

**IQB**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS**  
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E**  
**BIOTECNOLOGIA**



**UFAL**

**Cecília Dantas Vicente**

**Determinação de Compostos Fenólicos, Congêneres,  
Contaminantes, Carbamato de Etila e Capacidade  
Antioxidante em Cachaças no Processo de  
Envelhecimento em Barris de Diferentes Madeiras**

Maceió - Alagoas

Julho de 2011

**Cecília Dantas Vicente**

**Determinação de Compostos Fenólicos, Congêneres,  
Contaminantes, Carbamato de Etila e Capacidade  
Antioxidante em Cachaças no Processo de  
Envelhecimento em Barris de Diferentes Madeiras**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia, do Instituto de Química e Biotecnologia, da Universidade Federal de Alagoas, como requisito para a obtenção do título de Doutora em Ciências na área de Química Analítica e Ambiental.

Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Fabiane Caxico de Abreu Galdino

Co-orientador: Prof. Dr. João Nunes de Vasconcelos

Maceió - Alagoas

Julho de 2011

**Catálogo na fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**  
**Divisão de Tratamento Técnico**  
**Bibliotecária Responsável: Helena Cristina Pimentel do Vale**

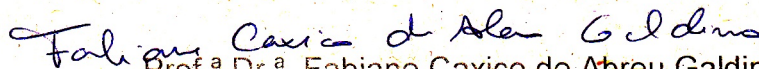
- V633d Vicente, Cecília Dantas.  
Determinação de compostos fenólicos, congêneres, contaminantes, carbamato de etila e capacidade antioxidante em cachaças no processo de envelhecimento em barris de diferentes madeiras / Cecília Dantas Vicente. – 2011.  
228 f. : il. grafs. e tabs.
- Orientadora: Fabiane Caxico de Abreu Galdino.  
Co-Orientador: João Nunes de Vasconcelos.  
Tese (doutorado em Química e Biotecnologia) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Maceió, 2011.
- Bibliografia: f. 182-192.  
Apêndices: f. 193-226.  
Anexos: f. 227-228
1. Cachaça envelhecida. 2. Compostos fenólicos. 3. Carbamato de etila.  
4. Barris de madeira. 5. Bebidas alcoólicas. I. Título.

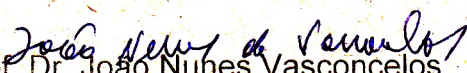
CDU: 543.062

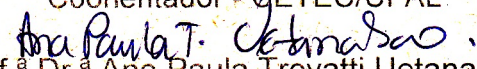
## Folha de Aprovação

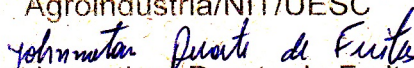
Membros da Comissão Julgadora da Tese de Doutorado de **Cecília Dantas Vicente**, intitulada: **“Determinação de Compostos Fenólicos, Congêneres, Contaminantes, Carbamato de Etila e Capacidade Antioxidante em Cachaças no Processo de Envelhecimento em Barris de Diferentes Madeiras”**, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas em 29 de julho de 2011, às 9h, na sala de reunião do IQB/UFAL.

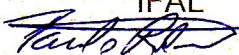
### COMISSÃO JULGADORA

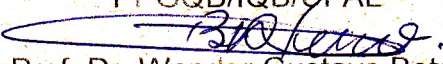
  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Fabiane Caxico de Abreu Galdino  
Orientadora - PPGQB/IQB/UFAL

  
Prof. Dr. João Nunes Vasconcelos  
Coorientador - GETEC/UFAL

  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Ana Paula Trovatti Uetanabaro  
Agroindústria/NIT/UESC

  
Prof. Dr. Jonnathan Duarte de Freitas  
UFAL

  
Prof. Dr. Paulo dos Santos Roldan  
PPGQB/IQB/UFAL

  
Prof. Dr. Wander Gustavo Botero  
PPGQB/UFAL/ARAPIRACA

## AGRADECIMENTOS

Aos Professores Orientadores Dr<sup>a</sup>. Fabiane Caxico de Abreu Galdino e Dr. João Nunes de Vasconcelos, pela oportunidade oferecida, orientação e apoio em todos os momentos;

Aos Professores, Técnicos e Alunos do Instituto de Química e Biotecnologia, da Universidade Federal de Alagoas, pelo apoio durante a realização das análises químicas; e

Aos Professores, Técnicos e Alunos da Coordenação de Química do Instituto Federal de Alagoas, pelo apoio para realização de análises; e

Especialmente à Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marília Oliveira Fonseca Goulart e Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart Sant'Ana, pelo apoio em momentos decisivos; e

A todas as demais pessoas que, direta ou indiretamente, colaboraram para a realização deste trabalho.

Ao Emanuel David, pelo estímulo, colaboração e compreensão

e

A Carolina por amor

Dedico

*“De onde apreende todos os materiais da razão e do conhecimento?  
A isso respondo, numa palavra, da experiência.”(John Locke)*

## RESUMO

Os compostos fenólicos (ácido gálico, ácido vanílico, vanilina, ácido siríngico, siringaldeído, cumarina, e escopoletina), a capacidade antioxidante, os congêneres (aldeído acético, acetona, furfuraldeído, acetato de etila, *n*-propanol, isobutanol, e isoamílico), os contaminantes (metanol, *sec*-butanol e *n*-butanol), e o carbamato de etila, foram determinados em cachaças durante o processo de envelhecimento. As cachaças foram envelhecidas em barris de 20 litros, confeccionados em nove diferentes madeiras: jaboty, itauba, carvalho, timborana, jequitiba, balsamo, courbaril, cerejeira, peroba e carvalho. Os compostos fenólicos e o furfuraldeído foram determinados por HPLC/UV. A capacidade antioxidante foi determinada empregando-se três métodos diferentes: os fenóis totais por Foulin-Ciocalteu (FC), a inibição ao radical DPPH·, e o método do poder antioxidante do ferro FRAP. Os congêneres (aldeído acético, acetona, acetato de etila, *n*-propanol, isobutanol, e isoamílico) e contaminantes (metanol, *sec*-butanol e *n*-butanol) foram quantificados empregando-se o GC/MS. O carbamato de etila foi determinado através de uma metodologia que empregou o GC/MS com monitoramento seletivo de íons (SIM). A origem botânica das madeiras dos barris definiu os perfis fenólicos das cachaças, que tornaram-se mais complexos, e apresentaram aumento da concentração de cada composto fenólico e capacidade antioxidante, com o aumento do tempo de envelhecimento. A maioria das madeiras brasileiras apresentaram maior teor de compostos fenólicos e capacidade antioxidante do que o carvalho. A cachaça envelhecida é uma fonte de antioxidantes exógenos, tendo sido o ácido gálico o principal composto fenólico incorporado durante o processo de envelhecimento. As cachaças com maior capacidade antioxidante foram as envelhecidas em barril de balsamo, seguido por courbaril, cerejeira, timborana, peroba, jequitiba, carvalho, itauba e jaboty. A cachaça não envelhecida apresentou capacidade antioxidante desprezível. As cachaças envelhecidas em cerejeira, courbaril e jequitiba, apresentaram capacidade antioxidante tão alta quanto a de vinhos tintos. A cachaça envelhecida em carvalho apresentou capacidade antioxidante semelhante a de vinhos brancos e uísques. A concentração dos congêneres acetato de etila, alcoóis superiores e aldeído acético aumentou, consideravelmente, com o tempo de envelhecimento. Na maioria das cachaças a concentração do carbamato de etila manteve-se constante. Através da metodologia da análise dos componentes principais (PCA) e análise hierárquica de agrupamento (HCA) as cachaças foram agrupadas em função das similaridades da sua composição fenólica, furfuraldeído e capacidade antioxidante, formando 5 grupos: grupo 1 (CNE, itauba, jaboty e carvalho), grupo 2 (jequitiba e timborana), grupo 3 (balsamo e courbaril), grupo 4 (cerejeira) e grupo 5 (peroba). A partir dos resultados analíticos dos congêneres e contaminantes das cachaças não foi possível distingui-las através da PCA e HCA. A madeira balsamo, seguida por timborana, courbaril, jequitiba, carvalho, itauba e jaboty foram as mais indicadas para o envelhecimento porque apresentaram maior capacidade antioxidante, e se adequaram aos limites estabelecidos pela legislação para cumarina, congêneres, contaminantes e carbamato de etila. Os barris de cerejeira e peroba não foram indicados porque durante o envelhecimento apresentaram aumento da concentração de cumarina e carbamato de etila, respectivamente, com valores muito acima dos permitidos pela legislação vigente.

Palavras-chave: cachaça envelhecida, compostos fenólicos, carbamato de etila, barris de madeira, bebidas alcoólicas.



## ABSTRACT

The phenolic compounds (gallic acid, vanillic acid, vanillin, syringic acid, syringaldehyde, coumarin and scopoletin), antioxidant capacity, the congeners (acetaldehyde, acetone, furfural, ethyl acetate, *n*-propanol, isobutanol and isoamyl), contaminants (methanol, *sec*-butanol and *n*-butanol), and ethyl carbamate, was determined in cachaças during the aging process. The cachaça were aged in 20 liters barrels, made of nine different woods: jaboty, itauba, timborana, jequitiba, balsamo, courbaril, cerejeira, peroba and oak. The phenolic compounds and furfural were determined by HPLC/UV. The antioxidant capacity was determined using three different methods: the total phenolics by Foulin-Ciocalteu (FC), the inhibition of DPPH radical, and the method of antioxidant power of iron (FRAP). The congeners and contaminants were quantified using GC/MS. The ethyl carbamate was determined through a methodology that makes use of GC/MS with selected ion monitoring (SIM). The botanical origin of the wood's barrels set phenolic profiles of the samples, which have become more complex, and the concentration of each phenolic compound and antioxidant capacity increased with the aging time. The majority of brazilian woods showed a higher phenolic content and antioxidant capacity than oak. The aged cachaça is a source of exogenous antioxidants, and gallic acid was the main phenolic compound incorporated during the aging process. The cachaça with a higher antioxidant capacity were aged in barrel of balsamo, followed by courbaril, cerejeira, timborana, peroba, jequitiba, oak, itauba and jaboty. The non-aged cachaça showed negligible antioxidant capacity. The aged cachaça in oak showed the similar antioxidant capacity of white wines and whiskeys. A concentration of ethyl acetate, higher alcohols and acetaldehyde increased dramatically with the aging time. The concentration of ethyl carbamate in cachaças remained constant in most of the samples. Through the methodology of principal component analysis (PCA) and hierarchical cluster analysis (HCA) cachaças were grouped according to similarities of their phenolic composition, antioxidant capacity and furfural, forming five groups: group 1 (CNE, itauba, jaboty and oak), group 2 (jequitiba and timborana), group 3 (balsamo and courbaril), group 4 (cerejeira) and group 5 (peroba). From analytical results of congeners in the cachaças could not distinguish them by PCA and HCA. The wood balsamo, followed by timborana, courbaril, jequitiba, oak, itauba and jaboty were the most suitable for aging because had higher antioxidant capacity, and comply with the limits prescribed by law for coumarin, congeners, contaminants and ethyl carbamate. The barrels of cerejeira and peroba were not indicated because during aging showed increased concentrations of coumarin and ethyl carbamate, respectively, with values far above those allowed by law.

Keywords: aged sugar cane spirit, phenolic compounds, ethyl carbamate, wooden barrels, alcoholic beverages.

## LISTA DE FIGURAS

|  |    |
|--|----|
| <b>Figura 1</b> – Representação esquemática das associações químicas que ocorrem na parede celular da madeira: ligações entre moléculas de glucose (A) e interações entre as cadeias lineares adjacentes para a formação da fibrila elementar (B); associação entre quatro fibrilas elementares adjacentes (C), circundadas em uma matriz de hemicelulose e lignina para a formação da microfibrila celulósica (D) ..... | 34 |
| <b>Figura 2</b> – Representação esquemática da estrutura de um tronco de madeira. ....   | 35 |
| <b>Figura 3</b> – Representação esquemática da estrutura do lenho.....   | 37 |
| <b>Figura 4</b> – Cerejeira: (A) face tangencial, (B) face radial e (C) fotomicrografia 10x.   | 42 |
| <b>Figura 5</b> – Balsamo: (A) face tangencial, (B) face radial e (C) fotomicrografia 10x.   | 43 |
| <b>Figura 6</b> – Carvalho branco: (A) face tangencial, (B) face radial e (C) fotomicrografia 10x.....   | 44 |
| <b>Figura 7</b> – Jaboty: (A) face tangencial, (B) face radial e (C) fotomicrografia 10x....   | 46 |
| <b>Figura 8</b> – Peroba: (A) face tangencial, (B) face radial e (C) fotomicrografia 10x....   | 46 |
| <b>Figura 9</b> – Courbaril: (A) face tangencial, (B) face radial e (C) fotomicrografia 10x.   | 48 |
| <b>Figura 10</b> – Itauba: (A) face tangencial, (B) face radial e (C) fotomicrografia 10x. ...   | 50 |
| <b>Figura 11</b> – Timborana: (A) face tangencial, (B) face radial e (C) fotomicrografia 10x.....  | 50 |
| <b>Figura 12</b> – O Barril (Bordelaise, Bordeaux) mais utilizado atualmente.....  | 52 |
| <b>Figura 13</b> – Ilustração do: corte de uma tora de carvalho (A), divisão das toras em quartos para obtenção das aduelas na tanoaria americana (B) e europeia (C). ....   | 54 |
| <b>Figura 14</b> – Aduelas de carvalho branco secas e empilhadas sob estrados após secagem (A) e aduelas serradas em tamanho uniforme (B).....   | 55 |
| <b>Figura 15</b> – Pré-cintragem, cintragem e termotratamento.....   | 56 |
| <b>Figura 16</b> – Entalhes para colocação das tampas (A) e barril acabado e embalado (B).....   | 57 |
| <b>Figura 17</b> – Representação esquemática da composição química da madeira.....   | 62 |
| <b>Figura 18</b> - Estrutura química da lignina.....   | 63 |
| <b>Figura 19</b> - Transformações dos aldeídos aromáticos derivados da lignina no uísque.....  | 65 |
| <b>Figura 20</b> - Hidrólise dos galotaninos produzindo ácido gálico e dos elagitaninos produzindo o ácido hexahidroxidifênico (HHDP), e a espontânea lactonização produzindo o ácido elágico.....   | 67 |

|  |     |
|--|-----|
| <b>Figura 21</b> - Estrutura química da (a) cumarina e (b) escopoletina. ....  | 67  |
| <b>Figura 22</b> – Mecanismo do estresse oxidativo. ....   | 70  |
| <b>Figura 23</b> – Redução do antioxidante por 2,2-difenil-1-picrilhidrazil radical (DPPH·).74   |     |
| <b>Figura 24</b> – Redução de antioxidantes por ferro 2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina (TPTZ). ....   | 75  |
| <b>Figura 25</b> – Metabolismo de bebidas alcoólicas (etanol) pela via ADH (álcool desidrogenase).....   | 82  |
| <b>Figura 26</b> – Metabolismo do açúcar nas fermentações e produção de ésteres. ....  | 83  |
| <b>Figura 27</b> - Rotas de formação do hidroximetilfurfural (HMF) e furfural (FURF). ....   | 88  |
| <b>Figura 28</b> – Estrutura química do carbamato de etila (CE). ....  | 90  |
| <b>Figura 29</b> – Barris utilizados para o envelhecimento da cachaça. ....  | 96  |
| <b>Figura 30</b> – Cachaças envelhecidas nos nove diferentes barris envelhecidas por 1, 3, 6, 9, 12, 18 meses. ....  | 97  |
| <b>Figura 31</b> – Sistema HPLC (Shimadzu).....  | 100 |
| <b>Figura 32</b> – Espectrofotômetros Shimadzu (A) e de microplaca Multiskan Spectrum (B).....   | 103 |
| <b>Figura 33</b> – GC/MS (Shimadzu) GC-17A acoplado ao espectrômetro de massa QP-5050.....   | 108 |
| <b>Figura 34</b> – Parte do cromatograma de massas com o pico do íon m/z 62 do carbamato de etila no TR = 11,28 minutos (a); e espectro de massas do carbamato de etila (b)..... | 113 |

## LISTA DE GRÁFICOS

|   |     |
|---|-----|
| <b>Gráfico 1</b> – Concentrações de ácido gálico ( $\text{mg L}^{-1}$ ) nas cachaças durante o processo de envelhecimento em barris de diferentes tipos de madeiras. ....                   | 120 |
| <b>Gráfico 2</b> – Concentrações de ácido vanílico ( $\text{mg L}^{-1}$ ) nas cachaças durante o processo de envelhecimento em barris de diferentes tipos de madeiras. ....                 | 122 |
| <b>Gráfico 3</b> – Concentrações da vanilina ( $\text{mg L}^{-1}$ ) nas cachaças durante o processo de envelhecimento em barris de diferentes tipos de madeiras. ....                       | 124 |
| <b>Gráfico 4</b> – Concentrações de ácido siríngico ( $\text{mg L}^{-1}$ ) nas cachaças durante o processo de envelhecimento em barris de diferentes tipos de madeiras. ....                | 126 |
| <b>Gráfico 5</b> – Concentrações de siringaldeído ( $\text{mg L}^{-1}$ ) nas cachaças durante o processo de envelhecimento em barris de diferentes tipos de madeiras. ....                  | 128 |
| <b>Gráfico 6</b> – Concentrações de cumarina ( $\text{mg L}^{-1}$ ) nas cachaças durante o processo de envelhecimento em barris de diferentes tipos de madeiras. ....                       | 129 |
| <b>Gráfico 7</b> – Soma dos compostos fenólicos ( $\text{mg L}^{-1}$ ) analisados nas cachaças em HPLC durante o processo de envelhecimento em barris de diferentes tipos de madeiras. .... | 131 |
| <b>Gráfico 8</b> – Concentrações de furfuraldeído ( $\text{mg L}^{-1}$ ) nas cachaças durante o processo de envelhecimento em barris de diferentes tipos de madeiras. ....                  | 132 |
| <b>Gráfico 9</b> – Fenóis totais ( $\text{mg L}^{-1}$ ) na cachaças durante o processo de envelhecimento em diferentes barris pelo método FC. ....  | 135 |
| <b>Gráfico 10</b> – Capacidade antioxidante medida como inibição ao radical DPPH $\cdot$ (%) pelo método FC, nas cachaças durante o processo de envelhecimento em diferentes barris ....    | 139 |
| <b>Gráfico 11</b> – Cinética dos padrões de ácido gálico ( $50 \mu\text{g L}^{-1}$ e $100 \mu\text{g L}^{-1}$ ) frente ao radical DPPH $\cdot$ . ....                                       | 142 |
| <b>Gráfico 12</b> – Cinética da CNE frente ao DPPH $\cdot$ . ....   | 142 |
| <b>Gráfico 13</b> – Cinética das cachaças envelhecidas em barril de jaboty frente ao DPPH $\cdot$ . ....  | 142 |
| <b>Gráfico 14</b> – Cinética das cachaças envelhecidas em barril de itauba frente ao DPPH $\cdot$ . ....  | 142 |
| <b>Gráfico 15</b> – Cinética das cachaças envelhecidas em barril de carvalho frente ao DPPH $\cdot$ . ....  | 142 |

|  |     |
|--|-----|
| <b>Gráfico 16</b> – Cinética das cachaças envelhecidas em barril de timborana frente ao DPPH. ....   | 142 |
| <b>Gráfico 17</b> – Cinética das cachaças envelhecidas em barril de jequitiba frente ao DPPH. ....   | 143 |
| <b>Gráfico 18</b> – Cinética das cachaças envelhecidas em barril de balsamo frente ao DPPH. ....   | 143 |
| <b>Gráfico 19</b> – Cinética das cachaças envelhecidas em barril de courbaril frente ao DPPH. ....   | 143 |
| <b>Gráfico 20</b> – Cinética das cachaças envelhecidas em barril de cerejeira frente ao DPPH. ....   | 143 |
| <b>Gráfico 21</b> – Cinética das cachaças envelhecidas em barril de peroba frente ao DPPH. ....  | 143 |
| <b>Gráfico 22</b> – Capacidade antioxidante medida como equivalente de sulfato ferroso ( $\mu\text{mol mL}^{-1}$ ) pelo método FRAP, nas cachaças durante o processo de envelhecimento. .... | 144 |
| <b>Gráfico 23</b> – Análise dos componentes principais (PCA): PC1 X PC2 e projeção das amostras de cachaça durante o processo de envelhecimento em diferentes barris.....                    | 148 |
| <b>Gráfico 24</b> – Análise dos componentes principais (PCA): PC1 X PC2 e projeção das variáveis compostos fenólicos, furfuraldeído e capacidade antioxidante.....                           | 148 |
| <b>Gráfico 25</b> – Dendograma da análise hierárquica de agrupamento (HCA) das cachaças, com dados padronizados (sem escala), enlace completo e distancias Euclidianas.....                  | 149 |
| <b>Gráfico 26</b> – Comparação da capacidade antioxidante das cachaças envelhecidas com outras bebidas alcoólicas. ....  | 152 |
| <b>Gráfico 27</b> – Concentrações de aldeído acético ( $\text{mg } 100 \text{ mL}^{-1} \text{ aa}$ ) nas cachaças durante o processo de envelhecimento em diferentes barris.....             | 158 |
| <b>Gráfico 28</b> – Concentrações de acetona ( $\text{mg } 100 \text{ mL}^{-1} \text{ aa}$ ) nas cachaças durante o processo de envelhecimento em diferentes barris.....                     | 160 |
| <b>Gráfico 29</b> – Concentrações de acetato de etila nas cachaças durante o processo de envelhecimento em diferentes barris.....  | 161 |
| <b>Gráfico 30</b> – Concentrações de metanol ( $\text{mg } 100 \text{ mL}^{-1} \text{ aa}$ ) nas cachaças durante o processo de envelhecimento em diferentes barris.....                     | 163 |

|  |     |
|--|-----|
| <b>Gráfico 31</b> – Concentrações do <i>sec</i> -butanol (mg 100 mL <sup>-1</sup> aa) nas cachaças durante o processo de envelhecimento em diferentes barris.....  | 164 |
| <b>Gráfico 32</b> – Concentrações de <i>n</i> -propanol (mg 100 mL <sup>-1</sup> aa) nas cachaças durante o processo de envelhecimento em diferentes barris.....   | 165 |
| <b>Gráfico 33</b> – Concentrações de isobutanol nas cachaças durante o processo de envelhecimento em diferentes barris.....  | 166 |
| <b>Gráfico 34</b> – Concentrações de álcool isoamílico (mg 100 mL <sup>-1</sup> aa) nas cachaças durante o processo de envelhecimento em diferentes barris.....  | 168 |
| <b>Gráfico 35</b> – Concentrações dos alcoóis superiores (mg 100 mL <sup>-1</sup> aa) nas cachaças durante o processo de envelhecimento em diferentes barris.....  | 169 |
| <b>Gráfico 36</b> – Análise dos componentes principais: PC1 X PC2 e projeção das cachaças em diferentes tempos de envelhecimento e em diferentes barris, em função dos congêneres e contaminantes, ..... | 171 |
| <b>Gráfico 37</b> – Análise dos componentes principais (PCA): projeção de PC1 e PC2 das variáveis congêneres e contaminantes. ....   | 171 |
| <b>Gráfico 38</b> – Dendograma das cachaças em função da análises de congêneres e contaminantes, com dados padronizados (sem escala), enlace completo e distancias Euclidianas.....                      | 172 |
| <b>Gráfico 39</b> – Concentrações de carbamato de etila (µg L <sup>-1</sup> ) nas cachaças durante o processo de envelhecimento em diferentes barris.....  | 174 |
| <b>Gráfico 40</b> – Concentrações médias de carbamato de etila (µg L <sup>-1</sup> ) nas cachaças envelhecidas em diferentes barris de madeira.....  | 175 |
| <b>Gráfico 41</b> – Concentrações médias de carbamato de etila (µg L <sup>-1</sup> ) nas cachaças durante o processo de envelhecimento nos meses 0, 6, 9 e 18. ....                                      | 176 |

## LISTA DE TABELAS

|   |     |
|---|-----|
| <b>Tabela 1</b> – Características físicas e químicas do carvalho e das espécies de madeiras nativas do Brasil. ....   | 39  |
| <b>Tabela 2</b> – Classificação do carvalho e das espécies de madeiras nativas do Brasil.....   | 40  |
| <b>Tabela 3</b> – Classificação dos barris quanto ao: nome, faixa de capacidade, país de origem e região de origem.....   | 52  |
| <b>Tabela 4</b> - Classe de compostos fenólicos em plantas.....   | 59  |
| <b>Tabela 5</b> - Requisitos de qualidade dos congêneres da cachaça. ....   | 79  |
| <b>Tabela 6</b> - Ácidos presentes nas cachaças comerciais brasileiras.....   | 80  |
| <b>Tabela 7</b> - Aldeídos presentes nas cachaças comerciais brasileiras.....   | 81  |
| <b>Tabela 8</b> - Ésteres presentes nas cachaças comerciais brasileiras. ....   | 84  |
| <b>Tabela 9</b> - Alcoóis superiores presentes nas cachaças comerciais brasileiras. ....  | 86  |
| <b>Tabela 10</b> – Concentrações das soluções dos padrões analíticos dos compostos fenólicos e furfuraldeído. ....  | 101 |
| <b>Tabela 11</b> – Parâmetros das curvas analíticas das análises de compostos fenólicos e furfuraldeídos em HPLC: tempo de retenção (TR), coeficientes <b>a</b> e <b>b</b> das curvas analíticas*, coeficiente de correlação ( $R^2$ ) e faixa de trabalho..... | 102 |
| <b>Tabela 12</b> – Validação do método de análise de compostos fenólicos e furfuraldeídos em HPLC: precisão (CV), recuperação, limites de detecção (LD) e limites de quantificação (LQ). ....   | 103 |
| <b>Tabela 13</b> – Parâmetros de identificação dos congêneres e contaminates em GC/MS: tempo de retenção (TR), probabilidade comparada com a espectroteca Wiley 330.000 (7a ed.), e método de identificação empregados. ....                                    | 109 |
| <b>Tabela 14</b> – Concentração dos padrões analíticos ( $\text{mg } 100 \text{ mL}^{-1}$ aa) dos congêneres e contaminantes. ....  | 109 |
| <b>Tabela 15</b> – Parâmetros das curvas analíticas das análises de congêneres e contaminantes em GC/MS: tempo de retenção (TR), coeficientes das curvas analíticas <b>a</b> e <b>b</b> *, coeficiente de correlação ( $R^2$ ) e faixa de trabalho.....         | 111 |
| <b>Tabela 16</b> – Validação da análise dos congêneres e contaminantes em GC/MS: precisão (CV), exatidão, limites de detecção (LD) e limites de quantificação (LQ). ....  | 111 |

|  |     |
|--|-----|
| <b>Tabela 17</b> – Parâmetros de identificação da análise de carbamato de etila em GC/MS: tempo de retenção (TR), probabilidade comparada com a espectroteca Wiley 330.000 (7a ed.), massa molecular e método de identificação do carbamato de etila.....  | 113 |
| <b>Tabela 18</b> – Parâmetros da curva analítica e validação da análise de carbamato de etila em GC/MS-SIM: tempo de retenção (TR), coeficientes da curva analítica <b>a</b> e <b>b*</b> , coeficiente de correlação ( $R^2$ ), faixa de trabalho, precisão (CV), recuperação, limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ). ..... | 114 |
| <b>Tabela 19</b> – Compostos fenólicos ( $\text{mg L}^{-1}$ ) da cachaça não envelhecida e das cachaças envelhecidas em diferentes tempos de envelhecimento em barris de jaboty, itauba, carvalho, timborana, jequitiba, balsamo, courbaril, cerejeira e peroba.....   | 117 |
| <b>Tabela 20</b> – Concentrações de furfuraldeído ( $\text{mg L}^{-1}$ ) na cachaça não envelhecida e cachaças envelhecidas em diferentes tempos de envelhecimento em barris de jaboty, itauba, carvalho, timborana, jequitiba, balsamo, courbaril, cerejeira e peroba.....  | 134 |
| <b>Tabela 21</b> – Capacidade antioxidante das cachaças expressos por fenóis totais ( $\text{mg L}^{-1}$ ), I (%) e sulfato ferroso ( $\mu\text{mol mL}^{-1}$ ) determinados pelos métodos FC, DPPH• e FRAP, respectivamente nas cachaças.....   | 136 |
| <b>Tabela 22</b> – Coeficientes de correlação ( $R^2$ ) das análises de compostos fenólicos, furfuraldeído e capacidade antioxidante (FC, DPPH• e FRAP). .....   | 145 |
| <b>Tabela 23</b> – Comparação da capacidade antioxidante das cachaças e outras bebidas, por fenóis totais ( $\text{mg L}^{-1}$ ) e inibição ao DPPH• (%). .....  | 151 |
| <b>Tabela 24</b> – Congêneres e contaminantes ( $\text{mg 100 mL}^{-1}$ aa) da cachaça não envelhecida e das cachaças envelhecidas em diferentes tempos de envelhecimento em barris de jaboty, itauba, carvalho, timborana, jequitiba, balsamo, courbaril, cerejeira e peroba.....   | 154 |
| <b>Tabela 25</b> – Concentrações de carbamato de etila ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) na cachaça não envelhecida e nas cachaças envelhecidas em diferentes tempos de envelhecimento em barris de jaboty, itauba, carvalho, timborana, jequitiba, balsamo, courbaril, cerejeira e peroba.....   | 173 |



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|                     |  |
|---------------------|--|
| A                   | - Exatidão ou em inglês “Accuracy”   |
| aa                  | - Álcool anidro  |
| ABRABE              | - Associação Brasileira de Bebidas   |
| Abs                 | - Absorvância  |
| ABTS                | - 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin) 6-ácido sulfônico   |
| ADH                 | - Álcool Desidrogenase   |
| AHA                 | - Análise Hierárquica de Agrupamento ou em inglês “hierarchical cluster analysis”(HAC)                       |
| ALDH                | - Aldeído-Desidrogenase-2  |
| AOC                 | - Capacidade antioxidante ou em inglês “Antioxidant Capacity”  |
| APROCAL             | - Associação Alagoana dos Produtores de Cachaça de Alambique e outros derivados da cana-de-açúcar de Alagoas |
| ArOH                | - Antioxidante fenólico genérico   |
| BDE                 | - Energia de dissociação de ligação ou em inglês “Bond Dissociation Energy”                                  |
| C18                 | - Sílica modificada com hidrocarboneto linear C18 (octadecilsilano)  |
| CE                  | - Carbamato de Etila   |
| CERFLOR             | - Certificação Florestal   |
| CLC-ODS             | - Column Liquid Chromatography Octadecyl Silano (C18)  |
| CNE                 | - Cachaça Não Envelhecida  |
| Conc.               | - Concentração   |
| CV                  | - Precisão ou em inglês “Coefficient of Variation”   |
| DAC                 | - Doença Arterial Coronária  |
| DNA                 | - Ácido Desoxirribonucléico  |
| DPPH·               | - 2,2-Difenil-1-picrilhidrazil   |
| DPPH <sub>Rem</sub> | - DPPH· Remanescente   |
| EPR                 | - Ressonância Paramagnética Eletrônica ou em inglês “Electron Paramagnetic Resonance”                        |
| ERON                | - Espécies Reativas de Oxigênio e Nitrogênio   |
| FC                  | - Foulín-Ciocalteu   |

|             |  |
|-------------|--|
| FRAP        | - Poder Antioxidante de Redução Férrica ou em inglês “Ferric Reducing Antioxidant Power”   |
| FSC         | - Conselho de Manejo Florestal ou em inglês “Forest Stewardship Council”   |
| FT          | - Espessura do filme ou em inglês “Film Thickness”   |
| FUR         | - Furfural   |
| GAE         | - Equivalente em Ácido Gálico ou em inglês “Gallic Acid Equivalent”  |
| GC-FID      | - Cromatografia Gasosa com Detector por Ionização em Chama ou em inglês “Gas chromatography flame ionization detector”   |
| GC/MS (SIM) | - Cromatografia Gasosa acoplado ao Espectrômetro de Massas no modo de monitoramento seletivo de íons ou em inglês Gas chromatography/mass spectrometry (Selective Ion Monitoring)” |
| HACCP       | - Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle ou em inglês “Hazard Analytical Critical Control Points”  |
| HAHP        | Análise de Halofenol e Haloanisol  |
| HAT         | - Transferência do átomo de Hidrogênio ou em inglês “Hydrogen Atom Transfer”   |
| HCA         | - Análise Hierárquica de Agrupamentos ou em inglês “Hierarchical Cluster Analysis”   |
| HMF         | - Hidroximetilfurfural   |
| HPLC/UV     | - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detector Ultravioleta ou em inglês “High performance liquid chromatography”   |
| IARC        | - Agência Internacional para Pesquisa do Câncer ou em inglês “International Agency for Research on Cancer”   |
| ICH         | - International Conference of Harmonization of Technical Requirements for Registration on of Pharmaceuticals for Human Use   |
| ID          | - Diâmetro interno ou em inglês “Internal Diameter”  |
| IFAL        | - Instituto Federal de Alagoas   |
| INMETRO     | - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade   |

## Industrial

|        |  |
|--------|--|
| IP     | - Potencial de Ionização ou em inglês “Ionization Potential”   |
| IPT    | - Instituto de Pesquisas Tecnológicas  |
| IQB    | - Instituto de Química e Biotecnologia   |
| ISO    | - Organização Internacional de Padronização ou em inglês “International Organization for Standardization”  |
| LD     | - Limite de Detecção   |
| LDL    | - Lipoproteína de Baixa Densidade  |
| LPQPN  | - Laboratório de Pesquisa em Química dos Produtos Naturais -   |
| LQ     | - Limite de Quantificação  |
| MAPA   | - Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento   |
| MM     | - Massa molecular  |
| NAD    | - Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo   |
| NADH   | - Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Reduzida  |
| NIST   | - Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia ou em inglês “National Institute of Standards and Technology” |
| ORAC   | - Capacidade de Absorção de Oxigênio Radical ou em inglês “Oxygen Radical Absorbance Capacity”             |
| P450   | - Pigmento a 450 nm  |
| PA     | - Para Análise ou em inglês “Pro Analysis”   |
| PC     | - Componente Principal ou em inglês “Principal Component”  |
| PCA    | - Análise dos Componentes Principais ou em inglês “Principal component analysis” (PCA)                     |
| PI     | - Padrão Interno   |
| RH     | - Moléculas lipídicas  |
| ROOH   | - Lipídeo hidroperóxido  |
| ROS    | - Substâncias Reativas Oxigenadas ou em inglês “Reactive oxygen substances”                                |
| RT     | - Tempo de retenção  |
| Rz (A) | - Razão de Área  |
| Rz (C) | - Razão de Concentração  |
| Sb     | - Desvio Padrão no Intercepto b ou em inglês “Standard Deviation of Intercept b”                           |

|               |   |
|---------------|---|
| SCF           | - Soma dos Compostos Fenólicos  |
| SET           | - Transferência de um elétron ou em inglês “Single Electron Transfer”                                 |
| SIM           | - Monitoramento Seletivo de Íons  |
| SIM           | - Sistema de Implementação e Verificação Modular  |
| TEAC          | - Capacidade Antioxidante Equivalente ao Trolox ou em inglês “Trolox equivalent antioxidant capacity” |
| Ton.          | - Tonelada  |
| TPTZ          | - 2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina)  |
| TR            | - Tempo de Retenção para o soluto eluir em cromatografia  |
| TRAP          | - Potencial Reativo Antioxidante Total ou em inglês “Total Reactive Antioxidant Potential”            |
| UFAL          | - Universidade Federal de Alagoas   |
| UV-VIS        | - Ultravioleta – Visível  |
| WHO           | - Organização Mundial da Saúde ou em inglês “World Health Organization”                               |
| WWF           | - Fundo Mundial da Natureza ou em inglês “World Wildlife Fund”  |
| $\alpha$ -TOH | - $\alpha$ -tocoferol   |

## LISTA DE SÍMBOLOS

|                            |   |
|----------------------------|---|
| %                          | - Porcentagem   |
| cm                         | - Centímetro  |
| eV                         | - Elétron-volts   |
| g                          | - Grama   |
| g L <sup>-1</sup>          | - Grama por litro   |
| L                          | - Litro   |
| L m <sup>-2</sup>          | - Litros por metro quadrado                                       |
| m/v                        | - Relação massa por volume  |
| m/z                        | - Relação massa-carga ou em inglês “mass-to-charge ratio”         |
| mg 100 mL <sup>-1</sup> aa | - Miligrama por 100 mililitros de álcool anidro                   |
| mg Kg <sup>-1</sup>        | - Miligrama por kilograma   |
| mg L <sup>-1</sup>         | - Miligrama por litro   |
| min.                       | - Minutos   |
| mL                         | - Mililitro   |
| mmol L <sup>-1</sup>       | - Milimol por litro   |
| nm                         | - Nanometro   |
| °C                         | - Graus Celsius   |
| pH                         | - Potencial hidrogeniônico  |
| R <sup>2</sup>             | - Coeficiente de correlação                                       |
| u                          | - Uma ou Dalton (igual a 1/12 da massa de um átomo de carbono-12) |
| v/v                        | - Relação volume por volume                                       |
| λ <sub>máx</sub>           | - Comprimento de onda máximo                                      |
| µg 100 mL <sup>-1</sup> aa | - Micrograma por 100 mililitros de álcool anidro                  |
| µg L <sup>-1</sup>         | - Micrograma por litro  |
| µm                         | - Micrometro  |
| µmol L <sup>-1</sup>       | - Micromol por litro  |

## SUMÁRIO

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1 INTRODUÇÃO</b> .....   | <b>27</b> |
| <b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....                                    | <b>32</b> |
| <b>2.1 Cachaça e Cachaça Envelhecida</b> .....                          | <b>32</b> |
| <b>2.2 Envelhecimento de Cachaça</b> .....                              | <b>32</b> |
| <b>2.3 Características Tecnológicas da Madeira</b> .....                | <b>33</b> |
| <b>2.4 Madeiras Utilizadas no Envelhecimento de Cachaça</b> .....       | <b>38</b> |
| 2.4.1 Cerejeira .....   | 41        |
| 2.4.2 Balsamo .....   | 42        |
| 2.4.3 Carvalho Branco ou White Oak .....                                | 43        |
| 2.4.4 Jaboty .....  | 45        |
| 2.4.5 Peroba-do-campo ou White-peroba.....                              | 46        |
| 2.4.6 Courbaril .....   | 47        |
| 2.4.7 Jequitiba.....  | 48        |
| 2.4.8 Itauba .....  | 49        |
| 2.4.9 Timborana.....  | 50        |
| <b>2.5 Confeção dos Barris</b> .....                                    | <b>51</b> |
| <b>2.6 Compostos Fenólicos</b> .....                                    | <b>58</b> |
| <b>2.7 Origem dos Compostos Fenólicos no Envelhecimento</b> .....       | <b>62</b> |
| <b>2.8 Capacidade Antioxidante e Compostos Fenólicos</b> .....          | <b>68</b> |
| 2.8.1 Fenóis Totais por Foulín-Ciocalteu .....                          | 73        |
| 2.8.2 Capacidade Antioxidante pelo Radical DPPH .....                   | 74        |
| 2.8.3 Capacidade Antioxidante pelo FRAP (Poder de Redução Férrica)..... | 74        |
| <b>2.9 Capacidade Antioxidante de Bebidas Alcoólicas</b> .....          | <b>76</b> |
| <b>2.10 Congêneres da Cachaça</b> .....                                 | <b>78</b> |
| 2.10.1 Ácidos .....   | 80        |
| 2.10.2 Aldeídos.....  | 81        |
| 2.10.3 Ésteres.....   | 83        |
| 2.10.4 Alcoóis Superiores.....  | 85        |
| 2.10.5 Furânicos .....  | 86        |
| <b>2.11 Contaminantes da Cachaça</b> .....                              | <b>88</b> |
| 2.11.1 Metanol .....  | 88        |
| 2.11.2 sec-butanol e <i>n</i> -butanol .....                            | 89        |

|  |            |
|--|------------|
| <b>2.12 Carbamato de Etila .....</b>   | <b>90</b>  |
| <b>3 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>  | <b>95</b>  |
| <b>3.1 Amostras de Cachaça.....</b>  | <b>95</b>  |
| <b>3.2 Reagentes e Padrões.....</b>  | <b>98</b>  |
| <b>3.3 Validação dos Métodos Analíticos .....</b>  | <b>98</b>  |
| <b>3.4 Análises dos Compostos Fenólicos e Furfuraldeído em HPLC .....</b>                                      | <b>100</b> |
| <b>3.5 Análise da Capacidade Antioxidante .....</b>  | <b>103</b> |
| 3.5.1 Fenóis Totais por Foulin Ciocalteu .....   | 104        |
| 3.5.2 Capacidade Antioxidante por Radical DPPH.....  | 104        |
| 3.5.3 Capacidade Antioxidante pelo FRAP (Poder de Redução Férrica).....  | 106        |
| <b>3.6 Análise dos Congêneres e Contaminantes por GC/MS.....</b>   | <b>107</b> |
| <b>3.7 Análise do Carbamato de Etila em GC/MS (SIM).....</b>   | <b>112</b> |
| <b>3.8 Análise Estatística .....</b>   | <b>114</b> |
| <b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>   | <b>116</b> |
| <b>4.1 Compostos Fenólicos, Furfuraldeído e Capacidade Antioxidante.....</b>                                   | <b>116</b> |
| 4.1.1 Ácido Gálico.....  | 120        |
| 4.1.2 Ácido Vanílico .....   | 122        |
| 4.1.3 Vanilina .....   | 123        |
| 4.1.4 Ácido Siríngico .....  | 125        |
| 4.1.5 Siringaldeído.....   | 127        |
| 4.1.6 Cumarina .....   | 128        |
| 4.1.7 Escopoletina .....   | 130        |
| 4.1.8 Soma dos Compostos Fenólicos (SCF).....  | 130        |
| 4.1.9 Furfuraldeído.....   | 131        |
| <b>4.2 Capacidade Antioxidante .....</b>   | <b>135</b> |
| 4.2.1 Fenóis Totais por Foulin Ciocalteu .....   | 135        |
| 4.2.2 Capacidade Antioxidante por Radical DPPH.....  | 138        |
| 4.2.3 Capacidade Antioxidante por FRAP (Poder de Redução Férrica).....   | 144        |
| <b>4.3 Correlação entre Compostos Fenólicos e Capacidade Antioxidante.....</b>                                 | <b>145</b> |
| <b>4.4 Análise Multivariada dos Constituintes Fenólicos, Furfuraldeído e<br/>Capacidade Antioxidante .....</b> | <b>147</b> |
| <b>4.5 Capacidade Antioxidante de Cachaças Envelhecidas e outras Bebidas<br/>Alcoólicas .....</b>              | <b>150</b> |
| <b>4.6 Congêneres e Contaminantes das Cachaças Envelhecidas .....</b>  | <b>153</b> |

|  |            |
|--|------------|
| 4.6.1 Aldeído Acético .....  | 153        |
| 4.6.2 Acetona.....   | 159        |
| 4.6.3 Acetato de etila .....   | 160        |
| 4.6.4 Metanol .....  | 163        |
| 4.6.5 <i>sec</i> -butanol .....  | 164        |
| 4.6.6 <i>n</i> -propanol.....  | 165        |
| 4.6.7 Isobutanol .....   | 166        |
| 4.6.8 <i>n</i> -butanol.....   | 167        |
| 4.6.9 Álcool Isoamílico .....  | 167        |
| 4.6.10 Alcoóis Superiores.....   | 168        |
| <b>4.7 Análise Multivariada dos Congêneres e Contaminantes .....</b>   | <b>170</b> |
| <b>4.8 Carbamato de Etila das Cachaças Envelhecidas.....</b>   | <b>172</b> |
| <b>5 CONCLUSÃO .....</b>   | <b>177</b> |
| <b>5.1 Constituintes Fenólicos, Furfuraldeído e Capacidade Antioxidante .....</b>  | <b>177</b> |
| <b>5.2 Congêneres e Contaminantes .....</b>  | <b>179</b> |
| <b>5.3 Carbamato de Etila.....</b>   | <b>180</b> |
| <b>5.4 Considerações Finais.....</b>   | <b>181</b> |
| <b>REFERÊNCIAS.....</b>  | <b>182</b> |
| <b>APÊNDICES.....</b>  | <b>193</b> |
| <b>Apêndice 1 – Cromatogramas das soluções padrão 1 a 5, contendo os seguintes picos: (1) ácido gálico; (2) furfuraldeído; (3) ácido vanílico, (4) vanilina; (5) ácido siríngico; (6) siringaldeído (7) cumarina; (8) escopoletina.</b>  | <b>193</b> |
| <b>Apêndice 2 – Cromatogramas das soluções padrão 6 a 11, contendo os seguintes picos: (1) ácido gálico; (2) furfuraldeído; (3) ácido vanílico, (4) vanilina; (5) ácido siríngico; (6) siringaldeído (7) cumarina; (8) escopoletina.</b> | <b>193</b> |
| <b>Apêndice 3 – Curva analítica do ácido gálico.....</b>   | <b>194</b> |
| <b>Apêndice 4 – Curva analítica do furfuraldeído. ....</b>   | <b>194</b> |
| <b>Apêndice 5 – Curva analítica do ácido vanílico.....</b>   | <b>195</b> |
| <b>Apêndice 6 – Curva analítica da vanilina. ....</b>  | <b>195</b> |
| <b>Apêndice 7 – Curva analítica do ácido siríngico.....</b>  | <b>196</b> |
| <b>Apêndice 8 – Curva analítica do siringaldeído.....</b>  | <b>196</b> |
| <b>Apêndice 9 – Curva analítica da cumarina.....</b>   | <b>197</b> |
| <b>Apêndice 10 – Curva analítica da escopoletina.....</b>  | <b>197</b> |



|  |     |
|--|-----|
| Apêndice 11 – Cromatograma da cachaça não envelhecida, conteúdo: (2) 2-furfuraldeído. ....   | 198 |
| Apêndice 12 – Cromatograma da cachaça envelhecida por 18 meses em barril de balsamo, conteúdo (1) ácido gálico; (2) furfural; (3) ácido vanílico; (4) vanilina; (5) ácido siríngico; (7) cumarina.....                   | 198 |
| Apêndice 13 – Cromatograma da cachaça envelhecida por 18 meses em barril de jaboty, conteúdo (1) ácido gálico; (2) furfural; (3) ácido vanílico; (4) vanilina; (5) ácido siríngico.....                                  | 199 |
| Apêndice 14 – Cromatograma da cachaça envelhecida por 18 meses em barril de carvalho branco, conteúdo (1) ácido gálico; (2) furfural; (3) ácido vanílico; (4) vanilina; (5) ácido siríngico; (6) siríngaldeído.....      | 199 |
| Apêndice 15 – Cromatograma da cachaça envelhecida por 18 meses em barril de peroba, conteúdo (1) ácido gálico; (2) furfural; (3) ácido vanílico; (4) vanilina; (5) ácido siríngico; (6) siríngaldeído; (7) cumarina..... | 200 |
| Apêndice 16 – Cromatograma da cachaça envelhecida por 18 meses em barril de courbaril, conteúdo (1) ácido gálico; (2) furfural; (3) ácido vanílico; (4) vanilina; (5) ácido siríngico; (7) cumarina.....                 | 200 |
| Apêndice 17 – Cromatograma da cachaça envelhecida por 18 meses em barril de jequitiba, conteúdo (1) ácido gálico; (2) furfural; (3) ácido vanílico; (4) vanilina; (5) ácido siríngico; (7) cumarina.....                 | 201 |
| Apêndice 18 – Cromatograma da cachaça envelhecida por 18 meses em barril de itauba, conteúdo (1) ácido gálico; (2) furfural; (3) ácido vanílico; (4) vanilina; (5) ácido siríngico; (7) cumarina. ....                   | 201 |
| Apêndice 19 – Cromatograma da cachaça envelhecida por 18 meses em barril de timborana, conteúdo (1) ácido gálico; (2) furfural; (3) ácido vanílico; (4) vanilina; (5) ácido siríngico; (7) cumarina.....                 | 202 |
| Apêndice 20 – Cromatograma da cachaça envelhecida por 18 meses em barril de cerejeira, conteúdo (1) ácido gálico; (2) furfural; (3) ácido vanílico; (4) vanilina; (5) ácido siríngico; (7) cumarina.....                 | 202 |
| Apêndice 21 – Curva analítica do padrão ácido gálico (0 a 1000 mg L <sup>-1</sup> ) analisado pelo método de Foulín-Ciocalteu. ....  | 203 |
| Apêndice 22 – Curva analítica do padrão DPPH· (0 a 40 µg mL <sup>-1</sup> ) analisado pelo método do DPPH· .....   | 203 |

|   |     |
|---|-----|
| Apêndice 23 – Curva analítica do padrão sulfato ferroso (0 a 2000 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) analisado pelo método do FRAP. ....  | 204 |
| Apêndice 24 – Espectros de massa do aldeído acético no modo scan.....   | 205 |
| Apêndice 25 – Espectros de massa da acetona no modo scan. ....  | 206 |
| Apêndice 26 – Espectros de massa do acetato de etila no modo scan.....  | 207 |
| Apêndice 27 – Espectros de massa do metanol no modo scan.....   | 208 |
| Apêndice 28 – Espectros de massa do sec-butanol no modo scan.....   | 209 |
| Apêndice 29 – Espectros de massa do <i>n</i> -propanol no modo scan.....  | 210 |
| Apêndice 30 – Espectros de massa do isobutanol no modo scan.....  | 211 |
| Apêndice 31 – Espectros de massa do <i>n</i> -butanol no modo scan. ....  | 212 |
| Apêndice 32 – Espectros de massa do isoamílico no modo scan. ....   | 213 |
| Apêndice 33 – Espectros de massa do pentanol (PI) no modo scan.....   | 214 |
| Apêndice 34 – Cromatogramas das análises em GC/MS dos padrões analíticos nas concentrações de 1 a 3.....  | 215 |
| Apêndice 35 – Cromatogramas das análises em GC/MS dos padrões analíticos nas concentrações de 4 a 7.....  | 215 |
| Apêndice 36 - Curva analítica do aldeído acético em GC/MS. ....   | 216 |
| Apêndice 37 – Curva analítica da acetona em GC/MS.....  | 216 |
| Apêndice 38 – Curva analítica da acetato de etila em GC/MS.....   | 217 |
| Apêndice 39 – Curva analítica do metanol em GC/MS.....  | 217 |
| Apêndice 40 – Curva analítica da <i>n</i> -propanol em GC/MS.....   | 218 |
| Apêndice 41 – Curva analítica da sec-butanol em GC/MS. ....   | 218 |
| Apêndice 42 – Curva analítica da isobutanol em GC/MS. ....  | 219 |
| Apêndice 43 – Curva analítica da <i>n</i> -butanol em GC/MS. ....   | 219 |
| Apêndice 44 – Curva analítica da isoamílico em GC/MS.....   | 220 |
| Apêndice 45 – Cromatograma da cachaça não envelhecida (CNE) contento: aldeído acético, acetona, acetato de etila, etanol, <i>n</i> -propanol, isobutanol, isoamílico, e o <i>n</i> -pentanol (padrão interno).....              | 220 |
| Apêndice 46 – Cromatograma da cachaça envelhecida em jaboty por 18 meses contento: aldeído acético, acetato de etila, metanol, etanol, <i>n</i> -propanol, isobutanol, isoamílico e o <i>n</i> -pentanol ( padrão interno)..... | 221 |
| Apêndice 47 – Cromatograma da cachaça envelhecida em itauba por 18 meses contento: aldeído acético, acetona, acetato de etila, etanol, <i>n</i> -propanol, isobutanol, isoamílico, e o <i>n</i> -pentanol (padrão interno)..... | 221 |

|  |            |
|--|------------|
| Apêndice 48 – Cromatograma da cachaça envelhecida em carvalho por 18 meses conteúdo: aldeído acético, acetato de etila, etanol, <i>n</i> -propanol, isobutanol, isoamílico, e o <i>n</i> -pentanol (padrão interno).....           | 222        |
| Apêndice 49 – Cromatograma da cachaça envelhecida em timborana por 18 meses conteúdo: aldeído acético, acetona, acetato de etila, etanol, <i>n</i> -propanol, isobutanol, isoamílico, e o <i>n</i> -pentanol (padrão interno)..... | 222        |
| Apêndice 50 – Cromatograma da cachaça envelhecida em jequitiba por 18 meses conteúdo: aldeído acético, acetato de etila, etanol, <i>n</i> -propanol, isobutanol, isoamílico, e o <i>n</i> -pentanol (padrão interno).....          | 223        |
| Apêndice 51 – Cromatograma da cachaça envelhecida em balsamo por 18 meses contendo: aldeído acético, acetato de etila, etanol, <i>n</i> -propanol, isobutanol, isoamílico, e o <i>n</i> -pentanol (padrão interno).....            | 223        |
| Apêndice 52 – Cromatograma da cachaça envelhecida em courbaril por 18 meses conteúdo: aldeído acético, acetato de etila, etanol, <i>n</i> -propanol, isobutanol, isoamílico e o <i>n</i> -pentanol (padrão interno).....           | 224        |
| Apêndice 53 – Cromatograma da cachaça envelhecida em cerejeira por 18 meses conteúdo: aldeído acético, acetato de etila, etanol, <i>n</i> -propanol, isobutanol, isoamílico, e o <i>n</i> -pentanol (padrão interno).....          | 224        |
| Apêndice 54 – Cromatograma da cachaça envelhecida em peroba por 18 meses conteúdo: aldeído acético, acetato de etila, etanol, <i>n</i> -propanol, isobutanol, isoamílico, e o <i>n</i> -pentanol (padrão interno).....             | 225        |
| Apêndice 55 – Curva analítica do carbamato de etila em GC/MS.....  | 225        |
| Apêndice 56 – Cromatogramas com o modo íon selecionado ( <i>m/z</i> 62) dos padrões de carbamato de etila em GC/MS nas concentrações: 0, 25, 100, 120, 150, 200, 400, 500, 700 e 1100 µg L <sup>-1</sup> .....                     | 226        |
| <b>ANEXOS .....</b>  | <b>227</b> |
| <b>Anexo 1 – Laudo de identificação das espécies das madeiras utilizadas para confecção dos tonéis de envelhecimento da cachaça.....</b>   | <b>227</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

A cachaça é a terceira bebida alcoólica destilada mais comercializada no mundo, e a primeira no Brasil. No seguimento de bebidas alcoólicas é a segunda bebida mais consumida no Brasil, perdendo apenas para a cerveja (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE BEBIDAS, 2008). Atualmente, no Brasil, são produzidos aproximadamente 1,2 bilhão de litros de cachaça, sendo o Estado de São Paulo o maior produtor, seguido por Ceará, Pernambuco e Minas Gerais. O Brasil exportou 10,49 milhões de litros de cachaça no ano de 2010, que representou mais de 15,95 milhões de dólares. Os grandes países importadores da cachaça em termos de valor no ano de 2010 foram: Alemanha, seguido por Estados Unidos da América, Portugal, França, Paraguai, Bolívia, Espanha, Itália, Países Baixos, Argentina e outros (INSTITUTO BRASILEIRO DA CACHAÇA, 2010).

Alagoas foi o quinto colocado no ranking dos maiores moedores de cana-de-açúcar do País na safra de 2008/2009, moendo 27,3 mil ton. de cana, perdendo para São Paulo (352,2 mil ton.), Paraná (44,4 mil ton.), Minas Gerais (41,8 mil ton.) e Goiás (29,8 mil ton.). A cana-de-açúcar continua sendo a principal cultura do estado, e principal matéria-prima utilizada para a fabricação da cachaça, e Alagoas tem cerca de 432 mil hectares de área plantada (CONAB, 2010). No entanto, ainda tem uma baixa produção de cachaça, limitada a poucos engenhos como: JG (Joaquim Gomes), Produto das Alagoas (Pindoba), Brejo dos Bois (Junqueiro), Gameleira (Cajueiro), Engenho Nunes (Maceió), Gogó da Ema (São Sebastião), Durval Nogueira (Passo do Camaragibe), Renan Goes (Porto Calvo), Antônio Lisboa (Marechal Deodoro), Giovane Albuquerque (Fleixeiros), Renato Coutinho (Campo Alegre) e Marcelo Beltrão (Coruripe). Em dezembro de 2008, os produtores das cachaças JG, Produto das Alagoas, Brejo dos Bois, Gameleira, Engenho Nunes e Gogó da Ema formaram a APROCAL (Associação Alagoana dos Produtores de Cachaça de Alambique e outros derivados da cana-de-açúcar de Alagoas). A APROCAL foi criada para fortalecer e ampliar a produção e comercialização da cachaça de alambique, rapadura, mel de engenho, açúcar mascavo, entre outros (APROCAL, 2010).

A produção de cachaça de boa qualidade tem contribuído para elevar a cachaça ao status que ela realmente merece “a bebida típica do Brasil”, e dividir o prestígio com outras bebidas mais conhecidas como o uísque e o vinho. Para tal,

ressalta-se a importância de estudos da composição da cachaça envelhecida em função da sua qualidade.

A cachaça envelhecida tem maior valor de mercado, chegando a custar no mercado interno cerca de R\$ 599,00 por 700 mL, como a cachaça Sagatiba Preciosa envelhecida em barril de carvalho por mais de 23 anos. No entanto, o preço médio da cachaça envelhecida é de cerca de R\$ 68,00 por 750 mL, valor muito maior do que a cachaça “branquinha”, que custa cerca de R\$ 6,00 por 695 mL.

O envelhecimento da cachaça ocorre após a etapa de destilação, quando a cachaça é envasada em barris de madeira, normalmente carvalho, onde permanece por pelo menos 1 ano. Neste período uma série de compostos são extraídos da madeira dos barris, e várias reações químicas ocorrem na cachaça. Desta forma, a cachaça envelhecida adquire uma cor amarelada, sabor e odor característicos da madeira do barril, que diminuem a agressividade do destilado, que adquire aromas frutados e de baunilha, dentre outros.

Vários estudos tem avaliado o potencial do uso de diferentes madeiras para fabricação dos barris empregados no envelhecimento de cachaça, em detrimento do elevado custo dos barris de carvalho, que são importados dos Estados Unidos da America e da Europa a um custo muito elevado. O custo de um barril usado de 200L varia de R\$ 360,00 a R\$ 700,00. Os barris de carvalho de segunda mão não contém a mesma quantidade de compostos extraídos da madeira, do que um barril novo, além de não se conhecer a sua procedência. Portanto, várias madeiras brasileiras já estão sendo utilizadas para envelhecer a cachaça, dentre as mais utilizadas estão: amendoin (*Pterogyne nitens*), cerejeira (*Amburana cearensis*), cedro (*Cedrela fissilis*), jatoba (*Hymenaea carbouril*), ipê (*Tabebuia sp*), freijó (*Cordia goeldiana*), garapa (*Apuleia leiocarpa*), balsamo (*Myroxylon peruiferum*), vinhático amarelo (*Plathymenia foliosa*) e jequitiba (*Cariniana legalis*), dentre outras (MORI, *et al.*, 2003).

O envelhecimento de bebidas destiladas em barris de carvalho está bem definido, e várias reações químicas ocorrem: entre os compostos do destilado e compostos da extração direta da madeira, entre os compostos do destilado e os produtos de degradação da queima da madeira dos barris e entre os próprios compostos do destilado. Na extração direta da madeira são incorporados à bebida: compostos fenólicos simples, polifenóis (elagitaninos) que são hidrolizáveis e formam ácido gálico e elágico, ácidos graxos, e outros extrativos (lactonas, alcoóis,

hidrocarbonetos, norisoprenóides e substâncias inorgânicas). As reações mais conhecidas são as que ocorrem entre os derivados da degradação estrutural das macromoléculas (lignina, hemicelulose e celulose) pelo aquecimento, durante o processo de queima dos barris. Dentre as principais reações, ocorre a etanolise da lignina, na qual são formados compostos fenólicos (aldeídos aromáticos como siringaldeído e vanilina) e seus respectivos ácidos (ácido siríngico e ácido vanílico). A degradação da hemicelulose resulta, inicialmente, na formação de hexoses e pentoses, que são susceptíveis à degradação térmica formando compostos furânicos (furfural e hidroximetil furfural). As principais reações entre os próprios compostos do destilado ocorre através da oxidação do etanol à aldeído acético (produto intermediário) e, posteriormente, à ácido acético, que forma o acetato de etila, através da reação com o etanol. Essas reações entre os próprios compostos do destilado podem alterar o teor de congêneres (aldeído acético, acetato de etila, ácido acético, etc.) durante o envelhecimento (MOSEDALE e PUECH, 1998).

Portanto, os compostos que estão claramente associados às alterações sensoriais durante o envelhecimento são: compostos fenólicos e furânicos (aldeídos fenólicos aromáticos como siringaldeído e vanilina), ácidos fenólicos (ácido vanílico e ácido siríngico), derivados do tanino (ácido gálico e ácido elágico), cumarinas (cumarina e escopoletina), aldeídos furânicos (furfural, 5-metilfurfural e 5-hidroximetil furfural), aldeídos (aldeído acético); congêneres como os ácidos (ácido acético), ésteres (acetato de etila) e alcoóis (etanol e alcoóis superiores). Muitos dos compostos que são incorporados ou formados no destilado, proporcionam cor, sabor e odor característicos à bebida envelhecida, e também, podem incorporar outras propriedades à bebida, como a capacidade antioxidante, característica de alguns compostos fenólicos. Os compostos fenólicos ou polifenóis são formados por uma estrutura química que contém um anel aromático ligado a um grupamento hidroxila. Constituem uma classe de produtos do metabolismo secundário das plantas, portanto, estão presentes na natureza, e encontram-se disponíveis nos frutos, vegetais, sementes, flores e cascas.

A capacidade antioxidante é uma propriedade importante dos compostos fenólicos contra o estresse oxidativo na defesa de sistemas vivos. É traduzida como a habilidade de capturar radicais que, em profusão, podem induzir danos oxidativos em biomoléculas que causam aterosclerose, envelhecimento, câncer e muitas outras

doenças (VALKO et al., 2006; OLIVEIRA, VALENTIM e GOULART, 2009; VASCONCELOS et al., 2007). São encontrados compostos fenólicos com propriedades antioxidantes em diversas bebidas alcoólicas como, principalmente, no vinho, uísque e cerveja.

Os compostos fenólicos podem ser incorporados à cachaça durante o envelhecimento em barris de madeira, incorporando compostos fenólicos e capacidade antioxidante à cachaça. No entanto, existem aspectos toxicológicos, associados aos compostos fenólicos e outras substâncias que são extraídas durante o envelhecimento da cachaça, que devem ser avaliados, inclusive por força da legislação vigente no país e pelas recomendações do *Codex Alimentarius* (BRASIL, 2005). Além, das substâncias incorporadas ou produzidas durante o processo de envelhecimento, os níveis de outros compostos como os congêneres, contaminantes e carbamato de etila encontrados na cachaça destilada devem ser acompanhados durante o processo de envelhecimento para garantir a qualidade do produto final. As substâncias que devem ser analisadas quanto aos aspectos toxicológicos durante o envelhecimento da cachaça são: cumarina, furânicos (furfural e hidroximetilfurfural), alcoóis superiores, aldeídos (aldeído acético), ésteres (acetato de etila) e contaminates (metanol, *sec*-butanol e *n*-butanol) e carbamato de etila.

Até agora, não foram correlacionados os compostos fenólicos e a capacidade antioxidante durante o efetivo envelhecimento de cachaças em barris confeccionados com diferentes tipos de madeiras, visto que a maioria dos trabalhos analisou extratos de serragem de madeiras. Os estudos anteriores avaliaram separadamente o teor de compostos fenólicos e a capacidade antioxidante, e na maioria das vezes utilizaram extratos de serragem de madeira simulando o envelhecimento da cachaça (CARDOSO et al. 2008; SILVA et al., 2009; SOUZA et al., 2007). Não foram estudadas possíveis alterações dos congêneres, contaminantes, e carbamato de etila durante o envelhecimento da cachaça em barris de diferentes madeiras.

O objetivo geral deste trabalho foi indicar as madeiras mais apropriadas para o envelhecimento de cachaça em barris, considerando o teor de compostos fenólicos, capacidade antioxidante, congêneres, contaminates e carbamato de etila na cachaça envelhecida.

O objetivo específico deste trabalho foi determinar quais alterações dos compostos fenólicos, capacidade antioxidante, congêneres, contaminates e

carbamato de etila que ocorrem durante o processo de envelhecimento em barris de diferentes madeiras. Foram avaliadas cachaças envelhecidas em barris de 20 litros confeccionados com diferentes madeiras, carvalho branco (*Quercus* sp.), e oito diferentes madeiras brasileiras: courbaril (*Hymenaea* sp.), peroba-do-campo (*Paratecoma peroba*), balsamo (*Myroxylon balsamum*), jequitiba (*Cariniana* sp.), cerejeira (*Amburana cearensis*), timborana (*Piptadenia* sp.), jaboty (*Erismia uncinatum*) e itauba (*Mezilaurus itauba*).

A determinação dos compostos fenólicos (ácido gálico, ácido vanílico, vanilina, ácido sirínico, siringaldeído, cumarina e escopoletina) e furfuraldeído, empregou a cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector ultravioleta (HPLC/UV). A capacidade antioxidante foi avaliada, através de três métodos indiretos: inibição do radical DPPH· (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), método de redução do ferro (FRAP) e teor de fenóis totais pelo método de Foulin-Ciocalteu (FC). Os compostos fenólicos, furfuraldeído e capacidade antioxidante foram analisados em amostras das cachaças coletadas nos 0, 1, 3, 6, 9, 12 e 18 meses de envelhecimento. Além disso, foi comparada a capacidade antioxidante das cachaças envelhecidas com a capacidade antioxidante de outras bebidas alcoólicas comerciais como vinho tinto, vinho branco e uísques.

A determinação dos congêneres (aldeído acético, acetona, furfuraldeído, acetato de etila, *n*-propanol, isobutanol, e isoamílico) e contaminantes (metanol, *sec*-butanol e *n*-butanol) foi feita por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC/MS). Os congêneres e contaminantes foram analisados em amostras das cachaças coletadas nos 0, 1, 3, 6, 9, 12 e 18 meses do envelhecimento.

A determinação do carbamato de etila também empregou a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC/MS) com monitoramento seletivo de íons (SIM). O carbamato de etila foi analisado nas amostras das cachaças coletadas nos 0, 6, 9, e 18 meses do envelhecimento.



## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Cachaça e Cachaça Envelhecida**

Cachaça é a denominação típica e exclusiva da aguardente de cana produzida no Brasil, com graduação alcoólica de 38% a 48% (v/v) a 20°C, obtida pela destilação do mosto fermentado do caldo de cana-de-açúcar com características sensoriais peculiares, podendo ser adicionada de açúcares até 6 g L<sup>-1</sup> (expressos em sacarose) (BRASIL, 2005).

A produção de cachaça envelhecida pode ser dividida em quatro etapas principais: obtenção do mosto, fermentação, destilação e envelhecimento ou maturação (FARIA, 2003).

No Brasil, existem três classes de cachaça envelhecida: cachaça envelhecida, cachaça premium e cachaça extra premium. A cachaça envelhecida é a cachaça que contém, no mínimo, 50% (v/v) de cachaça envelhecida em recipiente de madeira apropriado, com capacidade máxima de 700 litros, por um período não inferior a 1 ano. A cachaça premium é a cachaça que contém 100% (v/v) de cachaça envelhecida por no mínimo 1 ano, e a cachaça extra premium é a cachaça envelhecida por no mínimo 3 anos (BRASIL, 2005).

### **2.2 Envelhecimento de Cachaça**

Por melhores que sejam realizadas as três primeiras etapas do processo produtivo de fabricação da cachaça, o destilado recém-obtido apresentará sabor seco, ardente e um aroma não muito agradável. Dessa forma, o envelhecimento se torna fundamental para que a cachaça adquira as características desejadas, que são: cor, aroma e sabores típicos dos destilados de alta qualidade (ODELLO et al., 2009; DIAS, MAIA e NELSON, 1998). O processo de envelhecimento é caracterizado por alterações na cor e flavor da bebida maturada e um declínio do volume e conteúdo alcoólico (MOSEDALE e PUECH, 1998).

Durante o envelhecimento ocorrem inúmeras alterações no sabor, aroma e cor da cachaça, que são causadas por:

- A) Extração direta de compostos da madeira;

- B) Decomposição das macromoléculas (celulose, hemicelulose e lignina) e sua incorporação no destilado (extrativos por decomposição – hidrólise, pirólise e oxi-redução);
- C) Reações entre os componentes da madeira e os constituintes originais da bebida não envelhecida;
- D) Reações envolvendo apenas extratos da madeira;
- E) Reações envolvendo apenas compostos do destilado;
- F) Evaporação dos compostos voláteis (MOSEDALE e PUECH, 1998).

Os efeitos e o tempo requeridos para o envelhecimento são altamente variáveis e são influenciados por uma grande variedade de fatores, particularmente do tonel usado. O tempo varia de acordo com as características do destilado, características de manufatura do barril ou tonel (espécie da madeira, origem geográfica da madeira, método de colheita da madeira, método de corte e secagem das aduelas (ripas de madeiras encurvadas), método de construção do barril, tamanho e formato do barril e tostagem do barril), e as características (temperatura e umidade) do ambiente em que a bebida foi envelhecida. Para melhor entendimento deste processo tem aumentado o interesse em métodos de predição, controle e simulação dos efeitos do envelhecimento (MOSEDALE e PUECH, 1998).

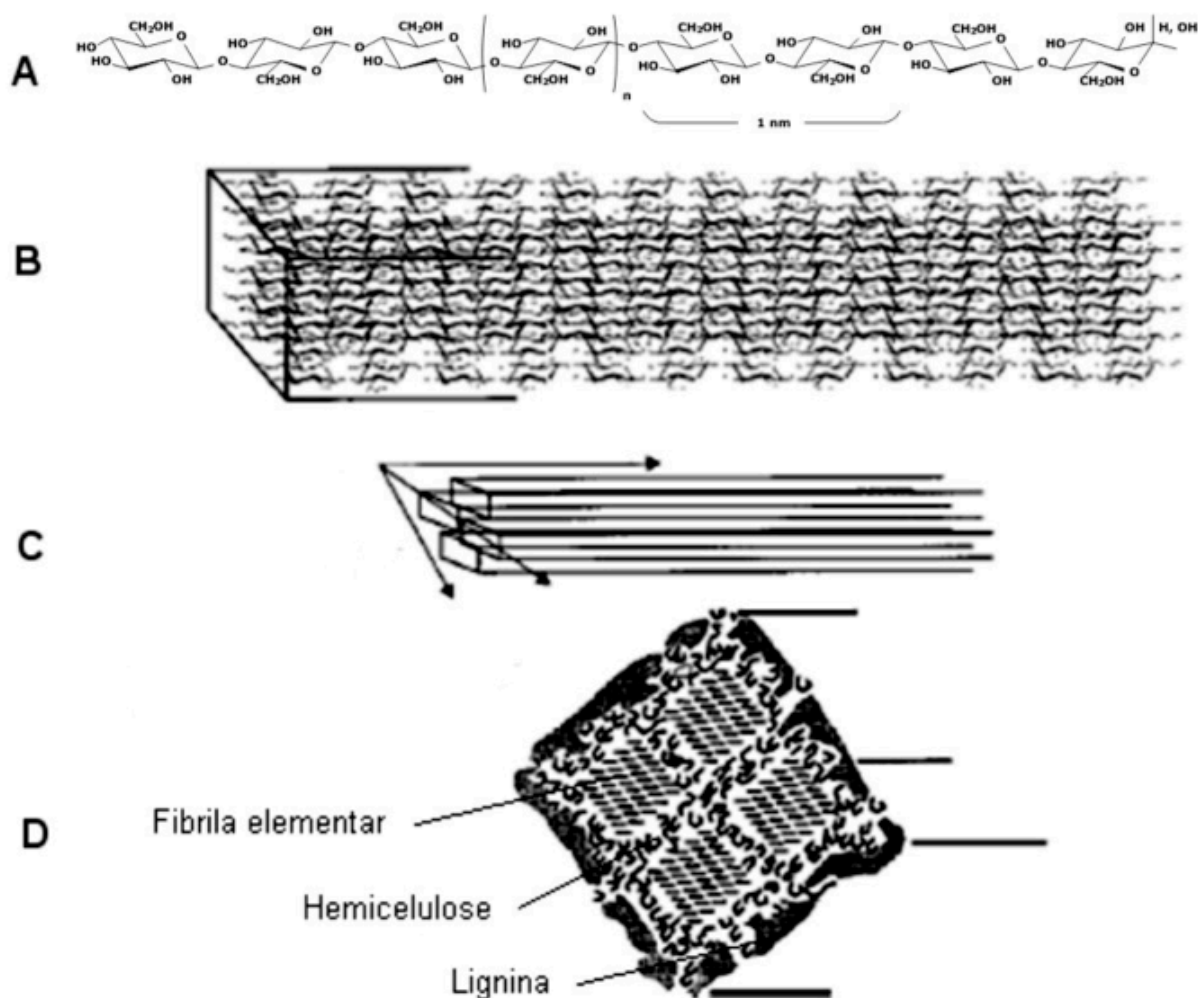
### **2.3 Características Tecnológicas da Madeira**

Algumas características tecnológicas são importantes na escolha das madeiras utilizadas para o envelhecimento, tais como: composição química (celulose, hemicelulose, lignina, extrativos e cinzas), características estruturais e anatomia da madeira, densidade, retratibilidade, cor e aroma (MORI et al., 2003).

Em termos de composição química, a parede celular vegetal da madeira é constituída principalmente por celulose, hemicelulose e lignina, ilustrados esquematicamente na Figura 1. Várias moléculas de glicose unem-se através de ligações glicosídicas do tipo  $\beta$  (1 $\rightarrow$ 4) formando cadeias lineares (Figura 1A), que interagem umas com as outras através de ligações de hidrogênio. A estrutura resultante, denominada fibrila elementar, é insolúvel em água e apresenta alto grau de cristalinidade, conforme mostra a Figura 1B. Quatro fibrilas elementares são então agrupadas (Figura 1C) por uma monocamada de hemicelulose, sendo

posteriormente circundadas em uma matriz de hemicelulose e lignina associadas entre si por meio de interações físicas e ligações covalentes. O composto natural resultante desta íntima associação é denominado microfibrila celulósica (Figura 1D) (CARVALHO et al., 2009).

**Figura 1** – Representação esquemática das associações químicas que ocorrem na parede celular da madeira: ligações entre moléculas de glucose (A) e interações entre as cadeias lineares adjacentes para a formação da fibrila elementar (B); associação entre quatro fibrilas elementares adjacentes (C), circundadas em uma matriz de hemicelulose e lignina para a formação da microfibrila celulósica (D) .

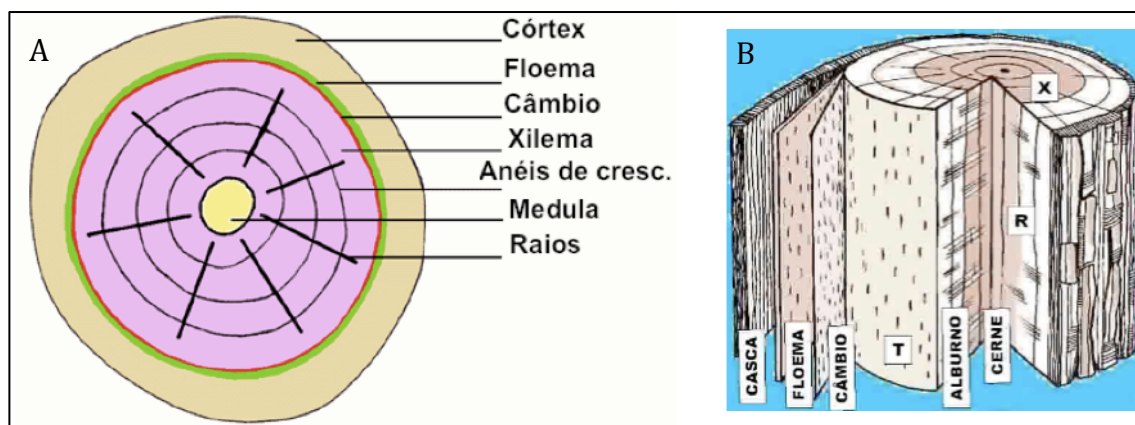


Fonte:(CARVALHO et al., 2009).

A composição química da madeira é uma característica tecnológica importante na escolha da madeira, pois está intimamente relacionada ao *flavour* final da bebida envelhecida, oriundo dos processos de extração e subsequente transformação dos seus constituintes (MOSEDALE e PUECH, 1998).

As características estruturais e anatômicas da madeira referem-se a um produto da fisiologia vegetal, tem uma estrutura complexa, composta a partir da estrutura celular da planta que lhe deu origem. O tronco da madeira é composto pelas seguintes partes bem diferenciadas: raios, medula, anéis de crescimento, xilema, câmbio, floema e córtex, conforme Figura 2A. Um corte transversal de um tronco, mostrando o cerne (X - no centro), o alburno (R - parte mais clara) e a medula (ponto escuro no centro. As pequenas linhas radiais são nós (Figura 2B).

**Figura 2** – Representação esquemática da estrutura de um tronco de madeira.



Fonte: (COSTA, 2001).

O córtex é a parte externa ou casca, na estrutura dos caules e raízes das plantas dicotiledôneas. O câmbio é uma região invisível a olho nu, constituída por uma faixa de células meristemáticas secundárias que são responsáveis pela formação das chamadas células mãe do xilema (lenho) e do floema (casca). O tecido meristemático está apto a gerar novos elementos celulares, constituído por uma camada de células situadas entre o xilema e o floema, permanecendo ativo durante toda a vida do vegetal. O floema ou líber, localizado entre a zona cambial e a casca, é responsável pelo transporte da seiva elaborada. A seiva elaborada ou orgânica é produzida nas folhas durante a fotossíntese e é composta por água e açúcares. Após um certo tempo, as células mais externas do floema morrem e passam a fazer parte da casca. O xilema ou lenho é a camada central da árvore, situada abaixo do câmbio, e possui a função de distribuir a seiva bruta ou inorgânica (água e sais minerais). O xilema - palavra proveniente do grego *xylon* (madeira) - é o que constitui a madeira propriamente dita. O xilema divide-se em duas regiões distintas: o alburno (sapwood) e o cerne (heartwood) (Figura 4). O alburno é

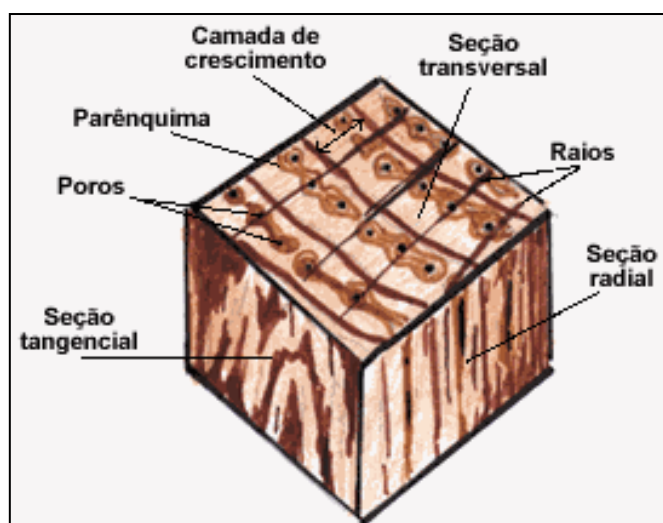
constituído por células vivas que conduzem a seiva bruta em movimento ascendente. Possui baixa resistência ao ataque de fungos e insetos. Em geral possui coloração mais clara que o cerne. O cerne é a camada mais interna do alburno que perdeu a atividade fisiológica. Na grande maioria das madeiras esta região apresenta coloração mais escura e elementos anatômicos fechados devido à deposição de corantes naturais, denominados de óleo-resina; em outras espécies ocorre a formação de tiloses nos vasos, obstruindo total ou parcialmente o lúmen dos mesmos e propiciando uma permeabilidade muito baixa. Sua função para a planta é apenas de sustentação do tronco. A medula é a parte central do caule, região inicial de crescimento de uma árvore (tecido primário ou meristemático). Sua função é a de armazenar substância nutritiva para a planta, durante a fase inicial de crescimento (SJÖSTRÖM, 1993).

Na árvore, as estruturas da madeira desempenham três funções: condução (suprimento da planta em seiva), reserva (estocagem) e sustentação, conforme mostra a Figura 3.

- a) **Condução:** Poros ou vasos estão presentes apenas nas árvores porosas (hardwood), são células de grande diâmetro, com extremidades abertas, justapostas, tem a função de circulação da seiva (quando situadas no alburno) e substituem as células longitudinais que são fechadas nas extremidades. Nas coníferas (softwood) as células longitudinais são abertas nas extremidades, servindo para conduzir a seiva; não existem, então, os vasos. Algumas coníferas apresentam canais, ovalados, onde são armazenadas as resinas. Raios medulares são formados por grupos de células dirigidos do centro do tronco (medula) para a periferia, responsáveis pelo transporte e condução da seiva na direção transversal ao eixo da árvore e exercem uma espécie de amarração neste sentido. Os raios medulares são pontos de falhas que proporcionam o surgimento de fendas durante a secagem da madeira.
- b) **Armazenar:** Parênquima constitui uma verdadeira impressão digital da madeira, apresentando uma coloração mais clara do que a parte fibrosa do lenho. O parênquima é um tecido pouco resistente, formado por grupos de células espalhadas na massa lenhosa, e cuja função consiste em armazenar e distribuir nutrientes; nas coníferas se reduz ao tecido celular que reveste os canais resiníferos.

c)Sustentação: Fibras longitudinais são os principais elementos resistentes da madeira, formadas por células ocas, alongadas, com diâmetro de 10 a 80 micra e comprimento de 1 a 8 mm. A espessura das paredes das células varia de 2 a 7 micrômetros. Elas são distribuídas em anéis, correspondentes aos ciclos anuais de crescimento. Muitas das propriedades físicas e mecânicas do caule dependem da morfologia destas células (COSTA, 2001).

**Figura 3** – Representação esquemática da estrutura do lenho.



Fonte: (COSTA, 2001).

As características anatômicas (número de vasos (poros) /  $\text{mm}^2$  no plano transversal e presença de obstrução de vasos por tiloses) estão relacionadas à permeabilidade e interação da bebida com a madeira. A pouca quantidade de poros ou vasos indica uma madeira menos permeável, e portanto, mais interessante para o armazenamento de cachaça, uma vez que permite uma maior interação da bebida com os constituintes químicos da madeira, e menores perdas do destilado ao longo do processo. A presença de tiloses na estrutura dos vasos condutores indica a obstrução destes por tecido parenquimático, e conseqüentemente pouca permeabilidade da madeira a bebida (MORI et al., 2003).

A grã, na anatomia da plantas lenhosas, refere-se ao tamanho médio, regularidade e alinhamento, dos anéis de crescimento e orientação das fibras em um pedaço de madeira. Quando o crescimento do lenho é lento o grã será apertado e o tamanho dos anéis pequenos. Quanto maior a grã do carvalho, maior é a sua porosidade e aeração (oxidação), e a bebida envelhecida apresenta mais compostos

extrativos e elagitaninos e menor teor de eugenol e lactonas (VIVAS, 1995).

A densidade da madeira é a quantidade de material lenhoso seco num determinado volume verde. Madeiras com densidade média favorecem a manufatura dos barris (FOELKEL, 1971).

A retratibilidade indica a movimentação da madeira com a entrada e saída de água e sua estabilidade dimensional, quanto maior a retratibilidade maior será sua estabilidade dimensional. A madeira possui uma facilidade muito grande de perder e absorver água desta forma seu tamanho, também, varia facilmente devido entrada e saída de água entre as moléculas de celulose da parede celular. Desta forma, madeiras que apresentam abundância de células de parede espessas possuirão instabilidade dimensional com maior frequência. Podemos calcular a variação das dimensões da madeira quando postas para a secagem (OLIVEIRA e SILVA, 2003).

Outras características da madeira também são importantes para as tonoarias como a cor e aroma. A cor da madeira é originada por substâncias corantes depositadas no interior das células do material lenhoso, e impregnadas na parede celular. Entre estas substâncias estão resinas, gomas, goma-resinas, derivados tânicos e corantes (MORESCHI, 2009).

#### **2.4 Madeiras Utilizadas no Envelhecimento de Cachaça**

A madeira mais utilizada para o envelhecimento de bebidas e de cachaça é o carvalho (*Quercus* sp.). Em decorrência das dificuldades de aquisição e escassez do carvalho no Brasil, tem-se substituído essa madeira por outras de origem nacional na confecção de barris, para o armazenamento da cachaça (BOZA e OETTERER, 1999). No Brasil madeiras de diferentes espécies botânicas tem sido utilizadas para o envelhecimento da cachaça, tais como: amendoim (*Pterogyne nitens*), cerejeira (*Amburana cearensis*), cedro (*Cedrela fissilis*), jatoba (*Hymenaea carbouril*), ipê (*Tabebuia* sp.), freijó (*Cordia goeldiana*), garapa (*Apuleia leiocarpa*), balsamo (*Myroxylon peruiferum*), vinhático amarelo (*Plathymentia foliosa*) e jequitiba (*Cariniana legalis*), porém, predomina no Brasil a utilização de barris de carvalho (*Quercus* sp.). Cada madeira oferece permeabilidade e aromas diferentes no processo de envelhecimento (MORI et al., 2003).

Independente da madeira escolhida é importante e necessário, que se adquiram barris confeccionados com madeira certificada. Desta forma, garante-se o

uso de madeira legalmente fornecida por empresas que manejam suas florestas de forma sustentável. Vários sistemas de certificação florestal estão disponíveis, atualmente, no Brasil: Sistema de Certificação Florestal Brasileiro (CERFLOR) do INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial), o Sistema do FSC – Forest Stewardship Ship Council (Conselho de Manejo Florestal), e Sistema de Implementação e Verificação Modular (SIM) da WWF-Brasil (“World Wildlife Fund” ou Fundo Mundial da Natureza) (ZENID, 2009).

Uma revisão de literatura foi feita sobre as seguintes madeiras escolhidas para este estudo: cerejeira (*Amburana cearensis*), balsamo (*Myroxylon balsamum*), carvalho branco ou white oak (*Quercus alba*), jaboty (*Erismia uncinatum*), peroba-do-campo ou white peroba (*Paratecoma peroba*), courbaril (*Hymenaea* sp.), jequitiba (*Cariniana* sp.), itauba (*Mezilaurus itauba*) e timborana (*Piptadenia* sp.). Os nomes das madeiras utilizados neste trabalho são nomes internacionais (sem acento), usados de acordo com a norma BS EN 13556:2003 da Instituição Britânica de Padrões (THE BRITISH STANDARDS INSTITUTION, 2003).

Em estudo anterior, foram determinados a composição química, densidade, retratibilidade e características anatômicas de algumas das madeiras utilizadas neste estudo, como: cerejeira (*Amburana Cearensis*), balsamo (*Miroxylon* sp.), courbaril (*Hymenae* sp.), peroba-do-campo (*Sweetia elegans*), jequitiba-rosa (*Cariniana ligalis*) e carvalho (*Quercus* sp.), conforme mostram as Tabelas 1 e 2 (MORI et al., 2003).

**Tabela 1** – Características físicas e químicas do carvalho e das espécies de madeiras nativas do Brasil.

| Madeiras                   | Holocelulose (%) | Lignina (%) | Extrativos (%) | Cinzas (%) | Densidade básica (g cm <sup>-3</sup> ) | Retratibilidade Volumétrica (%) |
|----------------------------|------------------|-------------|----------------|------------|--|---------------------------------|
| Carvalho                   | 65,22            | 25,9        | 10,47          | 0,52       | 0,626                                  | 11,27                           |
| Cerejeira                  | 59,13            | 27,37       | 17,91          | 0,59       | 0,557                                  | 5,33                            |
| Balsamo (Óleo de bálsamo)  | 63,61            | 26,15       | 10,55          | 0,51       | 0,815                                  | 9,54                            |
| Courbaril (jatoba)         | 59,78            | 28,7        | 13,32          | 0,48       | 0,879                                  | 10,15                           |
| Peroba-do-campo            | 58,29            | 31,3        | 10,39          | 0,05       | 0,643                                  | 11,53                           |
| Jequitiba (jequitiba rosa) | 64,97            | 28,43       | 9,46           | 1,00       | 0,572                                  | 8,91                            |

Fonte: MORI et. al. Utilização de eucaliptos e de madeiras nativas no armazenamento da aguardente de cana-de-açúcar. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 23, n. 3, Dec. 2003.



**Tabela 2** – Classificação do carvalho e das espécies de madeiras nativas do Brasil.

| <b>Madeiras</b>            | <b>Número de vasos/mm<sup>2</sup></b> | <b>Classificação</b> | <b>Presença de tiloses</b> |
|----------------------------|---------------------------------------|----------------------|----------------------------|
| Carvalho                   | 6,7                                   | pouco numerosos      | sim                        |
| Cerejeira                  | 2,8                                   | pouco numerosos      | não                        |
| Balsamo (Óleo de bálsamo)  | 35,0                                  | muito numerosos      | não                        |
| Courbaril (jatoba)         | 16,0                                  | numerosos            | sim                        |
| Peroba-do-campo            | 35,8                                  | muito numerosos      | sim                        |
| Jequitiba (jequitiba rosa) | 11,0                                  | numerosos            | sim                        |

Fonte: MORI et. al. Utilização de eucaliptos e de madeiras nativas no armazenamento da aguardente de cana-de-açúcar. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 23, n. 3, Dec. 2003.

Conforme mostra a Tabela 1, Mori et. al. (2003) observaram que o carvalho apresentou composição química (holocelulose = celulose e hemicelulose, lignina e extrativos) semelhantes ao courbaril e jequitiba. A lignina, um polímero constituído de unidades fenilpropano, é uma macromolécula de grande importância para a qualidade da bebida. Os compostos derivados da degradação da lignina são a vanilina, o siringaldeído, coniferaldeído e *p*-hidroxibenzaldeído, responsáveis pelo aroma e sabor característicos das bebidas alcoólicas envelhecidas. A madeira peroba-do-campo apresentou o maior percentual de lignina, seguida por courbaril, jequitiba, cerejeira, balsamo e carvalho. As madeiras cerejeira e courbaril apresentaram maior teor de extrativos do que o carvalho e as demais madeiras. Portanto, espera-se encontrar maior teor de compostos fenólicos em cachaças envelhecidas em madeiras com maior teor de extrativos. A quantidade de cinzas informa os constituintes inorgânicos da madeira, tais como: Ca, Mg, Si, Fe, dentre outros. A madeira jequitiba apresentou grande quantidade de cinzas (cerca de 1%), que pode influenciar acentuadamente a qualidade da aguardente envelhecida. A madeira courbaril e balsamo apresentaram maior densidade do que peroba-do-campo e carvalho, seguidas por cerejeira e jequitiba. As madeiras com densidade média, como o carvalho e peroba-do-campo, favorecem melhores condições de se trabalhar a madeira para a fabricação dos barris. Já as madeiras balsamo e courbaril apresentaram maior densidade e, portanto, são madeiras mais “duras” e difíceis de trabalhar. As madeiras que apresentaram maior retratibilidade foram peroba-do-campo, carvalho, courbaril, balsamo e jequitiba. A madeira cerejeira apresentou muito baixa retratibilidade sugerindo uma baixa estabilidade dimensional no envase. Conforme a Tabela 2, outro parâmetro relativo a permeabilidade da madeira é o número de vasos (poros) por mm<sup>2</sup> observadas no plano transversal da madeira. Quanto maior o número de vasos, maior a permeabilidade da madeira. Portanto, a

cerejeira e o carvalho apresentaram pouca quantidade de poros, indicando serem madeiras menos permeáveis, e portanto, mais interessantes para o armazenamento de aguardente, uma vez que permitem uma menor interação da bebida com os constituintes químicos das madeiras, e menores perdas do destilado ao longo do processo. O courbaril e jequitiba apresentaram permeabilidade intermediárias, já o balsamo e peroba-do-campo apresentaram alta permeabilidade e maior interação com a bebida e perda por evaporação. O carvalho apresentou tiloses na estrutura de seus vasos condutores, indicando a obstrução destes por tecido parenquimático, o que faz com que a madeira apresente pouca permeabilidade a líquidos. As madeiras nativas courbaril, peroba-do-campo e jequitiba apresentaram tiloses na estrutura de seus vasos condutores, enquanto as demais não apresentaram tiloses. A madeira de balsamo apresentou cheiro e gosto mais relevantes, sendo que todas as outras madeiras foram consideradas normais. Em relação a cor, somente a madeira courbaril apresentou tonalidade de cor bastante acentuada. Portanto, todas as características tecnológicas de cada uma das diferentes madeiras dos barris contribuem, de forma relevante, para determinar às alterações químicas e sensoriais típicas proporcionadas às cachaças envelhecidas. As características tecnológicas das madeiras são informações importantes, e contribuem para a escolha das madeiras mais adequadas para confecção dos barris (MORI et al., 2003).

#### 2.4.1 Cerejeira

A cerejeira (*Amburana cearensis* A.C. Smith (sin. *Torresea cearensis* Fr. All)), tem outros nomes populares: amburana, amburana-de-cheiro, cerejeira-rajada, cumaré, cumaru-de-cheiro, emburana, imburana, imburanda-de-cheiro, louro-ingá, umburana. Apresenta, também, vários nomes internacionais, que são: amburana, cerejeira (ATIBIT, 1982), roble, soriocco, trebol. A sua ocorrência se dá no Brasil, nos seguintes estados: Acre, Amazonas, Bahia, Ceará, Espírito Santo, Góias, Mato Grosso, Minas Gerais, Pará, Pernambuco e Rondônia, bem como em outros países como a Argentina. A cerejeira apresenta cerne e alburno distintos pela cor, cerne castanho-amarelado-claro, às vezes com estrias mais escuras; cheiro característico e agradável; gosto adocicado e densidade média (Figura 4). A madeira de cerejeira é considerada não durável, com baixa resistência ao ataque de fungos, sendo moderadamente permeável, de fácil desdobro, aplainamento, torneamento,

desenrolamento e colagem. A secagem é classificada como fácil (INSTITUTO DE PESQUISAS TECNOLÓGICAS, 2011).

**Figura 4** – Cerejeira: (A) face tangencial, (B) face radial e (C) fotomicrografia 10x.



Fonte: IPT.

Na medicina popular, as cascas do caule são tradicionalmente utilizadas na preparação de "lambedôs" (lambedores) caseiros para tratamento de doenças respiratórias, como gripe, resfriado, bronquite e asma. Industrialmente, a forma farmacêutica disponível é o xarope de cumaru, produzido pelo Programa Farmácias Vivas, Farmácia-Escola da Universidade Federal do Ceará e por algumas empresas privadas. Ensaio farmacológico pré-clínicos demonstraram atividades antiinflamatória, broncodilatadora e analgésica para o extrato hidroalcoólico, tendo sido possível ainda atribuir os efeitos observados à cumarina e à fração flavonoídica (LEAL et al., 2000). A análise do extrato etanólico da casca do tronco da *Amburana cearensis* permitiu o isolamento e identificação de doze componentes: cumarina, sacarose, dois ácidos fenólicos (ácido vanílico e ácido protocatecuico), cinco flavonóides (afrosmosina, isokaempferide, o kaempferol, quercetina, 4'-metoxifisetina), um glicosídeo de fenol (amburoside A) e uma mistura de B-sitosterol glicosilada e estigmasterol (CANUTO e SILVEIRA, 2006).

#### 2.4.2 Balsamo

O balsamo (*Myroxylon balsamum* (L.) Harms. (sinônimo *M. toluiferum*), *Leguminosae*) tem outros nomes populares no Brasil, tais como: balsamo de tolú, cabreúva, cabriúva, cabriúva-vermelha, óleo-balsa, óleo-de-bálsamo, óleo-pardo, óleo-vermelho, pau-de-bálsamo, quina-quina, sangue-de-gato. O balsamo tem outros nomes internacionais, tais como: cedro chino, chirraca, estoraque (Peru), incienso, nabal (México), palo de bálsamo, quina (Argentina), sândalo (Costa Rica), tache e tolú (Colômbia). Os estados brasileiros onde se dá sua ocorrência são:

Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraná, Rondônia e São Paulo. Também é encontrado na América Central, Argentina, Colômbia, Equador, México, Paraguai, Peru e Venezuela. O balsamo apresenta as seguintes características sensoriais: cerne e alburno distintos pela cor, cerne castanho-avermelhado; cheiro perceptível agradável e gosto levemente adstringente; densidade alta; dura ao corte; grã reversa; textura média; superfície irregularmente lustrosa, conforme Figura 5. Madeira de alta resistência a fungos apodrecedores. Apresenta resistência a fungos e insetos xilófagos. O balsamo é difícil de ser trabalhado, mas apresenta bom acabamento (INSTITUTO DE PESQUISAS TECNOLÓGICAS, 2011).

Do balsamo são extraídos ácidos benzóicos e cinâmicos, tanto na forma livre, de 12 a 20% (m/m), como na forma de ésteres, de 7 a 10% (m/m). Ainda há uma pequena porção de cinamato de benzilo. A fração resinosa é composta por hidrocarbonetos mono e sesquiterpênicos, e derivados fenólicos (eugenol, vaniloina e nerolidol). Tem atividade farmacológica antiséptica e expectorante (GIMENEZ, 2003).

*Myroxylon balsamum* (Leguminosae-Lotoideae) contém uma série de flavonóides biogeneticamente relacionados, incluindo o ( $\pm$ ) -7-hidroxi-4'-metoxiisoflavanona, ( $\pm$ )-7,3'-dihidroxi-4'-metoxiisoflavanona e 2-(2',4'-dihidroxifenil)-5,6-dimetoxibenzofurano (OLIVEIRA et al., 1978).

**Figura 5** – Balsamo: (A) face tangencial, (B) face radial e (C) fotomicrografia 10x.



Fonte: IPT.

#### 2.4.3 Carvalho Branco ou White Oak

O carvalho branco (*Quercus Alba* L.) também é conhecido como carvalho americano, ocorre no leste dos Estados Unidos da América nos seguintes estados: Texas, Oklahoma, Kansas, Nebraska, Iowa, Minnesota, Michigan, Wisconsin, Illinois, Missouri, Tennessee, Arkansas, Louisiana, Mississippi, Alabama, Geórgia, Florida,

Carolina do Sul, Carolina do Norte, Kentucky, Indiana, Ohio, Pensulvania, New York, Vermont, New Hampshire, Maine, Massachusetts, Connecticut, New Jersey, Delaware, Maryland, Virginia e West Virginia. Também ocorre no Canadá nos estados de Ontario e Quebec (UNITED STATES DEPARTAMENT OF AGRICULTURE, 2011).

O carvalho branco apresenta as seguintes características: o cerne é castanho claro, algumas placas podem ter um tom rosado ou um tom ligeiramente acinzentado. O alborno é branco ao creme, e a madeira é muito dura, com acabamento mais escuro do que o carvalho vermelho. Ele tem uma luz de cor amarela, um grã direito altamente alinhado, e uma densidade média, conforme Figura 6 ( INSTITUTO DE PESQUISAS TECNOLÓGICAS, 2011).

**Figura 6** – Carvalho branco: (A) face tangencial, (B) face radial e (C) fotomicrografia 10x.



Fonte: IPT.

O carvalho é utilizado, há séculos, para armazenamento de bebidas, principalmente, devido à sua característica de estanqueidade, proporcionado por uma extensa tilose. Tem sido usado para a produção de vinho, incluindo sherryes e destilados como: uísques, bourbon e scotch. Os principais mercados fornecedores de carvalho são Estados Unidos da América e França. (WATERHOUSE e TOWEY, 1994).

O carvalho branco (*Quercus alba* L.) e os carvalhos europeus (*Quercus robur* L. e *Q. petraea*) foram as espécies escolhidas para o envelhecimento. Os carvalhos europeus são, em sua maioria provenientes da França, embora fornecedores do Leste Europeu e Rússia estão aumentando a sua disponibilidade (MOSEDALE e PUECH, 1998).

Diversos estudos têm sido feitos para avaliar o potencial do carvalho para a tanoaria, concentrando-se nas suas propriedades físicas e mecânicas, bem como em sua composição química. carvalhos brancos normalmente contêm de 45 a 50%

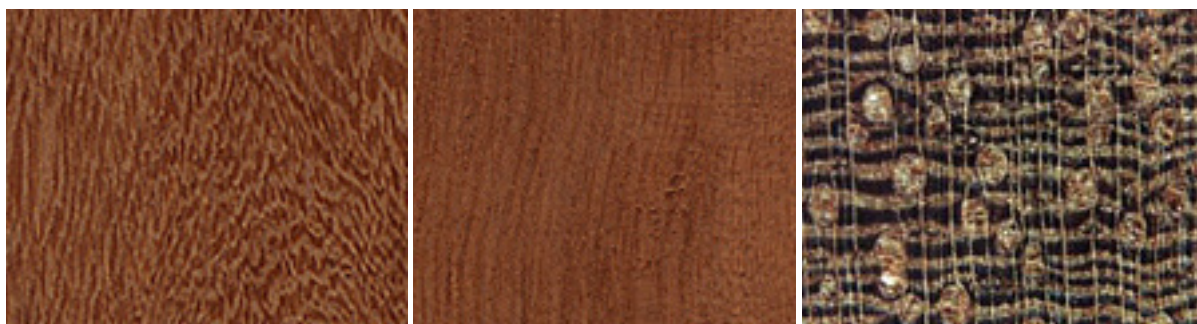
(m/m) de celulose, hemicelulose de 22 a 25% (m/m), ligninas de 23 a 32% (m/m) e de 30 a 10% (m/m) extratíveis, composto por ácidos, carboidratos, e diversos compostos fenólicos (SINGLETON, 1974).

Foram identificados ácidos fenólicos e aldeídos em extrato etanólico de lascas de carvalho branco (MILLER et al., 1992). O carvalho americano é mais poroso do que os europeus, mas a presença de tiloses o torna mais duro e pouco permeável. O carvalho americano tem potencial aromático maior do que o carvalho europeu, devido ao seu alto conteúdo de isômeros cis/trans metil-octalactonas e baixas quantidades de polifenóis extraídos (CHATONNET e DUBOURDEU, 1998).

#### 2.4.4 Jaboty

O jaboty (*Erisma uncinatum* Warm, *Vochysiaceae*) tem outros nomes populares, tais como: cedrinho, bruteiro, cachimbo-de-jabuti, cambará, cambará-rosa, cedrilho, jaboti, jaboti-da-terra-firme, quaruba-vermelha, quarubarana, quarubatinga, verga-de-jabuti. Além de outros nomes internacionais, como: jaboty (ATIBIT, 1982) e kwanié (Guiana). O jaboty ocorre no Brasil (Acre, Amapá, Amazonas, Mato Grosso, Pará e Rondônia) e em outros países (Guiana, Guiana Francesa, Suriname e Venezuela). O jaboty apresenta o cerne e alburno distintos pela cor, cerne castanho avermelhado; sem brilho; cheiro e gosto imperceptíveis; densidade baixa; grã direita a revessa; textura média a grossa, conforme mostra Figura 7. O jaboty apresenta baixa durabilidade ao ataque de organismos xilófagos (fungos e insetos). O cerne e o alburno são moderadamente fáceis de trabalhar e preservar em processos sob pressão. O jaboty é fácil de aplainar, serrar e lixar, mas apresenta superfície de acabamento ruim (felpuda) (INSTITUTO DE PESQUISAS TECNOLÓGICAS, 2011).

**Figura 7** – Jaboty: (A) face tangencial, (B) face radial e (C) fotomicrografia 10x.



Fonte: IPT.

#### 2.4.5 Peroba-do-campo ou White-peroba

A Peroba-do-campo (*Paratecoma peroba* (Record & Mell) Kuhl., *Bignoniaceae*) também tem outros nomes populares, como: ipê-claro, ipê-peroba, ipê-rajado, peroba-branca e perobinha. Além, de outros nomes internacionais, como: peroba-de-campos e white peroba (ATIBIT, 1982).

A peroba-do-campo ocorre nos seguintes estados brasileiros: Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais e Rio de Janeiro. O cerne da peroba-do-campo varia de amarelo-acastanhado ou amarelado ao pardo-acastanhado, às vezes apresentando veios mais escuros; cheiro e gosto imperceptíveis; densidade média; grã direita a ondulada; textura média, conforme Figura 8 (INSTITUTO DE PESQUISAS TECNOLÓGICAS, 2011).

**Figura 8** – Peroba: (A) face tangencial, (B) face radial e (C) fotomicrografia 10x.



Fonte: IPT.

Em observações práticas, é considerada de durabilidade satisfatória quando em condições favoráveis ao apodrecimento. Apresenta baixa permeabilidade às soluções preservativas, mesmo quando submetida à impregnação sob pressão, devido à obstrução dos vasos. A madeira de peroba-do-campo pelas suas

características é considerada de trabalhabilidade fácil (INSTITUTO DE PESQUISAS TECNOLÓGICAS, 2011)

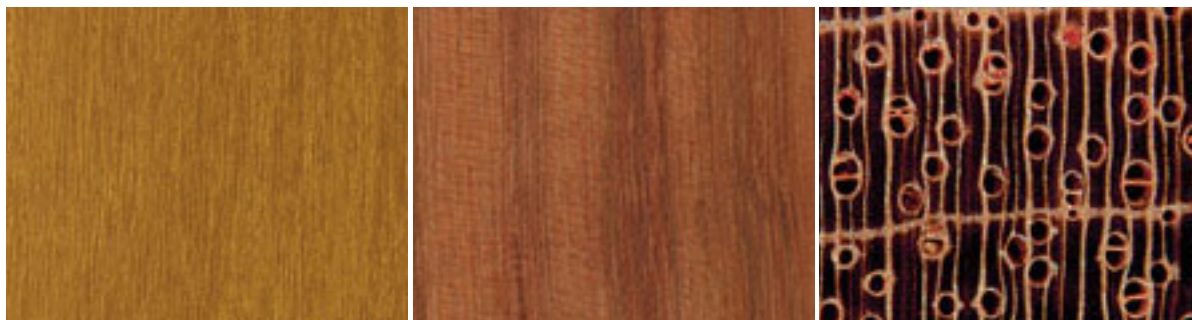
#### 2.4.6 Courbaril

O courbaril pertence ao gênero *Hymenaea*, que contém várias espécies (*Hymenaea courbaril* L., *Hymenaea intermedia* Ducke, *Hymenaea oblongifolia* Huber, *Hymenaea parvifolia* Huber, *Hymenaea stilbocarpa* Hayne), é encontrado em quase todas as matas nativas do Brasil. A espécie *Hymenaea stilbocarpa* Hayne, ocorre desde o estado do Piauí até o Paraná, e a espécie *Hymenaea courbaril* L. é mais comum na Amazônia. Como essas madeiras são semelhantes quanto à densidade de massa e caracteres anatômicos, no comércio têm, praticamente, o mesmo valor. Assim nesta ficha essas madeiras do gênero *Hymenaea* são tratadas em conjunto, sendo mencionada a espécie, quando pertinente. O courbaril tem outros nomes populares, tais como: copal, jataí, jataíba, jatobá-curuba, jatobazinho, jutaí, jutaí-açu, jutaí-do-igapó, jutaí-grande, jutaí-mirim, jutaí-vermelho e quebra machado. Internacionalmente são conhecidos como: algarrobo (Colômbia e Venezuela), courbaril (ATIBT,1982) (Cuba, Guiana, Guiana Francesa, Peru e Inglaterra), loksi, lokus (Suriname) e rode locus. No Brasil são encontrados nas seguintes regiões: Amazônia, Mata Atlântica, Acre, Amapá, Amazonas, Bahia, Espírito Santo, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Pará, Paraná, Rio Grande do Sul, Rondônia e São Paulo. Em outros países localizados na América Central e do Sul ocorrem na: Argentina, Bolívia, Colômbia, Guiana, Guiana Francesa, Paraguai, Peru e Suriname. O courbaril apresenta o cerne e alburno distintos pela cor, cerne variando do castanho-amarelado ao castanho-avermelhado, alburno branco-amarelado; cheiro e gosto imperceptíveis; densidade alta; dura ao corte; grã regular a irregular; textura média; e superfície pouco lustrosa, conforme Figura 9. A espécie *Hymenaea courbaril* L. é considerada altamente resistente aos térmitas e fungos de podridão branca e parda. O courbaril tem cerne, quando submetido à impregnação sob pressão, impermeável às soluções preservativas. O courbaril é moderadamente fácil de trabalhar, pode ser aplainado, colado, parafusado e pregado sem problemas. Apresenta resistência para tornear e faquear (dobrar). O acabamento é bom. A madeira seca ao ar apresenta poucas deformações e, quando a secagem é muito rápida, observa-se a presença de



rachaduras e empenamentos. A secagem ao ar deve ser realizada em local protegido da luz solar direta, com boa ventilação, para evitar rachaduras radiais (INSTITUTO DE PESQUISAS TECNOLÓGICAS, 2011).

**Figura 9** – Courbaril: (A) face tangencial, (B) face radial e (C) fotomicrografia 10x.



Fonte: IPT.

#### 2.4.7 Jequitiba

O jequitiba (*Cariniana* sp.), da família das lecitidáceas, compreendem espécies com tronco de grandes dimensões, tanto em comprimento como em perímetro. As duas espécies mais conhecidas de jequitiba são jequitiba-rosa (*Cariniana legalis*) e o jequitiba-branco ou somente jequitiba (*Cariniana estrellensis*), aos quais ainda se pode acrescentar o jequitiba-vermelho (*Cariniana rubra*), o jequitiba-cravinho (*Cariniana parvifolia*), jequitiba-cravinho (*Cariniana ianeirensis*), e o apenas jequitiba (*Couratari pyramidata*). Os nomes populares são: jequitiba, jequitiba-branco, jequitiba-rosa, jequitiba-vermelho, estopeira (RS, SC, PR), estopeiro, pau-estopa, pau-de-cachimbo (SC), jequitiba-rei, estopa, cachimbeiro, bingueiro, mussambê, coatinga, coatingua, bingá-de-macaco e pito-de-macaco. São árvores nativas da Mata Atlântica brasileira, existentes apenas na região sudeste e em alguns estados vizinhos. Suas folhas apresentam tom avermelhado na primavera e suas flores são claras ou vermelhas. Em tupi-guarani significa gigante da floresta, o que é compreensível, figuram na relação das maiores árvores do Brasil, tal como os courbaryl, sapucaias e angelins. Na floresta, árvore adulta desta espécie é emergente, isto é, pode ser vista bem acima das demais. Registros atuais anotam jequitibas com 60 metros de altura (equivalente a um prédio de 20 andares). O jequitiba-rosa de 3.000 anos, chamado por alguns de Patriarca da Floresta, mede 49 metros de altura e tem uma circunferência de 16 metros, ou seja, são necessárias

10 pessoas de mãos dadas para dar a volta em seu tronco. Essas árvores estão presentes no Espírito Santo, Rio de Janeiro, Minas Gerais, São Paulo e Mato Grosso do Sul, tanto na floresta pluvial atlântica, como na semidecídua de altitude e da bacia do Paraná. O jequitiba apresenta baixa densidade, é macia ao corte, grã direta, textura média, de baixa resistência ao ataque de organismo xilófagos quando exposta a condições adversas (INSTITUTO DE PESQUISAS TECNOLÓGICAS, 2011).

#### 2.4.8 Itauba

A itauba (*Mezilaurus itauba* (Meisn.) Taub. ex Mez., *Lauraceae*.) tem outros nomes populares, tais como: itaúba-abacate, itaúba-amarela, itaúba-grande, itaúba-preta, itaúba-verdadeira, itaúba-vermelha, louro-itaúba. Ainda é conhecida por nomes internacionais como: itauba (THE BRITISH STANDARDS INSTITUTION, 2003), itaùba (ATIBIT, 1982).

A sua ocorrência no Brasil se dá nos seguintes estados: Amazônia, Acre, Amapá, Amazonas, Mato Grosso, Pará e Rondônia, além, de outros países, como: Guiana, Guiana Francesa e Suriname. A madeira itauba apresenta cerne amarelo-esverdeado, quando recém serrado, tornando-se castanho-esverdeado-escuro; cheiro agradável, levemente adocicado, e gosto imperceptível; densidade alta; grã ondulada ou revessa; textura média; e superfície irregularmente lustrosa; e apresenta raios visíveis apenas sob lente topo e na face tangencial, finos e muito poucos conforme Figura 10. Os vasos são visíveis apenas sob lente, pequenos a médios; poucos; porosidade difusa; solitários, múltiplos e em cadeias radiais; obstruídos por tilos. Os anéis de crescimento são indistintas, ou eventualmente delimitadas por zonas fibrosas tangenciais mais escuras. A madeira de itauba é considerada de alta resistência ao ataque de organismos xilófagos (fungos apodrecedores, cupins e xilófagos marinhos). Apresenta baixa permeabilidade às soluções preservantes. A madeira itauba é moderadamente difícil de ser trabalhada, tanto com ferramenta manuais como com máquina, devido à presença de sílica; porém permite bom acabamento. A secagem ao ar é lenta e difícil, porém sem causar alta incidência de defeitos. A secagem artificial é reportada como lenta, com ocorrência acentuada de rachaduras e moderada de empenamentos (INSTITUTO DE PESQUISAS TECNOLÓGICAS, 2011)

**Figura 10** – Itauba: (A) face tangencial, (B) face radial e (C) fotomicrografia 10x.



Fonte: IPT.

#### 2.4.9 Timborana

A timborana pertence ao Gênero (*Piptadenia* sp.) que contém várias espécies (*Pseudopiptadenia psilostachya* (DC.) G. P. Lewis & M. P. Lima, e *Piptadenia suaveolens* Miq., *Leguminosae*). A timborana tem outros nomes populares, como: angico, angico-vermelho, fava-de-folha-miúda, faveira-folha-fina, paricá-grande-da-terra-firme e timbaúba. Sua ocorrência no Brasil se dá nos seguintes estados: Amapá, Amazonas e Pará. A madeira timborana tem cerne e alborno pouco distintos pela cor, cerne castanho a castanho-avermelhado; cheiro e gosto imperceptíveis, densidade alta; grã reversa; textura média. Os raios são visíveis apenas sob lente, no topo e na face tangencial. Os vasos são visíveis a olho nu no topo e na face tangencial; porosidade difusa, pequenos, solitários e múltiplos; obstruídos por óleo-resina, conforme Figura 11 (INSTITUTO DE PESQUISAS TECNOLÓGICAS, 2011).

**Figura 11** – Timborana: (A) face tangencial, (B) face radial e (C) fotomicrografia 10x.



Fonte: IPT.

As camadas de crescimento são pouco distintas, de demarcadas por zonas

fibrosas e pelas finas linhas de parênquima marginal. A madeira de timborana é resistente ao ataque de fungos e insetos, apresenta serragem e aplainamento difíceis, porém no torneamento e laminação apresentam bons resultados. A secagem é muito rápida em estufa apresetando rachaduras fortes, moderada tendência a encanoamento e torcimento (INSTITUTO DE PESQUISAS TECNOLÓGICAS, 2011).

## 2.5 Confeção dos Barris

Os barris de madeira produzidos por tanoarias (*tonnelleries* – Francês, *cooperage* – Inglês) existem a séculos. Tanoaria, a arte de fazer barris, é uma habilidade antiga. Com os avanços em todas as facetas da cultura, é surpreendente saber que o real processo de fabricação de um barril mudou muito pouco. Para atingir os mais altos padrões de qualidade, o trabalho ainda deve ser realizado pelas mãos hábeis de um tanoeiro (*Cooper* – Inglês). Os barris são utilizados para envelhecer, vinho, pisco (aguardente de uva, produzidas no Peru e no Chile), uísque, conhaque (*brandy* em inglês, é produto decorrente da destilação de vinho), rum, cachaça, dentre outros (CROWL e CROWL, 2011).

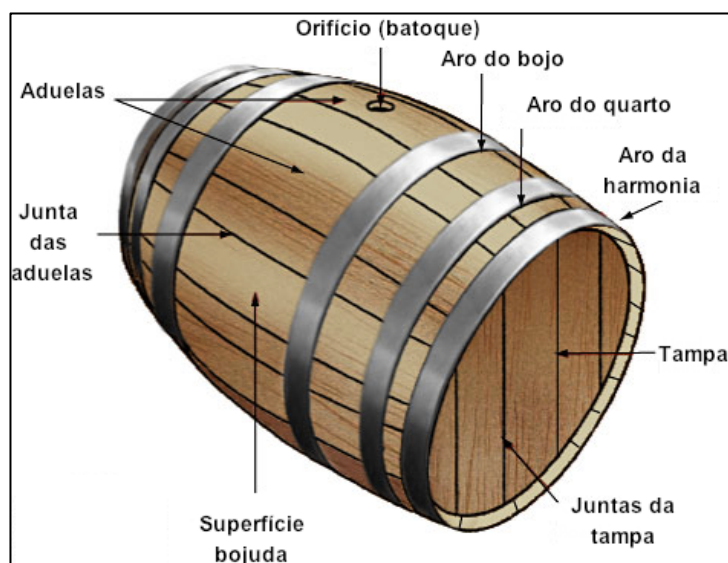
Existe uma grande faixa de capacidade dos barris, conforme Tabela 3. No entanto, os mais comuns são: barrique (Bordelaise, Bordeaux 225 litros), barril típico de uísque Bourbon (Estados Unidos, 190 litros), barrique (Bourgogne, Borgonha 228 litros), pipa/tonel de 300 litros, Botte (Itália 422,6 litros) e butt (Sherry/Jerez 490 litros). O barril mais tradicional é a barrica (*barrique*) (Bordelaise, Bordeaux 225 litros), composta por aduelas e duas tampas de madeira que são presas por 6 aros metálicos (2 aros do bojo, 2 aros do quarto e 2 aros da harmonia), conforme mostra a Figura 12 (THEMETER.NET, 2011).

**Tabela 3** – Classificação dos barris quanto ao: nome, faixa de capacidade, país de origem e região de origem.

| <b>Nome</b>              | <b>Volume em litros</b> | <b>País</b>   | <b>Região</b>      |
|--------------------------|-------------------------|---------------|--------------------|
| Kleinfass                | 30-75                   | Alemanha      | Mosel              |
| Kleinfass                | 30-75                   | Alemanha      | Rhein              |
| Quartant Beaujolais      | 56                      | França        | Beaujolais         |
| Quartant Bordelais       | 56                      | França        | Bordeaux           |
| Quartant de Bourgogne    | 57                      | França        | Bourgogne, ¼ pièce |
| 1/8 Bota                 | 61,4                    | Espanha       | Jerez              |
| Fuder                    | 100                     | Alemanha      | Mosel              |
| Feuillette Beaujolaise   | 108                     | França        | Beaujolais         |
| Demi-barrique Bordelaise | 112                     | França        | Bordeaux           |
| Aume                     | 114                     | França        | Elzas              |
| Feuillette de Bourgogne  | 114                     | França        | Bourgogne, ½ pièce |
| Pipa                     | 127,2                   | Portugal      | Port               |
| Feuillette de Chablis    | 132                     | França        | Chablis, Bougogne  |
| Pièce de Chablis         | 132                     | França        | Chablis, Bougogne  |
| Gönci                    | 136                     | Hungria       | Tokaij             |
| Ohm                      | 150                     | Alemanha      | Rhein              |
| Ohm                      | 160                     | Alemanha      | Mosel              |
| Szerednyi                | 200-220                 | Hungria       | Tokaj              |
| Kassai                   | 200-220                 | Hungria       | Tokaij             |
| Pièce Champenoise        | 205                     | França        | Champagne          |
| Pipa                     | 209                     | Portugal      | Madeira            |
| Pièce Mâconnaise         | 215                     | França        | Mâcon              |
| Pièce Beaujolaise        | 216                     | França        | Beaujolais         |
| Pièce de Loire           | 220                     | França        | Loire              |
| Barricas                 | 225-228                 | Espanha       |                    |
| Barrique Bordelaise      | 225                     | França        | Bordeaux           |
| Pièce de Vouvray         | 225                     | França        | Loire              |
| Pièce 52u Rhône          | 225                     | França        | Rhône              |
| Pièce Bourguignonne      | 228                     | França        | Bourgogne          |
| Szerednyi                | 228                     | Hungria       | Tokaj              |
| ½ Bota                   | 245,7                   | Espanha       | Jerez              |
| Pipa                     | 259                     | Portugal      | Port               |
| Barrique d'Armagnac      | 276,2                   | França        | Armagnac           |
| Barriques                | 295,3                   | Austrália     | ---                |
| Barriques                | 295,3                   | África do Sul | ---                |
| Viertel stück            | 300                     | Alemanha      | Rhein              |
| Pipas                    | 300                     | Espanha       | ---                |
| Pipa                     | 418                     | Portugal      | Madeira            |
| Botte                    | 422,6                   | Italia        | Marsala            |
| Queue de Bourgogne       | 456                     | França        | Bourgogne          |
| Zulast                   | 480                     | Alemanha      | Mosel              |
| Botas                    | 490,7                   | Espanha       | Jerez              |
| Butts                    | 490,7                   | Espanha       | Jerez              |
| Halbfuder                | 500                     | Alemanha      | Mosel              |
| Tonneau Francaise        | 500                     | França        | França             |
| Pipa                     | 522,5                   | Portugal      | Port               |
| Barrique de Cognac       | 542,2                   | França        | Cognac             |
| Half stück               | 600                     | Alemanha      | Rhein              |
| Puncheon                 | 605                     | America       | California         |
| Demi-muid                | 700                     | França        | Midi               |
| Tonneau Bordelais        | 900                     | França        | Bordeaux           |
| Foudre                   | 1000                    | França        | Elzas              |
| Stückfass                | 1200                    | Alemanha      | Rhein              |
| Doppel stück             | 2400                    | Alemanha      | Rhein              |

Fonte: (THEMETER.NET, 1999).

**Figura 12** – O Barril (Bordelaise, Bordeaux) mais utilizado atualmente.



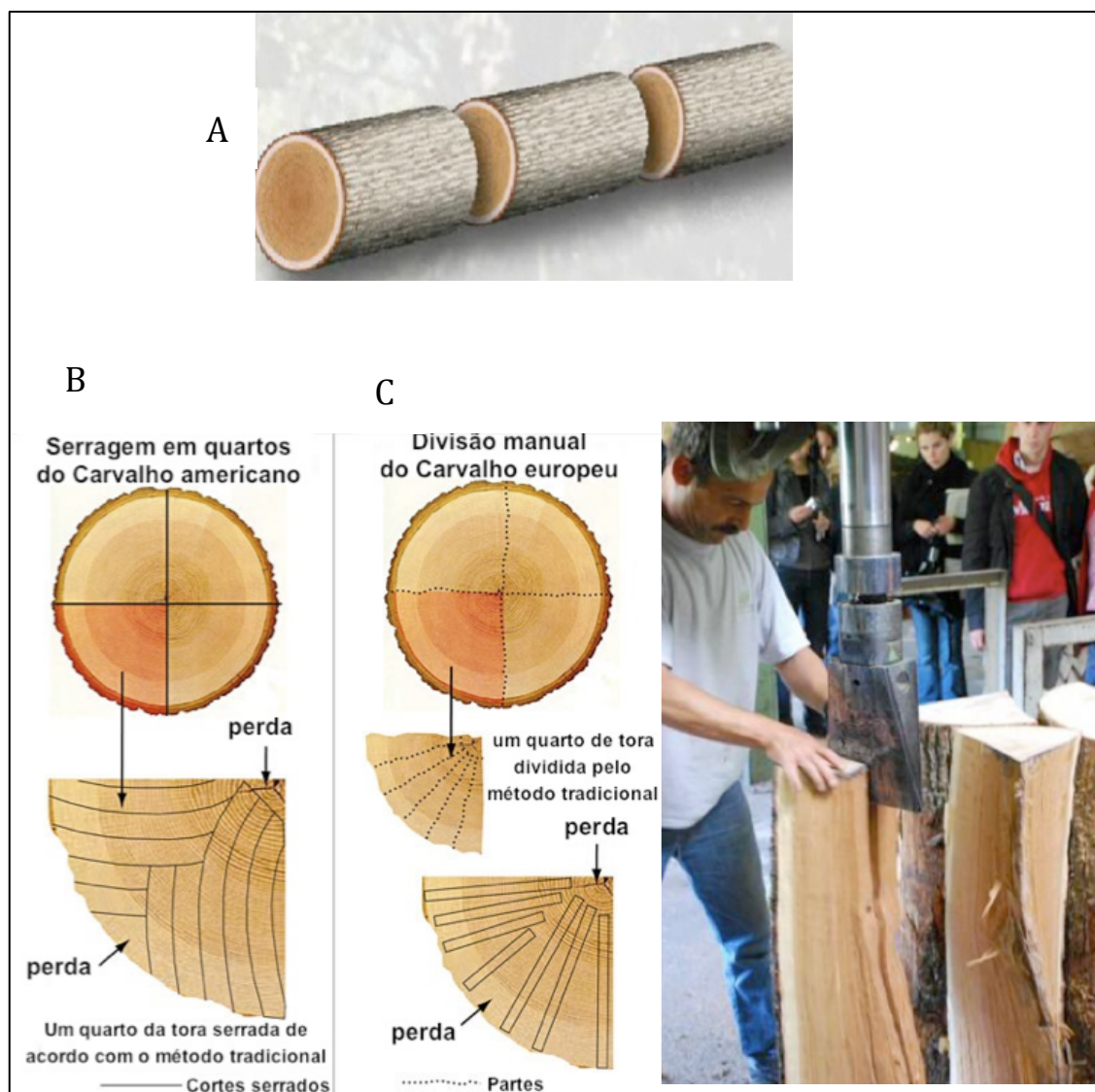
Fonte: Kentucky Barrels LLC (USA)\*.

Cada barril é feito, preferencialmente, com madeira de uma única árvore, garantindo assim maior uniformidade. As toras de madeira são cortadas no comprimento desejado conforme a Figura 13A, e divididas em quartos. Os tanoeiros americanos utilizam o método de serragem em quartos sem seguir a grã, devido a grande presença de tilose na madeira, o que garante uma boa estanqueidade do barril, conforme mostra a Figura 13B. A utilização do método tradicional dos tanoeiros europeus implica na divisão manual das toras do carvalho para fabricar as aduelas ao longo da grã, conforme Figura 13C. Inicialmente, a fim de facilitar a sua montagem em um corpo arredondado, as aduelas são retiradas formando superfícies côncavas (interior) e convexas (exterior). Do ponto de vista econômico, os barris de carvalho Francês custam o dobro, ou mais, do que o preço dos barris de carvalho americano. A diferença ocorre em parte, devido à maiores perdas envolvidas no método utilizado pela tanoaria de carvalho Francês, por causa de sua estrutura mais irregular e porosidade da grã superior da madeira. O tratamento das aduelas durante sua confecção nas tanoarias ocorre em duas principais etapas: secagem e termotratamento. A secagem é uma etapa de desidratação da madeira recém abatida (65% a 75% umidade), que objetiva reduzir sua umidade para 12% a 18%, retraindo seu volume, afim de tornar os barris em condições de estancar a

\* Figura 12 extraída de: Kentucky Barrels LLC (USA). **The making of barrels**. Disponível em: <http://www.kentuckybarrels.com/barrels.html> Acesso em: 31 jan. 2011.

bebida a ser armazenada. A secagem pode ser feita em estufa, ou naturalmente ao ar livre (MOSEDALE e PUECH, 1998; GÓMEZ-PLAZA et al., 2004).

**Figura 13** – Ilustração do: corte de uma tora de carvalho (A), divisão das toras em quartos para obtenção das aduelas na tanoaria americana (B) e européia (C).



Fonte: Chaiken Vineyards (Brasil)<sup>†</sup>.

A secagem em estufa pode transmitir flavours desagradáveis, no entanto é mais rápida. A secagem ao ar livre é mais longa (mais do que 36 meses), e provoca várias mudanças na madeira que sofre degradação de polímeros induzida pela

<sup>†</sup>Figura 13 extraída de: Chaiken Vineyards. **Wine Barrel Wood Alternatives**. Disponível em: <http://www.chaikenvineyards.com/> Acesso em: 31 jan. 2011.

exposição à luz, combinada com reações de oxidação, lixiviação de extrativos fenólicos (hidrólise de taninos) pelas chuvas, além da produção de várias substâncias durante a secagem como resultado da degradação da madeira por microrganismos Figura 14A. O produto da lixiviação é visível no chão como um resíduo cinza e negro, uma vez que as aduelas são removidas. Contudo, qualquer destes produtos da madeira oriundos da secagem ao ar livre, estão normalmente localizados nas camadas mais externas que devem ser removidas antes da confecção dos barris. Depois de passar por este processo de secagem natural as aduelas são serradas e aplainadas para uniformizar suas dimensões antes do início da montagem dos barris Figura 14B (MOSEDALE e PUECH, 1998).

**Figura 14** – Aduelas de carvalho branco secas e empilhadas sob estrados após secagem (A) e aduelas serradas em tamanho uniforme (B).



Fonte: Oscar Augusto Risch<sup>‡</sup>.

O processo de termotratamento é constituído pelas etapas de “cintragem” (palavra de origem francesa que significa enrolamento e compressão) e queima. A “cintragem” inicia-se com a pré-cintragem, quando é feita uma intensa umidificação com água na parte externa das aduelas, conforme Figura 15A, em seguida eleva-se rapidamente a temperatura a 100 °C na parte interna para que as aduelas se

---

<sup>‡</sup> Figura 14 fornecida por: Oscar Augusto Risch. **Tanoaria: Como os Barris de Carvalho são produzidos.** Disponível em: <http://mauoscar.com/2010/10/27/tanoaria-como-os-barris-de-carvalho-sao-produzidos/> Acesso em: 10 jan. 2011.



curvem, Figura 15B. Posteriormente, inicia-se o processo de cintragem, que ocorre à temperatura média de 200 °C, no qual as aduelas são presas por cintas metálicas através de molinete ou máquina de flexão, Figura 15C. A última etapa do termotratamento (grau de aquecimento ou *grau de chauffe* - em francês) é feita através da queima dos barris, permitindo o desenvolvimento de flavours agradáveis na bebida armazenada, e dando forma definitiva aos barris, Figura 15D. Existem 3 categorias de queima (e suas variações): fraca de 120 a 130 °C / 30 minutos; média de 160 a 170 °C / 35 minutos e média+ de 180 a 190 °C / 40 minutos; e forte de 200 a 210 °C / 45 minutos (MOSEDALE e PUECH, 1998; LEÃO, 2006).

**Figura 15** – Pré-cintragem, cintragem e termotratamento.

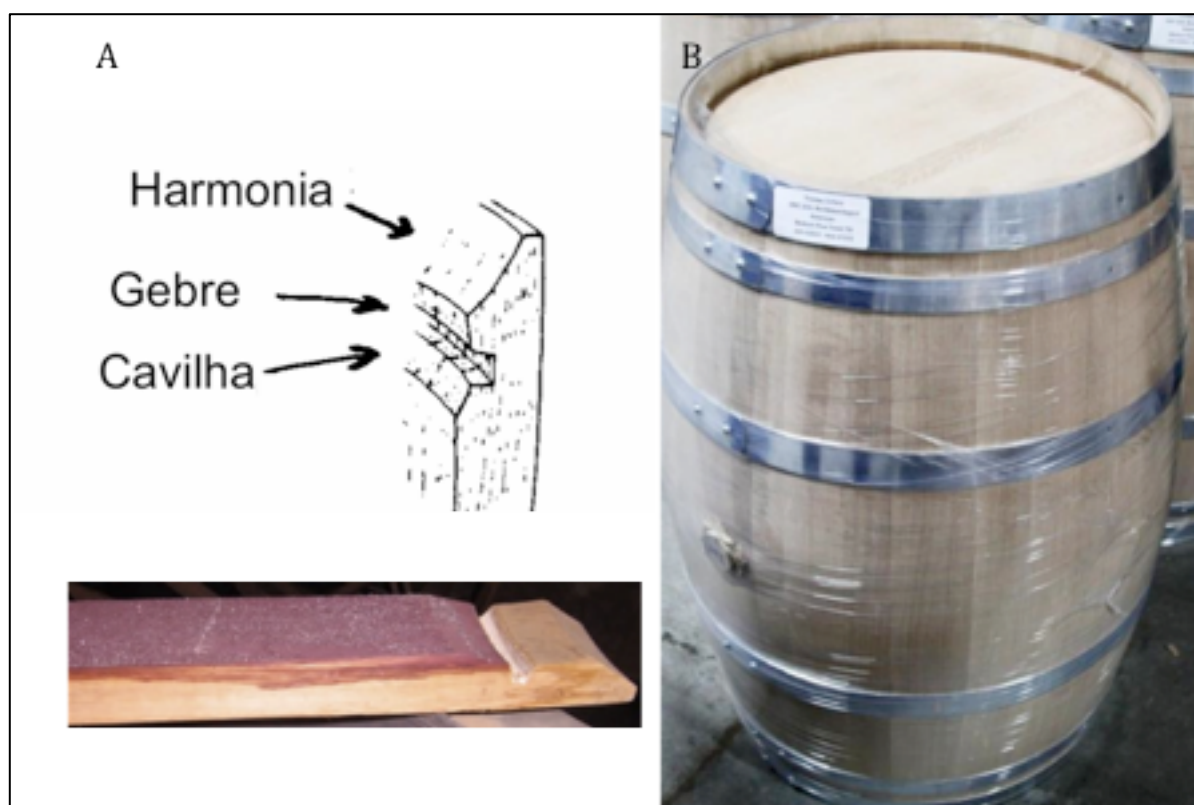


FONTE: Oscar Augusto Risch<sup>§</sup>.

<sup>§</sup> Figura 15 fornecida por: Oscar Augusto Risch. **Tanoaria: Como os Barris de Carvalho são produzidos.** Disponível em: <http://mauoscar.com/2010/10/27/tanoaria-como-os-barris-de-carvalho-sao-produzidos/> Acesso em: 10 jan. 2011.

Três cortes (entalhes) são feitos nas cabeças dos barris para colocação das tampas, harmonia (*chime* – em francês), gebre ou jaibro (*croze* – em francês) e cavilha ou batoque (*howel* – em francês), conforme Figura 16A . As tampas são feitas de aduelas encaixadas umas nas outras, que recebem sua forma circular ao final, e são encaixadas nas extremidades do barril e vedadas com palha (semelhante a taboa). Finalmente, as cintas metálicas são substituídas por aros (normalmente são utilizadas 6 aros, podendo variar a 8 aros para o barril tradicional), conforme Figura 16B (SHEPHERD, 2011).

**Figura 16** – Entalhes para colocação das tampas (A) e barril acabado e embalado (B).



Fonte: A - Alburnam's Archive (Stephen A. Shepherd)\*\* e B- Oscar Augusto Risch††.

Muitas tanoarias francesas e americanas mantem rigorosos sistemas de Controle de Qualidade do processo de fabricação dos barris, implantando sistemas

\*\* Figuras 16A extraída de: Alburnam's Archive (Stephen A. Shepherd). **State Trees**. Disponível em: <http://www.fullchisel.com/alburnam7.htm> Acesso em: 10 jan. 2011.

†† Figura 16B fornecidas por: Oscar Augusto Risch. **Tanoaria: Como os Barris de Carvalho são produzidos**. Disponível em: <http://mauoscar.com/2010/10/27/tanoaria-como-os-barris-de-carvalho-sao-produzidos/> Acesso em: 10 jan. 2011.

de qualidade, tais como: Sistemas ISO (International Organization for Standardization), HACCP (hazard analytical critical control points) e HAHP (análise de halofenol e haloanisol), entre outras (COOPERAGES1912NAPA, 2011).

## 2.6 Compostos Fenólicos

O termo compostos fenólicos tem sido usado para descrever um grupo de diversas estruturas que compõem o metabolismo secundário de diversas plantas. Este grupo inclui metabólitos derivados da condensação de unidades de acetato (ex. terpenóides), aqueles produzidos pela modificação de aminoácidos aromáticos (ex. fenilpropanóides; ácidos cinâmicos, precursores da lignina, ácidos hidroxibenzóicos, catecóis e cumarinas), flavonóides, isoflavonas e taninos (dihidroxifenóis e flavonóides polimerizáveis pela ação de peroxidases e polifenoloxidasas). Os fenólicos derivados dos ácidos amino aromáticos e seus precursores são meramente alguns de um grande grupo de compostos derivados do ácido shiquímico, incluindo muitos outros metabólicos secundários (BENNETT e ALLSGROVE, 1994).

Os compostos fenólicos ou polifenóis constituem uma classe de produtos fenólicos, em sua maioria, apresentam propriedades antioxidantes presentes na natureza e encontram-se disponíveis nos frutos, vegetais, sementes, flores e cascas. Nos últimos anos tem sido motivo de muitos estudos, pois foram identificados 18 compostos fenólicos que trazem algum benefício à saúde, variando da prevenção da cárie até ao câncer. Muito se tem dito a respeito da funcionalidade dos polifenóis que apresentam características antiinflamatórias, antialérgicas, antiviral, anticarcinogênicas, antiaterogênicas, antitrombóticas, antimicrobianas, vasodilatadora, analgésica e de protetor hepático (fígado). Os polifenóis exercem estes benefícios pelo seu poder antioxidante. O nome polifenóis vem da nomenclatura poli que significa muitos; e fenol, composto constituído de um anel aromático ligado a um grupo hidroxila (-OH). Um polifenol é uma estrutura que apresenta mais de um anel aromático contendo pelo menos um grupo hidroxila ligado em cada anel. Esta classe de compostos é uma das que apresenta o maior grupo de substâncias conhecidas no reino vegetal. Os polifenóis são compostos que fazem parte do metabolismo secundário das plantas e atualmente encontra-se mais de 4000 estruturas fenólicas conhecidas. A grande variedade destes compostos se

deve ao fato deles estarem ligados com grupos hidroxilas, metoxilas e estarem conjugados com açúcares, sendo chamados de anglicona ou genina (OLIVEIRA, 2005). Os compostos fenólicos podem ser categorizadas em várias classes como mostradas na Tabela 4.

**Tabela 4** - Classe de compostos fenólicos em plantas.

continua

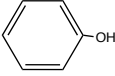
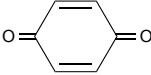
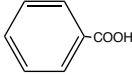
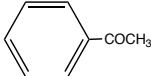
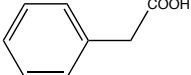
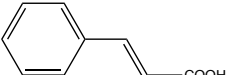
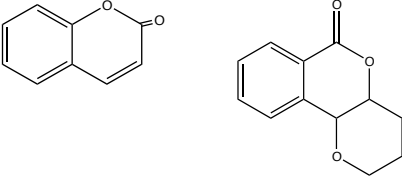
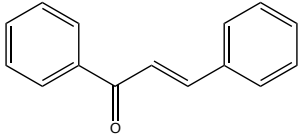
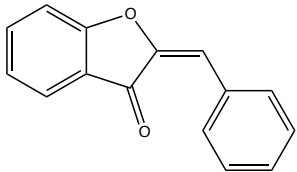
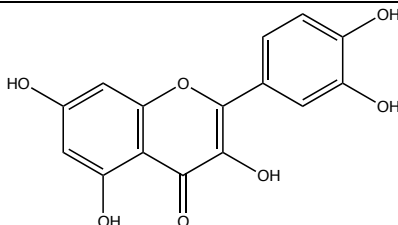
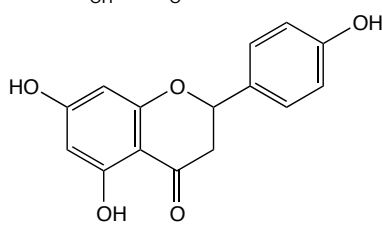
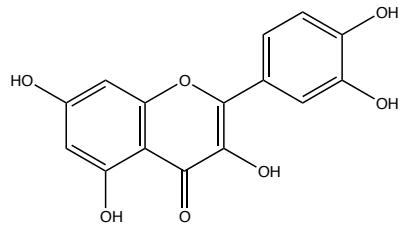
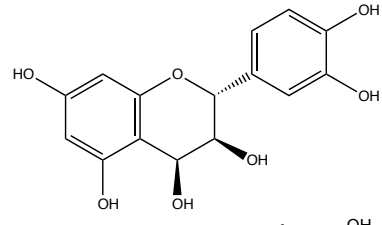
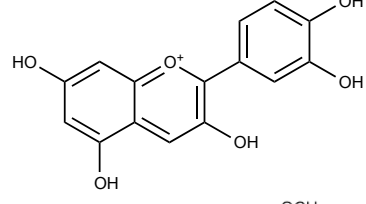
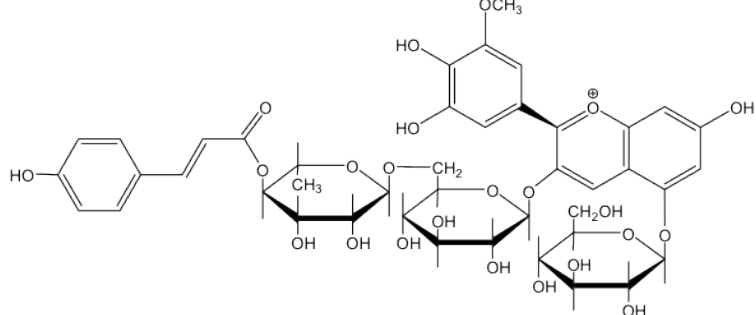
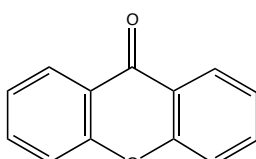
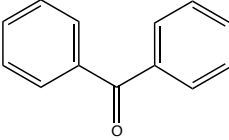
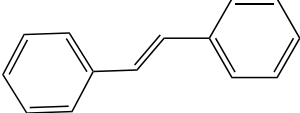
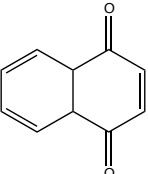
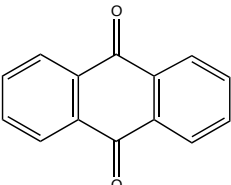
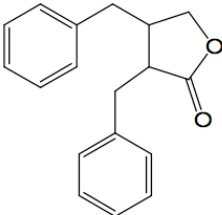
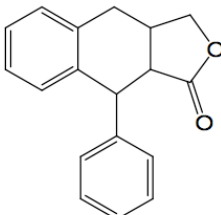
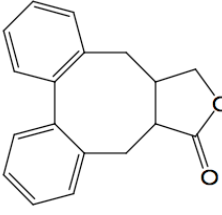
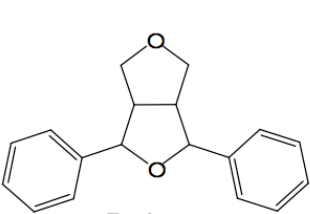
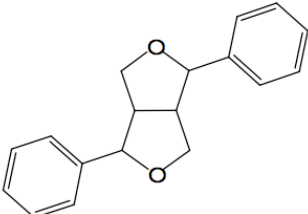
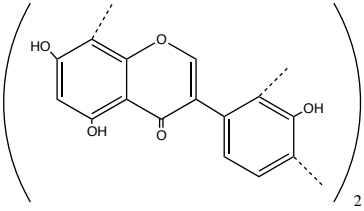
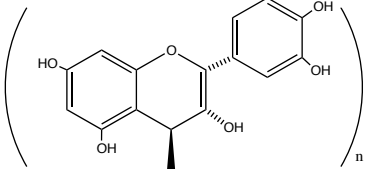
| Classe  | Esqueleto                                      | Estrutura básica   |
|---|--|--|
| Fenólicos simples   | C <sub>6</sub>                                 |   |
| Benzoquinonas   | C <sub>6</sub>                                 |    |
| Ácidos hidroxibenzoicos (ácido fenólico)                      | C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>                 |   |
| Acetofenol  | C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub>                 |   |
| Ácidos fenilacéticos  | C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub>                 |  |
| Ácidos cinâmicos  | C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>                 |  |
| Cumarinas, isocumarinas e cromonas                            | C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>                 |  |
| Flavonóides (C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) |  |  |
| Flavonóides -Chalconas  | C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> |  |
| Flavonóides -Auronas  | C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> |  |

Tabela 4 - Classe de compostos fenólicos em plantas.

continua

| Classe  | Esqueleto     | Estrutura básica   |
|---|---------------|--|
| Flavonóides<br>-Flavonas<br>(quercetina)                                | $C_6-C_3-C_6$ |    |
| Flavonóides<br>-Flavanona<br>(Naringenina)                              | $C_6-C_3-C_6$ |    |
| Flavonóides<br>-Flavanonol<br>(dihidroquercetina)                       | $C_6-C_3-C_6$ |   |
| Flavonóides<br>-Leucocianidinas   | $C_6-C_3-C_6$ |  |
| Flavonóides<br>-Antocianidinas<br>(cianindina) e<br>Deoxiantocianidinas | $C_6-C_3-C_6$ |  |
| Flavonóides<br>-Antocianinas<br>(Petanina)                              |               |  |
| Xantonas  | $C_6-C_1-C_6$ |  |

**Tabela 4** - Classe de compostos fenólicos em plantas.

| Classe                   | Esqueleto         | Estrutura básica   |
|--------------------------|-------------------|--|
| Benzofenona              | $C_6-C_1-C_6$     |                            |
| Estilbenos               | $C_6-C_2-C_6$     |                            |
| Naftaquinona             | $C_{10}$          |                            |
| Antraquinona             | $C_{14}$          |                            |
| Lignanas,<br>neolignanas | $(C_6-C_3)_2$     | <br>Dibenzbutirolactônica |
|                          |                   | <br>Ariltetraínica       |
|                          |                   | <br>Dibenzociclooctano  |
|                          |                   | <br>Furofurano            |
|                          |                   | <br>Furofurano          |
| Biflavonóides            | $(C_6-C_3-C_6)_2$ |                          |
| Ligninas                 | $(C_6-C_3)_n$     | Ver Figura 18.   |
| Taninos condensados      | $(C_6-C_3-C_6)_n$ |                          |

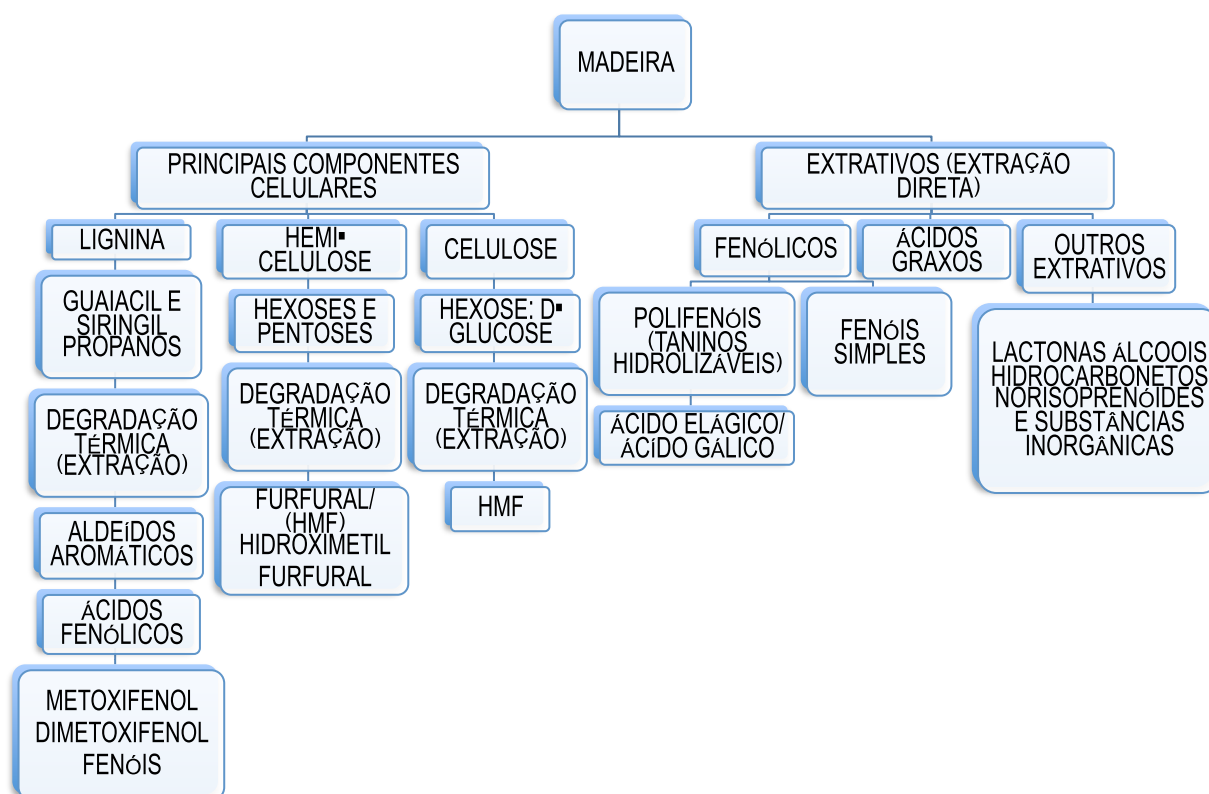
Fonte: (VERMERRIS e NICHOLSON, 2008)

Dentre os compostos fenólicos os mais estudados como extrativos em bebidas destiladas são: fenóis simples, ácidos hidroxibenzoicos e cumarinas (AQUINO et al., 2005; MADRERA, GOMIS e ALONSO, 2003; GOLDBERG et al., 1999; SILVA et al., 2009; MUÑOZ-MUÑOZ, GRENIER e GUTIÉRREZ-PULIDO, 2008; NG, LAFONTAINE e HARNOIS, 2000; SANZ et al., 2010; DIAS, MAIA e NELSON, 1998; CANAS, SILVA e BELCHIOR, 2008).

## 2.7 Origem dos Compostos Fenólicos no Envelhecimento

Os teores médios dos constituintes da parede celular correspondem a 40% de celulose, 20% de hemicelulose, 25% de lignina e 15% de extrativos, conforme ilustra a Figura 17. Além dos principais constituintes da parede celular já mencionados, existem os extrativos, que na sua maioria são compostos fenólicos. Dentre os extrativos, 10% são elagitaninos e os outros 5% constituem-se em galotaninos, lípideos, esteróis, óleos, substâncias voláteis e minerais (LEÃO, 2006).

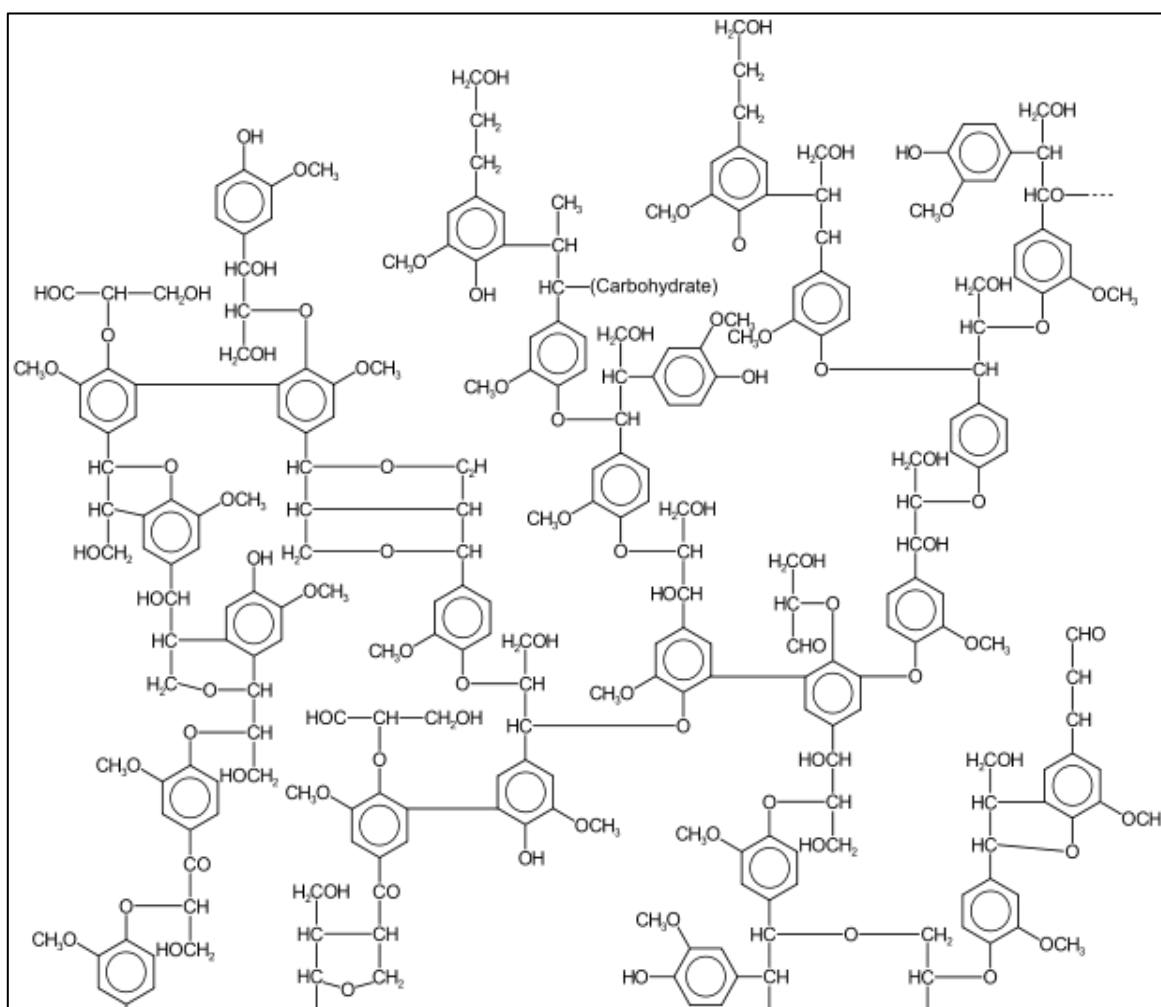
**Figura 17** – Representação esquemática da composição química da madeira.



Fonte: (MOSEDALE e PUECH, 1998).

A lignina é uma macromolécula sintetizada por via radicalar a partir de três álcoois *p*-hidroxi-cinâmicos precursores: *p*-cumarílico, coniferílico e sinapílico. Dependendo do grau de metoxilação do anel aromático, diz-se que a unidade básica é *p*-hidroxi-fenil (não metoxilada, derivada do álcool *p*-cumarílico), guaiacil (com uma metoxila, derivada do álcool coniferílico) ou siringil (com duas metoxilas, derivada do álcool sinapílico) (CARVALHO et al., 2009), conforme Figura 18.

**Figura 18** - Estrutura química da lignina.



Fonte: (SJÖSTRÖM, 1993).

A lignina foi classificada em core e não core, baseado em sua susceptibilidade relativa à hidrólise. A lignina não core consiste de compostos fenólicos de baixo peso molecular, liberados da parede celular por hidrólise, que é representada por ácidos *p*-hidroxicinâmico éster-ligados. A lignina core consiste de polímeros fenilpropanóides da parede celular, altamente condensados e muito



resistentes à degradação (<sup>‡</sup>LAPIERRE, 1993 apud SALIBA et al., 2001).

As ligninas são compostas de unidades *p*-hidroxifenila (H), guaiacila (G) e siringila (S), em proporções diferentes, de acordo com sua origem. As ligninas são classificadas segundo a presença das unidades H, G e S, e tem-se que: ligninas de madeiras duras, ou angiospermas, são formadas principalmente de unidades G e S; ligninas de madeiras moles, ou gimnospermas, são formadas fundamentalmente de unidades G (BUDZIAK, MAIA e MANGRICH, 2004).

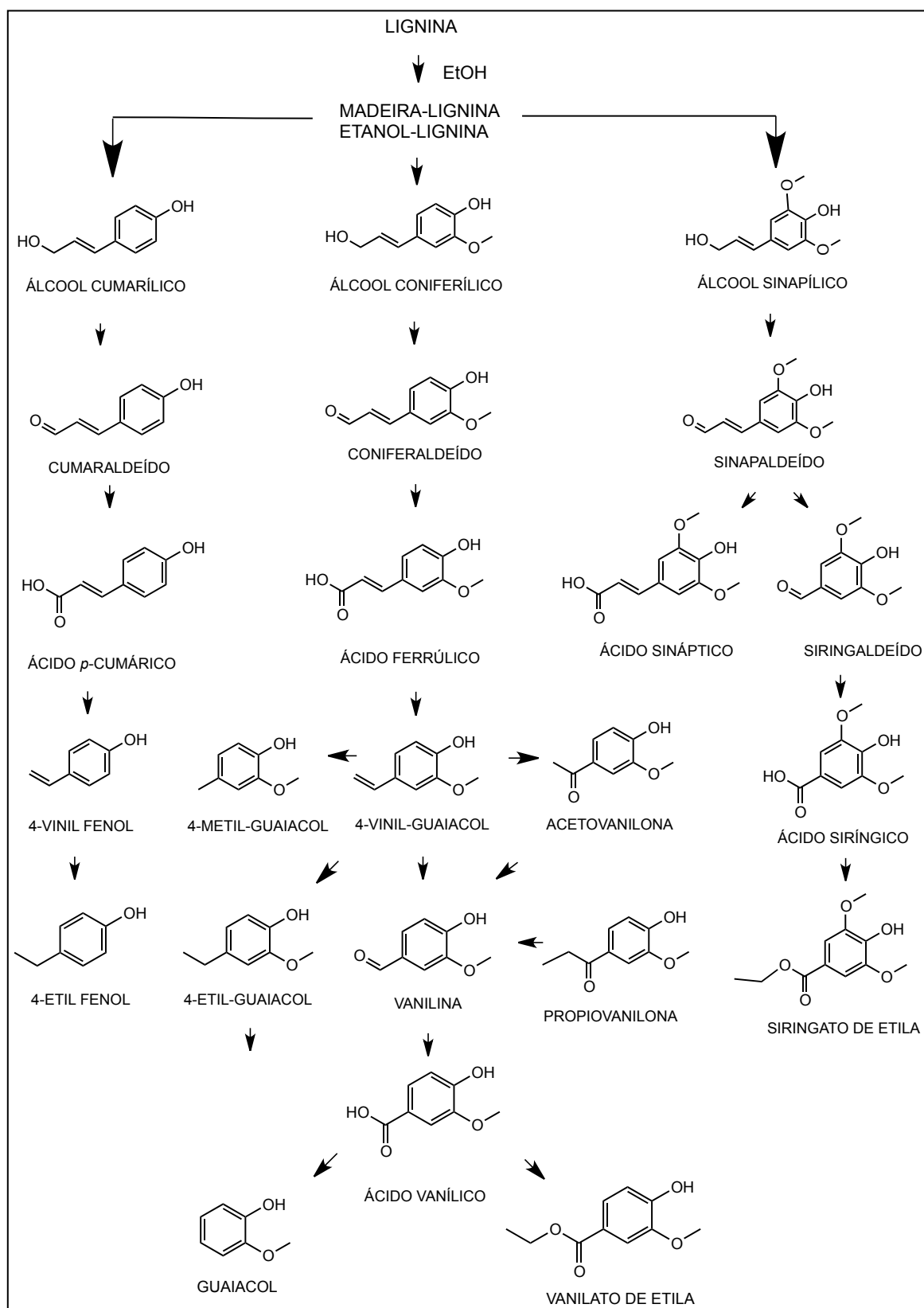
A carbonização das aduelas dos barris de madeira, utilizados no envelhecimento de cachaça, resultam na quebra das ligações da matriz celulose-lignina e, subseqüentemente, degradação da lignina pela quebra das ligações aril-éter do polímero lignina, conforme reações demonstradas na Figura 19 (LEE et al., 2001). Com o aumento da temperatura há uma progressiva formação de diferentes produtos de degradação da lignina. Inicialmente, aldeídos aromáticos são formados, seguido pelo aumento abundante dos seus ácidos correspondentes e o aparecimento dos produtos de termólise, tais como fenóis metoxi (guaiacil) e dimetoxi (siringil), cresóis e outros fenóis simples, a temperatura acima de 200 °C. O carvalho (*Quercus* sp.), assim com outras madeiras duras, ou angiospermas, são formadas principalmente de unidades G e S, no entanto, o carvalho contém maior concentração de unidades S do que unidades G. Contudo, devido as unidades G se degradarem a temperaturas mais baixas do que as unidades S, a relação de monômeros G e S declina com o aumento do aquecimento. Bebidas destiladas em barris queimados (ex. quase todos os uísques) poderão, portanto, ser caracterizadas por seus produtos de pirólise e maiores níveis de compostos de degradação da lignina da unidade base S do que os encontrados em bebidas estocadas em cascos submetidos a aquecimento menos intenso (tais como conhaque e outros destilados) (MOSEDALE e PUECH, 1998).

Reações de Maillard, em queima, produzem compostos heterociclos de nitrogênio tais como pirazinas, pirrois, e piridinas. Além disso, compostos heterociclos de oxigênio, tais como aldeídos furânicos, tem sido propostos como derivados das reações de Maillard, tanto quanto os originados da pirólise direta de pentoses e hexoses (MOSEDALE e PUECH, 1998).

---

<sup>‡</sup> LAPIERRE, C. Application of new methods for the investigation of lignin structure. In: JUNG, H.G., BUXTON, D.R., HATFIELD, R.D. et al. **Forage cell wall structure and digestibility**. Madison: American Society for Agronomy, 1993. p.133-163.

**Figura 19** - Transformações dos aldeídos aromáticos derivados da lignina no uísque.



Fonte: (LEE et al., 2001).

Os componentes acidentais ou extrativos são substâncias consideradas como

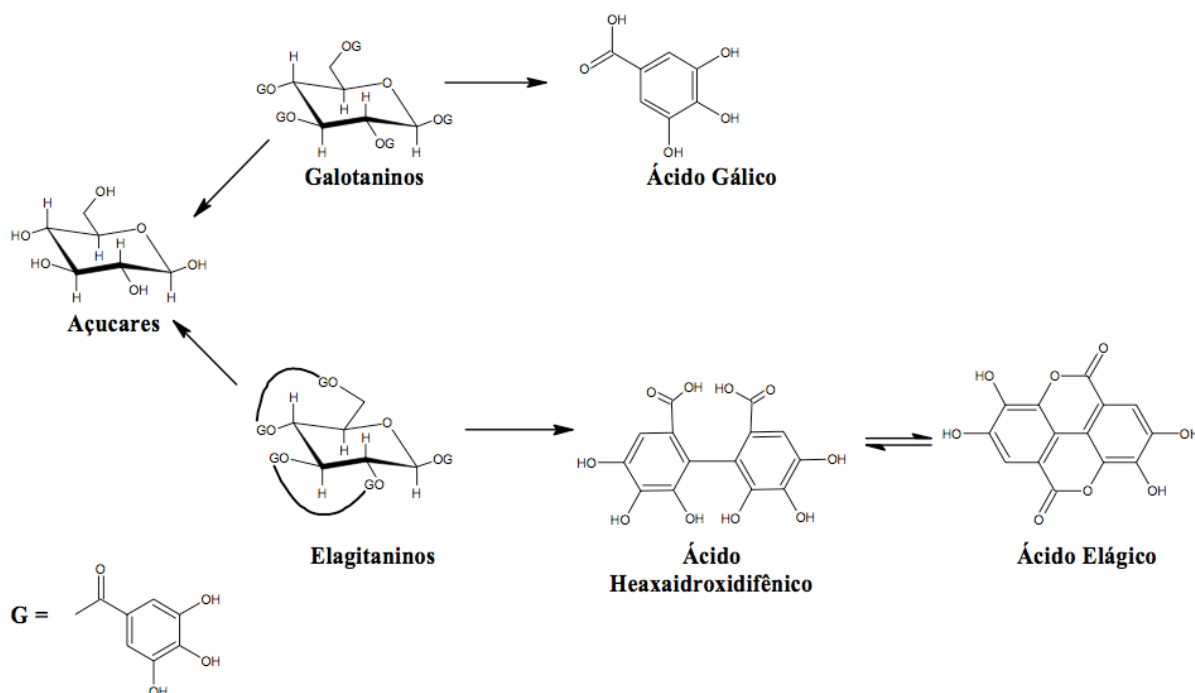
não integrantes da parte estrutural da parede celular (celulose, hemicelulose e lignina), muitos estão contidos pelo sistema vascular das plantas, e podem ser produtos intermediários do metabolismo secundário ou primário derivado do ácido shiquímico, e variam de acordo com a família e a espécie (BENNETT e ALLSGROVE, 1994). Os extrativos, na sua maioria, são solúveis em água ou solventes orgânicos neutros, sendo uma minoria insolúveis como proteínas, sais de ácidos inorgânicos. Os extrativos são associados a propriedades como cor, odor e sabor, e são constituídos por substâncias de baixa massa molar envolvidos no metabolismo da planta. Consistem em glicosídeos, compostos aromáticos (compostos fenólicos), substâncias alifáticas (ceras e ácidos graxos) e resinas (terpenos, lignanas, estilbenos, flavonóides), esteróides e substâncias nitrogenadas, entre outros. Em geral, perfazem de 2 a 8% da massa total em base seca, sendo os teores encontrados em folhosas geralmente superiores àqueles presentes em coníferas (CARVALHO et al., 2009; KLOCK et al., 2005).

Dentre os extrativos mais estudados em bebidas destiladas estão os compostos fenólicos (ARNOUS, MAKRIS e KEFALAS, 2001).

Taninos são metabólitos secundários das plantas superiores, são tanto os ésteres galoi e seus derivados, em que metades galoi ou seus derivados estão ligados a uma variedade de polióis-, catequina- e núcleos de triterpenóides (galotaninos, elagitaninos e taninos complexos) chamados de taninos hidrolisáveis, ou são proantocianidinas oligoméricas e poliméricas, que são os taninos condensados, responsáveis pelas características normalmente atribuídas a estas substâncias, como adstringência, precipitação de proteínas, entre outros (KHANBABAEE e REE, 2001). Normalmente, os taninos hidrolisáveis são divididos em galotaninos, que produzem ácido gálico após hidrólise, e em elagitaninos, que produzem o ácido hexahidroxi-difênico (HHDP) e após lactonização produz o ácido elágico, conforme Figura 20 (WILSON e HAGERMAN, 1990; MOSEDALE e PUECH, 1998; SINGLETON, 1995; MADRERA, GOMIS e ALONSO, 2003).

Os extrativos mais abundantes encontrados na madeira não aquecida, são os elagitaninos (MOSEDALE e PUECH, 1998). Os elagitaninos são rapidamente solubilizados durante os primeiros anos do envelhecimento e são simultaneamente degradados em ácido elágico (VIRIOT et al., 1993).

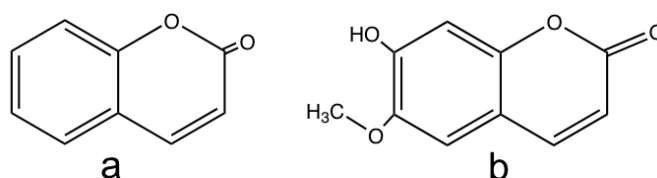
**Figura 20** - Hidrólise dos galotaninos produzindo ácido gálico e dos elagitaninos produzindo o ácido hexahidroxidifênico (HHDP), e a espontânea lactonização produzindo o ácido elágico.



Fonte: (VIRIOT et al., 1993).

As cumarinas (cumarina e escopoletina) são lactonas derivadas do ácido *o*-hidroxi-cinâmicos, pela ciclização entre *o*-hidroxil e grupos químicos carboxílicos (Figura 21), e compõem o sistema de defesa das plantas contra predadores (LEÃO, 2006).

**Figura 21** - Estrutura química da (a) cumarina e (b) escopoletina.



A escopoletina a principal cumarina detectada em conhaques de cidra (MADRERA, GOMIS e ALONSO, 2003). O aroma da cumarina tem sido descrito como doce, aromático, odor de creme de fava de baunilha com tons fortes. A cumarina era sintetizada e usada como flavorizante em bebidas. A principal fonte de cumarina na dieta é a canela e em bebidas alcoólicas é a *Hierochloe odorata* usada para aromatizar um tipo especial de vodka, que se chamava *subrowka*, produzida,

principalmente, no leste europeu. O *Codex alimentarius* estabeleceu o nível máximo para cumarina em alimentos e bebidas em  $2 \text{ mg kg}^{-1}$ , com exceção para caramelos e bebidas alcoólicas, sendo  $10 \text{ mg kg}^{-1}$  (SPROLL et al., 2008). A escopoletina (6-metoxi-7-hidroxycumarina) é uma cumarina que tem várias propriedades bioativas, como antiinflamatória, antioxidante, antitumor e atividade antiangiogenesis (LI et al., 2009).

Os compostos que estão claramente associados com as alterações sensoriais durante o envelhecimento são, compostos fenólicos e furânicos, como: aldeídos fenólicos aromáticos (siringaldeído e vanilina), ácidos fenólicos (ácido vanílico e ácido siríngico), derivados do tanino (ácido gálico e ácido elágico), cumarinas (cumarina e escopoletina) e aldeídos furânicos (furfural, 5-metilfurfural e 5-hidroximetilfurfural) (MOSEDALE e PUECH, 1998).

## 2.8 Capacidade Antioxidante e Compostos Fenólicos

A capacidade antioxidante é um mecanismo importante contra o estresse oxidativo na defesa de sistemas vivos, sendo traduzida como a habilidade de capturar radicais que, em profusão, podem induzir danos oxidativos em biomoléculas que causam aterosclerose, envelhecimento, câncer e muitas outras doenças. Antioxidantes são espécies de moléculas que, presentes em baixas concentrações, comparativamente às biomoléculas que supostamente protegem, podem prevenir ou reduzir a extensão do dano oxidativo (HALLIWELL, 1996). Recentemente, mais atenção tem sido dada aos compostos com capacidade antioxidantes e a sua possibilidade de prevenir muitas doenças crônicas envolvendo o estresse oxidativo (VALKO et al., 2006; OLIVEIRA, VALENTIM e GOULART, 2009).

Tem havido um interesse crescente em torno dos radicais livres, mais conhecidos como espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (ERON), em medicina clínica e experimental. Radicais livres são definidos como moléculas ou fragmentos moleculares contendo um ou mais elétrons desemparelhados. Os radicais livres ERON são produzidos por fontes endógenas (mitocôndria, metabolismo do citocromo P450, peroxissomas e células inflamadas) e fontes exógenas (toxinas ambientais, metais, radiação e barbituratos, entre outros), conforme Figura 22. Alguns pesquisadores têm utilizado a denominação estresse oxidativo para se referir

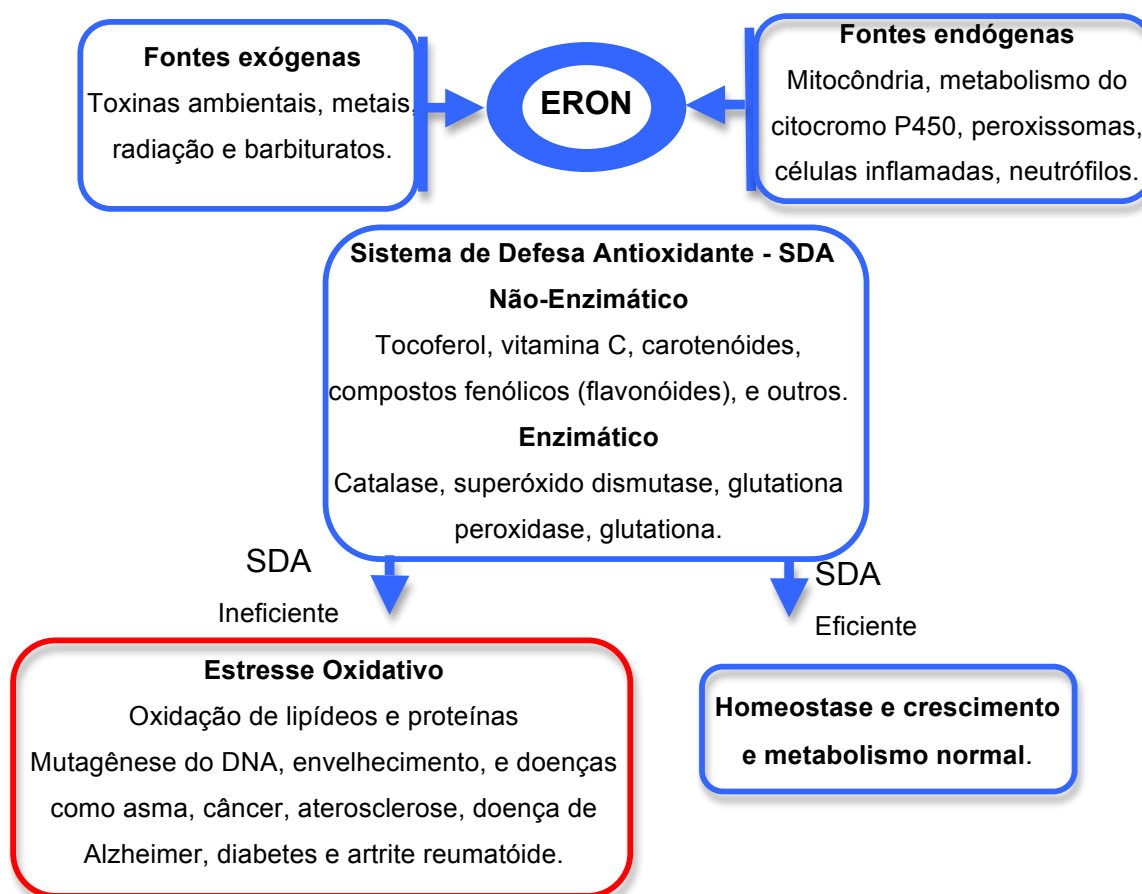
a produção cumulativa de radicais livres ERON, ou seja, um simples desbalanço global de pró-oxidantes e antioxidantes. Este conceito parece ser inadequado e limitado. As informações acumuladas definem o estresse oxidativo como uma ascensão dos níveis oxidantes intracelulares, causando dois efeitos potencialmente importantes: danos à vários componentes celulares e interrupção da sinalização e controle redox. Notadamente, as “queimas” oxidativas dos ERON pelos neutrófilos e macrófagos durante a fagocitose são os principais mecanismos não específicos de defesa contra bactérias e a morte celular. Mais insidiosamente, o estresse oxidativo tem sido associado à oxidação de lipídeos e proteínas, mutagênese do ácido desoxirribonucleico DNA, envelhecimento, e doenças como asma, câncer, aterosclerose, doença de Alzheimer, diabetes e artrite reumatóide. Um sofisticado sistema de defesa antioxidante enzimático, incluindo catalase, superóxido dismutase, glutathione peroxidase, glutathione; e não enzimático incluindo o tocoferol, vitamina C, carotenóides, compostos fenólicos (flavonóides), e outros; neutralizam e regulam os níveis globais de ERON, para manter a homeostase fisiológica através da destruição química ou transformação em radicais menos prejudiciais, ou em espécies diamagnéticas mais estáveis (VALKO et al., 2006; OLIVEIRA, VALENTIM e GOULART, 2009; HALLIWELL, 1996; FINKEL e HOLBROOK, 2000).

O interesse em medir a capacidade antioxidante em alimentos, bebidas e cosméticos tem resultado em pesquisas nessa linha. Antioxidantes fenólicos formam uma importante classe de compostos que servem para inibir a oxidação. Há dois mecanismos para a oxidação em que os antioxidantes podem desempenhar um papel preventivo: HAT (transferência do átomo de hidrogênio, em inglês - “*hydrogen atom transfer*”) e SET (transferência de um único elétron, em inglês - “*single-electron transfer*”). O resultado é o mesmo, independente do mecanismo, mas a cinética e o potencial para cada reação é diferente (PRIOR, WU e SCHAICH, 2005).

Segundo WRIGHT, JOHNSON e DILABIO (2001) o mecanismo HAT é baseado na clássica habilidade de um antioxidante (HA) em eliminar radicais livres pela doação de hidrogênio (H). A equação 1 mostra o mecanismo HAT para o caso de peroxidação lipídica.



**Figura 22** – Mecanismo do estresse oxidativo.



Fonte: (HILLARD et al., 2008; FINKEL e HOLBROOK, 2000).

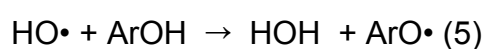
Uma vez que um radical livre  $R^\bullet$  tiver sido gerado, em seguida, as reações (2) e (3) formam uma reação em cadeia. Com as reações (2) e (3) muitas moléculas lipídicas (RH) são convertidas em lipídeo hidroperóxido ( $ROOH$ ), resultando na oxidação e rancificação de fato. A reação (2) é muito rápida e a reação (3) é muito lenta.

Um antioxidante fenólico genérico  $ArOH$ , que por definição, contém pelo menos um grupo hidroxil ligado ao anel benzênico intercepta a reação em cadeia de acordo com a reação (4).

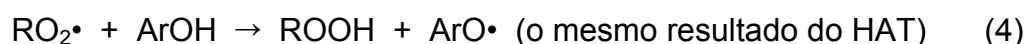
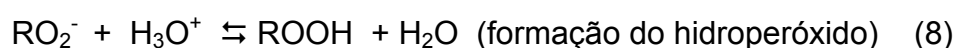
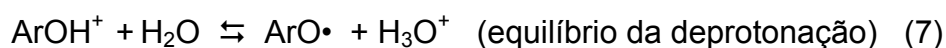
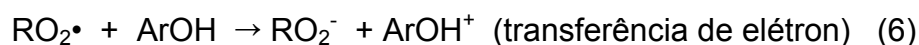


Para ser efetivo o  $ArO^\bullet$  deve ser um radical livre relativamente estável, de forma que ele vá reagir, lentamente, com o substrato RH, e, rapidamente, com  $RO_2^\bullet$ , daí o termo “antioxidante que quebra a cadeia”. Sabe-se que o antioxidante mais

eficaz, lipossolúvel, que quebra a cadeia no plasma sanguíneo humano é o  $\alpha$ -TOH ( $\alpha$ -tocoferol), o componente mais ativo da vitamina E. A taxa de reação do substrato RH com radicais peróxil depende da altura da barreira para a transferência de um átomo de H- de RH (ou ArOH no caso de um antioxidante). Como a reação com  $RO_2\cdot$  e ArOH torna-se mais exotérmica, a barreira diminui, os antioxidantes reagirão mais rapidamente com radicais peróxil, prevenindo a reação com o substrato. O mesmo argumento se aplica a outros radicais livres de interesse, incluindo alcóxil, alquil e superóxido. Desta discussão fica claro que a BDE em ArOH será um fator importante na determinação da eficácia de um antioxidante, uma vez que quanto mais fraca a ligação OH mais rápida será a reação com os radicais livres. Um fator adicional de seletividade vai desempenhar um importante papel, por exemplo, todos os antioxidantes fenólicos podem reagir com o radical hidroxila devido à BDE muito elevada da ligação HO-H da água,  $119 \text{ kcal mol}^{-1}$ , tornando todas as reações com ArOH muito exotérmicas de acordo com a reação (5).



Outro mecanismo possível em que o antioxidante pode desativar um radical livre é o SET, mecanismo pelo qual o antioxidante desativa um radical livre pela transferência de elétron, em que o cátion radical é primeiramente formado segundo uma rápida e reversível deprotonação em solução, de acordo com (6), (7), (8) e (4).



Contudo, se o cátion radical  $ArOH^+$  tem grande tempo de vida ele pode atacar outros substratos. Está claro contudo, que tanto as propriedades moleculares específicas como o BDE (energia de dissociação de ligação), mas também o potencial de ionização (IP em inglês "*ionization potential*") são de particular



importância. Tanto o mecanismo HAT como o SET devem ocorrer em paralelo, mas com taxas diferentes. No entanto, para compostos fenólicos o mecanismo HAT ocorre em taxas maiores do que com o mecanismo SET. O mecanismo HAT, na presença de metais redutores pode levar a alta capacidade antioxidante aparente errônea (WRIGHT, JOHNSON e DILABIO, 2001).

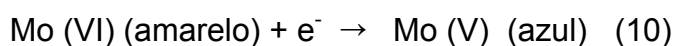
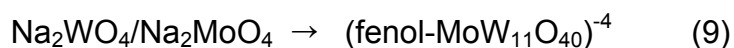
Existem várias metodologias de análise para determinação da capacidade antioxidante. Os métodos que utilizam mecanismos de reação HAT são: o método ORAC (capacidade de absorção do radical oxigênio, ou em inglês "*Oxygen Radical Absorbance Capacity*"), e o método TRAP (parâmetro antioxidante reativo total ou em inglês "*Total radical-trapping Antioxidant Parameter*"), e algumas de suas variantes. O método FRAP (poder antioxidante de redução férrica, ou em inglês "*Ferric Reducing Antioxidant Power*"), principalmente, utiliza o mecanismo de reação SET. Os métodos que utilizam ambos mecanismos HAT e SET são: TEAC [atividade antioxidante equivalente ao Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-ácido carboxílico)] ou outros métodos ABTS<sup>•+</sup> [2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin) 6-ácido sulfônico], e DPPH (capacidade de redução do antioxidante pelo radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil - DPPH<sup>•</sup>). Finalmente, o método FC (Foulin-Ciocalteu), sobre o qual há sempre uma controvérsia sobre o que está sendo detectado, se a capacidade antioxidante total, apenas fenóis, ou fenóis e agentes redutores, possivelmente, quelantes de metais. Não existe uma padronização dos métodos para análises de controle de qualidade da capacidade antioxidante. Após o Primeiro Congresso Internacional de Métodos Antioxidantes em 2004, foi sugerido que os métodos o ORAC (HAT), FC (SET) e TEAC (SET) fossem padronizados para determinação da capacidade antioxidante mas até agora não há um consenso sobre a padronização dos métodos (PRIOR, WU e SCHAICH, 2005).

Neste estudo foram escolhidos três métodos de análise da capacidade antioxidante: método de determinação dos fenóis totais por Foulin Ciocalteu, capacidade antioxidante pelo radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH<sup>•</sup>) e método do poder antioxidante de redução férrica (FRAP). Estes três métodos foram empregados para determinar a capacidade antioxidante das cachaças durante o processo de envelhecimento, porque são metodologias que englobam mecanismos HAT e SET, são metodologias simples, que requerem equipamentos pouco especializados, estão bem estabelecidas, e são utilizadas comumente no

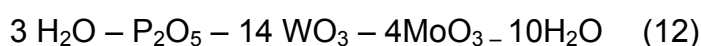
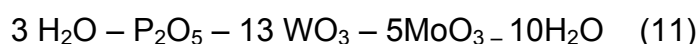
Laboratório de Eletroquímica, do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas. Portanto, a seguir foi feita uma breve revisão de literatura sobre os métodos de análise da capacidade antioxidante empregados.

### 2.8.1 Fenóis Totais por Foulin-Ciocalteu

O método FC (Foulin-Ciocalteu) utilizado para a determinação de fenóis totais, e foi originalmente desenvolvido em 1927. Foi utilizado para a análise de tirosina e empregava reagentes químicos, no qual a oxidação de fenóis pelo reagente molibdotungstato formava um produto colorido a  $\lambda_{\max}$  de 745-750 nm, conforme equações (9) e (10).



O método é simples, sensível e preciso. No entanto, a reação é lenta em meio ácido e tem baixa especificidade. O método foi melhorado com um reagente heteropoliânion molibdotungsto-fosfórico representado por (11) e (12) (SINGLETON e ROSSI, 1965).



Os fenóis reduzidos formam produto azul em  $\lambda_{\max}$  de 765 nm. Foram impostas medidas e condições obrigatórias para a obtenção de dados confiáveis e previsíveis com o método FC: (1) relação de volume adequado de álcalis e reagente FC, (2) o tempo de reação e temperatura ótima para o desenvolvimento de cor, (3) monitoramento da densidade óptica a 765 nm e (4) uso de ácido gálico como referência-padrão de fenol. Foi então que se especificou as condições para minimizar e eliminar a variabilidade de resultados incertos do método FC (SINGLETON e ROSSI, 1965).

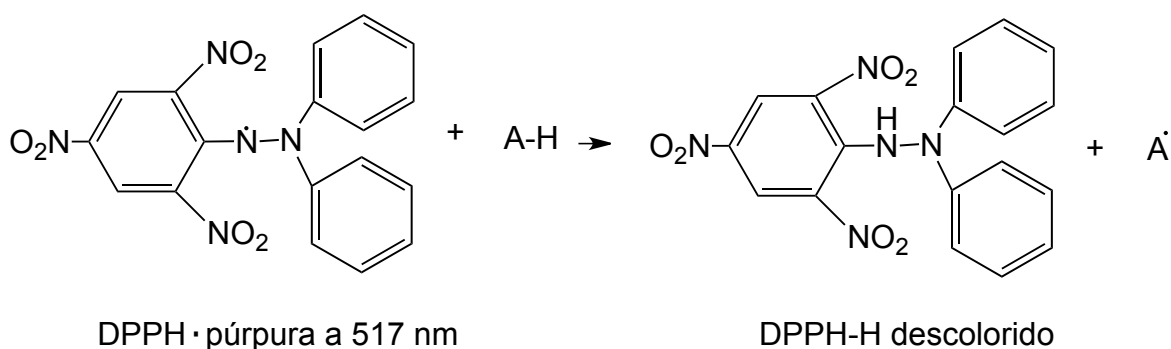
O método FC tem alguns interferentes como açúcares, aminas aromáticas, dióxido de enxofre, ácido ascórbico e outros enedióis e redutonas, ácidos orgânicos,

Fe (II), dentre outros. A correlação do FC com o método ORAC é usualmente boa  $R^2 = 0,82$  (PRIOR, WU e SCHAICH, 2005).

### 2.8.2 Capacidade Antioxidante pelo Radical DPPH

O método que mede a capacidade antioxidante empregando o DPPH· (radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil) é utilizado mundialmente na quantificação da capacidade de capturar radicais livres. O DPPH· (Figura 23) é um dos poucos radicais estáveis de nitrogênio orgânico com cor púrpura intensa. Ele está disponível comercialmente e não precisa ser produzidos antes do ensaio, como o ABTS<sup>•+</sup>. O DPPH· é conhecido como um radical livre estável, porém, ele é sensível à luz, oxigênio, pH e ao tipo de solvente utilizado. Este ensaio é baseado na medição da capacidade de redução de antioxidantes por DPPH·. A habilidade pode ser avaliada por EPR (ressonância paramagnética eletrônica), ou medindo a diminuição de sua absorvância. O ensaio é baseado na medição da perda de cor do DPPH· à 517 nm, espectrofotometricamente, sendo um método amplamente utilizado e relativamente rápido quando comparado a outras técnicas (SCHERER e GODOY, 2009; BRAND-WILLIAMS, CUVELIER e BERSET, 1995).

**Figura 23** – Redução do antioxidante por 2,2-difenil-1-picrilhidrazil radical (DPPH·).



Fonte: (HALLIWELL E GUTTERIDGE, 2007).

### 2.8.3 Capacidade Antioxidante pelo FRAP (Poder de Redução Férrica)

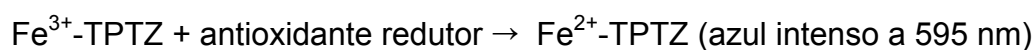
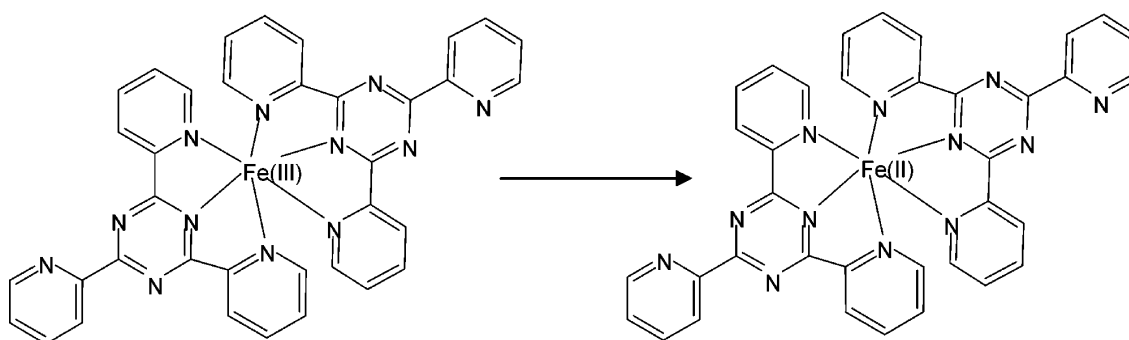
O ensaio FRAP (poder antioxidante de redução férrica, ou em inglês “*Ferric Reducing Antioxidant Power*”) foi originalmente desenvolvido para medir o poder de

redução do plasma (BENZIE e STRAIN, 1996). No entanto, o ensaio foi adaptado e utilizado para determinação de antioxidantes em produtos vegetais (PULIDO, BRAVO e SAURA-CALIXTO, 2000). A reação é medida pela redução do TPTZ (ferro 2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina) para um produto colorido azul, conforme mostra a Figura 24 (RUFINO et al., 2006).

A reação detecta compostos com potencial redox  $<0,7$  V (o potencial redox  $\text{Fe}^{3+}$ -TPTZ), assim FRAP é um método razoável com capacidade de manter o status redox em células ou tecidos. O poder redutor parece estar relacionado ao grau de hidroxilação e extensão da conjugação em polifenóis. No entanto, o método FRAP não consegue detectar compostos que agem por supressão radical (transferência H), especialmente tióis e proteínas. Isso provoca uma séria subestimação no soro.

Tem-se argumentado que a habilidade de reduzir o ferro tem pouca relação com os processos de transferência de radicais (HAT), mediada pela maioria dos antioxidantes. O mecanismo FRAP baseia-se na transferência de elétrons (SET) ao invés de uma mistura de SET e HAT, assim, em combinação com outros métodos pode ser muito útil na distinção entre os mecanismos dominantes com diferentes antioxidantes. Além disso, como os metais reduzidos são propagadores das cadeias ativas, através da redução do radical hidroperóxido  $\text{RO} \cdot$ , seria interessante avaliar se os altos valores de FRAP tem alguma correlação com a tendência dos polifenóis de se tornar pró-oxidantes em algumas condições. Isso tem sido demonstrado por algumas flavonas e flavanonas, que também têm altos valores FRAP (PRIOR, WU e SCHAICH, 2005).

**Figura 24** – Redução de antioxidantes por ferro 2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina (TPTZ).



Fonte: (RUFINO et al., 2006).

## 2.9 Capacidade Antioxidante de Bebidas Alcoólicas

São encontrados compostos fenólicos com propriedades antioxidantes em diversos alimentos como o vinho, azeite de oliva, café, amora-preta, chá verde, frutas e vegetais, dentre outros.

A capacidade antioxidante do vinho está claramente demonstrada em um grande número de estudos, sendo atribuída aos compostos fenólicos, dos quais se destacam os flavonóides (RIVERO-PÉREZ et al., 2008). A quantidade de compostos fenólicos no vinho tinto é maior (1000 a 4000 mg L<sup>-1</sup>) do que no vinho branco (200 a 300 mg L<sup>-1</sup>). As uvas tintas contêm em sua composição as antocianinas, moléculas responsáveis pela pigmentação (ausentes em uvas brancas). A diferença da quantidade de compostos fenólicos dos vinhos tintos e brancos não se deve apenas à presença das antocianinas, mas também aos processos de fabricação para obtenção do vinho. Em alguns tipos de vinho tinto, as uvas são esmagadas com o engaço (conjunto dos pedúnculos e ramificações dos cachos de uva), casca e semente, gerando maior quantidade de compostos fenólicos. O engaço contém de 1 a 4% de compostos fenólicos, a casca cerca de 1 a 2% e as sementes 5 a 8%. Os compostos fenólicos desempenham função importante na qualidade do vinho, contribuindo para seu sabor e aroma. Os antioxidantes são muito importantes para a saúde humana, e muitos laboratórios reportam dados mostrando que os constituintes fenólicos presentes em vinhos, tais como a quercetina, resveratrol e derivados da catequina, possuem capacidade antioxidante, e sugerem que o vinho tinto tenha um impacto mais favorável na redução da mortalidade do que outras bebidas alcoólicas. Os compostos fenólicos do vinho são capazes de atuar como antioxidante, tanto em sistema aquoso quanto em sistema lipofílico. Vários estudos constataram que os compostos fenólicos de vinho são capazes de inibir a oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL). A oxidação da lipoproteína da baixa densidade está intimamente correlacionada com as complicações da aterosclerose, que se manifesta como doença arterial coronária (DAC), acidente vascular cerebral e/ou doença vascular periférica. A ingestão diária e moderada de vinho pode promover a saúde e prevenir o risco de incidência de doenças do coração e certos tipos de câncer. No entanto, não deve ser considerada como tratamento para pessoas que já desenvolveram essas enfermidades (MAMADE e PASTORE, 2004)

Dr. Renaud sugeriu que o consumo de vinho explica o “Paradoxo Francês”, com uma baixa incidência de ataques do coração na França, mesmo com uma dieta com gorduras saturadas e álcool. Esses efeitos do vinho são atribuídos ao sinergismo de diversas propriedades dos muitos componentes bioquímicos do vinho, tais como: álcool, resveratrol, e especificamente os compostos fenólicos. O consumo de álcool é dividido em três categorias, leve, moderado e pesado, dependendo da quantidade de etanol puro ingerido diariamente. A categoria leve e moderada é definida como o consumo médio de menos que 30 g de etanol por dia, e a categoria pesada o consumo de mais do que 30 g de etanol por dia. O consumo de quantidade excessivas de álcool (> 30 g de puro álcool por dia), regularmente e por anos, é tóxica para a maioria dos tecidos do corpo, aumentando o risco de doença no fígado, doenças do coração, úlceras pépticas, certos tipos de câncer, complicações durante a gestação, defeitos ao nascer e danos ao cérebro. No entanto, evidências epidemiológicas e clínicas mostram que o consumo moderado de álcool está associado com a redução dos riscos de doenças coronárias, de curso total ou isquêmico e de mortalidade total de homens e mulheres na meia idade e idosos. Por outro lado, o consumo regular de álcool, de leve a moderado (menos de 30 g de puro álcool por dia), é largamente reconhecido como diminuidor global da mortalidade de todas as causas, predominantemente pela diminuição do risco de doença cardíaca coronária (CHD), a principal causa de mortes em homens de 40 anos assim como em mulheres após a menopausa (GOLDBERG et al., 1999) e por reduzir a coagulação do sangue evitando placas de aterosclerose (RENAUD e LORGERIL, 1992; ARGAWAL, 2002).

O consumo moderado de álcool é atingido quando se ingere, por exemplo, 360 mL de cerveja que contém 4 a 5% (v/v) de álcool, 250 mL de vinho branco, 170 mL de Champagne, 120 mL de vinho e 1 dose (aproximadamente 45 mL) de bebidas destiladas como uísque, vodka e cachaça, cujo porcentual alcoólico oscila entre 40 e 42% (v/v) (SACCO et al., 1999). Esses valores podem variar em função do tipo de bebida, sexo e idade (ARGAWAL, 2002).

Além do vinho, outras bebidas, tais como uísque e licor tem capacidade antioxidante. Bebidas alcoólicas, como rum, vinho, uísque, conhaque têm conteúdo variado de compostos fenólicos e capacidade antioxidante. Vários outros compostos fenólicos foram isolados do uísque e sua capacidade antioxidante foi proporcionada pelo processo de envelhecimento em barris de madeira (AOSHIMA et al., 2004).

O envelhecimento é uma das principais fontes de compostos fenólicos em bebidas alcoólicas destiladas (OLIVEIRA, VALENTIM e GOULART, 2009; AOSHIMA et al., 2004; AQUINO et al., 2006; GOLDBERG et al., 1999; DIAS, MAIA e NELSON, 1998). Vários fatores afetam o envelhecimento, e conseqüentemente, o teor de compostos fenólicos, como: características da bebida, espécie e origem da madeira utilizada para confecção dos barris, tamanho do barril, tratamento do barril (queima), tempo de envelhecimento, e as condições ambientais onde o envelhecimento ocorre (MOSEDALE e PUECH, 1998).

O efeito de diferentes madeiras (amburana, balsamo, jequitiba, courbaril, ipe e carvalho) foi avaliado em relação à composição da aguardente de cana envelhecida por seis meses, e foi constatado que cada madeira introduziu compostos fenólicos específicos na bebida (DIAS, MAIA e NELSON, 1998).

Madeiras brasileiras já foram avaliadas, em trabalhos anteriores, e as madeiras amendoim, pereiro e courbaril foram as melhores candidatas para substituir o carvalho na análise sensorial realizada, apresentando conteúdo de fenóis totais entre 8 a 30 mg L<sup>-1</sup> (FARIA et al., 2003).

Recentemente, trabalhos determinaram o perfil dos compostos fenólicos em extratos de cachaça, preparados a partir de serragem de diferentes espécies de madeiras (courbaril, cabreúva-parda, amendoim, canela-sassafrás, pequi e carvalho). A cumarina e a catequina foram os compostos mais abundantes nas madeiras brasileiras, quando comparadas com os extratos de carvalho, os quais apresentaram maiores concentrações de siringaldeído e coniferaldeído (SILVA et al., 2009; SILVA, 2006).

Foi avaliada a capacidade antioxidante de extratos de aguardente-de-cana, preparados a partir de serragem de seis diferentes espécies de madeiras brasileiras (amendoim, canela-sassafras, castanheira, ipe, jatoba, louro-canela e carvalho), e os extratos de amendoim e courbaril apresentaram maior capacidade antioxidante do que os demais (CARDOSO et al., 2008).

## **2.10 Congêneres da Cachaça**

A maioria das bebidas alcoólicas contem pequenas quantidades de outros compostos biologicamente ativos, que incluem outros alcoóis, além do etanol. Estes compostos, conhecidos como congêneres, também contribuem para o sabor, aroma

e aparência das bebidas alcoólicas. Nas bebidas alcoólicas, os congêneres podem ser produzidos juntamente com o etanol durante a fermentação. Durante o envelhecimento podem ser produzidos através da degradação de compostos orgânicos. Acredita-se que os congêneres podem contribuir para efeitos intoxicantes numa subsequente ressaca por bebidas alcoólicas. Pesquisas mostram que as bebidas compostas pelo etanol mais puro, como o gin ou vodka, induzem menos efeitos de ressaca do que bebidas contendo um grande número de congêneres, tais como o uísque, conhaque ou vinho tinto (SWIFT e DAVIDSON, 1998).

De acordo com a Instrução Normativa 13, de 30 de junho de 2005, e seu anexo o Regulamento Técnico para Fixação dos Padrões de Identidade, foram definidos os requisitos de qualidade dos congêneres da cachaça, descritos na Tabela 5 (BRASIL, 2005).

**Tabela 5** - Requisitos de qualidade dos congêneres da cachaça.

| <b>Congêneres</b>   | <b>Máximo</b><br>(mg 100 mL <sup>-1</sup> aa*) |
|---|--|
| Acidez volátil, expressa em ácido acético   | 150  |
| Ésteres totais, expressos em acetato de etila   | 200  |
| Aldeídos totais, em aldeído acético   | 30   |
| Soma de Furfural e Hidroximetilfurfural   | 5  |
| Soma dos álcoois isobutílico (2-metil propanol), isoamílicos (2-metil-1-butanol + 3-metil-1-butanol) e n-propílico (1-propanol) | 360  |

Fonte: (BRASIL, 2005)

Nota: \*aa = álcool anidro

O coeficiente de congêneres (componentes voláteis "não álcool", ou substâncias voláteis "não álcool", ou componentes secundários "não álcool", ou impurezas voláteis "não álcool") é a soma de: acidez volátil (expressa em ácido acético), aldeídos (expressos em aldeído acético), ésteres totais (expressos em acetato de etila), álcoois superiores (expressos pela soma do *n*-propanol, isobutanol e álcoois isoamílicos), e furfural somado ao hidroximetilfurfural. O Coeficiente de Congêneres para cachaça e cachaça envelhecida não pode ser inferior a 200 mg 100 mL<sup>-1</sup> aa, e não poderá ser superior a 650 mg 100 mL<sup>-1</sup> aa (BRASIL, 2005).



### 2.10.1 Ácidos

Os ácidos são produtos secundários da fermentação alcoólica, dentre eles, o ácido acético (C1) tem sido quantitativamente o principal componente da fração ácida das aguardentes, representando de 90 a 95% do total de ácidos encontrados. A levedura *Sacharomyces cerevisiae* na presença de oxigênio pode converter até 30% do açúcar do mosto em ácido acético (NASCIMENTO et al., 1998).

Os ácidos de cadeia média, mais significativos, e os ácidos graxos foram identificados e quantificados em cachaças brasileiras (NASCIMENTO et al., 2000), conforme Tabela 6.

**Tabela 6** - Ácidos presentes nas cachaças comerciais brasileiras.

| Ácidos             | Média | Minimo | Máximo |
|--------------------|-------|--------|--------|
| Ácido acético      | 89,68 | 27,40  | 367,00 |
| Ácido propiônico   | 0,22  | 0,10   | 0,39   |
| Ácido isobutírico  | 0,25  | 0,11   | 0,47   |
| Ácido butírico     | 0,36  | 0,25   | 0,53   |
| Ácido isovalérico  | 0,70  | 0,35   | 0,97   |
| Ácido valérico     | 0,11  | n.d.   | 0,27   |
| Ácido isocaprílico | 0,06  | n.d.   | 0,21   |
| Ácido capríco      | 0,65  | 0,19   | 0,88   |
| Ácido heptanóico   | 0,11  | 0,00   | 0,24   |
| Ácido caprílico    | 1,29  | 0,62   | 2,97   |
| Ácido capríco      | 1,74  | 0,76   | 3,20   |
| Ácido laurílico    | 1,42  | 0,37   | 2,87   |
| Ácido mirsítico    | 0,72  | 0,13   | 1,59   |
| Ácido palmítico    | 1,29  | 0,25   | 4,12   |

Fonte: (NASCIMENTO et al., 2000)

Nota: Resultados expressos em mg 100 mL<sup>-1</sup> aa ou n.d. (não detectado). N (número de amostra) = 17 amostras.

Os ácidos graxos que são produzidos durante o período de aeração das leveduras, para a formação do mosto fermentativo, são altamente indesejáveis, porque seu arraste durante a destilação acarreta turvação e aromas desagradáveis na bebida (DIAS, MAIA e NELSON, 1998; FARIA et al., 2003).

A alta acidez presente em aguardentes pode ser atribuída à contaminação da cana ou do próprio mosto fermentativo por bactérias acéticas e outras, seja na

estocagem da cana ou no próprio caldo de cana, fazendo com que parte do substrato sofra fermentação acética, elevando, assim, a acidez e diminuindo o rendimento da produção de etanol (<sup>§§</sup>MAIA et al., 1994 apud MARINHO, RODRIGUES E SIQUEIRA, 2009).

Durante o envelhecimento em barris de madeira, a concentração dos ácidos orgânicos aumenta como resultado dos extrativos ácidos da madeira, oxidação do etanol e evaporação do etanol e da água (CONNER, 1999 ).

### 2.10.2 Aldeídos

Os aldeídos são compostos voláteis, com toxicidade bem conhecida. O aldeído acético (acetaldeído, etanal, CH<sub>3</sub>CHO), está presente em bebidas alcoólicas e em diversos alimentos, é utilizado amplamente como aromatizante artificial sabor de frutas como maçã, damasco, banana e pêssego. Aldeído acético é comumente encontrada em frutas (cítricas), pois é um produto intermediário na respiração das plantas superiores (MIYAKE e SHIBAMOTO, 1993). O aldeído acético é o aldeído encontrado em maior quantidade na cachaça (NASCIMENTO et al., 1997), conforme mostra Tabela 7.

**Tabela 7** - Aldeídos presentes nas cachaças comerciais brasileiras.

| <b>Aldeído</b>       | <b>Média</b> | <b>Minimo</b> | <b>Máximo</b> |
|----------------------|--------------|---------------|---------------|
| Formaldeído          | 0,19         | 0,002         | 1,20          |
| Hidroximetilfurfural | 0,49         | n.d.          | 1,86          |
| <b>Acetaldeído</b>   | <b>11,20</b> | <b>3,30</b>   | <b>20,00</b>  |
| Acroleína            | 0,14         | n.d.          | 0,66          |
| Furfural             | 0,40         | n.d.          | 2,60          |
| Propionaldeído       | 0,02         | n.d.          | 0,06          |
| Butiraldeído         | 0,20         | n.d.          | 1,90          |
| Benzaldeído          | 0,13         | n.d.          | 0,54          |
| Isovaleraldeído      | 0,06         | n.d.          | 0,21          |
| Valeraldeído         | 0,11         | n.d.          | 0,31          |

Fonte: (NASCIMENTO et al., 1997)

Nota: Resultados expressos em mg 100 mL<sup>-1</sup> aa ou n.d. (não detectado).

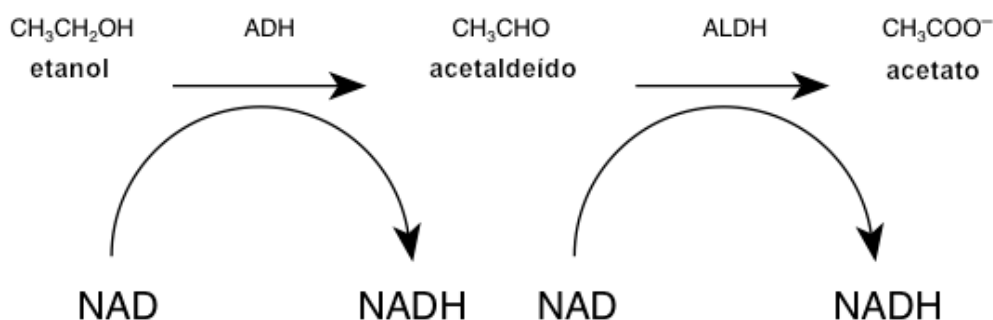
Em vinhos, o aldeído acético pode ser formado pelas leveduras, bactérias do

<sup>§§</sup> MAIA, A. B. et al. **Segundo curso de tecnologia para produção de aguardente de qualidade.** Escola de Engenharia da UFMG e Fundação Cristiano Otoni, 1994.

ácido acético, e auto-oxidação acoplada do etanol e compostos fenólicos (LIU e PILONE, 2000). O aldeído acético está presente na cachaça, sendo metabolizado a partir do etanol no organismo humano (SWIFT e DAVIDSON, 1998), conforme Figura 25.

O etanol é metabolizado à aldeído acético através da enzima ADH (álcool desidrogenase), e redução do NAD (nicotinamida adenina dinucleotídeo). O aldeído acético é metabolizado no organismo pela enzima ALDH (aldeído-desidrogenase-2), que o converte em acetato. A metabolização do aldeído acético ocorre de forma rápida e eficiente, para que este metabólito intermediário não se acumule em altas concentrações no organismo durante a intoxicação alcoólica, embora pequenas quantidades estejam presentes no sangue normalmente. No entanto, em algumas pessoas, a variante genética da enzima ALDH permite que o aldeído acético se acumule. Essas pessoas rotineiramente apresentam reações como suor, vermelhidão facial, cefaléia, taquicardia, tontura e náuseas após consumir pequenas quantidades de álcool (SWIFT e DAVIDSON, 1998).

**Figura 25** – Metabolismo de bebidas alcoólicas (etanol) pela via ADH (álcool desidrogenase).



Fonte: (SWIFT e DAVIDSON, 1998).

Nota: ADH (álcool desidrogenase), ALDH (Aldeído-Desidrogenase-2), NAD (nicotinamida adenina dinucleotídeo) e NADH (NAD reduzida).

Vários produtos têm apresentado altas concentrações de aldeído acético como, cachaça (cuxá) da Guatemala, a tequila (aguardente de agave no México), e certos destilados da China, bem como vinhos licorosos e aguardentes de frutas da Europa. Outros pesquisadores também detectaram níveis igualmente elevados na sidra francesa (LACHENMEIER, KANTERES e REHM, 2009).

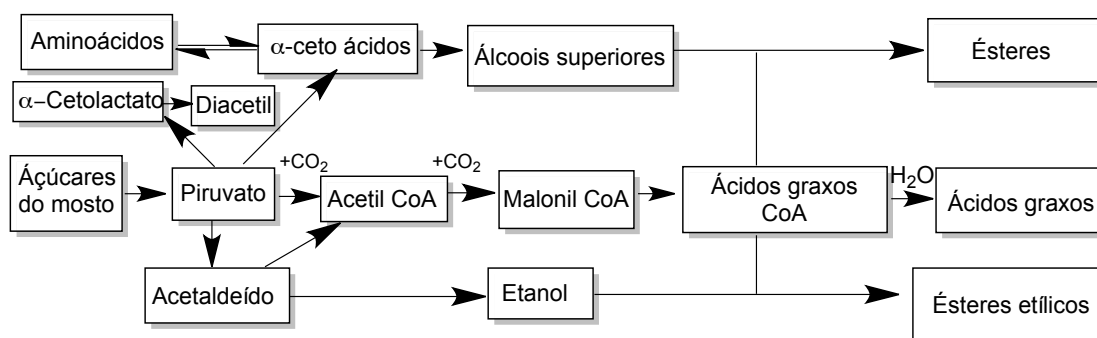
O aldeído acético é extremamente reativo e se liga rapidamente às proteínas,

especificamente a glutatona ou a aminoácidos individuais, gerando vários compostos aromatizantes (LIU e PILONE, 2000). De acordo com a Agência Internacional de Pesquisa do Câncer (International Agency for Research on Cancer IARC), o aldeído acético está classificado como substância possivelmente carcinogênica para humanos (Grupo 2B) (INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC), 1999). Portanto, a ocorrência de aldeído acético em bebidas alcoólicas, incluindo a cachaça, é um problema prevalente em escala mundial.

### 2.10.3 Ésteres

Ésteres são agentes flavorizantes que fornecem características ímpares florais e frutíferas a cervejas, vinhos e destilados, tais como uísque e conhaque. Sua presença é aceitável em determinadas concentrações. No entanto, falhas no controle das fermentações podem resultar em níveis de ésteres inaceitáveis para o produto final. Mais de 90 diferentes ésteres tem sido detectados em cerveja, vinho, uísque e cachaça. Os mais importantes são acetato de etila (aroma frutado), acetato de isoamila (aroma de banana e maçã), acetato de isobutila (aroma de banana e frutado), caproato de etila (aroma de maçã e anis) e acetado de  $\beta$ -feniletila (aroma de rosas e mel). Vários fatores afetam os níveis de ésteres nas fermentações: características da levedura, composição do mosto e as condições da fermentação. A via metabólica de produção de ésteres pela leveduras segue de uma forma geral o esquema da Figura 26 (LEE et al., 2001).

**Figura 26** – Metabolismo do açúcar nas fermentações e produção de ésteres.



Fonte: (LEE et al., 2001).

Nota: Acetil CoA (Acetil Coenzima A), Acil CoA (Acil Coenzima A), CoA (Coenzima A).

CoA

O acetil CoA é formada pela via glicolítica a partir dos açúcares do mosto, e do intermediário piruvato. O piruvato resultante da clivagem da glicose perde seu grupo carboxila formando o acetil-CoA, que sofre carboxilação formando o malonil-CoA. Para a formação do ácido graxo, uma molécula de acetil-CoA e sete moléculas do ácido malônico, na forma de seu tioéster malonil-CoA, que são agregados sucessivamente para sintetizar uma molécula de ácido graxo (ex. ácido palmítico, C16), com a liberação de sete moléculas de CO<sub>2</sub>. Nas fermentações alcoólicas, os ácidos graxos CoA reagem com alcoóis livres para formar ésteres, com velocidades que são inversamente proporcionais ao tamanho da cadeia alifática, e sua produção está diretamente relacionada à concentração de ácidos graxos. Certos ácidos, nomeadamente hexanóico (capróico, C6) e tetradecanóico (mirístico, C14), reagem lentamente em maturações, e outros como o decanoato de etila (caprato, C10), hexadecanoato (palmitato, C16) e 9,12,15-octadecatienoate (linoleato, C18) – reagem rapidamente (LEE et al., 2001). Há um processo integrado dos produtos do metabolismo do açúcar, portanto, a concentração celular do acetil-CoA e CoA livre, regulam o metabolismo intermediário, e a síntese de éster deve ter um método de controle da carga-acetil. O metabolismo do éster deve ser um processo de detoxicação de ácidos graxos (C8 e C14) que são tóxicos às células de levedura. Então, a esterificação desses ácidos graxos deve funcionar como uma proteção celular (STEWART, 2008).

Nas cachaças comerciais foram identificados os seguintes ésteres, conforme mostra Tabela 8.

**Tabela 8** - Ésteres presentes nas cachaças comerciais brasileiras.

| <b>Ésteres</b>        | <b>Média<br/>(mg 100 mL<sup>-1</sup>)</b> | <b>Mínimo<br/>(mg 100 mL<sup>-1</sup>)</b> | <b>Máximo<br/>(mg 100 mL<sup>-1</sup>)</b> |
|-----------------------|---|--|--|
| Acetato de etila      | 44,0                                      | 1,56                                       | 433  |
| Butirato de etila     | 0,631                                     | 0,0036                                     | 19,7                                       |
| Benzoato de etila     | 0,20                                      | 0,0342                                     | 1,20                                       |
| Lactato de etila      | 25,5                                      | 0,0766                                     | 244  |
| Octanoato de etila    | 0,661                                     | 0,0991                                     | 3,6  |
| Nonanoato de etila    | 0,0722                                    | 0,0377                                     | 0,138                                      |
| Decanoato de etila    | 1,37                                      | 0,1320                                     | 7,33                                       |
| Octanoato de isoamila | 0,114                                     | 0,0666                                     | 0,234                                      |
| Laurato de etila      | 0,633                                     | 0,0831                                     | 4,03                                       |

Fonte: (NASCIMENTO, CARDOSO e FRANCO, 2008)

No envelhecimento de bebidas alcoólicas, a esterificação dos ácidos graxos origina grandes quantidades de acetato de etila, produzido a partir do ácido acético por hidrólise dos grupos acetil da hemicelulose, oxidação do etanol, e queima da madeira. No entanto, as reações de esterificação durante o envelhecimento ocorrem via reação química direta, sem a presença das enzimas do processo fermentativo, mas em menor velocidade (NASCIMENTO et al., 2000).

O principal éster encontrado na cachaça é o acetato de etila que, em pequenas quantidades, incorpora um aroma agradável de frutas. No entanto, em grandes quantidades, o acetato de etila confere à bebida um sabor indesejado e enjoativo (CARDOSO, 2006).

#### 2.10.4 Alcoóis Superiores

Os alcoóis superiores com mais de 2 átomos de carbono são comumente chamados de álcool fúsel. Sabe-se que os alcoóis superiores são formados pelo metabolismo das leveduras a partir de aminoácidos e, portanto, são constituintes naturalmente encontrados em bebidas alcoólicas. Álcoois superiores são formados na via Ehrlich, onde aminoácidos do mosto são metabolizados pelas leveduras e, após transaminação  $\alpha$ -ceto ácidos e suas descarboxilações subsequentes, são formados os álcoois correspondentes, conforme Figura 26. Por exemplo, álcool isoamílico, isobutanol e *n*-propanol são provenientes, respectivamente, da leucina, valina, treonina e vias biossintéticas (NYKÄNEN e SUOMALAINEN, 1983; HAZELWOOD, 2008).

Os principais alcoóis superiores são: 1-propanol (*n*-propanol), 1-butanol (*n*-butanol), 2-butanol (*sec*-butanol), isobutanol (2-metil-1-propanol) e álcool isoamílico (3-metil-1-butanol, álcool isopentílico, álcool isobutil carbinol,  $(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ). Os álcoois superiores são importantes flavorizantes, geralmente apresentam um odor característico de flores, e, juntamente com os ésteres, são responsáveis pelo *flavour* (sabor e aroma) da cachaça. Os alcoóis superiores encontrados em maior quantidade nas cachaças foram: álcool isoamílico, isobutílico e propílico, álcool cetil (1-hexadecanol), e álcool cinâmico (2E)-3-fenilprop-2-en-1-ol (BOSCOLO et al., 2000).

Os principais álcoois superiores encontrados em cachaças estão descritos na Tabela 9.

**Tabela 9** - Alcoóis superiores presentes nas cachaças comerciais brasileiras.

| <b>Álcoois superiores</b>                      | <b>Média</b>  | <b>Mínimo</b> | <b>Máximo</b> |
|--|---------------|---------------|---------------|
| Álcool amílico                                 | 0,13          | 0,05          | 0,20          |
| 1,4-butanodiol                                 | 0,13          | 0,04          | 0,20          |
| Álcool cetil<br>(1-hexadecanol)                | 6,13          | 2,20          | 10,10         |
| Álcool cinâmico<br>(2E)-3-fenilprop-2-en-1-ol) | 6,95          | 3,50          | 12,00         |
| Decanol  | 0,21          | n.d.          | 0,60          |
| n-dodecanol                                    | 0,01          | n.d.          | 0,05          |
| Geraniol                                       | 0,62          | 0,25          | 0,86          |
| <b>Álcool isoamílico</b>                       | <b>138,00</b> | <b>13,00</b>  | <b>198,00</b> |
| <b>Isobutanol</b>                              | <b>62,00</b>  | <b>40,00</b>  | <b>96,00</b>  |
| Mentol   | 0,51          | 0,25          | 0,73          |
| Álcool 2-feniletil                             | 0,02          | n.d.          | 0,09          |
| <b>n-propanol</b>                              | <b>46,00</b>  | <b>37,00</b>  | <b>60,00</b>  |
| n-tetradecanol                                 | 0,04          | n.d.          | 0,17          |

Fonte: (BOSCOLO et al., 2000)

Resultados expressos em mg 100 mL<sup>-1</sup> aa ou n.d. (não detectado).

Trabalhos anteriores, descreveram que grandes quantidades de óleo fúsel diminuem o valor comercial e a qualidade das cachaças, e o teor de álcoois superiores devem acompanhar, proporcionalmente, os ésteres em uma cachaça de boa qualidade (\*\*\* SOUSA et al., 1978 apud VILELA et al., 2007).

#### 2.10.5 Furânicos

O furfural (FURF) e o hidroximetilfurfural (HMF) podem ser formados nas etapas de: colheita da cana-de-açúcar, se esta sofrer queima prévia; destilação, a partir de açúcares residuais ou bagacilho presentes durante o aquecimento do vinho; e envelhecimento, principalmente, na carbonização dos barris (MASSON et al., 2007).

---

\*\*\* SOUSA et al. **Alguns componentes do coeficiente não álcool da aguardente de cana: determinação por cromatografia de fase gasosa** - Brasil Açucareiro, Rio de Janeiro, 1978.

A celulose é um homopolissacarídeo linear formado por unidades de glucose unidas entre si através de ligações glicosídicas do tipo  $\beta$  (1 $\rightarrow$ 4), que resultam da perda de uma molécula de água. A celulose é fibrosa e húmida, e em sua estrutura se estabelecem múltiplas ligações de hidrogênio entre os grupos hidroxilas das distintas cadeias juntapostas de glucose, fazendo-as impenetráveis a água e, portanto, insolúveis, originando fibras compactas que constituem a parede celular dos vegetais (CARVALHO et al., 2009).

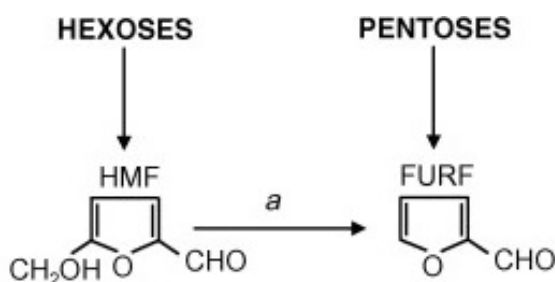
Quando os barris de madeira são confeccionados, a parte interna das aduelas é queimada e molhada para evitar sua ruptura, ocorrendo nesta etapa a redução parcial da celulose por termólise e formação do 5-hidroximetilfurfural (HMF). Portanto, o HMF é um extrativo por decomposição originado através do processo de pirólise (Figura 17) (MOSEDALE e PUECH, 1998).

A hemicelulose é o polímero estrutural mais susceptível a degradação, sendo menos estável do que a celulose e menos abundante. É um polissacarídeo bidimensional, formado por uma mistura de polímeros de pentoses (xilose e arabinose) e/ou hexoses (glucose, manose e galactose), ácidos urônicos e grupos acetila, que podem ser lineares ou ramificados, amorfo e possui peso molecular relativamente baixo. As hemiceluloses são divididas em pentosanas e hexosanas, que por hidrólise produzem pentoses (xilose e arabinose) e hexoses (glucose), respectivamente (CARVALHO et al., 2009).

A formação de furfural (FURF) origina-se da pirólise das pentoses da hemicelulose, e ocorre quando as aduelas são submetidas à carbonização no processo de queima durante a fabricação dos barris nas tanoarias (Figura 15). A formação do FURF inicia-se a 200 °C, quando as ligações glicosídicas e C-C dos anéis dos piranos são quebradas, a 225 °C inicia-se a destruição molecular e a 290 °C fragmentos moleculares são desidratados dando origem ao FURF. A origem dos dois aldeídos furânicos, HMF e FURF ocorrem via reações de escurecimento de Maillard ou ao processo de caramelização, quando alguns açúcares são aquecidos acima do seu ponto de fusão, portanto, o HMF e o FURF são extrativos por decomposição originados através do processo de pirólise, conforme Figura 27 (MOSEDALE e PUECH, 1998).



**Figura 27** - Rotas de formação do hidroximetilfurfural (HMF) e furfural (FURF).



Fonte: (MOSEDALE e PUECH, 1998).

A queima e tostagem dos barris são extremamente complexas mas estão claramente associados ao desenvolvimento de *flavours* durante o envelhecimento da cachaça. No entanto, a concentração dos aldeídos furânicos relacionada ao envelhecimento em barris de madeira é influenciada por diversos aspectos que envolvem o processo de carbonização, a composição química da madeira, e a presença ou ausência de caramelo. Portanto, considerando que o furfural pode ser adicionado ao produto através do emprego do caramelo, ele não pode ser empregado como um marcador do envelhecimento (MASSON et al., 2007; GRANADOS et al., 1996).

A legislação brasileira determina o limite máximo de 5 mg 100 mL<sup>-1</sup> aa para a soma de furfural e 5-hidroximetilfurfural em cachaça (BRASIL, 2005).

## 2.11 Contaminantes da Cachaça

As substâncias contaminantes da cachaça são aquelas que não trazem benefício à bebida (flavour, aroma, etc) e são extremamente tóxicas aos consumidores, como: metanol, álcool *sec*-butanol, álcool *n*-butanol, acroleína e carbamato de etila. Segue abaixo uma pequena revisão de literatura sobre cada um dos contaminantes que foram analisados neste estudo.

### 2.11.1 Metanol

O metanol está relacionado aos efeitos da ressaca (em inglês *hangover*). O metanol é encontrado nas bebidas alcoólicas juntamente com o etanol. O metanol é originado da degradação da pectina (CARDOSO, 2006).

O etanol e o metanol diferem ligeiramente na estrutura química, e portanto, as mesmas enzimas que metabolizam o etanol, álcool desidrogenase (ADH) e aldeído desidrogenase (ALDH), também metabolizam o metanol. O metanol é rapidamente distribuído em todos os tecidos do corpo, sendo lentamente oxidado pela álcool desidrogenase (ADH) do fígado à formaldeído, que é convertido em ácido fórmico ou formato, pela aldeído desidrogenase (ALDH). O ácido fórmico é desintoxicado do organismo por uma via folato-dependente até dióxido de carbono, num processo lento. Como os processos oxidativos nas células são tóxicos, ácidos orgânicos se acumulam tornando a acidez extrema. A toxicidade aguda é caracterizada pela síndrome da acidose metabólica, depressão do sistema nervoso central, cegueira, coma e até morte. A gravidade da acidose metabólica é variável e se correlaciona com a quantidade de metanol ingerida. A variabilidade da dose tóxica é uma característica proeminente na toxicidade do metanol. Os sintomas de envenenamento por metanol, que podem aparecer de 12 a 24 horas, incluem distúrbios visuais, náuseas, dores abdominais e musculares, dores, tontura, fraqueza e distúrbios de consciência, que vão do coma à clônias. A dose letal de metanol para os seres humanos não se sabe ao certo, mas é relatado que pode variar de 0,3 a 1 g kg<sup>-1</sup>. O metanol permanece no organismo após a queda de níveis de etanol, porque o etanol inibe competitivamente o metabolismo do metanol (WHO, 1997).

Foi determinada a concentração média de metanol em diversas cachaças comerciais no Brasil e foram encontrados 5,66 mg 100mL<sup>-1</sup> aa (faixa de variação de 0,87 a 9,20 mg 100 mL<sup>-1</sup> aa) (BOSCOLO et al., 2000).

A legislação brasileira define que o metanol (álcool metílico) não pode estar presente na cachaça, em quantidade superior a 20 mg 100 mL<sup>-1</sup> aa (BRASIL, 2005).

#### 2.11.2 *sec*-butanol e *n*-butanol

Os alcoóis *sec*-butanol e *n*-butanol são contaminantes oriundos da fermentação dos carboidratos, e apresentam baixa toxicidade (WHO, 1987).

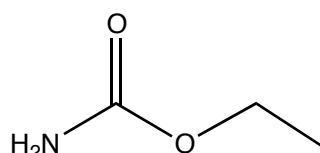
Portanto, a legislação estabeleceu os seguintes limites para a presença desses alcoóis na cachaça: *sec*-butanol em quantidade não superior a 10 mg 100 mL<sup>-1</sup> aa e *n*-butanol em quantidade não superior a 3 mg 100 mL<sup>-1</sup> aa (BRASIL, 2005).

## 2.12 Carbamato de Etila

Carbamato de etila (CE) ou uretana é um composto genotóxico *in vitro* e *in vivo*, se liga covalentemente ao DNA sendo, provavelmente, cancerígeno aos seres humanos, conforme Figura 28. A Agência Internacional de Pesquisa do Câncer (IARC) recentemente reclassificou o CE para o grupo 2A (provavelmente cancerígeno para humanos) (INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC), 1974). CE é encontrada, principalmente, como um constituinte traço, natural em diferentes alimentos fermentados como pão, iogurte, e bebidas alcoólicas (SCHLATTER e ZIMMERLI, 1991).

De acordo com a Instrução Normativa 13, de 29 de junho de 2005 foi estabelecido o limite máximo permitido de  $150 \mu\text{g L}^{-1}$  para CE em cachaça, e um prazo máximo de 5 anos (até 2010) para adequação e controle desse contaminante com início na data da publicação da referida instrução normativa. É importante o conhecimento dos níveis de ocorrência do CE, porque além de ser uma substância potencialmente carcinogênica, a sua presença em concentrações superiores a  $150 \mu\text{g L}^{-1}$  constitui uma barreira para exportações desses alimentos e bebidas para a Europa e América do Norte (BRASIL, 2005).

**Figura 28** – Estrutura química do carbamato de etila (CE).



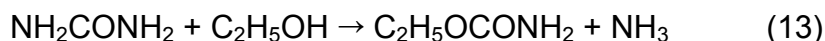
Carbamato de etila (uretana)

Fonte: (NIST, 2011).

Vários estudos identificaram CE em cachaças na faixa de concentração de 55 a  $700 \mu\text{g L}^{-1}$  (70%), valores estes, superiores ao limite de  $150 \mu\text{g L}^{-1}$  estabelecido pela legislação (NÓBREGA et al., 2009).

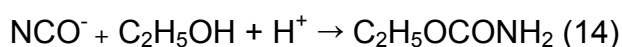
Existem várias vias possíveis para a formação de CE nos alimentos, geralmente, envolvendo a reação entre o etanol e precursores nitrogenados, tais como uréia, fosfato de carbamila e cianeto (SCHLATTER e ZIMMERLI, 1991)

Uma das maneiras mais comuns de CE de produção, em meio ácido, é a reação de uréia com etanol mostrada pela equação (13):

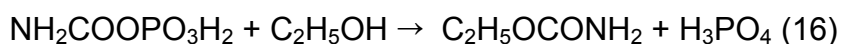


A uréia pode ser encontrada em diversos alimentos e bebidas alcoólicas. A uréia é uma fonte de nitrogênio para as leveduras e, frequentemente, era adicionada as dornas de fermentação. No entanto, a uréia também pode ser produzida durante a fermentação (POLASTRO et al., 2001).

Alguns outros mecanismos de formação de CE, a partir da uréia são descritos. A uréia pode se decompor em isocianato e cianato em soluções aquosas de etanol entre 60 e 100 °C. Pela reação com etanol, isocianato e cianato formam CE em meio ácido (equação 14). Outro caminho possível é a decomposição térmica de uréia de amônia e ácido cianídrico (equação 15), e formação de CE pela reação do ácido cianídrico com etanol.

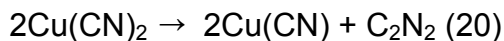
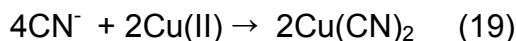


Durante a fermentação maloláctica e, especialmente, durante a fermentação, diferentes precursores CE como a citrulina, e em menor quantidade o carbamilsfosfato são produzidas por leveduras ou bactérias a partir de proteínas. A etanolise destes precursores leva ao alto nível de CE (ver equação 16).



Outra fonte natural ocorre via ânion cianeto ( $\text{CN}^-$ ). Há muitas plantas que produzem cianoglicosídeos, tais como a cana-de-açúcar (*Sacharum officinarum*), e principalmente, a mandioca (JONES, 1998). O que pode explicar o fato da tiquira ter apresentado um maior teor de CE do que a cachaça (ANDRADE-SOBRINHO et al., 2002). A mandioca, matéria-prima empregada na produção da tiquira, contém mais cianogênicos do que a cana-de-açúcar. O ânion cianeto é convertido em cianato e isocianato que são os maiores precursores do CE. A conversão direta de cianeto a

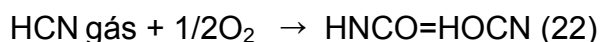
cianato, em solução aquosa e sem catalisador, é lenta em meio ácido (equação 17). As principais formas indiretas para a formação de cianato e isocianato, através do catalisador cobre (II), estão demonstradas nas equações 18 e 21.



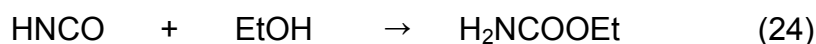
Sabe-se que a destilação da cachaça, em muitos alambiques, é feita em destiladores de cobre, tornando-se uma importante fonte de catalisador para as reações de formação do carbamato de etila (ARESTA, BOSCOLO e FRANCO, 2001).

No entanto, muitos outros mecanismos aumentam a produção de CE por diferentes reações na fase gás durante a destilação. Isto pode ser explicado porque apenas uma pequena parte do carbamato de etila é vaporizado e encontrado no destilado, devido ao seu alto ponto de ebulição próximo de 184 °C. Estima-se que 80% do carbamato de etila seja formado durante a destilação ou nas primeiras 48 horas depois da destilação. Os precursores do CE na fase gás são o HCN e HCNO (HOCN) presentes ou formados durante a destilação em solução etanólica. Devido ao baixo ponto de ebulição desses ácidos eles podem ser vaporizados e produzirem CE na fase gás. Principalmente, quando na presença do cobre (II) dos alambiques de cobre, bons catalisadores da reação de formação do CE, equação 22.

Cu (II)



O HCNO (HOCN) pode reagir com o etanol e gás e produzir vários intermediários como o ácido carbâmico e o etil cianato (equações 23, 24, 25).



Já se sabe, que dois fatores são muito importantes na produção de CE, que são: a presença de sais metálicos (Cu(II) ou Fe(II)) e luz (principalmente UV). O sinergismo entre esses dois fatores já foi observado. A via para a produção de CE inicia-se com a etanólise catalítica dos precursores do CE, que são formados na fase gás durante a destilação, e posterior reações conduzidas pelo radical hidroxil (OH•) através da bem conhecida auto-oxidação de compostos insaturados, seguida da oxidação do cianeto a cianato, e finalmente produção do CE (WEBER e SHARYPOV, 2009).

As ações de prevenção da formação do CE em bebidas destiladas são singulares por vários aspectos:

- 1 - Apresentam altos níveis de CE dentre alimentos e bebidas;
- 2 - Seus precursores não são precisamente a uréia, nem proteínas (arginina), mas principalmente o ácido cianídrico;
- 3 – O CE é o produto final formado durante e, principalmente, depois da destilação;
- 4 – O cobre dos alambiques é o catalisador inicial da oxidação do HCN, precursor do CE na fase gás ou em solução.

Em bebidas destiladas, a prevenção para a formação o CE pode ser feita pela eliminação do cianeto da matéria-prima, antes da destilação. Além, da eliminação do cobre (II) do destilado, evitando a formação catalítica do CE. A dupla destilação tem sido o procedimento mais comum para a remoção de CE de bebidas alcoólicas destiladas, devido à sua baixa volatilidade em soluções alcoólicas (RIFFKIN et al., 1989). No entanto, esse procedimento normalmente leva a perdas na produção de etanol e aroma.

Os menores valores de CE foram encontrados ao maximizar o refluxo na destilação na parte ascendente, e minimizando a exposição ao cobre na parte

descendente (através da utilização de aço inoxidável), pôde-se reduzir o CE, e também evitar a contaminação por cobre (BRUNO et al., 2007).

Os níveis de CE da cachaça de cor amarelada (envelhecida em barris) apresentavam-se muito mais contaminadas do que as cachaças incolores (NÓBREGA et al., 2009).

As boas práticas de fabricação, que incluem a boa qualidade da matéria-prima, controle adequado da fermentação, tempo de estocagem, e limpeza periódica dos alambiques de cobre (II), são indicadas para a redução dos níveis de CE na cachaça (WEBER e SHARYPOV, 2009).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

As análises dos compostos fenólicos, furfuraldeído e capacidade antioxidante foram desenvolvidas no Laboratório de Análise Instrumental, da Coordenação de Química, do Instituto Federal de Alagoas.

As análises dos congêneres, contaminantes e carbamato de etila foram desenvolvidas no Laboratório de Pesquisa em Química dos Produtos Naturais - LPQPN, do Instituto de Química e Biotecnologia, da Universidade Federal de Alagoas.

#### 3.1 Amostras de Cachaça

Um lote de cachaça, produzido numa única batelada, foi adquirido numa destilaria local, J. Gomes Neto - Me (Joaquim Gomes, Alagoas, Brasil). Novos barris de 20 litros foram adquiridos de produtores brasileiros para o envelhecimento da cachaça. Exceto o barril de carvalho que foi comprado reformado. Todas as madeiras usadas na produção dos barris foram identificadas botanicamente por métodos macroscópicos e microscópicos de exame da anatomia do lenho pelo Laboratório de Madeiras e Produtos Derivados, do Instituto de Pesquisas Tecnológicas - IPT (São Paulo, Brasil). O IPT certificou amostras das madeiras de todos os barris empregados neste trabalho: courbaril (*Hymenaea* sp.), peroba-do-campo (*Paratecoma peroba*), balsamo (*Myroxylon balsamum*), jequitiba (*Cariniana* sp.), cerejeira (*Amburana cearensis*), timborana (*Piptadenia* sp.), jaboty (*Erismia uncinatum*), itauba (*Mezilaurus itauba*) e carvalho branco (*Quercus* sp.), conforme mostra o Anexo 1. Os barris com 20 litros apresentavam aproximadamente as seguintes dimensões: 33 cm de diâmetro da base, 28 cm de diâmetro de topo e 44 cm de altura, conforme mostra a Figura 29. Foi feito o envase de exatamente 20 L de cachaça em cada barril. A cachaça apresentava teor alcoólico de 47,10% (v/v a 20 °C). Depois do envase todos os barris foram armazenados por 18 meses na posição vertical e no mesmo ambiente, com pouca iluminação, temperatura entre 19 °C e 26,5 °C, e umidade relativa do ar entre 67 a 80%. Foram coletadas amostras da cachaça não envelhecida (CNE) e das cachaças em processo de envelhecimento nos meses 0, 1, 3, 6, 9, 12 e 18. A denominação utilizada para as amostras foi o nome da madeira seguido pelo mês de envelhecimento, como por exemplo: balsamo



18, peroba 1, balsamo 1-18 (refere-se às amostras coletadas nos meses 1, 3, 6, 9, 12 e 18). Após a coleta, as amostras foram filtradas em filtros seringas Millex descartáveis com diâmetro de 25 µm e membrana de 0,45 µm de fibra de vidro ligada a resina de acrílico, e armazenadas em frascos de vidro sob a temperatura de -12 °C, em ambiente escuro. Um total de 61 amostras de cachaças foram analisadas, considerando a cachaça não envelhecida e nove cachaças envelhecidas em diferentes madeiras analisadas nos meses 1, 3, 6, 9, 12 e 18 do envelhecimento, conforme mostra a Figura 30.

Três amostras comerciais de cada uma das seguintes bebidas alcoólicas: vinho tinto, vinho branco, conhaque e uísques.

**Figura 29** – Barris utilizados para o envelhecimento da cachaça.



**Figura 30** – Cachaças envelhecidas nos nove diferentes barris envelhecidas por 1, 3, 6, 9, 12, 18 meses.



Fonte: A autora, 2011.

### 3.2 Reagentes e Padrões

Os reagentes utilizados para as análises de compostos fenólicos, furfuraldeído e capacidade antioxidante estão descritos a seguir. Todos os solventes de grau HPLC utilizados foram adquiridos da Sigma-Aldrich Brasil Ltda. (São Paulo, Brasil). A água purificada foi produzida por um sistema Milli-Q. Millipore (Bedford, MA, USA). Os padrões e reagentes de grau analíticos, adquiridos da Sigma-Aldrich Brasil Ltda., foram: ácido gálico (ácido 3,4,5-trihidroxibenzóico), ácido siríngico (ácido 3,5-dimetoxi-4-hidroxibenzóico), ácido vanílico (ácido 4-hidroxi-3-metoxibenzóico), vanilina (ácido 4-hidroxi-3-metoxibenzaldeído), siringaldeído (ácido 3,5-dimetoxi-4-hidroxibenzaldeído), escopoletina (7-hidroxi-6-metoxi-2H-cromen-2-ona), cumarina (2H-cromen-2-ona), 2-furfuraldeído (2-furancarboxaldeído), DPPH· (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), reagente fenol Foulin-Ciocalteau 2N, acetato de sódio trihidratado, acetona p.a., ácido acético glacial p.a., ácido clorídrico p.a., cloreto férrico hexahidratado, TPTZ (2,4,6-tris(2-piridil)-s-triazina).

Os reagentes e padrões utilizados para as análises de congêneres e contaminantes estão descritos a seguir. Os padrões analíticos utilizados foram: aldeído acético, acetona, acetato de etila, metanol, *sec*-butanol, *n*-propanol, *iso*-butanol, *n*-butanol, *isoamílico* e *n*-pentanol fornecidos pela Vetec Química Fina Ltda. Todos os padrões eram de grau de pureza analítico. Para o preparo da solução alcoólica (etanol/água) 50% (v/v) foi utilizado álcool etílico grau cromatoGráfico, fornecido pela Merck, e água purificada por um sistema de purificação Milli-Q.

O padrão utilizado para as análises de carbamato de etila foi o carbamato de etila ou uretana fornecido pela Sigma-Aldrich (pureza  $\geq 99\%$ ).

### 3.3 Validação dos Métodos Analíticos

A validação dos métodos analíticos foi realizada baseando-se no guia da ICH (International Conference of Harmonization of Technical Requirements for Registration on of Pharmaceuticals for Human Use) através dos seguintes parâmetros: linearidade, faixa de trabalho, precisão (CV ou “coefficient of variation”), exatidão, limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ).

A linearidade correspondeu à capacidade do método analítico em fornecer resultados diretamente proporcionais à concentração da substância exame, dentro

de uma determinada faixa de aplicação. A linearidade foi avaliada através das curvas analíticas de cada padrão e do coeficiente de correlação ( $R^2$ ). As curvas analíticas ( $y = ax + b$ ) foram determinadas através de regressão linear a partir das medições experimentais de pelo menos cinco concentrações diferentes e do branco, e foram obtidos os coeficientes da curva analítica  $a$  (inclinação da curva) e  $b$  (intercepto da curva). Nas curvas analíticas foram avaliados os erros padrão, calculados dividindo-se o desvio padrão (Std.) pela raiz quadrada do número de medidas que compõem a média (representado por N), conforme equação (25).

$$\text{Erro padrão} = \text{Std.} / \sqrt{N} \quad (25)$$

A precisão é representada pelo CV (coeficiente de variação) determinado pela proximidade dos resultados obtidos, em três níveis de concentrações (medidas em triplicata cada uma) dos padrões analíticos englobando toda a faixa de trabalho, através da equação (26).

$$\text{CV} = \text{Std.} / X * 100 \quad (26)$$

O desvio padrão e a média das concentrações medidas foram representados por Std. e X, respectivamente.

A exatidão foi determinada através de ensaios de recuperação (*spiking*), realizados através de medidas experimentais em três níveis de concentrações (medidas em triplicata cada uma) pelo método de adição de padrão em amostras de cachaça, cujas concentrações teóricas eram conhecidas, conforme a equação (27).

$$\text{Exatidão} = \frac{\text{concentração experimental} \times 100}{\text{concentração teórica esperada}} \quad (27)$$

Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram determinados a partir do desvio padrão do intercepto ( $S_b$ ) e da inclinação da curva analítica ( $a$ ), e aplicados às equações (28) e (29), respectivamente.

$$\text{LD} = 3,3 * S_b / a \quad (28)$$

$$LQ = 10 * S_b / a \quad (29)$$

A faixa de trabalho foi definida com valor mínimo igual ao limite de quantificação (LQ) e valor máximo como a maior concentração medida na elaboração da curva analítica. As amostras que apresentaram resultado acima do limite máximo estabelecida pela faixa de trabalho, foram diluídas com água destilada na proporção adequada para que a concentração final seja a concentração média da faixa de trabalho (ICH - INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONIZATION), 1994; MILLER e MILLER, 2005).

### 3.4 Análises dos Compostos Fenólicos e Furfuraldeído em HPLC

As análises dos compostos fenólicos e furfuraldeído foram determinadas por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) utilizando um sistema Shimadzu LC-10Ai (Kyoto, Japão), composto pelos seguintes módulos: sistema de controle SCL-10-AVP, detector UV-VIS SPD-10AV, bomba recíproca de 2 estágios, injetor manual Rheodyne ID 0495 com um *loop* de 20  $\mu$ L, e *software* de aquisição de dados Class-VP, conforme Figura 31. Os compostos fenólicos e furfuraldeído foram separados em cromatografia em fase reversa numa coluna Shimadzu C18 Shim-pack CLC-ODS (M) com 4,6 mm ID X 15 centímetros de comprimento (Tosoh, Japão).

**Figura 31** – Sistema HPLC (Shimadzu).



Fonte: A autora, 2011.

As análises em HPLC para quantificação dos compostos fenólicos e furfuraldeído, foram desenvolvidas através de modificações feitas na metodologia previamente desenvolvida para análise em cachaça (AQUINO et al., 2006). Diferentes fases móveis foram avaliadas, e as melhores condições para separação foram obtidas com uma eluição isocrática de uma mistura dos solventes água / ácido acético / metanol (93,1% / 1,9% / 5,0%) (v/v). A eluição foi feita a temperatura ambiente, vazão constante a  $1,25 \text{ mL min}^{-1}$ , resultando num tempo total de eluição de 75 minutos. Foi escolhido o comprimento de onda de 280 nm para o detector, com base na máxima absorvância dos compostos e avaliação do formato de cada pico. Ao final de cada análise foi feita a limpeza da coluna, por 10 minutos, utilizando o metanol 100% (v/v) como fase móvel.

Os analitos foram quantificados pelo método do padrão externo, utilizando onze soluções padrão multielementos (em etanol 50% (v/v) e ajustados o pH para 4,3 com ácido acético) nas seguintes faixas de concentração, conforme Tabela 10.

**Tabela 10** – Concentrações das soluções dos padrões analíticos dos compostos fenólicos e furfuraldeído.

| PADRÕES         | Soluções Padrão ( $\text{mg L}^{-1}$ ) |      |      |      |      |      |       |       |       |        |        |
|-----------------|--|------|------|------|------|------|-------|-------|-------|--------|--------|
|                 | 01                                     | 02   | 03   | 04   | 05   | 06   | 07    | 08    | 09    | 10     | 11     |
| Ácido gálico    | 0,02                                   | 0,07 | 0,22 | 0,45 | 0,89 | 1,79 | 3,57  | 7,14  | 14,29 | 28,57  | 57,14  |
| Furfuraldeído   | 0,01                                   | 0,04 | 0,11 | 0,22 | 0,45 | 0,89 | 1,79  | 3,57  | 7,14  | 14,29  | 28,57  |
| Ácido vanílico  | 0,10                                   | 0,30 | 0,89 | 1,79 | 3,57 | 7,14 | 14,29 | 28,57 | 57,14 | 114,29 | 228,57 |
| Vanilina        | 0,05                                   | 0,15 | 0,45 | 0,89 | 1,79 | 3,57 | 7,14  | 14,29 | 28,57 | 57,14  | 114,28 |
| Ácido siríngico | 0,10                                   | 0,30 | 0,89 | 1,79 | 3,57 | 7,14 | 14,29 | 28,57 | 57,14 | 114,29 | 228,57 |
| Siringaldeído   | 0,05                                   | 0,15 | 0,45 | 0,89 | 1,79 | 3,57 | 7,14  | 14,29 | 28,57 | 57,14  | 114,28 |
| Cumarina        | 0,05                                   | 0,15 | 0,45 | 0,89 | 1,79 | 3,57 | 7,14  | 14,29 | 28,57 | 57,14  | 114,28 |
| Escopoletina    | 0,12                                   | 0,37 | 1,12 | 2,23 | 4,46 | 8,93 | 17,86 | 35,71 | 71,43 | 142,86 | 285,71 |

Fonte: A autora, 2011.

Nota: Foi feito o branco com o solvente (água / etanol 50% (v/v)).

Através das análises, em triplicatas, de 20  $\mu\text{L}$  de cada uma das onze soluções padrão multielementos, foram obtidos os cromatogramas das soluções padrão, apresentados nos Apêndices 1 e 2.

A partir dos cromatogramas dos padrões analíticos foram construídas as curvas analíticas do ácido gálico, furfuraldeído, ácido vanílico, vanilina, ácido siríngico, siringaldeído, cumarina e escopoletina, demonstradas nos Apêndices de 3 a 10, respectivamente. A partir das curvas analíticas foram calculadas as respectivas equações analíticas ( $y = a x + b$ ), conforme apresentados na Tabela 11.

Foram feitas injeções de 20  $\mu\text{L}$  de cada uma das amostras de cachaça (sem diluição) em triplicata. A identificação dos compostos fenólicos e furfuraldeído nas amostras foi feita pela comparação direta dos tempos de retenção das amostras de cachaça com os padrões analíticos, conforme mostram os cromatogramas nos Apêndices 11 a 21. Os tempos de retenção e os parâmetros de validação do método estão apresentados nas Tabelas 11 e 12. As quantificações dos compostos fenólicos e furfuraldeído nas amostras foram feitas a partir das equações analíticas e das respectivas áreas dos picos dos cromatogramas. A soma dos compostos fenólicos (SCF) analisados em HPLC foi determinada calculando-se o somatório da concentração de cada composto fenólico analisado, conforme equação (30).

$$\text{SCF} = [\text{ácido gálico}] + [\text{ácido vanílico}] + [\text{vanilina}] + [\text{ácido siríngico}] + [\text{siringaldeído}] + [\text{cumarina}] + [\text{escopoletina}] \quad (30)$$

**Tabela 11** – Parâmetros das curvas analíticas das análises de compostos fenólicos e furfuraldeídos em HPLC: tempo de retenção (TR), coeficientes **a** e **b** das curvas analíticas\*, coeficiente de correlação ( $R^2$ ) e faixa de trabalho.

| COMPOSTOS       | TR (min.) | a         | b         | $R^2$  | Faixa ( $\text{mg L}^{-1}$ ) |
|-----------------|-----------|-----------|-----------|--------|------------------------------|
| Ácido gálico    | 3,00      | 40136,81  | -1392,64  | 0,9997 | 1,02 - 57,1                  |
| Furfuraldeído   | 5,15      | 100770,22 | 2619,27   | 0,9999 | 0,17 - 28,6                  |
| Ácido vanílico  | 16,54     | 27856,84  | 748,52    | 0,9999 | 0,95 - 228,6                 |
| Vanilina        | 24,10     | 67223,99  | -5860,82  | 0,9999 | 0,54 - 228,6                 |
| Ácido siríngico | 28,29     | 47225,36  | 1915,42   | 0,9999 | 1,94 - 228,6                 |
| Siringaldeído   | 42,82     | 34024,61  | -13448,04 | 0,9998 | 1,86 - 228,6                 |
| Cumarina        | 57,14     | 66226,67  | -15371,81 | 0,9999 | 1,35 - 114,3                 |
| Escopoletina    | 66,30     | 16339,43  | -3077,09  | 0,9998 | 3,57 - 285,7                 |

Fonte: A autora, 2011.

Nota: \*Curva analítica  $y = ax + b$ , onde  $y$  = Conc. composto ( $\text{mg L}^{-1}$ ), e  $x$  é a área do pico.

**Tabela 12** – Validação do método de análise de compostos fenólicos e furfuraldeídos em HPLC: precisão (CV), recuperação, limites de detecção (LD) e limites de quantificação (LQ).

| COMPOSTOS       | CV (%) |      |      | Recuperação (%) | LD (mg L <sup>-1</sup> ) | LQ (mg L <sup>-1</sup> ) |
|-----------------|--------|------|------|-----------------|--------------------------|--------------------------|
|                 | 1      | 2    | 3    |                 |                          |                          |
| Ácido gálico    | 6,51   | 3,75 | 4,50 | 100,82          | 0,34                     | 1,02                     |
| Furfuraldeído   | 2,98   | 1,47 | 2,06 | 100,97          | 0,06                     | 0,17                     |
| Ácido vanílico  | 1,43   | 2,43 | 3,05 | 105,01          | 0,31                     | 0,95                     |
| Vanilina        | 3,82   | 2,15 | 0,36 | 101,36          | 0,18                     | 0,54                     |
| Ácido siríngico | 1,56   | 0,69 | 2,52 | 97,27           | 0,64                     | 1,94                     |
| Siringaldeído   | 5,20   | 2,30 | 2,24 | 99,71           | 0,61                     | 1,86                     |
| Cumarina        | 5,51   | 2,28 | 5,71 | 104,03          | 0,41                     | 1,35                     |
| Escopoletina    | 0,85   | 0,70 | 4,37 | 104,69          | 1,18                     | 3,57                     |

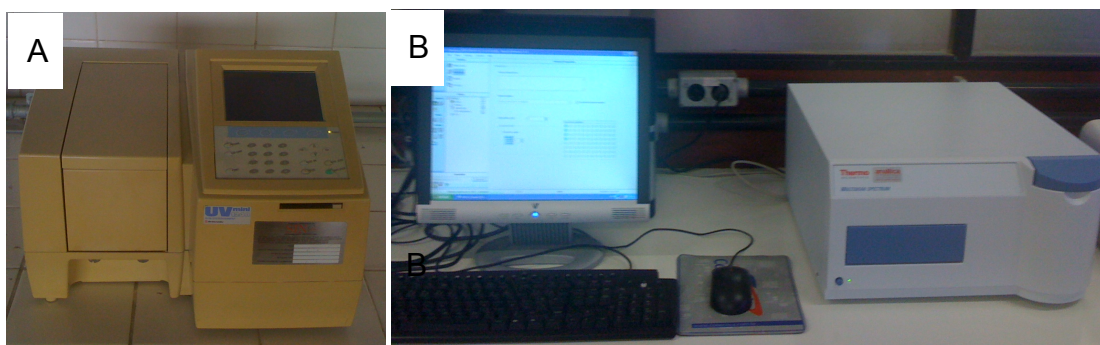
Fonte: A autora, 2011.

Notas: 1 = conc. 4; 2 = conc. 10; 3= conc. 11 da Tabela 10. N = 3 (triplicata).

### 3.5 Análise da Capacidade Antioxidante

As análises de capacidade antioxidante foram desenvolvidas através de três métodos indiretos: fenóis totais através do método de Foulin-Ciocalteu (FC) (SINGLETON e ROSSI, 1965), método do 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH·) (BRAND-WILLIAMS, CUVÉLIER e BERSET, 1995) e método de redução do ferro (FRAP) (RUFINO et al., 2006). As análises de capacidade antioxidante determinadas pelos métodos de FC e DPPH· foram desenvolvidas em espectrofotômetro Shimadzu modelo UV mini – 1240, ilustrado na Figura 32 A. As análises de FRAP foram desenvolvidas em espectrofotômetro de microplaca Multiskan Spectrum, ilustrado na Figura 32 B.

**Figura 32** – Espectrofotômetros Shimadzu (A) e de microplaca Multiskan Spectrum (B).



Fonte: A autora, 2011.



### 3.5.1 Fenóis Totais por Foulín Ciocalteu

Os fenóis totais foram determinados de acordo com o método de Foulín-Ciocalteu, e os resultados equivalentes em ácido gálico (GAE) foram expressos como  $\text{mg L}^{-1}$  de cachaça (SINGLETON e ROSSI, 1965). Inicialmente, foram preparadas soluções padrão de ácido gálico na faixa de concentração de 0 a  $1000 \text{ mg L}^{-1}$ , para obtenção da curva analítica. Em seguida, foram realizadas análises das soluções padrão de ácido gálico, e das amostras de cachaça conforme a sequência especificada a seguir. Em tubos de ensaio foram adicionados  $50 \mu\text{L}$  da amostra (de cachaça ou de solução de ácido gálico),  $3,7 \text{ mL}$  de água destilada,  $250 \mu\text{L}$  do reagente Foulín-Ciocalteu 2 N, e  $1 \text{ mL}$  de solução de carbonato de sódio 20% (m/v). Os tubos de ensaio foram agitados para homogeneização e deixados por 30 minutos para que a reação se estabilizasse. A absorvância a  $750 \text{ nm}$  foi determinada em cubetas de quartzo de  $1 \text{ cm}$  de caminho óptico. As amostras que tiveram o resultado acima de  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  GAE, foram diluídas com água destilada na proporção de 1 : 2,5, e a análise foi refeita. A partir dos dados de absorvância das soluções de ácido gálico foi determinada a curva analítica com as concentrações de equivalente em ácido gálico de 0 a  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  versus as respectivas absorvâncias medidas à  $750 \text{ nm}$ , conforme mostra o Apêndice 21. A partir da curva analítica foi calculada a equação (31), por regressão linear, pelo método dos mínimos quadrados, e obteve-se o coeficiente de correlação  $R^2 = 0,9979$ .

$$A_{750\text{nm}} = 9,27 \cdot 10^{-4} \times \text{GAE} - 2,06 \cdot 10^{-2} \quad (31)$$

A partir da equação da curva analítica foram calculados os resultados das análises de fenóis totais das amostras de cachaça como equivalente de ácido gálico (GAE) expressos em  $\text{mg L}^{-1}$ .

### 3.5.2 Capacidade Antioxidante por Radical DPPH

A avaliação da capacidade antioxidante frente ao radical  $\text{DPPH}\cdot$  foi determinada através de medidas espectrofotométricas do consumo do radical, na presença de substâncias antioxidantes nas amostras de cachaça. O consumo de  $\text{DPPH}\cdot$  é, portanto, uma referência utilizada para estimar a capacidade antioxidante

na captura de radicais livres presentes no meio. No ensaio espectrofotométrico, a absorvância a 517 nm diminui como resultado da alteração da coloração violeta para amarela, haja vista que, o radical foi capturado por antioxidantes presentes na amostra, uma vez que o elétron ímpar do átomo do nitrogênio do DPPH· é reduzido pelo recebimento de um átomo de hidrogênio dos compostos antioxidantes, para formar a molécula estável DPPH-H (SCHERER e GODOY, 2009).

A capacidade antioxidante foi determinada pelo método do DPPH· modificado (AOSHIMA et al., 2004; SCHERER e GODOY, 2009). Inicialmente, foi preparada uma solução controle de DPPH· em metanol (40 µg mL<sup>-1</sup>), mantida sob refrigeração e protegida da luz. Em seguida, foram preparadas diluições da solução estoque de DPPH· em metanol (40 µg mL<sup>-1</sup>), até obtenção de soluções de DPPH· com as seguintes concentrações: 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 µg mL<sup>-1</sup>. O metanol foi utilizado como branco. Foi construída uma curva analítica do DPPH· numa faixa de concentração de 1 a 40 µg mL<sup>-1</sup> versus a absorvância medida a 517 nm, conforme mostra o Apêndice 22. A partir da curva analítica foi calculada, por regressão linear e pelo método dos mínimos quadrados, a equação analítica (32), com coeficiente de correlação (R<sup>2</sup>) de 0,9992.

$$A_{517nm} = 2,93 \cdot 10^{-2} \times [\text{DPPH}\cdot] - 2,10 \cdot 10^{-2} \quad (32)$$

Onde,  $A_{517nm}$  é a absorvância da mistura reacional após um determinado tempo, e  $[\text{DPPH}\cdot]$  é a concentração do radical DPPH expressa em µg mL<sup>-1</sup>.

Misturas reacionais, na seguinte ordem, foram feitas pela adição de: 140 µL da amostra de cachaça, 160 µL de metanol e 2,7 mL da solução controle de DPPH· (40 µg mL<sup>-1</sup>). Depois da adição da solução controle de DPPH· foi iniciada a contagem do tempo de reação. A 517 nm foram determinadas as absorvâncias após o 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50 e 55 minutos de reação em um espectrofotômetro modelo UV mini – 1240, Shimadzu, em cubetas de quartzo com caminho óptico de 1 cm.

Os resultados de capacidade antioxidante foram expressos como porcentagem remanescente de DPPH· (DPPH<sub>REM</sub>) e porcentagem de inibição do radical livre DPPH· (I). A porcentagem remanescente de DPPH· (DPPH<sub>REM</sub>) foi obtida a partir das absorvâncias das misturas reacionais das amostras de cachaça e da equação

da curva analítica de DPPH·. Então, foram determinados os percentuais de DPPH· remanescentes através da equação (33).

$$\text{DPPH}_{\text{REM}} = ([\text{DPPH}\cdot]_t / [\text{DPPH}\cdot]_{t=0}) \times 100 \quad (33)$$

Onde,  $[\text{DPPH}\cdot]_t$  corresponde à concentração de DPPH· no tempo t da mistura reacional e  $[\text{DPPH}\cdot]_{t=0}$  foi a concentração DPPH· ( $40 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) no tempo zero.

Os resultados também foram expressos como a inibição do radical livre DPPH· em porcentagem (I), calculado através da equação (34).

$$I = [(Abs_0 - Abs_1) / Abs_0] \times 100 \quad (34)$$

Onde, I foi expresso como porcentagem,  $Abs_0$  foi a absorvância da solução controle de DPPH· e  $Abs_1$  foi a absorvância da mistura reacional no tempo de reação de 30 minutos após o estado de equilíbrio.

### 3.5.3 Capacidade Antioxidante pelo FRAP (Poder de Redução Férrica)

A capacidade antioxidante das cachaças foi determinada através do método FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power – Poder antioxidante do Ferro) (RUFINO et al., 2006; BENZIE e STRAIN, 1996). Inicialmente, foram preparadas diversas soluções: solução aquosa de metanol 50% (v/v), solução aquosa de acetona 70% (v/v), solução de TPTZ  $10 \text{ mmol L}^{-1}$  em solução de ácido clorídrico  $40 \text{ mmol L}^{-1}$ , solução aquosa de cloreto férrico  $20 \text{ mmol L}^{-1}$ , tampão acetato  $0,3 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 3,6) e solução aquosa de sulfato ferroso  $2 \text{ mmol L}^{-1}$ . A solução do reagente FRAP foi preparada adicionando-se 25 mL de tampão acetato  $0,3 \text{ mmol L}^{-1}$ , 2,5 mL de solução de TPTZ  $10 \text{ mmol L}^{-1}$  e 2,5 mL de solução de cloreto férrico  $20 \text{ mmol L}^{-1}$ , usada imediatamente após seu preparo.

Inicialmente, foram preparadas soluções de sulfato ferroso na faixa de concentração de 0, 500, 1000, 1500 e  $2000 \mu\text{mol L}^{-1}$ , para obtenção da curva analítica. Em seguida foram realizadas as análises das soluções padrão de sulfato ferroso e das amostras de cachaça, conforme a sequência especificada a seguir. Na microplaca com 96 micropoços (Thermo Microtiter), com capacidade de  $300 \mu\text{L}$  cada, foram adicionados em cada micropoço:  $7,5 \mu\text{L}$  da amostra (de cachaça ou do

padrão sulfato ferroso), 22,5 µL de água destilada, 220 µL do reagente FRAP. O espectrofotômetro de microplaca Multiskan Spectrum foi programado para agitar a microplaca por 10 segundos à 480 rpm, com amplitude de agitação de 3 mm, mantendo a temperatura à 37 °C, e as leituras de absorvância à 595 nm foram realizadas após repouso de 30 minutos. A partir dos dados de absorvância das soluções de sulfato ferroso foi determinada a curva analítica com as concentrações de sulfato ferroso (de 0 a 2000 µmol L<sup>-1</sup>) versus as respectivas absorvâncias medidas à 595 nm, conforme mostra o Apêndice 23. A partir da curva analítica foi calculada a equação analítica (35), com coeficiente de correlação R<sup>2</sup> = 0,9999, por regressão linear pelo método dos mínimos quadrados.

$$A_{595\text{nm}} = 4,41 \cdot 10^{-4} \times [\text{sulfato ferroso}] - 3,88 \cdot 10^{-3} \quad (35)$$

Onde,  $A_{595\text{nm}}$  representa a absorvância da mistura reacional após 30 minutos, e [sulfato ferroso] é a concentração de sulfato ferroso expressa em µmol L<sup>-1</sup>. A partir da equação da curva analítica foram divididos os resultados das análises de FRAP das amostras de cachaça por 1000 para expressar a concentração de sulfato ferroso em µmol mL<sup>-1</sup>.

### 3.6 Análise dos Congêneres e Contaminantes por GC/MS

Para a identificação e quantificação dos congêneres e contaminantes da cachaça foi utilizado o sistema GC/MS (Shimadzu) GC-17A acoplado ao espectrômetro de massa QP-5050, autoinjeter AOC-20i, e software de controle GC Solution 1.20, conforme mostra a Figura 33. O sistema GC-MS localiza-se no Laboratório de Pesquisa e Produtos Naturais, do Instituto de Química, da Universidade Federal de Alagoas. Os congêneres da cachaça foram separados em uma coluna capilar Rtx-WAX fase ligada de polietileno-glicol com comprimento (L) de 60 m, espessura de filme (FT) 0,25 µm, diâmetro interno (ID) 0,25 mm adquirida da J & W Scientific Wc Inc. (Folsom, CA, USA).

As condições cromatográficas foram as seguintes: gás de arraste (hélio), fluxo da coluna foi de 1,4 mL min<sup>-1</sup>; fluxo total foi de 94,8 mL min<sup>-1</sup>; modo de injeção utilizado foi razão de split (1:63); volume de injeção de 1,0 µL; programa de temperatura da coluna foi de 45 °C por 10 min, subindo a taxa de aquecimento de 3

$^{\circ}\text{C min}^{-1}$  até  $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ , e taxa de aquecimento de  $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$  até atingir  $200\text{ }^{\circ}\text{C}$ , onde permaneceu por 40 minutos; temperatura do injetor  $240\text{ }^{\circ}\text{C}$  e temperatura da interface  $240\text{ }^{\circ}\text{C}$ . O espectrômetro de massa foi programado para o modo de ionização com impacto de elétrons com energia de  $70\text{ eV}$ .

**Figura 33** – GC/MS (Shimadzu) GC-17A acoplado ao espectrômetro de massa QP-5050.



Fonte: A autora, 2011.

Conforme a Tabela 13 e os Apêndices 24 a 34, foi feita a identificação dos congêneres e contaminantes das cachaças, comparando-se os tempos de retenção dos analitos das amostras de cachaça com os dos padrões analíticos. Foi feito também a identificação pela comparação e interpretação da fragmentação dos espectros de massas das amostras de cachaça com a espectroteca Willey 330.000 (7a ed.) e a espectroteca NIST número 69 (NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY (NIST), 2008).

As curvas analíticas foram determinadas através do método de padronização interna, pela adição de  $2,0\text{ }\mu\text{L}$  do padrão interno *n*-pentanol em  $5\text{ mL}$  das amostras de cachaça e nas soluções dos padrões analíticos. As curvas analíticas foram construídas a partir dos cromatogramas obtidos com a técnica de GC/MS, das sete diluições dos padrões analíticos preparados em solução de água / etanol 50% (v/v), conforme Tabela 14.

**Tabela 13** – Parâmetros de identificação dos congêneres e contaminates em GC/MS: tempo de retenção (TR), probabilidade comparada com a espectroteca Wiley 330.000 (7a ed.), e método de identificação empregados.

| <i>n.</i> <sup>a</sup> | <i>Compostos</i>           | <i>TR (min)</i> | <i>Probabilidade</i> <sup>b</sup> | <i>MM (Dalton)</i> | <i>Método de Identificação</i>                        |
|------------------------|----------------------------|-----------------|-----------------------------------|--------------------|---|
| 1                      | Aldeído acético            | 5,28            | 98%                               | 44                 | Wiley, NIST, Padrão, (GIUCH, CYTAWA e MICHALAK, 2008) |
| 2                      | Acetona                    | 7,26            | 94%                               | 58                 | NIST, PE, (ASMS, 2001)                                |
| 3                      | Acetato de etila           | 9,90            | 97%                               | 88                 | Wiley, NIST, Padrão, (NASCIMENTO et al., 1997)        |
| 4                      | Metanol                    | 10,43           | 97%                               | 32                 | Wiley, NIST, Padrão                                   |
| 5                      | Álcool sec-butanol         | 17,75           | 97%                               | 74                 | Wiley, NIST, Padrão                                   |
| 6                      | Álcool <i>n</i> -propanol  | 18,70           | 96%                               | 60                 | Wiley, NIST, Padrão                                   |
| 7                      | Álcool <i>iso</i> -butanol | 22,37           | 92%                               | 74                 | Wiley, NIST, Padrão                                   |
| 8                      | Álcool <i>n</i> -butanol   | 28,42           | <LD <sup>c</sup>                  | 74                 | Wiley, NIST, Padrão                                   |
| 9                      | Álcool isoamílico          | 29,05           | 90%                               | 88                 | Wiley, NIST, Padrão                                   |
| 10                     | <i>n</i> -pentanol         | 31,34           | 98%                               | 88                 | Wiley, NIST, Padrão                                   |

Fonte: A autora, 2011.

Nota: <sup>a</sup> Número dos compostos para fins de identificação. <sup>b</sup> Probabilidade por comparação com espectroteca Wiley (7a ed.). <sup>c</sup> Menor do que o limite de detecção (<LD).

Os cromatogramas das sete concentrações dos padrões analíticos estão ilustrados nos Apêndices 35 e 36.

**Tabela 14** – Concentração dos padrões analíticos (mg 100 mL<sup>-1</sup> aa) dos congêneres e contaminantes.

| <i>Padrões analíticos</i>   | <i>Conc. 1</i> | <i>Conc. 2</i> | <i>Conc. 3</i> | <i>Conc. 4</i> | <i>Conc. 5</i> | <i>Conc. 6</i> | <i>Conc. 7</i> |
|-----------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| Aldeído acético             | 3,86           | 7,72           | 9,96           | 15,44          | 19,30          | 30,88          | 38,61          |
| Acetona                     | 1,98           | 3,96           | 4,76           | 7,93           | 9,92           | 15,87          | 19,84          |
| Acetato de etila            | 5,46           | 10,92          | 13,11          | 21,85          | 27,32          | 43,71          | 54,64          |
| Metanol                     | 1,94           | 3,88           | 4,65           | 7,76           | 9,70           | 15,52          | 19,40          |
| Álcool sec-butanol          | 1,94           | 3,89           | 4,67           | 7,78           | 9,73           | 15,57          | 19,46          |
| Álcool <i>n</i> -propanol   | 6,53           | 13,06          | 15,67          | 26,11          | 32,64          | 52,23          | 65,29          |
| Álcool <i>iso</i> -butanol  | 6,5            | 13,00          | 15,60          | 26,00          | 32,50          | 52,00          | 65,00          |
| Álcool <i>n</i> -butanol    | 0,32           | 0,65           | 0,77           | 1,29           | 1,62           | 2,59           | 3,24           |
| Álcool isoamílico           | 16,09          | 32,18          | 38,60          | 64,36          | 80,45          | 128,72         | 160,90         |
| Álcool <i>n</i> -pentanol * | 32,31          | 32,31          | 32,31          | 32,31          | 32,31          | 32,31          | 32,31          |

Fonte: A autora, 2011.

Nota: \* Álcool *n*-pentanol foi o padrão interno, e o branco com o solvente (água / etanol 50% (v/v)).

Foram construídas as curvas analíticas a partir dos cromatogramas dos sete padrões analíticos obtidos em triplicata, utilizando-se as razões de área Rz (A), calculadas através da áreas dos analitos divididos pela área do PI (padrão interno), conforme equação (36).

$$Rz (A) = \frac{\text{Área analito}}{\text{Área PI}} \quad (36)$$

As concentrações dos analitos foram divididas pela concentração do padrão interno, obtendo-se as razões de concentração Rz (C), conforme equação (37).

$$Rz (C) = \frac{\text{Conc. analito}}{\text{Conc. PI}} \quad (37)$$

Aos dados aplicou-se a regressão linear, obtendo-se a equação (38) para cada congêneres e contaminante determinado, conforme Tabela 15 e Apêndices 37 a 45.

$$Rz (A) = \mathbf{a} Rz (C) + \mathbf{b} \quad (38)$$

Após obtenção das curvas analíticas, foram calculadas as concentrações dos congêneres e contaminantes, através das equações das curvas analíticas e razões de área Rz (A) obtidas dos cromatogramas das análises em GC/MS. Para validação do método, foram determinados, o tempo de retenção, os coeficientes das curvas analíticas **a** e **b**, o coeficiente de correlação ( $R^2$ ), a faixa de trabalho precisão (CV), a recuperação, os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ), conforme dados das Tabelas 15 e 16.

**Tabela 15** – Parâmetros das curvas analíticas das análises de congêneres e contaminantes em GC/MS: tempo de retenção (TR), coeficientes das curvas analíticas **a** e **b**\*, coeficiente de correlação (**R**<sup>2</sup>) e faixa de trabalho.

| <b>Padrão</b>      | <b>TR (min)</b> | <b>a</b>              | <b>b</b>               | <b>R<sup>2</sup></b> | <b>Faixa<br/>mg 100 mL<sup>-1</sup> aa</b> |
|--------------------|-----------------|-----------------------|------------------------|----------------------|--|
| Aldeído acético    | 5,28            | 3,35 10 <sup>-1</sup> | -2,42 10 <sup>-3</sup> | 0,9995               | 1,17-38,61                                 |
| Acetona            | 7,26            | 4,48 10 <sup>-1</sup> | 2,15 10 <sup>-3</sup>  | 0,9940               | 0,78-19,84                                 |
| Acetato de etila   | 9,90            | 3,31 10 <sup>-1</sup> | 9,89 10 <sup>-4</sup>  | 0,9970               | 0,48-54,64                                 |
| Metanol            | 10,43           | 2,96 10 <sup>-1</sup> | 5,42 10 <sup>-3</sup>  | 0,9973               | 1,43-19,40                                 |
| Álcool sec-butanol | 17,75           | 6,71 10 <sup>-1</sup> | 2,95 10 <sup>-3</sup>  | 0,9987               | 0,63-19,46                                 |
| Álcool n-propanol  | 18,70           | 7,46 10 <sup>-1</sup> | 3,87 10 <sup>-3</sup>  | 0,9987               | 0,68-65,29                                 |
| Álcool iso-butanol | 22,37           | 8,85 10 <sup>-1</sup> | -1,90 10 <sup>-2</sup> | 0,9976               | 0,136-65,00                                |
| Álcool n-butanol   | 28,42           | 9,03                  | -6,70 10 <sup>-3</sup> | 0,9974               | 0,1-3,24                                   |
| Álcool isoamílico  | 29,05           | 1,01                  | -6,39 10 <sup>-2</sup> | 0,9958               | 8,36-160,90                                |
| n-pentanol         | 31,34           | PI                    | PI                     | PI                   | 32,31                                      |

Fonte: A autora, 2011.

Nota: \* Equação das curvas analíticas  $R_z(A) = a R_z(C) + b$ , onde  $R_z(A)$  é a área do composto analisado / área do n-pentanol; e  $R_z(C)$  é a concentração do composto analisado / concentração do n-pentanol; **a** é a inclinação da reta; **b** é o intercepto da reta; e PI significa padrão interno.

**Tabela 16** – Validação da análise dos congêneres e contaminantes em GC/MS: precisão (CV), exatidão, limites de detecção (LD) e limites de quantificação (LQ).

| <b>Padrão</b>      | <b>CV (%)</b> |          |          | <b>Recuperação (%)</b> | <b>LD</b> | <b>LQ</b> |
|--------------------|---------------|----------|----------|------------------------|-----------|-----------|
|                    | <b>1</b>      | <b>2</b> | <b>3</b> |                        |           |           |
| Aldeído acético    | 6,83          | 0,59     | 1,51     | 96,60                  | 0,38      | 1,17      |
| Acetona            | 9,57          | 9,00     | 13,34    | 94,52                  | 0,26      | 0,78      |
| Acetato de etila   | 13,36         | 16,24    | 12,26    | 97,88                  | 0,16      | 0,48      |
| Metanol            | 7,29          | 1,60     | 10,90    | 94,41                  | 0,47      | 1,43      |
| Álcool sec-butanol | 2,83          | 1,75     | 5,76     | 94,42                  | 0,21      | 0,63      |
| Álcool n-propanol  | 3,89          | 2,91     | 8,98     | 98,05                  | 0,23      | 0,68      |
| Álcool iso-butanol | 5,77          | 1,77     | 5,53     | 98,04                  | 0,64      | 1,94      |
| Álcool n-butanol   | 1,66          | 8,59     | 13,58    | 89,03                  | 0,1       | 0,3       |
| Álcool isoamílico  | 6,83          | 1,35     | 1,51     | 99,19                  | 2,76      | 8,36      |

Fonte: A autora, 2011.

Notas: 1 = conc. 1; 2 = conc. 5; e 3 = conc. 7 da Tabela 14.



### 3.7 Análise do Carbamato de Etila em GC/MS (SIM)

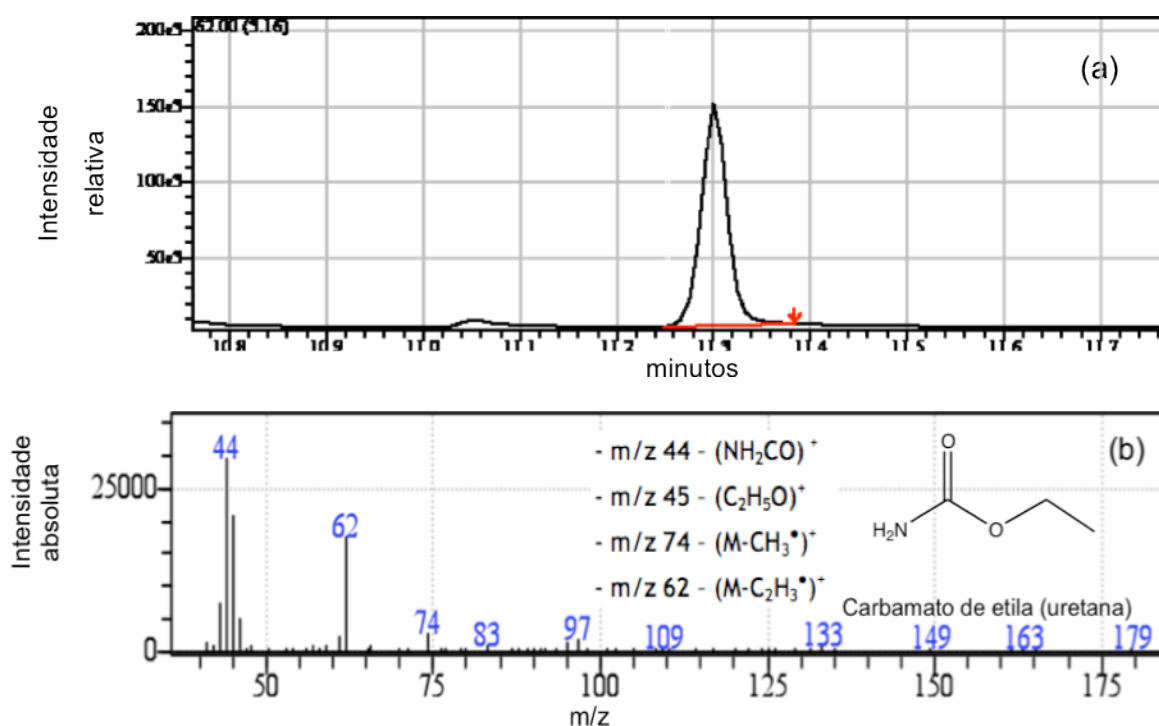
A metodologia de análise para o carbamato de etila foi desenvolvida através de modificações feitas em duas metodologias previamente reportadas para análise em cachaça (ANDRADE-SOBRINHO et al., 2002; LABANCA, GLÓRIA e AFONSO, 2008). O sistema GC/MS (Shimadzu) utilizado para a análise do carbamato de etila foi o GC-17A com o espectrômetro de massa QP-5050, autoinjeter AOC-20i, e software de controle GC Solution 1.20 localizado no Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais, do Instituto de Química da Universidade Federal de Alagoas. O carbamato de etila foi separado em uma coluna capilar DB-WAX fase estacionária poli(etileno-glicol) com comprimento (L) de 60 m, espessura de filme (FT) 0,25  $\mu\text{m}$ , diâmetro interno (ID) 0,25 mm adquirida da J & W Scientific Wc Inc. (Folsom, CA, USA).

As condições cromatográficas foram as seguintes: gás de arraste (hélio), 1,8 mL min.<sup>-1</sup>; modo de injeção utilizado foi split-less; volume de injeção de 1,0  $\mu\text{L}$ ; programa de temperatura do forno, 70 °C mantido por 2 min, a taxa de aquecimento de 8 °C/ min.<sup>-1</sup> até 150 °C, segunda taxa de aquecimento de 20 °C min.<sup>-1</sup> até 230 °C, mantido por 1 minuto; injetor a 210 °C, e temperatura da interface 240 °C. O espectro de massa foi programado para o modo SIM (monitoramento seletivo de íon), onde o íon selecionado foi m/z 62, a fonte de íon foi programada para a temperatura de 250 °C, e o modo ionização utilizado foi o impacto de elétrons com energia de 70 eV.

O pico do carbamato de etila (TR= 11,28 minutos) continha o íon m/z 62 usado para identificação e quantificação (através da área do pico do íon) do carbamato de etila, conforme mostra a Figura 34.

Como mostra a Tabela 17, a identificação do carbamato de etila nas cachaças foi feita comparando-se os tempos de retenção (TR = 11,28 minutos) do íon seletivo m/z 62 das amostras de cachaça com o padrão analítico; e pela comparação dos espectros de massas do CE das amostras de cachaça com os disponíveis na espectroteca Willey 330.000 (7a ed.) e na espectroteca NIST número 69 (NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY (NIST) , 2008).

**Figura 34** – Parte do cromatograma de massas com o pico do íon  $m/z$  62 do carbamato de etila no  $TR = 11,28$  minutos (a); e espectro de massas do carbamato de etila (b).



Fonte: A autora, 2011.

A curva analítica dos padrões de carbamato de etila foram determinadas através do método de padronização externa construídas nas seguintes concentrações: 0, 25, 100, 120, 150, 200, 400, 500, 700 e 1100  $\mu\text{g L}^{-1}$  em solução de água / etanol 50% (v/v), conforme Apêndice 56. Os cromatogramas das sete concentrações dos padrões analíticos foram ilustrados no Apêndice 57.

**Tabela 17** – Parâmetros de identificação da análise de carbamato de etila em GC/MS: tempo de retenção (TR), probabilidade comparada com a espectroteca Wiley 330.000 (7a ed.), massa molecular e método de identificação do carbamato de etila.

| $n.$ <sup>a</sup> | Compostos          | TR (min) | Probabilidade <sup>b</sup> | MM (Dalton) | Método de Identificação |
|-------------------|--------------------|----------|----------------------------|-------------|-------------------------|
| 1                 | Carbamato de etila | 11,28    | 90%                        | 89          | Wiley, NIST e Padrão    |

Fonte: A autora, 2011.

Para validação do método, foram determinados a precisão (CV), exatidão, limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ), conforme dados da Tabela 18. Para quantificação do carbamato de etila nas amostras de cachaça, a área do pico

do íon monitorado  $m/z$  62 foi aplicada à equação da curva analítica para obtenção das concentrações do carbamato de etila.

**Tabela 18** – Parâmetros da curva analítica e validação da análise de carbamato de etila em GC/MS-SIM: tempo de retenção (TR), coeficientes da curva analítica  $a$  e  $b^*$ , coeficiente de correlação ( $R^2$ ), faixa de trabalho, precisão (CV), recuperação, limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ).

| <b>Padrão</b>      | <b>TR<br/>(min)</b> | <b>a</b> | <b>b</b> | <b><math>R^2</math></b> | <b>Faixa<br/>(<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b> | <b>CV<br/>(%)</b> | <b>Recuperação<br/>(%)</b> | <b>LD</b> | <b>LQ</b> |
|--------------------|---------------------|----------|----------|-------------------------|--|-------------------|----------------------------|-----------|-----------|
| Carbamato de etila | 11,28               | 83,39    | 3,97     | 0,9993                  | 27,93 – 1100,00                                    | 5,13              | 100,04                     | 9,08      | 27,61     |

Fonte: A autora, 2011.

Nota:\* Equação das curvas analíticas  $\text{área} = a \text{ conc.} + b$ , onde  $\text{área}$  do pico do íon  $m/z$  62 da amostra analisada; e  $\text{conc.}$  é a concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) do carbamato de etila;  $a$  é a inclinação da reta; e  $b$  é o intercepto da reta.

### 3.8 Análise Estatística

A análise estatística foi desenvolvida utilizando-se o software Statistica 5.0 (Statsoft, Inc. USA.). Neste estudo foram avaliados 2 fatores: as espécies botânicas das madeiras dos barris, e os tempos de envelhecimento. As espécies botânicas das madeiras variaram em dez níveis, a cachaça não envelhecida (CNE) e 9 espécies de madeiras: courbaril, peroba-do-campo, balsamo, jequitiba, cerejeira, timborana, jaboty, itauba e carvalho branco. Os tempos de envelhecimento variaram em sete níveis: 0, 1, 3, 6, 9, 12 e 18 meses, para as análises de compostos fenólicos, furfuraldeído, capacidade antioxidante, congêneres e contaminantes. A análise de variância avaliou o efeito dos fatores em todas as variáveis:

- Compostos fenólicos (ácido gálico, ácido vanílico, vanilina, ácido siríngico, siringaldeído, cumarina e escopoletina), furfuraldeído e capacidade antioxidante (FC, DPPH $\cdot$  e FRAP). Total de 11 variáveis.

- Congêneres (aldeído acético, acetona, acetato de etila,  $n$ -propanol, isobutanol, e isoamílico) e contaminantes (metanol, 2-butanol e  $n$ -butanol). Total de 9 variáveis.

O teste de Tukey foi empregado para avaliar a diferença entre as médias, com nível de significância ( $P < 0,05$ ). Os resultados de carbamato de etila foram

avaliados apenas quanto ao teste de diferença de Tukey, por terem sido obtidos resultados nos tempos 0, 6, 9 e 18 meses de envelhecimento.

A análise multivariada foi desenvolvida através dos métodos de análise dos componentes principais (PCA – Principal Component Analysis) e análise hierárquica de agrupamento (HCA – Hierarchical Cluster Analysis). A análise multivariada foi empregada para avaliar a similaridade entre as amostras de cachaça através da formação de diferentes grupos, em função das espécies botânicas das madeiras dos barris, e dos tempos de envelhecimento. Os dados experimentais foram compilados e geraram duas matrizes finais.

Na análise multivariada de compostos fenólicos, furfuraldeído e capacidade antioxidante foi desenhada uma matriz (11 x 61), com 11 variáveis (ácido gálico, ácido vanílico, vanilina, ácido siríngico, siringaldeído, cumarina, furfuraldeído, SCF, GAE (FC), I (DPPH) e sulfato ferroso (FRAP)), e 61 amostras (sendo 7 de cachaça não envelhecida e 54 amostras de cachaças envelhecidas, em barris de 9 diferentes madeiras, coletadas durante o processo de envelhecimento nos meses 1, 3, 6, 9, 12 e 18).

Na análise multivariada de congêneres e contaminante foi desenhada uma matriz (9 x 61), com 9 variáveis (aldeído acético, acetona, acetato de etila, n-propanol, isobutanol, isoamílico, metanol, 2-butanol e n-butanol) e 61 amostras (7 de cachaça não envelhecida e 54 amostras de cachaças envelhecidas em barris de 9 diferentes madeiras, coletadas durante o processo de envelhecimento nos meses 1, 3, 6, 9, 12 e 18).

Foram gerados dois dendogramas com enlace completo e distâncias Euclidianas empregando-se a análise hierárquica de agrupamentos (HCA) (MILLER e MILLER, 2005). O primeiro empregou os resultados analíticos dos compostos fenólicos, furfuraldeído e capacidade antioxidante e o segundo os congêneres e contaminantes. Antes de gerar o dendograma os dados foram previamente padronizados para variância de 0 a 1, para assegurar que todas as variáveis contribuíssem igualmente para o modelo, independente da escala em que foram medidas.

## **4 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1 Compostos Fenólicos, Furfuraldeído e Capacidade Antioxidante**

Sob as condições experimentais da análise em HPLC foram quantificados o ácido gálico, ácido vanílico, vanilina, ácido siríngico, siríngaldeído, cumarina, escopoletina e furfuraldeído, em amostras de cachaça não envelhecida e cachaças envelhecidas em courbaril, peroba-do-campo, balsamo, jequitiba, cerejeira, timborana, jaboty, itauba e carvalho avaliadas em 0, 1, 3, 6, 9, 12 e 18 meses de envelhecimento, conforme Tabela 19.

**Tabela 19** – Compostos fenólicos (mg L<sup>-1</sup>) da cachaça não envelhecida e das cachaças envelhecidas em diferentes tempos de envelhecimento em barris de jaboty, itauba, carvalho, timborana, jequitiba, balsamo, courbaril, cerejeira e peroba.

continua

| Compostos fenólicos | Efeito | Tempo de envelhecimento |                          |                            |                              |                                |                                  |                              |
|---------------------|--------|-------------------------|--------------------------|----------------------------|------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|------------------------------|
|                     |        | Cachaça não envelhecida | 1 mês                    | 3 meses                    | 6 meses                      | 9 meses                        | 12 meses                         | 18 meses                     |
| <b>Jaboty</b>       |        |                         |                          |                            |                              |                                |                                  |                              |
| Ác. gálico          | ns     | 1,07±0,28               | 1,01±0,08                | 1,50±0,24                  | 0,88±0,06                    | 1,05±0,39                      | 1,98±0,04                        | 2,18±0,14                    |
| Ác. vanílico        | ns     | 0,61±0,87               | LQ                       | <LQ                        | <LQ                          | <LQ                            | <LQ                              | <LQ                          |
| Vanilina            | ns     | <LQ                     | 0,40±0,01                | <LQ                        | <LQ                          | <LQ                            | 0,53±0,21                        | 0,63±0,09                    |
| Ác. Siríngico       | ns     | <LQ                     | <LQ                      | <LQ                        | <LQ                          | <LQ                            | <LQ                              | <LQ                          |
| Siringaldeído       | ns     | <LQ                     | <LQ                      | <LQ                        | <LQ                          | <LQ                            | <LQ                              | <LQ                          |
| Cumarina            | ns     | <LQ                     | <LQ                      | <LQ                        | <LQ                          | <LQ                            | 0,72±0,58                        | <LQ                          |
| SCF                 | ns     | 1,68±0,91               | 1,41±0,08                | 1,50±0,24                  | 0,88±0,06                    | 1,05±0,39                      | 3,23±0,62                        | 3,26±0,17                    |
| <b>Itauba</b>       |        |                         |                          |                            |                              |                                |                                  |                              |
| Ác. gálico          | *      | 1,07±0,28 <sup>a</sup>  | 0,70±0,18 <sup>a</sup>   | 0,75±0,03 <sup>a</sup>     | 1,23±0,07 <sup>a</sup>       | 1,42±0,28 <sup>a</sup>         | 1,92±0,16 <sup>a</sup>           | 5,30±0,52 <sup>b</sup>       |
| Ác. vanílico        | ns     | 0,61±0,87               | <LQ                      | <LQ                        | <LQ                          | <LQ                            | <LQ                              | <LQ                          |
| Vanilina            | ns     | <LQ                     | 0,50±0,03                | 0,47±0,02                  | 0,47±0,00                    | 0,55±0,02                      | 0,58±0,02                        | 0,71±0,05                    |
| Ác. Siríngico       | ns     | <LQ                     | <LQ                      | <LQ                        | <LQ                          | <LQ                            | <LQ                              | <LQ                          |
| Siringaldeído       | ns     | <LQ                     | <LQ                      | <LQ                        | <LQ                          | <LQ                            | <LQ                              | <LQ                          |
| Cumarina            | ns     | <LQ                     | <LQ                      | <LQ                        | <LQ                          | <LQ                            | <LQ                              | <LQ                          |
| SCF                 | ns     | 1,68±0,91               | 1,20±0,18                | 1,22±0,04                  | 1,70±0,07                    | 1,97±0,28                      | 2,50±0,16                        | 6,01±0,52                    |
| <b>Carvalho</b>     |        |                         |                          |                            |                              |                                |                                  |                              |
| Ác. gálico          | *      | 1,07±0,28 <sup>a</sup>  | 0,52±0,05 <sup>a,b</sup> | 0,73±0,19 <sup>a,b,c</sup> | 1,31±0,10 <sup>a,b,c,d</sup> | 1,55±0,06 <sup>a,b,c,d,e</sup> | 2,99±0,07 <sup>a,b,c,d,e,f</sup> | 3,62±0,09 <sup>a,d,e,f</sup> |
| Ác. vanílico        | ns     | 0,61±0,87               | <LQ                      | <LQ                        | 0,59±0,04                    | 0,90±0,22                      | 1,32±0,63                        | 0,86±0,13                    |
| Vanilina            | ns     | <LQ                     | 0,41±0,04                | 0,61±0,18                  | 0,73±0,07                    | 1,07±0,02                      | 1,51±0,13                        | 1,47±0,13                    |
| Ác. Siríngico       | ns     | <LQ                     | <LQ                      | <LQ                        | 1,14±0,29                    | 1,05±0,22                      | 2,32±1,45                        | 1,64±0,21                    |
| Siringaldeído       | *      | <LQ                     | <LQ                      | <LQ                        | 1,09±0,03 <sup>a</sup>       | 1,48±0,19 <sup>a</sup>         | 2,20±0,11 <sup>b</sup>           | 2,67±0,28 <sup>c</sup>       |
| Cumarina            | ns     | <LQ                     | <LQ                      | <LQ                        | <LQ                          | <LQ                            | <LQ                              | <LQ                          |
| SCF                 | ns     | 1,68±0,91               | 0,93±0,06                | 1,34±0,26                  | 4,86±0,31                    | 6,05±0,37                      | 10,34±1,59                       | 10,26±0,40                   |
| <b>Timborana</b>    |        |                         |                          |                            |                              |                                |                                  |                              |
| Ác. gálico          | *      | 1,07±0,28 <sup>a</sup>  | 2,29±0,10 <sup>a,b</sup> | 3,21±0,08 <sup>a,b,c</sup> | 4,15±0,10 <sup>b,c,d</sup>   | 5,06±0,63 <sup>c,d,e</sup>     | 5,67±0,07 <sup>c,d,e,f</sup>     | 8,95±0,48 <sup>g</sup>       |
| Ác. vanílico        | *      | 0,61±0,87 <sup>a</sup>  | <LQ                      | 5,79±0,56 <sup>a,b</sup>   | 11,49±1,14 <sup>c</sup>      | 18,81±2,49 <sup>d</sup>        | 23,84±0,17 <sup>d,e</sup>        | 33,71±1,56 <sup>f</sup>      |
| Vanilina            | *      | <LQ                     | 0,43±0,00 <sup>a</sup>   | 0,51±0,05 <sup>a</sup>     | 0,60±0,10 <sup>a</sup>       | 0,83±0,24 <sup>a,b</sup>       | 1,24±0,09 <sup>a,b</sup>         | 2,09±0,15 <sup>b</sup>       |
| Ác. Siríngico       | ns     | <LQ                     | <LQ                      | <LQ                        | <LQ                          | <LQ                            | <LQ                              | <LQ                          |
| Siringaldeído       | ns     | <LQ                     | <LQ                      | <LQ                        | <LQ                          | <LQ                            | <LQ                              | <LQ                          |
| Cumarina            | ns     | <LQ                     | <LQ                      | 1,93±0,08                  | 3,28±0,12                    | 4,71±0,37                      | 6,01±0,09                        | 7,27±0,01                    |
| SCF                 | *      | 1,68±0,91 <sup>a</sup>  | 2,72±0,10 <sup>a</sup>   | 1,44±0,57 <sup>a</sup>     | 19,52±1,19 <sup>b</sup>      | 29,41±2,60 <sup>b,c</sup>      | 36,76±0,22 <sup>c</sup>          | 52,02±1,63 <sup>d</sup>      |

continua

| Compostos fenólicos | Efeito | Tempo de envelhecimento |                            |                            |                             |                             |                             |                            |
|---------------------|--------|-------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|
|                     |        | Cachaça não envelhecida | 1 mês                      | 3 meses                    | 6 meses                     | 9 meses                     | 12 meses                    | 18 meses                   |
| <b>Jequitiba</b>    |        |                         |                            |                            |                             |                             |                             |                            |
| Ác. gálico          | *      | 1,07±0,28 <sup>a</sup>  | 13,78±0,61 <sup>b</sup>    | 18,43±0,46 <sup>c</sup>    | 24,23±0,09 <sup>d</sup>     | 26,20±0,19 <sup>d,e</sup>   | 27,59±0,44 <sup>e,f</sup>   | 39,69±1,76 <sup>g</sup>    |
| Ác. vanílico        | ns     | 0,61±0,87               | 1,58±0,12                  | 1,97±0,13                  | 2,43±0,01                   | 3,10±0,22                   | 3,50±0,16                   | 4,68±0,08                  |
| Vanilina            | ns     | <LQ                     | 0,65±0,01                  | 0,70±0,16                  | 0,86±0,08                   | 1,06±0,07                   | 1,08±0,06                   | 1,46±0,14                  |
| Ác. Siríngico       | ns     | <LQ                     | <LQ                        | <LQ                        | <LQ                         | <LQ                         | 1,20±0,14                   | 2,24±2,34                  |
| Siringaldeído       | ns     | <LQ                     | <LQ                        | <LQ                        | <LQ                         | <LQ                         | <LQ                         | <LQ                        |
| Cumarina            | ns     | <LQ                     | 2,58±0,01                  | 3,56±0,05                  | 3,40±0,02                   | 3,86±0,02                   | 3,80±0,04                   | 3,77±0,28                  |
| SCF                 | *      | 1,68±0,91 <sup>a</sup>  | 18,59±0,62 <sup>b</sup>    | 24,66±0,50 <sup>b,c</sup>  | 30,92±0,12 <sup>b,c,d</sup> | 34,22±0,30 <sup>c,d,e</sup> | 37,17±0,48 <sup>c,d,e</sup> | 51,84±2,94 <sup>f</sup>    |
| <b>Balsamo</b>      |        |                         |                            |                            |                             |                             |                             |                            |
| Ác. gálico          | *      | 1,07±0,28 <sup>a</sup>  | 13,32±0,06 <sup>b</sup>    | 23,76±0,96 <sup>c</sup>    | 28,22±0,31 <sup>d</sup>     | 41,96±0,30 <sup>e</sup>     | 40,29±1,86 <sup>e,f</sup>   | 49,39±2,12 <sup>g</sup>    |
| Ác. vanílico        | *      | 0,61±0,87 <sup>a</sup>  | 2,25±0,22 <sup>a,b</sup>   | 5,09±1,50 <sup>a,b</sup>   | 4,72±0,15 <sup>a,b</sup>    | 6,71±0,48 <sup>b</sup>      | 4,99±0,25 <sup>a,b</sup>    | 7,58±0,94 <sup>b</sup>     |
| Vanilina            | *      | <LQ                     | 0,86±0,03 <sup>a,b,c</sup> | 1,44±0,15 <sup>a,b,c</sup> | 1,62±0,06 <sup>b,c</sup>    | 2,38±0,17 <sup>c</sup>      | 2,14±0,12 <sup>b,c</sup>    | 1,31±0,12 <sup>a,b,c</sup> |
| Ác. Siríngico       | *      | <LQ                     | 1,12±0,21 <sup>a</sup>     | 2,52±0,68 <sup>a</sup>     | 3,01±0,11 <sup>a</sup>      | 3,84±0,57 <sup>a</sup>      | 4,68±0,26 <sup>b</sup>      | 3,20±0,36 <sup>a</sup>     |
| Siringaldeído       | *      | <LQ                     | 0,93±0,00 <sup>a</sup>     | 1,64±0,33 <sup>b</sup>     | 1,96±0,20 <sup>d,e</sup>    | 2,33±0,10 <sup>e,f</sup>    | 2,69±0,01 <sup>f</sup>      | 1,24±0,00 <sup>c</sup>     |
| Cumarina            | *      | <LQ                     | 7,30±0,13 <sup>a</sup>     | 20,94±0,41 <sup>b</sup>    | 10,60±0,20 <sup>c</sup>     | 10,91±0,16 <sup>a</sup>     | 8,50±0,15 <sup>a</sup>      | 5,97±0,19 <sup>a</sup>     |
| SCF                 | *      | 1,68±0,91 <sup>a</sup>  | 25,78±0,34 <sup>b</sup>    | 55,39±1,98 <sup>c</sup>    | 50,13±0,46 <sup>c,d</sup>   | 68,13±0,84 <sup>e</sup>     | 63,29±1,90 <sup>c,d,e</sup> | 68,69±2,35 <sup>e</sup>    |
| <b>Courbaril</b>    |        |                         |                            |                            |                             |                             |                             |                            |
| Ác. gálico          | *      | 1,07±0,28 <sup>a</sup>  | 13,67±0,22 <sup>b</sup>    | 29,58±1,00 <sup>c</sup>    | 35,47±1,56 <sup>d</sup>     | 44,58±1,46 <sup>e</sup>     | 64,00±2,00 <sup>f</sup>     | 65,41±1,03 <sup>f</sup>    |
| Ác. vanílico        | *      | 0,61±0,87 <sup>a</sup>  | <LQ                        | 1,18±0,21 <sup>a</sup>     | 1,53±0,16 <sup>a</sup>      | 1,73±0,44 <sup>a</sup>      | 2,16±1,35 <sup>a</sup>      | 11,64±0,15 <sup>b</sup>    |
| Vanilina            | *      | <LQ                     | 0,59±0,07 <sup>a</sup>     | 1,10±0,08 <sup>a</sup>     | 1,13±0,12 <sup>a</sup>      | 1,06±0,01 <sup>a</sup>      | 2,01±0,08 <sup>b</sup>      | 0,38±0,02 <sup>a,c</sup>   |
| Ác. Siríngico       | *      | <LQ                     | 23,56±1,18 <sup>b</sup>    | 58,79±5,28 <sup>c</sup>    | 60,68±0,72 <sup>c</sup>     | 71,02±1,42 <sup>d</sup>     | 85,80±4,02 <sup>e</sup>     | 75,99±1,43 <sup>f</sup>    |
| Siringaldeído       | ns     | <LQ                     | <LQ                        | <LQ                        | <LQ                         | <LQ                         | <LQ                         | <LQ                        |
| Cumarina            | ns     | <LQ                     | 1,11±0,02                  | 1,39±0,00                  | <LQ                         | <LQ                         | <LQ                         | <LQ                        |
| SCF                 | *      | 1,68±0,91 <sup>a</sup>  | 38,93±1,20 <sup>b</sup>    | 92,04±5,37 <sup>c</sup>    | 98,81±1,72 <sup>c</sup>     | 118,39±2,08 <sup>d</sup>    | 153,97±4,68 <sup>e</sup>    | 153,42±1,76 <sup>e</sup>   |
| <b>Cerejeira</b>    |        |                         |                            |                            |                             |                             |                             |                            |
| Ác. gálico          | *      | 1,07±0,28 <sup>a</sup>  | 2,21±0,25 <sup>a,b</sup>   | 4,48±1,04 <sup>b,c</sup>   | 5,36±0,59 <sup>c,d</sup>    | 7,02±1,69 <sup>c,d,e</sup>  | 7,92±1,59 <sup>d,e,f</sup>  | 9,94±2,69 <sup>f</sup>     |
| Ác. vanílico        | *      | 0,61±0,87 <sup>a</sup>  | 47,47±4,12 <sup>b</sup>    | 77,73±1,03 <sup>c</sup>    | 86,18±3,75 <sup>d</sup>     | 117,46±1,80 <sup>e</sup>    | 103,36±3,04 <sup>f</sup>    | 124,85±2,61 <sup>g</sup>   |
| Vanilina            | ns     | <LQ                     | 0,47±0,04                  | 0,74±0,11                  | 0,67±0,03                   | 0,98±0,07                   | 0,99±0,17                   | 1,25±0,01 <sup>d</sup>     |
| Ác. Siríngico       | *      | <LQ                     | 1,63±0,11 <sup>a</sup>     | 2,59±0,88 <sup>a</sup>     | 2,78±0,10 <sup>a</sup>      | 4,01±0,30 <sup>a</sup>      | 3,78±0,14 <sup>a</sup>      | 4,86±0,45 <sup>b</sup>     |
| Siringaldeído       | ns     | <LQ                     | <LQ                        | <LQ                        | <LQ                         | <LQ                         | <LQ                         | <LQ                        |
| Cumarina            | *      | <LQ                     | 184,89±7,02 <sup>a</sup>   | 300,02±1,71 <sup>b</sup>   | 328,42±8,13 <sup>c</sup>    | 429,83±10,64 <sup>d</sup>   | 404,77±12,21 <sup>e</sup>   | 443,51±7,52 <sup>f</sup>   |
| SCF                 | *      | 1,68±0,91 <sup>a</sup>  | 236,67±8,14 <sup>b</sup>   | 385,54±2,41 <sup>c</sup>   | 423,41±8,97 <sup>d</sup>    | 559,30±10,92 <sup>e</sup>   | 520,82±12,68 <sup>f</sup>   | 584,48±8,41 <sup>g</sup>   |

**Conclusão**

| <b>Compostos fenólicos</b> | <b>Efeito</b> | <b>Tempo de envelhecimento</b> |                          |                         |                            |                            |                              |                            |
|----------------------------|---------------|--------------------------------|--------------------------|-------------------------|----------------------------|----------------------------|------------------------------|----------------------------|
|                            |               | Cachaça não envelhecida        | 1 mês                    | 3 meses                 | 6 meses                    | 9 meses                    | 12 meses                     | 18 meses                   |
| <b>Peroba</b>              |               |                                |                          |                         |                            |                            |                              |                            |
| Ác. gálico                 | *             | 1,07±0,28 <sup>a</sup>         | 2,35±1,51 <sup>a,t</sup> | 5,60±1,51 <sup>c</sup>  | 4,98±0,66 <sup>b,c,d</sup> | 4,23±0,94 <sup>b,c,c</sup> | 3,00±0,00 <sup>a,b,c,d</sup> | 2,63±0,36 <sup>a,b,d</sup> |
| Ác. vanílico               | *             | 0,61±0,87 <sup>a</sup>         | 10,75±1,01 <sup>b</sup>  | 22,74±3,03 <sup>c</sup> | 32,55±3,90 <sup>d</sup>    | 54,63±6,33 <sup>e</sup>    | 60,95±4,43 <sup>f</sup>      | 78,38±5,28 <sup>g</sup>    |
| Vanilina                   | *             | <LQ                            | 8,38±0,28 <sup>e</sup>   | 25,71±0,19 <sup>b</sup> | 28,08±2,40 <sup>c</sup>    | 35,93±1,88 <sup>c</sup>    | 32,22±1,20 <sup>e</sup>      | 59,84±0,88 <sup>f</sup>    |
| Ác. Siríngico              | *             | <LQ                            | 17,66±4,16 <sup>a</sup>  | 23,06±2,81 <sup>b</sup> | 40,06±1,90 <sup>c</sup>    | 43,18±3,27 <sup>c</sup>    | 37,69±0,38 <sup>c</sup>      | 99,20±3,57 <sup>d</sup>    |
| Siringaldeído              | *             | <LQ                            | <LQ                      | 1,40±0,22 <sup>a</sup>  | 10,63±0,45 <sup>c</sup>    | 10,45±0,16 <sup>t</sup>    | 11,85±0,57 <sup>c</sup>      | 2,36±0,40 <sup>d</sup>     |
| Cumarina                   | ns            | <LQ                            | 2,97±0,10                | 4,06±0,74               | 4,79±1,47                  | 5,67±0,20                  | 4,64±0,67                    | 4,08±0,58                  |
| SCF                        | *             | 1,68±0,91 <sup>a</sup>         | 42,11±9,32 <sup>t</sup>  | 82,57±4,47 <sup>c</sup> | 121,09±5,23 <sup>d</sup>   | 154,09±7,43 <sup>e</sup>   | 150,35±4,68 <sup>e</sup>     | 246,49±10,61 <sup>f</sup>  |

Fonte: A autora, 2011.

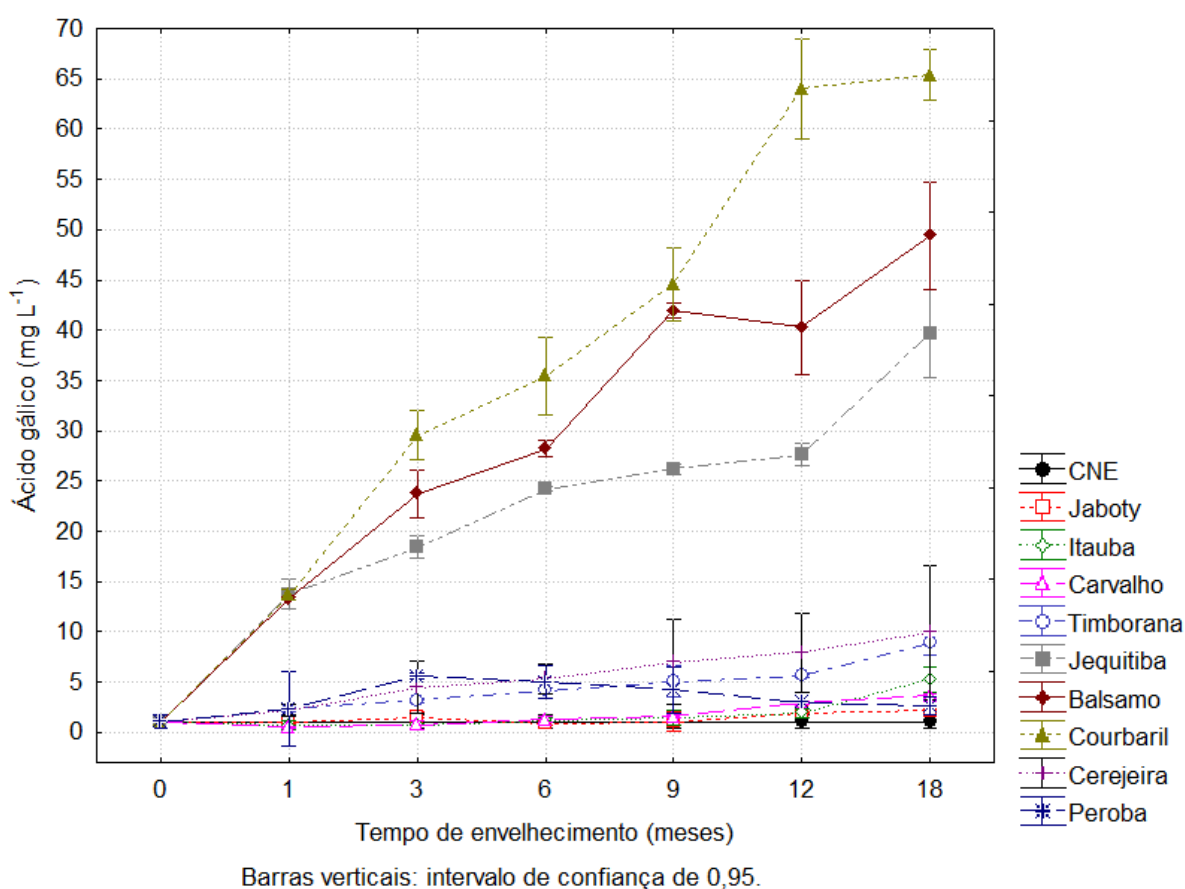
NOTA: Valor médio ± desvio padrão. (Três amostras para cada tipo de cachaça); valores na mesma linha com letras diferentes são significativamente (\*P<0.05) diferentes pelo teste de Tukey; ns: sem diferença significativa; <LQ: abaixo do limite de quantificação (LQ).



#### 4.1.1 Ácido Gálico

As concentrações médias de ácido gálico na cachaça não envelhecida e nas cachaças envelhecidas, durante 18 meses, estão demonstradas no Gráfico 1 e Tabela 19.

**Gráfico 1** – Concentrações de ácido gálico ( $\text{mg L}^{-1}$ ) nas cachaças durante o processo de envelhecimento em barris de diferentes tipos de madeiras.



Fonte: A autora, 2011.

A cachaça não envelhecida (CNE) apresentou concentração constante de ácido gálico de  $1,07 \text{ mg L}^{-1}$ . A cachaça que apresentou maior concentração de ácido gálico foi courbaril 18 ( $65,41 \text{ mg L}^{-1}$ ), seguida por balsamo 18 ( $49,39 \text{ mg L}^{-1}$ ), jequitiba 18 ( $39,69 \text{ mg L}^{-1}$ ), cerejeira 18 ( $9,94 \text{ mg L}^{-1}$ ), timborana 18 ( $8,95 \text{ mg L}^{-1}$ ), itauba 18 ( $5,30 \text{ mg L}^{-1}$ ) e peroba 9 ( $4,23 \text{ mg L}^{-1}$ ). As cachaças em processo de envelhecimento em barris de jequitiba, balsamo e courbaril apresentaram um rápido aumento da concentração de ácido gálico, desde o primeiro mês de envelhecimento.

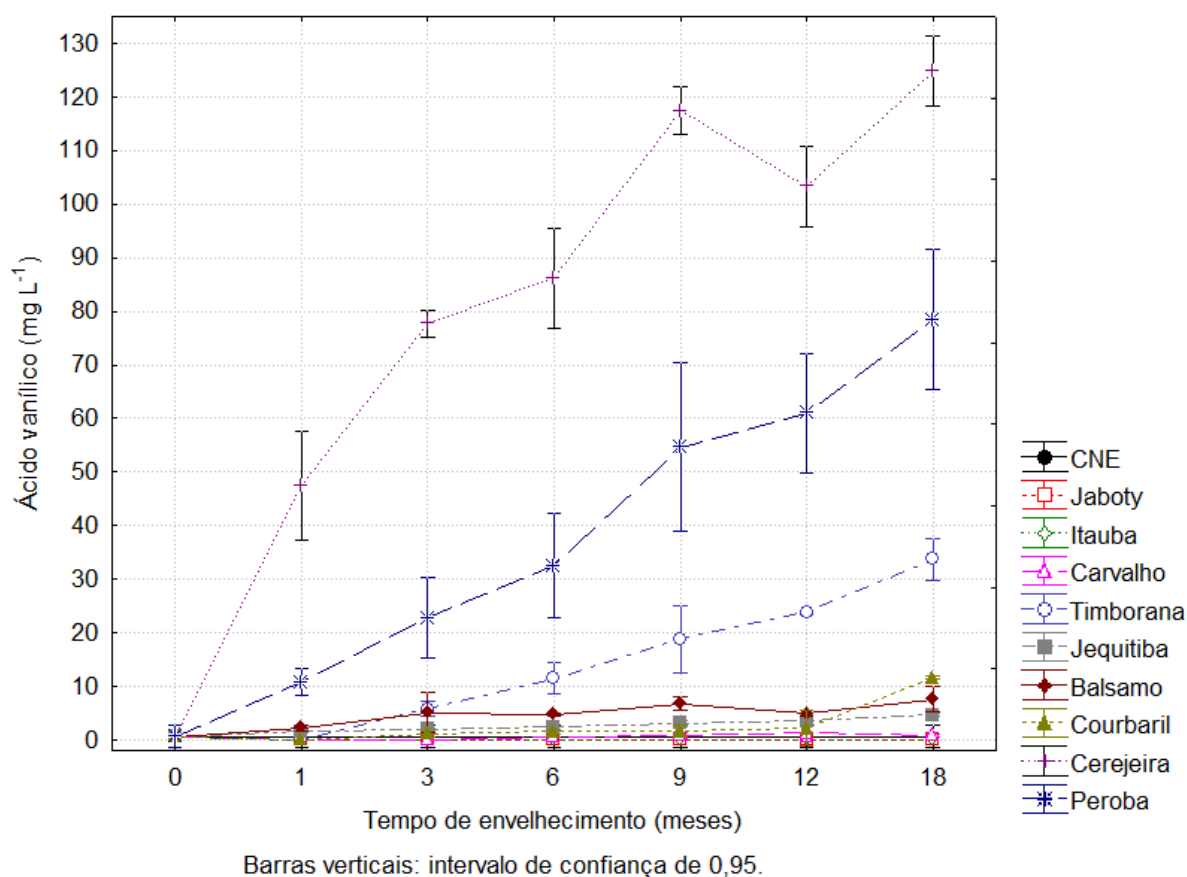
O aumento da concentração de ácido gálico pode ser explicado devido a hidrólise dos taninos dessas madeiras, como já reportado para conhaques de sidra (MANGAS et al., 1996). As cachaças envelhecidas em barris de jaboty 1-18, itauba 1-12, carvalho 1-18, peroba 1, 12 e 18, timborana 1-3, e cerejeira 1, não apresentaram diferença significativa ( $P < 0,05$ ) nas concentrações de ácido gálico quando comparadas com a CNE. Dentre os compostos fenólicos analisados neste estudo, o ácido gálico foi o composto fenólico encontrado em maior percentual em 60% das cachaças analisadas. O ácido gálico apresentou-se em maior percentual na cachaça não envelhecida (47,13%), e nas cachaças envelhecidas em jaboty 18 (66,87%), itauba 18 (88,19%), carvalho 18 (35,28%), jequitiba 18 (76,56%), e balsamo 18 (71,90%).

Em trabalhos anteriores, foi quantificado  $0,63 \text{ mg L}^{-1}$  de ácido gálico em cachaças comerciais de pequenos produtores e  $0,15 \text{ mg L}^{-1}$  em cachaças tipo exportação (AQUINO et al., 2006). Estes resultados são da mesma ordem de magnitude dos encontrados neste estudo, para cachaça envelhecida em carvalho. Foi determinado  $6,6 \text{ mg L}^{-1}$  de ácido gálico em extratos de serragem de carvalho (SILVA et al., 2009). Esta alta quantidade de ácido gálico encontrada nos extratos deve ter ocorrido em função da serragem ter uma área de contato maior do que o barril de carvalho utilizado neste estudo, promovendo uma maior extração de compostos fenólicos. Em estudo anterior, foi encontrado  $3,23 \text{ mg L}^{-1}$  de ácido gálico em conhaques (GOLDBERG et al., 1999). Contudo, o tempo de envelhecimento para o conhaque foi de mais de 10 anos em barris de carvalho *Limosin*. Foi determinado, em trabalho anterior, a concentração de  $288,40 \text{ mg L}^{-1}$  de ácido gálico em vinho da Grécia, envelhecido em barris de carvalho, sendo equivalente a 85,3% do total de ácidos fenólicos de sua composição (ARNOUS, MAKRIS e KEFALAS, 2001). A maior parte do ácido gálico encontrada em vinhos tintos envelhecidos em barris de carvalho é proveniente da própria uva, sofrendo um aumento do seu conteúdo durante o envelhecimento em barris de carvalho (DEL SOUZA, CARCEL e GRACIA, 2004). As variações encontradas no conteúdo de compostos fenólicos analisados ocorre devido a numerosos fatores, como tempo de envelhecimento; características relacionadas aos barris como espécie botânica das madeiras, método de construção, tratamento e condições ambientais (temperatura e humidade) de armazenamento; e características químicas do destilado, dentre outros (MOSEDALE e PUECH, 1998).

#### 4.1.2 Ácido Vanílico

As concentrações médias de ácido vanílico, durante o processo de envelhecimento por 18 meses, na cachaça não envelhecida e nas cachaças envelhecidas, estão apresentados nos Gráfico 2 e Tabela 19.

**Gráfico 2** – Concentrações de ácido vanílico ( $\text{mg L}^{-1}$ ) nas cachaças durante o processo de envelhecimento em barris de diferentes tipos de madeiras.



Fonte: A autora, 2011.

A cachaça não envelhecida apresentou concentração média de ácido vanílico de  $0,61 \text{ mg L}^{-1}$ . As cachaças que apresentaram aumento significativo ( $P < 0,05$ ) da quantidade de ácido vanílico em função do tempo de envelhecimento foram, principalmente, as amostras de cachaças cerejeira 1-18, peroba 1-18 e timborana 6-18. Também houve uma pequena variação nas amostras de cachaça envelhecidas em courbaril 18 e balsamo 9, 18. As cachaças envelhecidas por 18 meses, com maior concentração de ácido vanílico, foram cerejeira 18 ( $124,84 \text{ mg L}^{-1}$ ), seguida

por peroba 18 (78,37 mg L<sup>-1</sup>), timborana 18 (33,70 mg L<sup>-1</sup>), courbaril 18 (11,64 mg L<sup>-1</sup>) e balsamo 18 (7,57 mg L<sup>-1</sup>). As amostras de cachaça jaboty 18 (0,45 mg L<sup>-1</sup>), itauba 1-18, carvalho 1-18, timborana 1-18, jequitiba 1-18, balsamo 1-6 e 12, e courbaril 1-12 não apresentaram alteração significativa em relação à CNE na concentração de ácido vanílico.

Dentre todos os compostos fenólicos analisados, o ácido vanílico foi o composto fenólico encontrado em maior percentual na cachaça timborana (64,80%). O ácido vanílico, depois do ácido gálico, foi o composto fenólico encontrado em maior quantidade em 50% das seguintes cachaças analisadas: cachaça não envelhecida (26,8%), jequitiba 18 (9,03%), balsamo 18 (11,04%), cerejeira 18 (21,36%), e peroba 18 (31,80%).

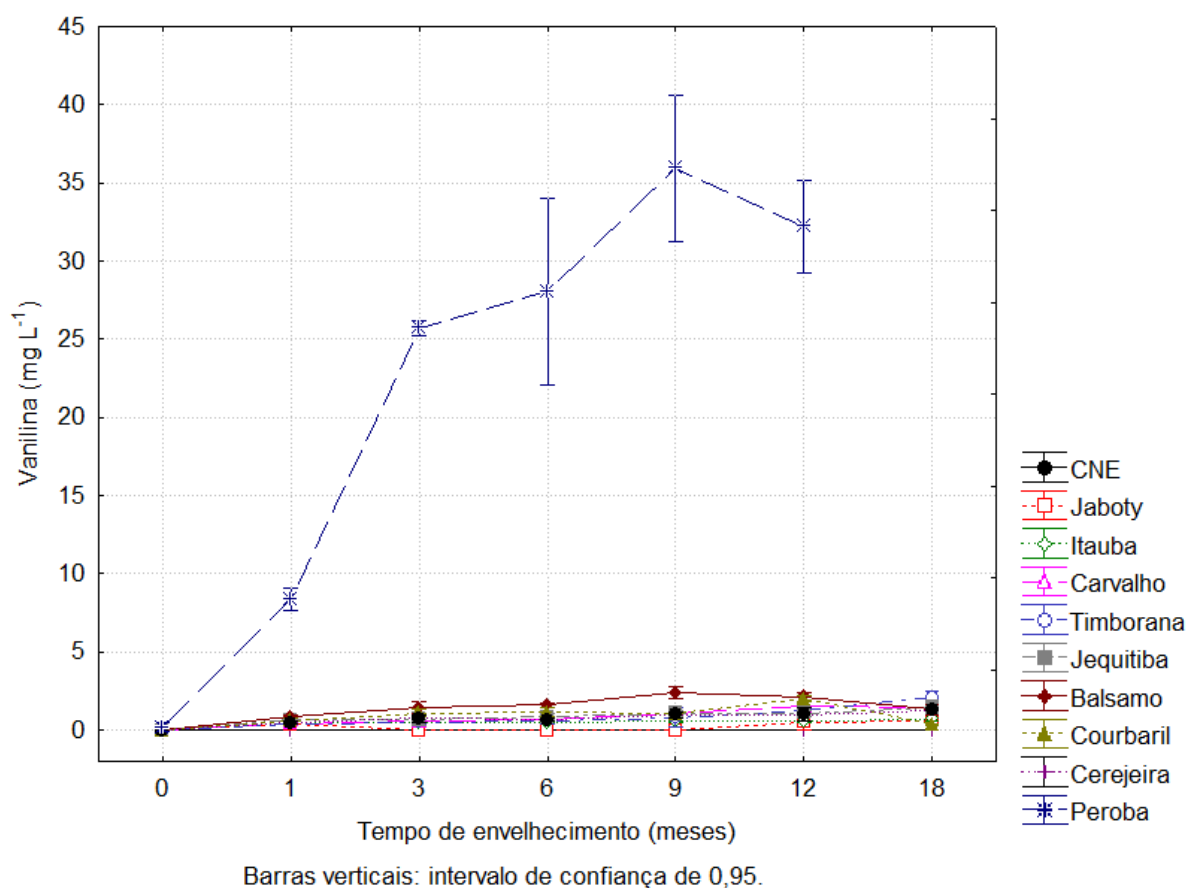
Trabalhos anteriores encontraram 0,9 mg L<sup>-1</sup> de ácido vanílico em cachaças comerciais envelhecidas e 0,18 mg L<sup>-1</sup> de extrato de carvalho (AQUINO et al., 2006; SILVA et al., 2009). A maioria das cachaças comerciais no Brasil são envelhecidas em barris de carvalho, o que explica os baixos valores para o ácido vanílico. Foram encontrados 34,92 mg L<sup>-1</sup> em cachaça envelhecida, por 6 meses, em barril de 20 L de cerejeira e 7,59 mg L<sup>-1</sup> em cachaça envelhecida, por 6 meses, em barril de 20 L de ipê (DIAS, MAIA e NELSON, 1998).

#### 4.1.3 Vanilina

As concentrações de vanilina na cachaça, durante o processo de envelhecimento por 18 meses em diferentes madeiras, estão apresentadas nos Gráfico 3 e Tabela 19.

A cachaça não envelhecida apresentou concentração média de vanilina abaixo do limite de quantificação do método (LQ < 0,27 mg L<sup>-1</sup>). As cachaças que apresentaram aumento significativo da quantidade de vanilina em função do tempo de envelhecimento foram as amostras de cachaça peroba 1-18, courbaril 12 e balsamo 6-12. A cachaça envelhecida em peroba mostrou aumento significativo (P<0,05) da concentração de vanilina, de 8,88 mg L<sup>-1</sup>, no primeiro mês de envelhecimento, para 59,84 mg L<sup>-1</sup>, no 18º mês.

**Gráfico 3** – Concentrações da vanilina ( $\text{mg L}^{-1}$ ) nas cachaças durante o processo de envelhecimento em barris de diferentes tipos de madeiras.



Fonte: A autora, 2011.

Em geral, já está bem estabelecido que ácidos benzóicos tais como ácido vanílico e ácido siríngico, resultam de aldeído cinâmico, vanilina e siringaldeído, respectivamente, pelo processo de  $\beta$ -oxidação, e subsequente oxidação do aldeído benzóico formado (LEE et al., 2001). Contudo, uma diminuição do correspondente aldeído cinâmico, a vanilina, não foi detectada para cachaça envelhecida em peroba. Ao contrário, a concentração de vanilina aumentou com o tempo de envelhecimento. Este fato deve ser explicado com base na mais extensiva hidrólise da lignina em relação ao processo de oxidação dos aldeídos que promovem a acumulação de alcoóis e aldeídos cinâmicos, assim como já observado em trabalho anterior (MANGAS et al., 1996). As cachaças envelhecidas que não apresentaram diferença significativa na concentração de vanilina da CNE foram: jaboty 1-18, itauba 1-18, carvalho 1-18, timborana 1-12, jequitiba 1-18, balsamo 1-3, courbaril 1-9 e 18, e cerejeira 1-18.

Dos compostos fenólicos analisados na cachaça peroba, a vanilina encontra-se na terceira maior quantidade (24,28%), conforme Tabela 19.

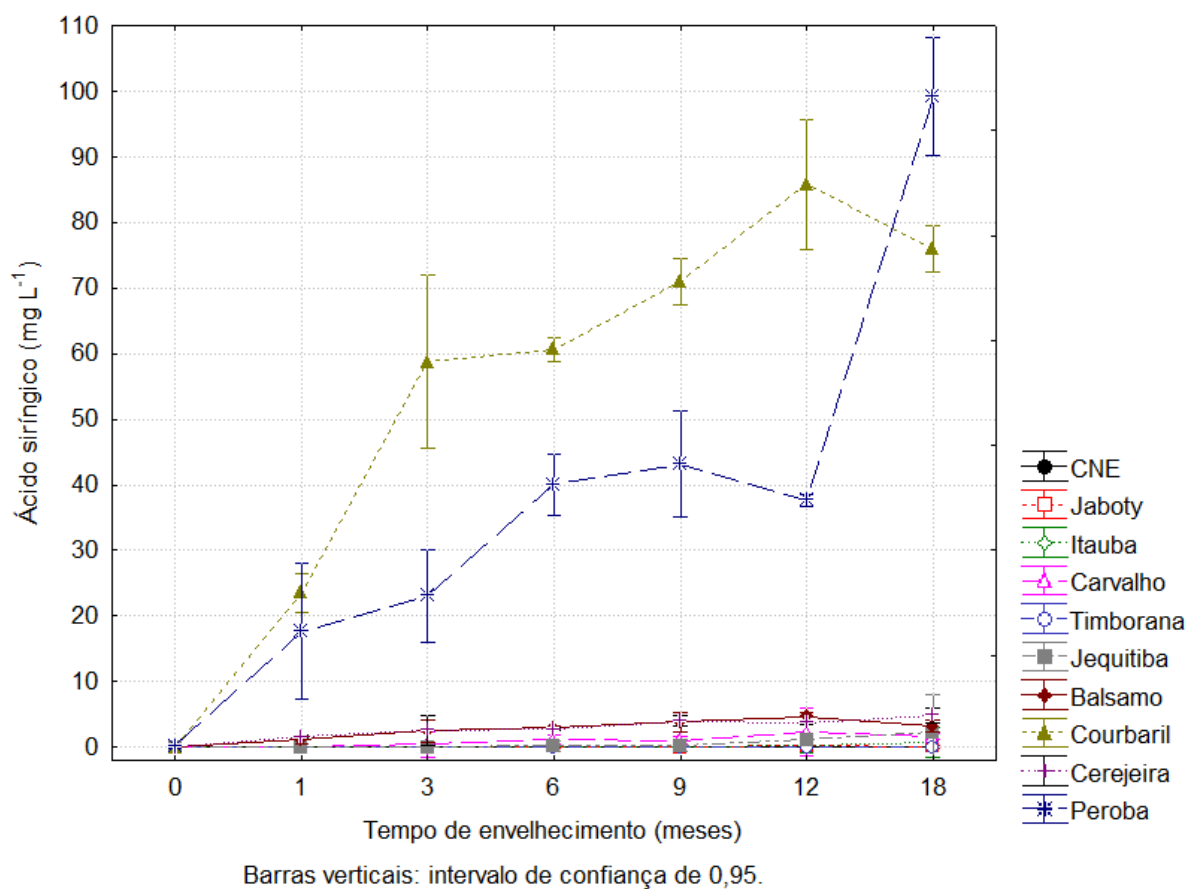
Em trabalhos anteriores, foram encontrados 1,31 a 1,54 mg L<sup>-1</sup> de vanilina em amostras de cachaças comerciais envelhecidas (AQUINO et al., 2006). A vanilina foi quantificada em extratos de serragem de carvalho (0,077 mg L<sup>-1</sup>), cerejeira (0,0094 mg L<sup>-1</sup>), ipê (7,26 mg L<sup>-1</sup>), courbaril (<LD) e castanheira (0,053 mg L<sup>-1</sup>) (SILVA, 2006). A vanilina foi determinada em cachaças envelhecidas, por 6 meses, em barris de 20 L de balsamo (14,91 mg L<sup>-1</sup>) e ipê (<LD) (DIAS, MAIA e NELSON, 1998). Variações das concentrações de vanilina de 0 a 9,8 mg L<sup>-1</sup> foram determinadas em extratos de serragem de diversas madeiras brasileiras e diversas espécies de carvalho (SILVA et al., 2009). Como mencionado anteriormente, as variações encontradas no conteúdo de compostos fenólicos analisados ocorre devido a numerosos fatores, como tempo de envelhecimento, espécie botânica das madeiras dos barris, método de construção dos barris, tratamento dos barris, condições ambientais (temperatura e humidade) em que os barris são armazenados, características químicas do destilado, entre outros (MOSEDALE e PUECH, 1998).

Todas as cachaças envelhecidas após 18 meses mostraram conteúdo de vanilina superior ao limite de detecção de odor de 0,1 mg L<sup>-1</sup> em 40% de etanol, o que deve proporcionar um aroma adocicado de baunilha à cachaça (SINGLETON, 1995; LEE et al., 2001). A cachaça envelhecida em peroba apresentou conteúdo de vanilina extremamente elevado. Portanto, a madeira peroba demonstrou ser a madeira mais indicada para o processo de envelhecimento da cachaça, devido às características sensoriais que o seu alto conteúdo de vanilina pode proporcionar à bebida.

#### 4.1.4 Ácido Siríngico

As concentrações do ácido siríngico nas cachaças, durante o processo de envelhecimento por 18 meses em diferentes madeiras, estão apresentadas nos Gráficos 4 e Tabela 19.

**Gráfico 4** – Concentrações de ácido siríngico ( $\text{mg L}^{-1}$ ) nas cachaças durante o processo de envelhecimento em barris de diferentes tipos de madeiras.



Fonte: A autora, 2011.

A concentração do ácido siríngico na cachaça não envelhecida apresentou valor menor do que o limite de detecção do método analítico ( $\text{LD} < 0,58 \text{ mg L}^{-1}$ ).

As cachaças envelhecidas em barris de peroba e courbaril apresentaram aumento significativo da quantidade de ácido siríngico ao longo do tempo de envelhecimento até 18 meses, atingindo os valores  $99,20 \text{ mg L}^{-1}$  e  $75,99 \text{ mg L}^{-1}$ , respectivamente. A concentração de ácido siríngico na cachaça envelhecida em peroba aumentou 62,00% do 12º mês de envelhecimento para o 18º mês. As cachaças envelhecidas que não incorporaram quantidade significativa de ácido siríngico em sua composição foram: jaboty 1-18, itauba 1-18, carvalho 1-18, timborana 1-18, jequitiba 1-18, balsamo 1-9 e 18 e cerejeira 1-12.

Dos compostos fenólicos analisados na cachaça peroba 18, o ácido siríngico mostrou ser o composto fenólico encontrado em maior percentual (40,25%).

Em trabalhos anteriores, foram determinadas variações de 1,94 a 2,1 mg L<sup>-1</sup> de ácido siríngico em amostras de cachaças envelhecidas (AQUINO et al., 2006). No entanto, outros trabalho não detectaram ácido siríngico em extrato de serragem de diversas espécies de madeiras (SILVA et al., 2009).

#### 4.1.5 Siringaldeído

A concentração média de siringaldeído na cachaça não envelhecida foi menor do que o limite de quantificação de 0,93 mg L<sup>-1</sup>, conforme Gráfico 5 e Tabela 19.

As cachaças envelhecidas que mostraram aumento significativo da concentração do siringaldeído quando comparados com a CNE, foram carvalho 6-18, balsamo 1-18 e peroba 3-18. As cachaças envelhecidas após 18 meses com maiores concentrações de siringaldeído foram carvalho (2,67 mg L<sup>-1</sup>), peroba (2,36 mg L<sup>-1</sup>) e balsamo (1,24 mg L<sup>-1</sup>). No entanto, a concentração do siringaldeído aumentou nas cachaças envelhecidas em peroba e balsamo até o 12º mês de envelhecimento, declinando a partir daí rapidamente. Isto deve ser explicado pela conversão parcial do siringaldeído à ácido siríngico, demonstrado pelo rápido aumento da concentração do ácido siríngico a partir do 12º mês de envelhecimento na cachaça peroba (MOSEDALE e PUECH, 1998). A concentração do ácido siríngico aumentou concomitantemente com a diminuição da concentração do siringaldeído (correspondente aldeído cinâmico do ácido siríngico), no mesmo período.

As cachaças envelhecidas que não incorporaram siringaldeído, em quantidades significativas, foram: jaboty 1-18, itauba 1-18, carvalho 1-3, jequitiba 1-18, timborana 1-18, courbaril 1-18, cerejeira 1-18 e peroba 1.

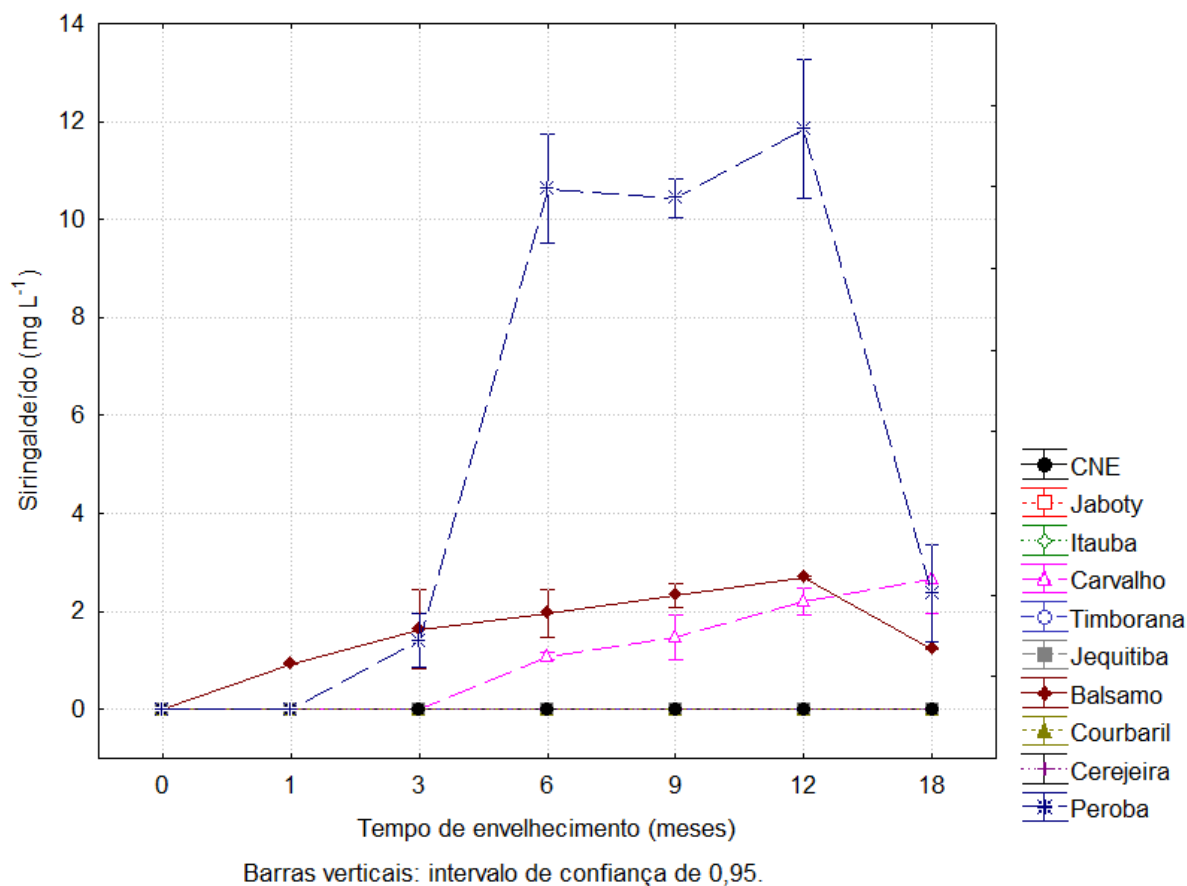
Dos compostos fenólicos da cachaça carvalho 18, o siringaldeído foi o composto fenólico encontrado com segundo maior percentual (26,02%), depois do ácido gálico.

O siringaldeído foi encontrado em maior quantidade em extratos de carvalho do que em extratos de madeiras brasileiras (SILVA et al., 2009). Em trabalhos anteriores, foram determinadas concentrações de 5,24 a 6,26 mg L<sup>-1</sup> de siringaldeído em cachaças comerciais (AQUINO et al., 2006). Silva e colaboradores (2006) quantificaram siringaldeído em extratos de serragem de carvalho e em



cachaças comerciais, que apresentaram variação de 0,14 a 0,21 mg L<sup>-1</sup> e 0,22 a 3 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente (SILVA, 2006).

**Gráfico 5** – Concentrações de siringaldeído (mg L<sup>-1</sup>) nas cachaças durante o processo de envelhecimento em barris de diferentes tipos de madeiras.



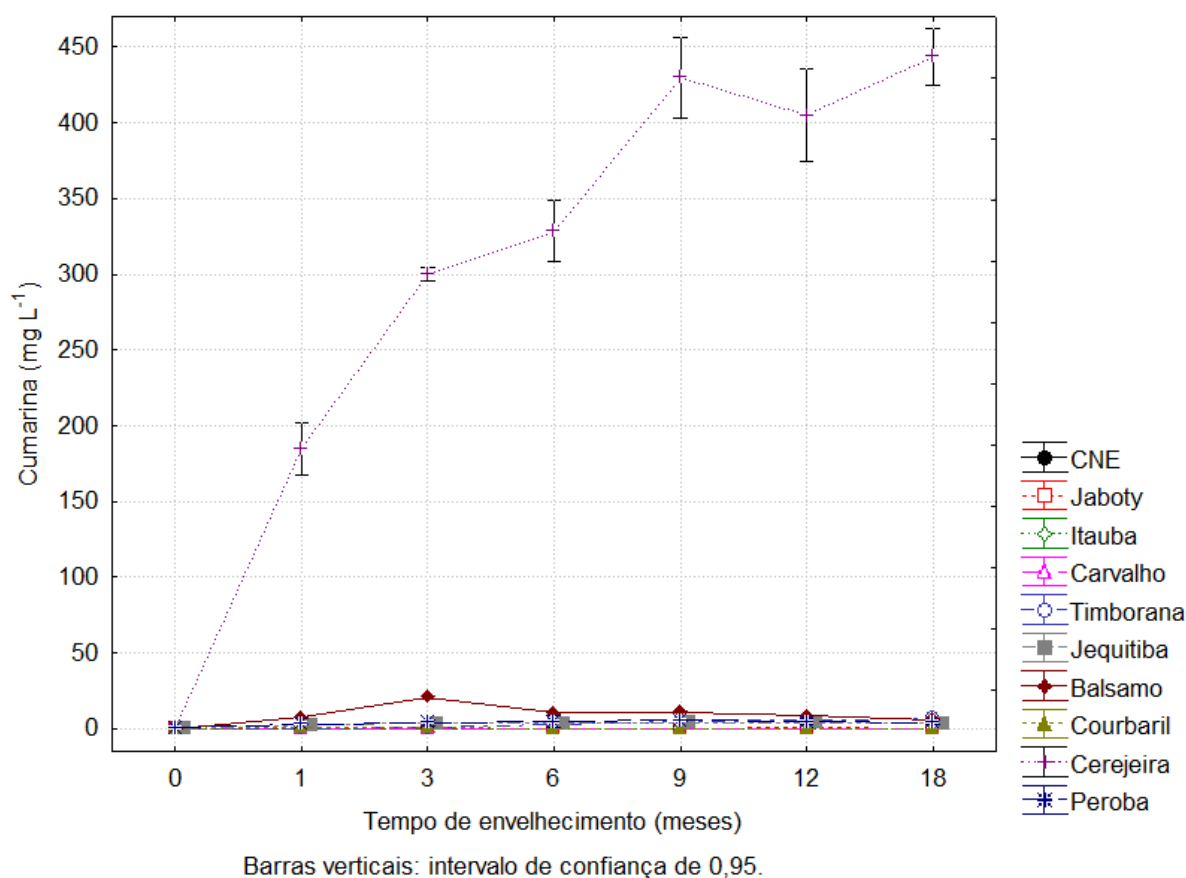
Fonte: A autora, 2011.

#### 4.1.6 Cumarina

Conforme o Gráfico 6 e Tabela 19, a cachaça não envelhecida apresentou concentração média de cumarina abaixo do limite de quantificação (LQ < 0,68 mg L<sup>-1</sup>). As cachaças que apresentaram concentração de cumarina significativamente diferentes da CNE foram balsamo 3-9 e cerejeira 1-18. No entanto, apenas a cachaça envelhecida em cerejeira incorporou quantidade significativa de cumarina após 18 meses de envelhecimento. A amostra de cachaça cerejeira 18 apresentou concentração média de cumarina de 443,51 mg L<sup>-1</sup>, valor este 46,6 vezes maior do que o limite máximo permitido, de 9,52 mg L<sup>-1</sup>, estabelecido pelo *Codex Alimentarius* (equivalente a 10 mg Kg<sup>-1</sup>, considerando a densidade da cachaça de 0,9521 g mL<sup>-1</sup>).

(SPROLL et al., 2008). A concentração de cumarina em cachaça envelhecida em barril de cerejeira foi muito alta, tornando a cerejeira uma madeira não recomendada para o envelhecimento de cachaça. Mesmo que fossem utilizados barris com maiores capacidades (200 a 700 litros) e, portanto, com maior volume de cachaça por área de contato, de 3 a 5 vezes maiores do que um barril de 20 L, não seria suficiente para diminuir a concentração de cumarina na cachaça envelhecida a níveis aceitáveis pela legislação. A relação volume de cachaça por área de contato dos barris foi calculada para os barris de 20 L ( $25,87 \text{ L m}^{-2}$ ), para barril de 200L ( $86,93 \text{ L m}^{-2}$ ) e para tonéis de 700L ( $152,67 \text{ L m}^{-2}$ ). Portanto, não é recomendada a utilização do barril de cerejeira para o envelhecimento de cachaça, independentemente de sua capacidade, porque a concentração de cumarina pode apresentar-se muito acima do limite estabelecido pelo *Codex Alimentarius*.

**Gráfico 6** – Concentrações de cumarina ( $\text{mg L}^{-1}$ ) nas cachaças durante o processo de envelhecimento em barris de diferentes tipos de madeiras.



Fonte: A autora, 2011.

A cachaça envelhecida em balsamo apresentou aumento da concentração de cumarina no 1º mês de envelhecimento (7,30 mg L<sup>-1</sup>) até o 9º mês (10,91 mg L<sup>-1</sup>). A partir daí, a concentração de cumarina começou a diminuir até atingir 5,97 mg L<sup>-1</sup> de cumarina no 18º mês de envelhecimento. A concentração de cumarina em balsamo excedeu o limite estabelecido pelo *Codex Alimentarius* do 3º ao 9º mês de envelhecimento, enquanto todas as outras amostras de cachaça apresentaram baixas concentrações de cumarina, exceto a de cerejeira. A concentração de cumarina da cachaça envelhecida em balsamo deve ser monitorada para evitar que o limite estabelecido seja ultrapassado.

Dos compostos fenólicos analisados na cachaça cerejeira 18, a cumarina foi encontrada em maior percentual (75,88%), conforme Tabela 19.

Os extratos de serragem de madeiras brasileiras são mais abundantes em cumarina do que os extratos de serragem de carvalho (SILVA et al., 2009). Esta constatação foi observada, também, neste estudo, apenas nas cachaças envelhecidas nas madeiras brasileiras cerejeira e balsamo.

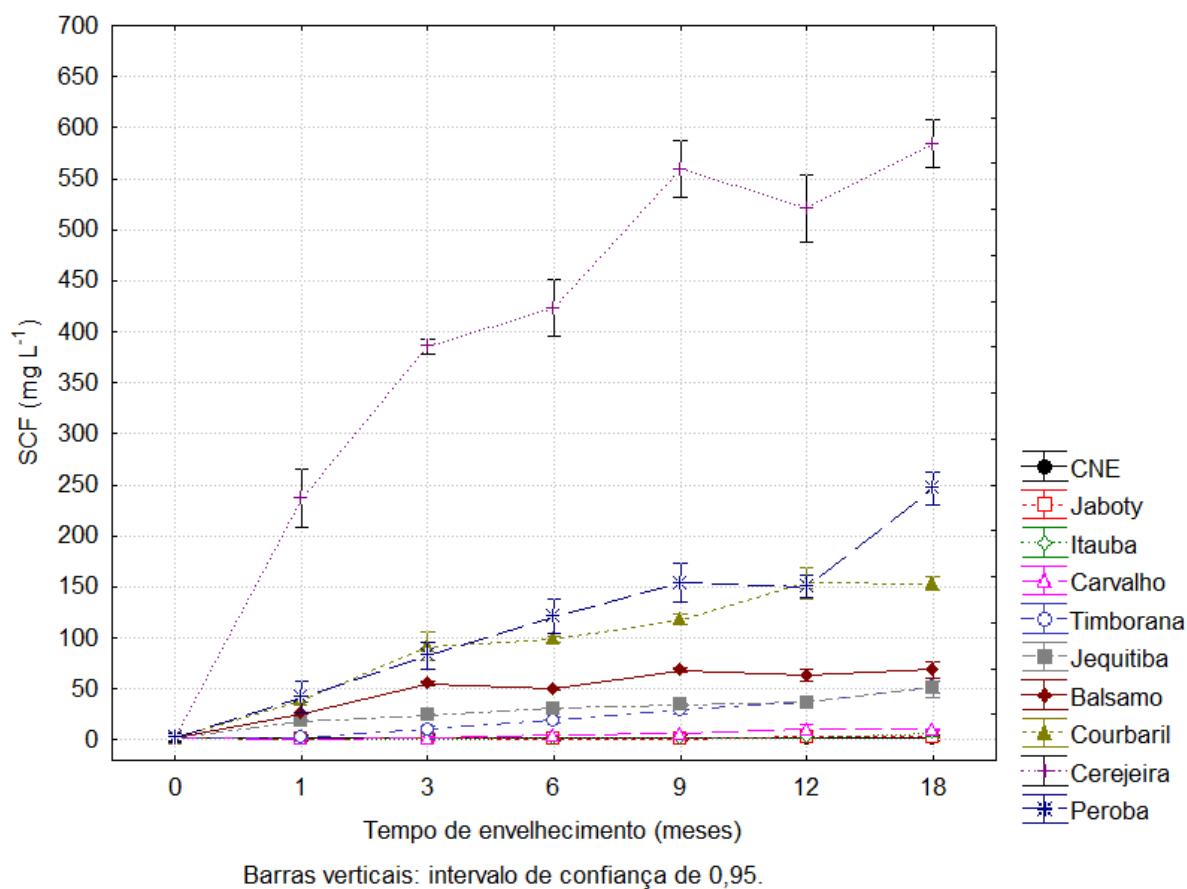
#### 4.1.7 Escopoletina

A cachaça não envelhecida e todas as cachaças envelhecidas, apresentaram concentração de escopoletina menores do que o limite de detecção do método de análise em HPLC utilizado (LD < 1,07 mg L<sup>-1</sup>). A cumarina e a escopoletina têm sido propostas para medir o grau de envelhecimento de bebidas; no entanto, recentemente, um estudo encontrou escopoletina e cumarina em extrato hidroalcoólico com corante caramelo, empregado na indústria de bebidas, indicando que as cumarinas não podem ser usadas como marcadores do envelhecimento (IZQUIERDO et al., 2000).

#### 4.1.8 Soma dos Compostos Fenólicos (SCF)

O Gráfico 7 e a Tabela 19 mostram os resultados da soma dos compostos fenólicos analisados em HPLC (SCF = ácido gálico + ácido vanílico + vanilina + ácido siríngico + siringaldeído + cumarina).

**Gráfico 7** – Soma dos compostos fenólicos ( $\text{mg L}^{-1}$ ) analisados nas cachaças em HPLC durante o processo de envelhecimento em barris de diferentes tipos de madeiras.



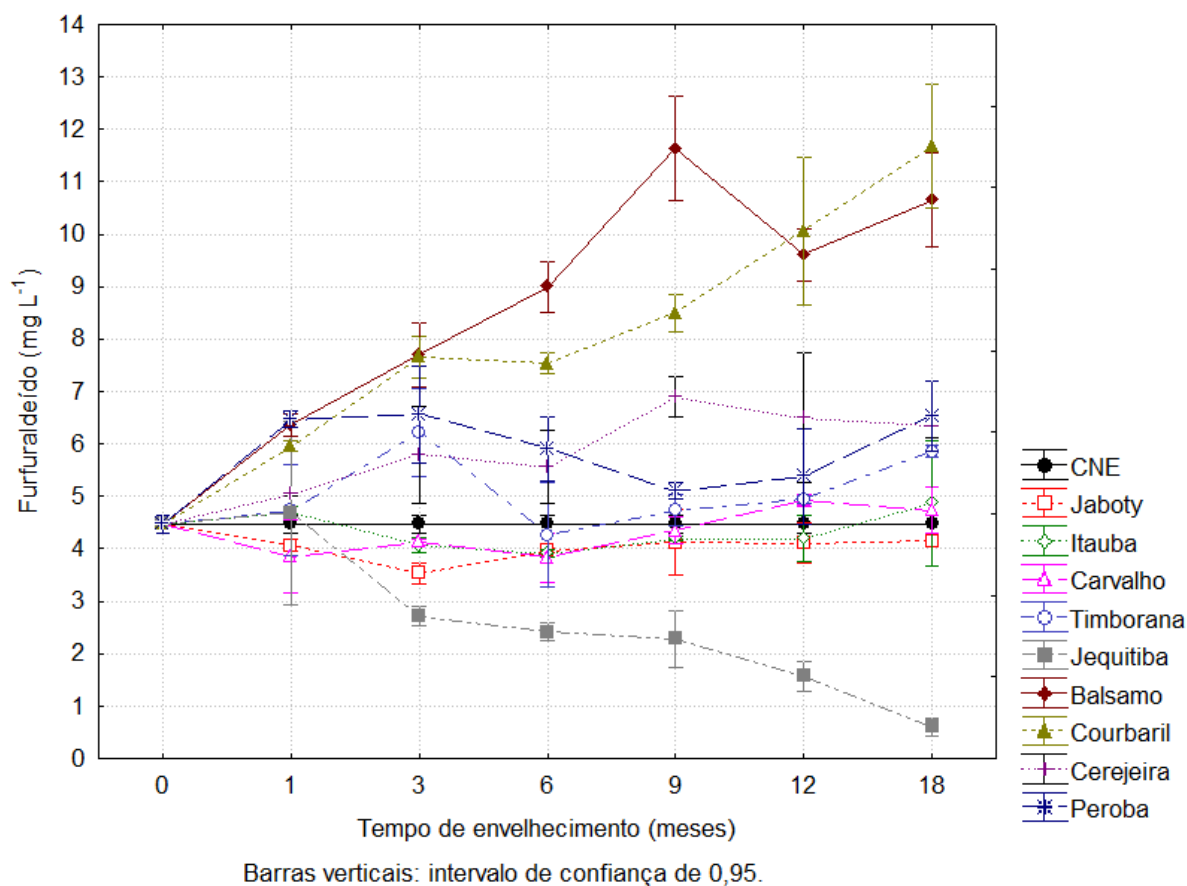
Fonte: A autora, 2011.

A cachaça não envelhecida apresentou SCF de  $1,68 \text{ mg L}^{-1}$ . As cachaças que apresentaram diferenças significativas da SCF quando comparadas com a CNE foram: cerejeira 1-18, peroba 1-18, courbaril 1-18, balsamo 1-18, jequitiba 1-18 e timborana 6-18. As cachaças envelhecidas com maior SCF foram: cerejeira 18 ( $584,48 \text{ mg L}^{-1}$ ), seguida por peroba 18 ( $246,49 \text{ mg L}^{-1}$ ), courbaril 18 ( $153,42 \text{ mg L}^{-1}$ ), balsamo 18 ( $68,69 \text{ mg L}^{-1}$ ), timborana 18 ( $52,02 \text{ mg L}^{-1}$ ) e jequitiba 18 ( $51,84 \text{ mg L}^{-1}$ ). As cachaças envelhecidas em barris de jaboty 1-18, itauba 1-18 e carvalho 1-18 não apresentaram diferenças significativas do SCF quando comparadas com a CNE.

#### 4.1.9 Furfuraldeído

A cachaça não envelhecida apresentou concentração média de 2-furfuraldeído de  $4,48 \text{ mg L}^{-1}$ , conforme mostra o Gráfico 8 e a Tabela 20.

**Gráfico 8** – Concentrações de furfuraldeído ( $\text{mg L}^{-1}$ ) nas cachaças durante o processo de envelhecimento em barris de diferentes tipos de madeiras.



Fonte: A autora, 2011.

O furfuraldeído contido na cachaça não envelhecida pode ter sido formado durante a colheita, principalmente, se a cana-de-açúcar foi queimada; ou durante a destilação, se o vinho continha açúcares residuais ou fragmentos de bagaço durante o aquecimento (MADRERA, GOMIS e ALONSO, 2003).

As cachaças envelhecidas que incorporaram as maiores concentrações de 2-furfuraldeído foram: courbaril 18 ( $11,68 \text{ mg L}^{-1}$ ), seguido de balsamo 18 ( $10,64 \text{ mg L}^{-1}$ ), peroba 18 ( $6,53 \text{ mg L}^{-1}$ ), cerejeira 18 ( $6,35 \text{ mg L}^{-1}$ ) e timborana 18 ( $5,86 \text{ mg L}^{-1}$ ). As cachaças que não diferiram significativamente da CNE foram: jaboty 1-18, carvalho 1-18 e itauba 1-18. Além disso, as amostras de cachaça jequitiba 3-18 apresentaram uma diminuição de até 86,6% da concentração de 2-furfuraldeído no 18º mês de envelhecimento, quando comparadas com a cachaça não envelhecida. Em trabalho anterior, verificou-se que o 5-metilfurfural e o 5 hidroximetilfurfural são formados durante a queima da madeira, pela degradação de carboidratos. No vinho estes dois aldeídos e o furfuraldeído são acumulados em 10 meses, e depois são

degradados extensamente, através de sua redução ao álcool correspondente (álcool furfúril), por mecanismos biológicos ou redução química (CERDÁN, GOÑI e AZPILICUETA, 2004). Possivelmente, neste trabalho, o furfural foi reduzido ao álcool furfúril na cachaça envelhecida em barril de jequitiba.

O furfuraldeído formado durante o envelhecimento apresentou concentração variada dependendo da espécie de madeira empregada. Nenhum desses três aldeídos têm seus limites de detecção de odor reportados, mas em baixas concentrações, podem aumentar o aroma das lactonas no carvalho. As concentrações de 2-furfuraldeído da cachaça não envelhecida e das cachaças envelhecidas se apresentaram muito abaixo do limite máximo de  $50 \text{ mg } 100 \text{ mL}^{-1}$  aa estabelecido pela legislação brasileira (soma de furfural e 5-hidroximetilfurfural) (BRASIL, 2005).

**Tabela 20** – Concentrações de furfuraldeído (mg L<sup>-1</sup>) na cachaça não envelhecida e cachaças envelhecidas em diferentes tempos de envelhecimento em barris de jaboty, itauba, carvalho, timborana, jequitiba, balsamo, courbaril, cerejeira e peroba.

| <i>Madeira</i> | <i>Efeito</i> | <i>Tempo de envelhecimento</i> |                          |                            |                            |                              |                              |                            |
|----------------|---------------|--------------------------------|--------------------------|----------------------------|----------------------------|------------------------------|------------------------------|----------------------------|
|                |               | <i>Cachaça não envelhecida</i> | <i>1 mês</i>             | <i>3 meses</i>             | <i>6 meses</i>             | <i>9 meses</i>               | <i>12 meses</i>              | <i>18 meses</i>            |
| Jaboty         | *             | 4,48±0,04 <sup>e</sup>         | 4,06±0,08 <sup>a,b</sup> | 3,53±0,02 <sup>c</sup>     | 3,96±0,25 <sup>a,b</sup>   | 4,12±0,16 <sup>a,b</sup>     | 4,11±0,03 <sup>a,b</sup>     | 4,15±0,04 <sup>a,b</sup>   |
| Itauba         | *             | 4,48±0,04 <sup>a</sup>         | 4,71±0,05 <sup>a,b</sup> | 4,07±0,03 <sup>a,b,c</sup> | 3,91±0,02 <sup>a,c</sup>   | 4,19±0,18 <sup>a,b,c</sup>   | 4,19±0,48 <sup>a,b,c</sup>   | 4,86±0,04 <sup>a,b</sup>   |
| Carvalho       | *             | 4,48±0,28 <sup>e</sup>         | 3,85±0,02 <sup>a,b</sup> | 4,13±0,18 <sup>a,b,c</sup> | 3,83±0,10 <sup>a,b,c</sup> | 4,35±0,04 <sup>a,b,c</sup>   | 4,92±0,18 <sup>a,b</sup>     | 4,73±0,28 <sup>a,c</sup>   |
| Timborana      | *             | 4,48±0,35 <sup>a</sup>         | 4,74±0,34 <sup>a,b</sup> | 6,22±0,40 <sup>c</sup>     | 4,27±0,12 <sup>a,b,d</sup> | 4,73±0,03 <sup>a,b,d,e</sup> | 4,94±0,05 <sup>a,b,d,e</sup> | 5,86±0,35 <sup>c</sup>     |
| Jequitiba      | *             | 4,48±0,70 <sup>e</sup>         | 4,69±0,07 <sup>a</sup>   | 2,72±0,07 <sup>b</sup>     | 2,41±0,22 <sup>c</sup>     | 2,29±0,11 <sup>c,d</sup>     | 1,58±0,07 <sup>c,d</sup>     | 0,60±0,70 <sup>e</sup>     |
| Balsamo        | *             | 4,48±0,08 <sup>a</sup>         | 6,36±0,25 <sup>b</sup>   | 7,71±0,19 <sup>c</sup>     | 9,0±0,40 <sup>d</sup>      | 11,63±0,20 <sup>e</sup>      | 9,61±0,36 <sup>d</sup>       | 10,65±0,08 <sup>f</sup>    |
| Courbaril      | *             | 4,48±0,04 <sup>e</sup>         | 5,95±0,16 <sup>b</sup>   | 7,66±0,08 <sup>c</sup>     | 7,54±0,14 <sup>c</sup>     | 8,50±0,57 <sup>d</sup>       | 10,07±0,47 <sup>e</sup>      | 11,68±0,04 <sup>f</sup>    |
| Cerejeira      | *             | 4,48±0,01 <sup>a</sup>         | 5,04±0,38 <sup>a,b</sup> | 5,80±0,28 <sup>b,c</sup>   | 5,55±0,16 <sup>b,c</sup>   | 6,89±0,50 <sup>d</sup>       | 6,49±0,09 <sup>c,d,e</sup>   | 6,35±0,01 <sup>c,d,e</sup> |
| Peroba         | *             | 4,48±0,07 <sup>e</sup>         | 6,47±0,37 <sup>b</sup>   | 6,56±0,24 <sup>b,c</sup>   | 5,91±0,06 <sup>b,c,d</sup> | 5,10±0,37 <sup>a,e</sup>     | 5,38±0,27 <sup>d,e</sup>     | 6,35±0,07 <sup>b,c,d</sup> |

Fonte: A autora, 2011.

NOTA: Valor médio ± desvio padrão. (Três amostras para cada cachaça); valores na mesma linha com letras diferentes são significativamente (\*P<0.05) diferentes pelo teste de Tukey; ns: sem diferença significativa; <LQ: abaixo do limite de quantificação (LQ)

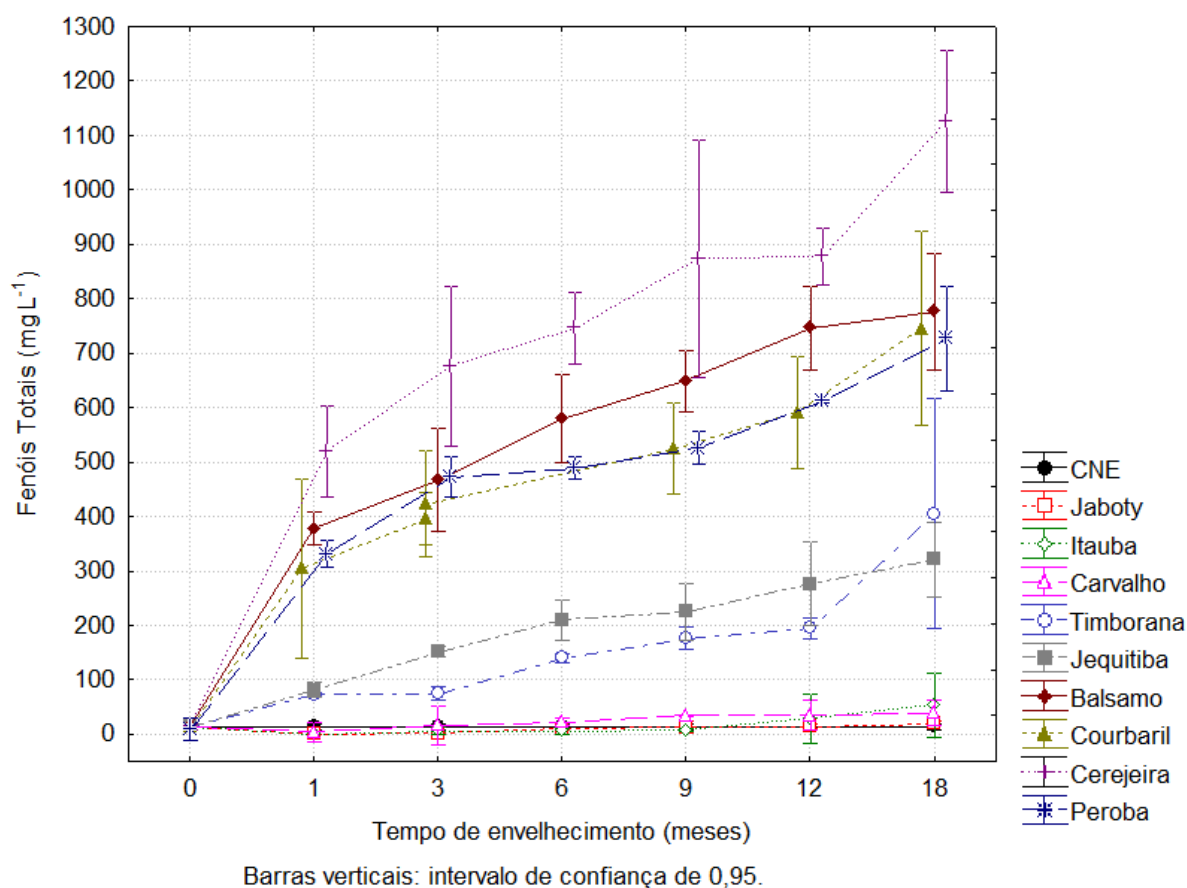
## 4.2 Capacidade Antioxidante

A capacidade antioxidante das cachaças estão representadas pelos fenóis totais ( $\text{mg L}^{-1}$ ), inibição do DPPH· I (%) e sulfato ferroso ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) por FRAP, descritos na Tabela 21.

### 4.2.1 Fenóis Totais por Foulin Ciocalteu

Os resultados das análises de capacidade antioxidante pelo método de Folin-Ciocalteu foram representados como fenóis totais em  $\text{mg L}^{-1}$  no Gráfico 9 e na Tabela 21.

**Gráfico 9** – Fenóis totais ( $\text{mg L}^{-1}$ ) na cachaças durante o processo de envelhecimento em diferentes barris pelo método FC.



Fonte: A autora, 2011.



**Tabela 21** – Capacidade antioxidante das cachaças expressos por fenóis totais ( $\text{mg L}^{-1}$ ), I (%) e sulfato ferroso ( $\mu\text{mol mL}^{-1}$ ) determinados pelos métodos FC, DPPH $\cdot$  e FRAP, respectivamente nas cachaças.

continua

| Capacidade Antioxidante                     | Efeito | Tempo de envelhecimento (meses) |                           |                             |                              |                               |                               |                              |
|---|--------|---------------------------------|---------------------------|-----------------------------|------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|------------------------------|
|   |        | Cachaça não envelhecida         | 1 mês                     | 3 meses                     | 6 meses                      | 9 meses                       | 12 meses                      | 18 meses                     |
| <b>Jaboty</b>                               |        |                                 |                           |                             |                              |                               |                               |                              |
| Fenóis totais ( $\text{mg L}^{-1}$ )        | ns     | 13,90±1,98                      | 0,53±0,10                 | 1,34±0,40                   | 9,72±0,38                    | 12,60±4,45                    | 14,64±1,52                    | 19,19±1,72                   |
| I (%)                                       | *      | 0,83±1,44 <sup>a</sup>          | 6,81±6,11 <sup>a,b</sup>  | 6,72±0,71 <sup>a,b,c</sup>  | 15,44±3,26 <sup>d</sup>      | 11,30±4,25 <sup>b,c,d,e</sup> | 14,07±0,98 <sup>d,e,f</sup>   | 18,74±0,76 <sup>d,f</sup>    |
| Sulfato ferroso ( $\mu\text{mol mL}^{-1}$ ) | ns     | 0,32±0,01                       | 0,32±0,01                 | 0,33±0,02                   | 0,37±0,01                    | 0,39±0,05                     | 0,40±0,01                     | 0,42±0,04                    |
| <b>Itauba</b>                               |        |                                 |                           |                             |                              |                               |                               |                              |
| Fenóis totais ( $\text{mg L}^{-1}$ )        | ns     | 13,90±1,98                      | 0,00±0,00                 | 5,86±2,80                   | 5,65±2,30                    | 7,67±1,53                     | 28,56±18,17                   | 54,24±23,78                  |
| I (%)                                       | *      | 0,83±1,44 <sup>a</sup>          | 2,19±1,90 <sup>a</sup>    | 3,95±0,52 <sup>a</sup>      | 12,09±0,65 <sup>b</sup>      | 12,20±1,71 <sup>b,c</sup>     | 15,67±1,40 <sup>b,c,d</sup>   | 23,08±2,87 <sup>e</sup>      |
| Sulfato ferroso ( $\mu\text{mol mL}^{-1}$ ) | ns     | 0,32±0,01                       | 0,29±0,00                 | 0,32±0,02                   | 0,39±0,02                    | 0,37±0,04                     | 0,38±0,03                     | 0,38±0,03                    |
| <b>Carvalho</b>                             |        |                                 |                           |                             |                              |                               |                               |                              |
| Fenóis totais ( $\text{mg L}^{-1}$ )        | ns     | 9,27±8,27                       | 4,12±7,13                 | 17,27±14,40                 | 22,72±2,45                   | 34,19±0,81                    | 34,62±11,08                   | 38,96±9,65                   |
| I (%)                                       | *      | 0,83±1,44 <sup>a</sup>          | 8,41±1,01 <sup>b</sup>    | 11,66±5,14 <sup>b,c</sup>   | 17,82±1,43 <sup>c,d</sup>    | 19,95±4,36 <sup>d,e</sup>     | 24,79±4,59 <sup>e,f</sup>     | 33,78±4,51 <sup>g</sup>      |
| Sulfato ferroso ( $\mu\text{mol mL}^{-1}$ ) | ns     | 0,32±0,01                       | 0,30±0,01                 | 0,35±0,03                   | 0,40±0,03                    | 0,43±0,03                     | 0,43±0,01                     | 0,45±0,03                    |
| <b>Timborana</b>                            |        |                                 |                           |                             |                              |                               |                               |                              |
| Fenóis totais ( $\text{mg L}^{-1}$ )        | *      | 9,27±8,27 <sup>a</sup>          | 72,59±1,15 <sup>a,b</sup> | 75,22±5,20 <sup>a,b,c</sup> | 139,87±3,00 <sup>b,c,d</sup> | 176,31±8,27 <sup>d,e</sup>    | 194,66±7,61 <sup>d,e</sup>    | 405,38±84,71 <sup>f</sup>    |
| I (%)                                       | *      | 0,83±1,44 <sup>a</sup>          | 28,73±2,25 <sup>b</sup>   | 92,02±0,45 <sup>c</sup>     | 93,41±0,06 <sup>c</sup>      | 93,83±0,49 <sup>c</sup>       | 92,64±0,27 <sup>c</sup>       | 92,59±0,23 <sup>c</sup>      |
| Sulfato ferroso ( $\mu\text{mol mL}^{-1}$ ) | *      | 0,32±0,01 <sup>a</sup>          | 0,46±0,04 <sup>a,b</sup>  | 0,91±0,19 <sup>c</sup>      | 1,03±0,15 <sup>c,d</sup>     | 1,52±0,23 <sup>e</sup>        | 1,52±0,22 <sup>e</sup>        | 1,91±0,22 <sup>f</sup>       |
| <b>Jequitiba</b>                            |        |                                 |                           |                             |                              |                               |                               |                              |
| Fenóis totais ( $\text{mg L}^{-1}$ )        | *      | 9,27±8,27 <sup>a</sup>          | 81,67±5,56 <sup>a,b</sup> | 151,06±3,99 <sup>b,c</sup>  | 209,72±14,77 <sup>c,d</sup>  | 225,36±20,80 <sup>c,d,e</sup> | 276,58±31,33 <sup>d,e,f</sup> | 321,14±27,31 <sup>f</sup>    |
| I (%)                                       | *      | 0,83±1,44 <sup>a</sup>          | 54,33±0,97 <sup>b</sup>   | 77,58±1,17 <sup>c</sup>     | 91,98±1,19 <sup>c</sup>      | 92,12±3,16 <sup>c</sup>       | 92,90±0,22 <sup>c</sup>       | 92,20±0,68 <sup>c</sup>      |
| Sulfato ferroso ( $\mu\text{mol mL}^{-1}$ ) | *      | 0,32±0,01 <sup>a</sup>          | 0,52±0,05 <sup>a,b</sup>  | 0,60±0,06 <sup>a,b,c</sup>  | 0,69±0,08 <sup>c,d</sup>     | 0,89±0,11 <sup>b,c,d,e</sup>  | 0,75±0,01 <sup>b,c,d,e</sup>  | 0,79±0,07 <sup>b,c,d,e</sup> |

|  |        |                         |                           |                             |                             |                               |                                 | Conclusão                   |
|--|--------|-------------------------|---------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------------------------------|---------------------------------|-----------------------------|
| Capacidade Antioxidante                  | Efeito | Tempo de envelhecimento |                           |                             |                             |                               |                                 |                             |
|  |        | Cachaça não envelhecida | 1 meses                   | 3 meses                     | 6 meses                     | 9 meses                       | 12 meses                        | 18 meses                    |
| <b>Balsamo</b>                           |        |                         |                           |                             |                             |                               |                                 |                             |
| Fenóis totais (mg L <sup>-1</sup> )      | *      | 9,27±8,27 <sup>a</sup>  | 377,85±11,73 <sup>b</sup> | 466,54±38,16 <sup>b,c</sup> | 578,82±32,52 <sup>d</sup>   | 648,46±22,89 <sup>d,e</sup>   | 746,59±30,94 <sup>i</sup>       | 776,58±43,22 <sup>f</sup>   |
| I (%)                                    | *      | 0,83±1,44 <sup>a</sup>  | 92,44±1,06 <sup>b</sup>   | 93,10±0,09 <sup>b</sup>     | 90,11±0,57 <sup>b</sup>     | 91,10±1,37 <sup>b</sup>       | 91,96±0,86 <sup>b</sup>         | 91,74±1,03 <sup>b</sup>     |
| Sulfato ferroso (μmol mL <sup>-1</sup> ) | *      | 0,32±0,01 <sup>a</sup>  | 1,72±0,00 <sup>b</sup>    | 2,50±0,08 <sup>c</sup>      | 3,36±0,03 <sup>d</sup>      | 3,63±0,14 <sup>d,e</sup>      | 3,55±0,15 <sup>d,e,i</sup>      | 3,91±0,20 <sup>e,g</sup>    |
| <b>Courbaril</b>                         |        |                         |                           |                             |                             |                               |                                 |                             |
| Fenóis totais (mg L <sup>-1</sup> )      | *      | 9,27±8,27 <sup>a</sup>  | 304,22±66,32 <sup>b</sup> | 395,52±19,02 <sup>b,c</sup> | 423,51±39,38 <sup>c,d</sup> | 524,03±33,67 <sup>e</sup>     | 591,25±41,31 <sup>e</sup>       | 745,20±71,63 <sup>f</sup>   |
| I (%)                                    | *      | 0,83±1,44 <sup>a</sup>  | 90,00±1,09 <sup>b</sup>   | 93,33±0,11 <sup>b,c</sup>   | 91,43±0,12 <sup>b,c,d</sup> | 90,02±0,99 <sup>b,c,d,e</sup> | 88,19±0,57 <sup>b,c,d,e,f</sup> | 84,80±0,63 <sup>b,e,f</sup> |
| Sulfato ferroso (μmol mL <sup>-1</sup> ) | *      | 0,32±0,01 <sup>a</sup>  | 1,06±0,11 <sup>b</sup>    | 2,38±0,06 <sup>c</sup>      | 2,36±0,02 <sup>c,d</sup>    | 2,30±0,15 <sup>c,d</sup>      | 3,08±0,26 <sup>e</sup>          | 2,81±0,00 <sup>e</sup>      |
| <b>Cerejeira</b>                         |        |                         |                           |                             |                             |                               |                                 |                             |
| Fenóis totais (mg L <sup>-1</sup> )      | *      | 9,27±8,27 <sup>a</sup>  | 520,12±33,72 <sup>b</sup> | 676,38±59,00 <sup>c</sup>   | 746,13±26,10 <sup>c</sup>   | 874,21±88,05 <sup>d</sup>     | 877,78±21,10 <sup>d</sup>       | 1126,23±52,43 <sup>e</sup>  |
| I (%)                                    | *      | 0,83±1,44 <sup>a</sup>  | 36,68±0,45 <sup>b</sup>   | 67,46±1,43 <sup>c</sup>     | 78,53±1,29 <sup>d</sup>     | 83,05±2,06 <sup>d,e</sup>     | 86,41±0,40 <sup>e,f</sup>       | 87,15±2,87 <sup>e,f</sup>   |
| Sulfato ferroso (μmol mL <sup>-1</sup> ) | *      | 0,32±0,01 <sup>a</sup>  | 0,68±0,15 <sup>b</sup>    | 0,72±0,16 <sup>b,c</sup>    | 0,95±0,21 <sup>b,c,d</sup>  | 0,98±0,20 <sup>b,c,d</sup>    | 1,05±0,00 <sup>d</sup>          | 1,15±0,00 <sup>d</sup>      |
| <b>Peroba</b>                            |        |                         |                           |                             |                             |                               |                                 |                             |
| Fenóis totais (mg L <sup>-1</sup> )      | *      | 9,27±8,27 <sup>a</sup>  | 331,44±9,66 <sup>b</sup>  | 472,53±14,65 <sup>c</sup>   | 489,06±8,60 <sup>c,d</sup>  | 525,89±12,43 <sup>c,d,e</sup> | 612,73±1,07 <sup>e</sup>        | 726,89±38,98 <sup>f</sup>   |
| I (%)                                    | *      | 0,83±1,44 <sup>a</sup>  | 57,14±0,44 <sup>b</sup>   | 67,66±2,29 <sup>c</sup>     | 89,61±1,33 <sup>d</sup>     | 91,61±1,17 <sup>d</sup>       | 90,78±0,05 <sup>d</sup>         | 90,14±0,96 <sup>d</sup>     |
| Sulfato ferroso (μmol mL <sup>-1</sup> ) | *      | 0,32±0,01 <sup>a</sup>  | 0,65±0,06 <sup>b</sup>    | 1,02±0,13 <sup>c</sup>      | 1,23±0,14 <sup>c</sup>      | 1,10±0,10 <sup>c</sup>        | 1,24±0,16 <sup>c</sup>          | 0,98±0,09 <sup>b,c</sup>    |

Fonte: A autora, 2011.

Nota: Valor médio ± desvio padrão. (Três amostras para cada tipo de cachaça); letras diferentes na mesma linha mostra valores significativamente (\*P<0.05) diferentes pelo teste de Tukey; ns: sem diferença significativa; nd: abaixo do limite de quantificação (LQ).

A cachaça não envelhecida apresentou concentração média de fenóis totais de  $9,26 \text{ mg L}^{-1}$ . As cachaças envelhecidas que apresentaram aumento significativo de fenóis totais, quando comparados com a CNE, foram: timborana 6-18, jequitiba 3-18, balsamo 1-18, courbaril 1-18, cerejeira 1-18 e peroba 1-18. Foi observado que o conteúdo de fenóis totais destas cachaças envelhecidas aumentou continuamente com o tempo de envelhecimento. As cachaças envelhecidas com maior concentração de fenóis totais após 18 meses de envelhecimento foram: cerejeira 18 ( $1126,22 \text{ mg L}^{-1}$ ), balsamo 18 ( $776,58 \text{ mg L}^{-1}$ ), courbaril 18 ( $745,19 \text{ mg L}^{-1}$ ), peroba 18 ( $726,89 \text{ mg L}^{-1}$ ), timborana 18 ( $405,38 \text{ mg L}^{-1}$ ) e jequitiba 18 ( $321,10 \text{ mg L}^{-1}$ ). As cachaças envelhecidas em barris de jaboty 1-18, carvalho 1-18 e itauba 1-18, não diferiram significativamente ( $P < 0,05$ ) da CNE. Estes resultados indicam que a origem botânica da madeira dos barris pode afetar o teor de fenóis totais, e estes resultados já haviam sido reportados, anteriormente, para mesclal e vinho (ÁVILA-REYES et al., 2010). Desta forma, as cachaças envelhecidas em barris de timborana, jequitiba, balsamo, courbaril e peroba, apresentaram conteúdo de fenóis totais superiores aos das cachaças envelhecidas em barris de carvalho, jaboty, itauba e CNE.

Os resultados acima descritos estão de acordo com trabalho anterior, que reportou que extratos de serragem de coubaril (jatoba) apresentaram teor de fenóis totais de  $1100 \text{ mg L}^{-1}$  (SILVA et al., 2009). Foi reportado, também, o teor de fenóis totais de diversos extratos de carvalho, que variaram de 236 a  $488 \text{ mg L}^{-1}$  (CARDOSO et al., 2008). Estes valores estão muito superiores aos resultados encontrados neste trabalho ( $33,78 \text{ mg L}^{-1}$ ) para cachaça envelhecida em carvalho por 18 meses. Esta discrepância pode ter sido ocasionada devido à utilização de extratos de serragem de carvalho, que apresentam área superficial de contato muito maior do que os barris, enquanto nesse trabalho foi feito o efetivo envelhecimento em barris de 20 L de carvalho.

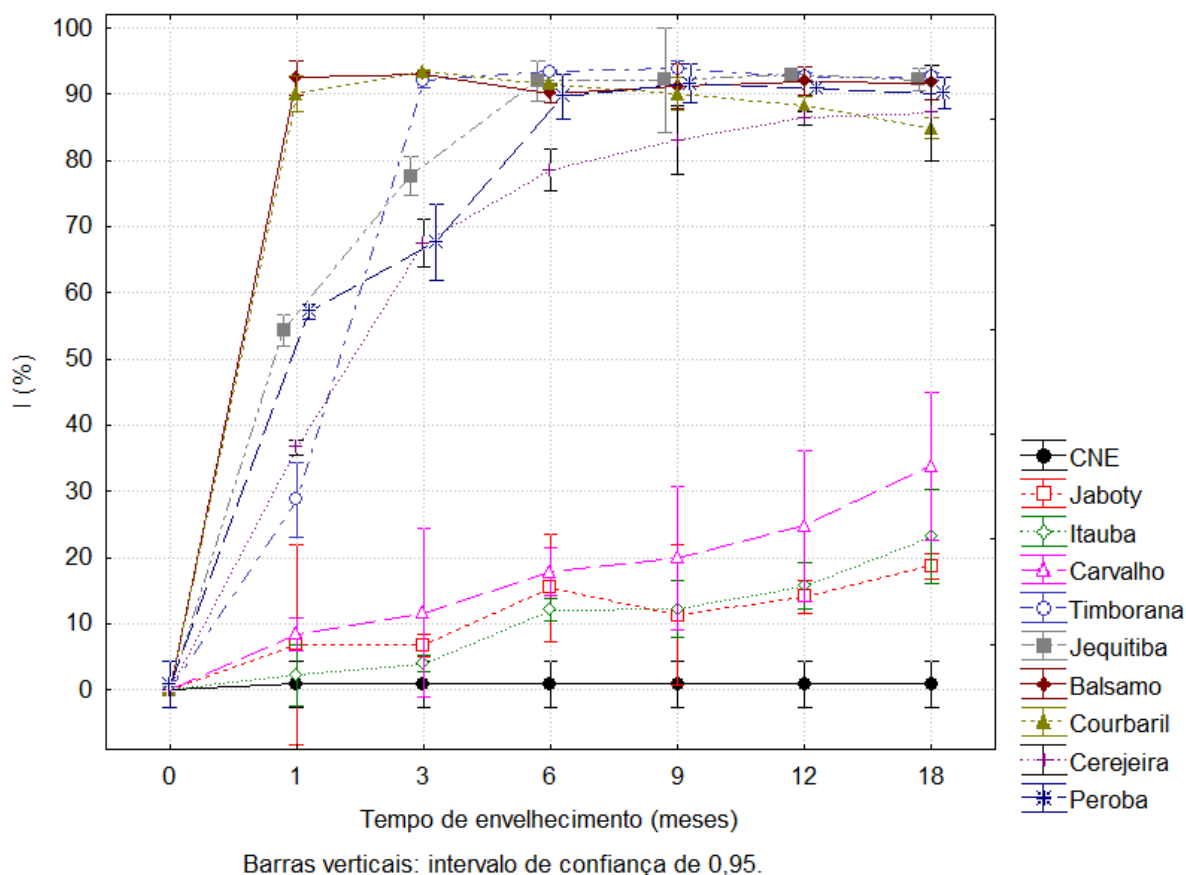
#### 4.2.2 Capacidade Antioxidante por Radical DPPH

Os resultados da capacidade antioxidante, determinada pelo método do DPPH $\cdot$ , foram expressos como inibição do radical livre DPPH $\cdot$  I (%) e porcentagem remanescente de DPPH $\cdot$  (DPPH $_{\text{REM}}$ ).

No Gráfico 10 foram mostrados os resultados da avaliação quantitativa da capacidade antioxidante da cachaça não envelhecida e das cachaças envelhecidas

(em diferentes barris e tempos de envelhecimento), expressos como inibição do radical livre DPPH· em porcentagem (I).

**Gráfico 10** – Capacidade antioxidante medida como inibição ao radical DPPH· (%) pelo método FC, nas cachaças durante o processo de envelhecimento em diferentes barris .



Fonte: A autora, 2011.

As cachaças não envelhecidas apresentaram inibição ao radical DPPH· desprezível (CNE 0 de 0,83% a CNE 18 de 3,38%). Todas as cachaças envelhecidas diferiram da CNE 0, exceto jaboty 1-3 e itauba 1-3. As cachaças envelhecidas após 18 meses, com maior inibição do radical DPPH foram: timborana 18 (92,59%), seguida por jequitiba 18 (92,20%), balsamo 18 (91,74%), peroba 18 (90,14%), cerejeira 18 (87,15%), courbaril 18 (84,8%), carvalho 18 (33,78%), itauba 18 (23,08%) e jaboty 18 (18,74%). Estes resultados estão de acordo com a literatura reportada anteriormente, que determinou que extratos de serragem de madeiras brasileiras apresentaram, em média, maior capacidade antioxidante do que extratos de carvalho (CARDOSO et al., 2008). De forma geral, a capacidade antioxidante foi

determinado pela origem botânica da madeira, e pelo tempo de envelhecimento. A habilidade em inibir o radical DPPH· aumenta com o tempo de envelhecimento das cachaças. Acredita-se que o processo de envelhecimento de bebidas em barris de madeira é caracterizado pela difusão de compostos com capacidade antioxidante da madeira para a cachaça.

Observou-se que inibição ao radical DPPH na cachaça envelhecida em barril de courbaril diminuiu significativamente, a partir do 3º mês de envelhecimento (93,33%), chegando a atingir no 18º mês 84,8%, e no mesmo período, houve um aumento da SCF e dos fenóis totais. Tal fato, pode estar relacionado a propriedades pró-oxidantes, que alguns compostos fenólicos oriundos de plantas apresentam, quando encontram-se em elevadas concentrações, favorecendo reações de oxidação (LAUGHTON et al., 1989). Além dos resultados de inibição ao radical DPPH·, foi importante avaliar o comportamento cinético da reação do DPPH· em cada cachaça estudada individualmente. Portanto, foram apresentados os resultados em porcentagem remanescente de DPPH· ( $DPPH_{REM}$ ) em função do tempo (min) de reação, das cachaças não envelhecidas e envelhecidas, e de soluções padrão de ácido gálico nas concentrações 50 e 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , conforme os Gráficos 11 a 21.

O Gráfico 11 mostra a cinética do ácido gálico, utilizado como padrão de comparação frente ao radical DPPH·. O ácido gálico a 100  $\mu\text{g L}^{-1}$  consumiu, no primeiro minuto de cinética, 68,42% do DPPH· presente no meio, enquanto que o ácido gálico a 50  $\mu\text{g L}^{-1}$  consumiu 48,20%. O ácido gálico a 100  $\mu\text{g L}^{-1}$  e 50  $\mu\text{g L}^{-1}$ , atingiu, após 55 minutos de reação,  $DPPH_{REM}$  de 8,25% e 25,26%, respectivamente.

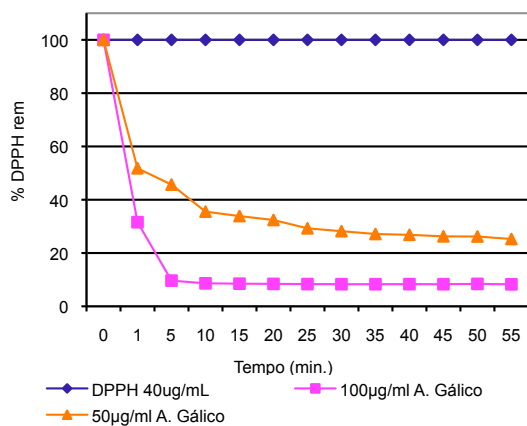
O Gráfico 12 mostra a cinética das cachaças não envelhecidas, armazenadas em frascos de vidro durante 18 meses, frente a 40  $\mu\text{g L}^{-1}$  de DPPH·. As CNE não consumiram DPPH· presente no meio em 55 minutos. Portanto, as cachaças não envelhecidas não apresentam capacidade antioxidante, pelo método do DPPH·, conforme mencionado anteriormente.

A evolução das diferentes cinéticas das reações depende da natureza e dos tipos de antioxidantes que estão presentes em cada cachaça. Três tipos de comportamento foram observados e classificados, conforme trabalhos anteriores (BRAND-WILLIAMS, CUVELIER e BERSET, 1995). Os Gráfico da cinético das

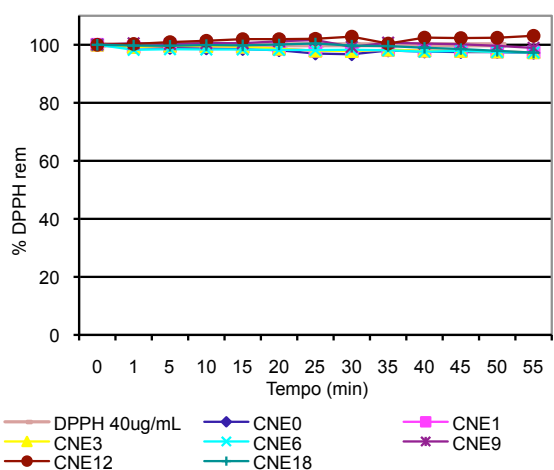
cachaças envelhecidas em balsamo, courbaril, timborana e ácido gálico ( $100 \mu\text{g L}^{-1}$ ) são classificados como comportamento cinético rápido. Neste caso os compostos antioxidantes reagiram rapidamente com o DPPH $\cdot$ , atingindo o estado de equilíbrio em poucos minutos, conforme Gráficos 11, 16, 18 e 19. O segundo tipo observado foi o comportamento cinético intermediário, apresentado pela cinética de reação do DPPH $\cdot$  nas cachaças envelhecidas em: jequitiba, cerejeira, peroba e ácido gálico ( $50 \mu\text{g L}^{-1}$ ), conforme Gráficos 11, 17, 20 e 21. Para estas reações, o estado de equilíbrio foi atingido depois de aproximadamente 15 minutos para a cachaça envelhecida em jequitiba, 20 minutos para a cachaça envelhecida em peroba, 35 minutos para a cachaça envelhecida em cerejeira e 30 minutos para o ácido gálico ( $50 \mu\text{g L}^{-1}$ ). As demais cachaças (jaboty, itauba e carvalho) reagiram muito lentamente com o DPPH $\cdot$ , apresentando curvas hiperbólicas, e levando cerca de 55 minutos para atingir o estado de equilíbrio, conforme Gráficos 13, 14 e 15.

Observou-se o aumento da velocidade da cinética reacional das cachaças frente ao radical DPPH $\cdot$ , com o passar do tempo de envelhecimento, constatado pela diminuição do DPPH $\cdot$  remanescente.

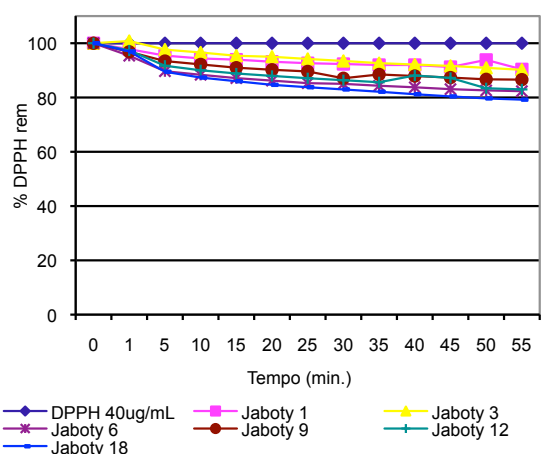
**Gráfico 11** – Cinética dos padrões de ácido gálico ( $50 \mu\text{g L}^{-1}$  e  $100 \mu\text{g L}^{-1}$ ) frente ao radical DPPH·.



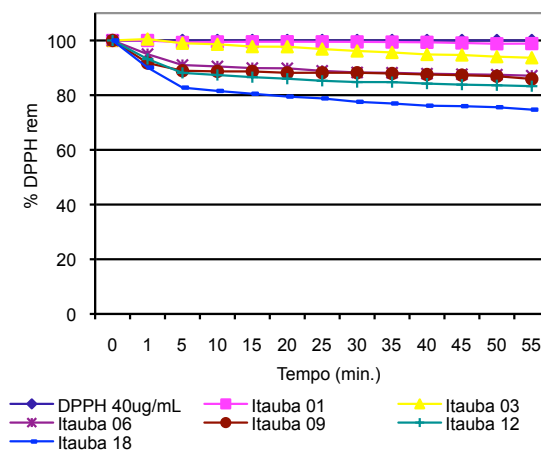
**Gráfico 12** – Cinética da CNE frente ao DPPH·.



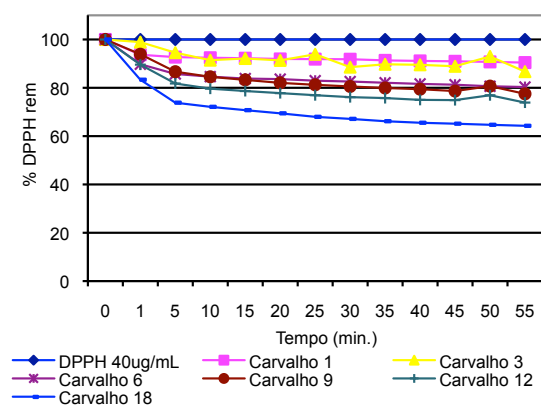
**Gráfico 13** – Cinética das cachaças envelhecidas em barril de jaboty frente ao DPPH·.



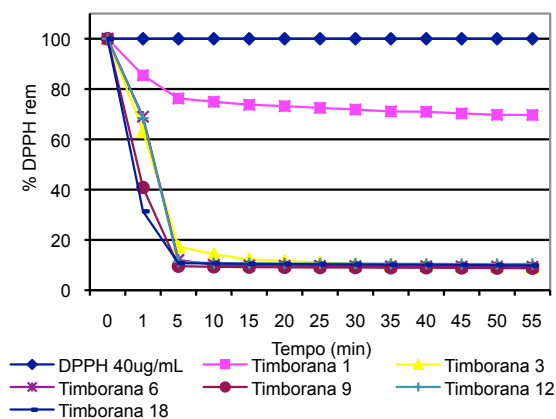
**Gráfico 14** – Cinética das cachaças envelhecidas em barril de itauba frente ao DPPH·.



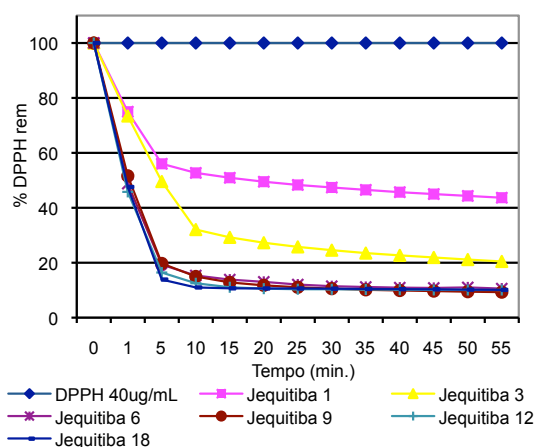
**Gráfico 15** – Cinética das cachaças envelhecidas em barril de carvalho frente ao DPPH·.



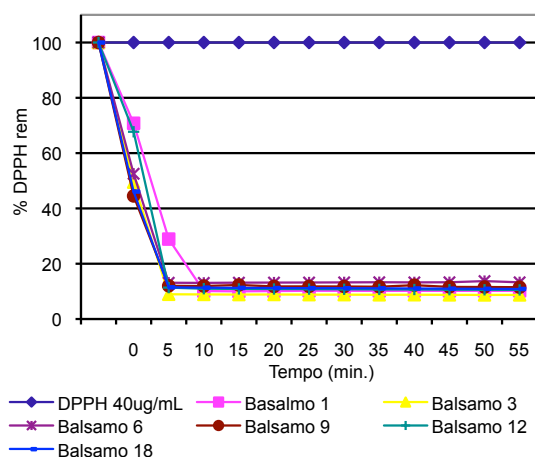
**Gráfico 16** – Cinética das cachaças envelhecidas em barril de timborana frente ao DPPH·.



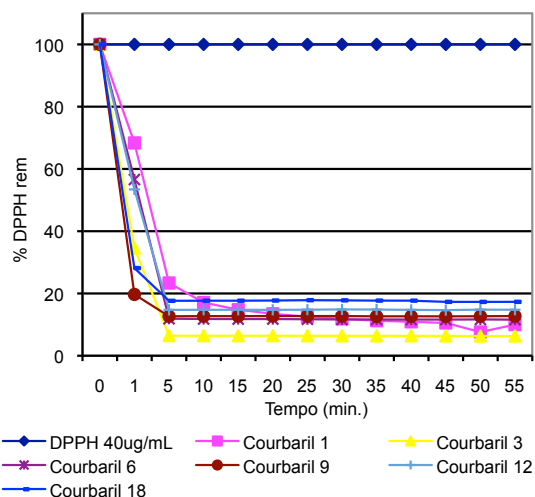
**Gráfico 17** - Cinética das cachaças envelhecidas em barril de jequitiba frente ao DPPH.



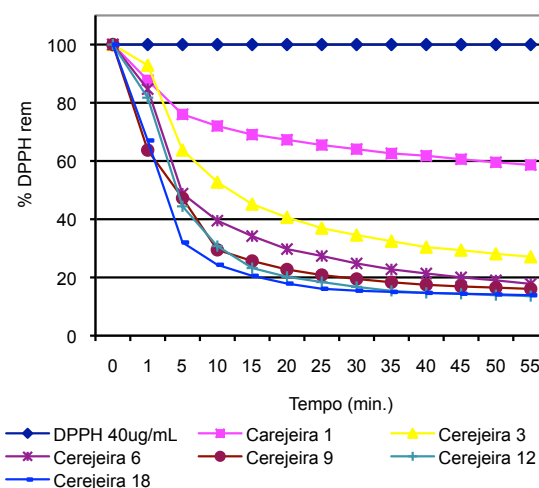
**Gráfico 18** - Cinética das cachaças envelhecidas em barril de balsamo frente ao DPPH.



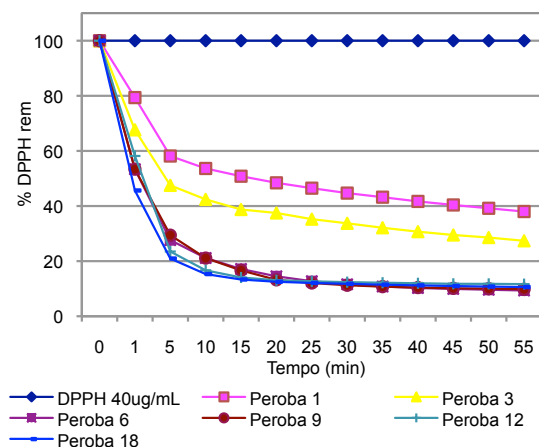
**Gráfico 19** - Cinética das cachaças envelhecidas em barril de courbaril frente ao DPPH.



**Gráfico 20** - Cinética das cachaças envelhecidas em barril de cerejeira frente ao DPPH.



**Gráfico 21** - Cinética das cachaças envelhecidas em barril de peroba frente ao DPPH.



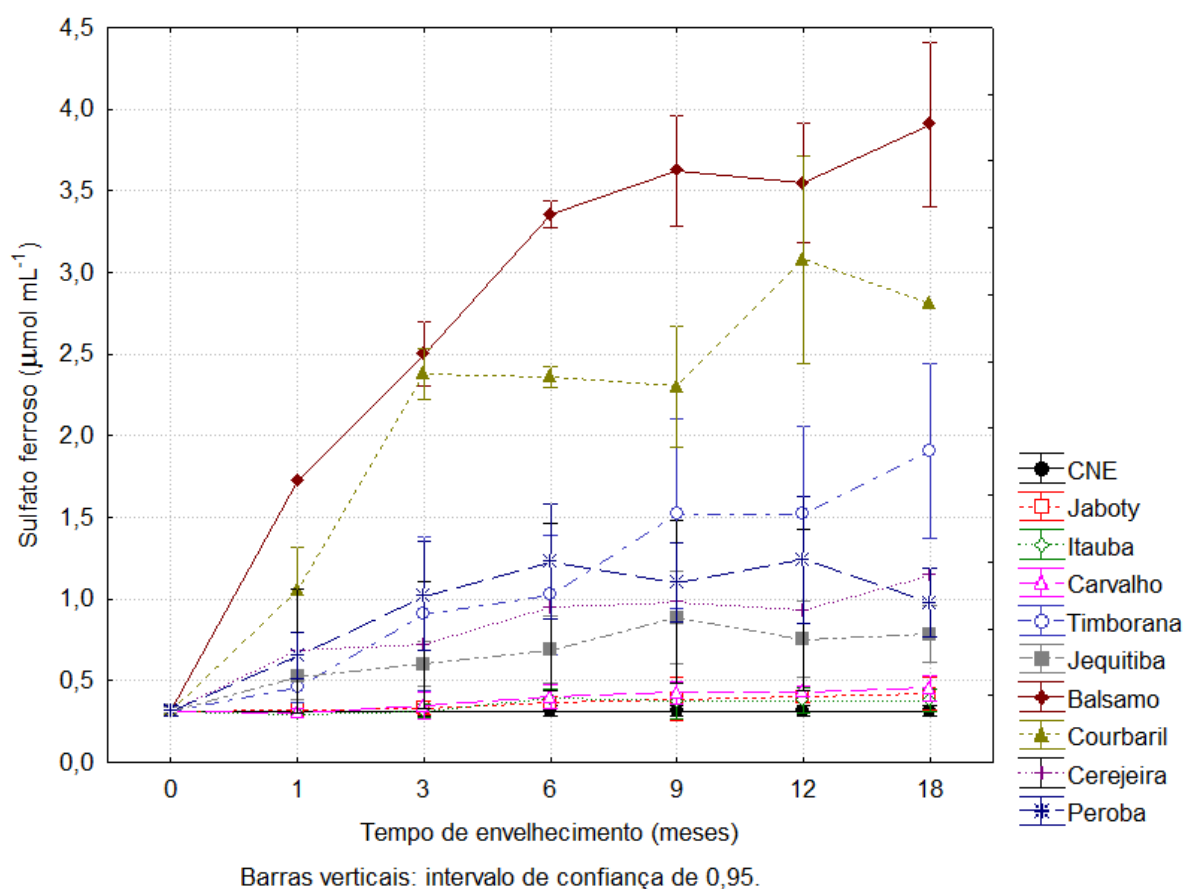
Fonte: A autora, 2011.



#### 4.2.3 Capacidade Antioxidante por FRAP (Poder de Redução Férrica)

As análises da capacidade antioxidante nas cachaças foram determinadas pelo método do FRAP (Ferric reducing antioxidant Power - poder antioxidante do ferro) apresentando resultados de concentração equivalente de sulfato ferroso expressos em  $\mu\text{mol mL}^{-1}$  de cachaça, conforme Gráfico 22 e Tabela 21.

**Gráfico 22** – Capacidade antioxidante medida como equivalente de sulfato ferroso ( $\mu\text{mol mL}^{-1}$ ) pelo método FRAP, nas cachaças durante o processo de envelhecimento .



Fonte: A autora, 2011.

A cachaça não envelhecida apresentou  $0,32 \mu\text{mol mL}^{-1}$  equivalente de sulfato ferroso. As cachaças que apresentaram aumento da capacidade antioxidante medida por FRAP, com diferença significativa da CNE, foram: timborana 3-18, jequitiba 6-18, balsamo 1-18, courbaril 1-18, cerejeira 1-18 e peroba 1-18. As cachaças envelhecidas em jaboty 1-18, itauba 1-18 e carvalho 1-18 não diferiram significativamente ( $P < 0,05$ ) da CNE. As cachaças que apresentaram maiores

valores equivalentes de sulfato ferroso após 18 meses de envelhecimento foram: balsamo ( $3,91 \mu\text{mol mL}^{-1}$ ), seguido por courbaril ( $2,81 \mu\text{mol mL}^{-1}$ ), timborana ( $1,90 \mu\text{mol mL}^{-1}$ ), cerejeira ( $1,15 \mu\text{mol mL}^{-1}$ ), peroba ( $0,98 \mu\text{mol mL}^{-1}$ ) e jequitiba ( $0,79 \mu\text{mol mL}^{-1}$ ). A capacidade antioxidante, medida por FRAP, nessas cachaças envelhecidas variou conforme a origem botânica, e aumentou continuamente com o tempo de envelhecimento. Trabalhos anteriores determinaram a capacidade antioxidante em vinho tinto pela metodologia FRAP, e obtiveram resultado médio de  $4,3 \mu\text{mol mL}^{-1}$  de equivalente de sulfato de ferroso, cujo valor encontra-se na mesma ordem de grandeza dos encontrados neste trabalho (SEERAM et al., 2008).

### 4.3 Correlação entre Compostos Fenólicos e Capacidade Antioxidante

A partir de todos os resultados das análises de compostos fenólicos, capacidade antioxidante e furfuraldeído, apresentados anteriormente, foram calculados os coeficientes de correlações entre todas essas variáveis duas a duas, conforme Tabela 22.

**Tabela 22** – Coeficientes de correlação ( $R^2$ ) das análises de compostos fenólicos, furfuraldeído e capacidade antioxidante (FC, DPPH• e FRAP).

|                        | Ácido gálico | Ácido vanílico | Vanilina | Ácido síringico | Siringal-deído | Cumarina | SFC   | Fenóis totais (FC) | I% (DPPH) | Sulfato ferroso (FRAP) | Furfural-deído |
|------------------------|--------------|----------------|----------|-----------------|----------------|----------|-------|--------------------|-----------|------------------------|----------------|
| Ácido gálico           | 1,00         |                |          |                 |                |          |       |                    |           |                        |                |
| Ácido vanílico         | -0,075       | 1,000          |          |                 |                |          |       |                    |           |                        |                |
| Vanilina               | -0,084       | 0,382          | 1,000    |                 |                |          |       |                    |           |                        |                |
| Ácido síringico        | 0,511        | 0,180          | 0,571    | 1,000           |                |          |       |                    |           |                        |                |
| Siringal-deído         | -0,049       | 0,230          | 0,686    | 0,289           | 1,000          |          |       |                    |           |                        |                |
| Cumarina               | -0,060       | 0,874          | -0,067   | -0,084          | -0,112         | 1,000    |       |                    |           |                        |                |
| SFC                    | 0,137        | 0,943          | 0,198    | 0,251           | 0,063          | 0,934    | 1,000 |                    |           |                        |                |
| Fenóis totais (FC)     | 0,540        | 0,742          | 0,342    | 0,466           | 0,258          | 0,620    | 0,810 | 1,000              |           |                        |                |
| I% (DPPH)              | 0,617        | 0,423          | 0,305    | 0,440           | 0,271          | 0,247    | 0,455 | 0,765              | 1,000     |                        |                |
| Sulfato Ferroso (FRAP) | 0,818        | 0,094          | 0,072    | 0,443           | 0,165          | 0,018    | 0,213 | 0,680              | 0,707     | 1,000                  |                |
| Furfural-deído         | 0,622        | 0,190          | 0,116    | 0,516           | 0,133          | 0,137    | 0,319 | 0,652              | 0,456     | 0,839                  | 1,000          |

Fonte: A autora, 2011.

Nota: As correlações foram calculadas com os dados de todas as amostras.

A SCF apresentou para todas as cachaças analisadas, forte correlação ( $R^2$ ) com as determinações de ácido vanílico ( $R^2 = 0,943$ ), cumarina ( $R^2 = 0,934$ ), e fenóis totais ( $R^2 = 0,810$ ).

Os fenóis totais mostraram boa correlação entre os resultados de I ( $R^2 = 0,765$ ), ácido vanílico ( $R^2 = 0,742$ ) e sulfato ferroso - FRAP ( $R^2 = 0,680$ ); e média correlação entre furfuraldeído ( $R^2 = 0,652$ ), cumarina ( $R^2 = 0,620$ ) e ácido gálico ( $R^2 = 0,540$ ).

A inibição ao radical DPPH· (I) apresentou alta correlação entre sulfato ferroso ( $R^2 = 0,707$ ); e boa correlação entre ácido gálico ( $R^2 = 0,617$ ).

Os resultados das análises de capacidade antioxidante por FRAP apresentaram alta correlação com furfuraldeído ( $R^2 = 0,839$ ) e ácido gálico ( $R^2 = 0,818$ ).

O ácido siríngico mostrou média correlação com vanilina ( $R^2 = 0,571$ ), furfuraldeído ( $R^2 = 0,516$ ) e ácido gálico ( $R^2 = 0,511$ ).

A vanilina mostrou boa correlação com siringaldeído ( $R^2 = 0,686$ ).

O ácido vanílico apresentou alta correlação com a cumarina ( $R^2 = 0,874$ ).

O ácido gálico mostrou média correlação com o ácido gálico ( $R^2 = 0,622$ ).

As variáveis que apresentaram maior número de coeficientes de correlação maiores do que  $R^2 > 0,5$  foram: fenóis totais (FC), seguido por ácido gálico, sulfato ferroso (FRAP), furfuraldeído, SCF, I (DPPH), ácido siríngico, vanílico, cumarina, vanilina e siringaldeído.

A correlação de I e SCF ( $R^2 = 0,455$ ) foi baixa, porque cada composto fenólico individualmente tem uma capacidade antioxidante diferente do outro. Eles podem juntos apresentar efeito de sinergismo ou antagonismo, modificando a capacidade antioxidante da mistura complexa dos compostos fenólicos (LAGUERRE, LECOMTE e VILLENEUVE, 2007). Na cachaças envelhecidas deve ter ocorrido sinergismo entre os compostos fenólicos, provendo uma maior capacidade antioxidante, reduzindo a correlação entre estes fatores (I e SCF); estes resultados estão de acordo com observações de trabalhos anteriores (CARDOSO et al., 2008). A baixa correlação entre SCF e I foi observada, principalmente, nas cachaças envelhecidas em peroba e balsamo. As cachaças envelhecidas em peroba apresentaram maior SCF do que as cachaças envelhecidas em balsamo, enquanto que, este mostrou maior I do que peroba. Este fato, sugere que o ácido gálico, composto fenólico encontrado em maior concentração em balsamo, deve ter maior capacidade de

capturar o radical DPPH· do que os outros compostos fenólicos, pois apresentam três grupos hidroxila. Portanto, a composição fenólica mais do que sua concentração, determinou a maior capacidade antioxidante das cachaças envelhecidas em balsamo do que as envelhecidas em peroba.

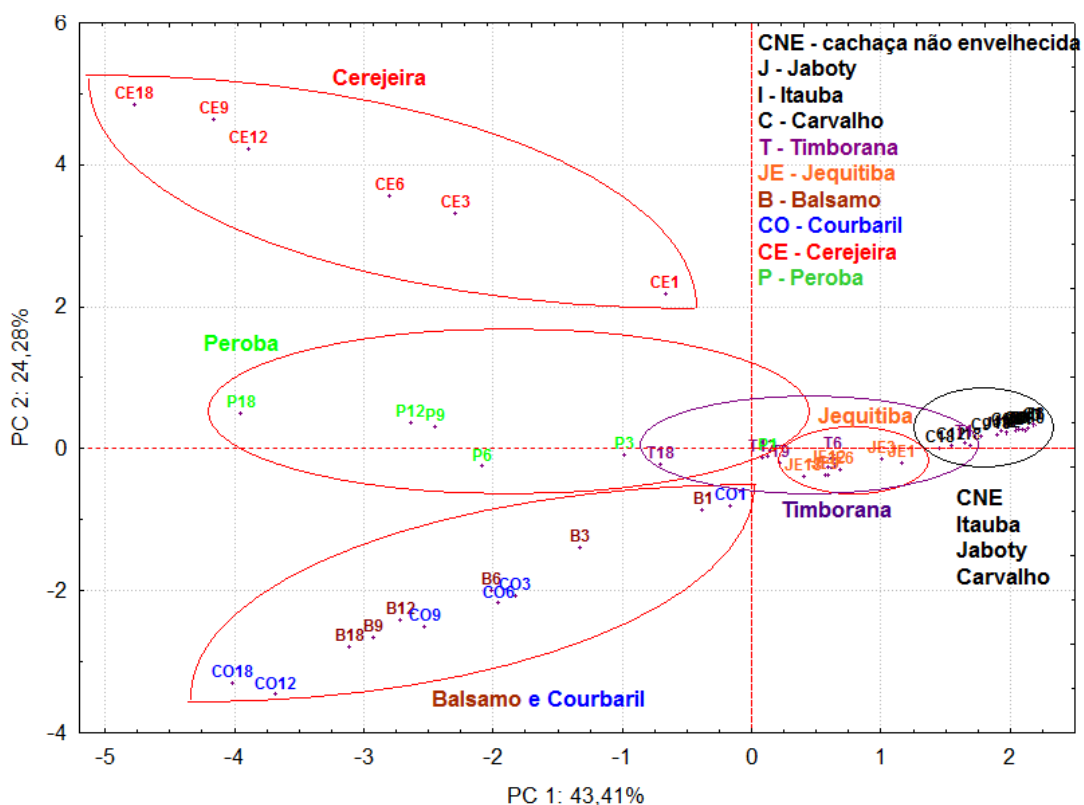
#### **4.4 Análise Multivariada dos Constituintes Fenólicos, Furfuraldeído e Capacidade Antioxidante**

Baseado na análise dos componentes principais (PCA) foi possível separar as cachaças em diferentes grupos, em função das similaridades entre os resultados das análises de compostos fenólicos (ácido gálico, ácido vanílico, ácido siríngico, vanilina, siringaldeído, cumarina e SCF), furfuraldeído e capacidade antioxidante (FC, DPPH· e FRAP), conforme mostra o Gráfico 23. Foram formados cinco grupos distintos: grupo 1 (CNE, itauba, jaboty e carvalho), grupo 2 (timborana 1-18 e jequitiba 1-18), grupo 3 (courbaril 1-18 e balsamo 1-18), grupo 4 (cerejeira 1-18), e grupo 5 (peroba 1-18). O aumento do tempo de envelhecimento propiciou um distanciamento linear, em diferentes ângulos, a partir da cachaça não envelhecida. A soma dos três primeiros componentes principais (PC1 43,41%, PC2 24,28% e PC3 17,23%) representam 84,92% de toda a variabilidade. O componente principal PC1 está mais correlacionado com as cachaças envelhecidas em barris de cerejeira, seguida por courbaril, peroba, balsamo, timborana, jequitiba, carvalho, itauba e jaboty. O componente principal PC2 está mais correlacionado com cerejeira, courbaril, balsamo, peroba, jequitiba, timborana, jaboty, itauba e carvalho.

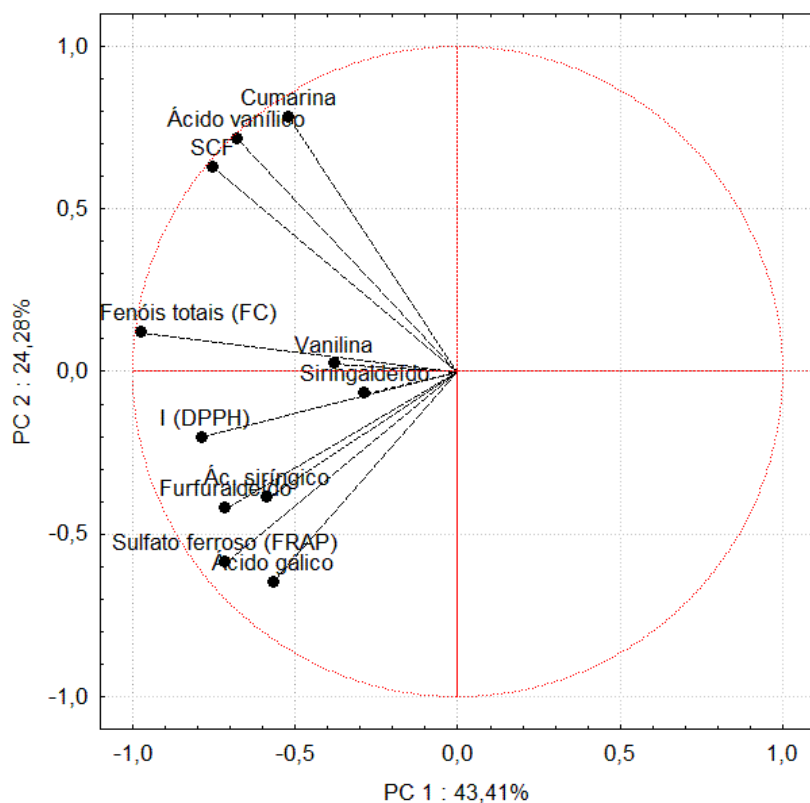
As variáveis que mais contribuíram para a diferenciação da cachaça cerejeira foram: SCF, ácido vanílico e cumarina, conforme mostram Gráficos 23 e 24. As variáveis que mais contribuíram para a diferenciação das cachaças envelhecidas em courbaril e balsamo foram: I (DPPH), FRAP, furfuraldeído, ácido siríngico e ácido gálico. As variáveis que mais contribuíram para a diferenciação das cachaças peroba, timborana, jequitiba, carvalho, jaboty, itauba e CNE foram: fenóis totais, vanilina e siringaldeído.

Através da análise hierárquica de agrupamento (HCA), as cachaças também foram agrupadas em cinco grupos, os mesmos descritos anteriormente na PCA, conforme mostra o dendograma apresentado no Gráfico 25.

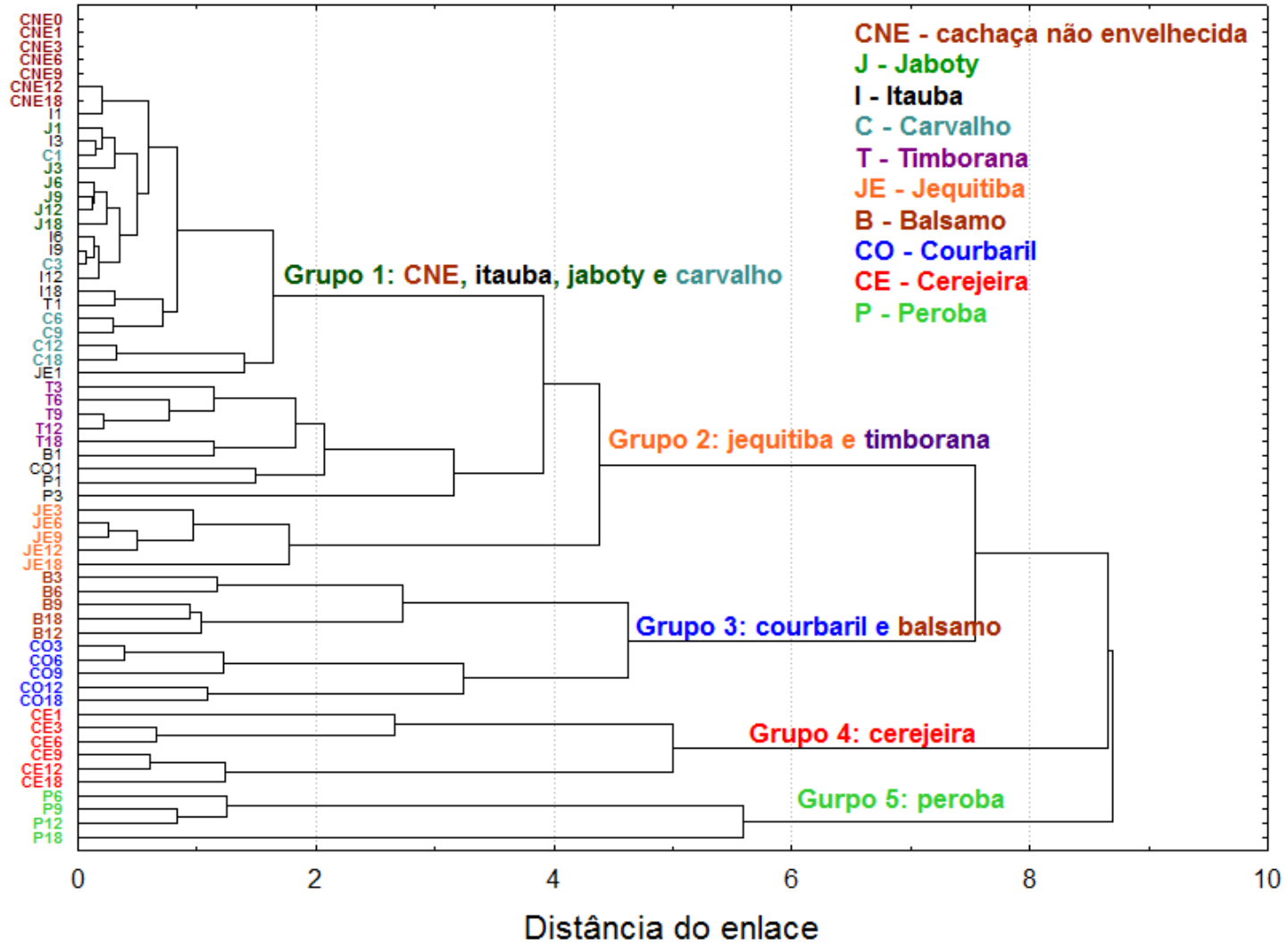
**Gráfico 23** – Análise dos componentes principais (PCA): PC1 X PC2 e projeção das amostras de cachaça durante o processo de envelhecimento em diferentes barris.



**Gráfico 24** – Análise dos componentes principais (PCA): PC1 X PC2 e projeção das variáveis compostos fenólicos, furfuraldeído e capacidade antioxidante.



**Gráfico 25** – Dendrograma da análise hierárquica de agrupamento (HCA) das cachaças, com dados padronizados (sem escala), enlace completo e distancias Euclideanas.



Fonte: A autora, 2011.

As cachaças do grupo 1 (CNE, jaboty, itauba e carvalho) apresentaram muitas similaridades entre si, formando um grupo bem definido. De forma geral, foi possível classificar as cachaças envelhecidas em seus respectivos grupos, a partir do 6º mês de envelhecimento. As cachaças envelhecidas em barril de cerejeira foram classificadas a partir do 1º mês de envelhecimento, pois apresentaram uma rápida extração dos compostos fenólicos da madeira, e conseqüentemente, alta capacidade antioxidante, apresentando pouca similaridade com a CNE. No entanto, as cachaças envelhecidas em barris de carvalho e itauba apresentaram pouca e lenta extração e baixa capacidade antioxidante, e portanto, mostraram composição muito similares às da CNE.

#### **4.5 Capacidade Antioxidante de Cachaças Envelhecidas e outras Bebidas Alcoólicas**

Foi estabelecido um comparativo da capacidade antioxidante das cachaças envelhecidas com outras bebidas alcoólicas, através dos métodos de FC e DPPH·, conforme apresentado na Tabela 23 e Gráfico 26.

Considerando os resultados de ambos métodos, FC e DPPH·, as bebidas foram classificadas em três grupos com relação a sua capacidade antioxidante: alta, média e baixa. As cachaças envelhecidas por 18 meses (cerejeira, courbaril e jequitiba) e os vinhos tintos, encontram-se no grupo com alta capacidade antioxidante. Os vinhos brancos, uísques e cachaça envelhecida em carvalho por 18 meses, encontram-se no grupo com média capacidade antioxidante. E a cachaça não envelhecida encontra-se no grupo com baixa capacidade antioxidante.

Em trabalho anterior, a capacidade antioxidante determinada em fenóis totais (FC) foi em média de 2057 mg L<sup>-1</sup> e 119 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente, para vinhos tintos e vinhos brancos Italianos (SIMONETTI, PIETTA e TESTOLIN, 1997). Estes resultados estão de acordo com os valores encontrados neste trabalho.

**Tabela 23** – Comparação da capacidade antioxidante das cachaças e outras bebidas, por fenóis totais ( $\text{mg L}^{-1}$ ) e inibição ao DPPH· (%).

| Bebidas   | I (%) DPPH·          | desvio padrão | Fenóis totais ( $\text{mg L}^{-1}$ ) | desvio padrão |
|---|----------------------|---------------|--------------------------------------|---------------|
| Cachaça Cerejeira (18 meses)  | 91,11 <sup>a</sup>   | 6,15          | 2814,71 <sup>a</sup>                 | 75,63         |
| Vinho tinto do Alentejo – Português   | 73,78 <sup>b</sup>   | 2,19          | 2203,78 <sup>b</sup>                 | 30,84         |
| Vinho tinto da região das Terras do Sado envelhecido carvalho (5 meses) – Português | 78,31 <sup>a,b</sup> | 0,60          | 1988,69 <sup>c</sup>                 | 62,59         |
| Cachaça courbaril (18 meses)  | 91,11 <sup>a</sup>   | 2,47          | 1862,77 <sup>c</sup>                 | 103,33        |
| Vinho tinto frizante de Lambrusco - Italiano  | 84,49 <sup>a,b</sup> | 0,31          | 1492,83 <sup>d</sup>                 | 57,56         |
| Cachaça jequitiba (18 meses)  | 92,37 <sup>a</sup>   | 0,20          | 803,32 <sup>e</sup>                  | 39,39         |
| Vinho branco regional das Terras do Sado Carvalho (5 meses) – Português             | 42,77 <sup>c</sup>   | 3,27          | 230,56 <sup>f</sup>                  | 2,80          |
| Blended Malt Scotch Whisky (15 anos)  | 71,44 <sup>b</sup>   | 2,03          | 163,74 <sup>f,g</sup>                | 7,39          |
| Blended Malt Scotch Whisky (12 anos)  | 47,90 <sup>c</sup>   | 5,18          | 151,00 <sup>f,g</sup>                | 5,91          |
| Vinho branco frizante Lambrusco - Italiano  | 30,27 <sup>c,d</sup> | 0,30          | 138,61 <sup>f,g</sup>                | 4,48          |
| Blended Malt Scotch Whisky (8 anos)   | 36,24 <sup>c,d</sup> | 0,97          | 101,55 <sup>f,g</sup>                | 2,48          |
| Whisky A  | 30,91 <sup>c,d</sup> | 0,09          | 86,78 <sup>f,g</sup>                 | 1,75          |
| Blended whisky A  | 31,40 <sup>c,d</sup> | 2,26          | 83,86 <sup>f,g</sup>                 | 2,78          |
| Whisky B  | 26,24 <sup>d</sup>   | 2,77          | 76,25 <sup>f,g</sup>                 | 3,21          |
| Blended whisky B  | 22,18 <sup>d</sup>   | 2,04          | 62,33 <sup>f,g</sup>                 | 5,55          |
| Cachaça carvalho (18 meses)   | 33,87 <sup>c,d</sup> | 2,67          | 39,33 <sup>f,g</sup>                 | 5,57          |
| Cachaça não envelhecida   | 0,30 <sup>e</sup>    | 1,14          | 5,73 <sup>g</sup>                    | 8,64          |
| Efeito  | **                   |               | **                                   |               |

Fonte: A autora, 2011.

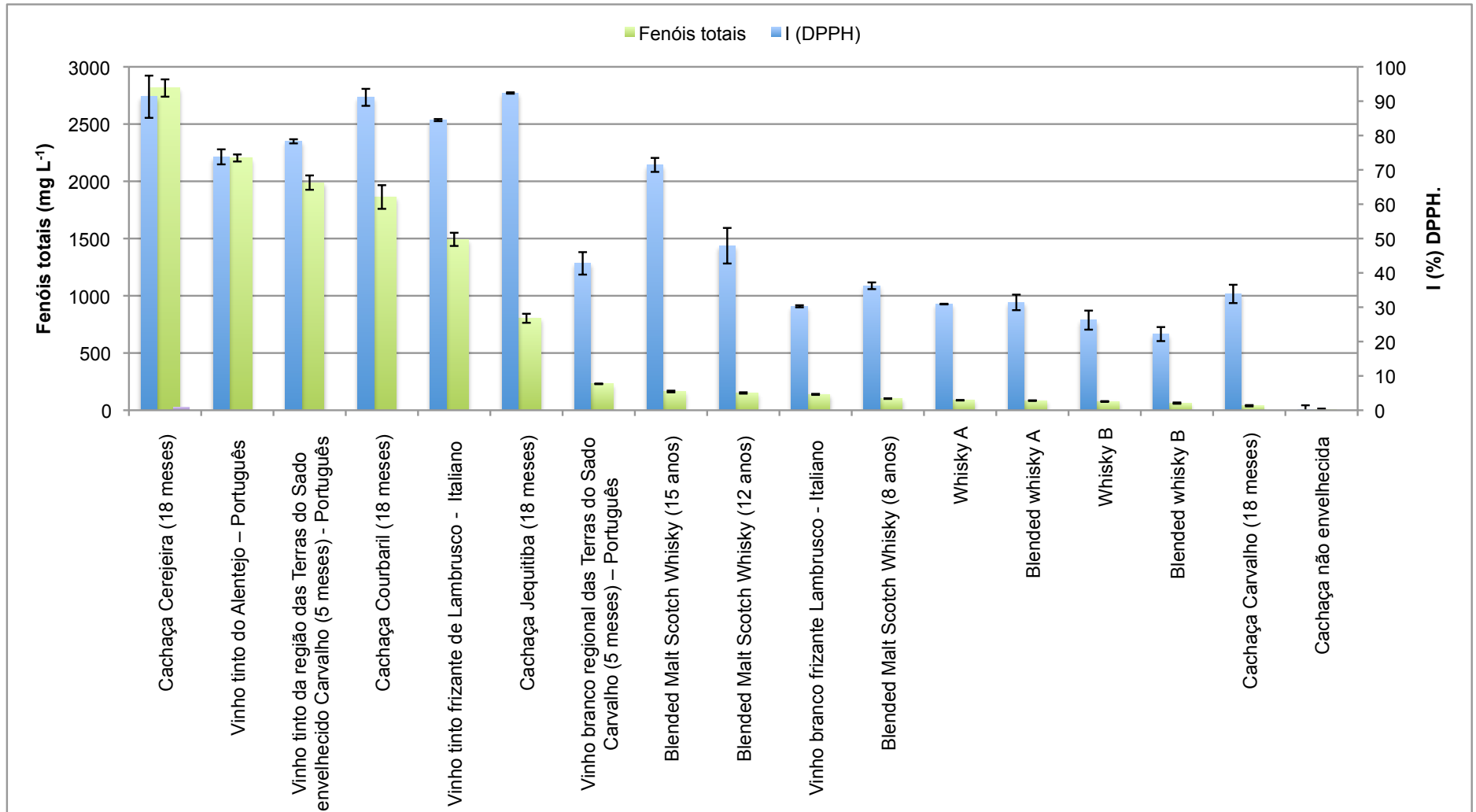
Nota: Valores médios  $\pm$  Desvio padrão. (Três amostras para cada tipo de bebida); valores médios na coluna com letras diferentes são significativamente ( $*P < 0.05$ ) pelo teste de Tukey; ns: sem diferença significativa.

A capacidade antioxidante de vinhos e uísque já é conhecida, e neste trabalho foi demonstrado a alta capacidade antioxidante das cachaças envelhecidas, que são uma fonte rica em polifenóis. A capacidade antioxidante das cachaças envelhecidas é comparável à dos vinhos tintos analisados neste estudo, cuja alta capacidade antioxidante, entre as bebidas alcoólicas, já é conhecida. No entanto, a cachaça só adquiriu capacidade antioxidante em altos níveis com o envelhecimento em barris feitos com algumas espécies botânicas de madeira. É importante observar que a cachaça envelhecida em barril de carvalho apresentou capacidade antioxidante desprezível.

Foi encontrada uma boa correlação ( $R^2 = 0,7904$ ), entre os valores de capacidade antioxidante das bebidas alcoólicas determinados pelos métodos de FC e DPPH·.



**Gráfico 26** – Comparação da capacidade antioxidante das cachaças envelhecidas com outras bebidas alcoólicas.



Fonte: A autora, 2011.

Nota: as barras verticais representam o desvio padrão.

## 4.6 Congêneres e Contaminantes das Cachaças Envelhecidas

Sob as condições experimentais da análise em GC/MS foram quantificados os congêneres (aldeído acético, acetona, acetato de etila, *n*-propanol, isobutanol, e isoamílico) e contaminantes (metanol, *sec*-butanol e *n*-butanol), conforme cromatogramas ilustrados nos Apêndices 46 a 55. As análises dos congêneres e contaminantes foram feitas em amostras de cachaça não envelhecida e cachaças envelhecidas em courbaril, peroba-do-campo, balsamo, jequitiba, cerejeira, timborana, jaboty, itauba e carvalho branco, avaliadas em 0, 1, 3, 6, 9, 12 e 18 meses do envelhecimento, e os resultados foram apresentados na Tabela 24 e nos Gráficos 27 a 34.

### 4.6.1 Aldeído Acético

As concentrações médias de aldeído acético na cachaça não envelhecida e nas cachaças envelhecidas, durante 18 meses, estão demonstradas no Gráfico 27 e Tabela 24.

A concentração do aldeído acético aumentou em média 41,90% de sua concentração inicial após 18 meses nas cachaças, jaboty, itauba, timborana e courbaril.

Nas cachaças envelhecidas em carvalho, jequitiba, balsamo e peroba, a concentração de aldeído acético manteve-se constante durante os 18 meses de envelhecimento. Estes dados não estão de acordo com trabalho anterior, que detectou o aumento do aldeído acético (aldeído acético) em cachaça envelhecida em barris de carvalho (PARAZZI et al., 2008).

A cachaça envelhecida em cerejeira apresentou diminuição de 41,13% da sua concentração inicial de aldeído acético após 18 meses de envelhecimento.

**Tabela 24** – Congêneres e contaminantes (mg 100 mL<sup>-1</sup> aa) da cachaça não envelhecida e das cachaças envelhecidas em diferentes tempos de envelhecimento em barris de jaboty, itauba, carvalho, timborana, jequitiba, balsamo, courbaril, cerejeira e peroba.

continua

| Congêneres e contaminantes | Efeito | Tempo de envelhecimento  |                           |                            |                               |                               |                                 |                            |
|----------------------------|--------|--------------------------|---------------------------|----------------------------|-------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|----------------------------|
|                            |        | 0 meses                  | 1 mês                     | 3 meses                    | 6 meses                       | 9 meses                       | 12 meses                        | 18 meses                   |
| <b>CNE</b>                 |        |                          |                           |                            |                               |                               |                                 |                            |
| Aldeído acético            | *      | 6,71±0,01 <sup>a</sup>   | 7,14±0,25 <sup>a</sup>    | 8,07±0,04 <sup>a</sup>     | 7,70±0,50 <sup>a</sup>        | 7,47±1,46 <sup>a</sup>        | 7,51±0,44 <sup>a</sup>          | 9,11±1,07 <sup>b</sup>     |
| Acetona                    | *      | 0,99±0,25 <sup>a</sup>   | 0,98±0,04 <sup>a</sup>    | 0,81±0,04 <sup>a</sup>     | 2,67±0,11 <sup>b</sup>        | 2,05±0,50 <sup>b</sup>        | 0,94±0,11 <sup>a</sup>          | 1,10±0,17 <sup>a</sup>     |
| Acetato de etila           | *      | 20,06±0,95 <sup>a</sup>  | 11,59±1,19 <sup>b</sup>   | 6,94±0,35 <sup>b</sup>     | 20,25±1,05 <sup>a,c</sup>     | 22,63±0,23 <sup>a,c,d</sup>   | 28,09±0,91 <sup>d</sup>         | 47,52±0,45 <sup>e</sup>    |
| Metanol                    | *      | 3,04±0,91 <sup>a</sup>   | 3,97±0,10 <sup>a,b</sup>  | 4,82±0,78 <sup>b,c</sup>   | 4,93±0,82 <sup>b,c,d</sup>    | 5,25±0,38 <sup>b,c,d,e</sup>  | 6,86±0,16 <sup>e,f</sup>        | 2,82±0,71 <sup>a,b,g</sup> |
| sec-butanol                | ns     | 2,28±0,29                | 3,07±1,47                 | <LQ                        | 1,56±1,35                     | 1,18±1,77                     | <LQ                             | 0,66±0,43                  |
| n-propanol                 | *      | 38,64±0,19 <sup>a</sup>  | 43,70±1,31 <sup>a,b</sup> | 36,37±0,05 <sup>a,c</sup>  | 40,72±1,49 <sup>a,b,c</sup>   | 40,49±1,23 <sup>a,b,c</sup>   | 39,26±0,43 <sup>a,b,c</sup>     | 31,13±0,51 <sup>d</sup>    |
| isobutanol                 | *      | 36,18±0,23 <sup>a</sup>  | 38,82±2,04 <sup>a,b</sup> | 32,09±0,35 <sup>a,c</sup>  | 36,09±3,40 <sup>a,b,c,d</sup> | 38,77±2,79 <sup>a,b,d,e</sup> | 38,44±0,08 <sup>a,b,d,e,f</sup> | 21,30±1,49 <sup>g</sup>    |
| n-butanol                  | ns     | <LQ                      | <LQ                       | <LQ                        | <LQ                           | <LQ                           | <LQ                             | <LQ                        |
| isoamílico                 | *      | 115,11±0,0 <sup>a</sup>  | 142,62±0,86 <sup>b</sup>  | 145,35±0,74 <sup>b</sup>   | 147,87±7,02 <sup>b,c</sup>    | 136,86±2,88 <sup>b,d</sup>    | 136,74±0,28 <sup>b,d</sup>      | 88,49±2,70 <sup>e</sup>    |
| alcoóis superiores         | *      | 189,92±0,29 <sup>a</sup> | 225,14±4,12 <sup>b</sup>  | 213,81±1,13 <sup>b</sup>   | 224,68±5,14 <sup>b</sup>      | 216,12±6,86 <sup>b</sup>      | 214,44±0,61 <sup>b</sup>        | 140,91±4,47 <sup>c</sup>   |
| <b>Jaboty</b>              |        |                          |                           |                            |                               |                               |                                 |                            |
| Aldeído acético            | *      | 6,71±0,01 <sup>a</sup>   | 8,50±0,25 <sup>a</sup>    | 8,81±0,22 <sup>a</sup>     | 9,23±0,38 <sup>b</sup>        | 9,17±0,62 <sup>b</sup>        | 9,06±0,11 <sup>b</sup>          | 9,69±0,27 <sup>b</sup>     |
| Acetona                    | *      | 0,99±0,25 <sup>a</sup>   | 1,99±0,12 <sup>b</sup>    | 0,86±0,01 <sup>a</sup>     | 1,32±0,24 <sup>a,b</sup>      | 1,08±0,12 <sup>a</sup>        | 0,84±0,09 <sup>a</sup>          | 1,40±0,15 <sup>a,b</sup>   |
| Acetato de etila           | *      | 20,06±0,95 <sup>a</sup>  | 17,76±0,42 <sup>a,b</sup> | 5,23±1,21 <sup>c</sup>     | 27,85±1,47 <sup>d</sup>       | 19,58±0,90 <sup>a,b,e</sup>   | 30,91±1,25 <sup>d,f</sup>       | 37,80±5,06 <sup>g</sup>    |
| Metanol                    | ns     | 3,04±0,91                | 2,15±0,38                 | 2,99±0,28                  | 3,13±0,79                     | 3,43±0,34                     | 3,73±0,92                       | 3,06±0,55                  |
| sec-butanol                | ns     | 2,28±0,29                | 1,99±0,43                 | 2,01±1,02                  | <LQ                           | 0,78±0,46                     | <LQ                             | <LQ                        |
| n-propanol                 | *      | 38,64±0,19 <sup>a</sup>  | 39,26±0,86 <sup>a</sup>   | 32,82±1,32 <sup>c</sup>    | 39,79±0,36 <sup>a</sup>       | 41,37±1,50 <sup>a</sup>       | 39,88±0,85 <sup>a</sup>         | 41,75±0,75 <sup>a</sup>    |
| isobutanol                 | *      | 36,18±0,23 <sup>a</sup>  | 35,20±4,66 <sup>a,b</sup> | 29,55±0,99 <sup>b,c</sup>  | 40,28±1,77 <sup>a,b,c</sup>   | 39,88±2,06 <sup>a,c</sup>     | 41,77±1,67 <sup>a,c</sup>       | 44,00±1,57 <sup>c</sup>    |
| n-butanol                  | ns     | <LQ                      | <LQ                       | <LQ                        | <LQ                           | <LQ                           | <LQ                             | <LQ                        |
| isoamílico                 | *      | 115,11±0,0 <sup>a</sup>  | 132,13±0,93 <sup>b</sup>  | 117,73±4,05 <sup>a,c</sup> | 145,01±3,18 <sup>d</sup>      | 147,56±3,14 <sup>d</sup>      | 147,04±1,24 <sup>d</sup>        | 164,79±2,96 <sup>e</sup>   |
| alcoóis superiores         | *      | 189,92±0,29 <sup>a</sup> | 206,59±4,54 <sup>b</sup>  | 180,10±5,63 <sup>a</sup>   | 225,09±5,19 <sup>c</sup>      | 228,82±6,54 <sup>c</sup>      | 228,69±3,54 <sup>c</sup>        | 250,54±5,27 <sup>d</sup>   |

continua

| Congêneres e contaminantes | Efeito | Tempo de envelhecimento  |                            |                             |                               |                              |                                |                                 |
|----------------------------|--------|--------------------------|----------------------------|-----------------------------|-------------------------------|------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
|                            |        | 0 meses                  | 1 mês                      | 3 meses                     | 6 meses                       | 9 meses                      | 12 meses                       | 18 meses                        |
| <b>Itauba</b>              |        |                          |                            |                             |                               |                              |                                |                                 |
| Aldeído acético            | *      | 6,71±0,01 <sup>a</sup>   | 6,54±0,47 <sup>a</sup>     | 7,04±0,56 <sup>a</sup>      | 7,54±0,70 <sup>a,b,e</sup>    | 5,28±0,29 <sup>a,b,c</sup>   | 6,84±1,65 <sup>a,b,c,d</sup>   | 9,56±0,31 <sup>e</sup>          |
| Acetona                    | *      | 0,99±0,25 <sup>a</sup>   | 1,68±0,14 <sup>a,b</sup>   | <LQ                         | <LQ                           | <LQ                          | 0,79±0,01 <sup>a,c</sup>       | 2,17±0,36 <sup>b</sup>          |
| Acetato de etila           | *      | 20,06±0,95 <sup>a</sup>  | 12,82±0,78 <sup>b</sup>    | 3,97±1,57 <sup>c</sup>      | 21,71±1,15 <sup>a,d</sup>     | 12,54±1,01 <sup>b,e</sup>    | 21,99±3,83 <sup>a,d,f</sup>    | 39,09±0,78 <sup>g</sup>         |
| Metanol                    | *      | 3,04±0,91 <sup>a</sup>   | 5,87±1,17 <sup>b</sup>     | 2,91±0,29 <sup>a,c</sup>    | 5,29±0,04 <sup>b,d</sup>      | 5,24±0,05 <sup>b,d</sup>     | 5,19±0,06 <sup>b,d</sup>       | 5,42±0,07 <sup>b,d</sup>        |
| sec-butanol                | ns     | 2,28±0,29                | 0,83±1,44                  | <LQ                         | 1,32±1,15                     | <LQ                          | <LQ                            | <LQ                             |
| n-propanol                 | *      | 38,64±0,19 <sup>a</sup>  | 39,01±0,77 <sup>a</sup>    | 31,82±0,06 <sup>b</sup>     | 32,46±0,91 <sup>b,c</sup>     | 33,28±2,72 <sup>b,c</sup>    | 36,60±3,57 <sup>a,c</sup>      | 39,39±2,27 <sup>a,d</sup>       |
| isobutanol                 | *      | 36,18±0,23 <sup>a</sup>  | 36,11±0,24 <sup>a</sup>    | 23,00±0,26 <sup>b</sup>     | 34,25±2,28 <sup>a,c</sup>     | 30,33±2,71 <sup>c,d</sup>    | 35,93±2,22 <sup>a,c,e</sup>    | 42,64±2,46 <sup>f</sup>         |
| n-butanol                  | ns     | <LQ                      | <LQ                        | <LQ                         | <LQ                           | <LQ                          | <LQ                            | <LQ                             |
| isoamílico                 | *      | 115,11±0,00 <sup>a</sup> | 131,38±1,05 <sup>b</sup>   | 106,87±1,00 <sup>a,c</sup>  | 126,94±11,84 <sup>b,d</sup>   | 113,13±2,14 <sup>a,c,e</sup> | 132,78±2,83 <sup>b,d,f</sup>   | 150,34±3,03 <sup>g</sup>        |
| alcoóis superiores         | *      | 189,92±0,29 <sup>a</sup> | 206,51±1,65 <sup>a,b</sup> | 161,69±0,80 <sup>c</sup>    | 193,64±14,18 <sup>a,b,d</sup> | 176,74±6,17 <sup>a,c,e</sup> | 205,31±7,82 <sup>a,b,d,f</sup> | 232,37±7,65 <sup>g</sup>        |
| <b>Carvalho</b>            |        |                          |                            |                             |                               |                              |                                |                                 |
| Aldeído acético            | ns     | 6,71±0,01                | 7,19±0,79                  | 7,69±0,26                   | 8,19±0,55                     | 7,23±0,54                    | 7,24±0,62                      | 8,51±0,44                       |
| Acetona                    | *      | 0,99±0,25 <sup>a</sup>   | 0,89±0,02 <sup>a,b</sup>   | <LQ                         | 0,98±0,14 <sup>a,b,c,d</sup>  | 2,14±0,16 <sup>e</sup>       | 2,46±0,16 <sup>e</sup>         | 1,29±0,12 <sup>a,b,d</sup>      |
| Acetato de etila           | *      | 20,06±0,95 <sup>a</sup>  | 15,94±0,91 <sup>a,b</sup>  | 3,95±0,07 <sup>c</sup>      | 19,49±0,83 <sup>a,b,d</sup>   | 23,48±0,90 <sup>a,d,e</sup>  | 25,02±2,66 <sup>a,d,e,f</sup>  | 29,64±1,11 <sup>e,f</sup>       |
| Metanol                    | *      | 3,04±0,91 <sup>a</sup>   | 3,50±0,24 <sup>a,b</sup>   | 6,26±0,41 <sup>c</sup>      | 8,84±0,38 <sup>d</sup>        | 5,99±0,68 <sup>c,e</sup>     | 7,43±0,16 <sup>c,d,e,f</sup>   | 1,91±0,58 <sup>a,b,g</sup>      |
| sec-butanol                | ns     | 2,28±0,29                | 3,18±0,52                  | 2,15±0,06                   | 1,63±0,96                     | <LQ                          | <LQ                            | <LQ                             |
| n-propanol                 | *      | 38,64±0,19 <sup>a</sup>  | 39,33±0,44 <sup>a,b</sup>  | 33,59±1,08 <sup>c</sup>     | 39,80±0,61 <sup>a,b,d</sup>   | 43,95±3,28 <sup>d,e</sup>    | 39,17±1,73 <sup>a,b,d,f</sup>  | 40,13±0,83 <sup>a,b,d,e,f</sup> |
| isobutanol                 | *      | 36,18±0,23 <sup>a</sup>  | 39,71±1,11 <sup>a,b</sup>  | 30,64±0,14 <sup>a,c</sup>   | 41,60±0,73 <sup>a,b,d</sup>   | 42,46±1,14 <sup>b,d</sup>    | 41,09±1,28 <sup>a,b,d</sup>    | 43,43±0,32 <sup>b,d</sup>       |
| n-butanol                  | ns     | <LQ                      | <LQ                        | <LQ                         | <LQ                           | <LQ                          | <LQ                            | <LQ                             |
| isoamílico                 | *      | 115,11±0,00 <sup>a</sup> | 135,50±0,70 <sup>b</sup>   | 122,55±1,09 <sup>a,c</sup>  | 144,12±1,42 <sup>b,d</sup>    | 150,94±2,17 <sup>d,e</sup>   | 145,54±1,02 <sup>d,e,f</sup>   | 160,41±2,25 <sup>e,g</sup>      |
| alcoóis superiores         | *      | 189,92±0,29 <sup>a</sup> | 214,54±1,35 <sup>b</sup>   | 186,78±0,27 <sup>a,c</sup>  | 225,51±1,80 <sup>b,d</sup>    | 237,35±6,15 <sup>d,e</sup>   | 225,81±3,25 <sup>b,d,e,f</sup> | 243,97±3,35 <sup>e,g</sup>      |
| <b>Timborana</b>           |        |                          |                            |                             |                               |                              |                                |                                 |
| Aldeído acético            | *      | 6,71±0,01 <sup>a</sup>   | 7,96±0,69 <sup>a,b</sup>   | 4,07±1,08 <sup>c</sup>      | 5,93±0,81 <sup>a,b,c,c</sup>  | 8,94±1,01 <sup>b,e</sup>     | 10,08±0,89 <sup>b,e</sup>      | 10,35±0,28 <sup>e</sup>         |
| Acetona                    | *      | 0,99±0,25 <sup>a</sup>   | 0,90±0,02 <sup>a</sup>     | <LQ                         | 1,35±0,24 <sup>a</sup>        | 1,53±0,07 <sup>a,b</sup>     | 1,15±0,15 <sup>a</sup>         | 0,94±0,24 <sup>a</sup>          |
| Acetato de etila           | *      | 20,06±0,95 <sup>a</sup>  | 14,55±0,71 <sup>a,b</sup>  | 7,35±1,17 <sup>c</sup>      | 17,70±2,46 <sup>a,b,c</sup>   | 28,00±1,73 <sup>e</sup>      | 39,94±1,16 <sup>f</sup>        | 46,19±2,38 <sup>g</sup>         |
| Metanol                    | *      | 3,04±0,91 <sup>a</sup>   | 5,90±1,20 <sup>b</sup>     | 4,42±0,42 <sup>a,b,c</sup>  | 3,05±0,29 <sup>a,c,d</sup>    | 6,32±0,20 <sup>b,e</sup>     | 5,90±0,70 <sup>b,c,e</sup>     | 7,00±0,57 <sup>b,e</sup>        |
| sec-butanol                | ns     | 2,28±0,29                | 2,58±0,5                   | 1,80±0,22                   | <LQ                           | <LQ                          | 1,18±1,02                      | <LQ                             |
| n-propanol                 | *      | 38,64±0,19 <sup>a</sup>  | 42,10±0,40 <sup>a,b</sup>  | 40,15±2,50 <sup>a,b,c</sup> | 40,62±1,50 <sup>a,b,c</sup>   | 41,09±0,77 <sup>a,b,c</sup>  | 46,26±0,00 <sup>b,d</sup>      | 36,51±0,05 <sup>a,c,e</sup>     |
| isobutanol                 | *      | 36,18±0,23 <sup>a</sup>  | 38,70±1,99 <sup>e</sup>    | 37,69±3,37 <sup>a</sup>     | 27,98±0,69 <sup>c</sup>       | 41,63±0,50 <sup>a</sup>      | 37,88±1,73 <sup>a</sup>        | 38,88±0,14 <sup>a</sup>         |
| n-butanol                  | ns     | <LQ                      | <LQ                        | <LQ                         | <LQ                           | <LQ                          | <LQ                            | <LQ                             |
| isoamílico                 | *      | 115,11±0,00 <sup>a</sup> | 139,92±0,70 <sup>b</sup>   | 138,16±4,95 <sup>b,c</sup>  | 143,34±2,45 <sup>b,c,c</sup>  | 148,52±0,15 <sup>b,d,e</sup> | 138,07±1,40 <sup>b,c,d,f</sup> | 134,65±1,38 <sup>b,c,d,f</sup>  |
| alcoóis superiores         | *      | 189,92±0,29 <sup>a</sup> | 220,71±1,59 <sup>b</sup>   | 216,01±10,76 <sup>b</sup>   | 211,94±3,57 <sup>b,c</sup>    | 231,25±1,13 <sup>b,d</sup>   | 222,22±3,13 <sup>b,c,d</sup>   | 210,04±1,29 <sup>b,c</sup>      |

continua

| Congêneres e contaminantes | Efeito | Tempo de envelhecimento  |                           |                             |                              |                               |                                   |                                |
|----------------------------|--------|--------------------------|---------------------------|-----------------------------|------------------------------|-------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|
|                            |        | 0 meses                  | 1 mês                     | 3 meses                     | 6 meses                      | 9 meses                       | 12 meses                          | 18 meses                       |
| <b>Jequitiba</b>           |        |                          |                           |                             |                              |                               |                                   |                                |
| Aldeído acético            | *      | 6,71±0,01 <sup>a</sup>   | 7,50±0,72 <sup>a,b</sup>  | 7,13±0,30 <sup>a,b,c</sup>  | 6,77±0,82 <sup>a,d</sup>     | 6,01±1,40 <sup>d,e</sup>      | 3,89±0,24 <sup>a,b,c,d,f</sup>    | 4,50±0,09 <sup>a,c,d,e,f</sup> |
| Acetona                    | *      | 0,99±0,25 <sup>a</sup>   | 1,05±0,24 <sup>a</sup>    | <LQ                         | <LQ                          | 1,12±0,44 <sup>a</sup>        | 0,81±0,12 <sup>a</sup>            | 1,33±0,34 <sup>a,c</sup>       |
| Acetato de etila           | *      | 20,06±0,95 <sup>a</sup>  | 14,19±1,04 <sup>a,b</sup> | 3,50±0,38 <sup>c</sup>      | 22,48±0,27 <sup>a,d</sup>    | 27,37±1,51 <sup>d,e</sup>     | 23,37±1,94 <sup>a,d,e,f</sup>     | 30,58±1,90 <sup>e,g</sup>      |
| Metanol                    | *      | 3,04±0,91 <sup>a</sup>   | 3,78±0,27 <sup>a,b</sup>  | 3,50±0,38 <sup>a,b,c</sup>  | 5,63±0,15 <sup>d</sup>       | 5,72±1,22 <sup>d,e</sup>      | 4,53±0,39 <sup>a,b,c,d,e,f</sup>  | 2,05±0,70 <sup>a,c,g</sup>     |
| sec-butanol                | ns     | 2,28±0,29                | 1,84±0,85                 | <LQ                         | 1,80±0,22                    | 1,35±1,49                     | <LQ                               | <LQ                            |
| n-propanol                 | *      | 38,64±0,19 <sup>a</sup>  | 40,65±2,06 <sup>a,b</sup> | 36,02±2,08 <sup>a,c</sup>   | 44,75±1,16 <sup>b,d</sup>    | 40,84±1,25 <sup>a,b,d,e</sup> | 50,39±0,51 <sup>f</sup>           | 55,03±2,26 <sup>g</sup>        |
| isobutanol                 | *      | 36,18±0,23 <sup>a</sup>  | 35,90±0,89 <sup>a</sup>   | 28,33±2,83 <sup>b</sup>     | 44,38±0,23 <sup>c</sup>      | 41,12±0,53 <sup>a,c</sup>     | 50,37±0,25 <sup>d</sup>           | 64,41±1,51 <sup>e</sup>        |
| n-butanol                  | ns     | <LQ                      | <LQ                       | <LQ                         | <LQ                          | <LQ                           | <LQ                               | <LQ                            |
| isoamílico                 | *      | 115,11±0,00 <sup>a</sup> | 130,90±1,06 <sup>b</sup>  | 115,37±2,91 <sup>a</sup>    | 155,30±1,31 <sup>c</sup>     | 147,64±1,58 <sup>c</sup>      | 182,66±1,03 <sup>d</sup>          | 223,38±2,76 <sup>e</sup>       |
| alcoóis superiores         | *      | 189,92±0,29 <sup>a</sup> | 207,45±3,70 <sup>b</sup>  | 179,72±7,43 <sup>a</sup>    | 244,42±1,65 <sup>c</sup>     | 229,60±0,86 <sup>c</sup>      | 283,43±1,80 <sup>d</sup>          | 342,81±6,12 <sup>e</sup>       |
| <b>Balsamo</b>             |        |                          |                           |                             |                              |                               |                                   |                                |
| Aldeído acético            | *      | 6,71±0,01 <sup>a</sup>   | 6,30±0,27 <sup>a,b</sup>  | 6,59±0,20 <sup>a,b,c</sup>  | 8,88±0,83 <sup>a,d</sup>     | 9,68±0,21 <sup>d,e</sup>      | 7,44±0,36 <sup>a,b,c,d,f</sup>    | 8,55±0,61 <sup>a,c,d,e,f</sup> |
| Acetona                    | *      | 0,99±0,25 <sup>a</sup>   | 0,87±0,01 <sup>a</sup>    | <LQ                         | 0,92±0,05 <sup>a</sup>       | 0,88±0,10 <sup>a</sup>        | 0,85±0,15 <sup>a</sup>            | 1,94±0,34 <sup>b</sup>         |
| Acetato de etila           | *      | 20,06±0,95 <sup>a</sup>  | 11,43±0,79 <sup>b</sup>   | 13,67±1,29 <sup>b</sup>     | 27,39±2,51 <sup>c</sup>      | 38,98±3,61 <sup>d</sup>       | 29,41±3,87 <sup>c</sup>           | 47,98±0,30 <sup>e</sup>        |
| Metanol                    | *      | 3,04±0,91 <sup>a</sup>   | 5,12±0,21 <sup>b</sup>    | 6,49±0,06 <sup>b,c</sup>    | 7,51±0,99 <sup>c</sup>       | 7,73±1,38 <sup>c</sup>        | 6,35±0,35 <sup>b,c,d</sup>        | 0,43±0,03 <sup>e</sup>         |
| sec-butanol                | ns     | 2,28±0,29                | 1,38±0,34                 | 2,75±0,48                   | 1,24±1,13                    | 0,76±0,56                     | <LQ                               | <LQ                            |
| n-propanol                 | *      | 38,64±0,19 <sup>a</sup>  | 41,70±1,55 <sup>a,b</sup> | 44,79±2,77 <sup>b,c</sup>   | 43,66±1,79 <sup>b,c,d</sup>  | 50,35±0,86 <sup>e</sup>       | 41,05±0,95 <sup>b,c,d,f</sup>     | 44,93±1,10 <sup>b,c,d,f</sup>  |
| isobutanol                 | *      | 36,18±0,23 <sup>a</sup>  | 37,81±1,57 <sup>a,b</sup> | 42,05±1,73 <sup>b,c</sup>   | 42,25±1,59 <sup>b,c,d</sup>  | 46,12±0,94 <sup>c,d,e</sup>   | 41,55±2,30 <sup>a,b,c,d,e,f</sup> | 49,01±2,15 <sup>e,g</sup>      |
| n-butanol                  | ns     | <LQ                      | <LQ                       | <LQ                         | <LQ                          | <LQ                           | <LQ                               | <LQ                            |
| isoamílico                 | *      | 115,11±0,00 <sup>a</sup> | 138,22±2,42 <sup>b</sup>  | 142,23±0,43 <sup>b,c</sup>  | 150,30±1,48 <sup>c,d</sup>   | 160,09±2,12 <sup>e</sup>      | 151,00±3,68 <sup>c,d,e</sup>      | 174,77±4,03 <sup>f</sup>       |
| alcoóis superiores         | *      | 189,92±0,29 <sup>a</sup> | 217,73±2,51 <sup>b</sup>  | 229,07±4,53 <sup>b,c</sup>  | 236,21±4,73 <sup>c,d</sup>   | 256,56±0,73 <sup>e</sup>      | 233,59±6,83 <sup>b,c,d</sup>      | 268,71±6,35 <sup>e</sup>       |
| <b>Courbaril</b>           |        |                          |                           |                             |                              |                               |                                   |                                |
| Aldeído acético            | *      | 6,71±0,01 <sup>a</sup>   | 6,13±0,12 <sup>a,b</sup>  | 7,08±0,23 <sup>a,b,c</sup>  | 8,03±0,36 <sup>a,b,c</sup>   | 7,31±0,71 <sup>a,b,c</sup>    | 8,61±0,20 <sup>a,c</sup>          | 8,90±0,83 <sup>c</sup>         |
| Acetona                    | ns     | 0,99±0,25                | 1,09±0,04                 | 0,84±0,04                   | 1,16±0,18                    | 0,83±0,06                     | 1,24±0,26                         | 1,31±0,06                      |
| Acetato de etila           | *      | 20,06±0,95 <sup>a</sup>  | 8,02±0,53 <sup>b</sup>    | 7,00±1,46 <sup>b</sup>      | 17,13±0,60 <sup>a,c</sup>    | 20,10±2,14 <sup>a,c</sup>     | 41,65±1,31 <sup>d</sup>           | 49,37±0,90 <sup>e</sup>        |
| Metanol                    | *      | 3,04±0,91 <sup>a</sup>   | 5,22±0,64 <sup>b</sup>    | 4,35±0,25 <sup>a</sup>      | 4,10±0,11 <sup>a</sup>       | 4,17±0,12 <sup>a</sup>        | 4,25±0,13 <sup>a</sup>            | 3,36±0,39 <sup>a</sup>         |
| sec-butanol                | ns     | 2,28±0,29                | 3,46±0,48                 | 2,32±0,45                   | 3,14±0,29                    | 1,27±1,19                     | <LQ                               | <LQ                            |
| n-propanol                 | ns     | 38,64±0,19               | 42,72±1,05                | 40,12±1,66                  | 42,79±0,73                   | 42,80±0,42                    | 39,04±1,74                        | 41,10±0,93                     |
| isobutanol                 | *      | 36,18±0,23 <sup>a</sup>  | 40,26±0,55 <sup>a,b</sup> | 38,83±2,48 <sup>a,b,c</sup> | 42,81±0,75 <sup>b,c,d</sup>  | 44,87±1,29 <sup>b,c,d</sup>   | 42,92±2,70 <sup>b,c,d</sup>       | 47,97±1,84 <sup>d</sup>        |
| n-butanol                  | ns     | <LQ                      | <LQ                       | <LQ                         | <LQ                          | <LQ                           | <LQ                               | <LQ                            |
| isoamílico                 | *      | 115,11±0,00 <sup>a</sup> | 150,05±1,95 <sup>b</sup>  | 144,18±3,67 <sup>b</sup>    | 146,31±1,66 <sup>b</sup>     | 153,36±6,08 <sup>b</sup>      | 149,09±3,35 <sup>b</sup>          | 167,26±1,65 <sup>c</sup>       |
| alcoóis superiores         | *      | 189,92±0,29 <sup>a</sup> | 233,02±2,51 <sup>b</sup>  | 223,13±7,70 <sup>b,c</sup>  | 231,91±0,91 <sup>b,c,d</sup> | 241,03±6,95 <sup>b,d,e</sup>  | 231,04±7,75 <sup>b,c,d,e,f</sup>  | 256,33±4,32 <sup>e,g</sup>     |

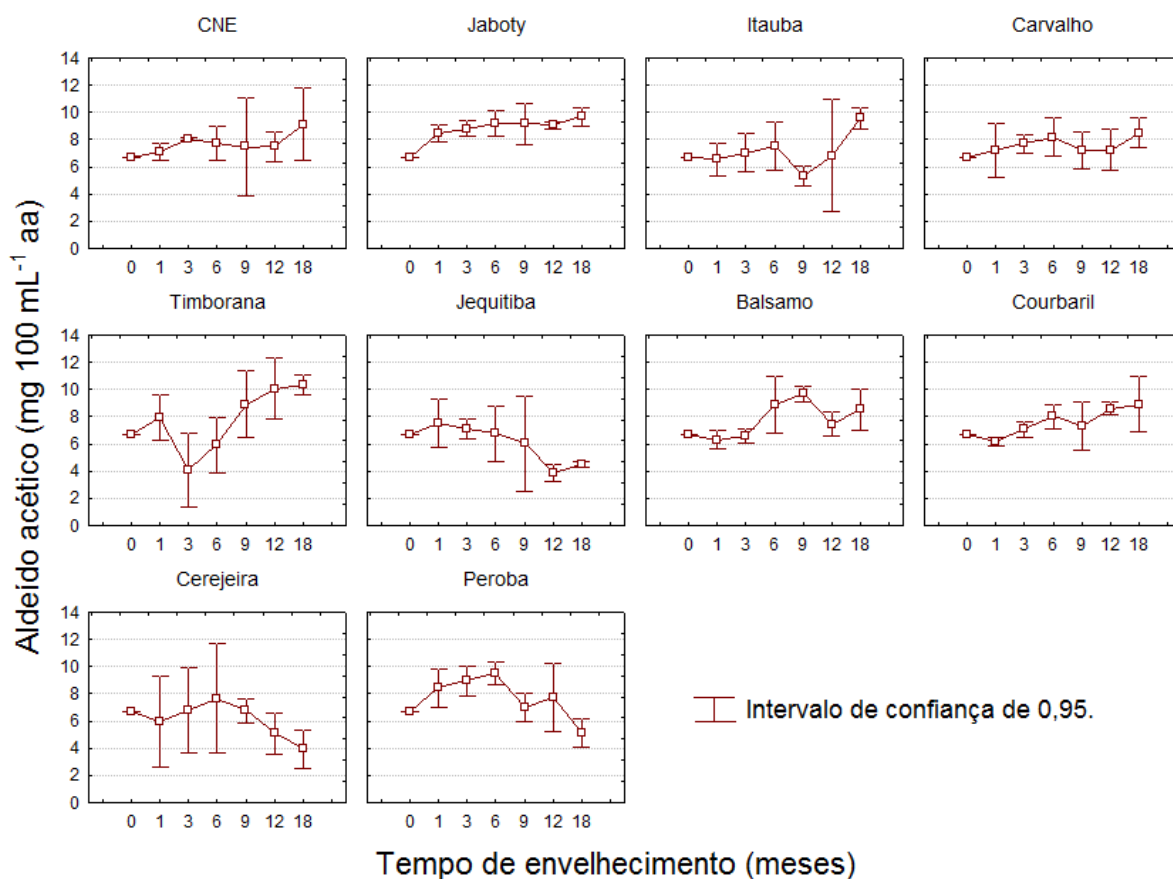
conclusão

| Congêneres e contaminantes | Efeito | Tempo de envelhecimento  |                           |                             |                              |                                |                                 |                               |
|----------------------------|--------|--------------------------|---------------------------|-----------------------------|------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|
|                            |        | 0 meses                  | 1 mês                     | 3 meses                     | 6 meses                      | 9 meses                        | 12 meses                        | 18 meses                      |
| <b>Cerejeira</b>           |        |                          |                           |                             |                              |                                |                                 |                               |
| Aldeído acético            | *      | 6,71±0,01 <sup>a</sup>   | 5,94±1,34 <sup>a,b</sup>  | 6,81±1,27 <sup>a,b,c</sup>  | 7,68±1,61 <sup>a,b,c,d</sup> | 6,75±0,35 <sup>a,b,c,d,e</sup> | 5,10±0,60 <sup>a,b,c,e,f</sup>  | 3,95±0,58 <sup>b,f</sup>      |
| Acetona                    | *      | 0,99±0,25 <sup>a</sup>   | 1,22±0,26 <sup>a</sup>    | <LQ                         | 0,92±0,27 <sup>a,b</sup>     | 1,50±0,28 <sup>a,c</sup>       | <LQ                             | <LQ                           |
| Acetato de etila           | *      | 20,06±0,95 <sup>a</sup>  | 11,92±2,98 <sup>b</sup>   | 17,36±1,06 <sup>a,b,c</sup> | 22,80±0,87 <sup>a,c,d</sup>  | 19,88±1,44 <sup>a,c,d,e</sup>  | 16,51±3,71 <sup>a,b,c,e,f</sup> | 12,76±1,33 <sup>b,c,f</sup>   |
| Metanol                    | ns     | 3,04±0,91                | 3,85±0,73                 | 3,44±0,04                   | 4,18±0,34                    | 3,75±0,00                      | 3,57±0,40                       | 2,75±0,26                     |
| sec-butanol                | ns     | 2,28±0,29                | 1,04±0,26                 | 0,90±0,17                   | 0,76±0,22                    | <LQ                            | <LQ                             | 1,00±1,14                     |
| n-propanol                 | *      | 38,64±0,19 <sup>a</sup>  | 43,54±0,20 <sup>b,c</sup> | 43,77±2,46 <sup>b,c</sup>   | 47,56±1,27 <sup>b,c</sup>    | 46,35±1,71 <sup>b,c</sup>      | 44,46±2,28 <sup>b,c</sup>       | 41,98±1,99 <sup>a,b</sup>     |
| isobutanol                 | *      | 36,18±0,23 <sup>a</sup>  | 39,54±0,19 <sup>a,b</sup> | 41,18±0,94 <sup>a,b</sup>   | 45,21±2,27 <sup>b,c</sup>    | 47,47±2,12 <sup>c</sup>        | 44,29±3,15 <sup>b,c</sup>       | 43,55±2,69 <sup>b,c</sup>     |
| n-butanol                  | ns     | <LQ                      | <LQ                       | <LQ                         | <LQ                          | <LQ                            | <LQ                             | <LQ                           |
| isoamílico                 | *      | 115,11±0,0 <sup>a</sup>  | 137,01±0,43 <sup>b</sup>  | 142,07±6,61 <sup>b</sup>    | 154,26±0,89 <sup>c</sup>     | 163,85±3,38 <sup>c</sup>       | 159,22±3,90 <sup>c</sup>        | 156,05±2,39 <sup>c</sup>      |
| alcoóis superiores         | *      | 189,92±0,29 <sup>a</sup> | 220,09±0,82 <sup>b</sup>  | 227,01±10,0 <sup>b,c</sup>  | 247,03±2,71 <sup>d</sup>     | 257,68±6,69 <sup>d</sup>       | 247,97±9,12 <sup>d</sup>        | 241,57±7,0 <sup>c,d</sup>     |
| <b>Peroba</b>              |        |                          |                           |                             |                              |                                |                                 |                               |
| Aldeído acético            | *      | 6,71±0,01 <sup>a</sup>   | 8,42±0,57 <sup>a,b</sup>  | 8,95±0,45 <sup>b</sup>      | 9,49±0,35 <sup>b,c</sup>     | 7,02±0,43 <sup>a,b,d</sup>     | 7,70±1,01 <sup>a,b,c,d,e</sup>  | 5,13±0,42 <sup>a,d</sup>      |
| Acetona                    | *      | 0,99±0,25 <sup>a</sup>   | 1,38±0,63 <sup>a,b</sup>  | 0,84±0,54 <sup>a</sup>      | 1,38±0,24 <sup>a,b</sup>     | 1,52±0,12 <sup>a,b</sup>       | 1,43±0,24 <sup>a,b</sup>        | 1,71±0,37 <sup>b</sup>        |
| Acetato de etila           | *      | 20,06±0,95 <sup>a</sup>  | 14,23±0,44 <sup>a,b</sup> | 11,37±0,60 <sup>c</sup>     | 35,15±1,51 <sup>d</sup>      | 31,90±2,70 <sup>d,e</sup>      | 40,55±3,92 <sup>d,f</sup>       | 42,36±4,80 <sup>f</sup>       |
| Metanol                    | *      | 3,04±0,91 <sup>a</sup>   | 4,82±0,41 <sup>b</sup>    | 5,88±0,04 <sup>b,c</sup>    | 6,55±0,25 <sup>c</sup>       | 5,59±0,11 <sup>b,c</sup>       | 6,15±0,97 <sup>b,c</sup>        | 5,83±0,21 <sup>b,c</sup>      |
| sec-butanol                | ns     | 2,28±0,29                | 1,22±1,06                 | 3,26±0,13                   | 1,22±0,25                    | <LQ                            | <LQ                             | <LQ                           |
| n-propanol                 | *      | 38,64±0,19 <sup>a</sup>  | 45,43±0,08 <sup>b</sup>   | 52,43±1,10 <sup>c</sup>     | 43,85±0,81 <sup>b,d</sup>    | 36,30±0,62 <sup>a,e</sup>      | 38,32±1,14 <sup>a,e,f</sup>     | 41,52±0,56 <sup>a,b,d,f</sup> |
| isobutanol                 | *      | 36,18±0,23 <sup>a</sup>  | 41,59±0,79 <sup>a,b</sup> | 47,03±0,71 <sup>b,c</sup>   | 42,28±0,22 <sup>b,c,d</sup>  | 33,77±1,90 <sup>a,e</sup>      | 37,12±1,72 <sup>a,b,d,e,f</sup> | 40,41±1,82 <sup>a,b,d,f</sup> |
| n-butanol                  | ns     | <LQ                      | <LQ                       | <LQ                         | <LQ                          | <LQ                            | <LQ                             | <LQ                           |
| isoamílico                 | *      | 115,11±0,0 <sup>a</sup>  | 145,64±1,53 <sup>b</sup>  | 166,89±1,54 <sup>c</sup>    | 144,92±1,12 <sup>b,d</sup>   | 127,73±2,52 <sup>e</sup>       | 134,45±3,56 <sup>e,f</sup>      | 147,96±1,81 <sup>b,d,g</sup>  |
| alcoóis superiores         | *      | 189,92±0,29 <sup>a</sup> | 232,66±0,85 <sup>b</sup>  | 266,36±3,10 <sup>c</sup>    | 231,05±2,16 <sup>b,d</sup>   | 197,81±5,03 <sup>a,e</sup>     | 209,89±6,30 <sup>e</sup>        | 229,88±4,19 <sup>b,d</sup>    |

Fonte: A autora, 2011.

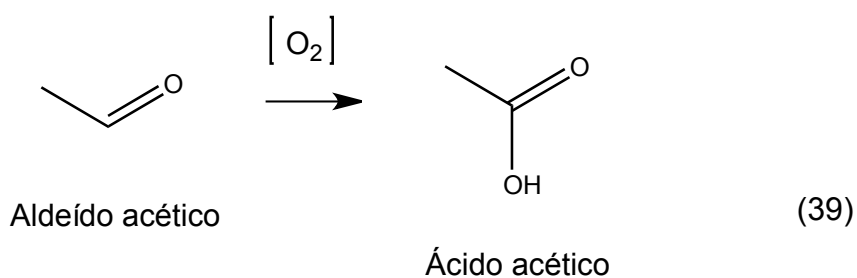
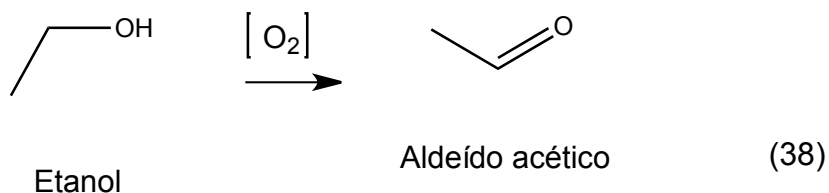
Valor médio ± desvio padrão. (Três amostras para cada tipo de cachaça); valores na mesma linha com letras diferentes são significativamente (\*P<0.05) diferentes pelo teste de Tukey; ns: sem diferença significativa; <LQ: abaixo do limite de quantificação (LQ).

**Gráfico 27** – Concentrações de aldeído acético ( $\text{mg } 100 \text{ mL}^{-1} \text{ aa}$ ) nas cachaças durante o processo de envelhecimento em diferentes barris.



Fonte: A autora, 2011.

A concentração do aldeído acético aumentou durante o envelhecimento em alguns barris de madeira, devido à oxidação do etanol em ácido acético, com o aldeído acético como intermediário, conforme equações (38) e (39) (REAZIN, 1981).



Essas reações envolvem componentes do destilado que são oxidados pelo ar, que se difunde através das aduelas dos barris madeira, proporcionando a oxidação do etanol a aldeído acético, que posteriormente é oxidado a ácido acético (SINGLETON, 1995). Neste estudo foi demonstrado que a concentração de aldeído acético aumento após 18 meses de envelhecimento em barris de jaboty, itauba, timborana e courbaril.

O limite máximo permitido de aldeídos expressos em aldeído acético estabelecido pela legislação brasileira é de  $30 \text{ mg mL}^{-1}$  de álcool anidro. Para manter a concentração de aldeído acético dentro deste limite, os produtores de cachaça devem manter um controle rigoroso, principalmente, sobre o processo de destilação. O aldeído acético tem ponto de ebulição baixo ( $21,0 \text{ }^\circ\text{C}$ ), e portanto deve estar presente em maiores quantidades no destilado de cabeça (CARDOSO, 2006).

O aldeído acético é o aldeído encontrado em maior quantidade na cachaça, representando em média 86% de todos aldeídos, seguido por 3,80% de hidroximetilfurfural, 3,00% de furfural e 6,56% de outros aldeídos (NASCIMENTO et al., 1997).

#### 4.6.2 Acetona

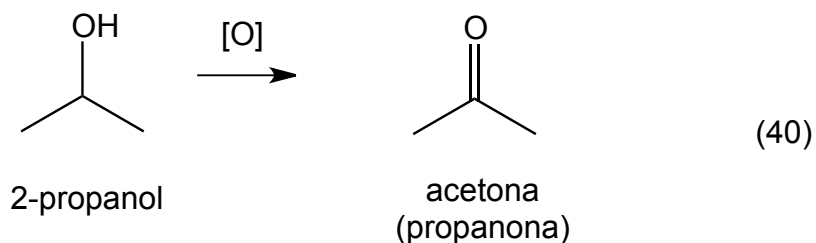
As concentrações médias de acetona na cachaça não envelhecida e nas cachaças envelhecidas durante 18 meses, estão demonstradas na Tabela 24 e Gráfico 28.

A cachaça não envelhecida (CNE 0) apresentou concentração média de acetona de  $0,99 \text{ mg } 100 \text{ mL}^{-1}$  aa. A concentração máxima de acetona nas cachaças foi de  $2,67 \text{ mg } 100 \text{ mL}^{-1}$  aa na CNE 6. Grandes intervalos de confiança foram obtidos, e atribuídos às proximidade das concentrações de acetona com o limite de quantificação do método analítico de  $0,78 \text{ mg L}^{-1}$ .

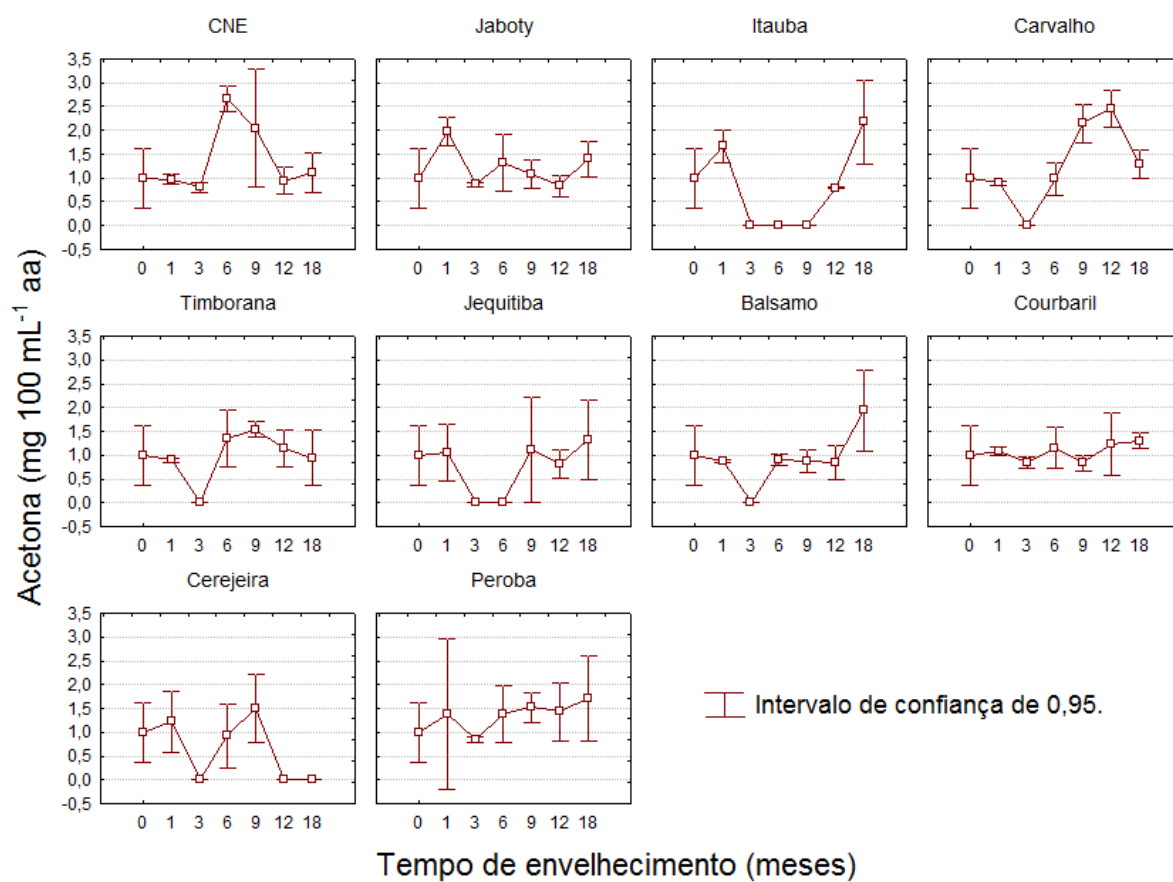
A concentração de acetona aumentou após 18 meses de envelhecimento nas cachaça itauba, balsamo e peroba. Nas demais cachaças não houve aumento após 18 meses de envelhecimento.

A acetona pode ser o produto de oxidação do álcool secundário (2-propanol), durante o envelhecimento em barris de madeira, conforme equação (40).





**Gráfico 28** – Concentrações de acetona ( $\text{mg } 100 \text{ mL}^{-1} \text{ aa}$ ) nas cachaças durante o processo de envelhecimento em diferentes barris.

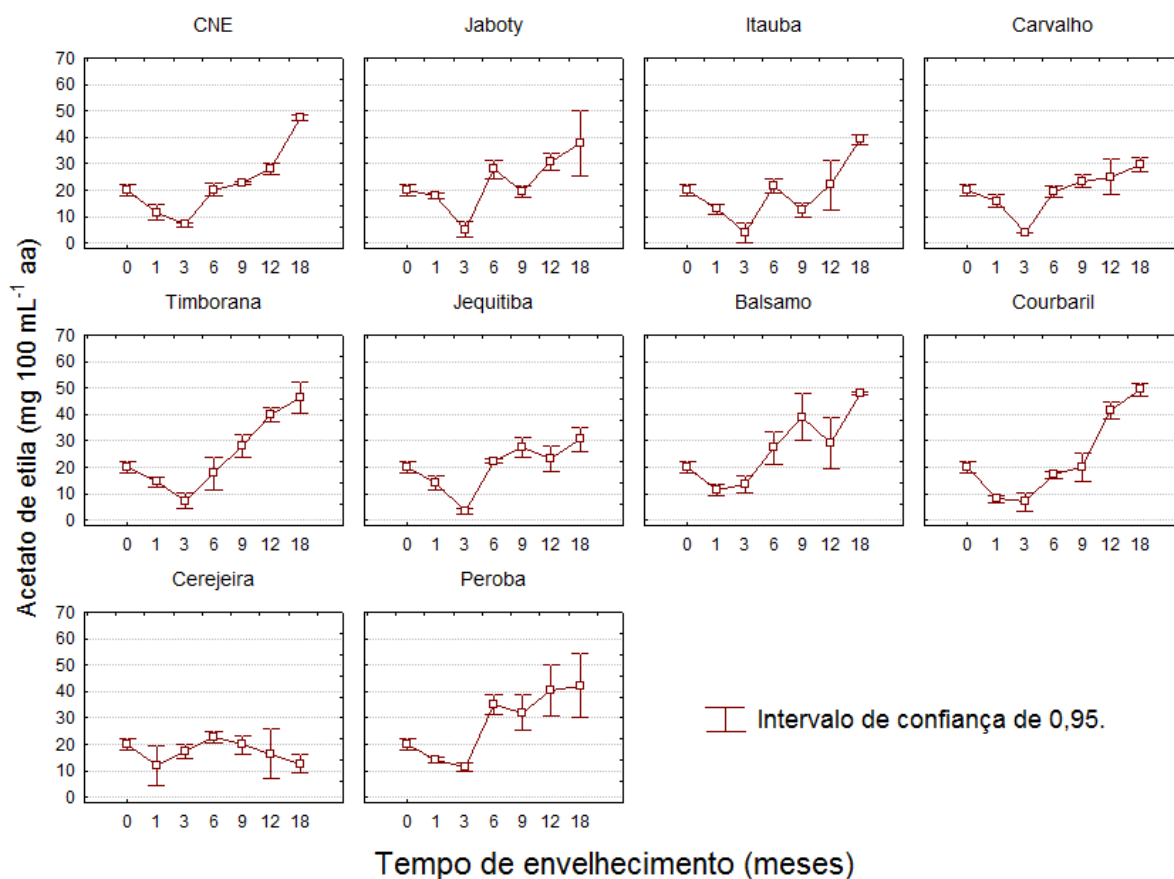


Fonte: A autora, 2011.

#### 4.6.3 Acetato de etila

As concentrações médias de acetato de etila na cachaça não envelhecida e nas cachaças envelhecidas, durante 18 meses, estão demonstradas nos Gráfico 29 e Tabela 24.

**Gráfico 29** – Concentrações de acetato de etila nas cachaças durante o processo de envelhecimento em diferentes barris.



Fonte: A autora, 2011.

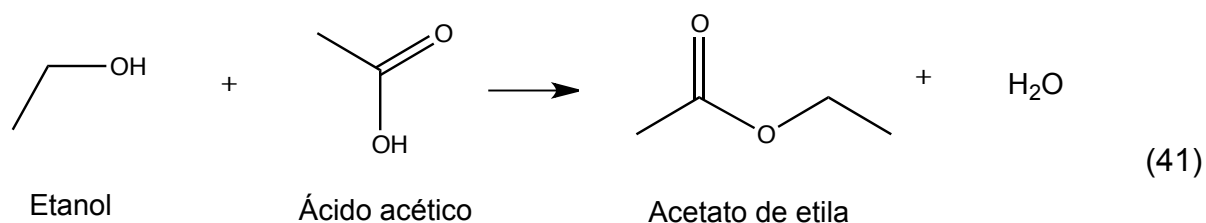
A concentração de acetato de etila da cachaça não envelhecida (CNE 0) foi de 20,06 mg 100mL<sup>-1</sup> aa. O acetato de etila encontrado na cachaça não envelhecida, é um produto do metabolismo secundário das leveduras produzido durante a fermentação (CARDOSO, 2006).

A concentração de acetato de etila aumentou em média 91,07% da concentração inicial (CNE 0) em todas as cachaças, independente de ser envelhecida em barril de madeira ou não (CNE) após 18 meses. Exceto para a cachaça envelhecida em cerejeira, sendo a única que apresentou uma redução de 36,4% da concentração inicial de acetato de etila no 18º mês de envelhecimento.

Nos primeiros três meses, houve uma diminuição da concentração de acetato de etila em todas as cachaças. Esta diminuição da concentração do acetato de etila pode ter ocorrido devido a uma estabilização do barril e difusão da cachaça para a madeira, e posteriormente, grande evaporação do etanol e dos compostos voláteis

da cachaças nesse período. Depois dos três meses iniciais, a concentração do acetato de etila começou a aumentar em função do tempo. As cachaças que apresentaram as maiores concentrações de acetato de etila após 18 meses foram: courbaril, seguido por balsamo, CNE, timborana, peroba, itauba, jaboty, jequitiba e carvalho.

O grande aumento da concentração de acetato de etila, no envelhecimento, ou maturação no caso da CNE, foi provavelmente ocasionado pela reação entre o etanol e o ácido acético, formando continuamente o acetato de etila, conforme equação (41). Segundo Reazin (1981), no uísque parte do ácido acético encontrado no destilado é originária da madeira, ou de algum produto de sua degradação (REAZIN, 1981).



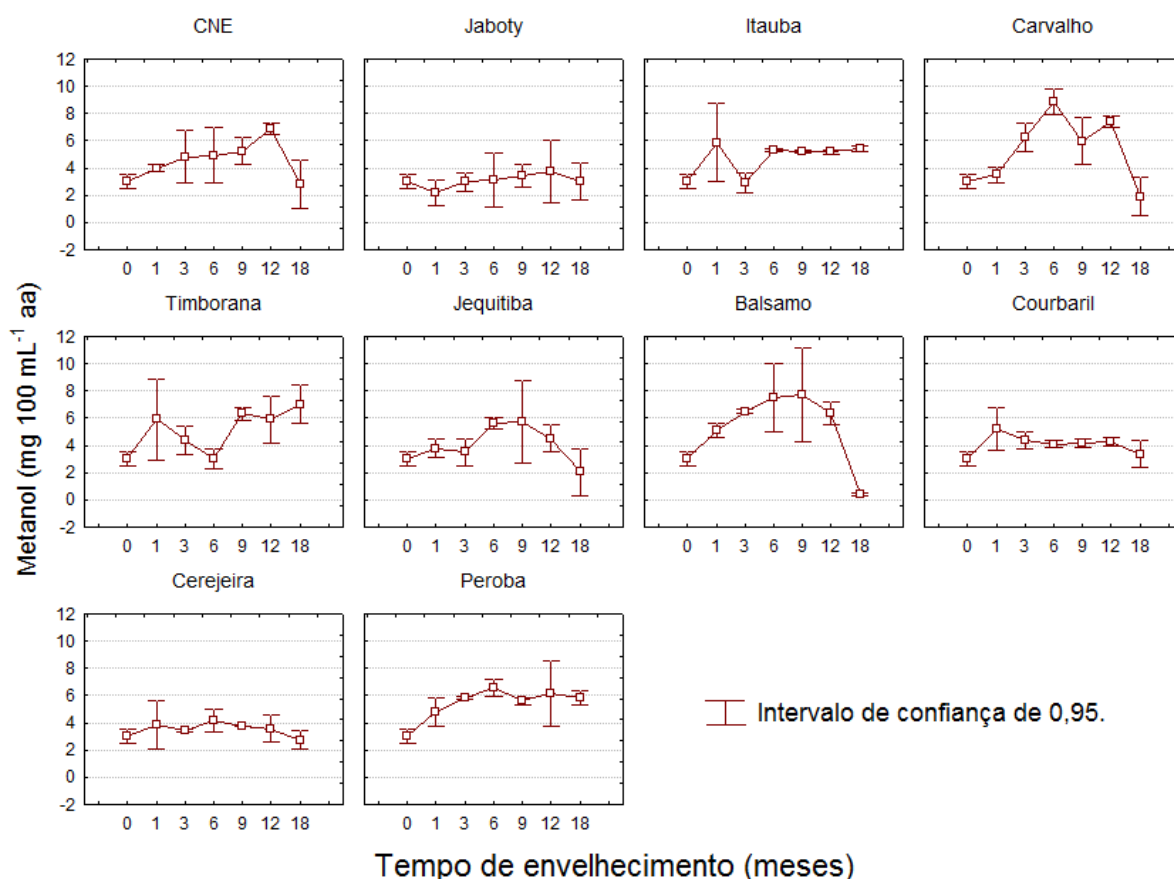
Em estudo anterior, foi determinado que o acetato de etila é o principal éster encontrado nas cachaças comerciais, representando em média 60,12% de todos os ésteres; seguido do lactato de etila com 38,84%. Juntos, o acetato de etila e o lactato de etila, representam 94,96% dos ésteres da cachaça (NASCIMENTO, CARDOSO e FRANCO, 2008). O lactato de etila é um metabólito secundário da fermentação do *Lactobacillus spp.*, um microrganismo contaminante durante a fermentação. O acetato de etila e o lactato de etila são os principais produtos de esterificação entre o principal álcool (etanol) e os ácidos ácido acético e ácido láctico, respectivamente, presentes no destilado.

As cachaças analisadas neste estudo apresentam teor médio de acetato de etila de 38,01 mg 100 mL<sup>-1</sup> aa após 18 meses. Este valor apresentou-se muito abaixo do limite máximo permitido pela legislação brasileira para aldeídos de 200 mg 100 mL<sup>-1</sup> aa, expressos em acetato de etila (BRASIL, 2005).

#### 4.6.4 Metanol

As concentrações de metanol na cachaça não envelhecida e nas cachaças envelhecidas, durante 18 meses, estão demonstradas no Gráfico 30 e Tabela 24.

**Gráfico 30** – Concentrações de metanol ( $\text{mg } 100 \text{ mL}^{-1} \text{ aa}$ ) nas cachaças durante o processo de envelhecimento em diferentes barris.



Fonte: A autora, 2011.

A concentração de metanol na cachaça não envelhecida (CNE 0) foi de  $3,04 \text{ mg } 100 \text{ mL}^{-1} \text{ aa}$ . A concentração de metanol da CNE, jaboty, carvalho, jequitiba, courbaril e cerejeira, não aumentaram com o tempo, apresentando valor médio de  $2,65 \text{ mg } 100 \text{ mL}^{-1} \text{ aa}$  após 18 meses. As cachaças envelhecidas em itauba, timborana e peroba apresentaram um aumento de metanol de 100% da sua concentração inicial, após 18 meses. A cachaça envelhecida em balsamo apresentou redução de 86,00% da sua concentração inicial de metanol.

Durante o envelhecimento a concentração do metanol pode aumentar em função da taxa de evaporação do etanol e água pela madeira do barril, e

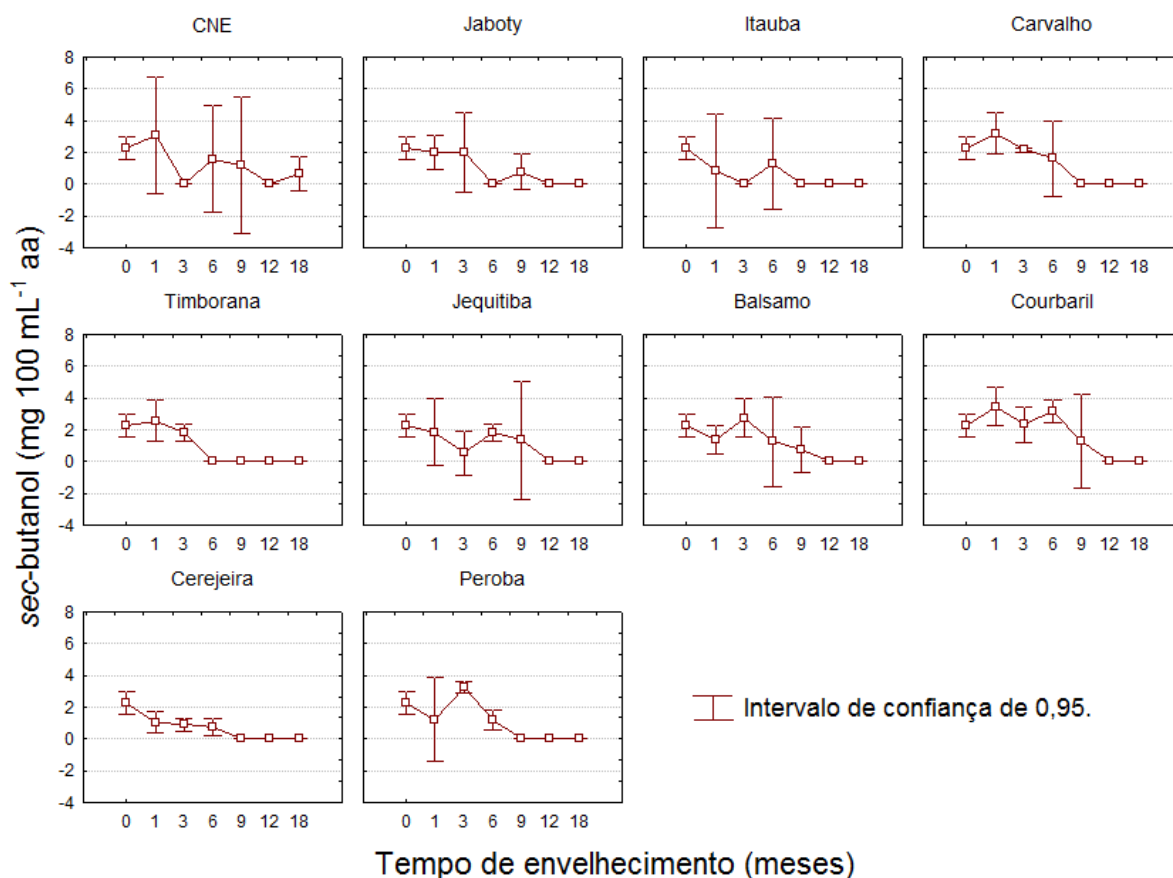
consequente concentração aparente dos demais congêneres presentes em pequenas quantidades. A concentração do metanol pode diminuir, semelhantemente às reações de oxidação do etanol, em função da taxa de oxidação do metanol à formaldeído (conc. aproximada de 0,5 ppm), que posteriormente pode ser oxidado à ácido fórmico (ácido etanóico).

A legislação brasileira permite uma concentração máxima de metanol de 20 mg 100 mL<sup>-1</sup> aa (BRASIL, 2005). Portanto, todas as cachaças analisadas neste estudos apresentaram teor de metanol dentro da legislação vigente.

#### 4.6.5 sec-butanol

As concentrações médias de sec-butanol na cachaça não envelhecida e nas cachaças envelhecidas, durante 18 meses, estão demonstradas nos Gráfico 31 e Tabela 24.

**Gráfico 31** – Concentrações do sec-butanol (mg 100 mL<sup>-1</sup> aa) nas cachaças durante o processo de envelhecimento em diferentes barris.

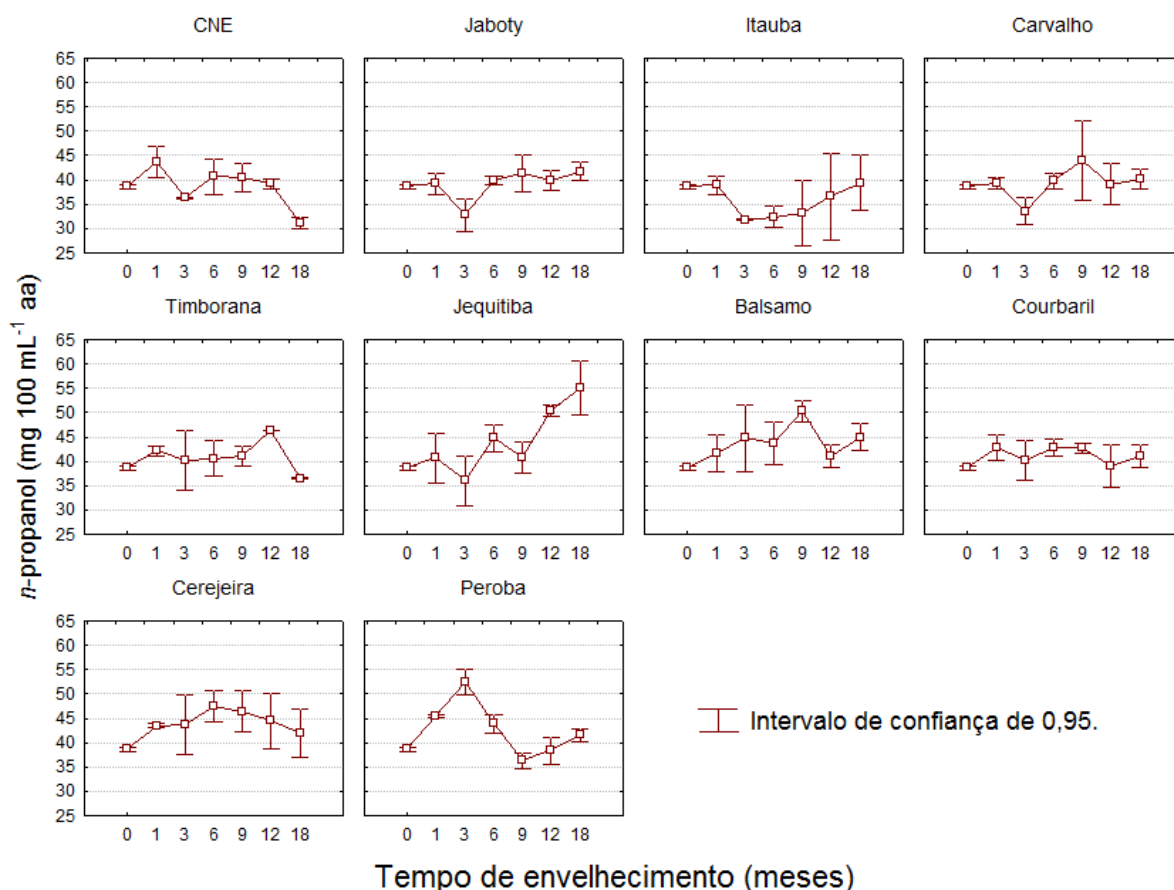


A concentração de *sec*-butanol na cachaça não envelhecida (CNE0) foi de 2,28 mg 100 mL<sup>-1</sup> aa. Em todas as amostras a quantidade de *sec*-butanol não apresentou diferença significativa, considerando o intervalo de confiança de 0,95. A concentração de *sec*-butanol nas cachaças após 18 meses foi menor do que o limite de quantificação de 0,63 mg 100 mL<sup>-1</sup> aa.

#### 4.6.6 *n*-propanol

As concentrações médias de *n*-propanol na cachaça não envelhecida e nas cachaças envelhecidas, durante 18 meses, estão demonstradas nos Gráfico 32 e Tabela 24.

**Gráfico 32** – Concentrações de *n*-propanol (mg 100 mL<sup>-1</sup> aa) nas cachaças durante o processo de envelhecimento em diferentes barris.



Fonte: A autora, 2011.

A concentração do *n*-propanol na cachaça não envelhecida (CNE 0) foi de 38,64 mg 100 mL<sup>-1</sup> aa. A cachaça não envelhecida sofreu uma redução de 19,43%

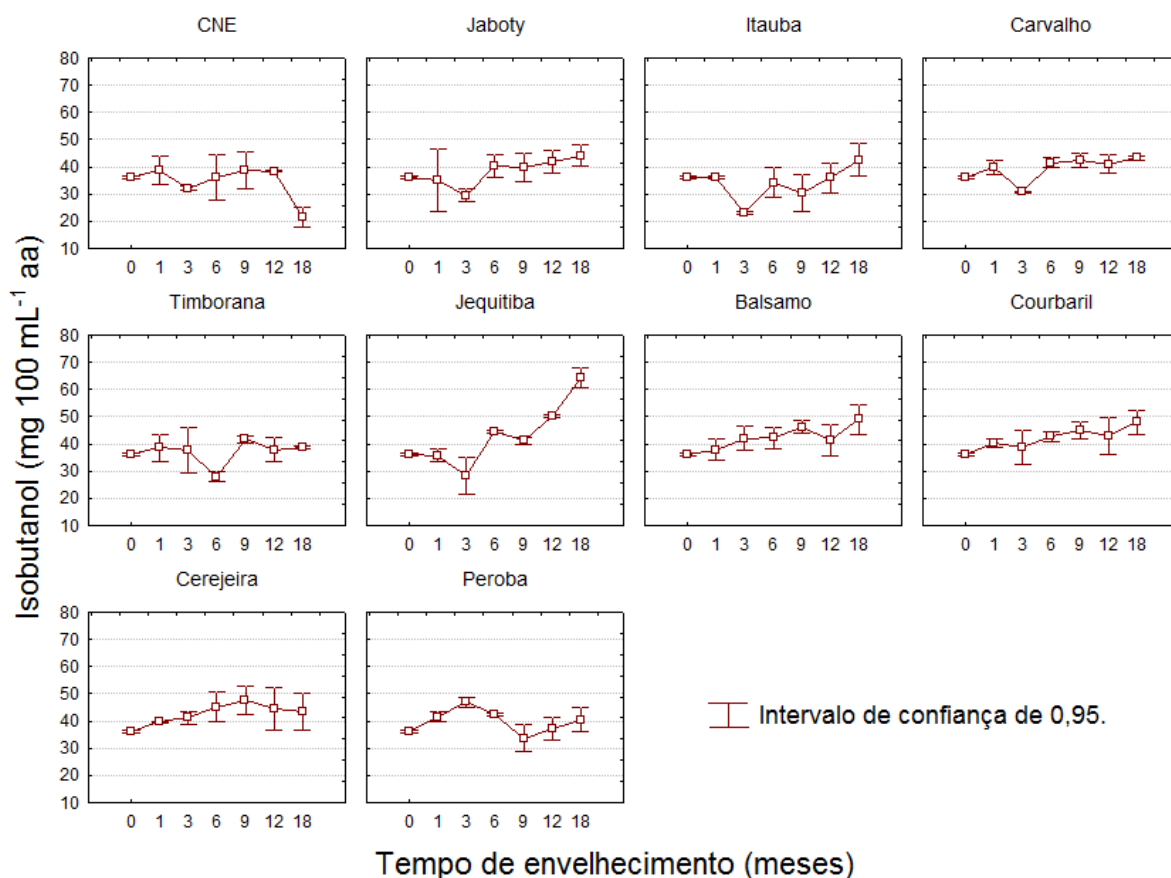
de *n*-propanol da sua concentração inicial após 18 meses. As cachaças envelhecidas após 18 meses em jaboty, itauba, carvalho, timborana, courbaril, cerejeira e peroba, não apresentaram diferença significativa na concentração de *n*-propanol, quando comparadas com a CNE 0. Essas cachaças envelhecidas após 18 meses, apresentaram concentração média de *n*-propanol de 40,34 mg 100 mL<sup>-1</sup> aa.

Apenas as cachaças jequitiba e balsamo apresentaram aumento médio de 29,24% da sua concentração inicial de *n*-propanol após 18 meses de envelhecimento.

#### 4.6.7 Isobutanol

As concentrações médias de isobutanol na cachaça não envelhecida e nas cachaças envelhecidas, durante 18 meses, estão demonstradas nos Gráfico 33 e Tabela 24.

**Gráfico 33** – Concentrações de isobutanol nas cachaças durante o processo de envelhecimento em diferentes barris.



A concentração de isobutanol na cachaça não envelhecida (CNE 0) foi de 36,18 mg 100 mL<sup>-1</sup> aa. A cachaça não envelhecida manteve constante a concentração de isobutanol até 12 meses. Após 18 meses a cachaça não envelhecida apresentou uma redução significativa de isobutanol de 41,12% da sua concentração inicial (CNE 0).

As cachaças jaboty, itauba, carvalho, jequitiba, balsamo, courbaril e cerejeira apresentaram um aumento médio significativo de isobutanol de 32,27% do valor inicial (CNE 0), após 18 meses de envelhecimento.

As concentrações de isobutanol das cachaças envelhecidas em timborana e peroba, permaneceram praticamente constantes durante os 18 meses de envelhecimento.

#### 4.6.8 *n*-butanol

O *n*-butanol não foi detectado em nenhuma das cachaças analisadas.

#### 4.6.9 Álcool Isoamílico

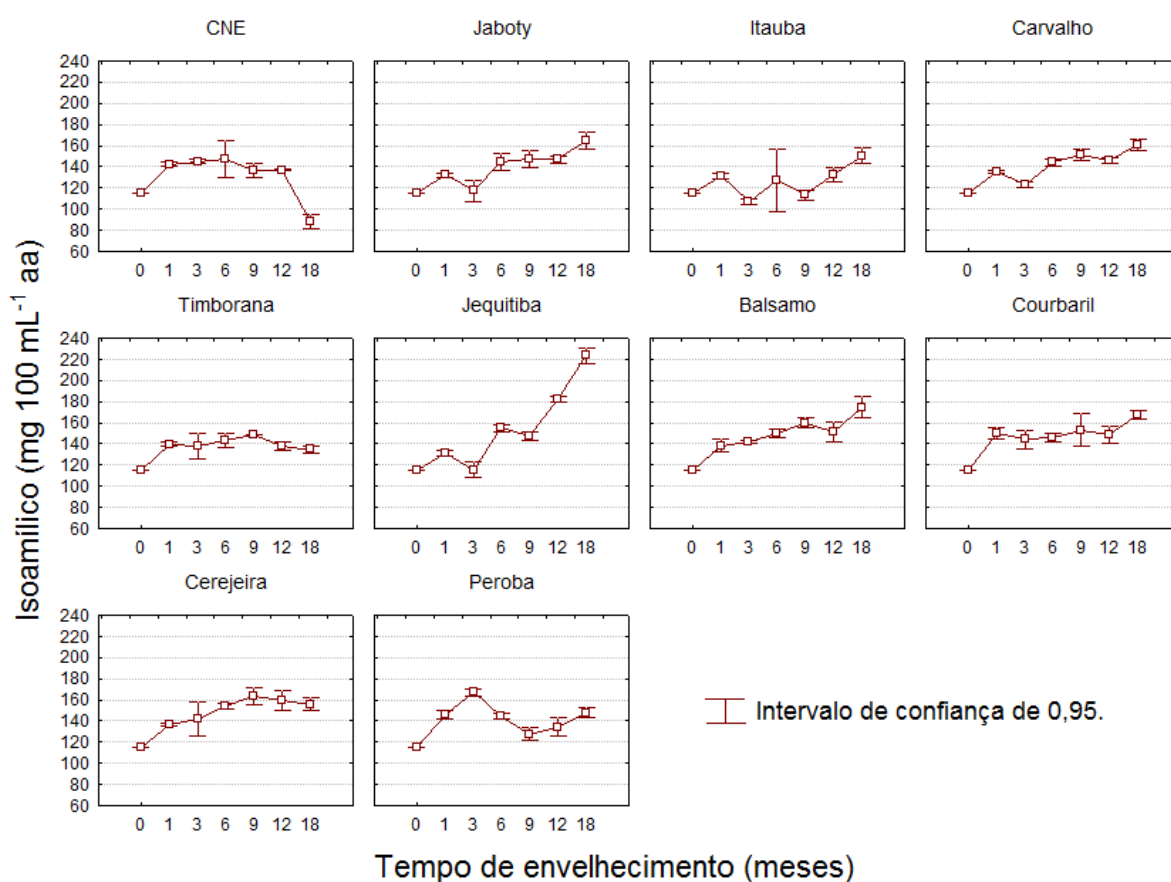
As concentrações médias de álcool isoamílico na cachaça não envelhecida e nas cachaças envelhecidas, durante 18 meses, estão demonstradas nos Gráfico 34 e Tabela 24.

A concentração do álcool isoamílico na cachaça não envelhecida (CNE 0) foi de 115,11 mg 100 mL<sup>-1</sup> aa. No entanto, sua concentração aumentou no primeiro mês de armazenamento atingindo 142,62 mg 100 mL<sup>-1</sup> aa, e depois manteve-se constante até o 12º mês, diminuindo rapidamente a 88,49 mg 100 mL<sup>-1</sup> aa.

Todas as cachaças envelhecidas apresentaram aumento médio de 42,82% da concentração de álcool isoamílico, comparado com a concentração inicial.



**Gráfico 34** – Concentrações de álcool isoamílico ( $\text{mg } 100 \text{ mL}^{-1} \text{ aa}$ ) nas cachaças durante o processo de envelhecimento em diferentes barris.



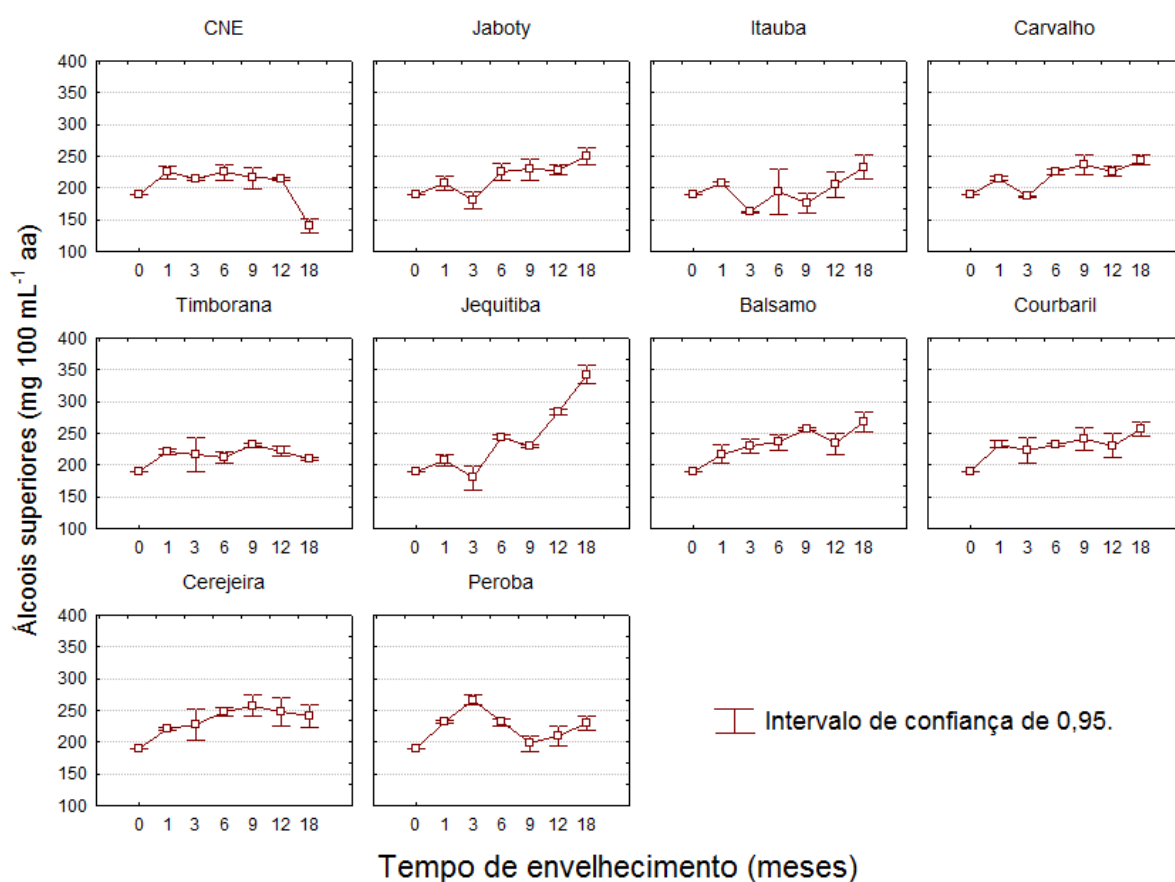
Fonte: A autora, 2011.

#### 4.6.10 Alcoóis Superiores

As concentrações médias de alcoóis superiores na cachaça não envelhecida e nas cachaças envelhecidas, durante 18 meses, estão demonstradas no Gráfico 35 e Tabela 24.

As concentrações de alcoóis superiores foram calculadas através da soma dos alcoóis *n*-propanol, isobutanol e isoamílico, determinados neste estudo. A concentração dos alcoóis superiores na cachaça não envelhecida (CNE 0) foi de  $189,92 \text{ mg } 100 \text{ mL}^{-1} \text{ aa}$ . Após o primeiro mês de armazenamento, a concentração aumentou chegando a  $225,14 \text{ mg } 100 \text{ mL}^{-1} \text{ aa}$ , mantendo-se constante até o 12º mês, e diminuindo rapidamente até  $140,91 \text{ mg } 100 \text{ mL}^{-1} \text{ aa}$  no 18º mês. Este comportamento ocorreu similarmente aos alcoóis *n*-propanol, isobutanol e isoamílico, descritos anteriormente.

**Gráfico 35** – Concentrações dos alcoóis superiores ( $\text{mg } 100 \text{ mL}^{-1} \text{ aa}$ ) nas cachaças durante o processo de envelhecimento em diferentes barris.



Fonte: A autora, 2011.

Todas as cachaças envelhecidas apresentaram aumento médio de 33,16% da sua concentração inicial de alcoóis superiores (CNE 0), quando envelhecidas por 18 meses. Os alcoóis que mais contribuíram para o aumento da concentração de alcoóis superiores na cachaça foram o álcool isoamílico, seguido do isobutanol e *n*-propanol.

Nos estudos de Reazin (1981), os alcoóis superiores (óleo fusel) no uisque aumentaram cerca de 12% de sua concentração inicial, quando envelhecidos em barris de madeira por 4 anos. Foi constatado que os alcoóis superiores (*n*-propanol, isobutanol, *n*-butanol e isoamílico) não foram produzidos a partir do etanol, e o aumento aparente da sua concentração, foi atribuída a perda por evaporação do etanol durante o envelhecimento (REAZIN, 1981). A teoria de Reazin (1981) não se aplica para a cachaça, pois o teor médio de etanol evaporado, para as madeiras deste estudo, foi de 9,8%, ou seja, um valor muito menor do que o aumento médio

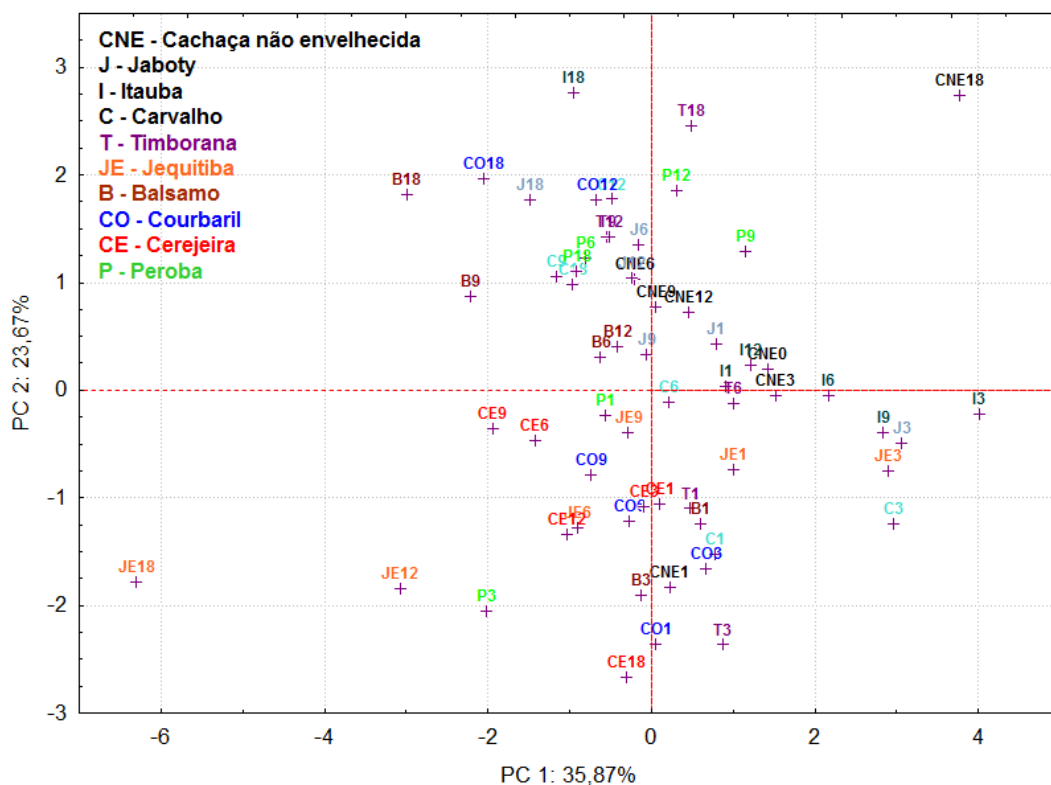
da porcentagem dos alcoóis superiores de 33,16%. Portanto, parte dos alcoóis superiores são formados durante o processo de envelhecimento em barris de madeira. Portanto, o aumento da concentração dos alcoóis superiores não é totalmente aparente, ou seja, não é totalmente causado pela evaporação do etanol. O aumento da concentração de alcoóis superiores deve estar relacionado ao processo de envelhecimento em barris de madeira, já que apenas as cachaças envelhecidas apresentaram aumento da concentração de alcoóis superiores. Portanto, deve haver algum composto oriundo da madeira dos barris participando das reações de formação dos alcoóis superiores.

A legislação permite que os alcoóis superiores representados pela soma dos álcoois isobutanol (2-metil propanol), isoamílicos (2-metil-1-butanol+3-metil-1-butanol) e *n*-propanol (1-propanol), resultem em no máximo 360 mg 100 mL<sup>-1</sup> aa (BRASIL, 2005). Neste estudo, o maior valor encontrado de alcoóis superiores ocorreu na cachaça envelhecida em jequitiba com 342,81 mg 100 mL<sup>-1</sup> aa. Desta forma, todas as cachaças apresentaram concentração de alcoóis superiores em acordo com a legislação vigente.

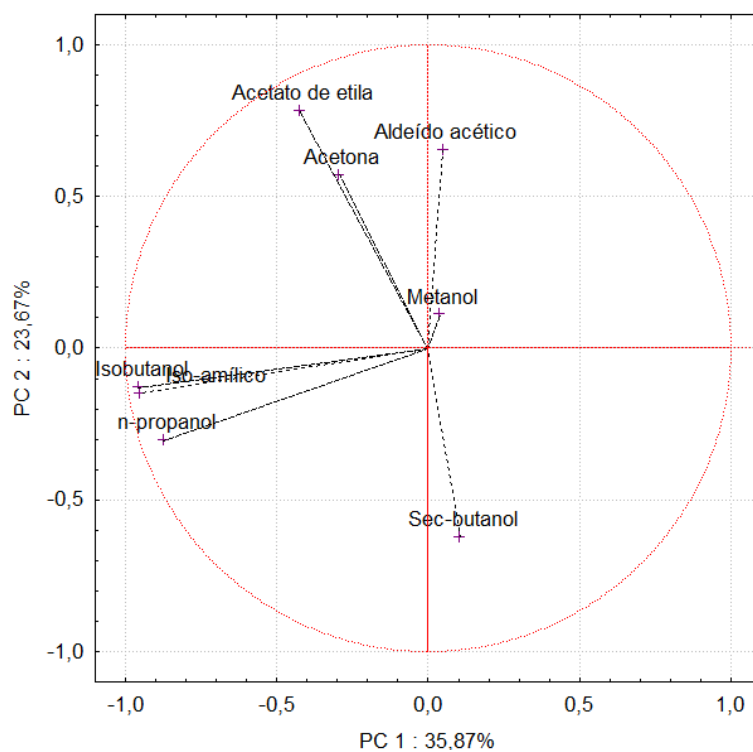
#### **4.7 Análise Multivariada dos Congêneres e Contaminantes**

Através da análise multivariada, empregando a análise dos componentes principais (PCA) e análise hierárquica de agrupamento (HCA), não foi possível diferenciar as cachaças e formar grupos, através dos resultados das análises de congêneres e contaminantes, conforme mostram os Gráficos 36 e 38. A soma das três primeiras componentes principais (PC1 35,87%, PC2 23,67% e PC3 14,77%) representaram 74,31% de toda a variabilidade. As variáveis que mais contribuíram para a diferenciação de jequitiba 18 foram os álcoois superiores (isoamílico, isobutanol e *n*-propanol), conforme mostram os Gráficos 36 e 37. As variáveis que mais contribuíram para a diferenciação das cachaças balsamo 18, courbaril 18, jaboty 18, carvalho 18, itauba 18 e peroba 18 foram: acetato de etila e acetona. A variável que mais contribuiu para a diferenciação da cachaça timborana 18 foi o aldeído acético, para a CNE 18 foi o metanol e para a cerejeira 18 foi o sec-butanol.

**Gráfico 36** – Análise dos componentes principais: PC1 X PC2 e projeção das cachaças em diferentes tempos de envelhecimento e em diferentes barris, em função dos congêneres e contaminantes, .



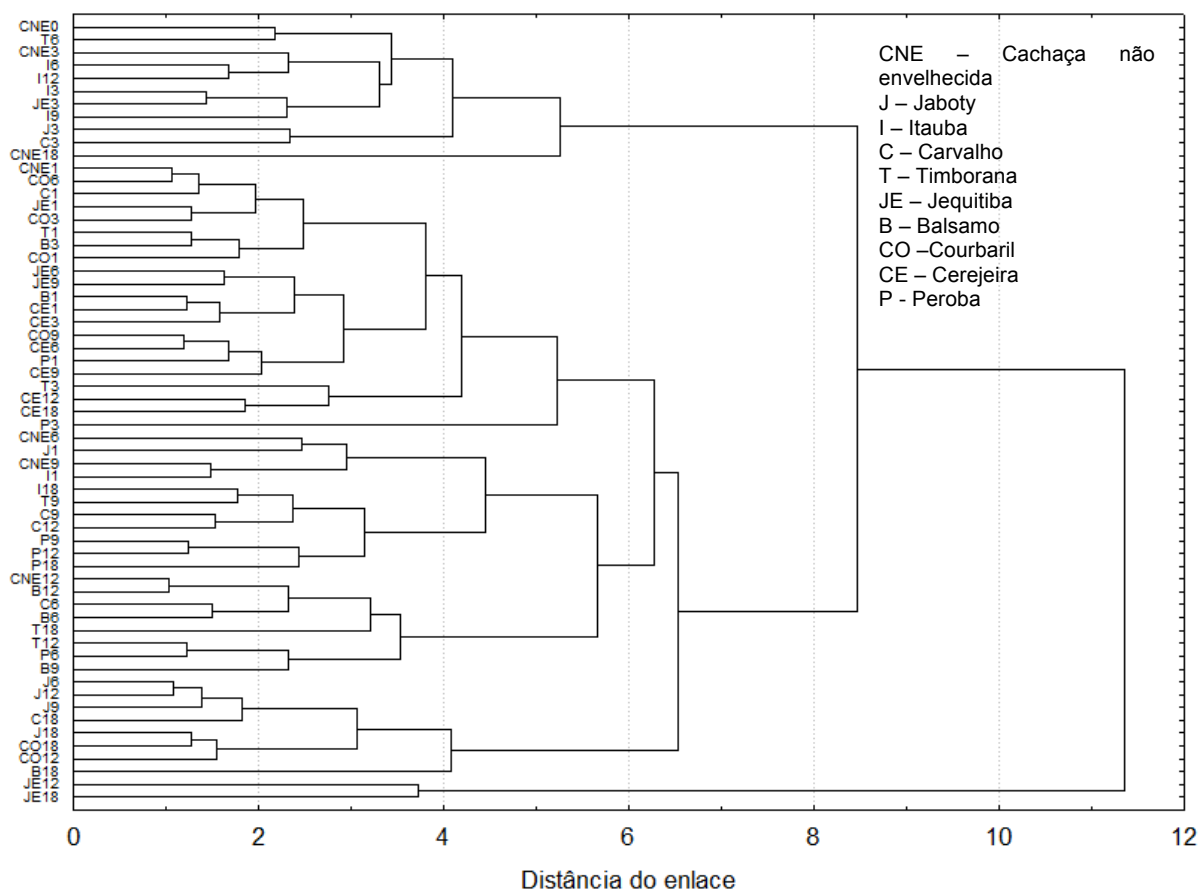
**Gráfico 37** – Análise dos componentes principais (PCA): projeção de PC1 e PC2 das variáveis congêneres e contaminantes.



Fonte: A autora, 2011.

As variáveis que mais contribuíram para PC1 foram isobutanol, isoamílico, *n*-propanol, acetato de etila, acetona, aldeído acético, metanol, e *sec*-butanol, conforme mostra o Gráfico 37. As variáveis que mais contribuíram para PC2 foram acetato de etila, aldeído acético, *sec*-butanol, acetona, *n*-propanol, isoamílico, isobutanol e metanol.

**Gráfico 38** – Dendograma das cachaças em função da análises de congêneres e contaminantes, com dados padronizados (sem escala), enlace completo e distancias Euclidianas.



Fonte: A autora, 2011.

#### 4.8 Carbamato de Etila das Cachaças Envelhecidas

Sob as condições experimentais da análise em GC/MS, o carbamato de etila foi quantificado em amostras de cachaça não envelhecida e cachaças envelhecidas em barris de: courbaril, peroba-do-campo, balsamo, jequitiba, cerejeira, timborana, jaboty, itauba e carvalho. As cachaças foram avaliadas nos meses 0, 6, 9, e 18 de envelhecimento, conforme apresentam a Tabela 25 e o Gráfico 39.

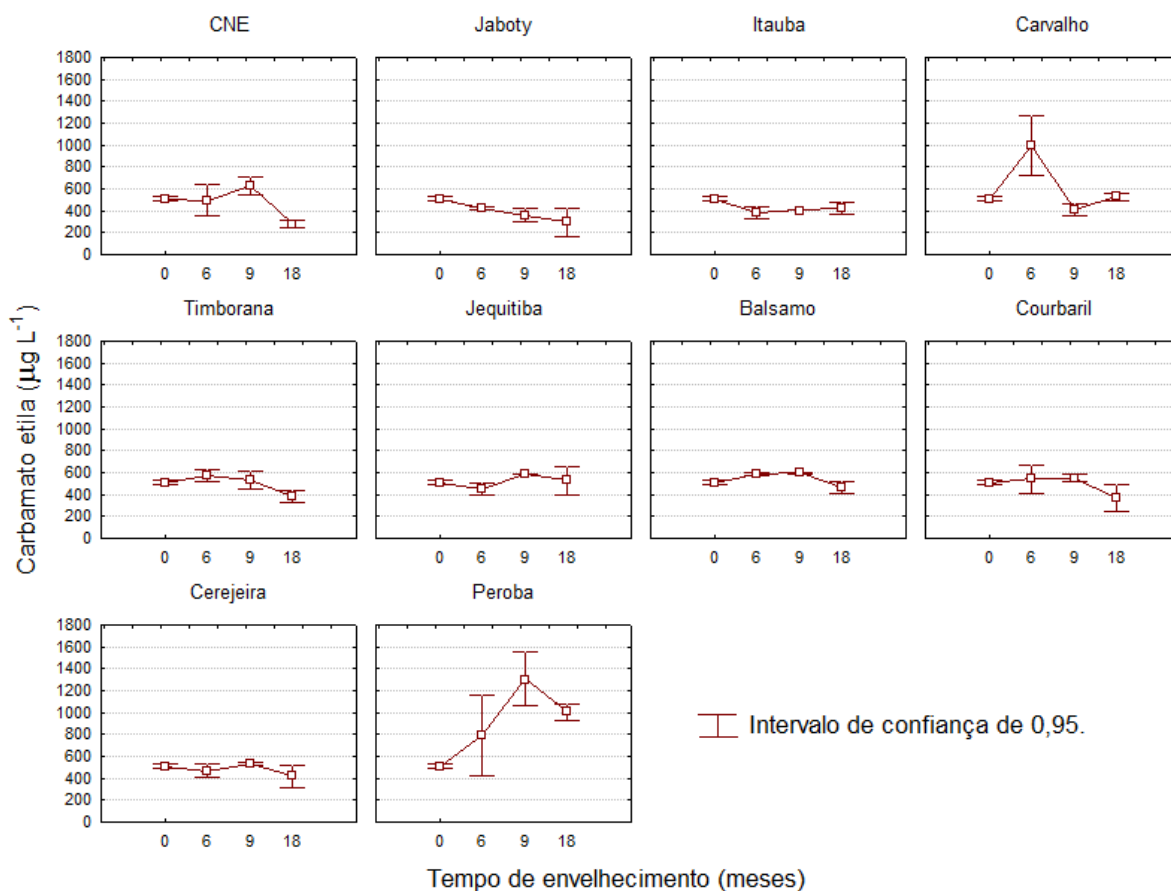
**Tabela 25** – Concentrações de carbamato de etila ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) na cachaça não envelhecida e nas cachaças envelhecidas em diferentes tempos de envelhecimento em barris de jaboty, itauba, carvalho, timborana, jequitiba, balsamo, courbaril, cerejeira e peroba.

| <b>Cachaças</b> | <b>Efeito</b> | <b>Tempo de envelhecimento</b> |                            |                            |                            |               |
|-----------------|---------------|--------------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|---------------|
|                 |               | <b>0 meses</b>                 | <b>6 meses</b>             | <b>9 meses</b>             | <b>18 meses</b>            | <b>Média</b>  |
| CNE             | *             | 510,35±8,30 <sup>a</sup>       | 493,13±57,72 <sup>a</sup>  | 624,06±33,72 <sup>a</sup>  | 280,60±15,40 <sup>b</sup>  | 477,04±132,91 |
| Jaboty          | *             | 510,35±8,30 <sup>a</sup>       | 420,72±4,12 <sup>a,b</sup> | 358,14±25,58 <sup>b</sup>  | 296,96±51,99 <sup>b</sup>  | 396,54±86,20  |
| Itauba          | ns            | 510,35±8,30                    | 382,57±21,30               | 403,00±0,00                | 428,24±22,46               | 431,04±52,59  |
| Carvalho        | *             | 510,35±8,30 <sup>a</sup>       | 996,38±108,17 <sup>b</sup> | 408,74±24,21 <sup>a</sup>  | 527,30±12,91 <sup>a</sup>  | 610,69±242,11 |
| Timborana       | *             | 510,35±8,30 <sup>a,b</sup>     | 574,59±22,81 <sup>a</sup>  | 533,37±32,57 <sup>a</sup>  | 386,74±22,15 <sup>b</sup>  | 501,26±75,78  |
| Jequitiba       | ns            | 510,35±8,30                    | 450,05±21,44               | 583,72±0,00                | 528,20±50,91               | 518,42±55,70  |
| Balsamo         | ns            | 510,35±8,30                    | 581,46±5,13                | 596,78±0,00                | 467,00±20,88               | 538,90±56,08  |
| Courbaril       | *             | 510,35±8,30 <sup>a</sup>       | 541,98±51,72 <sup>a</sup>  | 550,88±11,99 <sup>a</sup>  | 368,79±50,85 <sup>b</sup>  | 493,00±82,82  |
| Cerejeira       | ns            | 510,35±8,30                    | 467,43±24,66               | 525,65±5,51                | 419,33±42,43               | 480,78±48,33  |
| Peroba          | *             | 510,35±8,30 <sup>a</sup>       | 790,94±145,83 <sup>b</sup> | 1303,01±98,91 <sup>c</sup> | 1006,05±29,14 <sup>d</sup> | 902,59±312,77 |
| <b>Média</b>    |               | 510,35±8,30                    | 569,93±189,51              | 588,90±259,10              | 470,92±200,75              | 535,03±192,82 |

Fonte: A autora, 2011.

Nota: Valores médios  $\pm$  desvio padrão (três amostras para cada tipo de cachaça); valores médios na mesma linha com letras diferentes são significativamente (\* $P < 0.05$ ) diferentes pelo teste de Tukey; ns: sem diferença significativa; <LQ: abaixo do limite de quantificação (LQ).

**Gráfico 39** – Concentrações de carbamato de etila ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) nas cachaças durante o processo de envelhecimento em diferentes barris.



Fonte: A autora, 2011.

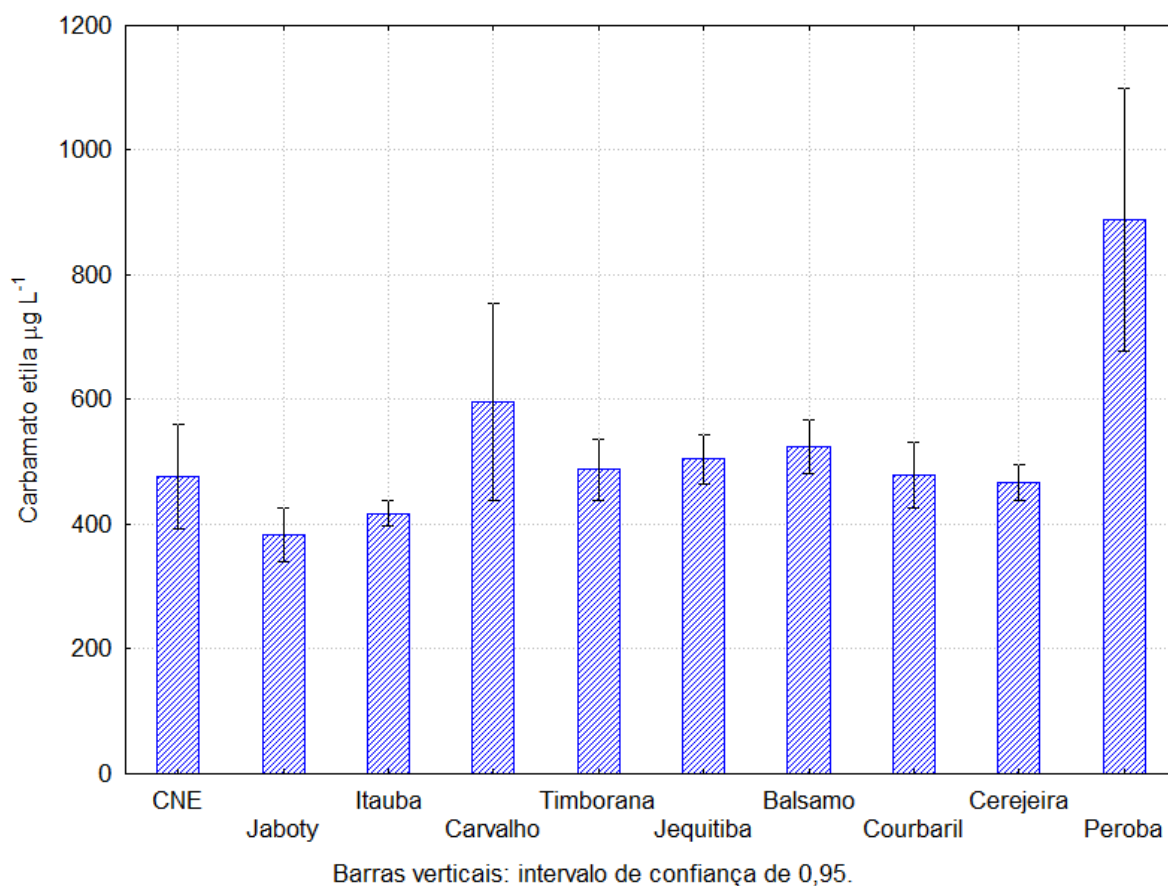
A concentração de carbamato de etila da cachaça não envelhecida foi de  $510,35 \mu\text{g L}^{-1}$ . A concentração de carbamato de etila nas CNE, jaboty e courbaril, não variaram significativamente nos meses 0, 6 e 9 de envelhecimento. No entanto, no 18º mês a concentração de carbamato de etila diminuiu 61,80% da concentração inicial (CNE 0).

As cachaças envelhecidas em itauba, carvalho, timborana, jequitiba, balsamo e cerejeira, não apresentaram variação significativa do teor de carbamato de etila após 18 meses de envelhecimento. A cachaça envelhecida em carvalho no mês 6 apresentou um inesperado aumento do teor de carbamato de etila, que pode ser um erro experimental.

A cachaça envelhecida em peroba foi a única que apresentou aumento significativo de 97,12% da concentração de carbamato de etila durante o envelhecimento por 18 meses.

O Gráfico 40 representa as médias das concentrações de carbamato de etila das cachaças agrupadas em função da espécie da madeiras, em diferentes tempos de envelhecimento (média de todos os tempos de envelhecimentos).

**Gráfico 40** – Concentrações médias de carbamato de etila ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) nas cachaças envelhecidas em diferentes barris de madeira.



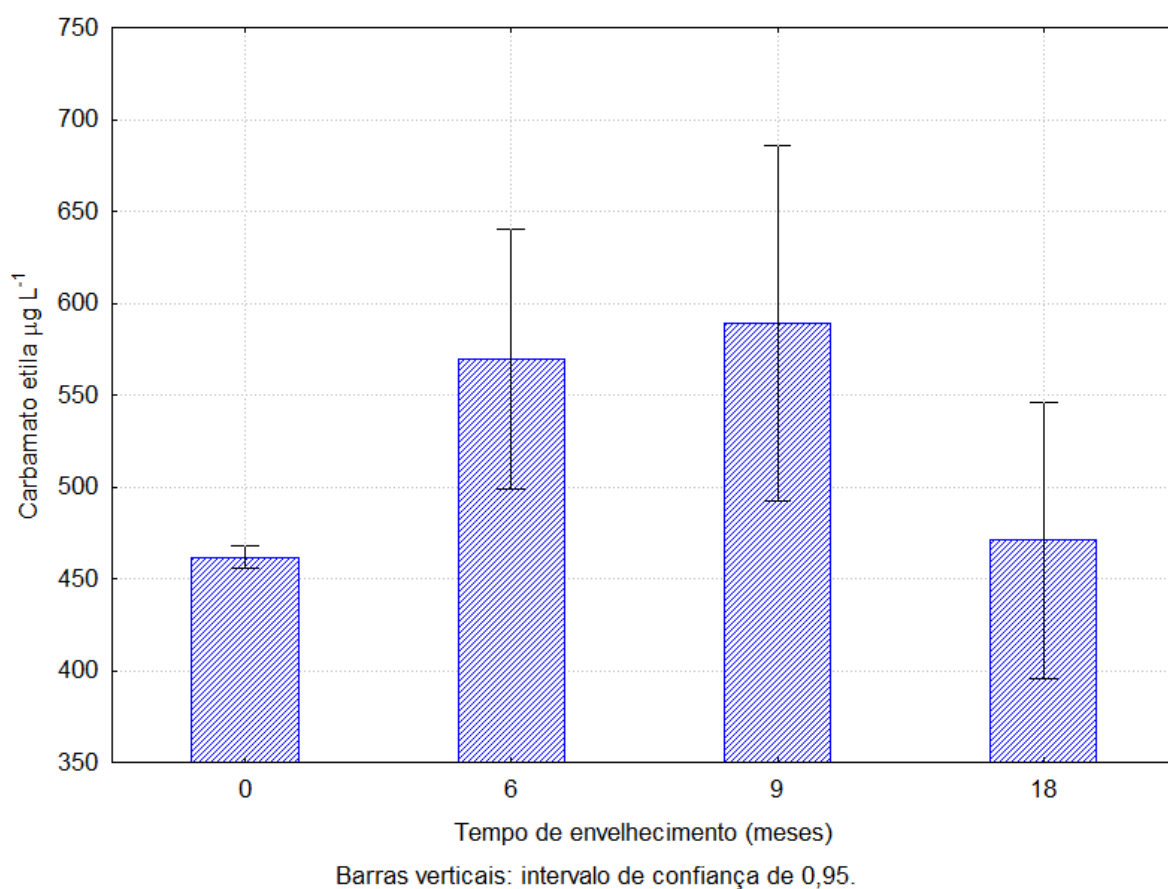
Fonte: A autora, 2011.

A cachaça envelhecida em peroba apresentou a maior concentração média de carbamato de etila de  $902,59 \mu\text{g L}^{-1}$ . As demais cachaças mantiveram a concentração de carbamato de etila constante, considerando o intervalo de confiança de 0,95.

O Gráfico 41 representa as médias das concentrações de carbamato de etila das cachaças agrupadas por tempos de envelhecimento, independente da espécie da madeira do barril.



**Gráfico 41** – Concentrações médias de carbamato de etila ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) nas cachaças durante o processo de envelhecimento nos meses 0, 6, 9 e 18.



Observou-se que no 6º e 9º meses do envelhecimento ocorreu aumento da concentração do carbamato de etila nas cachaças envelhecidas, proporcionados pelos altos valores de CE no 6 mês do carvalho e 9 mês da peroba. A concentração menor de CE no 18º mês é justificada pela redução do CE nas CNE, jaboty e courbaril, mesmo considerando elevado aumento de CE em peroba.

## 5 CONCLUSÃO

### 5.1 Constituintes Fenólicos, Furfuraldeído e Capacidade Antioxidante

Foram quantificados sete compostos fenólicos (ácido gálico, ácido vanílico, vanilina, ácido siríngico, siringaldeído, cumarina e escopoletina), 2-furfuraldeído, e a capacidade antioxidante (fenóis totais, inibição ao radical DPPH· e FRAP) na cachaça não envelhecida e nas cachaças envelhecidas em barris de jaboty, itauba, carvalho, timborana, jequitiba, balsamo, courbaril, cerejeira e peroba, durante 18 meses de envelhecimento.

Dentre os compostos fenólicos analisados neste estudo, o ácido gálico foi o composto fenólico encontrado em maior quantidade em 60% das cachaças analisadas.

A vanilina foi encontrada em grande quantidade na cachaça envelhecida em peroba, atingindo 59,84 mg L<sup>-1</sup> no 18º mês de envelhecimento. O alto conteúdo de vanilina deve proporcionar características sensoriais desejáveis à cachaça.

O ácido siríngico foi encontrado em maior quantidade nas cachaças envelhecidas em barris de peroba (99,20 mg L<sup>-1</sup>) e courbaril (75,99 mg L<sup>-1</sup>).

O siringaldeído foi encontrado em grandes concentração nas cachaças envelhecidas, por 18 meses, em barris de carvalho (2,67 mg L<sup>-1</sup>), peroba (2,36 mg L<sup>-1</sup>) e balsamo (1,24 mg L<sup>-1</sup>).

A cumarina foi encontrada em grandes quantidades na cachaça envelhecida em cerejeira (443,51 mg L<sup>-1</sup>), valor este 46,6 vezes maior do que o limite máximo permitido, de 9,52 mg L<sup>-1</sup>, estabelecido pelo *Codex Alimentarius* (SPROLL et al., 2008). Portanto, não é recomendado que se empregue a madeira de cerejeira na confecção de barris no envelhecimento de cachaça. Algumas madeiras brasileiras apresentam maior conteúdo de cumarina do que o carvalho.

A escopoletina não foi detectada em nenhuma das cachaças analisadas (LD < 1,07 mg L<sup>-1</sup>).

A SCF (Soma dos Compostos Fenólicos) das cachaças foram: cerejeira 18 (584,48 mg L<sup>-1</sup>), peroba 18 (246,49 mg L<sup>-1</sup>), courbaril 18 (153,42 mg L<sup>-1</sup>), balsamo 18 (68,69 mg L<sup>-1</sup>), timborana 18 (52,02 mg L<sup>-1</sup>), jequitiba 18 (51,84 mg L<sup>-1</sup>), carvalho 18 (10,26 mg L<sup>-1</sup>), itauba 18 (6,01 mg L<sup>-1</sup>), jaboty 18 (3,26 mg L<sup>-1</sup>) e CNE (2,27 mg L<sup>-1</sup>).

A concentração do furfuraldeído aumentou nas cachaças envelhecidas pós 18 meses, atingindo as seguintes concentrações: courbaril 18 (11,68 mg L<sup>-1</sup>), balsamo 18 (10,64 mg L<sup>-1</sup>), peroba 18 (6,53 mg L<sup>-1</sup>), cerejeira 18 (6,35 mg L<sup>-1</sup>) e timborana 18 (5,86 mg L<sup>-1</sup>). Manteve-se constante na CNE (4,48 mg L<sup>-1</sup>), itauba 18 (4,86 mg L<sup>-1</sup>), carvalho 18 (4,73 mg L<sup>-1</sup>) e jaboty 18 (4,15 mg L<sup>-1</sup>). Diminuiu na cachaça envelhecida em jequitiba 18 (0,60 mg L<sup>-1</sup>).

As cachaças com maior capacidade antioxidante, baseando-se no ranking dos resultados obtidos pelos três métodos de análise utilizados (FC, DPPH· e FRAP), foram as envelhecidas em barril de balsamo, seguido por timborana, cerejeira, courbaril, peroba, jequitiba, carvalho, itauba e jaboty. A cachaça não envelhecida apresentou capacidade antioxidante desprezível.

A capacidade antioxidante medida pelos métodos Folin-Ciocalteu, DPPH· e FRAP, demonstraram boa correlação entre si: FRAP e DPPH· ( $R^2 = 0,707$ ); FRAP e FC ( $R^2 = 0,680$ ); FC e DPPH· ( $R^2 = 0,765$ ).

Através da PCA e HCA e a partir dos resultados de compostos fenólicos, furfuraldeído e capacidade antioxidante, as cachaças foram classificadas em 5 grupos: grupo 1 (CNE, itauba, jaboty e carvalho), grupo 2 (jequitiba e timborana), grupo 3 (balsamo e courbaril), grupo 4 (cerejeira) e grupo 5 (peroba).

O perfil fenólico tornou-se mais complexo e a concentração de cada composto fenólico aumentou com o tempo de envelhecimento. A origem botânica da madeira afetou a composição fenólica de cada cachaça. O envelhecimento permitiu a incorporação de compostos fenólicos que conferiram capacidade antioxidante às cachaças envelhecidas, visto que a cachaça não envelhecida apresentou conteúdo de compostos fenólicos e capacidade antioxidante desprezíveis. A composição fenólica determinou a capacidade antioxidante das cachaças envelhecidas. A cachaça envelhecida é uma fonte de antioxidantes exógenos. Neste estudo, a maioria das madeiras brasileiras apresentaram maior teor de compostos fenólicos e capacidade antioxidante do que o carvalho.

As cachaças envelhecidas em barris de cerejeira, courbaril e jequitiba por 18 meses e os vinhos tintos apresentaram alta capacidade antioxidante. Os vinhos brancos, uisques e cachaça envelhecida por 18 meses em carvalho apresentaram média capacidade antioxidante.

## 5.2 Congêneres e Contaminantes

Os congêneres (aldeído acético, acetona, acetato de etila, *n*-propanol, isobutanol, e isoamílico) e contaminantes (metanol, *sec*-butanol e *n*-butanol) foram quantificados na cachaça não envelhecida e nas cachaças envelhecidas em barris de nove madeiras diferentes (jaboty, itauba, carvalho, timborana, jequitiba, balsamo, courbaril, cerejeira e peroba) no 1º, 3º, 6º, 9º, 12º e 18º mês de envelhecimento.

Dentre os congêneres e contaminantes analisados, os compostos encontrados em maior concentração nas cachaças analisadas foram: álcool isoamílico 140,41 mg 100 mL<sup>-1</sup> aa, *n*-propanol 40,81 mg 100 mL<sup>-1</sup> aa, isobutanol 39,23 mg 100 mL<sup>-1</sup> aa, acetato de etila 22,44 mg 100 mL<sup>-1</sup> aa, metanol 4,5 mg 100 mL<sup>-1</sup> aa, acetona 1,03 mg 100 mL<sup>-1</sup> aa, *sec*-butanol 1,11 mg 100 mL<sup>-1</sup> aa e *n*-butanol < LQ.

A concentração de aldeído acético aumentou em média 16,54% nas cachaças envelhecidas em barris de madeira.

A concentração da acetona e *sec*-butanol mantiveram-se praticamente constante durante o envelhecimento da cachaça.

A concentração do metanol diminuiu cerca de 86% em balsamo, manteve-se constante em CNE, jaboty, carvalho, jequitiba, courbaril e cerejeira, e aumentou cerca de 100% em itauba, timborana e peroba.

A concentração de acetato de etila aumentou em média 91,07% nas cachaças após 18 meses.

O *n*-butanol não foi detectado em nenhuma cachaça analisada.

A concentração de *n*-propanol permaneceu constante na maioria das cachaças durante o envelhecimento. Exceto nas cachaças envelhecidas em jequitiba e balsamo, cujas concentrações aumentaram em média 29,34%.

A concentração de isobutanol aumentou cerca de 32,25% na maioria das cachaças após 18 meses de envelhecimento.

Todas as cachaças envelhecidas apresentaram aumento significativo de 42,82% da concentração de álcool isoamílico após 18 meses de envelhecimento.

A concentração de alcoóis superiores aumentou em média cerca de 33,16% da sua concentração inicial em todas as cachaças envelhecidas. Dos alcoóis analisados, os que mais contribuíram para o aumento da concentração de alcoóis superiores na cachaça foram: o álcool isoamílico, seguido do isobutanol e *n*-

propanol. Deve haver algum composto oriundo da madeira dos barris, participando das reações de formação dos alcoóis superiores.

Através da análise dos componentes principais (PCA e HCA) não foi possível diferenciar as cachaças envelhecidas em função das espécies das madeiras, e formar grupos através dos resultados das análises de congêneres e contaminates. No entanto, as variáveis que mais contribuíram para a diferenciação das cachaças foram isobutanol, isoamílico, *n*-propanol, acetato de etila e aldeído acético.

No envelhecimento, o acetato de etila e o aldeído acético parecem ser originários de reações entre componentes da cachaça. No entanto, há indicativos de que os alcoóis superiores são originários de reações envolvendo o destilado e compostos oriundos dos barris de madeira. Dos congêneres analisados, as maiores alterações foram a formação de: acetato de etila (91,01%), alcoóis superiores (33,16%) e aldeído acético (16,54%). Dentre os alcoóis superiores, os que mais apresentaram aumento de sua concentração foi o álcool isoamílico (42,82%), seguido do isobutanol (32,25%) e *n*-propanol (29,34)

### 5.3 Carbamato de Etila

O carbamato de etila foi quantificado na CNE e nas cachaças envelhecidas em barris de diferentes madeiras (jaboty, itauba, carvalho, timborana, jequitiba, balsamo, courbaril, cerejeira e peroba) no 6º, 9º e 18º mês de envelhecimento.

A concentração de carbamato de etila nas cachaças manteve-se constante em itauba, carvalho, timborana, jequitiba, balsamo e cerejeira.

Na CNE, jaboty e courbaril, a concentração de carbamato de etila diminuiu cerca de 61,80% da sua concentração inicial.

A cachaça envelhecida em peroba foi a única que apresentou aumento da concentração de carbamato de etila (97,12%) durante o envelhecimento por 18 meses. Este aumento pode estar relacionado aos alto teor de extrativos da peroba, que além de compostos fenólicos, podem conter precursores nitrogenados, que fazem parte das várias vias possíveis para a formação de CE, através de reações com o etanol.

#### **5.4 Considerações Finais**

A madeira balsamo, seguida por timborana, courbaril, jequitiba, carvalho, itauba e jaboty foram as mais indicadas para o envelhecimento porque apresentaram maior capacidade antioxidante, e se adequaram aos limites estabelecidos pela legislação para cumarina, congêneres, contaminantes e carbamato de etila. Os barris de cerejeira e peroba não foram indicados porque durante o envelhecimento apresentaram aumento da concentração de cumarina e carbamato de etila, respectivamente, com valores muito acima dos permitidos pela legislação vigente.

## REFERÊNCIAS

- ÁVILA-REYES, J. A. et al. Phenol profile and antioxidant capacity of mescal aged in oak wood barrels. **Food Research International**, n. 43, p. 296-300, 2010.
- ANDRADE-SOBRINHO, L. G. et al. Carbamato de etila em bebidas alcoólicas (cachaça, tiquira, uísque e grapa). **Quiim. Nova**, v. 25, n. 6B, p. 1074-1077, 2002.
- AOSHIMA, H. et al. Aging of whiskey increases 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical scavenging activity. **J. Agric. Food Chem.**, v. 52, p. 5240-5244, 2004.
- APROCAL. <http://www.cachacasaprocal.com.br/>. **APROCAL Associação Alagoana dos Produtores de Cachaça de Alambique e outros derivados da cana-de-açúcar de Alagoas**, 2010. Acesso em: 20 junho 2011.
- AQUINO, F. W. B. D. et al. Simultaneous determination of aging markers in sugar cane spirits. **Food Chem.**, v. 98, p. 569-574, 2006.
- AQUINO, F. W. B. D. et al. Phenolic compounds in Imburana (*Amburana cearensis*) powder extracts. **Eur. Food Res. Technol.**, v. 221, p. 739-745.
- ARESTA, M.; BOSCOLO, M.; FRANCO, D. W. Copper (II) catalysis in cyanate conversion into ethyl carbamate in spirits, and relevant reactions. **J. Agric Food Chem**, v. 49, n. 6, p. 2819-2824, 2001.
- ARGAWAL, D. P. Cardioprotective effects of light-moderate consumption of alcohol: a review of putative mechanisms. **Alcohol & Alcoholisms**, v. 37, n. 5, p. 409-415, 2002.
- ARNOUS, A.; MAKRIS, D. P.; KEFALAS, P. Effect of principal polyphenolic components in relation to antioxidant characteristics of aged red wine. **J. Agric. Food Chem.**, v. 49, p. 5736-5742, 2001.
- ASMS - AMERICAN SOCIETY FOR MASS SPECTROMETRY. What is Mass Spectrometry? **American Society for Mass Spectrometry: Education**, 2001. Disponível em: <<http://www.asms.org/whatisms/p5.html>>. Acesso em: 23 março 2011.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE BEBIDAS. Mercado. **ABRABE**, 2008. Disponível em: <<http://www.abrabe.org.br/mercado.php>>. Acesso em: 10 Janeiro 2010.
- ATIBIT. **The Grading Rules for Tropical Timber Logs and Sawn Timbers**. Association Technique internationale des Bois Tropicaux. [S.l.]. 1982.
- BANDONIENE, D.; MURKOVIC, M. On-Line HPLC-DPPH Screening Method for Evaluation of Radical Scavenging Phenols Extracted from Apples (*Malus domestica* L.). **J. Agric. Food Chem.**, v. 50, p. 2482, 2002.
- BENNETT, R.; ALLSGROVE, R. M. W. Tansley Review No. 72 Secondary metabolites in plant defence mechanisms. **Vm Phytol.**, v. 127, p. 617-633, 1994.

- BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The Ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay.. **Anal. Biochem.** , v. 239, p. 70-76, 1996.
- BOSCOLO, M. et al. Identification and Dosage by HRGC of Minor Alcohols and Esters in Brazilian Sugar-Cane Spirit. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 11, n. 1, p. 86-90, 2000.
- BOULTON, R. The Copigmentation of Anthocyanins and Its Role in the Color of Red Wine: A Critical Review. **Am. J. Enol. Vitic.**, v. 2, n. 52, p. 67-87, 2001.
- BOZA, Y.; OETTERER, M. Maturation of sugar cane brandy. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciencia e Tec**, v. 33, n. 1, p. 8-15, 1999.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensm.-Wiss.u.-Technol.**, n. 28, p. 25-30, 1995.
- BRASIL. Instrução normativa n 13, de 29 de junho de 2005. Aprova o Regulamento Técnico para Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para Aguardente de Cana e para Cachaça.. **Diário Oficial da União**, Brasília, v. Seção 1, p. 3, Junho 2005.
- BRUNO, S. N. F. et al. Influence of the distillation processes from Rio de Janeiro in the ethyl carbamate formation in Brazilian sugar cane spirits. **Food Chemistry**, v. 104, n. 4, p. 1345-1352, 2007.
- BUDZIAK, C. R.; MAIA, C. M. B. F.; MANGRICH, A. S. Transformações químicas da matéria orgânica durante a compostagem de resíduos da indústria madeireira. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 27, n. 3, p. 399-403, 2004.
- CANAS, S.; CASANOVA, V.; BELCHIOR, A. P. Antioxidant activity and phenolic content of Portugues wine aged brandies. **Journal of Food Composition and Analysis**, n. 21, p. 626-633, 2008.
- CANAS, S.; SILVA, V.; BELCHIOR, A. P. Wood related chemical markers of aged wine brandies. **Ciência Téc. Vitiv.**, v. 23, n. 1, p. 45-52, 2008.
- CANUTO, K. M.; SILVEIRA, E. R. Constituintes químicos da casca do caule de *Amburana cearensis* A.C. *Smith*.. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 29, n. 6, Dec. 2006.
- CARDOSO, D. R. et al. Sugarcane spirit extracts of oak and Brazilian woods: antioxidant capacity and activity. **Eur. Food Res. Technol.**, v. 227, p. 1109-1116, 2008.
- CARDOSO, M. D. G. **Produção de aguardente de cana**. Lavras: Ed. UFLA, 2006.
- CARVALHO, W. et al. Uma visão sobre a estrutura, composição e biodegradação da madeira. **Quím. Nova**, v. 32, n. 8, p. 2191-2195, 2009.



CERDÁN, T. G.; GOÑI, D. T.; AZPILICUETA, C. A. Accumulation of volatile compounds during ageing of two red wines with different composition. **J. Food Eng.**, v. 65, p. 349-356, 2004.

CHATONNET, P.; DUBOURDEU, D. Comparative study of the characteristics of American White Oak (*Quercus alba*) and European Oak (*Quercus petraea* and *Q. robur*) for Production of Barrels Used in Barrel Aging of Wines. **Am. J. Enol. Vitic.**, v. 49, n. 1, p. 79-85, 1998.

CONAB. **Perfil do setor do açúcar e do álcool no Brasil**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brasília, p. 77. 2010.

CONNER, J. M. Role of Organic Acids in Maturation of Distilled Spirits in Oak Casks. **Journal of The Institute of Brewing**, v. 105, n. 5, p. 287-291, 1999.

COOPERAGES1912NAPA. **Quality Certificates and Documents**. Disponível em: <[http://www.cooperages1912.com/quality\\_certificates](http://www.cooperages1912.com/quality_certificates)> Acesso em: 11 abr. 2011.

COSTA, A. Página do Professor Arlindo Costa. **Universidade Estadual de Santa Catarina**, 2001. Disponível em: <<http://www.joinville.udesc.br/sbs/professores/arlindo/materiais/APOSTILANATOMIA1.pdf>>. Acesso em: 20 maio 2011.

CROWL, T; CROWL, D. **Cooperage: Making of a Wine Barrel**. Disponível em: <<http://www.crafty-owl.com/cooperage.htm>> Acesso em 11 abr. 2011.

DEL SOUZA, M. A.; CARCEL, L. M. C.; GRACIA, L. N. Analysis for low molecular weight phenolic compounds in a red wine aged in oak chips. **Anal. Chim. Acta**, v. 513, p. 229-237, 2004.

DIAS, S.; MAIA, A.; NELSON, D. Effect of different types of wood on the composition of aged sugar cane spirits. **Cienc. Tecnol. Aliment. (Campinas, Braz.)**, v. 18, n. 3, 1998.

FARIA, J. B. Cachaça the Brazilian sugar cane spirit. In: LEA, A. G. H.; PIGGOT, J. R. **Fermented Beverage Production**. 2. ed. New York: Kluwer Academic/ Plenum, v. 1, 2003. p. 423.

FARIA, J. B. et al. Evaluation of Brazilian woods as an alternative to oak for cachaças aging. **Eur. Food Res. Technol.**, v. 218, p. 83-87, 2003.

FINKEL, T.; HOLBROOK, N. J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. **NATURE**, v. 408, n. 9, p. 239-247, nov. 2000.

FOELKEL, C. **Métodos para determinação da densidade básica de cavacos para coníferas e folhosas**. Piracicaba: IPEF, 1971.

FORESTER, S. C.; WATERHOUSE, A. L. Metabolites are key to understanding health effects of wine polyphenolics. **J. Nutr. (Supplement: Grape and health)**, p. 1824S-1831S, 2009.

GIUCH, K.; CYTAWA, J.; MICHALAK, L. Electron impact ionization of acetaldehyde. **International Journal of Mass Spectrometry**, v. 273, p. 20–23, 2008.

GIMENEZ, M. D. G. Bálsamo de tolú. In: DÍAZ, L. B. **Farmacognosia**. Madrid: Elsevier, 2003, p. 53-54.

GOLDBERG, D. M. et al. Phenolic constituents, furans, and total antioxidant status of distilled spirits. **J. Agric. Food Chem.**, v. 47, p. 3978-3985, 1999.

GÓMEZ-PLAZA, E. et al. Color and Phenolic Compounds of Oak-Mature Wine as Affected by the Characteristics of Barrel In: WATERHOUSE, A.; KENNEDY, J. A. **Red Wine Color**, 2004, p. 22-34.

GRANADOS, J. Q. et al. The influence of added caramel on furanic aldehyde content of matured brandies. **Food Chem.**, v. 56, n. 4, p. 415-419, 1996.

HALLIWELL, B. Antioxidants in human health and disease. **Anna Rev. Nutr.** 1996. **16:33-50**, v. 16, p. 33-50, 1996.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free Radicals in Biology and Medicine**. 4th Edition, Oxford University Press, 2007.

HILLARD, E. A. et al. Electrochemical parameters and techniques in drug development, with an emphasis on quinones and related compounds. **Chem. Commun.**, p. 2612–2628, 2008.

HOLLER, J. F.; SKOOG, D. A.; CROUCH, S. R. **Princípios da análise instrumental**. Tradução de Celio Pasquim; Jarbas José Rodrigues Rohwedder Rohwedder, et al, 6. ed., Porto Alegre: Artmed, 2009.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **J. Agric. Food Chem.**, v. 53, p. 1841-1856, 2005.

ICH - INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONIZATION. **Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1)**. International Conference of Harmonization of Technical Requirements for Registration on of Pharmaceuticals for Human Use. [S.l.]: ICH. 1994. p. 13.

INSTITUTO BRASILEIRO DA CACHAÇA. Mercado externo. **Instituto Brasileiro da Cachaça**, 2010. Disponível em: <<http://www.ibraccachacas.org/>>. Acesso em: 10 Janeiro 2010.

INSTITUTO DE PESQUISAS TECNOLÓGICAS. Informações sobre madeiras. **IPT - Instituto de Pesquisas Tecnológicas**, 2011. Disponível em: <[http://www.ipt.br/consultas\\_online/informacoes\\_sobre\\_madeira/busca](http://www.ipt.br/consultas_online/informacoes_sobre_madeira/busca)>. Acesso em: 10 janeiro 2011.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC). **Monographs of the Evaluation of Carcinogenic Risks to humans**. [S.l.], p. 111. 1974.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC). Overall Evaluations of Carcinogenicity: An Updating of IARC Monographs Volumes 1 to 42. **IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans Supplement 7**, 1999.

IZQUIERDO, M. E. F. et al. Comparison of methods for determining coumarins in distilled beverages. **Food Chem.**, v. 70, p. 251-258, 2000.

JOINT FAO/WHO EXPERT COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES. MEETING (69TH: 2008, ROME, ITALY). **Evaluation of certain food additives**. World Health Organization. Rome. 2008.

JONES, D. A. Why are so many food plants cyanogenic? **Phytochemistry**, v. 47, n. 2, p. 155-162, 1998.

KHANBABAEE, K.; REE, T. V. Tannins: Classification and Definition. **Nat. Prod. Rep.**, 18, Jun 2001. 641–649.

KLOCK, U. et al. **QUÍMICA DA MADEIRA**. Universidade Federal do Paraná. Curitiba, p. 81. 2005.

KUTSCHA, N. P.; EMERY, L. **Foreign woods utilized in Maine -1969**. University of Maine at Orono. Maine, p. 65. 1970.

LABANCA, R. A.; GLÓRIA, M. B. A.; AFONSO, R. J. D. C. F. Determination of ethyl carbamate in sugar cane spirits by GC-MS. **Quim. Nova**, v. 31, n. 7, p. 1860-1864, 2008.

LACHENMEIER, D. W.; KANTERES, F.; REHM, J. Carcinogenicity of acetaldehyde in alcoholic beverages: risk assessment outside ethanol metabolism. **Addiction**, v. 104, n. 4, p. 533–550, 2009.

LAGUERRE, M.; LECOMTE, J.; VILLENEUVE, P. Review: Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. **Progress in Lipid Research**, v. 46, p. 244–282, 2007.

LAUGHTON, M. J. et al. Antioxidant and pro-oxidant actions of the plant phenolics quercetin, gossypol and myricetin: Effects on lipid peroxidation, hydroxyl radical generation and bleomycin-dependent damage to DNA. **Biochemical Pharmacology**, v. 38, n. 17, p. 2859-2865, 1989.

LEÃO, M. M. **Influence of termotreatment in the chemical composition os the wood of amburana (*Amburana cearensis*), básalmo (*Myroxylon balsamum*) and oak (*Quercus sp.*) and their impact in the aroma of a cachaça's solution model**. Piracicaba: Tese (Doutorado), 2006. 85 p.

LEAL, L. K. A. M. et al. Antinociceptive, anti-inflammatory and bronchodilator activities of Brazilian medicinal plants containing coumarin: a comparative study. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 70, n. 2, p. 151-159, 2000.

LEE, K.-Y. M. et al. Origins of flavour in whiskies and a revised flavour wheel: a Review. **Journal of The Institute of Brewing**, v. 107, n. 5, p. 287-313, 2001.

LI, Y. et al. Scopoletin induces apoptosis of fibroblast-like synoviocytes from adjuvant arthritis rats by mitochondrial-dependent pathway. **Drug. Dev. Res.**, v. 70, p. 378-385, 2009.

LIU, S.-Q.; PILONE, G. J. An overview of formation and roles of acetaldehyde in winemaking with emphasis on microbiological implications. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 35, p. 49-61, 2000.

HAZELWOOD, L. A. et al. The Ehrlich Pathway for Fusel Alcohol: Production: a Century of Research on *Saccharomyces cerevisiae* Metabolism. **APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY**, v. 74, n. 8, p. 2259-2266, apr. 2008.

LUGASI, A.; HÓVARI, J. Antioxidant properties of commercial alcoholic and nonalcoholic beverages. **Nahrung/Food**, v. 47, n. 2, p. 79-86, 2003.

MADRERA, R. R.; GOMIS, D. B.; ALONSO, J. J. M. Influence of distillation system, oak wood type, and aging time composition of cider brandy in phenolic and furanic compounds. **J. Agric. Food. Chem.**, v. 51, p. 7969-7973, 2003.

MAMADE, M. E. D. O.; PASTORE, G. M. Compostos fenólicos do vinho: estrutura e ação antioxidante. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, 22, n. 2, jul/dez. 2004. 233-252.

MANGAS, J. et al. Evolution of aromatic and furanic congeners in the maturation of cider brandy: A contribution to its characterization. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v. 44, p. 3303-3307, 1996.

MAPA. **Contribuições das Câmaras Setoriais e Temáticas à Formulação de Políticas Públicas e Privadas para o Agronegócio**. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Brasília, p. 496. 2006.

MARINHO, A. V.; RODRIGUES, J. P. de M.; SIQUEIRA, M. I. D. de Avaliação da Acidez Volátil, Teor alcoólico e de Cobre em Cachaças Artesanais. **Estudos**, Goiânia, v. 36, p. 75-93, jan./fev., 2009.

MASSON, J. et al. Physicochemical and chromatographic parameters in sugar cane brandies from burnt and non-burnt cane. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, p. 1805-1810, 2007.

MILLER, D. P. et al. The content of phenolic acid and aldehyde flavour components of white oak as affected by site and species. **Am. J. Enol. Vitic.**, v. 43, n. 4, p. 333-338, 1992.

MILLER, J. N.; MILLER, J. C. **Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry**. Harlow: Pearson Education Limited, 2005. 268 p.

MIYAKE, T.; SHIBAMOTO, T. Quantitative Analysis of Acetaldehyde in Foods and Beverages. **J. Agric. Food Chem.**, v. 41, p. 1968-1970, 1993.

MORESCHI, J. C. PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS DA MADEIRA. **Departamento de Engenharia e Tecnologia Florestal da UFPR**, 2009. Disponível em: <<http://www.joinville.udesc.br/sbs/professores/arlindo/materiais/Tecnologiadamadaira.pdf>>. Acesso em: 2010 maio 2011.

MORI, F. A. et al. Use of wood of Eucalyptus sp and native in the storage of the sugar cane spirit. **Ciênc. Tecn. Aliment.**, v. 23, n. 3, p. 396-400, 2003.

MOSEDALE, J. R.; PUECH, J.-L. Wood maturation of distilled beverages. **Trends Food Sci. Technol.**, v. 9, p. 95-101, 1998.

MUÑOZ-MUÑOZ, A. C.; GRENIER, A. C.; GUTIÉRREZ-PULIDO, H. Development and validation of high performance liquid chromatography-diode array detection method for the determination of aging markers in tequila. **Journal of Chromatography A**, v. 1213, p. 218-223, 2008.

NASCIMENTO, E. S. P.; CARDOSO, D. R.; FRANCO, D. W. Quantitative Ester Analysis in Cachaça and Distilled Spirits by Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS). **J. Agric. Food Chem.**, v. 56, p. 5488-5493, 2008.

NASCIMENTO, R. F. et al. Determination of Acids in Brazilian Sugar Cane Spirits and Other Alcoholic Beverages by HRGC-SPE. **Chromatographia**, v. 48, p. 751-757, 1998.

NASCIMENTO, R. F. et al. Quantitative HPLC Analysis of Acids in Brazilian Cachaça and Various Spirits Using Fluorescence Detection of Their 9-Anthrylmethyl Esters. **J. Agric. Food Chem.**, v. 48, n. 12, p. 6070-6073, 2000.

NASCIMENTO, R. F. et al. Qualitative and quantitative high-performance liquid chromatographic analysis of aldehydes in Brazilian sugar cane spirits and other distilled alcoholic beverages. **Journal of Chromatography A**, v. 782, p. 13-23, 1997.

NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY (NIST). NIST Livro de Química na Web. **NIST Home**, 2008. Disponível em: <<http://webbook.nist.gov/>>. Acesso em: 20 março 2011.

NG, L.-K.; LAFONTAINE, P.; HARNOIS, J. Gas chromatography-mass spectrometric analysis of acid and phenols in distilled alcohol beverages. **Journal of Chromatography A**, v. 873, p. 29-38, 2000.

NÓBREGA, I. C. C. et al. Ethyl carbamate in pot still cachaças (Brazilian sugar cane spirits): Influence of distillation and storage conditions. **Food Chemistry**, v. 117, n. 4, p. 693-697, 2009.

NYKÄNEN, L.; SUOMALAINEN, H. **Aroma of beer, wine and distilled alcoholic beverages**. 1st Edition. ed. Berlin: Akademie Verlag; D. Reidel Publishing Co., 1983.

ODELLO, L. et al. Avaliação sensorial de cachaça. **Química Nova**, 32, n. 7, Agosto 2009. 1839-1844.

OLIVEIRA, A. B. D. et al. Isoflavonoids from *Myroxylon balsamum*. **Phytochemistry**, v. 17, n. 3, p. 593-595, 1978.

OLIVEIRA, A. C. D.; VALENTIM, I. B.; GOULART, M. O. F. Vegetals as natural sources of antioxidants. **Quím. Nova**, v. 32, n. 3, p. 689-702, 2009.

OLIVEIRA, J. T. D. S.; SILVA, J. D. C. Variação radial da retratibilidade e densidade básica da madeira de *Eucalyptus saligna*. **Rev. Árvore**, Viçosa, v. 27, n. 3, p. 381-385, maio/jun. 2003.

OLIVEIRA, M. A. **Extração de polifenóis da semente de cacau (*Theobroma Cacao*)**. Universidade Federal de Santa Cararina. Florianópolis, p. 72. 2005.

PARAZZI, C. et al. Avaliação e caracterização dos principais compostos químicos da aguardente de cana-de-açúcar envelhecida em tonéis de carvalho (*Quercus sp.*) **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 28, n. 1, p. 193-199, 2008.

POLASTRO, L. R. et al. Nitrogen compounds in distilled beverages: sugar cane and cassava spirits. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 21, n. 1, 2001.

PRIOR, R. L.; WU, X.; SCHAICH, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. **J. Agric. Food Chem.**, v. 53, p. 4290-4302, 2005.

PULIDO, R.; BRAVO, L.; SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/ antioxidant power assay. **J. Agric. Food Chem.**, v. 48, p. 3396- 3402, 2000.

REAZIN, G. H. Chemical Mechanisms of Whiskey Maturation. **Am. J. Enol. Vitic.**, v. 32, n. 4, p. 283-289, 1981.

RENAUD, S.; LORGERIL, M. D. Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. **The Lancet**, v. 339, n. 8808, p. 1523-1526, 1992.

RIFFKIN, H. L. et al. Ethyl carbamate formation in the production of pot still whisky. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 95, p. 115-119, 1989.

RIVERO-PÉREZ, M. D. et al. Antioxidant potential of single-variety red wines aged in the barrel and in the bottle. **Food Chemistry**, v. 111, p. 957-964, 2008.

ROHSENOW, D.; HOWLAND, J. The role of beverage congeners in hangover and other residual effects of alcohol intoxication: a review. **Curr Drug Abuse Rev.**, v. 3, n. 2, p. 76-9, Jun 2010.

RUFINO, M. D. S. M. et al. **Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP)**. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Fortaleza. 2006.

SACCO, R. L. et al. The Protective Effect of Moderate Alcohol Consumption on Ischemic Stroke. **J. American Medical Association**, v. 281, n. 1, p. 53-60, 1999.

SALIBA, E. O. S. et al. Ligninas: métodos de obtenção e caracterização química. **Cienc. Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 5, Oct. 2001.

SANZ, M. et al. Phenolic compounds in Cherry (*Prunus avium*) heartwood with a view to their use in cooperage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 4907-4914, 2010.

SAYAVONGSA, P. et al. Vanillic acid excretion can be used to assess compliance with dietary supplements. **e-SPEN, the European e-Journal of Clinical Nutrition and Metabolism**, v. 2, n. 6, p. 134-137, 2007.

SCHERER, R.; GODOY, H. T. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. **Food Chem.**, v. 112, p. 654-658, 2009.

SCHLATTER, J.; ZIMMERLI, B. Analytical Methodology Occurrence, Formation, Biological-Activity and Risk Assessment. **Mutat. Res.**, v. 259, p. 325-350, 1991.

SEERAM, N. P. et al. Comparison of Antioxidant Potency of Commonly Consumed Polyphenol-Rich Beverages in the United States. **J. Agric. Food Chem.**, v. 56, p. 1415-1422, 2008.

SHEPHERD, S. A. **Cooperage**. Disponível em: <<http://www.fullchisel.com/alburnam7.htm#Cooperage>> Acesso em 11 abr. 2011.

SILVA, A. A. D. **Dissertação de mestrado**. Universidade Federal de São Carlos. São Carlos, Brasil. 2006.

SILVA, A. A. D. et al. Coumarins and phenolic fingerprints of oak and Brazilian wood extracted by sugarcane spirit. **J. Sep. Sci.**, v. 32, p. 3681-3691, 2009.

SIMONETTI, P.; PIETTA, P.; TESTOLIN, G. Polyphenol Content and Total Antioxidant Potential of Selected Italian Wines. **J. Agric. Food Chem.**, v. 45, n. 4, p. 1152-1155, 1997.

SINGLETON, V. L. **Some aspects of the wooden container as a factor in wine maturation. In Chemistry of Wine Making**. ACS Symposium Series 137. Washington, DC: Webb, A. D. Ed. 1974. p. 254-277.

SINGLETON, V. L. Maturation of wines and spirits: comparisons, facts, and hypotheses. **Am. J. Enol. Vitic.**, v. 46, n. 1, p. 98-115, 1995.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **Am. J. Enol. Vitic.**, v. 16, p. 144-158, 1965.

SJÖSTRÖM, E. **Wood Chemistry: Fundamentals and Applications**. Second. ed. London: Academic Press Limited, 1993.

SOUZA, P. P. D. et al. Electrospray Ionization Mass Spectrometry Fingerprint of Brazilian Artisan Cachaça Aged in Different Wood Casks. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 55, p. 2094-2102, 2007.

SPROLL, C. et al. HPLC analysis and safety assessment of coumarin in foods. **Food Chem.**, v. 109, p. 462-469, 2008.

STEWART, G. G. **Distilled spirits: Esters-the most important group of flavour-active compounds in alcoholic beverages**. Proceedings of the worldwide distilled spirits Conference. [S.I.]: The Institute of Brewing & Distilling Scottish Section. 2008. p. 243-250.

SWIFT, R.; DAVIDSON, D. Alcohol Hangover: Mechanism and mediators. **Alcohol health & Research world**, v. 22, n. 1, p. 54-60, 1998.

THE BRITISH STANDARDS INSTITUTION. **Round and sawn timber. Nomenclature of timbers used in Europe**. London: CEN., p. 108. 2003.

THEMETER.NET. Unit of measure conversions equivalences. **Themeter.net**, 1999. Disponível em: <[http://www.themeter.net/champagne\\_e.htm](http://www.themeter.net/champagne_e.htm)>. Acesso em: 31 jan. 2011.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **Plats profile: Quercus alba L. white oak**. Natural Resource Conservation Service. [S.I.]. 2011.

VALKO, M. et al. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. **Chem.-Biol. Interact.**, v. 160, p. 1-40, 2006.

VASCONCELOS, S. M. L. et al. Espécies Reativas de Oxigênio e de Nitrogênio, Antioxidantes e Marcadores de Dano Oxidativo em Sangue Humano: Principais Métodos Analíticos para sua Determinação. **Quim. Nova**, v. 30, n. 5, p. 1323-1338, 2007.

VERMERRIS, W.; NICHOLSON, R. **Phenolic Compounds Biochemistry**. Dordrecht: Springer, 2008.

VILELA, F. J. et al. Determination of the physical-chemical composition of homemade cachaças produced in the south of Minas Gerais and their mixtures. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 4, p. 1089-1094, 2007.



VILLANO, D. Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. **Talanta**, n. 71, p. 230-235, 2007.

VIRIOT, C. et al. Ellagitannins and Lignins in Aging of Spirits in Oak Barrels. **J. Agric. Food Chem.**, v. 41, p. 1872-1879, 1993.

VIVAS, N. The notation of grain in cooperage. **J. Sci. Tech. tonnellerie**, v. 1, p. 33-48, 1995.

WATERHOUSE, A. L.; TOWEY, J. P. Oak Lactone Isomer Ratio Distinguishes between Wine Fermented in American and French Oak Barrels. **J. Agric. Food Chem.**, v. 42, n. 9, p. 1971-1974, 1994.

WEBER, J. V.; SHARYPOV, V. I. Ethyl carbamate in foods and beverages: a review. **Environ. Chem. Lett.**, v. 7, p. 233-247, 2009.

WHETTEN, R. W.; MACKEY, J. J.; SEDEROFF, R. R. Recent Advances in Understanding Lignin Biosynthesis. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, 49, 1998. 585-609.

WHO. **2-butanol: Health and Safety Guide n 4**. World Health Organization. Geneva. 1987.

WHO. **Methanol: Health and Safety Guide n 105**. World Health Organization. Geneva. 1997.

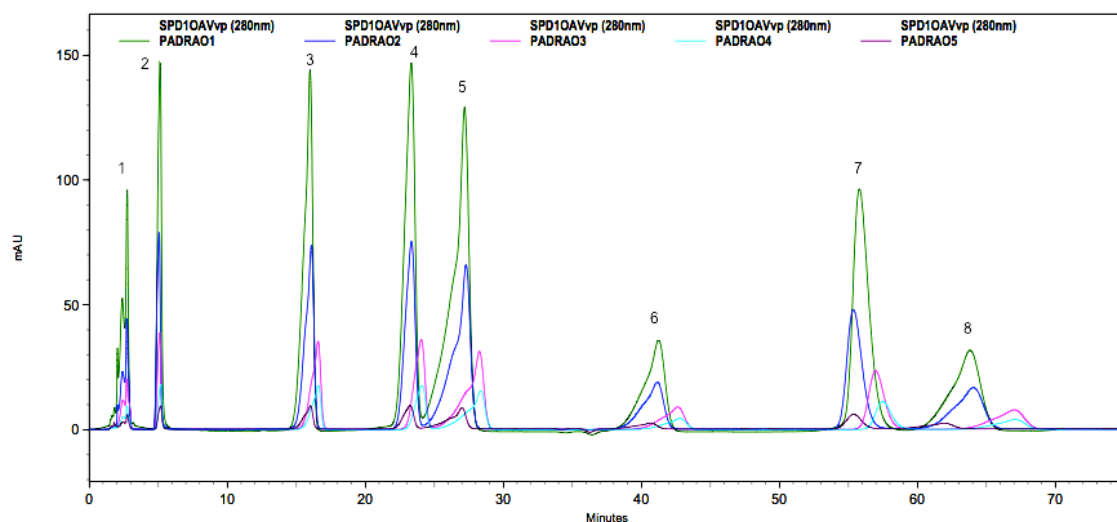
WILSON, T. C.; HAGERMAN, A. E. Quantitative Determination of Ellagic Acid. **J. Agric. Food Chem.**, v. 38, p. 1678-1683, 1990.

WRIGHT, J. S.; JOHNSON, E. R.; DILABIO, G. A. Predicting the activity of phenolic antioxidants: Theoretical method, analysis of substituent effect, and application to major families of antioxidants. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 123, p. 73-1183, 2001.

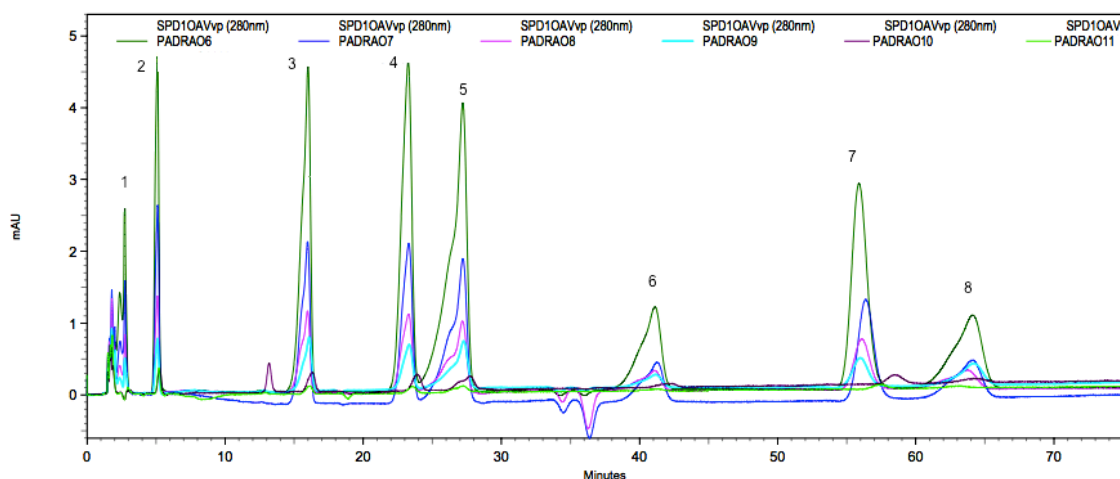
ZENID, G. J. **Madeira uso sustentável**. São Paulo: Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo, 2009.

## APÊNDICES

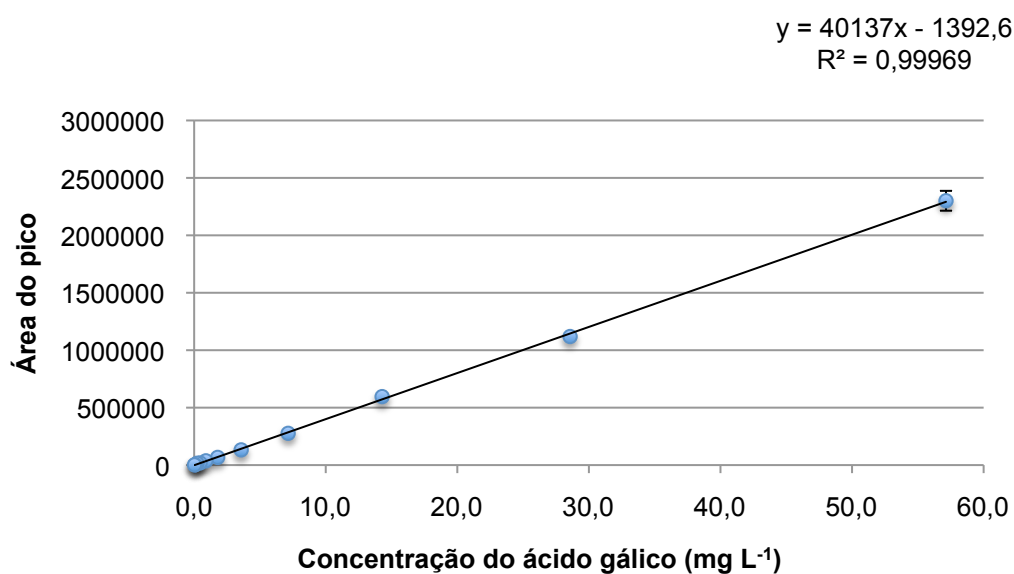
Apêndice 1 – Cromatogramas das soluções padrão 1 a 5, contendo os seguintes picos: (1) ácido gálico; (2) furfuraldeído; (3) ácido vanílico, (4) vanilina; (5) ácido siríntrico; (6) siringaldeído (7) cumarina; (8) escopoletina.



Apêndice 2 – Cromatogramas das soluções padrão 6 a 11, contendo os seguintes picos: (1) ácido gálico; (2) furfuraldeído; (3) ácido vanílico, (4) vanilina; (5) ácido siríntrico; (6) siringaldeído (7) cumarina; (8) escopoletina.

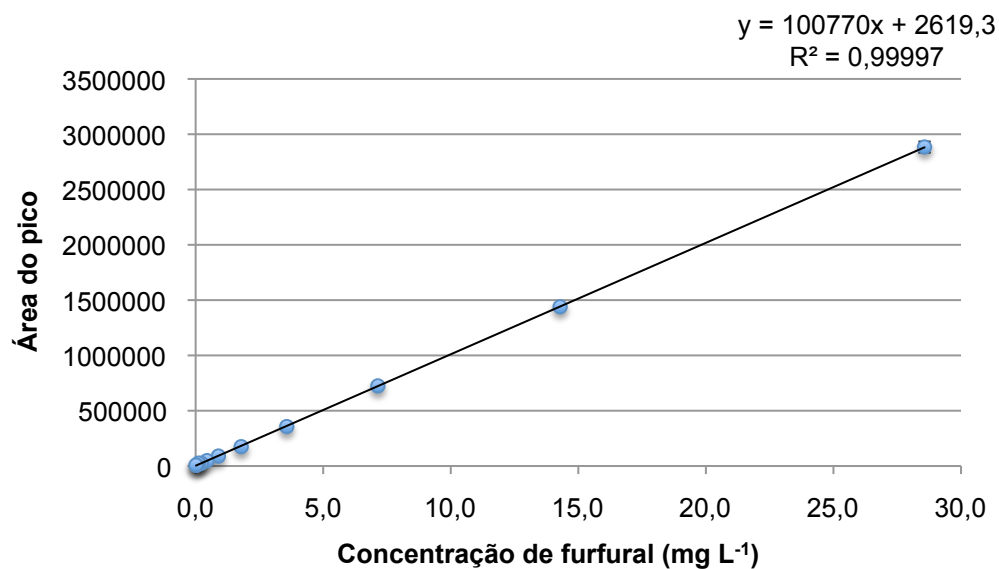


## Apêndice 3 – Curva analítica do ácido gálico.



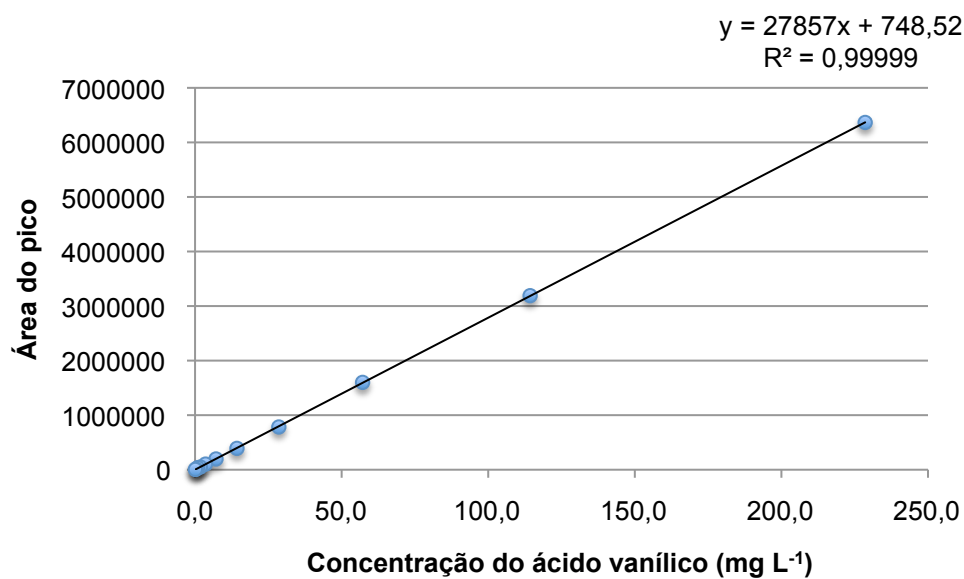
Barras verticais: desvio padrão (n=3 triplicata).

## Apêndice 4 – Curva analítica do furfuraldeído.



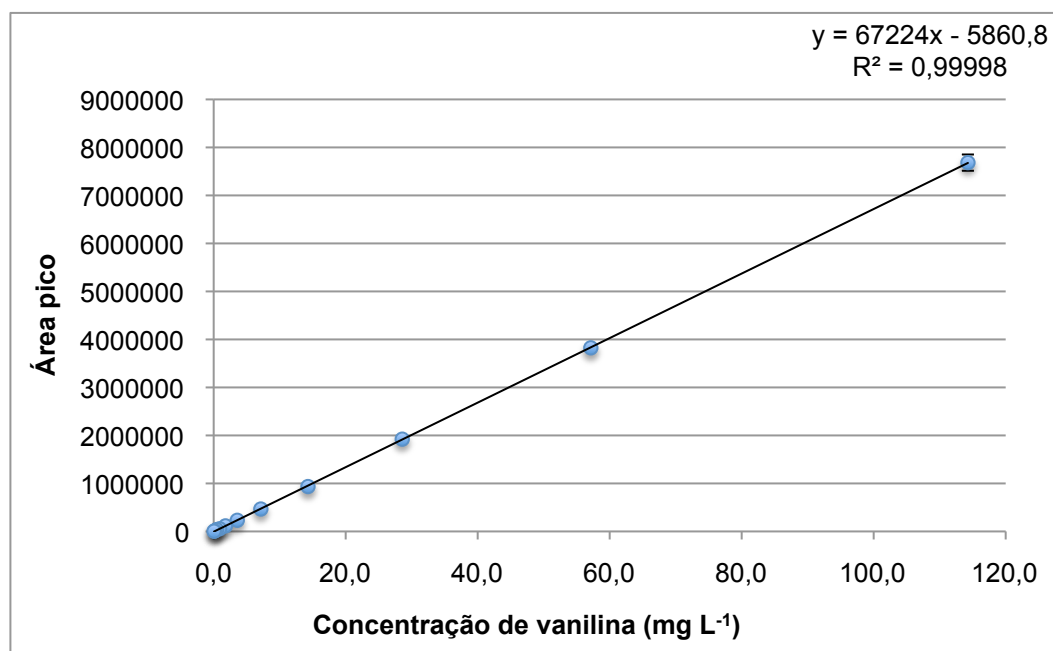
Barras verticais: desvio padrão (n=3 triplicata).

## Apêndice 5 – Curva analítica do ácido vanílico.



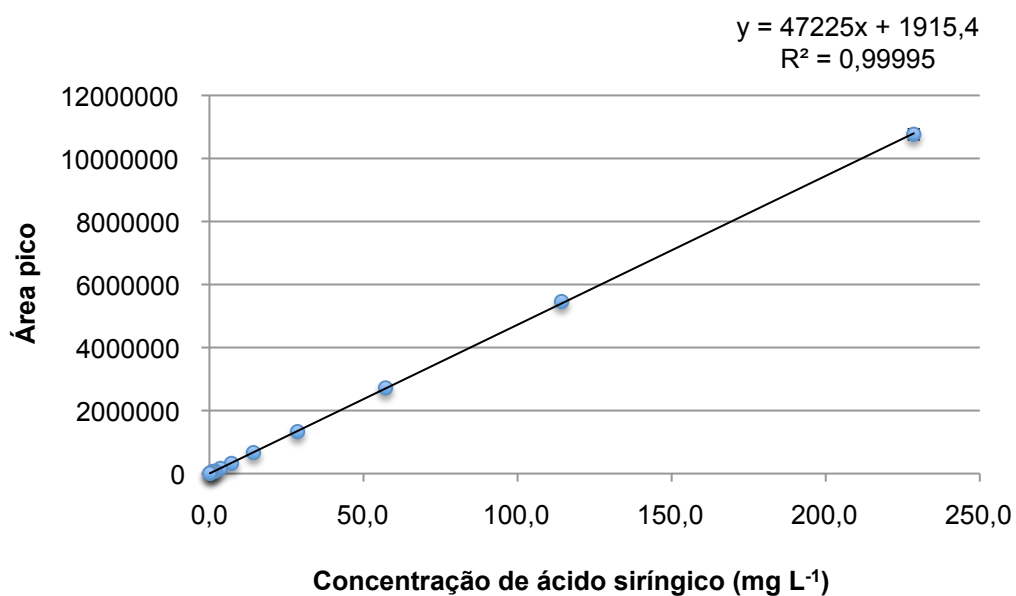
Barras verticais: desvio padrão (n=3 triplicata).

## Apêndice 6 – Curva analítica da vanilina.



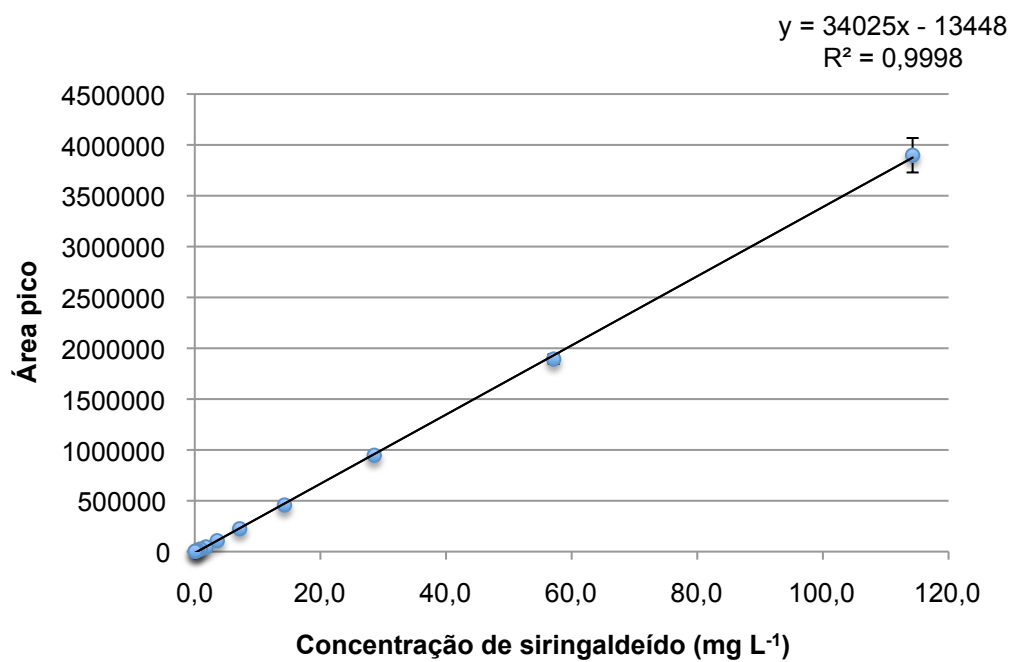
Barras verticais: desvio padrão (n=3 triplicata).

## Apêndice 7 – Curva analítica do ácido siríngico.



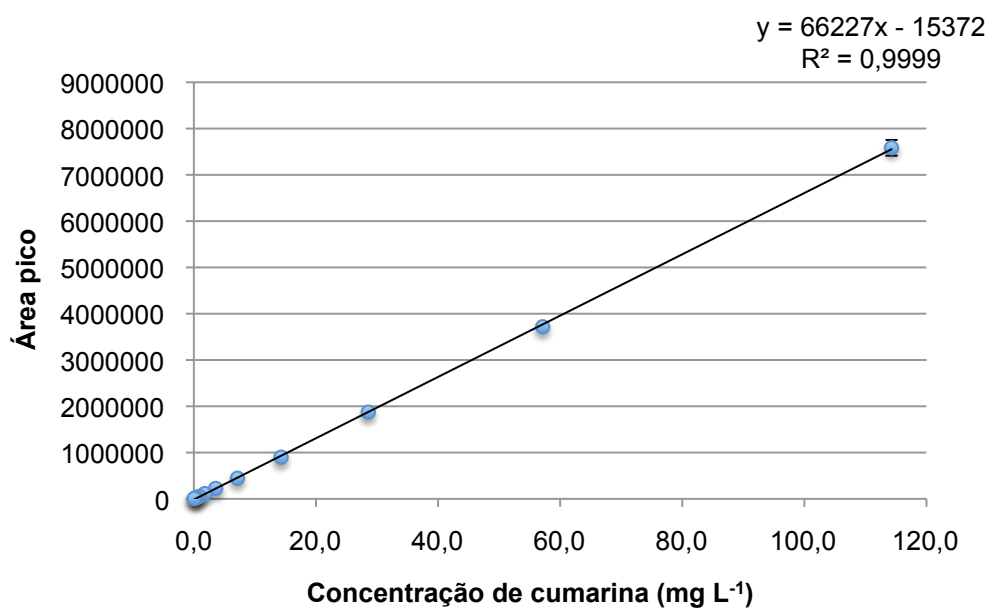
Barras verticais: desvio padrão (n=3 triplicata).

## Apêndice 8 – Curva analítica do siringaldeído.



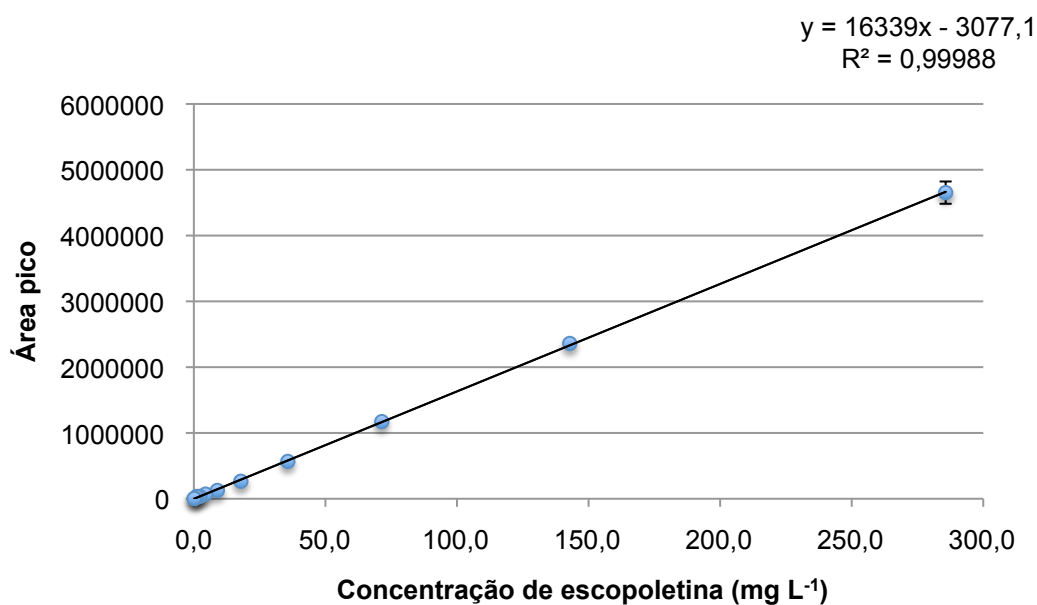
Barras verticais: desvio padrão (n=3 triplicata).

## Apêndice 9 – Curva analítica da cumarina.



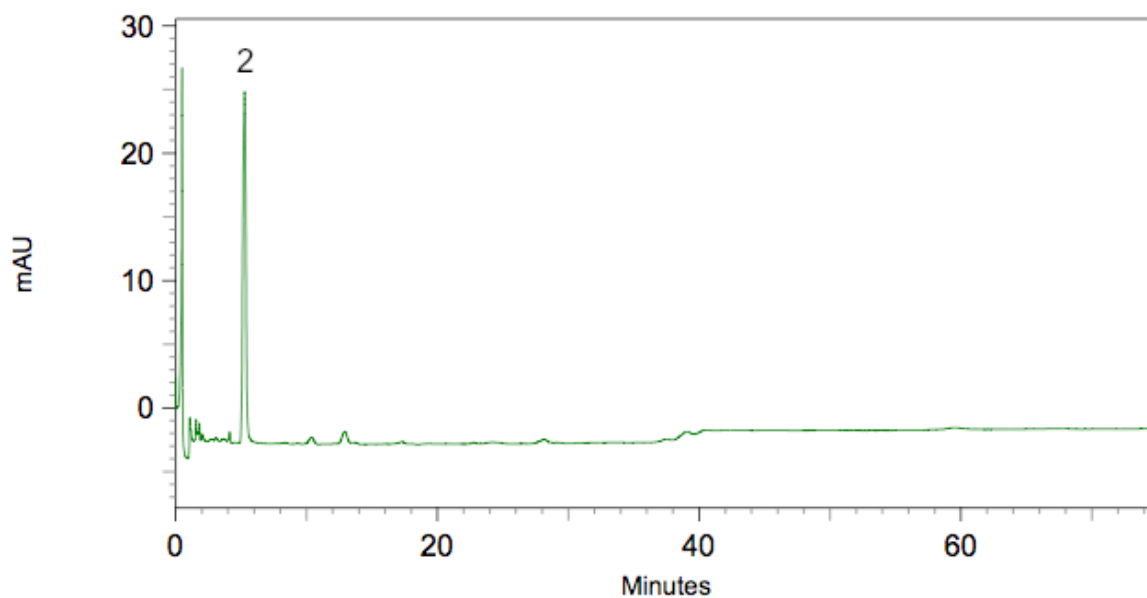
Barras verticais: desvio padrão (n=3 triplicata).

## Apêndice 10 – Curva analítica da escopoletina.

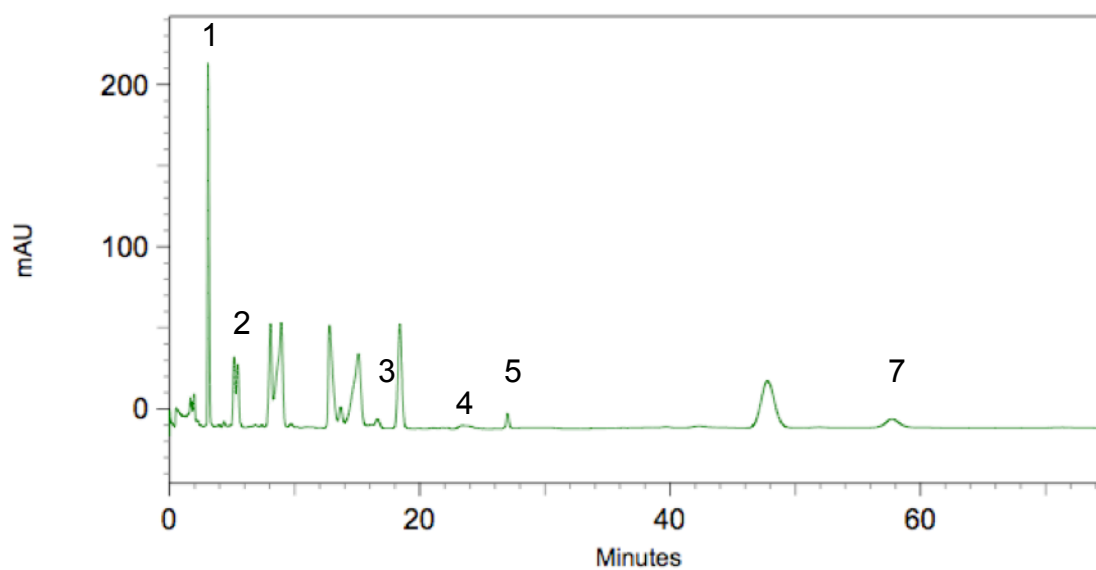


Barras verticais: desvio padrão (n=3 triplicata).

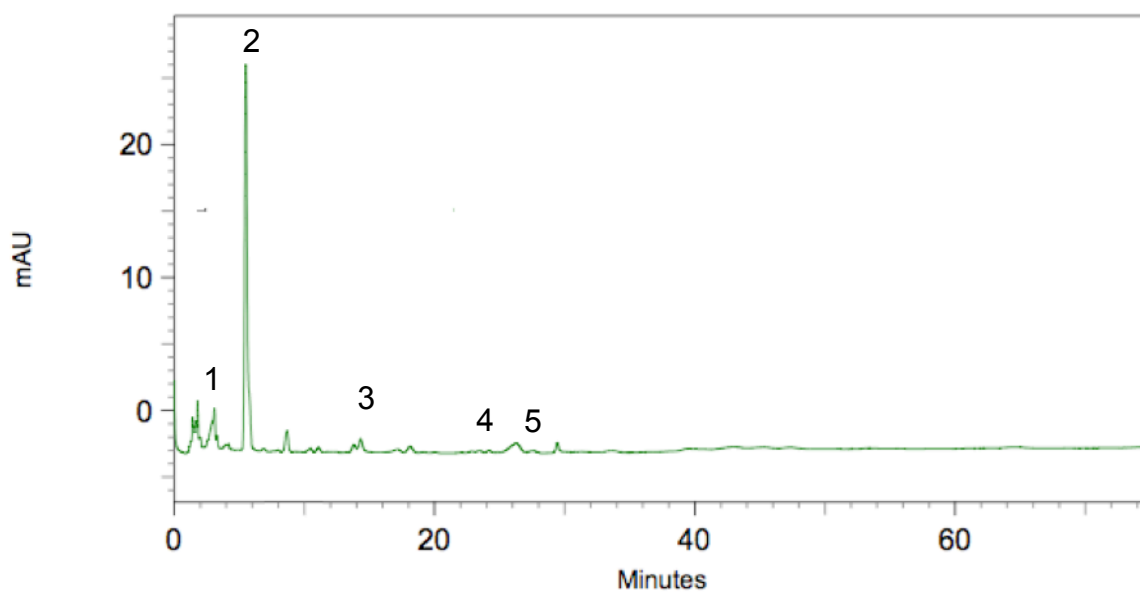
Apêndice 11 – Cromatograma da cachaça não envelhecida, conteúdo: (2) 2-furfuraldeído.



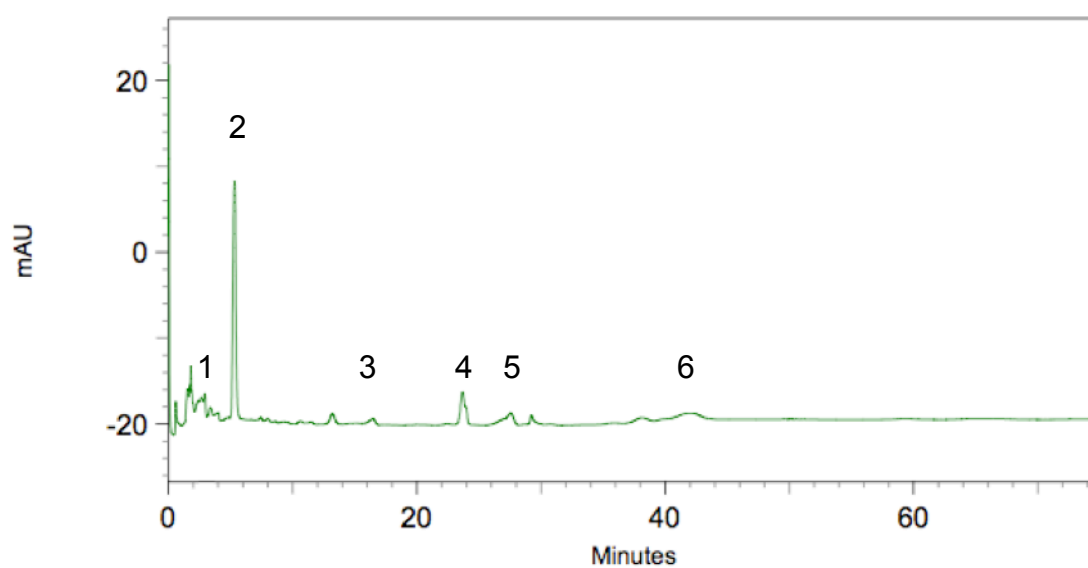
Apêndice 12 – Cromatograma da cachaça envelhecida por 18 meses em barril de balsamo, conteúdo (1) ácido gálico; (2) furfural; (3) ácido vanílico; (4) vanilina; (5) ácido siríngico; (7) cumarina.



Apêndice 13 – Cromatograma da cachaça envelhecida por 18 meses em barril de jaboty, contendo (1) ácido gálico; (2) furfural; (3) ácido vanílico; (4) vanilina; (5) ácido siríngico.

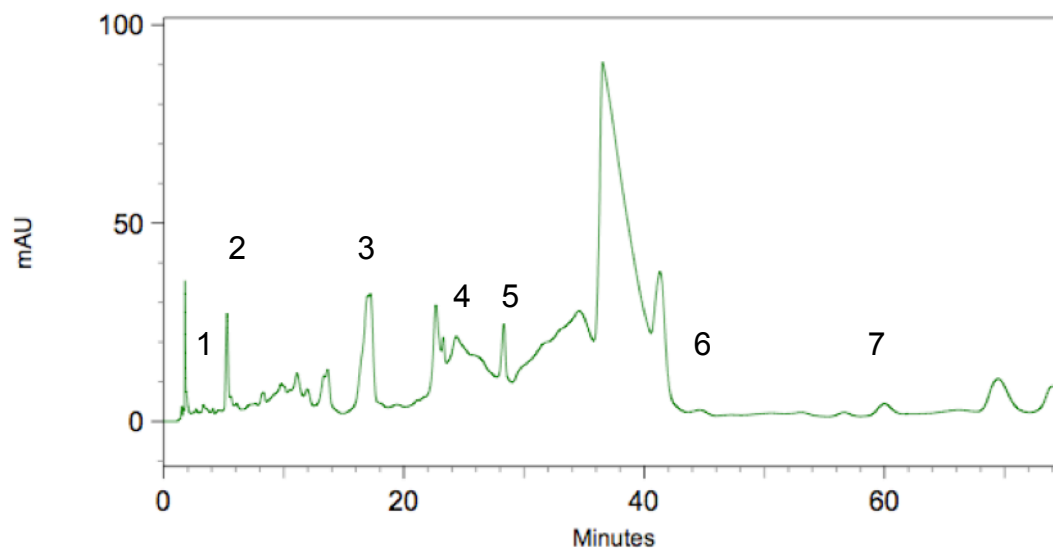


Apêndice 14 – Cromatograma da cachaça envelhecida por 18 meses em barril de carvalho branco, contendo (1) ácido gálico; (2) furfural; (3) ácido vanílico; (4) vanilina; (5) ácido siríngico; (6) siringaldeído.

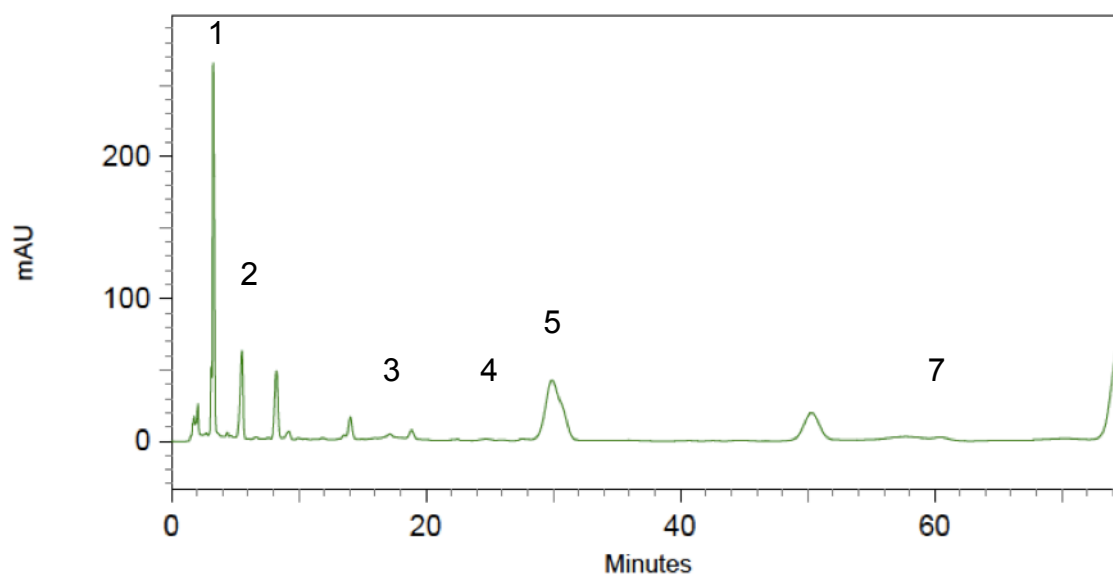




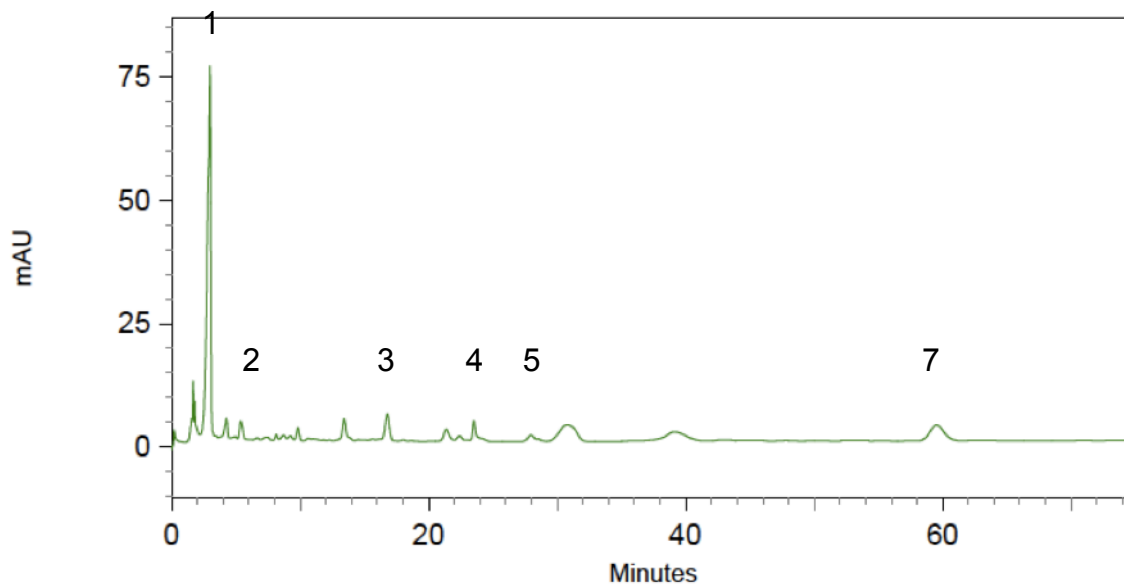
Apêndice 15 – Cromatograma da cachaça envelhecida por 18 meses em barril de peroba, contendo (1) ácido gálico; (2) furfural; (3) ácido vanílico; (4) vanilina; (5) ácido siríngico; (6) siringaldeído; (7) cumarina.



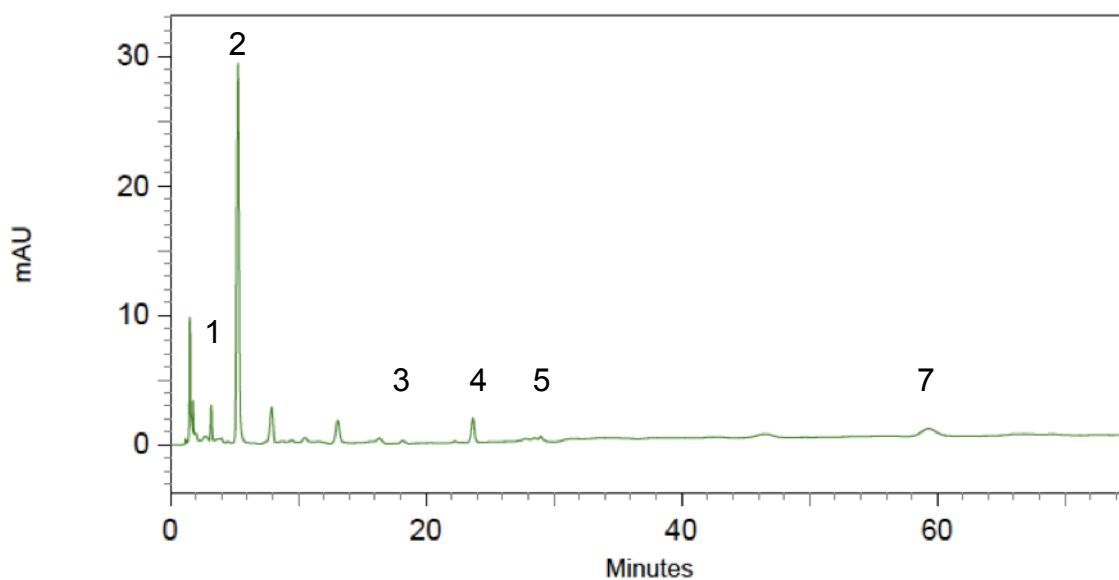
Apêndice 16 – Cromatograma da cachaça envelhecida por 18 meses em barril de courbaril, contendo (1) ácido gálico; (2) furfural; (3) ácido vanílico; (4) vanilina; (5) ácido siríngico; (7) cumarina.



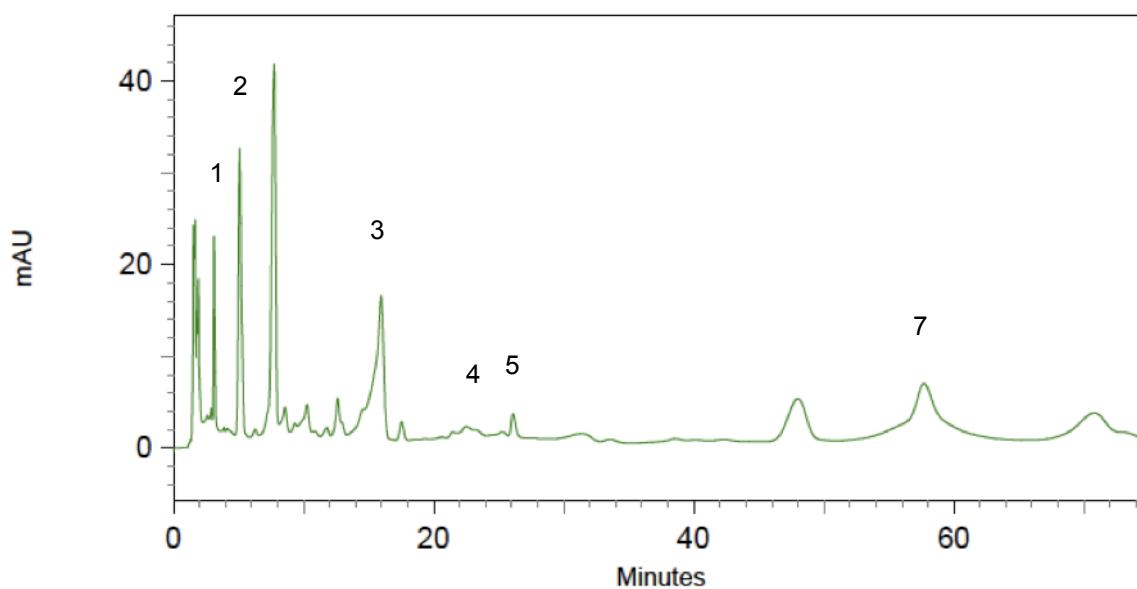
Apêndice 17 – Cromatograma da cachaça envelhecida por 18 meses em barril de jequitiba, contendo (1) ácido gálico; (2) furfural; (3) ácido vanílico; (4) vanilina; (5) ácido siríngico; (7) cumarina.



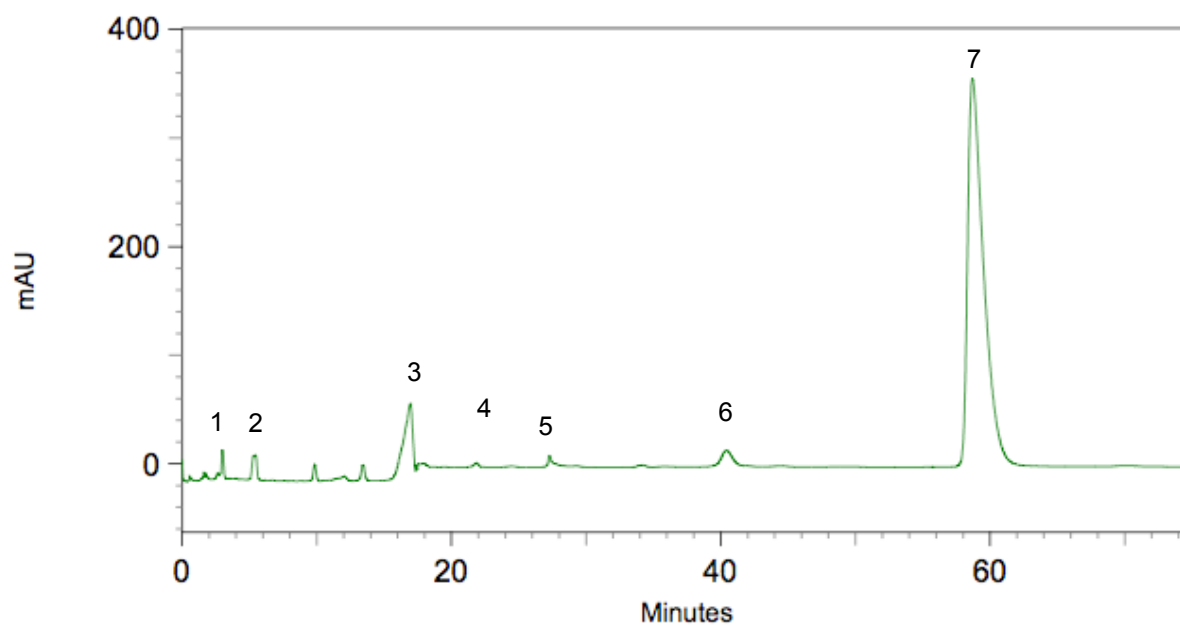
Apêndice 18 – Cromatograma da cachaça envelhecida por 18 meses em barril de itauba, contendo (1) ácido gálico; (2) furfural; (3) ácido vanílico; (4) vanilina; (5) ácido siríngico; (7) cumarina.



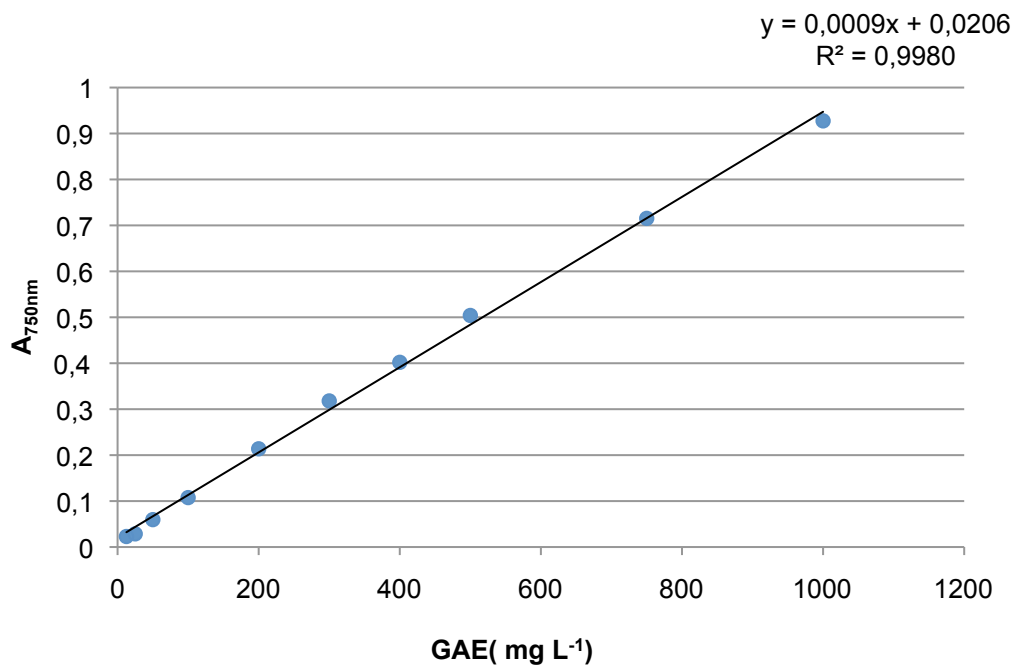
Apêndice 19 – Cromatograma da cachaça envelhecida por 18 meses em barril de timborana, contendo (1) ácido gálico; (2) furfural; (3) ácido vanílico; (4) vanilina; (5) ácido siríngico; (7) cumarina.



Apêndice 20 – Cromatograma da cachaça envelhecida por 18 meses em barril de cerejeira, contendo (1) ácido gálico; (2) furfural; (3) ácido vanílico; (4) vanilina; (5) ácido siríngico; (7) cumarina.

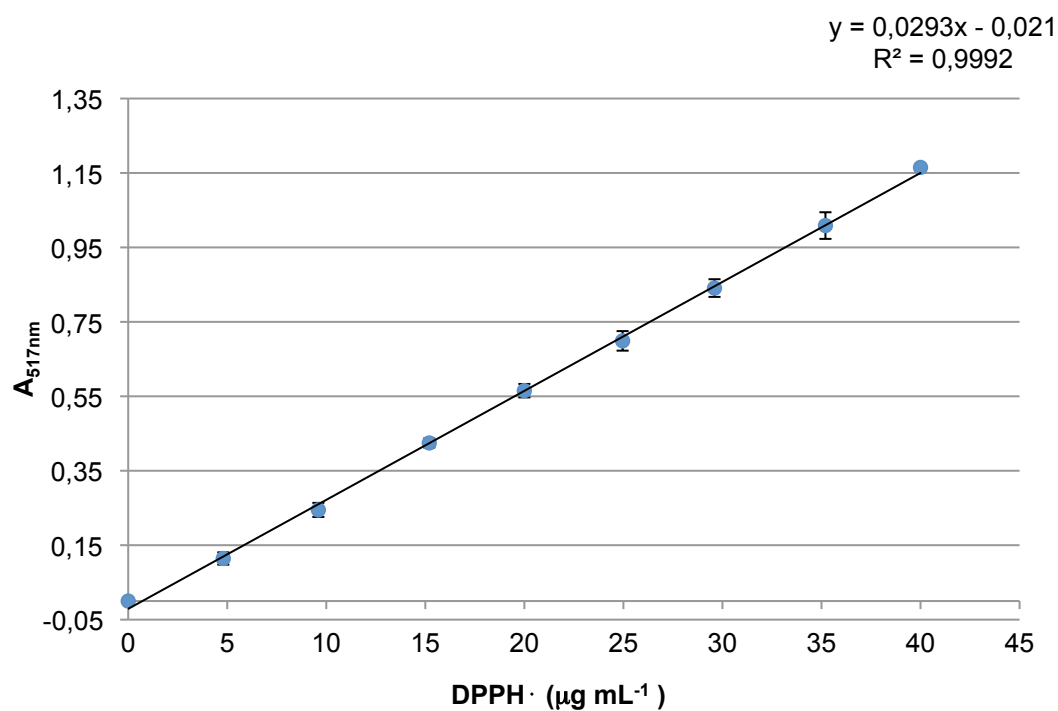


Apêndice 21 – Curva analítica do padrão ácido gálico (0 a 1000 mg L<sup>-1</sup>) analisado pelo método de Foulín-Ciocalteu.



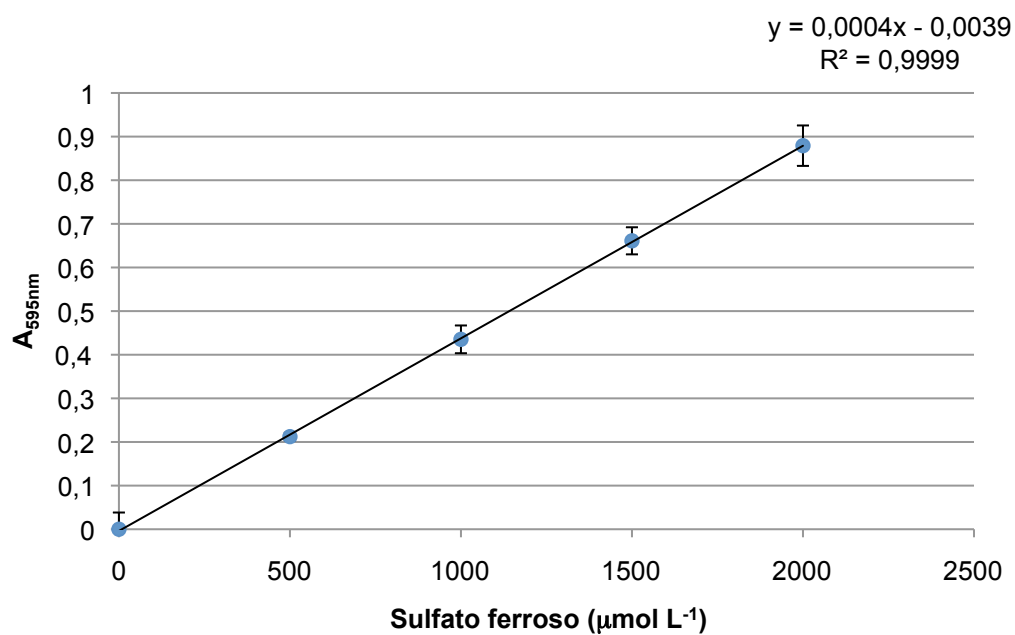
Barras verticais: desvio padrão (n=3 triplicata).

Apêndice 22 – Curva analítica do padrão DPPH· (0 a 40 µg mL<sup>-1</sup>) analisado pelo método do DPPH·.



Barras verticais: desvio padrão (n=3 triplicata).

Apêndice 23 – Curva analítica do padrão sulfato ferroso (0 a 2000  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) analisado pelo método do FRAP.



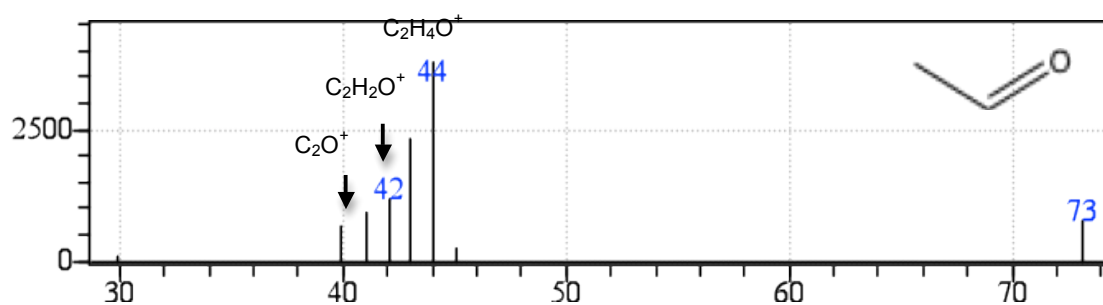
Barras verticais: desvio padrão (n=3 triplicata).

## Apêndice 24 – Espectros de massa do aldeído acético no modo scan.

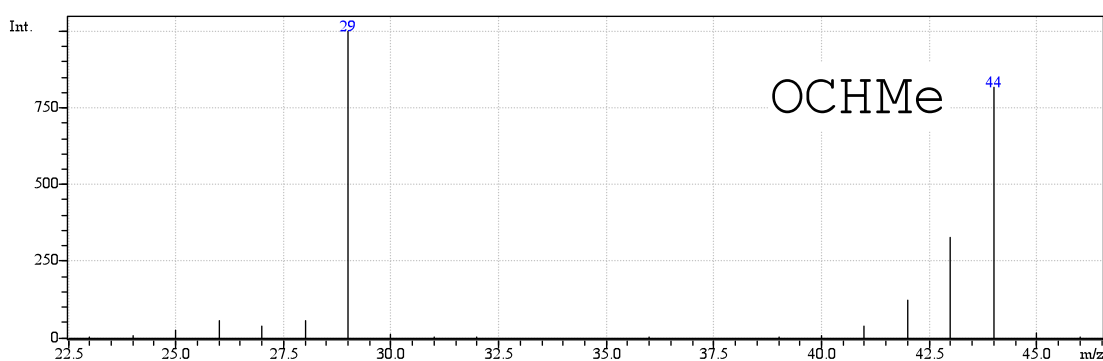
Aldeído acético – OCHMe

CAS#75-07- MM 44

Espectro de massas do aldeído acético das amostras cachaças



Espectro de massas do aldeído acético da espectroteca Wiley (7a ed.).



[Dados do espectro de massas das amostras de cachaça]

n. do pico 1

TR 5.092 -> 5.158 (scan : 491 -> 499)

Background 5.192 -> 5.475 (scan : 503 -> 537)

Pico base m/z 44.05 (Inten : 7,296)

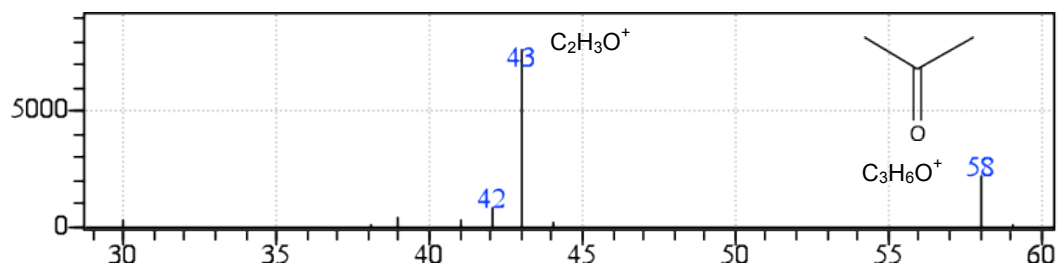
| m/z   | Instensidade absoluta | Instensidade relativa |
|-------|-----------------------|-----------------------|
| 44.05 | 7296                  | 100.00                |
| 43.05 | 4118                  | 56.44                 |
| 42.05 | 1685                  | 23.09                 |
| 41.05 | 1184                  | 16.23                 |
| 39.95 | 531                   | 7.28                  |
| 30.10 | 382                   | 5.24                  |
| 45.05 | 259                   | 3.55                  |
| 73.10 | 174                   | 2.38                  |

## Apêndice 25 – Espectros de massa da acetona no modo scan.

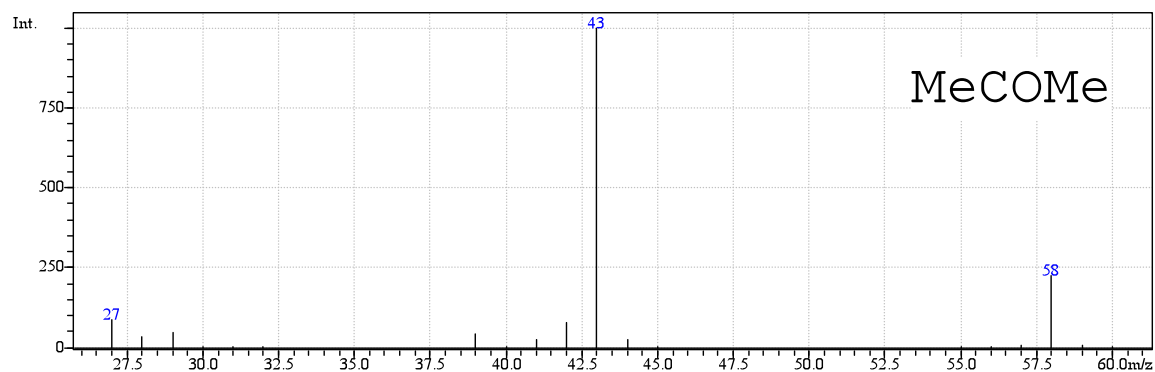
Acetona (Propanona) – MeCOMe

CAS#67-64-1 MM 58

Espectro de massas da acetona das amostras cachaças



Espectro de massas da acetona das espectroteca Wiley (7a ed.).



[Dados do espectro de massas da amostra de cachaça]

n. do pico 2

TR 7.117 -&gt; 7.275 (scan : 614 -&gt; 633)

Background 7.283 -&gt; 7.592 (scan : 634 -&gt; 671)

Pico base m/z 43.05 (Inten : 9,889)

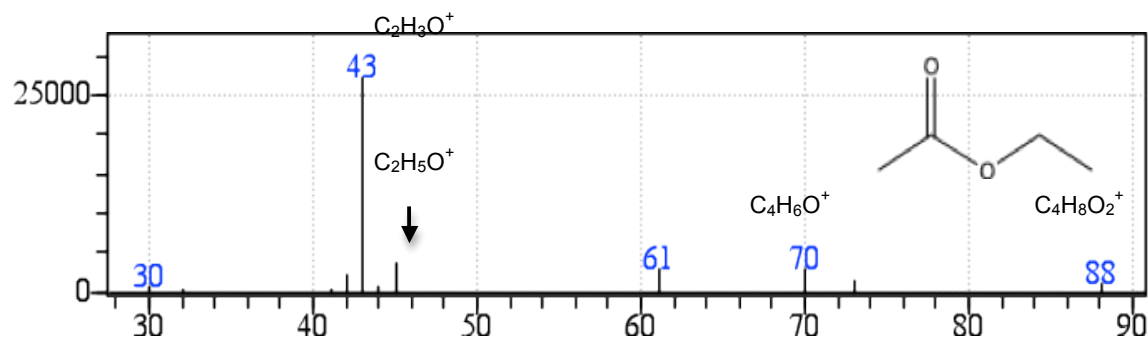
| m/z   | Intensidade absoluta | Intensidade relativa |
|-------|----------------------|----------------------|
| 43.05 | 9889                 | 100.00               |
| 58.05 | 2838                 | 28.70                |
| 32.00 | 1797                 | 18.17                |
| 42.05 | 945                  | 9.56                 |
| 39.00 | 472                  | 4.77                 |
| 41.00 | 390                  | 3.94                 |
| 30.00 | 295                  | 2.98                 |
| 44.05 | 321                  | 3.25                 |
| 38.05 | 118                  | 1.19                 |
| 59.05 | 103                  | 1.04                 |
| 73.10 | 2                    | 0.02                 |

## Apêndice 26 – Espectros de massa do acetato de etila no modo scan.

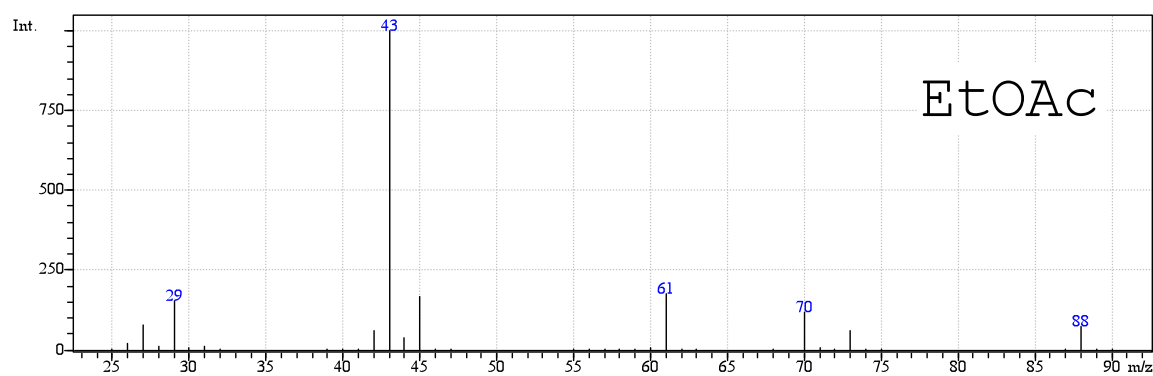
Acetato de etila – EtOAc

CAS#141-78-6 MM 88

Espectro de massas do acetato de etila das amostras cachaças.



Espectro de massas acetato de etila da espectroteca Wiley (7a ed.).



[Dados do espectro de massas do acetato de etila das amostras de cachaça]

n. do pico 3

TR 9.525 -&gt; 9.633 (scan : 783 -&gt; 796)

Background 9.208 -&gt; 9.375 (scan : 745 -&gt; 765)

Pico base m/z 43.05 (Inten : 36,562)

| m/z   | Instensidade absoluta | Instensidade relativa |
|-------|-----------------------|-----------------------|
| 43.05 | 36562                 | 100.00                |
| 45.05 | 4722                  | 12.92                 |
| 61.05 | 3979                  | 10.88                 |
| 70.05 | 3634                  | 9.94                  |
| 42.05 | 2886                  | 7.89                  |
| 73.05 | 1734                  | 4.74                  |
| 88.05 | 1038                  | 2.84                  |
| 44.05 | 878                   | 2.40                  |
| 30.05 | 789                   | 2.16                  |
| 41.10 | 275                   | 0.75                  |
| 32.00 | 235                   | 0.64                  |
| 34.05 | 32                    | 0.09                  |

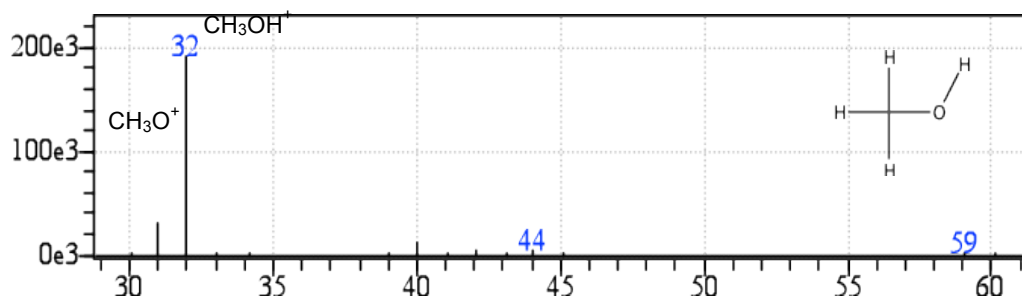


## Apêndice 27 – Espectros de massa do metanol no modo scan.

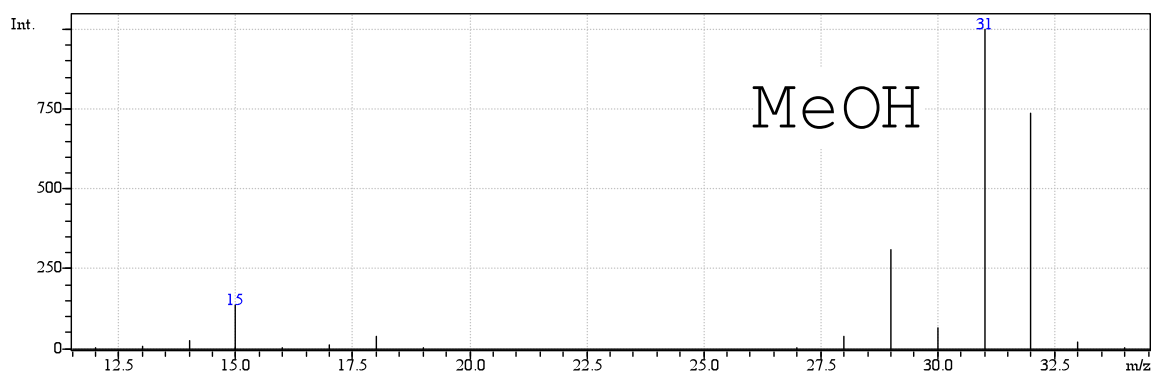
Metanol – MeOH

CAS#67-56-1 MM 32

Espectro de massas do metanol das amostras cachaças.



Espectro de massas do metanol da espectroteca Wiley (7a ed.).



[Dados dos espectro de massas do metanol das amostras de cachaça]

n. do pico 4

TR 10.750 -&gt; 10.917 (scan : 810 -&gt; 830)

Background 11.000 -&gt; 11.292 (scan : 840 -&gt; 875)

Pico base m/z 32.00 (Inten : 9,461)

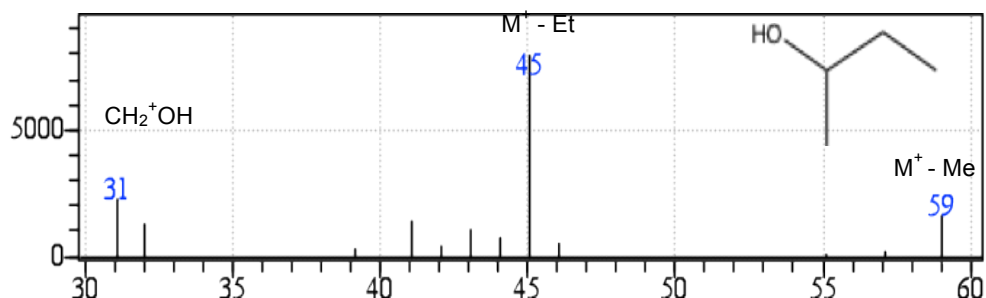
| m/z   | Instensidade absoluta | Instensidade relativa |
|-------|-----------------------|-----------------------|
| 32.00 | 9461                  | 100.00                |
| 31.05 | 7316                  | 77.33                 |
| 30.00 | 1049                  | 11.09                 |
| 39.95 | 368                   | 3.89                  |
| 44.00 | 100                   | 1.06                  |
| 45.10 | 40                    | 0.42                  |
| 42.10 | 19                    | 0.20                  |

## Apêndice 28 – Espectros de massa do sec-butanol no modo scan.

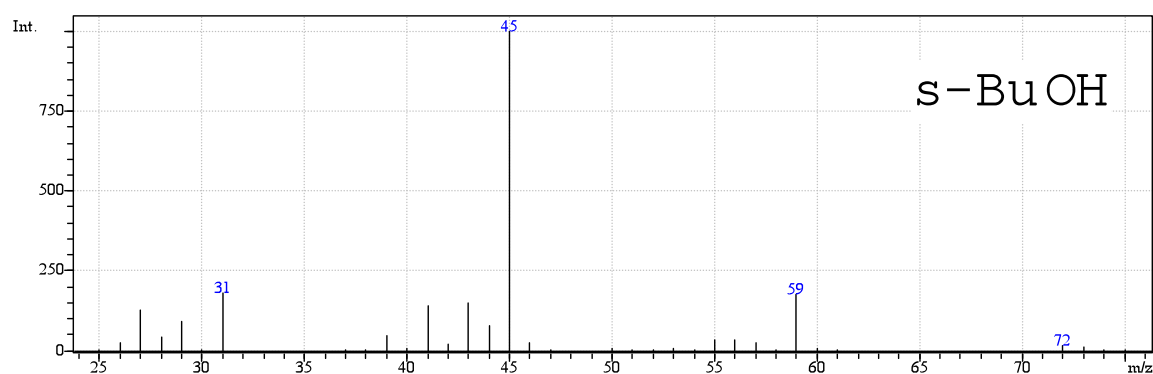
2-Butanol/sec-butanol – s-BuOH

CAS#78-92-2 MM 74

Espectro de massas do sec-butanol das amostras de cachaça.



Espectro de massas do sec-butanol da espectroteca Wiley (7a ed.).



[Dados do espectro de massas do sec-butanol das amostras de cachaça]

n. do pico 5

TR 17.658 -&gt; 17.850 (scan : 1519 -&gt; 1542)

Background 17.875 -&gt; 18.217 (scan : 1545 -&gt; 1586)

Pico base m/z 45.05 (Inten : 11,367)

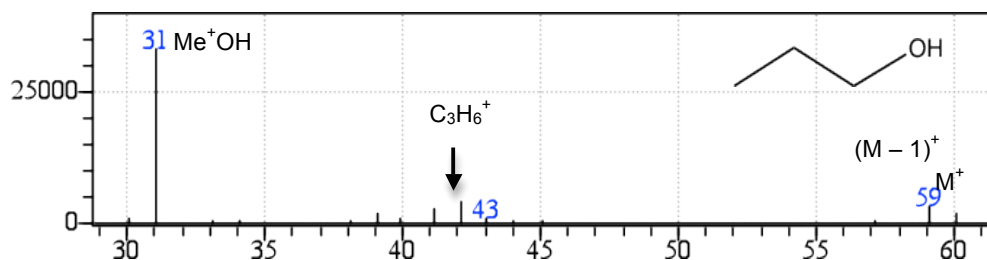
| m/z   | Instensidade absoluta | Instensidade relativa |
|-------|-----------------------|-----------------------|
| 45.05 | 11367                 | 100.00                |
| 31.05 | 3295                  | 28.99                 |
| 59.05 | 2226                  | 19.58                 |
| 41.05 | 1995                  | 17.55                 |
| 43.05 | 1389                  | 12.22                 |
| 44.05 | 1143                  | 10.06                 |
| 32.00 | 712                   | 6.26                  |
| 46.05 | 648                   | 5.70                  |
| 42.05 | 550                   | 4.84                  |
| 39.10 | 456                   | 4.01                  |
| 39.95 | 169                   | 1.49                  |
| 57.15 | 187                   | 1.65                  |
| 55.15 | 154                   | 1.35                  |
| 30.05 | 153                   | 1.35                  |
| 34.05 | 1                     | 0.01                  |

## Apêndice 29 – Espectros de massa do *n*-propanol no modo scan.

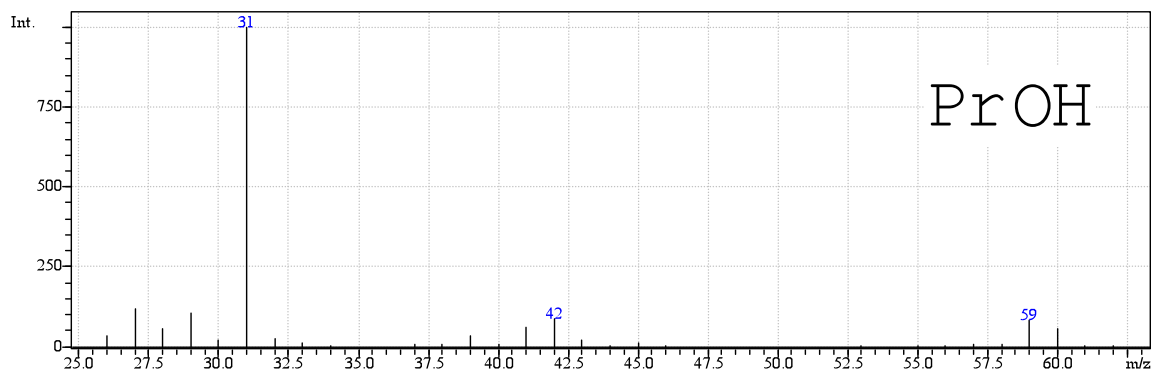
Propanol – PrOH

CAS#71-23-8 MM 60

Espectro de massas do *n*-propanol das amostras de cachaça.



Espectro de massas do *n*-propanol da espectroteca Wiley (7a ed.).



[Dados do espectro de massas do *n*-propanol das amostras de cachaça]

n. do pico 6

TR 18.358 -> 18.625 (scan : 1603 -> 1635)

Background 18.700 -> 19.108 (scan : 1644 -> 1693)

Pico base m/z 31.05 (Inten : 30,421)

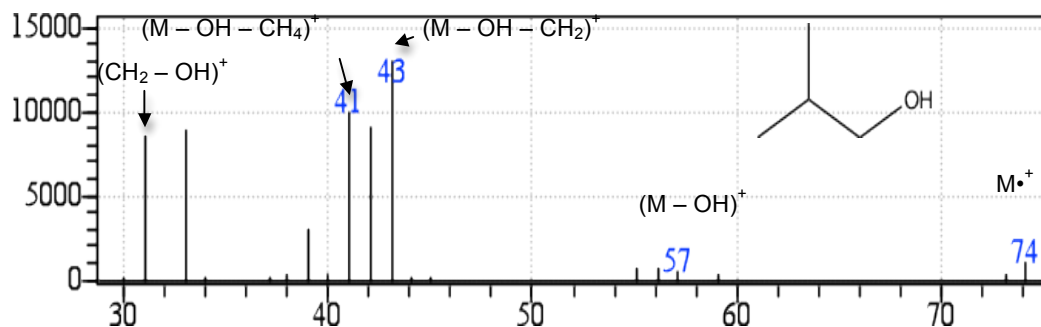
| m/z   | Instensidade absoluta | Instensidade relativa |
|-------|-----------------------|-----------------------|
| 31.05 | 30421                 | 100.00                |
| 42.10 | 3754                  | 12.34                 |
| 59.10 | 2770                  | 9.11                  |
| 41.10 | 2368                  | 7.78                  |
| 60.10 | 1524                  | 5.01                  |
| 39.05 | 1310                  | 4.31                  |
| 43.05 | 833                   | 2.74                  |
| 30.05 | 829                   | 2.73                  |
| 39.95 | 491                   | 1.61                  |
| 33.10 | 398                   | 1.31                  |
| 45.10 | 345                   | 1.13                  |
| 44.05 | 100                   | 0.33                  |
| 57.15 | 61                    | 0.20                  |
| 38.10 | 73                    | 0.24                  |
| 34.05 | 10                    | 0.03                  |

## Apêndice 30 – Espectros de massa do isobutanol no modo scan.

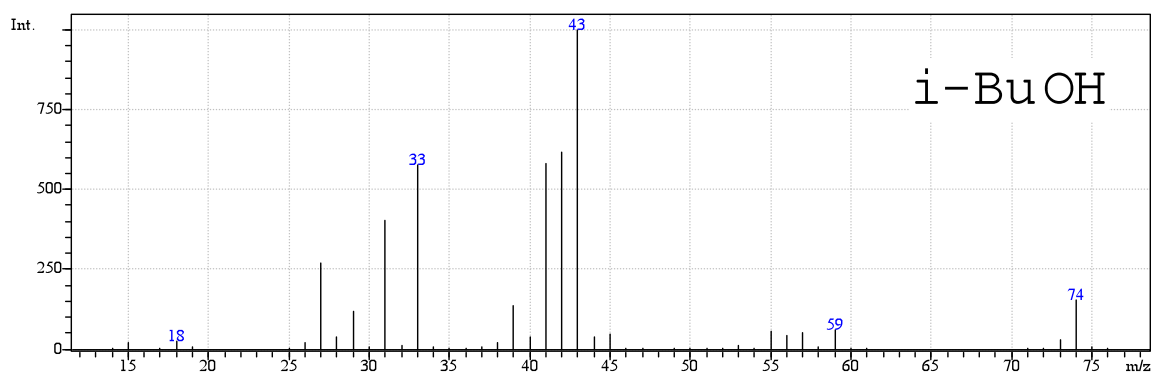
Isobutanol /2-metil-1-propanol – i-BuOH

CAS#78-83-1 MM 74

Espectro de massas do isobutanol das amostras de cachaça.



Espectro de massas do isobutanol da espectroteca da Wiley (7a ed.).



[Dados do espectro de massas do isobutanol das amostras de cachaça]

n. do pico 7

TR 21.950 -&gt; 22.158 (scan : 2034 -&gt; 2059)

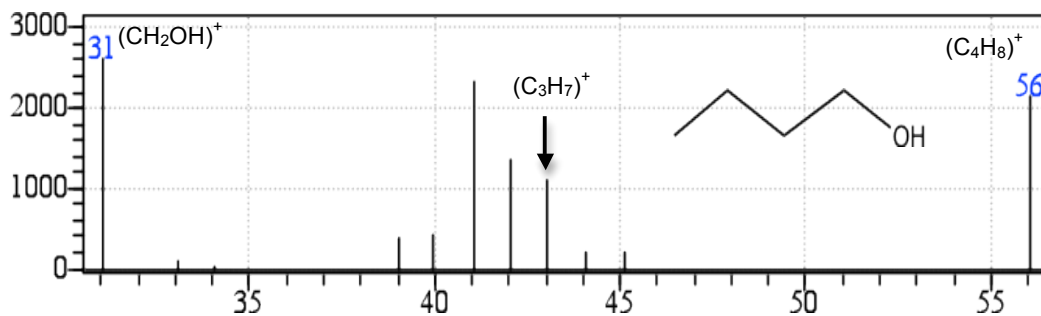
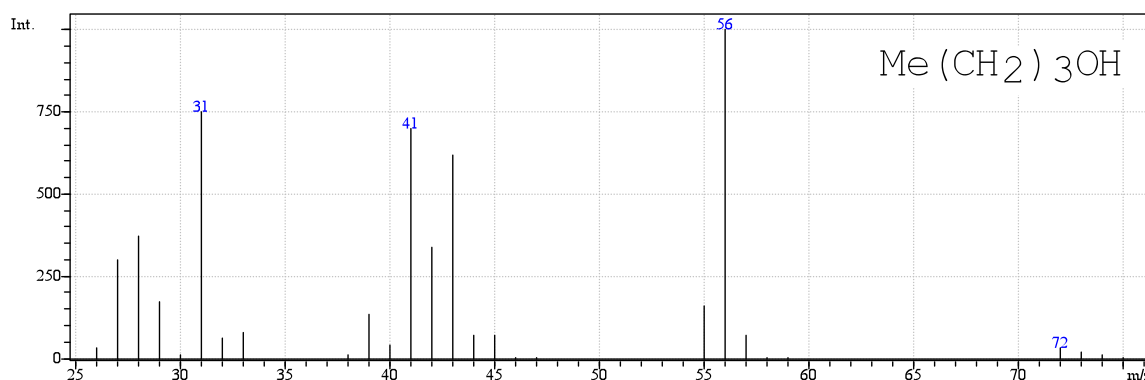
Background 22.242 -&gt; 22.608 (scan : 2069 -&gt; 2113)

Pico base m/z 43.10 (Inten : 13,758)

| m/z   | Intensidade absoluta | Intensidade relativa |
|-------|----------------------|----------------------|
| 43.10 | 13758                | 100.00               |
| 41.05 | 10274                | 74.68                |
| 42.10 | 9453                 | 68.71                |
| 33.05 | 9111                 | 66.22                |
| 31.05 | 8894                 | 64.65                |
| 39.05 | 3042                 | 22.11                |
| 74.05 | 1109                 | 8.06                 |
| 56.10 | 664                  | 4.83                 |
| 55.10 | 714                  | 5.19                 |
| 44.05 | 502                  | 3.65                 |
| 57.10 | 397                  | 2.89                 |
| 40.00 | 433                  | 3.15                 |
| 38.05 | 369                  | 2.68                 |
| 45.05 | 324                  | 2.35                 |
| 59.10 | 310                  | 2.25                 |
| 73.10 | 217                  | 1.58                 |
| 34.00 | 135                  | 0.98                 |
| 30.05 | 168                  | 1.22                 |
| 37.15 | 82                   | 0.60                 |

Apêndice 31 – Espectros de massa do *n*-butanol no modo scan.n-Butanol - Me(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>OH

CAS#71-363 MM 74

Espectro de massas do *n*-butanol das amostras de cachaça.Espectro de massas do *n*-butanol da espectroteca da Wiley (7a ed.).[Dados do espectro de massas do *n*-butanol das amostras de cachaça]

n. do pico 8

TR 28.017 -&gt; 28.142 (scan : 2402 -&gt; 2417)

Background 28.167 -&gt; 28.500 (scan : 2420 -&gt; 2460)

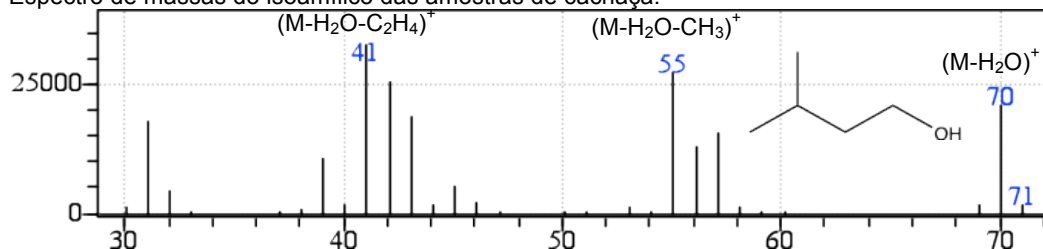
Pico base m/z 31.05 (Inten : 1,955)

| m/z   | Intensidade absoluta | Intensidade relativa |
|-------|----------------------|----------------------|
| 31.05 | 1955                 | 100.00               |
| 41.05 | 1798                 | 91.97                |
| 56.05 | 1603                 | 81.99                |
| 42.05 | 1026                 | 52.48                |
| 43.05 | 897                  | 45.88                |
| 39.95 | 436                  | 22.30                |
| 39.05 | 295                  | 15.09                |
| 45.10 | 187                  | 9.57                 |
| 44.05 | 160                  | 8.18                 |
| 33.10 | 64                   | 3.27                 |
| 34.05 | 11                   | 0.56                 |

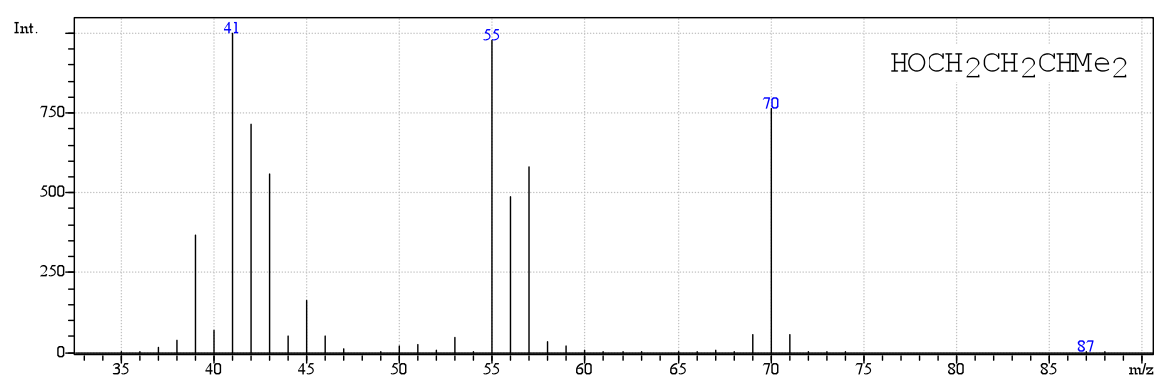
## Apêndice 32 – Espectros de massa do isoamílico no modo scan.

Isoamílico / 3-metil-1-butanol – HOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CHMe<sub>2</sub>  
CAS#123-51-3 MM 88

Espectro de massas do isoamílico das amostras de cachaça.



Espectro de massas do isobutanol da espectroteca da Wiley (7a ed.).



[Dados do espectro de massas do isoamílico das amostras de cachaça]

n. do pico 9

TR 28.650 -> 28.867 (scan : 2838 -> 2864)

Background 28.908 -> 29.342 (scan : 2869 -> 2921)

Pico base m/z 41.05 (Inten : 27,903)

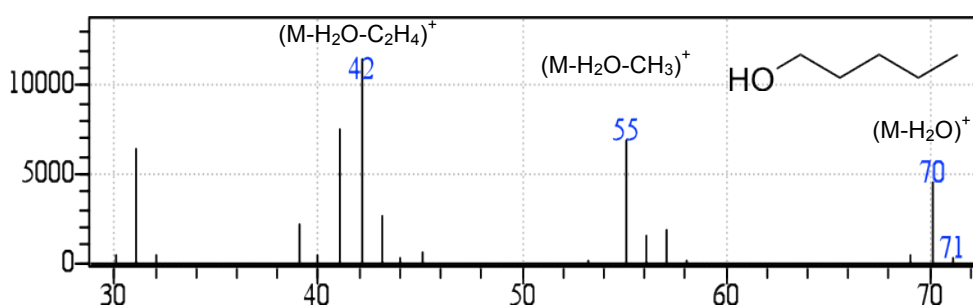
| m/z   | Instensidade absoluta | Instensidade relativa |
|-------|-----------------------|-----------------------|
| 41.05 | 27903                 | 100.00                |
| 55.05 | 23214                 | 83.20                 |
| 42.10 | 21852                 | 78.31                 |
| 70.10 | 17722                 | 63.51                 |
| 43.10 | 15963                 | 57.21                 |
| 31.05 | 15141                 | 54.26                 |
| 57.10 | 13229                 | 47.41                 |
| 56.10 | 11157                 | 39.98                 |
| 39.05 | 9007                  | 32.28                 |
| 32.00 | 4408                  | 15.80                 |
| 45.10 | 4248                  | 15.22                 |
| 46.10 | 1816                  | 6.51                  |
| 40.00 | 1450                  | 5.20                  |
| 71.05 | 1346                  | 4.82                  |
| 69.10 | 1204                  | 4.31                  |
| 44.05 | 1213                  | 4.35                  |
| 30.05 | 1130                  | 4.05                  |
| 58.10 | 957                   | 3.43                  |
| 53.10 | 897                   | 3.21                  |
| 38.05 | 701                   | 2.51                  |
| 59.10 | 318                   | 1.14                  |
| 51.05 | 233                   | 0.84                  |
| 47.15 | 227                   | 0.81                  |
| 33.05 | 214                   | 0.77                  |
| 50.10 | 178                   | 0.64                  |
| 37.05 | 122                   | 0.44                  |
| 60.20 | 38                    | 0.14                  |
| 54.05 | 45                    | 0.16                  |

## Apêndice 33 – Espectros de massa do pentanol (PI) no modo scan.

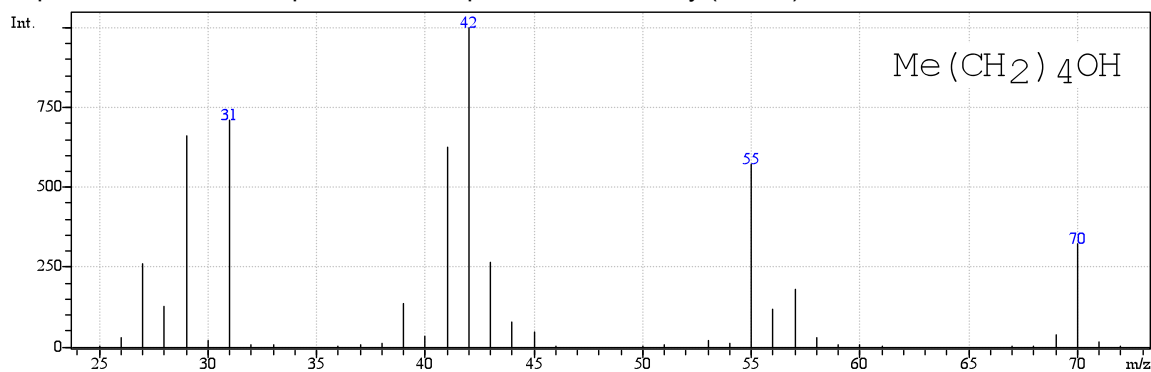
1-Pentanol – Me(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>OH

CAS#71-41-0 MM 88

Espectro de massas do pentanol adicionado nas amostras de cachaça como padrão interno (PI).



Espectro de massas do pentanol da espectroteca da Wiley (7a ed.).



[Dados do espectro de massas pentanol das amostras de cachaça]

n. do pico 10

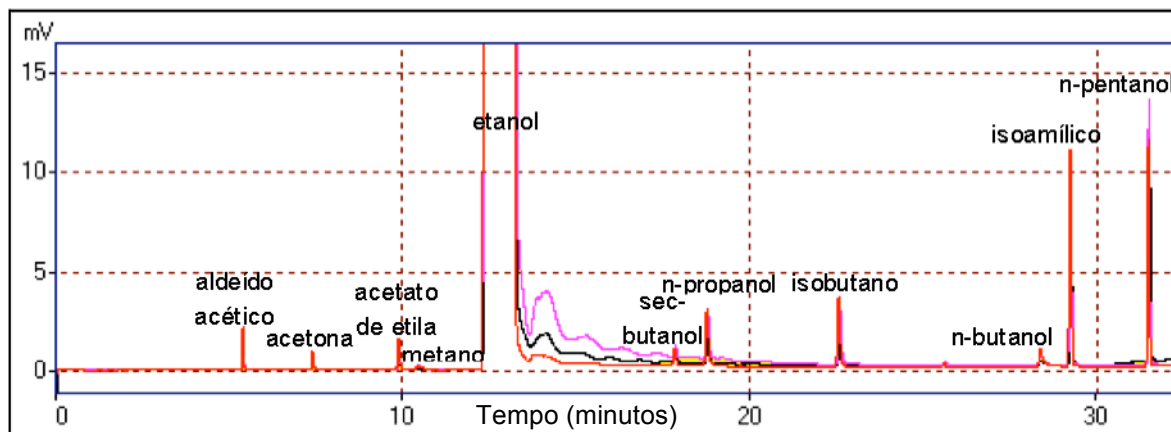
TR 31.117 -&gt; 31.258 (scan : 3134 -&gt; 3151)

Background 31.342 -&gt; 31.733 (scan : 3161 -&gt; 3208)

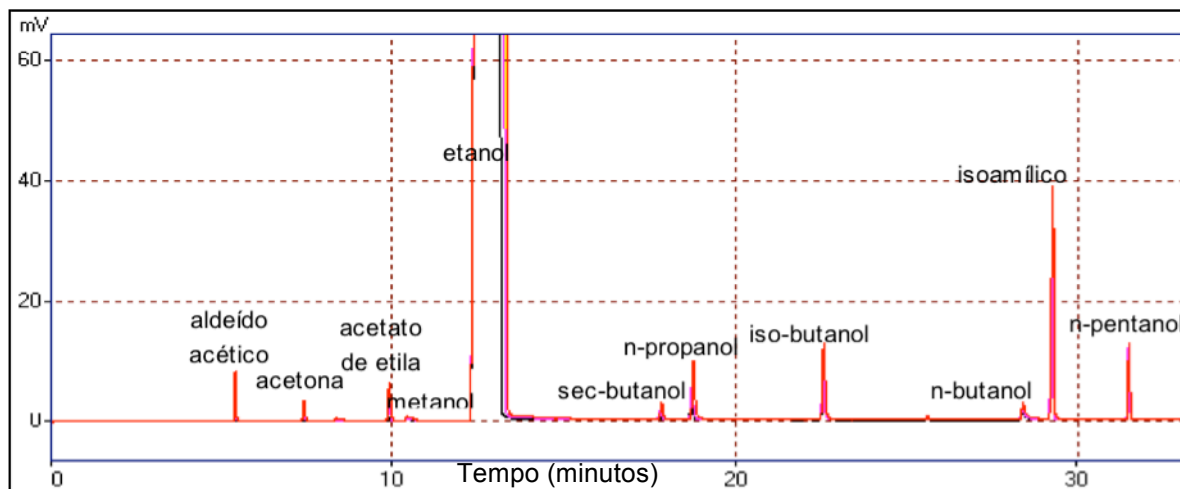
Pico base m/z 42.10 (Inten : 18,917)

| m/z   | Instensidade absoluta | Instensidade relativa |
|-------|-----------------------|-----------------------|
| 42.10 | 18917                 | 100.00                |
| 41.05 | 12369                 | 65.39                 |
| 55.10 | 11533                 | 60.97                 |
| 31.05 | 10790                 | 57.04                 |
| 70.10 | 7413                  | 39.19                 |
| 43.10 | 4355                  | 23.02                 |
| 32.00 | 3857                  | 20.39                 |
| 39.05 | 3582                  | 18.94                 |
| 57.10 | 3015                  | 15.94                 |
| 56.10 | 2378                  | 12.57                 |
| 45.10 | 881                   | 4.66                  |
| 69.10 | 746                   | 3.94                  |
| 30.05 | 545                   | 2.88                  |
| 44.05 | 455                   | 2.41                  |
| 71.15 | 348                   | 1.84                  |
| 40.00 | 326                   | 1.72                  |
| 58.05 | 248                   | 1.31                  |
| 53.20 | 189                   | 1.00                  |

Apêndice 34 – Cromatogramas das análises em GC/MS dos padrões analíticos nas concentrações de 1 a 3.

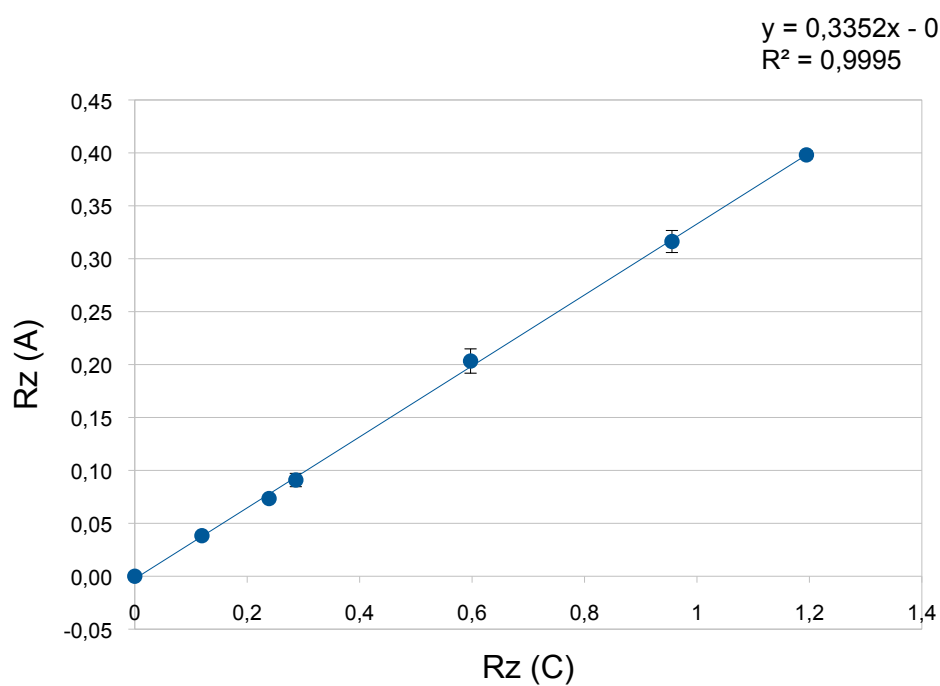


Apêndice 35 – Cromatogramas das análises em GC/MS dos padrões analíticos nas concentrações de 4 a 7.



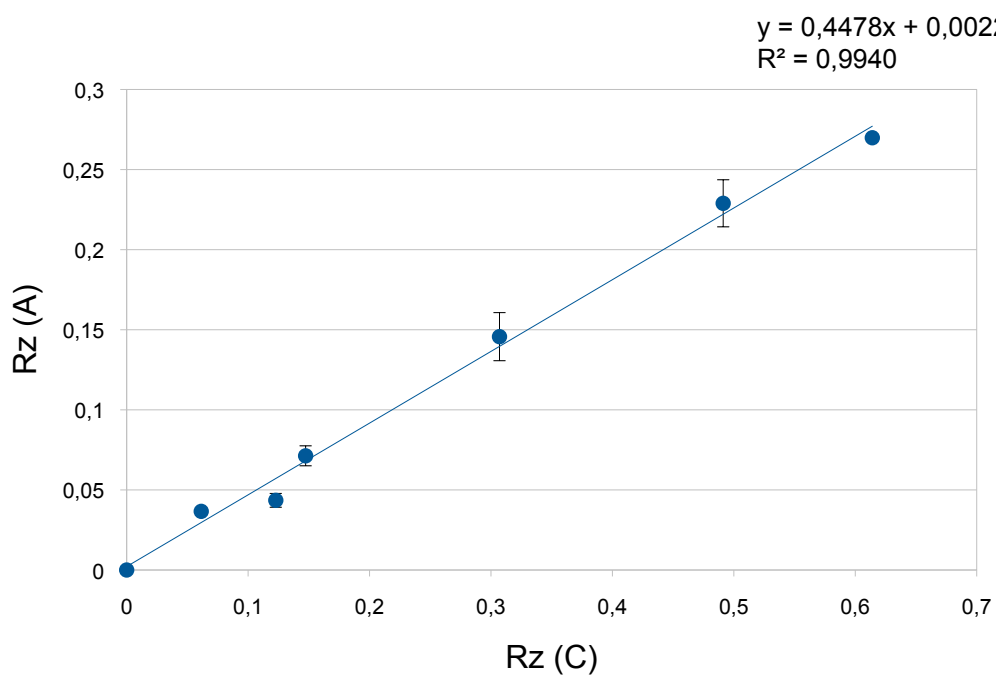


## Apêndice 36 - Curva analítica do aldeído acético em GC/MS.



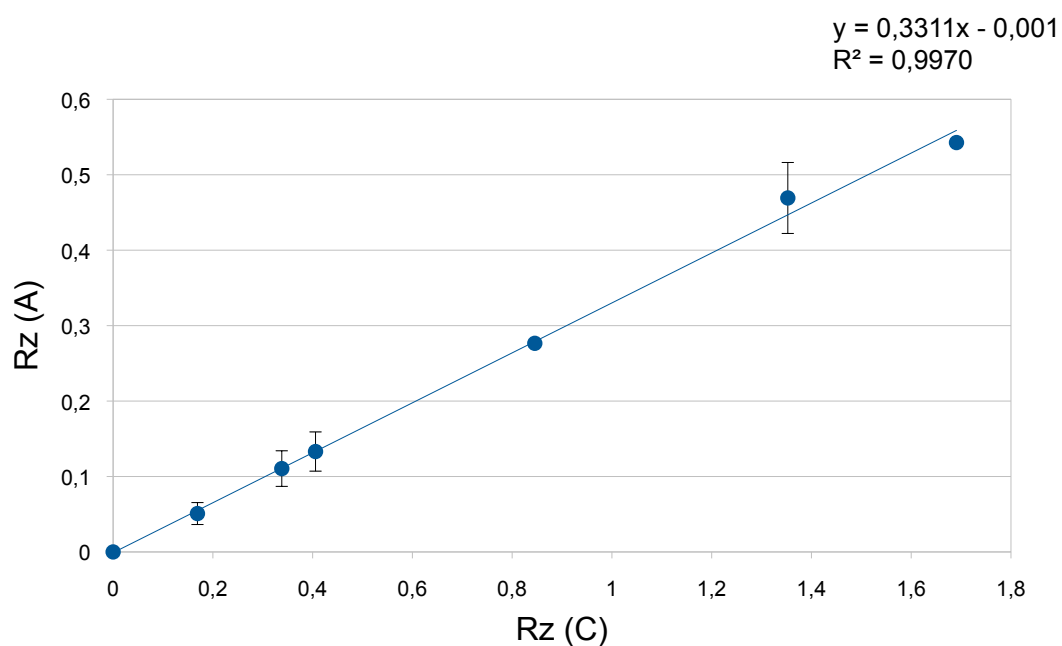
Barras verticais: desvio padrão (n=3 triplicata).

## Apêndice 37 – Curva analítica da acetona em GC/MS.



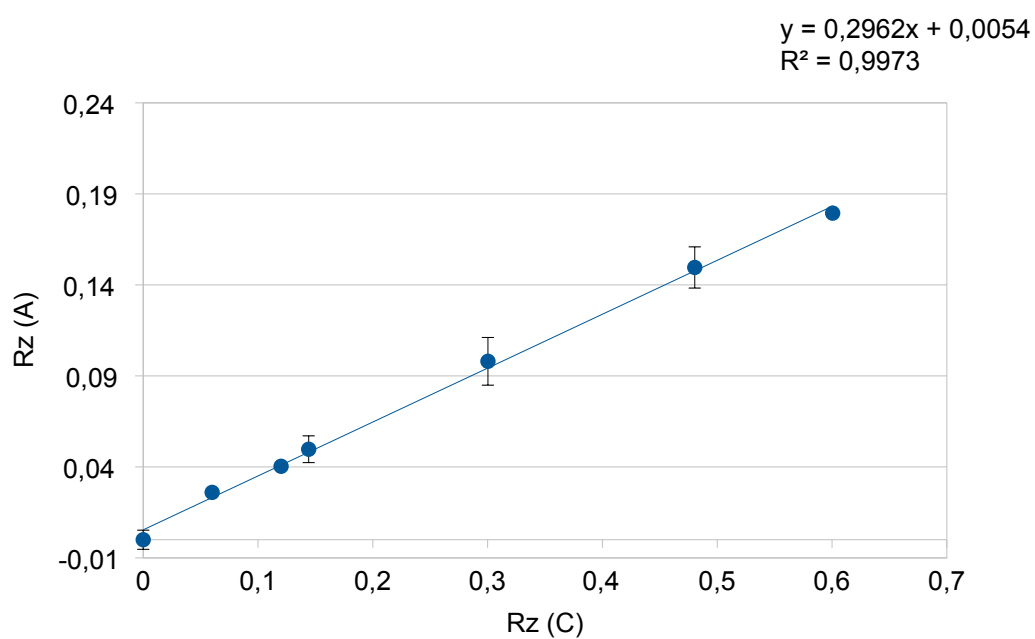
Barras verticais: desvio padrão (n=3 triplicata).

## Apêndice 38 – Curva analítica da acetato de etila em GC/MS.

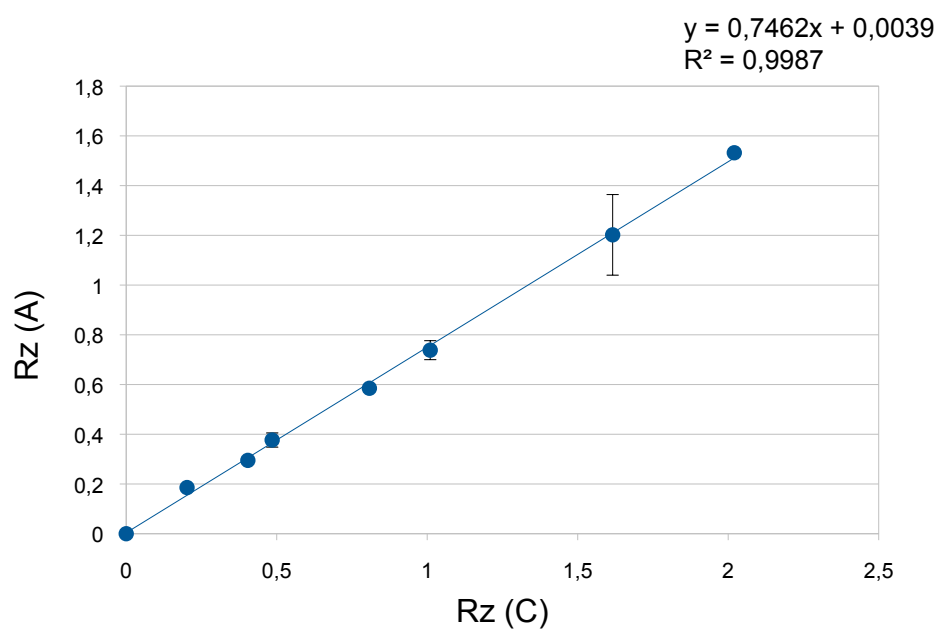


Barras verticais: desvio padrão (n=3 triplicata).

## Apêndice 39 – Curva analítica do metanol em GC/MS.

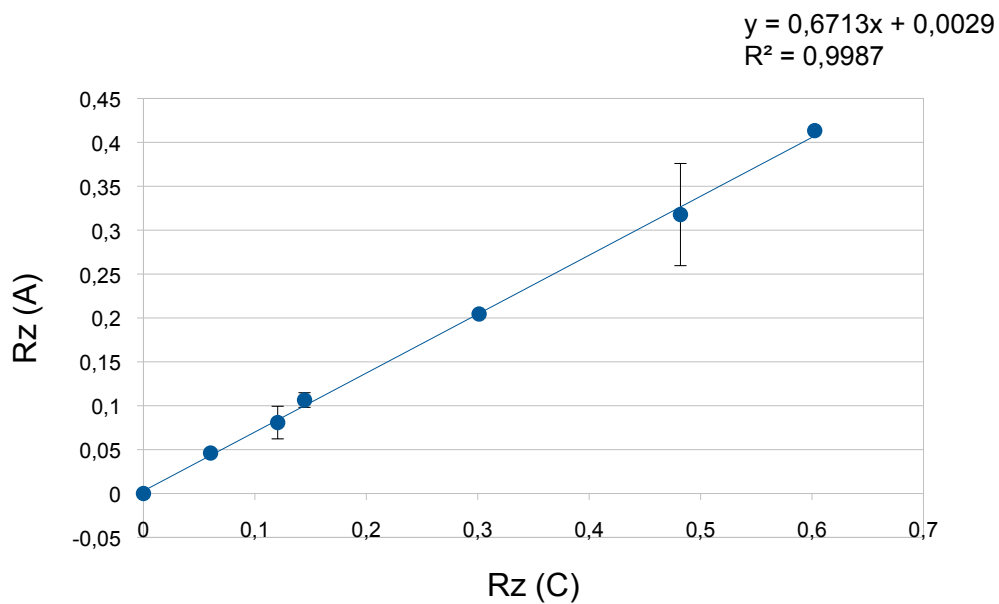


Barras verticais: desvio padrão (n=3 triplicata).

Apêndice 40 – Curva analítica da *n*-propanol em GC/MS.

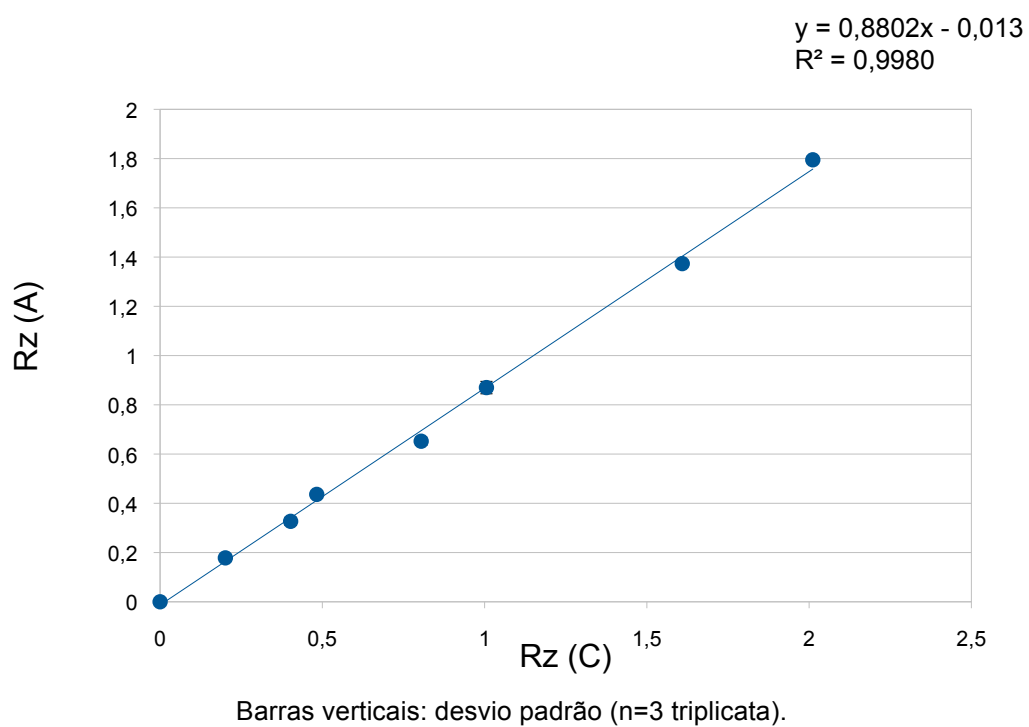
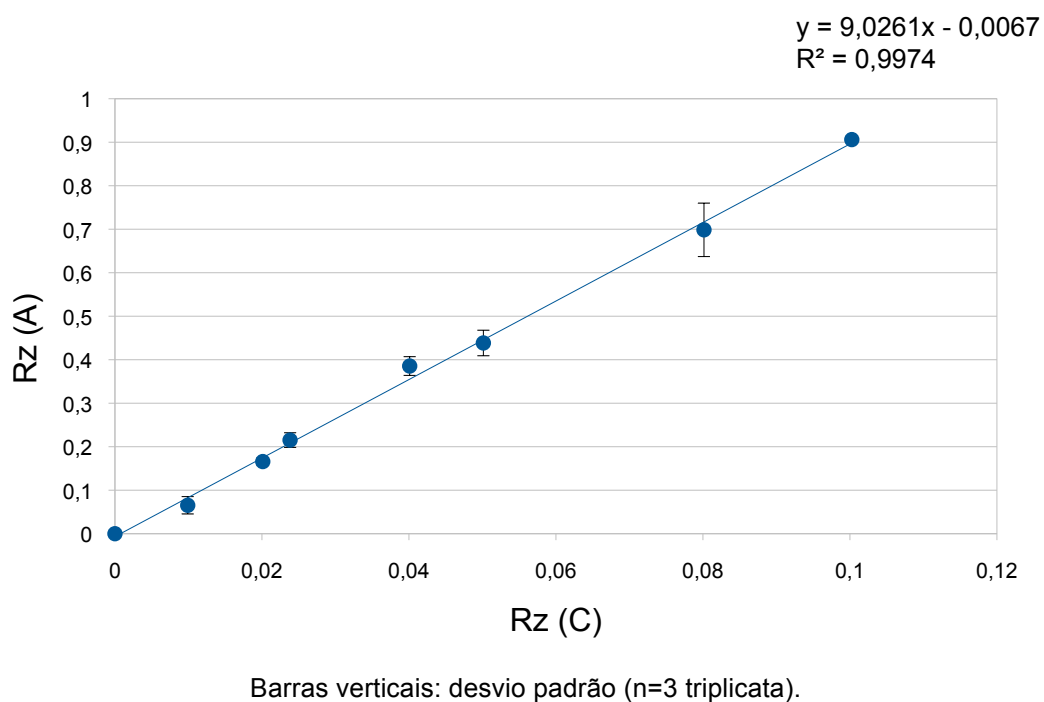
Barras verticais: desvio padrão (n=3 triplicata).

## Apêndice 41 – Curva analítica da sec-butanol em GC/MS.

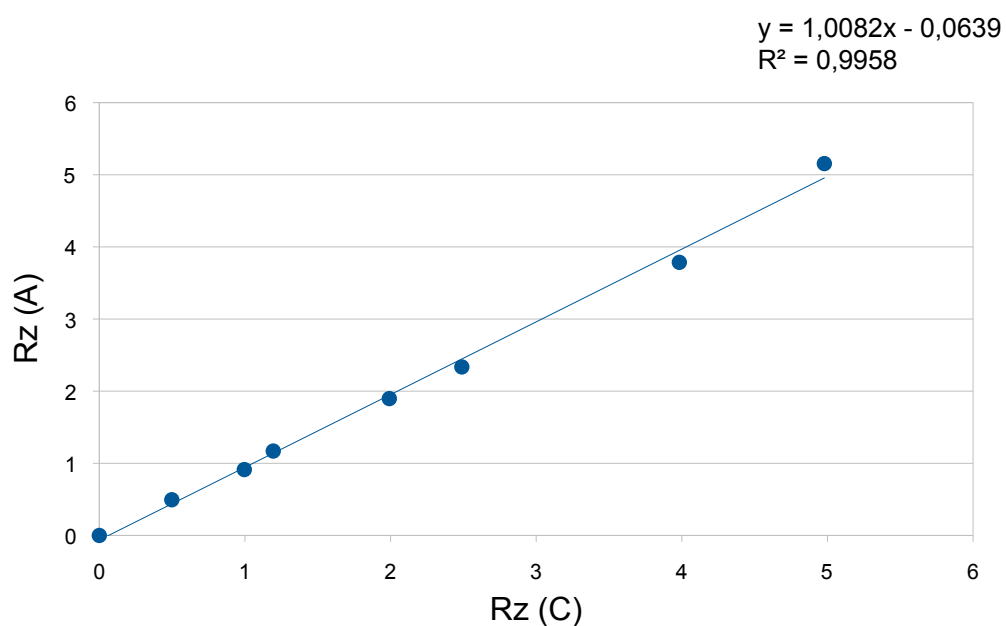


Barras verticais: desvio padrão (n=3 triplicata).

## Apêndice 42 – Curva analítica da isobutanol em GC/MS.

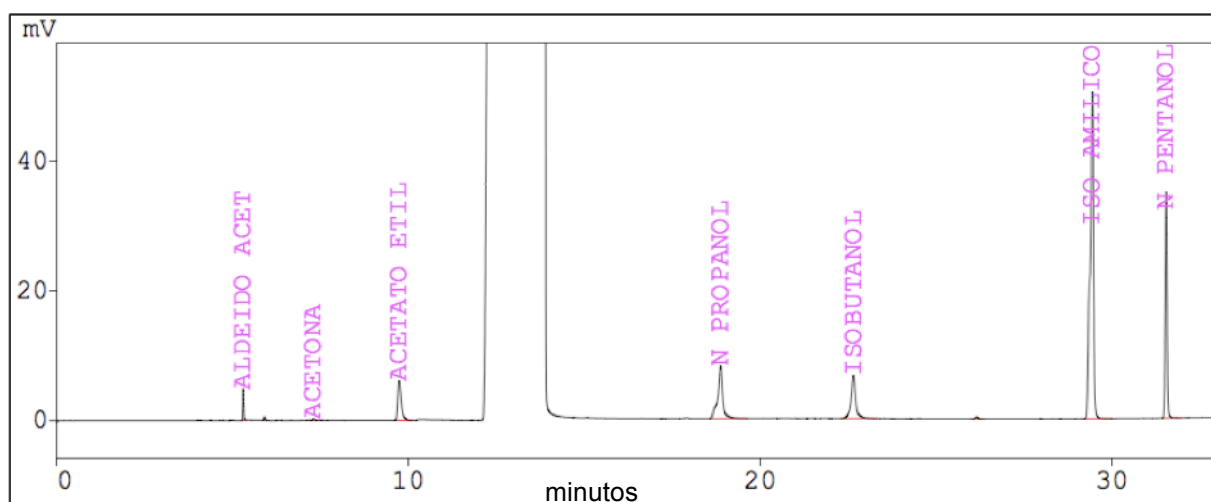
Apêndice 43 – Curva analítica da *n*-butanol em GC/MS.

## Apêndice 44 – Curva analítica da isoamílico em GC/MS.

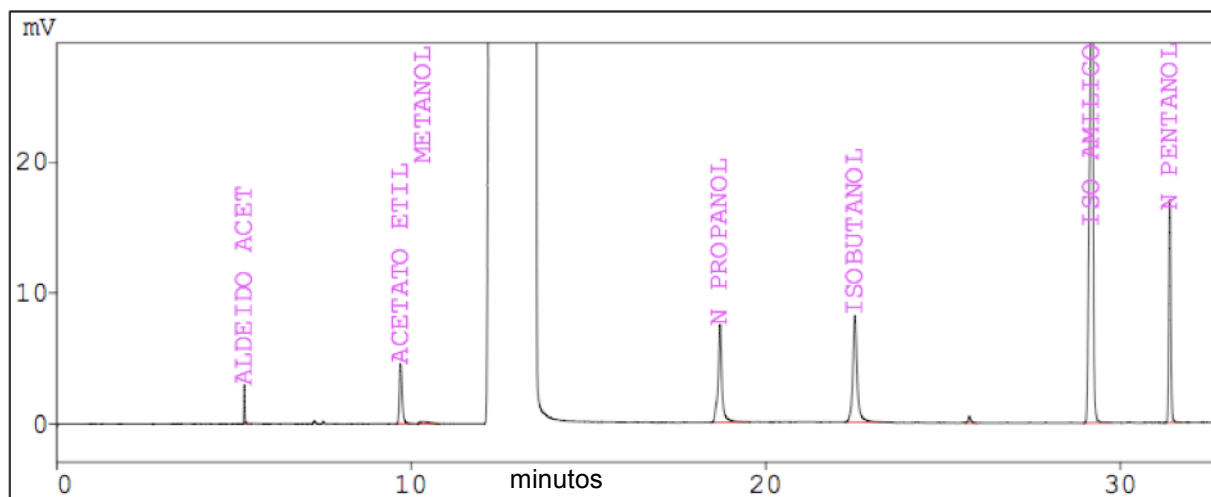


Barras verticais: desvio padrão (n=3 triplicata).

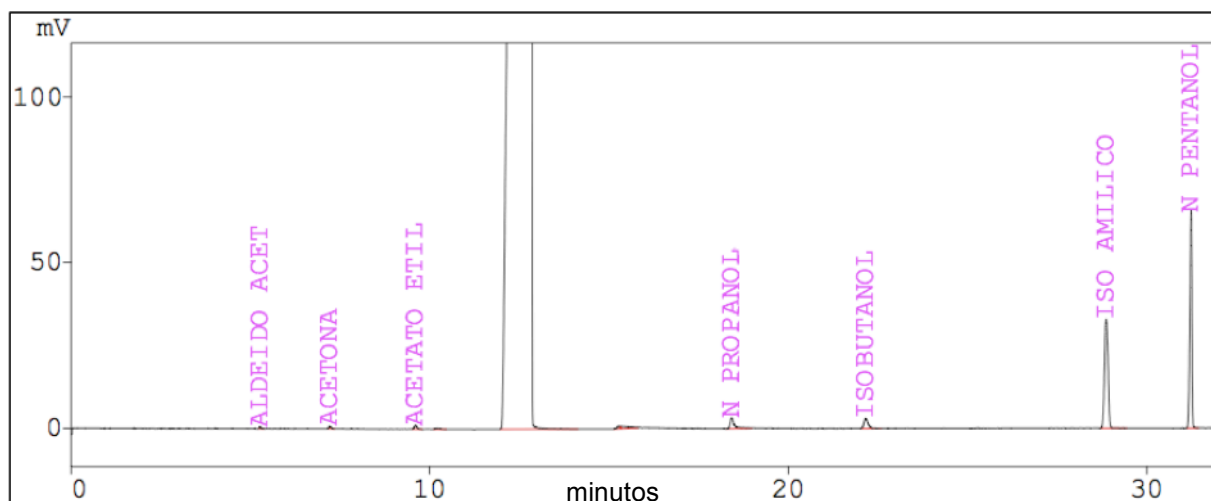
Apêndice 45 – Cromatograma da cachaça não envelhecida (CNE) contendo: aldeído acético, acetona, acetato de etila, etanol, *n*-propanol, isobutanol, isoamílico, e o *n*-pentanol (padrão interno).



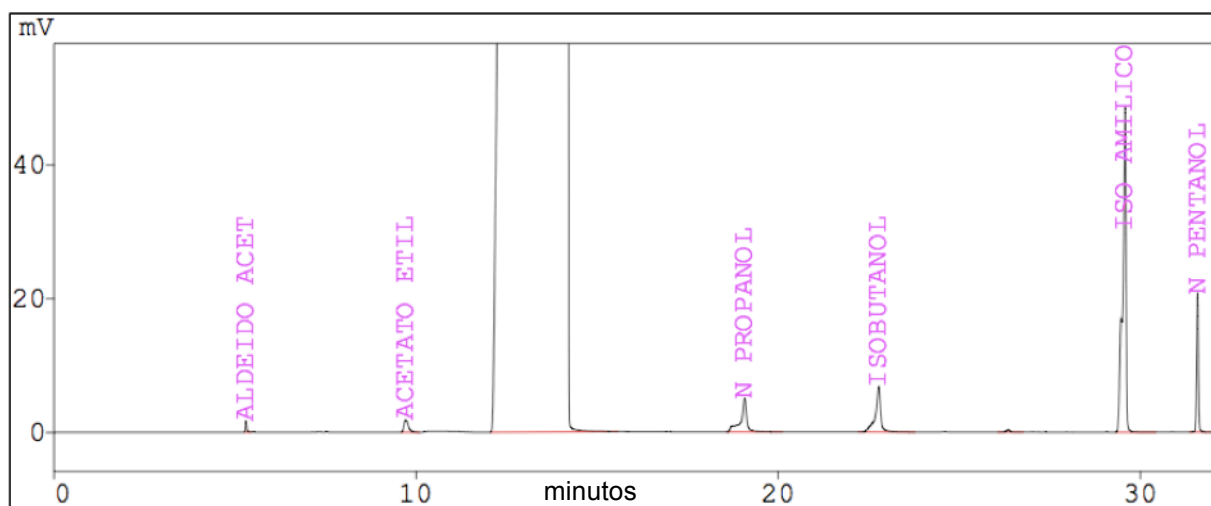
Apêndice 46 – Cromatograma da cachaça envelhecida em jaboty por 18 meses  
contendo: aldeído acético, acetato de etila, metanol, etanol, *n*-propanol,  
isobutanol, isoamílico e o *n*-pentanol ( padrão interno).



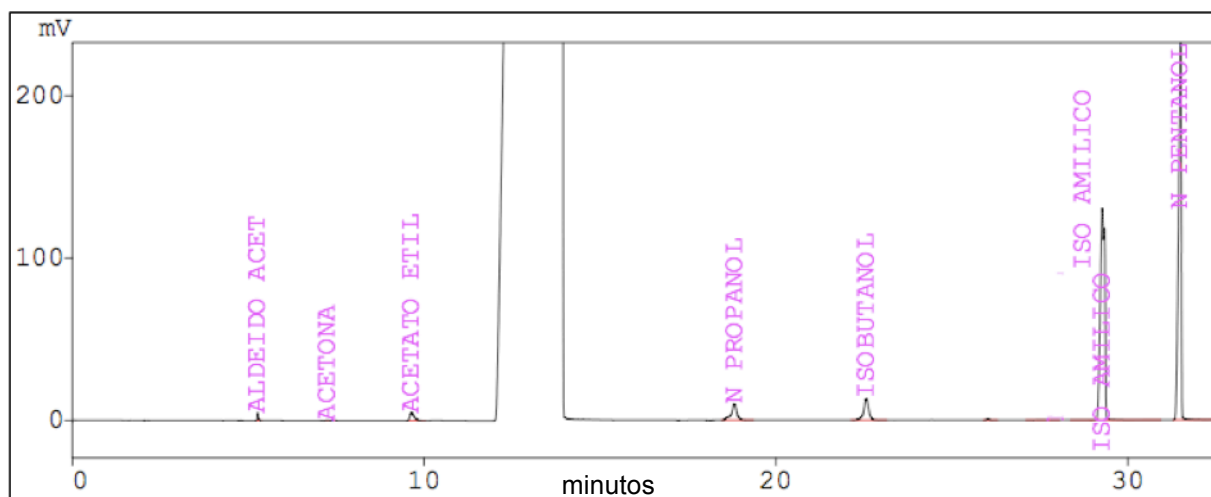
Apêndice 47 – Cromatograma da cachaça envelhecida em itauba por 18 meses  
contendo: aldeído acético, acetona, acetato de etila, etanol, *n*-propanol,  
isobutanol, isoamílico, e o *n*-pentanol (padrão interno).



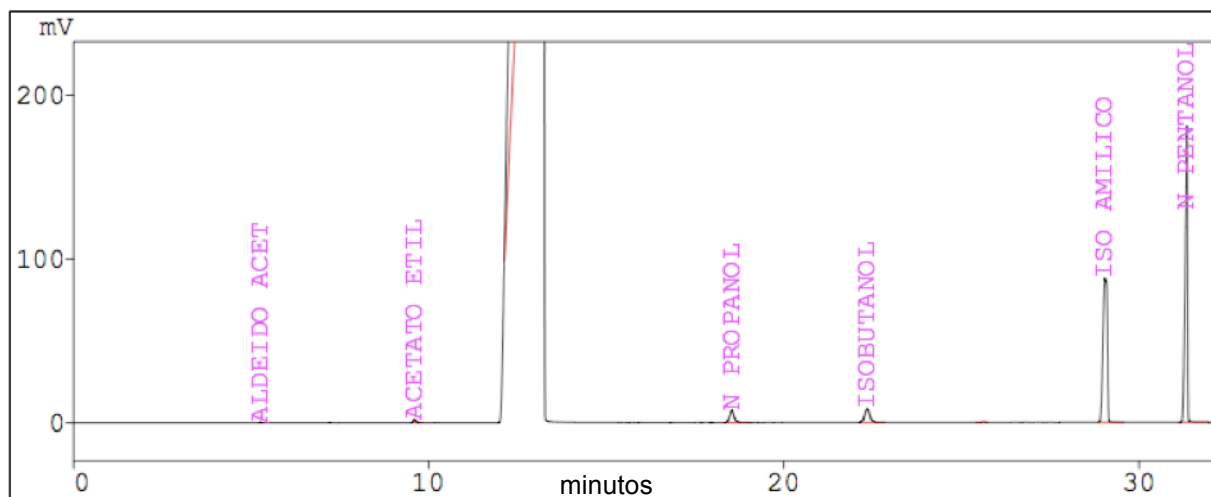
Apêndice 48 – Cromatograma da cachaça envelhecida em carvalho por 18 meses contendo: aldeído acético, acetato de etila, etanol, *n*-propanol, isobutanol, isoamílico, e o *n*-pentanol (padrão interno).



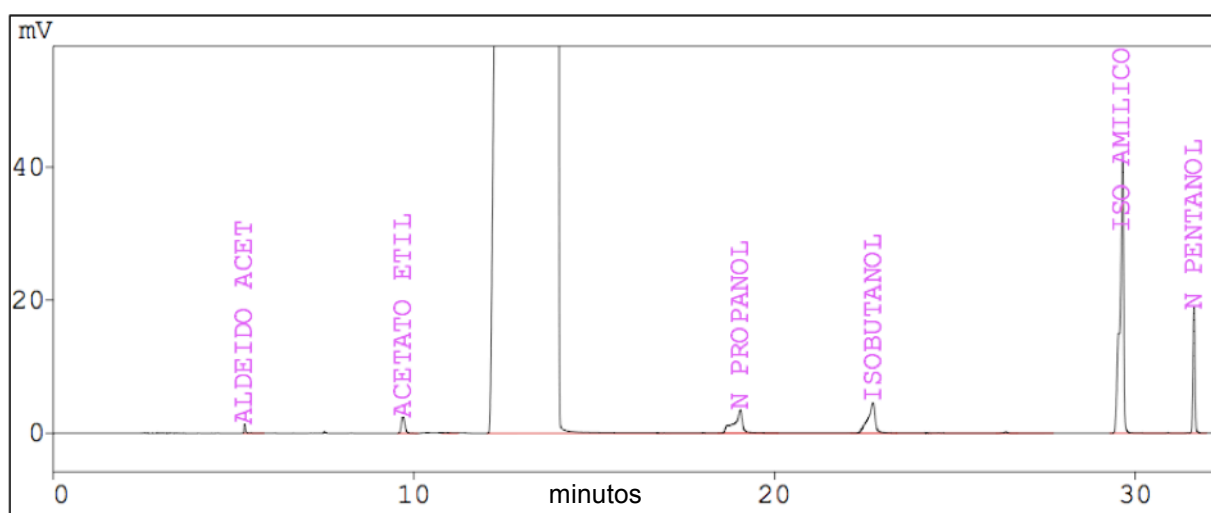
Apêndice 49 – Cromatograma da cachaça envelhecida em timborana por 18 meses contendo: aldeído acético, acetona, acetato de etila, etanol, *n*-propanol, isobutanol, isoamílico, e o *n*-pentanol (padrão interno).



Apêndice 50 – Cromatograma da cachaça envelhecida em jequitiba por 18 meses contendo: aldeído acético, acetato de etila, etanol, *n*-propanol, isobutanol, isoamílico, e o *n*-pentanol (padrão interno).

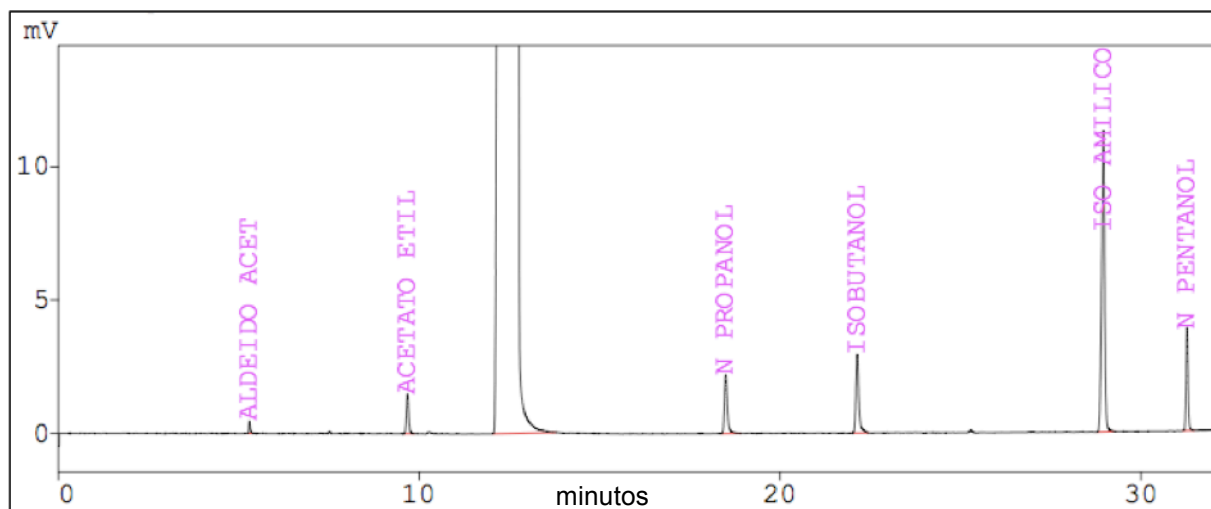


Apêndice 51 – Cromatograma da cachaça envelhecida em balsamo por 18 meses contendo: aldeído acético, acetato de etila, etanol, *n*-propanol, isobutanol, isoamílico, e o *n*-pentanol (padrão interno).

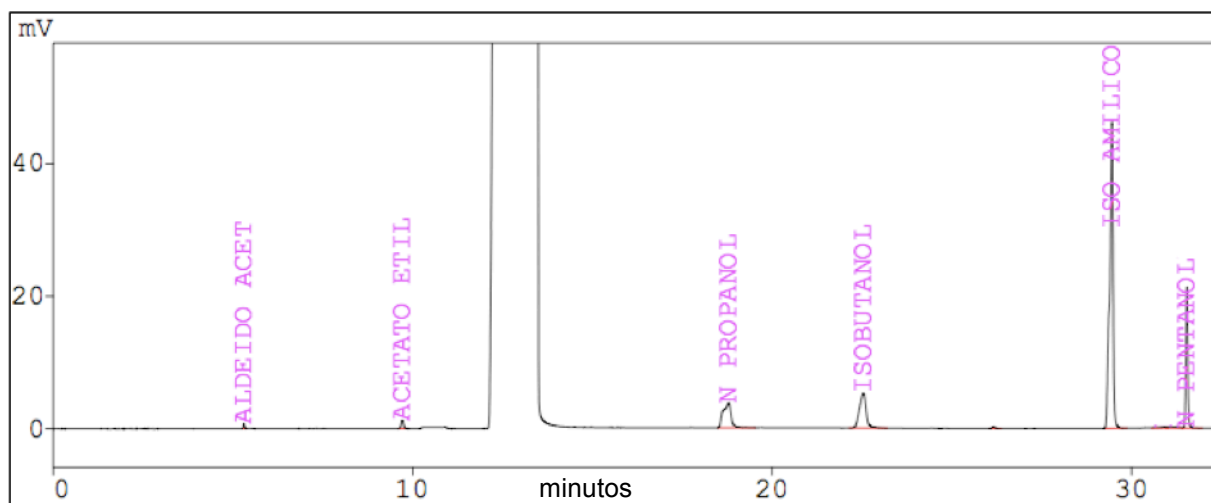




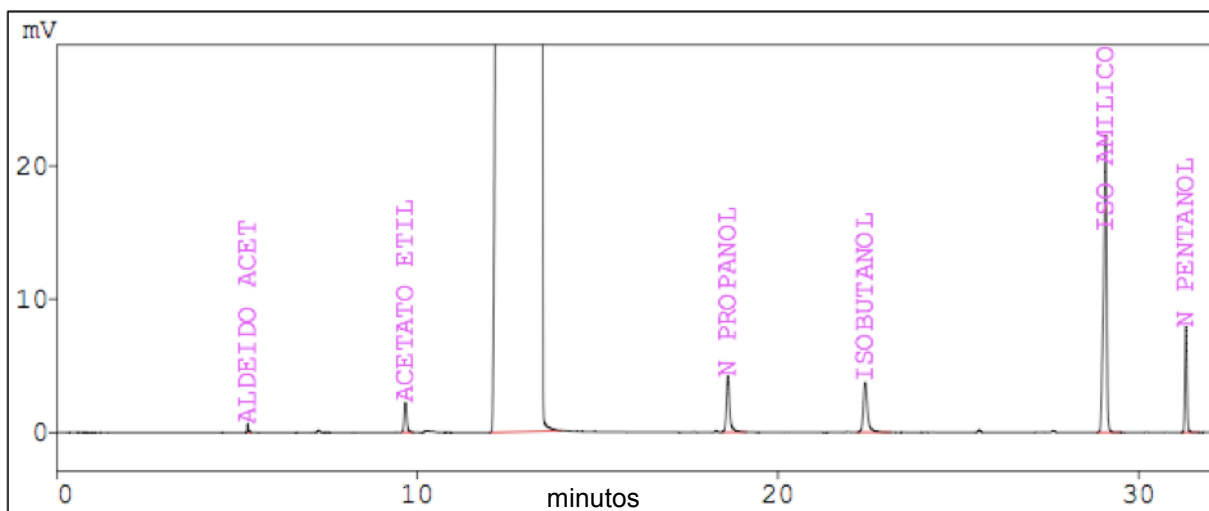
Apêndice 52 – Cromatograma da cachaça envelhecida em courbaril por 18 meses contendo: aldeído acético, acetato de etila, etanol, *n*-propanol, isobutanol, isoamílico e o *n*-pentanol (padrão interno).



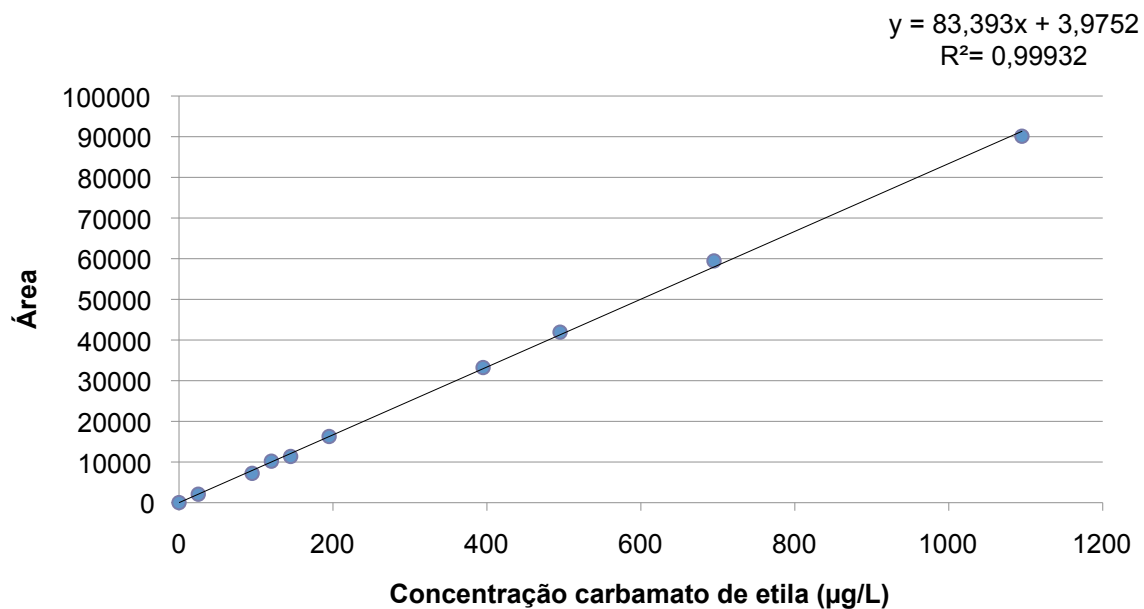
Apêndice 53 – Cromatograma da cachaça envelhecida em cerejeira por 18 meses contendo: aldeído acético, acetato de etila, etanol, *n*-propanol, isobutanol, isoamílico, e o *n*-pentanol (padrão interno).



Apêndice 54 – Cromatograma da cachaça envelhecida em peroba por 18 meses contendo: aldeído acético, acetato de etila, etanol, *n*-propanol, isobutanol, isoamílico, e o *n*-pentanol (padrão interno).

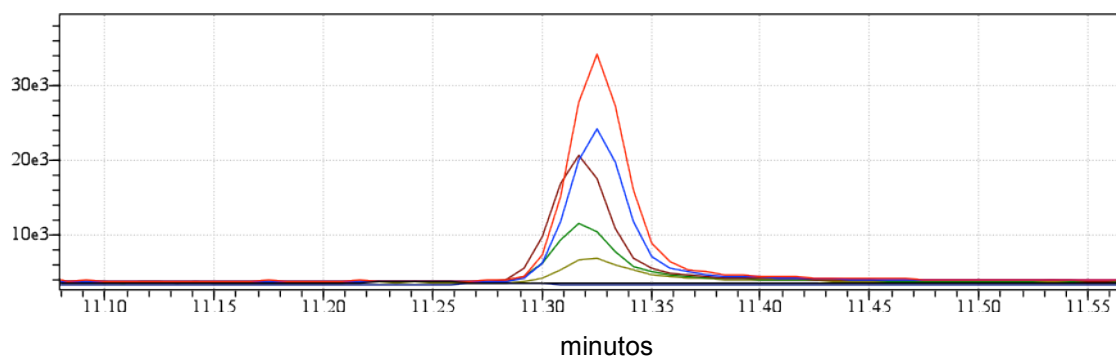


Apêndice 55 – Curva analítica do carbamato de etila em GC/MS



Barras verticais: desvio padrão (n=3 triplicata).

Apêndice 56 – Cromatogramas com o modo íon selecionado ( $m/z$  62) dos padrões de carbamato de etila em GC/MS nas concentrações: 0, 25, 100, 120, 150, 200, 400, 500, 700 e 1100  $\mu\text{g L}^{-1}$ .



## ANEXOS

Anexo 1 – Laudo de identificação das espécies das madeiras utilizadas para confecção dos tonéis de envelhecimento da cachaça.



Laboratório de Madeira e Produtos Derivados

1/2

### RELATÓRIO DE ENSAIO Nº 1 008 531 - 203

**CLIENTE:** Cecília Dantas Vicente  
Rua Dr. Pompeu de Miranda Sarmento, 163, apto 604 - Ponta Verde  
57035-050 - Maceió, AL

**NATUREZA DO TRABALHO:** Identificação Botânica.

**REFERÊNCIA:** Orçamento CT-FLORESTA/LMPD-384/10 de 7 de abril de 2010, aprovado em 7 de abril de 2010.  
Ficha de controle de ensaio nº 53/10.

#### 1 MATERIAL

Uma amostra fornecida pelo cliente constituída por 12 segmentos de madeira codificados pelo cliente como: castanheira 20L, ipê 20L, bálsamo 20L, carvalho 20L, jequitibá 20L, peroba 20L, umburana 20L, timborana 20L, jatobá 20L, castanheira 15 120L, carvalho 14 e jequitibá 30.

Segundo declaração do cliente os segmentos de madeiras foram extraídos de tonéis para armazenamento de cachaça.

#### 2 MÉTODO UTILIZADO

**2.1** Procedimento CT-FLORESTA-LMPD-ID-PE-001 - "Identificação botânica de madeiras". De acordo com esse método, a identificação botânica foi obtida pelo processo macroscópico e microscópico de exame da anatomia do lenho.

**2.2** Os equipamentos, instrumentos e dispositivos utilizados no ensaio foram:

| Descrição  | Código    |
|--|-----------|
| faca para polimento                                      | não há    |
| lupa conta fios (10 vezes de aumento)                    | não há    |
| micrótomo de deslize, Tipo B 111176, Reichert            | ID-MT-002 |
| microscópio óptico, Jenamed 2 Histology, Carl Zeiss Jena | ID-MC-007 |

Observação: equipamentos não calibráveis.

#### 3 RESULTADOS

- 3.1** segmento: castanheira 20L,  
nome popular: cedrinho,  
nome científico: *Erismia uncinatum*, Vochysiaceae.
- 3.2** segmento: ipê 20L,  
nome popular: peroba-do-campo,  
nome científico: *Paratecoma peroba*, Bignoniaceae.
- 3.3** segmento: bálsamo 20L,  
nome popular: cabriúva-vermelha,  
nome científico: *Myroxylon balsamum*, Leguminosae.
- 3.4** segmentos: carvalho 20L e carvalho 14,

**Atenção:** Este é um arquivo digital para consulta. O original deste Relatório de Ensaio, impresso em papel com a marca d'água IPT e devidamente assinado, é o único documento que possui validade legal.

Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo S.A. – IPT  
Av. Prof. Almeida Prado, 532 – Butantã – 05508-901- São Paulo – SP – Tel: (11) 3767-4000 – [www.ipt.br](http://www.ipt.br)  
Serviço de Atendimento ao Cliente – SAC – Tel: (11) 3767-4126, 3767-4456 e 3767-4744 – Fax(11) 3767-4002 – [sac@ipt.br](mailto:sac@ipt.br)

nome popular: carvalho,  
nome científico: *Quercus* sp., Fagaceae.

**3.5** segmentos: jequitibá 20L e jequitibá 30,  
nome popular: jequitibá,  
nome científico: *Cariniana* sp., Lecythidaceae.

**3.6** segmento: peroba 20L,  
nome popular: itaúba,  
nome científico: *Mezilaurus itauba*, Lauraceae.

**3.7** segmento: umburana 20L,  
nome popular: cerejeira,  
nome científico: *Amburana cearensis*, Leguminosae.

**3.8** segmento: timborana 20L,  
nome popular: timborana,  
nome científico: *Piptadenia* sp., Leguminosae.

**3.9** segmento: jatobá 20L,  
nome popular: jatobá,  
nome científico: *Hymenaea* sp., Leguminosae.

**3.10** segmento: castanheira 15 120L,  
nome popular: castanheira,  
nome científico: *Bertholletia excelsa*, Lecythidaceae.

Parte dos segmentos de madeira recebidos encontra-se à disposição do cliente. Os segmentos não retirados até 60 dias da data de emissão deste Relatório de Ensaio serão descartados pelo Laboratório.

São Paulo, 23 de abril de 2010.

CENTRO DE TECNOLOGIA DE RECURSOS FLORESTAIS  
Laboratório de Madeira e Produtos Derivados

Mestre em Ciência e Tecnologia de Madeiras  
Maria José de A. C. Miranda  
Responsável pelo Laboratório  
CRA nº 15245 - RE nº 6121.8

#### EQUIPE TÉCNICA

Maria José de A. C. Miranda - Pesquisadora  
Raphael Jaquier Bossler Pigozzo – Assistente de pesquisa  
Antonio Carlos Franco Barbosa - Técnico  
Claudia Janice Colombelli Agostini - Técnica  
Francisco Pereira da Silva – Técnico  
Richard Kleiber Soares – Técnico

**Atenção:** Este é um arquivo digital para consulta. O original deste Relatório de Ensaio, impresso em papel com a marca d'água IPT e devidamente assinado, é o único documento que possui validade legal.

Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo S.A. – IPT  
Av. Prof. Almeida Prado, 532 – Butantã – 05508-901- São Paulo – SP – Tel: (11) 3767-4000 – [www.ipt.br](http://www.ipt.br)  
Serviço de Atendimento ao Cliente – SAC – Tel: (11) 3767-4126, 3767-4456 e 3767-4744 – Fax(11) 3767-4002 – [sac@ipt.br](mailto:sac@ipt.br)