

PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS E CROMATOGRÁFICOS EM AGUARDENTES DE CANA QUEIMADA E NÃO QUEIMADA

Physicochemical and chromatographic parameters in sugar cane brandies from burnt and non-burnt cane

José Masson¹, Maria das Graças Cardoso², Fernando José Vilela³,
Flávio Araujo Pimentel⁴, Augusto Ramalho de Moraes⁵, Jeancarlo Pereira dos Anjos³

RESUMO

Este trabalho teve por objetivo avaliar as concentrações de furfural, álcoois superiores, ésteres, aldeídos, cobre, acidez volátil, metanol e grau alcoólico de aguardentes obtidas de cana, com e sem queima prévia. Foram utilizadas amostras de aguardente artesanal de cana queimada e não queimada, fermentadas com a mesma levedura e destiladas no mesmo destilador; amostras de produtor de aguardente industrial de cana queimada e amostras obtidas de outro produtor artesanal de cana não queimada. As análises físico-químicas e cromatográficas (CG) foram realizadas no Laboratório de Análise Físico-Química de Aguardente - LAFQA/DQI na Universidade Federal de Lavras. As concentrações de furfural apresentaram diferença significativa ($P < 0,01$), entre os grupos de aguardentes artesanais, obtidas de cana-de-açúcar com e sem queima prévia, oriundas de um mesmo processo de produção, com médias de $1,48 \text{ mg} \cdot 100\text{mL}^{-1}$ etanol e $0,63 \text{ mg} \cdot 100\text{mL}^{-1}$ etanol, respectivamente, embora tenham estado abaixo do limite máximo ($5,0 \text{ mg} \cdot 100\text{mL}^{-1}$ etanol) permitido. Os demais componentes das aguardentes estudadas não foram afetados significativamente pela queima prévia da cana-de-açúcar.

Termos para indexação: Cachaça, cana queimada, cana não queimada, característica físico-química, furfural.

ABSTRACT

This work was intended to evaluate the concentrations of furfural, higher alcohols, esters, aldehydes, copper, volatile acidity methanol and alcoholic degree of sugar cane brandies obtained from sugar cane both with and without previous burning. Samples of artisanal brandies from burnt and non-burnt cane, fermented with the same yeast and distilled in the same still, samples of burnt cane from an industrial brandy producer and samples of non-burnt cane obtained from another artisanal producer were utilized. The physicochemical and chromatographic (CG) analyses were accomplished in the Sugar Cane Brandy Physicochemical Analysis Laboratory at the Federal University of Lavras. The concentrations of furfural showed significant differences ($P < 0.01$) among the groups of artisanal brandies obtained from sugar cane with and without previous burning, coming from the same manufacturing process with means of $1.48 \text{ mg} \cdot 100\text{mL}^{-1}$ ethanol and $0.63 \text{ mg} \cdot 100\text{mL}^{-1}$ ethanol, respectively, although they have been below the maximum limit ($5.0 \text{ mg} \cdot 100\text{mL}^{-1}$ ethanol) allowed. The other components of the brandies studied were not affected significantly by the previous burning of sugar cane.

Index terms: Sugar cane spirit, burnt cane and non burnt cane, physicochemical characteristic, furfural.

(Recebido em 15 de julho de 2005 e aprovado em 24 de janeiro de 2007)

INTRODUÇÃO

Dados da Associação Brasileira de Bebidas (ABRABE, 2003) relatam que em 2003, foram produzidos 1,3 bilhões de litros de aguardente, porém a produção total passa dos 3,0 bilhões de litros anualmente, o que por si só evidencia a importância sócio-econômica deste agronegócio, contando em torno de 30 mil estabelecimentos

produtores de aguardente de cana, gerando mais de 400 mil empregos diretos e indiretos.

Segundo Vasconcelos (2003), em 2002 foram exportados 14,8 milhões de litros (cerca de 1% da produção) para 70 países, gerando para o Brasil US\$ 9 milhões por ano. A Europa compra por volta de 60% da aguardente exportada, sendo que a Alemanha é a maior importadora, com 30%.

¹Mestre em Ciência dos Alimentos – Departamento de Ciência dos Alimentos/DCA – Universidade Federal de Lavras/UFLA – Cx. P. 3037 – 37200-000 – Lavras, MG – cefetcuiba@yahoo.com.br

²Doutora em Química Orgânica – Departamento de Química/DQI – Universidade Federal de Lavras/UFLA – Cx. P. 3037 – 37200-000 – Lavras, MG – mcardoso@ufla.br

³Graduandos em Química – Departamento de Química/DQI – Universidade Federal de Lavras/UFLA – Cx. P. 3037 – 37200-000 – Lavras, MG – nandodemolay@yahoo.com.br, jeancarloufla@yahoo.com.br

⁴Doutor em Ciência dos Alimentos – Departamento de Ciência dos Alimentos/DCA – Universidade Federal de Lavras/UFLA – Cx. P. 3037 – 37200-000 – Lavras, MG – Flavio.pimentel@cnpat.embrapa.br

⁵Doutor em Estatísticas e Experimentação Agronômica – Departamento de Ciências Exatas/DEX – Universidade Federal de Lavras/UFLA – Cx. P. 3037 – 37200-000 – Lavras, MG – amorais@ufla.br

Para a produção de aguardente de qualidade deve ser utilizada a cana colhida sem queima e processada no mesmo dia. Quando a cana é queimada, há uma modificação considerável na fisiologia e morfologia do colmo, dependendo da intensidade do fogo e da temperatura ambiente por ocasião da queima. A perda de açúcares pode atingir 14,5% e pode ser resultante da exsudação após a queima; além de causar a inversão gradativa do açúcar pelas enzimas hidrolíticas no colmo, causa um incremento na contaminação microbiana pela multiplicação no líquido exsudado e impregnação de partículas do solo na superfície do colmo. Outra forma de deterioração fisiológica é resultante da transpiração e respiração, causando depreciação do produto e favorecendo a ação microbiológica (YOKOYA, 1995).

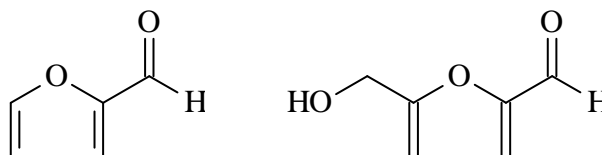
Na produção de aguardente, principalmente nas grandes empresas, utiliza-se a queima da palha da cana-de-açúcar para facilitar a colheita. Provavelmente, as substâncias oriundas da combustão aderem na cana-de-açúcar, podendo ser transferidas para o produto. A queima do palhicho da cana-de-açúcar gera compostos dentre eles o furfural, que possivelmente são transferidos da cana queimada para a aguardente, durante o processo de produção, sendo indesejáveis e, conseqüentemente, reduzindo sua qualidade.

A formação de congêneres desagradáveis durante a produção de aguardente não está diretamente ligada à queima prévia da cana-de-açúcar; boa parte das aguardentes provém de cana não queimada, dentre elas as de alambiques, portanto quase livres de furfural. A condução inadequada da temperatura de destilação e a presença de compostos não voláteis no vinho podem influir negativamente na qualidade do produto, pois estes influenciam na síntese de furfural (YOKOYA, 1995).

O processo fermentativo consiste basicamente no desdobramento do açúcar (sacarose) em álcool e CO_2 . Entretanto, dependendo de como essa transformação é realizada, pode-se obter maior ou menor quantidade de aguardente e produto de melhor ou pior qualidade. O teor alcoólico no vinho depende da fermentação alcoólica que lhe deu origem.

A desidratação e a degradação térmica dos açúcares são reações de grande relevância nos alimentos; são catalisadas por ácidos ou bases e muitas são de b-eliminação. As pentoses formam furfural (Figura 1) como principal produto de degradação, já as hexoses formam 5-hidroximetilfurfural (HMF) (Figura 2) e outros compostos como 2-hidroxiacetilfurano e isomaltol. A fragmentação da cadeia de carbono destes produtos primários de desidratação forma outros compostos, como ácido levulínico, ácido fórmico, acetol, acetoína e diacetil e os

ácidos láctico, pirúvico e acético. Alguns desses produtos de degradação possuem odor intenso e podem conferir aromas tanto desejáveis como indesejáveis. As altas temperaturas promovem tais reações (FENNEMA, 1993).



Figuras 1 e 2 – Estrutura do furfural e hidroximetilfurfural.

O presente trabalho objetivou avaliar as concentrações de furfural, álcoois superiores, ésteres, aldeídos, cobre, acidez volátil e metanol em aguardentes obtidas de cana-de-açúcar, com ou sem queima prévia.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 24 amostras de aguardentes de cana, seis foram de produção industrial, cana-de-açúcar da variedade SP 80-1816, cana-soca, queimada antes da colheita, sem lavagem prévia antes da moagem em tandem de moendas de quatro ternos com embebição, separação dos bagacilhos e decantação do caldo, fermento industrial e destilação em coluna contínua, construída em aço inox e parte das tubulações por onde passam os voláteis, em cobre; doze produzidas de cana-de-açúcar (cana-soca), variedade SP 79-1011 (seis de cana queimada e seis sem queima), não sofrendo lavagem prévia antes da moagem em moenda de um terno, caldo filtrado em pano de algodão e utilização do fermento *Saccharomyces cerevisiae*, fermentação em dornas de aço inox e destilação em alambique simples de aço inox com alonga e serpentina em cobre, com aquecimento a fogo direto; e as seis restantes, de outro produtor de aguardente artesanal de cana sem queima, fermento preparado por meio da flora natural do mosto, denominado “fermento caipira”, em dornas de policloreto de vinila (PVC), destilação em alambique simples de cobre, aquecimento a fogo direto. Todas as aguardentes em estudo foram produzidas na safra de 2004.

O furfural foi identificado e quantificado por cromatografia em um cromatógrafo a gás Shimadzu CG – 17A, com injeção manual, detector de ionização de chama (FID), coluna DB-WAX e fase estacionária polietileno glicol (30 m x 0,25 mm x 0,25 mm). A temperatura foi de 190 °C para o injetor e o detector. O programa de temperatura utilizado foi de 120 °C (2,0 min), aumentando 3 °C min⁻¹ até 150 °C (2,0 min). O volume de amostra injetado foi de 1,0 mL; a taxa de

“split” foi de 1:30; os gases utilizados foram, para arraste, o nitrogênio, e para formação de chama, o hidrogênio e o ar sintético; todos com pressão de 3 kgf. cm⁻²; o fluxo na coluna foi de 1,0 mL min⁻¹; pressão, de 14,5 psi; e velocidade linear, de 28,11 cm s⁻¹. As áreas de picos das amostras foram comparadas à área do reagente furfural da marca Vetec bidestilado, cujo cromatograma está mostrado na (Figura 3).

As concentrações de metanol, etanol, álcoois superiores, aldeídos, ésteres e acidez volátil, foram determinadas por meio de análises físico-químicas de acordo com os Métodos Oficiais de Análises de Bebidas Destiladas, Instrução Normativa N^o 24 de 08/09/2005 (BRASIL, 2005b). A quantificação do cobre presente nas aguardentes foi realizada por meio de absorção atômica, em espectrofotômetro de absorção atômica Varian AA – 175, com gás combustível acetileno e ar como suporte, lâmpada de cátodo oco, fenda 0,2, comprimento de onda 324,8 nm, voltagem 460 V e amperagem 3.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), com quatro tratamentos e seis repetições. Os tratamentos foram constituídos por aguardente industrial de cana queimada (CQI), aguardente artesanal de cana não queimada (CCA), aguardente artesanal de cana queimada (CQA), produzidas com fermento selecionado e aguardente artesanal de cana não queimada (CCAR) com fermentação caipira, obtida de outro produtor. As análises estatísticas foram realizadas de acordo com o programa estatístico Sisvar versão 4.6, aplicando-se o teste de média Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade às médias das análises realizadas em triplicata (FERREIRA, 2000).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores médios da concentração de furfural, álcoois superiores, ésteres, aldeídos, acidez volátil, metanol, etanol e cobre, das aguardentes estudadas, estão apresentados na Tabela 1.

Os resultados da análise de variância mostraram que a queima do palhiço da cana influenciou, significativamente ($P < 0,01$), na concentração do furfural quando utilizado o mesmo processo de produção da aguardente. As aguardentes artesanais, obtidas de cana queimada (CQA), mostrou teor médio de furfural mais elevado (1,53 mg.100mL⁻¹ etanol) do que as de cana não queimada (CCA) (0,63 mg.100mL⁻¹ etanol), embora ambas estejam dentro do limite máximo de 5,0 mg.100mL⁻¹ etanol, fixado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento-MAPA (BRASIL, 2005a). Na queima do palhiço da cana-de-açúcar, a exsudação do açúcar torna-se um excelente aderente ao colmo de resíduos da combustão, de partículas sólidas de solo, minerais e outros. No processamento da cana, esses resíduos são transferidos para o caldo e, em suspensão, vão para as dornas e posteriormente para o alambique, cuja matéria orgânica é transformada em furfural e hidroximetilfurfural, chegando ao produto final.

A aguardente de cana queimada industrial (CQI) apresentou concentração de furfural de 2,32 mg.100mL⁻¹ etanol e a aguardente de cana não queimada de produtor artesanal (CCAR), 8,80 mg.100mL⁻¹ etanol. Esta última foi a que apresentou maior teor em furfural, acima do limite permitido, apesar de ser de cana não queimada (BRASIL, 2005a). Estes valores podem estar relacionados à presença

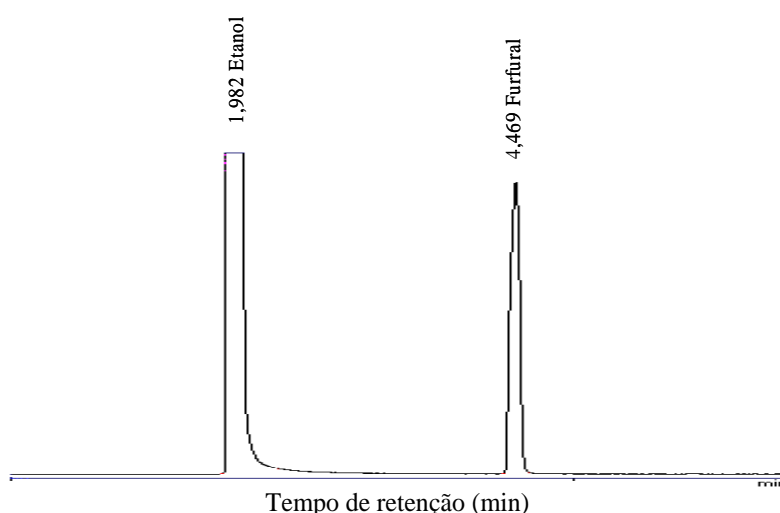


Figura 3 – Cromatograma do padrão empregado para identificação do furfural.

Tabela 1 – Valores médios obtidos para concentração de furfural, álcoois superiores, ésteres, aldeídos, acidez volátil, metanol, etanol e cobre em aguardentes de cana com e sem queima prévia.

Congêneres	Aguardentes			
	CQI	CCA	CQA	CCAR
Furfural (mg.100mL ⁻¹ etanol)	2,32c	0,63a	1,53b	8,80d
Álcoois superiores (mg.100mL ⁻¹ etanol)	245,20b	294,68b	319,67b	163,92a
Ésteres (mg.100mL ⁻¹ etanol)	67,22b	29,59a	27,67a	70,42b
Aldeídos (mg.100mL ⁻¹ etanol)	16,97a	100,23b	116,20b	8,34a
Acidez volátil (mg.100mL ⁻¹ etanol)	27,15b	17,26a	16,03a	100,96c
Metanol (mg.100mL ⁻¹ etanol)	0,013a	0,026b	0,032b	0,010a
Etanol (% V/V) a 20 ^o C	50,44c	40,16b	40,61b	38,00a
Cobre (mg.L ⁻¹)	1,98a	2,69a	2,57a	6,15b

Médias seguidas por letras distintas diferem pelo teste de Scott-Knott (P<0,05).

de açúcares residuais, polissacarídeos oriundos de bagacilhos, fermentação fraca e calor excessivo na caldeira de destilação.

Vários autores enfocam a queima do palhicho da cana-de-açúcar e a presença de açúcares residuais como fatores que podem levar à formação de furfural e hidroximetilfurfural. Resultados obtidos por Novaes (1974) e Yokoya (1995) mostram que este composto pode estar presente em maior concentração no caldo de cana quando a colheita da cana-de-açúcar for precedida da queima do palhicho. Os açúcares residuais e os compostos sulfurados podem sofrer transformações químicas durante o aquecimento do vinho no alambique, afetando a qualidade da bebida. A presença de açúcares residuais ou bagacilho no vinho poderá formar compostos indesejáveis, catalisados pelo aumento da temperatura e pelo pH ácido do vinho, desidratando os açúcares e hidrolisando celulose, hemicelulose e pectina, como também outros polissacarídeos do bagacilho, seguido da desidratação dos monômeros de hexoses e pentoses, originando furfural e hidroximetilfurfural (HMF), respectivamente (MAIA, 1994).

Pesquisas de Lima (1964) relatam que o furfural é mais comum em produtos provenientes de vinhos de cereais sacarificados por processo ácido, ou mostos ricos em carboidratos, ou mostos muito turvos, quando a destilação é a fogo direto. O superaquecimento desta operação promove a chamada pirogenação da matéria orgânica, depositada no fundo das caldeiras do destilador (alambique). Acredita-se que o furfural origina-se da ação dos ácidos presentes no mosto sobre pentoses ou seus polímeros, que são assim hidrolisados, originando, pelo

menos em parte, da madeira dos recipientes utilizados para o armazenamento da aguardente.

Comparando as aguardentes de cana artesanais produzidas de cana queimada (CQA) ou não (CCA), pelo mesmo processo de produção, verifica-se que não ocorreram diferenças significativas, quanto à concentração de álcoois superiores. O tratamento da cana queimada industrial também apresentou valores semelhantes às anteriores, sendo que a aguardente de cana artesanal não queimada (CCAR), apresentou valores significativamente menores. Todos abaixo do limite (360 mg.100mL⁻¹ etanol), permitido pelo MAPA (BRASIL, 2005a).

A produção de álcoois superiores parece ser uma característica das leveduras em geral, e as quantidades produzidas variam com as condições de fermentação e também do gênero, espécie e, provavelmente, com a cepa utilizada (GIUDICI et al., 1990). Estes autores verificaram a capacidade de produção de álcoois superiores de 100 cepas de *Saccharomyces cerevisiae* e constataram que a produção de álcool superior é uma característica individual da cepa. Oliveira et al. (2005) constataram que as proporções dos álcoois superiores variam em função da cepa da levedura.

Os valores médios para a concentração de ésteres das aguardentes artesanais de cana queimada e não queimada (CQA e CCA), obtidas pelo mesmo processo (fermentação, alambique, operacionalização), não apresentaram diferenças significativas quanto ao efeito da queima sobre a formação destes compostos. Os valores obtidos estão abaixo do limite (200 mg.100mL⁻¹ etanol) estabelecido pelo MAPA (BRASIL, 2005a). A aguardente

industrial de cana queimada (CQI) e a aguardente de cana, não queimada de produtor artesanal (CCAR) apresentaram valores estatisticamente iguais, mas superiores às duas aguardentes anteriores. Vários autores relatam que o tipo e a operação do destilador são fundamentais para a retirada ou não destes compostos. Dados de Reed & Nagodawithana (1991) indicam que o efeito da destilação sobre o "flavour" da bebida pode ser modificado pela remoção quantitativa das frações cauda e cabeça.

Compostos mais voláteis que o etanol, representados por seus ésteres e muitos aldeídos, são mais freqüentes na fração cabeça. Na destilação contínua, o local da sua maior concentração depende das condições de operação da coluna, destacando-se o perfil de concentração de álcool e o tamanho da coluna (YOKOYA, 1995).

Os valores das concentrações de aldeídos obtidos para as aguardentes de cana queimada e não queimadas foram estatisticamente iguais. Infere-se que este fator pode estar associado à queima do palhiço da cana-de-açúcar na formação de aldeídos furânicos, mas deve ser ressaltado que estes valores estão bem acima do limite (30,0 mg.100mL⁻¹ etanol), estabelecido pelo MAPA (BRASIL, 2005a), pois na produção destas aguardentes a fração cabeça não foi retirada totalmente.

Grande parte da fração aldeídica presente no mosto é separada durante a destilação, na fração cabeça. As aguardentes ricas em aldeídos são provenientes de alambiques que não separam os produtos da cabeça (CARDOSO, 2006), constituindo num grave erro de operação deste tipo de equipamento.

A queima do palhiço da cana-de-açúcar não influenciou na formação da acidez volátil (P>0,05). Para a aguardente artesanal de cana queimada (CQA), o valor encontrado foi de 16,03 mg.100mL⁻¹ etanol, e para a aguardente artesanal de cana não queimada (CCA), o valor foi de 17,26 mg.100mL⁻¹ etanol, todos abaixo do limite máximo (150 mg.100mL⁻¹ etanol) estabelecido MAPA (BRASIL, 2005a). Os tratamentos (CQI e CCAR) apresentaram valores significativamente maiores, mas também abaixo do limite máximo.

A queima do palhiço da cana-de-açúcar não influenciou na formação de metanol (P>0,05). De acordo com os resultados, não houve diferenças entre as aguardentes artesanais com (CQA) ou sem queima (CCA), oriundas de um mesmo processo. Os tratamentos (CCAR e CQI) foram estatisticamente iguais e superiores aos tratamentos (CQA) e (CCA). Entretanto, todas elas apresentaram valores bem abaixo do limite máximo, estabelecido pelo MAPA (BRASIL, 2005a).

O grau alcoólico real para as aguardentes de cana estudadas apresentou valores variando de 38 a 50,44 % V/V, estando dentro dos valores mínimo (38 % V/V) e máximo (54 % V/V), estabelecidos pelo MAPA (BRASIL, 2005a).

A aguardente de cana não queimada de produtor artesanal (CCAR) apresentou valor médio de cobre 1,16 mg.L⁻¹, acima do limite máximo (5,0 mg.L⁻¹), estabelecido pelas normas oficiais (BRASIL, 2005a). Isto provavelmente, se deve à não remoção adequada do azinhavre (carbonato básico de cobre), por meio da lavagem correta do aparelho destilador. Os valores de cobre para as aguardentes artesanais de cana queimada (CQA) e não queimada (CCA), obtidos de um mesmo processo não foram influenciados pela queima do palhiço da cana-de-açúcar (P>0,05), sendo estatisticamente iguais.

CONCLUSÕES

Comparando as aguardentes artesanais obtidas de cana-de-açúcar com e sem queima prévia, oriundas de um mesmo processo de produção (fermentação, destilação e equipamentos), pode-se concluir que a queima do palhiço da cana-de-açúcar propiciou um aumento significativo na concentração de furfural; não influenciando significativamente na concentração dos demais componentes (álcoois superiores, ésteres, aldeídos, cobre, acidez volátil e metanol), nas aguardentes estudadas.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, à Fapemig e aos produtores por cederem as amostras.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE BEBIDAS. **Produção de cachaça 2003**. Disponível em: <<http://www.abrabe.org.br/cachaca>>. Acesso em: 20 fev. 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Instrução Normativa n. 13, de 29 de junho de 2005. Regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para aguardente de cana e cachaça. **Diário Oficial da União**, Brasília, 30 jun. 2005a.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Instrução Normativa n. 24, de 8 de setembro de 2005. Padrões oficiais para análise físico-química de bebidas e vinagre. **Diário Oficial da União**, Brasília, 20 set. 2005b.

CARDOSO, M. das G. Análises físico-químicas de aguardente. In: _____. **Produção de aguardente de cana-de-açúcar**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2006. 445 p.

FENNEMA, O. R. **Química de los alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1993. 1095 p.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para o Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Programas e resumos...** São Paulo: UFSCar, 2000. p. 255.

GIUDICI, P.; ROMANO, P.; ZAMBONELLI, C. A biometric study of higher alcohol production in *Saccharomyces cerevisiae*. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 36, n. 1, p. 61-64, Jan. 1990.

LIMA, U. de A. **Estudos dos principais fatores que afetam os componentes não alcoólicos das aguardentes de cana**. 1964. 141 f. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1964.

MAIA, A. B. Componentes secundários da aguardente. **STAB**, Piracicaba, v. 12, n. 6, p. 29-34, jul./ago. 1994.

NOVAES, F. V. **Primeiro curso de extensão em aguardente de cana**. Piracicaba: ESALQ, 1974.

OLIVEIRA, E. S.; ROSA, C. A.; MORGANO, A. M.; SERRA, G. E. The production of volatile compounds by yeasts isolated from small Brazilian cachaça distilleries. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, Amsterdam, v. 21, p. 1569-1576, 2005.

REED, G.; NAGODAWITHANA, T. W. Distiller's yeasts. In: REED, G. (Ed.). **Yeast technology**. 2. ed. New York: AVI Book, 1991.

VASCONCELOS, Y. Cachaça sem mistério. **Pesquisa FAPESP**, São Paulo, n. 87, p. 74-77, maio 2003.

YOKOYA, F. **Fabricação de aguardente de cana**. Campinas: Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia "André Tosello", 1995. 87 p. (Série fermentações industriais).