resumos do III Brazilian Meeting on Chemistry of Food and Beverages**, São Carlos, Brasil, 2000.
- AQUARONE, E; LIMA, U. D.E A.; BORZANI, W. **Alimentos e Bebidas Produzidas por Fermentação**. São Paulo: Edgard Blucher, 1983.
- BATISTA, V. M. **Produção de álcool (etanol)**. 2003. 61 f. Trabalho (Graduação Engenharia de Alimentos) - Universidade Católica de Goiás, Goiânia, 2003.
- BOSCOLO, M. **Caramelo e carbamato de etila em aguardentes de cana: ocorrência e quantificação**. 2001. 100f. Tese (Doutorado em Química Analítica) – Instituto de Química, USP, São Carlos, 2001.
- CARDELLO, H.M.A.B.; FARIA, J.B. Análise da aceitação de aguardentes da cana por testes afetivos e mapas de preferência interno. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas v. 20, p. 32-36, 2000.
- CASCUDO, L. D. A. C. **História da Alimentação do Brasil**. Belo Horizonte: Itatiaia/EDUSP, 1993.
- CENI, G. C.; COLET R.; PERUZZOLO, M.; WITSCHINSKI F.; TOMICKI L.; BARRIQUELLO, A. L.; VALDUGA E. Avaliação de componentes nutricionais de cultivares de mandioca (*Manihot Esculenta Crantz*). **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.20, n.1, p. 107-111, 2009.
- Centro Nacional de Pesquisa de Tecnologia Agroindustrial. **Tecnologia de Farinhas mistas de Trigo e Mandioca na Produção de Pães**. Brasília: EMBRAPA, 1994.

COSTA, A. S. **Identificação, Conservação e Seleção de Microorganismos de Alto Poder Sacarificante do Beiju de Mandioca.** Monografia (Graduação em Química Industrial). São Luís, 1991, p. 43.

DACAMPO, R.; MORENO, S. N.; *Drug Metab. Rev.*1990, 22,161.

FARIA, J. B. A. **A Influência do Cobre na Qualidade das Aguardentes de Cana (*Saccharum officinarum* L.),** 1989, 123 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1989.

FERREIRA, A. B. H. **Novo Dicionário da Língua Portuguesa.** Editora nova Fronteira. 2 Ed.1986.

GUALBERTO, L. A. S. **Determinação de Cobre, Aldeído, Álcoois, Acetato de Etila, Ácidos Carboxílicos e Carbamatos de Etila em Tiquira, produzida no Estado do Maranhão.** Dissertação (Mestrado em Química)-Universidade Federal do Maranhão, São Luís,1999.

JANZANTTI, N. S. **Compostos voláteis e qualidade de sabor de cachaça.** 2004. 179 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos)-Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

LIMA,U.A.; BASSO,L.C.; AMORIN, H.V.2001. **Produção de etanol.** In: LIMA, U.A.; AQUARONE,E.; BORZANI,W.; SCHMIDELL,W.Biotecnologia Industrial. Processos Fermentativos Enzimáticos.São Paulo:Editora Edgard Blucher LTDA.v.3,p.1-43.

MAIA, A.O. **Identificação da Flora Microbiana Sacarificante do Amido de Mandioca para a Produção de Tiquira.** 1989. 35 f. Monografia (Graduação em Química Industrial)-Universidade Federal do Maranhão. São Luís, 1989.

MARELLI L. S.; ALCARDE A. R.; LIMA F. V.; BOTOLETTO A. M. **Produção de Cachaça de Qualidade.** Piracicaba: Editora da ESALQ, 2013.

MARQUES, A. L.B.; BEZERRA, C.W.B.; MARQUES, E.P.; NUNES, G.S.; SANTOS, T.C.R.; NASCIMENTO, A.R.; FERREIRA, M.G.A.B.; MOUCHREK FILHO, V.E.; **Relatório final de Projeto de Pesquisa processamento de alimentos e bebidas destiladas através de estudos, caracterização química e controle de qualidade.** Apoio técnico-científico ao setor agroindustrial. UFMA, São Luís: BASA: 2001.

**MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E ABASTECIMENTO.** Decreto nº 2314 de 04 de setembro de 1997.

NAGIBM. A. NASSAR. **Plano indicativo mandioca.** Departamento de genética e morfologia, Universidade de Brasília, 1999.



- NASCIMENTO, R. F. **Aldeídos, Ácido se Compostos Sulfurados em Aguardentes de Cana (Saccharum, spp.)**. 1997, 126 f. Tese (Doutorado em Química Analítica) – Instituto de Química, USP, São Carlos, 1997.
- OLIVEIRA, R.H. A. **Estudo dos processos de sacarificação, fermentação e destilação de cascas e pontas de mandioca no processo de obtenção de aguardente**. In: XII Seminário de Iniciação Científica. Universidade Federal de Uberlândia MG, 2008.
- PLANO ESTADUAL DE QUALIFICAÇÃO (PEC). **Curso de Fabricação de Cachaça**. SEBRAE-MA, 2001.
- PORTAMAN, J. E. **Possible dangers of marine pollutions as a result of mining operation for metals ores Rome**. FAO Technical conference on Marine pollution and its effects on living resources and finishing, 8p, 1970.
- SANTOS, G. S.; BEZERRA, C. W. B.; SILVA, F. C.; MARQUES, E. P.; MARQUES, A. B.; **Resumos do 5º Encontro de Química de Alimentos**, Portugal, 2001.
- SANTOS, G. S.; **Monografia** (Graduação em Química Industrial)-Universidade Federal do Maranhão. São Luís, 2001.
- SANTOS, T.T.S.; **Aguardente de mandioca “manihotesculenta” por via enzimática à partir da fécula: produção, caracterização físico-química e aspectos visuais**; monografia. IFMA, São Luís, 2015.
- SAQUIB, M.; MUHNEER. M. *Dyes Pigm.* 2003, 56, 37.
- SILVA, G. A. **Influência de metais sobre a produção de proteínas fungíca em amido de mandioca (*Manihot Esculenta Cranth*)**. Dissertação (Mestrado em Agronomia)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba, 2004.
- SILVA, L. M. S. **Avaliação de Procedimentos Analíticos com Vistas a Determinação Eletroanalítica de Metais em Gasolina**. Dissertação de Mestrado, UFMA, São Luis, MA, 2004.
- SKOOG, D. A.; WEST. D. M. **Princípios de Análise Instrumental**. Saunders College. 1980.
- STEVENS, R. Beer Flavour: I. volatile products of fermentation: a review. **Journal of the Institute of Brewing**, Brewing, v. 66, p. 456-471, 1960.
- VENTURINI FILHO, W. G.; MENDES, B. do P. Fermentação alcoólica de raízes tropicais. In: CEREDA, M. P; VILPOUX, O. **Tecnologia, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas Latino Americanas**. São Paulo: Fundação Cargill, v.3, 2003.

**ANEXOS**

ANEXO A - Tabela de correção da graduação alcoólica aparente para real, através da temperatura.

<b>TEMP</b>	<b>LEITURA NO ALCOÔMETRO (GRAU ALCOÓLICO APARENTE)</b>								
<b>°Celsius</b>	51,0	51,5	52,0	52,5	53,0	53,5	54,0	54,5	55,0
<b>Números Fixos</b>	<b>GRAU ALCOÓLICO REAL (20/4°C)</b>								
<b>26,0</b>	48,8	49,3	49,8	50,3	50,8	51,3	51,8	52,3	52,8
<b>26,5</b>	48,6	49,1	49,6	50,1	50,6	51,1	51,6	52,1	52,6
<b>27,0</b>	48,4	48,9	49,4	49,9	50,4	50,9	51,4	51,9	52,4
<b>27,5</b>	48,2	48,7	49,2	49,7	50,2	50,7	51,2	51,8	52,3
<b>28,0</b>	48,0	48,5	49,0	49,5	50,0	50,6	51,1	51,6	52,1
<b>28,5</b>	47,8	48,3	48,8	49,3	49,9	50,4	50,9	51,4	51,9
<b>29,0</b>	47,6	48,1	48,6	49,2	49,7	50,2	50,7	51,2	51,7
<b>29,5</b>	47,4	47,9	48,5	49,0	49,5	50,0	50,5	51,0	51,5
<b>30,0</b>	47,2	47,8	48,3	48,8	49,3	49,8	50,3	50,8	51,3
<b>30,5</b>	47,1	47,6	48,1	48,6	49,1	49,6	50,1	50,6	51,2
<b>31,0</b>	46,9	47,4	47,9	48,4	48,9	49,4	49,9	50,5	51,0
<b>31,5</b>	46,7	47,2	47,7	48,2	48,7	49,2	49,8	50,3	50,8
<b>32,0</b>	46,5	47,0	47,5	48,0	48,5	49,1	49,6	50,1	50,6
<b>32,5</b>	46,3	46,8	47,3	47,8	48,4	48,9	49,4	49,9	50,4

ANEXO A - Tabela de correção da graduação alcoólica aparente para real, através da temperatura.

<b>TEMP</b>	<b>LEITURA NO ALCOÔMETRO (GRAU ALCOÓLICO APARENTE)</b>								
<b>°Celsius</b>	55,5	56,0	56,5	57,0	57,5	58,0	58,5	59,0	59,5
<b>Números Fixos</b>	<b>GRAU ALCOÓLICO REAL (20/4°C)</b>								
<b>26,0</b>	53,3	53,8	54,3	54,8	55,3	55,9	56,4	56,9	57,4
<b>26,5</b>	53,1	53,6	54,2	54,7	55,2	55,7	56,2	56,7	57,2
<b>27,0</b>	53,0	53,5	54,0	54,5	55,0	55,5	56,0	56,5	57,0
<b>27,5</b>	52,8	53,3	53,8	54,3	54,8	55,3	55,8	56,3	56,8
<b>28,0</b>	52,6	53,1	53,6	54,1	54,6	55,1	55,6	56,1	56,7
<b>28,5</b>	52,4	53,0	53,4	53,9	54,4	55,0	55,5	56,0	56,5
<b>29,0</b>	52,2	52,7	53,2	53,7	54,3	54,8	55,3	55,8	56,3
<b>29,5</b>	52,0	52,5	53,1	53,6	54,1	54,6	55,1	55,6	56,1
<b>30,0</b>	51,9	52,4	52,9	53,4	53,9	54,4	54,9	55,4	55,9
<b>30,5</b>	51,7	52,2	52,7	53,2	53,7	54,2	54,7	55,2	55,8
<b>31,0</b>	51,5	52,0	52,5	53,0	53,5	54,0	54,6	55,1	55,6
<b>31,5</b>	51,3	51,8	52,3	52,8	53,3	53,9	54,4	54,9	55,4
<b>32,0</b>	51,1	51,6	52,1	52,6	53,2	53,7	54,2	54,7	55,2
<b>32,5</b>	50,9	51,4	52,0	52,5	53,0	53,5	54,0	54,5	55,0