



GUSTAVO DA SILVA GONÇALVES

**DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS E
VOLÁTEIS EM CACHAÇAS ENVELHECIDAS EM
CARVALHO (*Quercus* sp) OBTIDAS NA REGIÃO DE
LAVRAS/MG**

**LAVRAS-MG
2020**

GUSTAVO DA SILVA GONÇALVES

**DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS E VOLÁTEIS EM
CACHAÇAS ENVELHECIDAS EM CARVALHO (*Quercus sp*) OBTIDAS NA
REGIÃO DE LAVRAS/MG**

Monografia apresentada à Universidade Federal
de Lavras, como parte das exigências do Curso de
Química, para a obtenção do título de Licenciado.

Profa. Dra. MARIA DAS GRAÇAS CARDOSO
Orientadora

RICHARD BISPO BARBOSA
Coorientador

**LAVRAS-MG
2020**

GUSTAVO DA SILVA GONÇALVES

**DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS E VOLÁTEIS EM
CACHAÇAS ENVELHECIDAS EM CARVALHO (*Quercus sp*) OBTIDAS NA
REGIÃO DE LAVRAS/MG**

**DETERMINATION OF TOTAL PHENOLICS AND VOLATILE COMPOUNDS IN
CACHAÇA AGED IN OAK (*Quercus sp*) OBTAINED IN THE REGION OF
LAVRAS / MG**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Química, para a obtenção do título de Licenciado.

APROVADA em 31 de agosto de 2020

MSc. Renan Elan da Silva Oliveira UFLA
MSc. Gabriela Fontes Alvarenga UFLA

Profa. Dra. MARIA DAS GRAÇAS CARDOSO
Orientadora

RICHARD BISPO BARBOSA
Coorientador

**LAVRAS-MG
2020**

“Você, eu, ninguém vai bater tão duro quanto a vida, mas não se trata de bater duro, se trata de quanto você aguenta apanhar e seguir em frente, o quanto você é capaz de tentar e continuar tentando! É assim que se consegue vencer!”

Rocky Balboa

AGRADECIMENTOS

A Universidade Federal de Lavras e o DQI- UFLA, pelo suporte ao trabalho.

Aos órgãos de fomento CNPq, FAPEMIG e a CAPES pelo suporte financeiro.

Aos meus pais, Maria de Lourdes e Roberto por confiar e me apoiar por todos esses anos e serem os pilares de mais uma conquista. Aos meus familiares, especialmente meu padrasto Altair, minha madrasta Luciana e minha avó Adriene, por estarem sempre ao meu lado.

A professora Maria das Graças Cardoso, pelos anos de ensinamentos, paciência, ensino e compreensão, obrigado pela oportunidade e por acreditar no meu trabalho.

Aos professores e funcionários do Departamento de Química, por todos conselhos, ensinamentos, e pelos anos de convivência.

Ao irmão que achei em Lavras, Richard, que além de apoio em inúmeros momentos e conselhos, me guiou e coorientou durante este trabalho.

Aos meus amigos de Campinas, Rafael e Danilo por sempre estarem disponíveis nas minhas viagens para casa, e por diversos momentos divertidos para esquecer os problemas.

As amizades que fiz em Lavras e as que se fortaleceram aqui, em especial ao Matheus Tomaz, Matheus Monti, Noemi, Lucas, Rafaella, Bruno e Carlos Henrique, pelos diversos momentos de apoio, conselhos, festas, viradas de noite comendo pizza.

Aos amigos do Laboratório de Óleos Essenciais: Allan, Alex, Letícia, Vanúzia, Jéssica, Danúbia, Luana. Obrigado pela ajuda e principalmente pelo ótimo convívio.

Aos amigos que fiz no Laboratório de Análise de Aguardente Wilder, Renan, Felipe, Nathália, Stephano, Shayane e Gabriel; pela grande colaboração nos experimentos, ensinamentos e principalmente pelos momentos divertidos que passamos juntos. A nossa querida técnica Cleusinha por toda paciência, conselhos preciosos e nossas agradáveis conversas.

Agradeço a todos que contribuíram de alguma forma na realização deste trabalho.

RESUMO

A cachaça, uma bebida típica brasileira e proveniente da cana-de-açúcar, possui uma composição química complexa atribuindo-lhe sabores e aromas únicos. Essa composição química, inclui diversos compostos voláteis de variados grupos orgânicos, e está atrelada a diversos fatores, como a variedade da cana-de-açúcar utilizada, o processo de fermentação, o método de destilação (alambiques de cobre ou colunas de inox) e se a bebida é ou não envelhecida em tonéis de madeira. Durante esse último processo a cachaça extrai e transforma diversos compostos da madeira, característicos do tonel que é fabricado. Apesar de existirem diversas madeiras que possam ser usadas no envelhecimento de bebidas, a mais utilizada é o carvalho, por motivos históricos e sensoriais, dando a cachaça uma coloração típica amarelodourada. O objetivo deste trabalho foi analisar o perfil físico-químico, identificar os compostos voláteis e os fenólicos totais, presentes em 10 amostras de cachaças envelhecidas em carvalho (*Quercus sp.*) coletadas na região de Lavras-MG. As amostras foram encaminhadas para o Laboratório de Análise de Qualidade de Aguardentes localizado no Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras, onde foram realizadas as análises físico-químicas segundo metodologia proposta pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA); os fenólicos totais foram quantificados pelo método de Folin-Ciocalteu, e os compostos voláteis por cromatografia gasosa acoplada a um espectrômetro de massas com microextração de fase sólida no headspace (SPME-GC-MS). Nas análises físico-químicas apenas 3 amostras apresentaram algum parâmetro fora dos limites estabelecidos pelo MAPA, como teor alcoólico (amostras 1 e 10, com 37.86 e 30.36 %V/v respectivamente), acidez volátil, (amostras 1 e 8, com 198.72 mg.100mL⁻¹ e 219.53 mg.100mL⁻¹ respectivamente). Os compostos fenólicos das amostras apresentaram concentrações esperadas para amostras envelhecidas, as variações das concentrações são reflexo das condições do tonel e de armazenamento durante o período de envelhecimento. Foram identificados 38 compostos voláteis, destes apenas 6 estavam presentes em todas amostras, demonstrando uma alta heterogeneidade. A amostra 10 obteve o menor número de compostos identificados (8), e a amostra 7 com maior número (20), sendo que 7 foram encontrados apenas nesta amostra. Apesar de todas as amostras serem envelhecidas em carvalho, nenhum padrão de composição volátil foi identificado, a composição fenólica total das amostras esteve dentro da faixa esperada, na maioria das amostras. A amostra 10 apresentou indícios de diluição pois além do baixo teor alcoólico encontrado, os demais parâmetros também apresentaram baixas concentrações, incluindo os resultados de fenólicos totais.

Palavras-chave: Cachaça. Compostos fenólicos. Compostos voláteis.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	9
2	OBJETIVOS.....	11
2.1	Geral	11
2.2	Específicos	11
3	REFERENCIAL	12
3.1	Cachaça	12
3.1.1	Histórico e Mercado	12
3.1.2	Produção	13
3.1.3	Padrões de Identidade	14
3.1.4	Compostos secundários	15
3.1.5	Contaminantes	17
3.1.6	Armazenamento e envelhecimento	18
3.1.7	Compostos fenólicos	20
4	MATERIAL E MÉTODOS	24
4.1	Obtenção das amostras	24
4.2	Análises físico-químicas	24
4.2.1	Análise de extrato seco	24
4.2.2	Teor alcoólico	24
4.2.3	Acidez volátil	24
4.2.4	Determinação de aldeídos	24
4.2.5	Determinação de ésteres	25
4.2.6	Exame organoléptico	25
4.2.7	Determinação de furfural	25
4.2.8	Determinação de cobre	25
4.3	Análise dos compostos voláteis	25
4.4	Análise de compostos fenólicos totais	26

5	ANÁLISE ESTATÍSTICA	26
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
6.1	Análises físico-químicas	28
6.2	Análise de compostos fenólicos totais	33
6.3	Análise de compostos voláteis	34
7	CONCLUSÃO	37
8	REFERENCIAS	38

1 INTRODUÇÃO

A cachaça é reconhecida internacionalmente como bebida típica brasileira, sendo que este destilado é a preferência de consumo entre os brasileiros e responsável por movimentar a economia do país, com geração de empregos diretos e indiretos na sua produção. Apesar do grande crescimento, a cachaça destilada em alambiques de cobre, ainda não tem todo seu potencial de exportação alcançado (CARDOSO, 2013).

As cachaças destiladas em alambique são conhecidas por possuírem um “*flavour*” diferenciado em comparação as cachaças destiladas em coluna. O cobre é o material constituinte do alambique e responsável por catalisar diversas reações auxiliando na eliminação de compostos indesejados. Após a destilação, a cachaça pode ser armazenada em tanques de inox ou em toneis de madeira. A utilização de tonéis de madeira é uma forma que os produtores podem agregar valor e sabor à cachaça, devido ao contato com a madeira ser responsável por extrair compostos que vão alterar a coloração, cor e aroma (CARDOSO,2013).

Existem diferentes tipos de madeira no mercado e cada uma destas tem interações específicas com a bebida, resultando em diferentes cores, aromas característicos e sabor mais suave. Os principais compostos responsáveis pela alteração da bebida durante o envelhecimento são os fenólicos, estes são extraídos da madeira por meio do contato do etanol com as moléculas de lignina que são hidrolisadas em seus monômeros que podem ser oxidados, formando os compostos fenólicos (ALCARDE,2017).

Os compostos fenólicos, incorporados na cachaça durante o período de armazenamento em tonéis de madeira, apresentam característica antioxidante e são provenientes da hidrolise das ligninas. Como cada tipo de madeira apresenta uma constituição da lignina com ramificações diferenciadas, devido fatores edafoclimáticos e genéticos, podem apresentar diferentes quantidades desses compostos (BORTOLETTO; CORREA; ALCARDE, 2016).

Apesar de não ser uma madeira nativa, o carvalho (*Quercus sp*) é a madeira mais utilizada no envelhecimento de bebidas, sendo o mais procurado pelas suas características sensoriais. Dentre as principais características encontram-se, a cor amarelo-dourado (tendendo mais ao dourado com o passar do tempo); e a sua trabalhabilidade, por possuir boa resistência, durabilidade e permeabilidade. O principal composto fenólico encontrado em bebidas envelhecidas tonéis de carvalho é o ácido gálico (SANTIAGO; CARDOSO; NELSON, 2017).

Dentre os compostos voláteis presentes na cachaça, estão os álcoois superiores (majoritariamente), ácidos, ésteres e outras moléculas que podem ser formadas por interações com a madeira durante o envelhecimento (ZACARONI, 2014). O estudo do perfil de voláteis e fenólicos de bebidas envelhecidas tem sido uma forma interessante de comprovar que o envelhecimento foi realizado de forma correta e sem adulterações.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Analisar o perfil físico-químico e de compostos voláteis em dez (10) amostras de cachaça envelhecidas em carvalho (*Quercus sp.*), obtidas no comércio de Lavras.

2.2 Específicos

- Avaliar o perfil físico-químico das cachaças envelhecidas em tonéis de carvalho (*Quercus sp.*);
- Determinar e avaliar os compostos fenólicos totais pelo método de *Folin-Ciocalteu* em cachaças envelhecidas em tonéis de carvalho (*Quercus sp.*);
- Identificar e avaliar os compostos voláteis por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrômetro de Massas (CG-EM) em cachaças envelhecidas em tonéis de carvalho (*Quercus sp.*);

3 REFERENCIAL

3.1 Cachaça

3.1.1 Histórico e Mercado

A história da cachaça está fortemente ligada ao descobrimento do Brasil, seus primeiros registros são oriundos do início do Brasil colônia, onde engenhos adaptaram técnicas e conhecimentos portugueses da produção da bagaceira, destilado alcoólico simples do fermentado do bagaço de uva, para iniciar a produção da aguardente de cana. O consumo da bebida colonial ganhou preferência da população, e começou a se tornar concorrente das bebidas portuguesas comercializadas na colônia. Com o crescimento no consumo de cachaça, no ano de 1659, a Coroa Portuguesa proibiu a comercialização e produção da bebida, em vista da diminuição da venda e consumo do vinho português e da bagaceira na colônia. Esse decreto causou indignação e revolta na população brasileira; produtores do Rio de Janeiro tomaram o poder da província e conseguiram não só a liberação para fabricação e venda da cachaça, como também a diminuição considerável das taxas e impostos, o movimento ficou conhecido como Revolta da Cachaça (ALCARDE, 2017).

A bebida é reconhecida como patrimônio nacional desde 1997, sendo definida como cachaça apenas o destilado do mosto fermentado de cana-de-açúcar produzido em solo brasileiro. Em sua homenagem foi escolhido como dia da cachaça o mesmo dia em que os produtores cariocas se revoltaram com a Coroa portuguesa, dia 13 de setembro (ALCARDE, 2017; CARDOSO, 2013).

Hoje a bebida é produzida em todos os estados brasileiros, possuindo características particulares de cada região. A região Sudeste é a maior produtora de cachaça no país, tendo São Paulo como maior produtor de cachaça destilada em coluna de aço inox, e Minas Gerais juntamente com Rio de Janeiro e Espírito Santo como maiores produtores de cachaça destilada em alambique de cobre (IBRAC, 2020).

Em 2019 a cachaça foi exportada para 83 países, sendo os principais: Estados Unidos, Paraguai, Portugal e Alemanha, por meio de mais de 50 empresas exportadoras, gerando receita de US\$ 14,45 milhões que equivaleram a 7,26 milhões de litros. Esses números representam um decréscimo de 7,41% em valor e de 13,72% em volume, em comparação a 2018. (IBRAC, 2020).

3.1.2 Produção

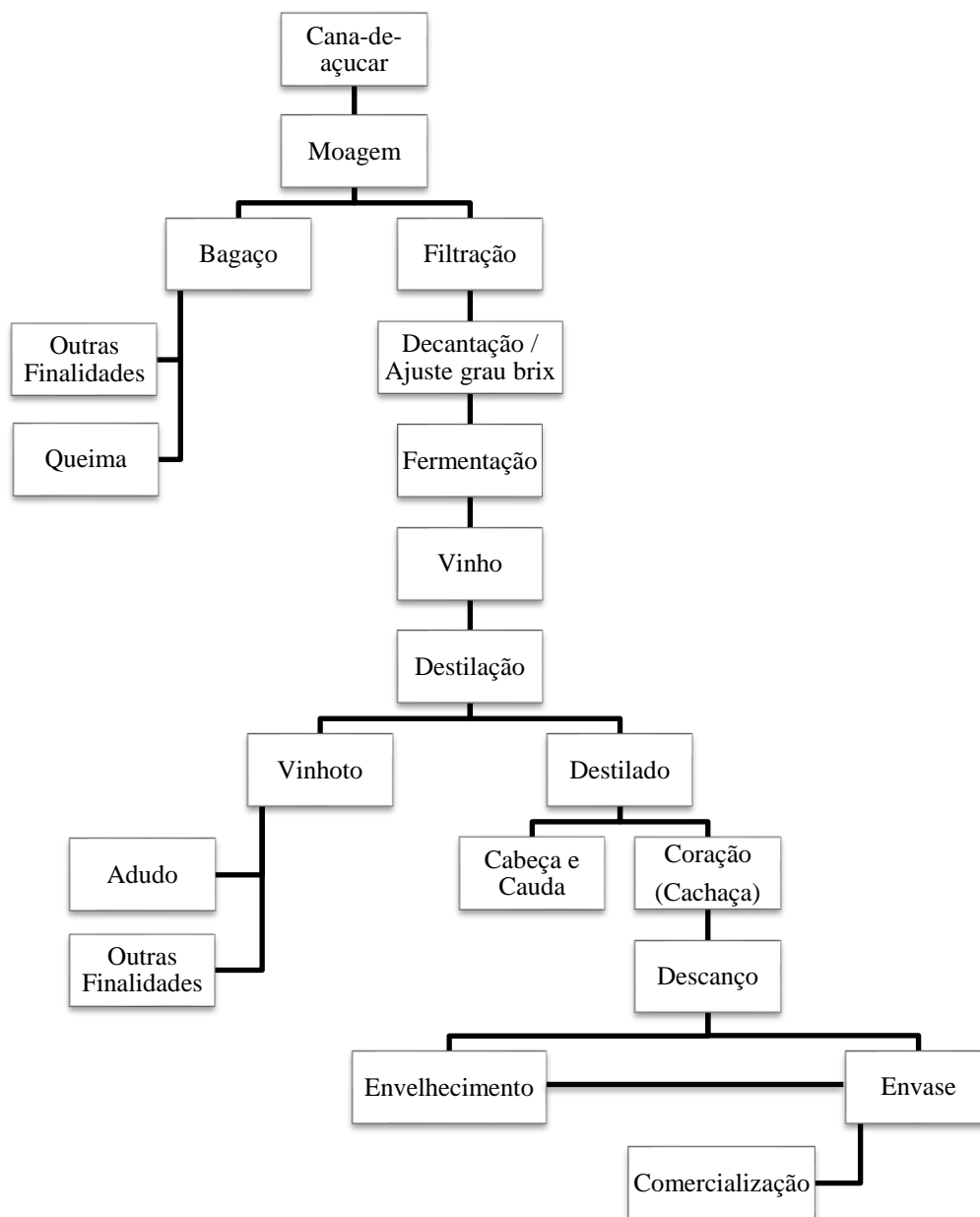
A cana-de-açúcar é a matéria prima utilizada na produção da cachaça, sua cadeia produtiva se inicia com o cultivo dessa espécie vegetal pertencente ao gênero *Saccharum*. Na produção de cachaça são utilizadas diferentes espécies, cada uma apresentando peculiaridades que vão influenciar na produtividade, características sensoriais e rendimento. Ao alcançar o estado ideal de maturação, a planta possui um equilíbrio entre os teores de açúcares, fibras, proteínas, e outros compostos que influenciam na fermentação. Os cuidados com o manuseio da matéria prima são de extrema importância para a qualidade final do destilado, sendo importante que a cana esteja limpa e armazenada em local adequado, sem contato direto com o chão (CARDOSO, 2013; CRAVO et al., 2019).

Após o corte da cana-de-açúcar segue-se para o processo de moagem, onde é obtido o caldo, este é filtrado, decantado e se necessário adicionado água para o ajuste do grau °Brix. Após esse processo, o caldo é transferido para uma dorna e inicia-se o processo de fermentação. Dentre os diferentes tipos de fermentos, pode-se utilizar leveduras selecionadas para otimizar a fermentação ou o fermento selvagem. O uso das leveduras selecionadas permite o controle das condições da fermentação, como velocidade e pureza de microrganismos. Entretanto, é comum entre muitos produtores a utilização de leveduras selvagens, conferindo características sensoriais diferenciadas em suas bebidas (CARDOSO, 2013; MENDONÇA et al, 2016).

Após o período de 24h, todo o açúcar do mosto é convertido pelas leveduras em etanol, dióxido de carbono e compostos secundários, seguindo para a etapa de destilação. Durante o processo de destilação da cachaça em alambique de cobre são obtidas três frações, cabeça coração e cauda. A cabeça é a primeira fração do destilado, possui alto teor alcoólico, entre 50%-70%, e grande quantidade de compostos voláteis. O coração, fração destinada ao consumo, possui um teor alcoólico adequado, além de apresentar equilíbrio na concentração de compostos secundários característicos da bebida, e a cauda, ou água fraca, possui baixo teor alcoólico e diversos ácidos graxos de cadeia longa. A cauda e a cabeça são separadas e utilizadas com outras finalidades, como a obtenção de álcool combustível (ALCARDE, 2017; CARDOSO, 2013).

Na obtenção da cachaça existem dois métodos de destilação, que se diferenciam principalmente pelo aparelho de destilação, podendo ser utilizado destiladores de coluna de aço inox, comumente adotada por produtores industriais de larga escala, e a destilação por alambique de cobre, adotada comumente por produtores de menor escala (ALCARDE, 2017; CARDOSO, 2013). O esquema geral da produção de cachaça é mostrado na Figura 1.

Figura 1 – Fluxograma geral da cadeia produtiva da cachaça.



Fonte: Do autor

3.1.3 Padrões de Identidade

Em 2005 o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), publicou no dia 30 de junho a Instrução Normativa de nº 13. Nesta, foram definidos os Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ's) para a cachaça (Tabela 1). Estabeleceu-se a definição de que cachaça é a aguardente produzida da destilação do mosto fermentado da cana-de-açúcar em território brasileiro, com teor alcoólico entre 38% e 48% em volume podendo ser adicionado em até 6g L⁻¹ de açúcares, expresso em sacarose. A aguardente de cana é definida como o

destilado simples da cana-de-açúcar ou de seu mosto fermentado, com teor alcoólico entre 38% e 54% em volume (CARDOSO, 2013; BRASIL, 2005a).

Tabela 1 - Padrões de Identidade e Qualidade (PIQs) da aguardente de cana-de-açúcar e da cachaça (Brasil, 2005a).

Componente	Unidade	Limite	
		Mínimo	Máximo
Graduação alcoólica (aguardente)	% v/v de álcool etílico a 20°C	38,0	54,0
Graduação alcoólica (cachaça)	% v/v de álcool etílico a 20°C	38,0	48,0
Sacarose, em açúcar refinado, invertido ou glicose	g L ⁻¹	6,0	30,0
Acidez volátil, em ácido acético	mg 100 mL ⁻¹ de álcool anidro	-	150,0
Ésteres, em acetato de etila	mg 100 mL ⁻¹ de álcool anidro	-	200,0
Aldeídos, em aldeído acético	mg 100 mL ⁻¹ de álcool anidro	-	30,0
Furfural	mg 100 mL ⁻¹ de álcool anidro	-	5,0
Álcool <i>sec</i> - butílico	mg 100 mL ⁻¹ de álcool anidro	-	10,0
Alcool butílico	mg 100 mL ⁻¹ de álcool anidro	-	3,0
Álcoois superiores*	mg 100 mL ⁻¹ de álcool anidro	-	360,0
Álcool metílico	mg 100 mL ⁻¹ de álcool anidro	-	20,0
Acroleína	mg 100 mL ⁻¹ de álcool anidro	-	5,0
Carbamato de etila	µg L ⁻¹	-	210,0
Cobre	mg L ⁻¹	-	5,0
Arsênio	µg L ⁻¹	-	100,0
Chumbo	µg L ⁻¹	-	200,0
Extrato seco	g L ⁻¹	-	6,0

*Álcoois superiores: isobutílico + isoamílico + propílico.

3.1.4 Compostos secundários

A cachaça é formada majoritariamente por água e etanol, mas existem outros compostos encontrados em menor quantidade em sua composição. Os voláteis exercem grande influência no aroma e sabor do destilado, as principais funções orgânicas destes são ésteres, álcoois e ácidos de cadeia curta. Em diferentes cachaças há uma variação nas concentrações desses compostos devido utilização de diferentes variedades de cana-de-açúcar, técnicas de fermentação, destilação e armazenamento do destilado. O envelhecimento também pode

modificar esse perfil de formas leves ou intensas conforme o tempo de envelhecimento e o tipo de madeira utilizado. (MISHINA et al., 2016; GONÇALVES et al., 2017; SANTIAGO et al., 2016).

Nas etapas de fermentação, destilação e posteriormente no armazenamento ou envelhecimento ocorre a formação de compostos que elevam a qualidade sensorial da bebida. Entre os principais compostos encontrados citam-se aldeídos, álcoois superiores, ésteres, ácidos orgânicos como componentes majoritários. Substâncias como cetonas, compostos fenólicos, aminas e compostos sulfurados que podem ser encontrados em menores proporções (GALINARO et al, 2007; CARDOSO, 2013).

Os aldeídos são considerados compostos intermediários na formação dos álcoois superiores, durante a destilação encontram-se presentes em maiores concentrações na fração cabeça e pequenas concentrações na fração coração. O principal aldeído encontrado na bebida é o acetaldeído, este é formado durante a fermentação e é reduzido a etanol (CARDOSO, 2013).

Os ésteres são considerados como um dos principais compostos responsáveis pelo aroma típico, agradável e suave da bebida, na cachaça; o principal éster encontrado é o acetato de etila (etanoato de etila). O excesso destes compostos confere à aguardente um sabor enjoativo e indesejável. A formação dos ésteres ocorre por meio das reações de esterificação entre os álcoois e os ácidos carboxílicos formados durante o processo oxidativo na fermentação (PEREIRA et al, 2003; MIRANDA et al, 2006).

O ácido acético é o principal ácido orgânico presente na cachaça, sendo quantitativamente o principal componente da fração ácida. Quando em excesso é prejudicial à qualidade sensorial, e sua formação pode ser atribuída à contaminação da matéria prima ou do próprio mosto fermentativo por bactérias acéticas, fazendo com que parte do substrato sofra a fermentação acética, diminuindo o rendimento da produção de etanol (CARDOSO, 2013).

Os álcoois com três a cinco átomos de carbono, também chamados de álcoois superiores, são frequentemente encontrados em bebidas destiladas. Estes apresentam odor característico de flores, e em conjunto com os ésteres são responsáveis pelo “*flavour*” da bebida. Os principais álcoois superiores encontrados em aguardentes são os álcoois isoamílico (2-metilbutan-1-ol), amílico (pentan-1-ol), isobutílico (2-metilpropan-1-ol) e propílico (propan-1-ol) (VILELA et al, 2007).

3.1.5 Contaminantes

Durante o processo produtivo da cachaça podem ser formados alguns compostos indesejáveis, considerados como contaminantes por apresentarem caráter tóxico e serem prejudiciais à saúde. Os principais contaminantes orgânicos encontrados na bebida são o metanol, carbamato de etila, furfural, hidroximetilfurfural (HMF) e os álcoois butílico e *sec* butílico (CARDOSO, 2013).

O furfural e o HMF cujas presenças são indesejáveis na cachaça, resultam da decomposição química de carboidratos. Em condições de alta temperatura associadas ao pH ácido do mosto, pode resultar na desidratação dos açúcares e na hidrólise de polissacarídeos dos bagacilhos (pectina), formando-se o furan-2-carbaldeído (furfural) e 5-hidroximetil-2-furfural (hidroximetilfurfural), derivado das pentoses e hexoses, respectivamente. (CARDOSO, 2013; BORTOLETTO; ALCARDE, 2015).

O metanol ou álcool metílico é formado da degradação da pectina, um polissacarídeo presente na cana-de-açúcar, maiores concentrações deste composto são encontradas em fermentados de sucos ou polpas de frutas ricas em pectina como laranja, limão, maçã, abacaxi. Este álcool apresenta grande toxicidade e não deve ser consumido (PEREIRA et al., 2003). No organismo, o metanol é oxidado a ácido fórmico, que posteriormente se torna CO₂, provocando um quadro de acidose (diminuição do pH sanguíneo), afetando o sistema respiratório, podendo levar ao coma e até mesmo à morte. Sua ingestão mesmo em quantidades reduzidas por longos períodos de consumo pode ocasionar cegueira e morte (CARDOSO, 2013).

O carbamato de etila, contaminante orgânico com potencial carcinogênico encontrado na bebida, também é conhecido como uretana ou etiluretana. Sua fonte de formação ainda não foi completamente elucidada. Este composto é encontrado naturalmente em baixas concentrações em diferentes bebidas alcoólicas, e em alguns alimentos de origem fermentada. (BARCELOS et al, 2007).

Alguns estudos associam sua formação com o tipo de levedura utilizada no processo de fermentação, uma vez que cachaças produzidas com leveduras selecionados apresentam menores concentrações de carbamato de etila em comparação com aquelas que utilizam levedura selvagem (MASSON et al, 2012; MENDONÇA et al, 2016).

Cravo e colaboradores (2019), avaliaram a formação de carbamato de etila em cachaças produzidas com diferentes variedades de cana-de-açúcar. Os autores mostraram que a formação do contaminante pode estar relacionada com a presença dos glicosídeos cianogênicos nas diferentes variedades de cana-de-açúcar; compostos que podem ser precursores no mecanismo de formação do contaminante.

A acroleína (propen-2-al) encontrada em bebidas destiladas, é formada pela desidratação do glicerol durante a destilação, sua presença em aguardente é indesejável devido ao seu forte odor pungente. A intoxicação por esse aldeído pode levar a sérios problemas relacionados com sistema nervoso central (CARDOSO, 2013; MASSON et al., 2012).

Os contaminantes inorgânicos presentes nas aguardentes são principalmente íons metálicos de cobre, chumbo e arsênio. O cobre é o principal entre estes metais, e sua principal fonte de contaminação é o próprio aparelho de destilação. Apesar de ser considerado um contaminante o cobre é responsável por catalisar reações e eliminar odores indesejáveis na bebida durante o processo de destilação, seu teor máximo permitido pela legislação brasileira é de 5 mg L⁻¹ (LIMA et al, 2006; CARDOSO, 2013; BRASIL, 2005).

3.1.6 Armazenamento e envelhecimento

Após a etapa de destilação, a bebida é descansada, este processo pode ser feito em tanques de aço inox ou em tonéis de madeira. No caso do uso de tonéis, o produtor pode optar por madeiras com maior ou menor atividade, ou seja, que alteram as características da bebida por meio da extração de uma maior quantidade de compostos durante o tempo que permanece em contato, ou que não apresentam alterações as características originais da bebida (SANTIAGO, CARDOSO, NELSON, 2017; BORTOLETTO; CORREA; ALCARDE, 2016).

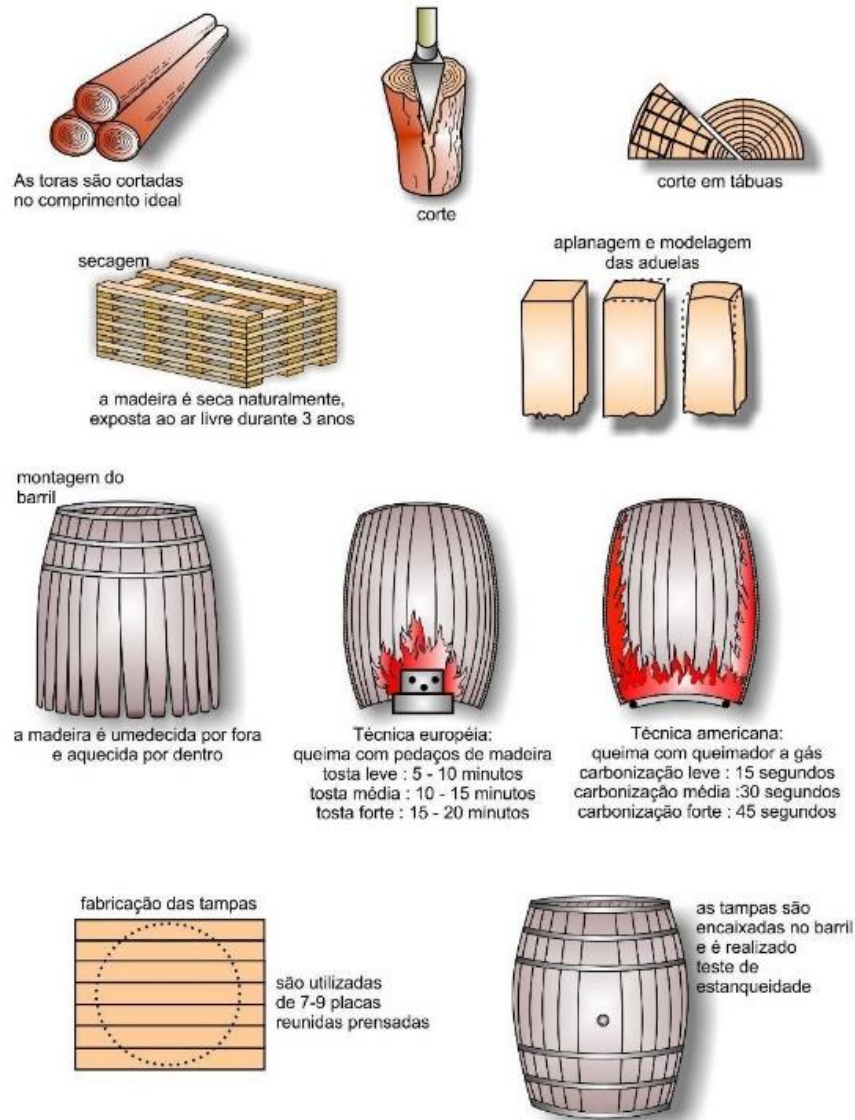
A Instrução Normativa Nº13 de 29 de junho de 2005, define que a “Cachaça Envelhecida” é aquela que foi armazenada em recipiente de madeira apropriado, com capacidade máxima de 700L, por um período não inferior que um ano, podendo ser adicionada em até 50% de cachaça branca. A “Cachaça “Premium” é definida como a bebida que contém 100% do líquido envelhecida em recipiente de madeira apropriado, com capacidade máxima de 700L por um período não inferior a um ano. A “Cachaça Extra Premium” é definida como a bebida que contém 100% da bebida envelhecida em recipiente de madeira apropriado, com capacidade de 700 L por um período não inferior a três anos. (BRASIL, 2005).

O carvalho (*Quercus sp.*) é uma das madeiras mais procuradas para a confecção de tonéis para o armazenamento e envelhecimento de diversas bebidas destiladas. Essa preferência está associada a cor, aroma e sabor característicos que a madeira agrega a bebida, mas também com o fator histórico, por ser a mais tradicionalmente usada pelos tanoeiros (produtores de tonéis). O fato de ser uma madeira encontrada apenas no Hemisfério Norte, gera grandes custos na obtenção de tonéis de carvalho aos produtores de cachaça, boa parte dos tonéis importados já foram usados no armazenamento de vinho ou outras bebidas, o que interfere nas reações do

processo de envelhecimento. Devido a estes fatos, pesquisas buscam estudar o uso de madeiras nativas brasileiras que possam ser usadas no envelhecimento de bebidas (BORTOLETTO; ALCARDE, 2015; SANTIAGO, 2016).

A fabricação de um tonel é um processo longo e complexo que pode durar vários anos, em sua produção são empregadas técnicas para tornar a madeira mais maleável para a realização do trabalho. O processo de fabricação de um barril pode ser observado na Figura 2, iniciando com o plantio e crescimento da árvore, os troncos são cortados e serrados na forma de tábuas, seguindo para um processo de intemperismo ao ar livre para secagem por um período médio de 3 anos. Após este período, as tábuas serão moldadas e aplanadas na forma de aduelas (barril). As aduelas então são posicionadas e aproximadas umas das outras com ajuda de aros metálicos, para facilitar o molde e garantir a total vedação, durante esse processo há um aquecimento interno e umidificação das aduelas. Antes do encaixe das tampas, o barril passa por uma tosta (etapa diferente do aquecimento, nessa a temperatura é mais alta e por períodos determinadas pela unidade produtora) (BORTOLETTO; CORREA; ALCARDE, 2016).

Figura 2 – Processo de fabricação de tonel de madeira



Fonte: BORTOLETTO; CORREA; ALCARDE,, 2016

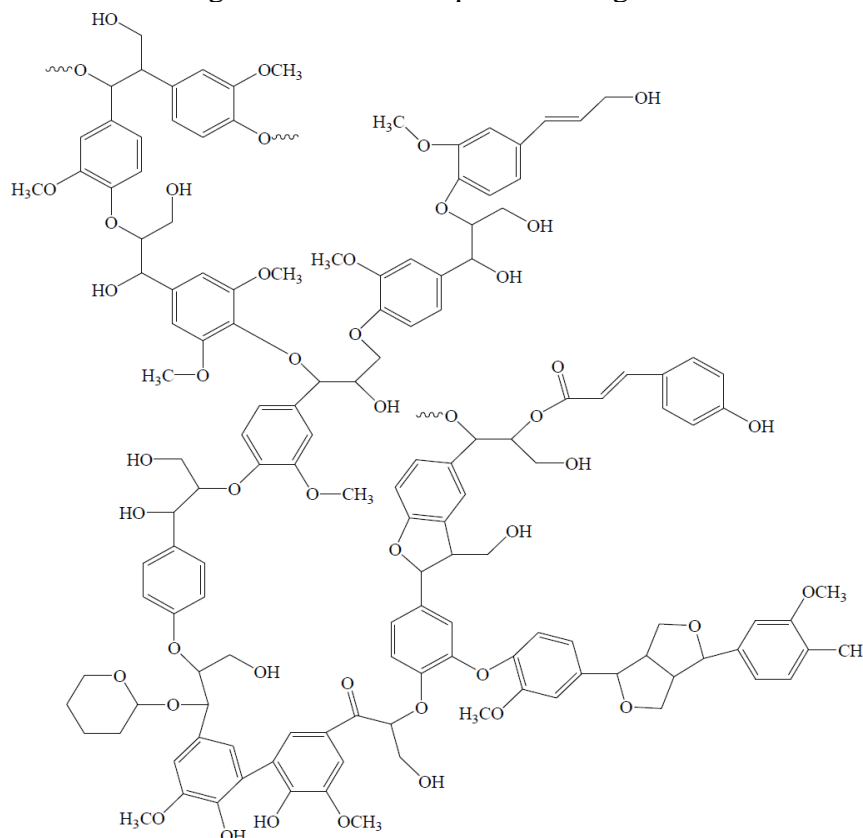
Durante o envelhecimento ocorrem centenas de reações entre a bebida, madeira do tonel e o oxigênio, essa oxigenação controlada pelos poros da madeira é responsável pela oxidação das macromoléculas, lignina e polissacarídeos, extraídas pelo etanol. Por meio de reações de hidrólise e oxidação ocorrem a quebra destas moléculas formando-se os compostos fenólicos, aldeídos e ácidos que irão alterar as características sensoriais da bebida. (BORTOLETTO; CORREA; ALCARDE, 2016).

3.1.7 Compostos fenólicos

O fenol é uma função orgânica que possui um grupo de hidroxila ligado a um anel benzênico, apesar de apresentar estrutura parecida com um álcool, apresenta maior acidez

devido sua estabilidade pela sua estrutura apresentar ressonância. A classe dos fenólicos é formada por diversos compostos que apresentam a estrutura básica substituída em uma ou mais posições. Os mais encontrados em bebidas envelhecidas podem ser derivados da lignina (composta de diversos monômeros aromáticos fenólicos, como pode ser observado na Figura 3) (CARDOSO e FREITAS, 2016).

Figura 3 – Estrutura química da lignina

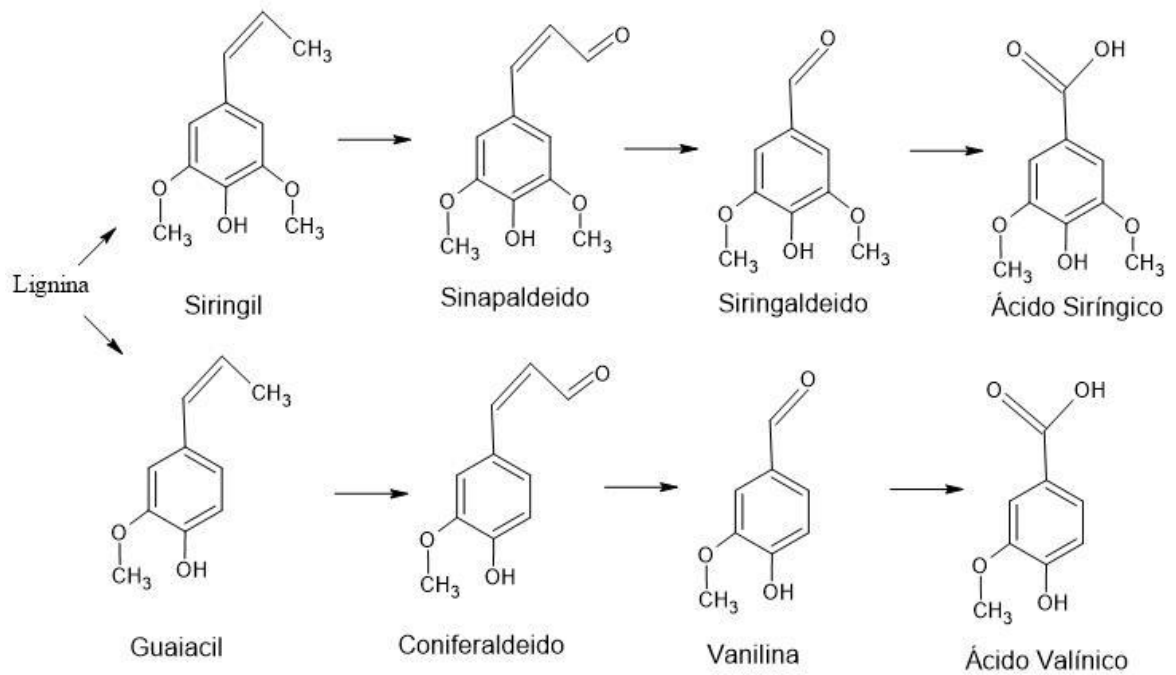


Fonte: Santiago, 2016

Os compostos fenólicos são incorporados à bebida durante o processo de envelhecimento, cada madeira possui diferentes constituições das macromoléculas de lignina, assim como a quantidade destes constituintes, o que interfere diretamente no envelhecimento.

O processo químico inicia-se quando o etanol e o oxigênio em contato com as biomacromoléculas realizam hidrolises e oxidações, formando moléculas menores a partir da fragmentação da lignina e dos polissacarídeos. Os produtos destas reações podem reagir com os compostos secundários da cachaça ou sofrer oxidações novamente, essa via de formação pode ser vista na Figura 4, onde a lignina é hidrolisada nos monômeros básicos Siringil e Guaiacil que podem ser oxidados e formar outros compostos fenólicos (BORTOLETTO et al, 2016; SANTIAGO, CARDOSO; NELSON, 2017).

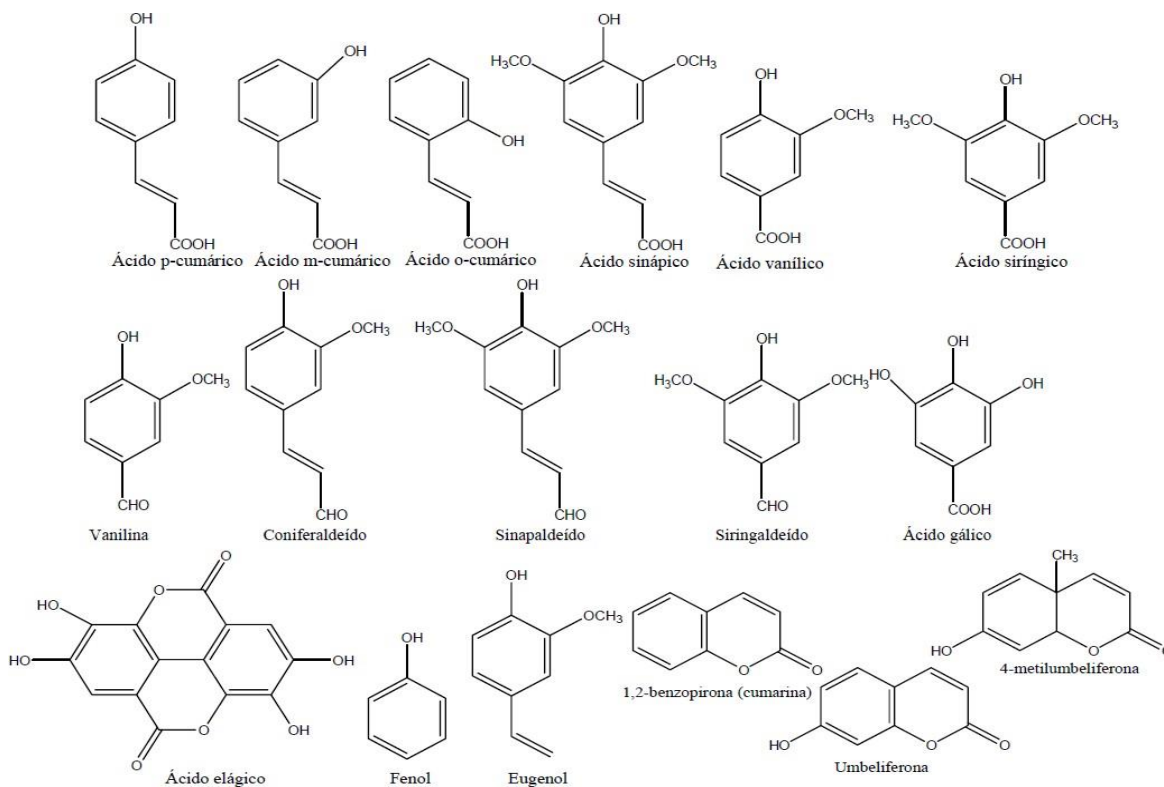
Figura 4 – Via de formação de marcadores derivados da lignina.



Fonte: Do autor

Ao serem extraídos e transformados pela bebida, estes compostos mesmo em pequenas concentrações são responsáveis pela alteração da qualidade sensorial da bebida, assim o destilado é transformado em uma bebida com características únicas de cor, sabor e aroma. Na Figura 5, pode-se observar os principais compostos fenólicos encontrados em cachaças envelhecidas (SANTIAGO; CARDOSO; NELSON, 2017; ZACARONI et al, 2014).

Figura 5 – Compostos fenólicos comumente encontrados em bebidas alcoólicas



Fonte: Santiago, Cardoso & Nelson 2017

Os compostos fenólicos e os voláteis (como ésteres, ácidos carboxílicos de cadeia curta, álcoois) são responsáveis pela composição do “*flavour*” diferenciado das cachaças envelhecidas. Dentre os compostos já identificados em bebidas envelhecidas em tonéis de carvalho, os principais compostos encontrados são os ácidos gálico, *p*-hidroxibenzoico, *p*-cumárico e vanílico (SANTIAGO; CARDOSO; NELSON, 2017; ZACARONI et al, 2014).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Obtenção das amostras

As amostras de cachaça envelhecidas em carvalho foram coletadas em unidades produtoras e no comércio da cidade de Lavras/MG, sendo compradas algumas amostras a granel e outras em embalagens próprias de vidro. Foram coletadas 10 amostras, e encaminhadas para o Laboratório de Análises de Qualidade de Aguardentes do Departamento de Química (DQI) da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

4.2 Análises físico-químicas

As análises físico-químicas foram realizadas no Laboratório de Análises de Qualidade de Aguardentes (LAQA) do Departamento de Química (DQI) da Universidade Federal de Lavras (UFLA). Estas análises foram efetuadas de acordo com a metodologia estabelecida pelo MAPA (BRASIL, 2005b).

4.2.1 Análise de extrato seco

A análise de extrato seco foi efetuada por meio de métodos gravimétricos. Uma alíquota de 25 mL da amostra foi evaporada até a secura e o resíduo sólido pesado em uma balança analítica com precisão de 0,0001 g.

4.2.2 Teor alcoólico

O teor alcoólico das aguardentes foi determinado destilando-se 250 mL da amostra e posteriormente medido o grau alcoólico a 20°C utilizando densímetro digital DensiMat Gibertini.

4.2.3 Acidez volátil

A acidez volátil das amostras foi determinada por meio da extração dos ácidos voláteis, utilizando a técnica de arraste a vapor de água utilizando Destillatore Elettronico Enochimico Gibertini. O extrato obtido foi titulado por meio de métodos de titulação ordinários com hidróxido de sódio 0,1 N.

4.2.4 Determinação de aldeídos

A determinação da concentração de aldeídos foi realizada por meio de métodos iodométricos, titulando-se o SO₂ produzido durante a sequência de reações envolvidas neste tipo de análise.

4.2.5 Determinação de ésteres

A determinação dos ésteres foi realizada por meio da titulação dos ácidos carboxílicos obtidos por transesterificação dos ésteres presentes nas amostras.

4.2.6 Exame organoléptico

O exame organoléptico foi realizado observando-se a amostra de cachaça contra um transluminador de luz branca. Os seguintes parâmetros foram observados: aspecto, coloração, limpidez, presença de corpos estranhos, vazamentos e oleosidade.

4.2.7 Determinação de furfural

O furfural e o hidroximetil furfural foram quantificados juntos, através de método colorimétrico, por meio de espectrofotometria na região do visível do espectro. Neste método, o furfural reage com a anilina formando uma imina de coloração rósea que absorve em 520 nm. Foram realizadas medidas de absorvância em um espectrofotômetro Shimadzu UV-1601 PC e as concentrações foram calculadas com o auxílio de uma curva analítica previamente construída com soluções padrão de furfural/etanol. Os resultados obtidos foram expressos em miligramas de furfural por 100 mL de álcool anidro ($\text{mg } 100 \text{ mL}^{-1}$ álcool anidro).

4.2.8 Determinação de cobre

A quantificação do cobre foi realizada por meio de medidas espectrofotométricas na região visível do espectro. Estas medidas foram efetuadas a 546nm em um espectrofotômetro Shimadzu UV-1601 PC. As quantidades de cobre foram determinadas por meio de comparação das absorvâncias observadas nas amostras de cachaça com valores de absorvância referentes a uma curva padrão previamente construída, utilizando-se sulfato de cobre como padrão primário.

4.3 Análise dos compostos voláteis

As análises dos compostos voláteis nas amostras foram realizadas em duplicata empregando-se a cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC/MS), utilizando um cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro de massa QP2010 Plus (Shimadzu, Japan) equipado com injetor automático para líquidos e gases AOC-5000 (Shimadzu, Japan), injetor split/splitless e coluna SLBTM (5% fenil-95% dimetilsiloxano) 30 m \times 0,25 mm \times 0,25 μm . A programação da temperatura do forno foi de 35°C até 240°C, com

uma rampa de aquecimento de $4^{\circ}\text{C min}^{-1}$. O gás de arraste utilizado foi o He, com um fluxo de $1,78 \text{ mL min}^{-1}$. A temperatura do injetor foi mantida a 270°C e operado no modo split 1:4. Os compostos foram detectados por espectrometria de massas por impacto de elétrons a 70 eV, no modo scan (29 a 600 Da). A temperatura da interface do detector e da fonte de íons ficaram mantidas respectivamente em 240°C e 200°C . O filamento foi ligado em 1,75 min. As extrações dos voláteis foram realizadas utilizando a técnica de microextração em fase sólida (SPME) por headspace. As amostras foram diluídas em água destilada a uma concentração de 10% de teor alcoólico. Após a diluição, alíquotas de 4 mL das amostras foram adicionadas em vial de 20 mL, com temperatura de extração de 45°C , tempo de extração esperado foi de 50 minutos e tempo de dessorção de 3 minutos. A extração foi realizada utilizando a fibra DVB/CAR/PDMS (Divinylbenzene, Carboxen, and Polydimethylsiloxane) com 50-30 μm de espessura de filme da marca Supelco. Essa fibra foi previamente condicionada por 1h a 270°C . As análises foram realizadas na Central de Análise e Prospecção Química (CAPQ) do Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras (UFLA) (ZACARONI et al, 2017).

Os compostos foram identificados por comparação do espectro de massas obtidos com a biblioteca espectral do GC-MS (Wiley 8 e FFNSC 1.2). Foram calculados os índices de retenção experimentais, os quais foram comparados com índices relatados na literatura (ADAMS, 2017) e os índices experimentais foram calculados utilizando uma série homóloga de alcanos (ZACARONI et al, 2017).

4.4 Análise de compostos fenólicos totais

Os compostos fenólicos totais foram analisados pelo método de Folin-Ciocalteu adaptado por Santiago, Cardoso & Nelson (2016), aonde a amostra é diluída em solução de etanol 40%, e posteriormente misturada ao padrão de Folin-Ciocalteu e carbonato de sódio, formando uma solução colorida. Esta, foi analisada em um espectrofotômetro Shimadzu UV1601 PC a 725 nm. A curva padrão foi construída utilizando como padrão ácido gálico em etanol 40%. Utilizando uma curva padrão com o ácido gálico, variando concentrações de 1 a 500 mg L^{-1} .

5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema de parcelas subdivididas no espaço. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, sendo as

médias comparadas pelo teste de Schott Knott ao nível de 95% de confiança, usando o programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2011).

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Análises físico-químicas

Foi realizada a análise organoléptica das amostras a fim de verificar a presença de particulados sólidos ou turbidez na bebida. Todas as amostras se encontravam límpidas e transparentes, exceto a amostra 2 onde foram identificados alguns corpos sólidos estranhos. Esses sólidos podem ser provenientes do desgaste interno do barril de envelhecimento ou de alguma impureza transferida juntamente com a cachaça para dentro do tonel. É recomendado aos produtores a filtração da bebida, antes de ser engarrafada. O processo de filtração é uma etapa fundamental para garantir a qualidade antes de chegar na embalagem final.

Os resultados das análises físico-químicas das amostras de cachaça envelhecidas em tonéis de carvalho estão expressos na Tabela 2.

Tabela 2 – Resultados das análises físico-químicas das amostras de cachaça.

Amostras	Grau Alcoólico ³	Acidez Volátil ¹	Ésteres ¹	Aldeídos ¹	Furfural ¹	Extrato seco ⁴	Cobre ²
1	37,86±0,01b	198,72±3,79f	37,48±1,14c	16,88±0,13d	1,02±0,02i	0,4633±0,0080e	3,19±0,01d
2	41,61±0,01b	45,24±0,01b	29,99±1,03a	17,04±0,01e	0,43±0,11d	0,0133±0,0020a	0,52±0,01a
3	40,56±0,01b	96,39±0,01e	49,87±1,07e	19,67±0,01g	0,34±0,01b	0,3600±0,0001d	1,42±0,04b
4	39,50±0,49b	65,99±0,82c	31,58±0,69a	16,83±0,21d	0,48±0,01e	0,3900±0,0085d	1,25±0,04b
5	39,31±0,06c	88,55±0,14d	43,79±0,07d	14,09±0,02a	0,59±0,01g	0,7467±0,0060f	2,19±0,01c
6	37,81±0,28b	88,09±0,64d	34,15±0,25b	16,35±0,06c	0,72±0,01h	0,4500±0,0200e	1,33±0,79b
7	39,91±0,03b	63,48±1,77c	36,66±2,18c	17,79±0,01f	0,37±0,02c	0,1300±0,0080b	0,57±0,08a
8	41,22±0,08b	219,53±2,18g	30,28±1,10a	16,49±0,08c	0,56±0,02f	0,3133±0,0066c	1,39±0,81b
9	39,50±0,42b	89,83±2,79d	34,87±0,37b	15,31±0,07b	ND	0,3400±0,0080c	1,38±0,01b
10	30,36±0,01a	33,38±4,78a	29,76±1,41a	17,75±0,01f	0,04±0,01a	0,0100±0,0005a	0,62±0,03a
Limite*	38-48	150	200	30	5	6	5

1 - mg 100 mL⁻¹ de álcool anidro; 2 – mg L⁻¹; 3 - % V/V; 4 – mg L⁻¹. *Brasil, 2005a. Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas colunas não diferem entre si pelo Teste Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade

A análise do teor alcoólico das bebidas apresentou valores muito próximos com exceção de duas amostras, que apresentaram o maior valor grau alcoólico (39,31% v/v) e o menor (30,36% (v/v)). Duas amostras apresentaram valores abaixo do limite exigido pela legislação. As Amostras 1 e 10 apresentaram os valores da graduação alcoólica de 37,86 e 30,36% (v/v), respectivamente. O valor encontrado na amostra 1 pode estar associado a utilização de um alcoômetro descalibrado no controle da unidade produtora, durante a diluição ou destilação da bebida.

Na amostra 10 encontrou-se um valor muito abaixo do limite estabelecido pela legislação (30,36% (v/v)), este fato pode ser resultado de uma possível diluição da bebida que foi obtida no comércio a granel. Outro fator que pode ter contribuído para o baixo teor alcoólico desta amostra pode ser o processo de envelhecimento. De acordo com Santiago et al. (2016), durante o envelhecimento o grau alcoólico da bebida tende a diminuir, por vários fatores como evaporação do etanol pelos poros da madeira, sendo comuns perdas de álcool em torno de 3 a 4% ao ano de armazenamento, e pela reação do etanol com outras substâncias presentes na bebida.

O armazenamento de bebidas em tonéis deve ser realizado em condições controladas; variações de temperatura e teor de umidade podem interferir diretamente na velocidade de evaporação de compostos voláteis, entre eles o etanol, prejudicando a qualidade final da bebida. Devido a estas situações o ideal é que esse armazenamento seja feito em local adequado sob condições controladas, para evitar perdas desses compostos, como para uma padronização do processo de envelhecimento da bebida (ALCARDE, 2017).

Observando os dados de acidez volátil verifica-se que as amostras 1 e 8 ultrapassaram os limites de 150 mg 100 ml⁻¹ a.a. com valores de 198,72 e 219,53 mg 100 ml⁻¹ a.a., respectivamente. A amostra 10 apresentou a menor concentração de acidez dentre todas as amostras (33,38 mg 100 ml⁻¹ a.a). Os valores altos deste parâmetro, podem estar relacionados a contaminação do mosto por leveduras acéticas durante o processo de fermentação. No metabolismo, o ácido é produzido, substituindo o etanol. (CARDOSO, 2013).

Segundo Bortoletto, Correa & Alcarde (2016), ocorre um aumento constante da acidez durante todo o período de envelhecimento, podendo até a triplicar a concentração de ácidos durante o prazo de 24 meses. Os autores encontraram uma diferenciação nas amostras envelhecidas em carvalho europeu e americano, sendo que as amostras envelhecidas em carvalho americano apresentaram um aumento na acidez cerca de 14% a mais em comparação

ao europeu. Apesar do aumento da concentração de ácidos nas bebidas, neste trabalho todas as amostras mantiveram-se dentro dos limites do MAPA.

Santiago e colaboradores (2016), estudando o envelhecimento de bebidas em diferentes tipos de madeira, obtiveram resultados similares, observando um aumento na acidez em todas as amostras durante todo o período de envelhecimento, com um aumento expressivo de 16 mg 100ml⁻¹ de álcool anidro na amostra envelhecida em carvalho no período de 1 ano.

O aumento da acidez em bebidas envelhecidas está diretamente associado a extração dos compostos com característica ácida da madeira durante o envelhecimento. Os compostos fenólicos apresentam em sua estrutura um anel benzênico ligado a uma hidroxila, o grupo fenol pode liberar um próton facilmente, devido a estabilidade que o anel aromático proporciona a molécula por meio de estruturas de ressonância (CARDOSO; FREITAS; 2016).

Os valores dos ésteres encontrados nas amostras estudadas estão dentro dos limites estabelecidos pela legislação, sendo que a amostra 3 apresentou a maior concentração destes compostos 49,87 mg 100 ml⁻¹ a.a. As amostras apresentaram variação nos resultados, quatro delas com valores estatisticamente iguais (amostras 2, 4, 8, e 10). Estas moléculas contribuem para a formação do aroma da bebida. Dados da literatura mostram que os ésteres mais comuns encontrados na cachaça são: acetato de etila, formato de etila, acetato de pentila, acetato de octila, butirato de etila e butirato de pentila (CARDOSO, 2013).

Analisando os valores de aldeídos, verifica-se que não foi encontrado nenhum valor acima do limite estabelecido pela legislação, sendo que a amostra 3 apresentou a maior concentração desses compostos, 19,67 mg 100 ml⁻¹ a.a. Os aldeídos são compostos indesejáveis, e em pode provocar a famosa “ressaca”. Segundo Cardoso (2013) Os aldeídos são formados durante o processo de fermentação, o acetaldeído é o principal composto dessa classe, ele é proveniente da descarboxilação do piruvato durante a fermentação, sendo posteriormente reduzido para a formação do etanol na bebida.

Mendonça e colaboradores (2016), estudando diferentes variedades de fermento na fabricação de cachaça, observaram a influência direta destes na composição dos compostos secundários nos diferentes destilados. Como as amostras foram coletadas em diferentes locais, sem saber quais os tipos de leveduras foram empregados no processo fermentativo, espera-se realmente uma variação na concentração dos componentes secundários encontrados nestas amostras estudadas.

Na quantificação de furfural das bebidas, eram esperados valores mais elevados por serem amostras de bebidas envelhecidas. De acordo com Bortoletto et al. (2015), os tonéis podem passar por um processo de tosta que pode acarretar o aumento na concentração de furfural e 5-Hidroximetilfurfural (HMF). Durante a tosta as moléculas de celulose e hemicelulose são fracionadas em compostos menores como o furfural e o HMF, que posteriormente são incorporados a bebida. Dentre as amostras analisadas, nenhuma se mostrou fora dos padrões exigidos pelo MAPA, sendo que a amostra 1 apresentou a maior concentração do composto, 1,02 mg L⁻¹.

Na quantificação do teor de extrato seco, a amostra 5 apresentou o maior valor (0,7467 g L⁻¹). Eram esperados valores relativamente maiores do que encontrados em cachaças brancas, pois durante o processo de envelhecimento são extraídos compostos que tornam a bebida mais encorpada. Oliveira e colaboradores (2020) analisando cachaças brancas, encontraram na maioria de suas amostras, valores de extrato seco próximos a 0,1 g L⁻¹. O aumento do extrato seco observado neste trabalho após o envelhecimento de bebidas pode estar relacionado a extração de compostos da madeira durante o armazenamento.

Pesquisas realizadas por Santiago e colaboradores (2016), com diferentes cachaças envelhecidas encontraram para a cachaça envelhecida em carvalho valores de extrato seco de 0,923 g L⁻¹. Com exceção da amostra 5 que apresentou o maior teor de extrato seco, os demais resultados encontrados neste trabalho se encontram com baixas concentrações. Estes resultados podem indicar que os barris já estavam em uso por muitos ciclos ou procedeu-se a utilização de cachaças brancas para possíveis correções de grau alcoólico e diluição da bebida final, o que diminuiria a concentração na bebida final.

Os valores encontrados para o Cobre nas amostras estavam dentro dos limites exigidos pela legislação, sendo que a amostra 1 apresentou a maior concentração do composto (3,19 mg L⁻¹). A contaminação de bebidas por este metal pode estar associada a má higienização dos aparelhos de destilação, visto que a contaminação por cobre pode ocorrer devido ao acúmulo de sais cúpricos com o tempo no equipamento. A utilização de filtros de resina e carvão ativado após a destilação da bebida, também são alternativas encontradas pelos produtores para evitar a contaminação da bebida por estes metais (CARDOSO, 2013).

O processo de envelhecimento demonstra capacidade de remoção de cobre na cachaça, uma vez que, segundo estudo de Samanta, Basu e Mishra (2018), a lignina e a celulose (constituente da estrutura da madeira do tonel) são adsorventes capazes de remover íons de Cu²⁺

por meio da associação dos íons de cobre com as hidroxilas presentes nas moléculas de lignina e celulose.

6.2 Análise de compostos fenólicos totais

Na quantificação dos compostos fenólicos, obteve-se uma reta com equação de $y = 0,0018x - 0,0064$ e $r^2 = 0,998$. A partir das leituras das amostras, e com o uso da equação da curva padrão, foram obtidos os seguintes valores de concentração fenólica total das amostras estudadas (Tabela 3).

Tabela 3: Concentração de compostos fenólicos totais nas amostras de cachaça.

Amostras	Concentração (mg L ⁻¹)
1	88,05±3,51d
2	155,68±3,34h
3	108,03±2,21e
4	160,52±4,64h
5	126,50±0,70f
6	140,90±1,79g
7	70,05±1,37c
8	70,96±1,98c
9	58,02±4,49b
10	23,27±1,22a

Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas colunas não diferem entre si pelo Teste Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade

A partir desses dados foi perceptível notar que as amostras 4 e 6 obtiveram as maiores concentrações de compostos fenólicos, 160,52±4,64 mg L⁻¹ e 140,90±1,79 mg L⁻¹, respectivamente. Santiago, Cardoso & Nelson (2017), encontraram valores para fenólicos totais em cachaças envelhecidas entre 64,69 a 169,57 mg L⁻¹, sendo o ácido gálico e o ácido vanílico os principais compostos fenólicos presentes em cachaças envelhecidas em carvalho. Todas as amostras analisadas neste trabalho apresentaram-se dentro da faixa de concentração encontrada

pelos autores, com exceção da amostra 10 ($23,27 \pm 1,22 \text{ mg L}^{-1}$). Este resultado pode ser indicativo de que a amostra pode ter sofrido alteração, provavelmente pela realização de alguma diluição, fato que pode ser considerado avaliando-se os demais resultados das análises físico-químicas e principalmente a graduação alcoólica da bebida.

Rodrigues e colaboradores (2016), avaliaram os extratos fenólicos de cachaças envelhecidas em diversas madeiras, pelos métodos de Folin–Ciocalteu (espectrofotometria) e por HPLC. Pelo método espectrofotométrico o valor total de fenólicos se mostrou maior do que por HPLC, e isso ocorre pelo método possuir uma seletividade menor, detectando também outros compostos aromáticos, como alguns ésteres, que também derivam do processo de envelhecimento. O valor de fenólicos totais encontrados para as amostras de cachaças envelhecidas em carvalho foi 95.49 mg L^{-1} , o que corrobora com os valores encontrados neste trabalho.

A variação de composição fenólica total entre as amostras era um resultado esperado e o principal motivo está relacionado ao fato de as amostras terem sido coletadas em diferentes unidades produtoras e pontos comerciais. Segundo Alcarde (2017) e Bortoletto, Correa & Alcarde (2016), diversos fatores influenciam no processo de extração e incorporação de compostos fenólicos na bebida como o nível de tosta do tonel, tempo de uso, teor alcoólico da bebida, e condições do ambiente de armazenamento.

6.3 Análise de compostos voláteis

Na Tabela 4 estão apresentados os compostos voláteis identificados nas amostras após a análise por SPME-GC-MS e os respectivos tempos de retenção, índices de retenção práticos e de literatura.

Ao todo foram encontrados 38 compostos voláteis distintos, que influenciam no “*flavour*” da bebida. Dentre os 38 compostos identificados, 6 deles estavam presentes em todas as amostras, outros 3 foram encontrados em 7 a 9 amostras, e os demais compostos foram encontrados em no máximo 4 amostras. Ou seja, muitos destes compostos ou foram adquiridos pelas bebidas de forma particular e única, ou pela influência de outros fatores como tempo de armazenamento, o tonel utilizado e características do destilado utilizado no envelhecimento.

Tabela 4 – Compostos voláteis identificados nas amostras de cachaça envelhecidas.

Compostos	Ir	Ir *	Tr	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	N
Methyl-2-butanol <3->	662	671	2,120	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	10
Tiglic aldehyde	736	737	3,403	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	10
Methyl cyclohexene	739	740	3,462	X			X	X			X			4
Octene <(2e)->	815	815	4,944								X			1
Octanal <n->	999	998	10,759	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	10
Furan <2-acetyl-5-methyl->	1031	1031	11,911	X										1
Hexanoic acid <5-methyl->	1033	1033	11,994				X							1
Norbornene-2-methanol <exo-5->	1058	1058	12,924								X			1
Ethyl 3-hydroxy hexanoate	1122	1121	15,277	X										1
Ethyl octanoate	1196	1196	17,979	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	10
Decanol <2->	1198	1198	18,068	X										1
Bourbonene < β ->	1387	1387	24,481		X							X		2
Ethyl decanoate	1395	1395	24,758	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	10
Geranyl acetone	1453	1453	26,573							X				1
Isobornyl n-butanoate	1473	1473	27,187							X				1
Geranyl propanoate	1476	1476	27,300							X				1
Methyl isoeugenol <(e)->	1491	1491	27,758							X				1
Calacorene < β ->	1564	1564	29,924	X	X	X			X					4
Dodecanoic acid	1565	1565	29,953							X				1
Ethyl dodecanoate	1593	1593	30,843	X	X		X	X		X	X	X	X	8
Isolongifolanone <trans->	1625	1625	31,698	X			X	X	X	X		X	X	7
Cadinol <epi- α ->	1638	1638	32,067							X				1
Cubanol	1645	1645	32,272		X		X	X			X	X		5
Butyl phthalide <3->	1647	1647	32,340				X							1
Eudesmol < β ->	1648	1649	32,357							X				1
Eudesmol <7-epi- α ->	1662	1662	32,743	X						X				2
Methyl dihydro jasmonate <trans->	1682	1682	33,314		X							X		2
Amyl cinnamyl alcohol < α ->	1682	1682	33,329				X			X				2
Bergamotol <(z)- α -trans->	1690	1690	33,552		X	X	X	X	X	X		X		7
Tetradecanoic acid			36,337	X	X	X	X	X	X	X	X	X		9
3,7,11-trimethyl-2,6,10-dodecatrienyl acetate			37,369									X		1
Laurate isoamyl			37,630									X		1
2-phenylethyl nonanoate			37,746									X		1
1,2-benzenedicarboxylic acid			38,076	X				X	X	X				4
Dipentyl ester			40,588					X						1
Hexadecanoic acid			41,343	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	10
Di-isopentylphthalate			43,014					X	X					2
Ethyl (9z,12z)-9,12-octadecadienoate			45,155								X			1
Na				16	13	9	15	15	12	20	13	16	8	

IR: Índice de Retenção pratico; IR*: Índice de retenção da literatura; TR: tempo de retenção; N: número de amostras com o respectivo composto; Na: Quantidade de compostos na respectiva amostra.

Os compostos encontrados em todas as amostras foram o octanal, octanoato de etila, decanoato de etila, ácido hexadecanóico, 2-metilbutanol e o aldeído tiglico ((*E*)-2-Methylbut-2-enal). O ácido tetradecanoico foi encontrado identificado em 9 das amostras, o dodecanoato de etila apareceu em 8. Oliveira e colaboradores (2020), analisando diferentes amostras de cachaça do estado da Paraíba não envelhecidas encontraram 3 dos compostos citados (octanoato de etila, decanoato de etila e o dodecanoato de etila). Assim, esses compostos podem ter sua formação relacionada ao processo produtivo da cachaça, possivelmente na forma de produtos da fermentação ou mesmo formados no processo de destilação.

Santiago e colaboradores (2016), analisando a composição volátil de cachaças envelhecidas em diversas madeiras, encontraram na amostra envelhecida em carvalho 5 compostos que corroboram aos identificados neste presente estudo. Entretanto, 3 destes compostos também foram encontrados em amostras de cachaças brancas. Assim, pode-se concluir que as amostras deste trabalho e a amostra do estudo de Santiago e colaboradores, ambas envelhecidas em tonéis de carvalho, apresentaram uma de composição volátil diversificada.

Dentre todas as amostras analisadas, a amostra 7 foi a que apresentou o maior número de compostos voláteis (20 compostos), dentre estes 7 compostos foram encontrados apenas nesta bebida, enquanto a amostra 10 apresentou o menor número de compostos (8 compostos).

Os dados obtidos nessa análise mostraram que há uma grande heterogeneidade de composição volátil entre as amostras, o que torna difícil a avaliação e definição de um perfil padrão de compostos voláteis, mesmo em amostras de bebidas armazenadas em toneis de uma mesma madeira.

7 CONCLUSÃO

As amostras 1, 8 e 10, apresentaram-se fora dos Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ's) exigidos pelo MAPA, sendo, portanto, impróprias para o consumo.

A composição fenólica total das amostras comprova que se tratava de cachaças envelhecidas por possuírem concentrações próximas as esperadas para essa classificação.

Não foi possível estabelecer um padrão claro entre a presença de um determinado grupo de compostos e o tipo de madeira em que as amostras foram envelhecidas, tendo em vista que a formação destes compostos sofre influência de diversas fontes da cadeia produtiva da bebida, fatores edafoclimáticos, tamanho do tonel, tempo de armazenamento e constituição química da madeira, e posteriormente do armazenamento da bebida.

Foram identificados 6 compostos que estavam presentes em todas as amostras deste estudo, em comparação a literatura foi possível identificar a presença destes compostos em amostras de cachaças brancas, sendo então estes provavelmente provenientes de etapas da cadeia produtiva da bebida, e não do processo de envelhecimento. Desta forma, não foi possível estabelecer um perfil padrão da composição fenólica de cachaças envelhecidas em tonéis de carvalho.

8 REFERENCIAS

ADAMS, R.P. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. Gruver: Texensis Publishing, 2017.

ALCARDE, A. R. Cachaça: ciência, tecnologia e arte. Editora Blucher, 2017.

BARCELOS; V. et al. Teores de carbamato de etila e outros componentes secundários em diferentes cachaças produzidas em três regiões do estado de minas gerais: zona da mata, sul de minas e vale do jequitinhonha. Química Nova, vol.30, n.4, p.1009-1011, 2007

BORTOLETTO, A. M. et al. Aging practices influence chemical and sensory quality of cachaça. Food Research International, v. 86, p. 46-53, 2016.

BORTOLETTO, A. M.; ALCARDE, A. R. Aging marker profile incachaçais influenced by toasted oak chips. Journal of The Institute of Brewing, v. 121, n. 1, p. 70-77, 2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 13, de 29 de junho de 2005. Diário Oficial [da] União de 30 jun. 2005, Seção 1, Página 3. Aprova o regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para aguardente de cana e para cachaça. 2005a.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 24, de 08 de setembro de 2005b. Aprova o Manual operacional de bebidas e vinagres. Diário Oficial [da] União de 20 set. 2005, Seção 1, Página 11.

CARDOSO, M. G. Produção de aguardente de cana. 3 ed. Lavras, 2013.

CARDOSO, M. G.; FREITAS, M. P. Química orgânica: conceitos e reações. – Lavras : Ed. UFLA, 2016.

CRAVO, F. D. et al. Composition of Cachaças Produced from Five Varieties of Sugarcane and the Correlation of the Presence of Dhurrin in the Cane with That of Ethyl Carbamate in the Product. American Journal of Plant Sciences, v. 10, n. 2, p. 339-350, 2019.

GALINARO, C. A. et al. Profiles of polycyclic aromatic hydrocarbons in brazilian sugar cane spirits: discrimination between cachaças produced from nonburned and burned sugar cane crops. *Journal Agriculture Food Chemistry*, v. 55, n. 8, 2007.

GONÇALVES, R. C. F. et al. Compostos voláteis em cachaças de alambique produzidas por leveduras selecionadas e por fermentação espontânea. *Magistra*, v. 28, n. 3/4, p. 285-293, 2017.

IBRAC (Instituto Brasileiro de Cachaça),

brr<<http://www.ibrac.net/index.php/servicos/estatisticas/mercado-externo>>, acessado dia 23 de Junho de 2020.

LIMA, A. J. B et al. Emprego do carvão ativado para remoção de cobre em cachaça. *Química Nova*, v. 29, n. 2, p. 247-250, 2006.

MASSON, J. et al. Determination of acrolein, ethanol, volatile acidity, and copper in different samples of sugarcane spirits. *Ciência e tecnologia de alimentos*, v. 32, n.3, p. 568-572. 2012.

MENDONÇA, J. G. P. et al. Determination of ethyl carbamate in cachaças produced by selected yeast and spontaneous fermentation. *Journal of the Institute of Brewing, London*, v. 122, n. 1, p. 63-68, 2016.

MIRANDA, M. B. et al. Estudo do efeito da irradiação gamma (^{60}CO) na qualidade da cachaça e no tonel de envelhecimento. *Ciência e tecnologia de alimentos*, v. 26, n. 4, p.772-778. 2006.

MISHINA, R.A.G. et al. Análise das substâncias voláteis presentes em cachaças artesanais do estado da Paraíba. 2016. Disponível em:

http://www3.sp.senac.br/hotsites/blogs/revistacontextos/wp-content/uploads/2016/03/66_CA_artigo-revisado.pdf Acesso em 13 de Junho de 2020.

OLIVEIRA, R. E. da S. et al. Physicochemical parameters and volatile composition of cachaça produced in the state of Paraíba, Brasil. *Research, Society and Development*, [S. l.], v. 9, n. 7, p. e504974409, 2020.

PEREIRA, N. E. et al. Compostos secundários em cachaças produzidas no Estado de Minas Gerais. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 27, n. 5, p. 1068-1075, 2003.

RODRIGUES, L. M. A. et al. Phenolic extracts of cachaça aged in different woods and quantifying antioxidant activity and antifungal properties. *Journal of the Institute of Brewing*, v. 122, n. 4, p. 644-652, 2016.

SAMANTA, A. K. BASU, G.; MISHRA, L. Role of major constituents of coconut fibres on absorption of ionic dyes. *Industrial Crops and Products*, v. 117, p. 20-27, 2018.

SANTIAGO, W. D. Perfil físico-químico, compostos voláteis, carbamato de etila e compostos fenólicos de cachaças armazenadas em tonéis recém-confeccionados de carvalho e madeiras nativas brasileiras. 2016. 221 p. Tese (Doutorado em Agroquímica) -Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.

SANTIAGO, W. D. et al. Physicochemical profile and determination of volatile compounds in cachaça stored in new oak (*Quercus* sp.), amburana (*Amburana cearensis*), jatoba (*Hymenaeae carbouril*), balsam (*Myroxylon peruiferum*) and peroba (*Paratecoma peroba*) casks by SPME-GC-MS. *Journal of The Institute of Brewing*, [s.l.], v. 122, n. 4, p.624-634, 2016.

SANTIAGO, W. D.; CARDOSO, M. G.; NELSON, D. L. Cachaça stored in casks newly constructed of oak (*Quercus* sp.), amburana (*Amburana cearensis*), jatoba (*Hymenaeae carbouril*), balsam (*Myroxylon peruiferum*) and peroba (*Paratecoma peroba*): alcohol content, phenol composition, color intensity and dry extract. *Journal of The Institute of Brewing*, v. 123, n. 2, p. 232-241, 2017.

VILELA, F. J. et al. Determinação das composições físico-químicas de cachaças do Sul de Minas Gerais e de suas misturas. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 31, n. 4, p. 1089-1094. 2007.

ZACARONI, L. M. et al. Avaliação multivariada da composição fenólica de cachaças envelhecidas em diferentes barris de madeira. *Científica*, v.42, n.2, p. 101-107, 2014.

ZACARONI, L. M. et al. Response surface optimization of SPME extraction conditions for the analysis of volatile compounds in Brazilian sugar cane spirits by HS-SPME-GC-MS. *Journal of The Institute of Brewing*, v. 123, n. 2, p.226-231, 2017.