



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
ESCOLA DE ENGENHARIA  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA  
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO EM ENGENHARIA  
QUÍMICA



# Estudo da influência de ultrassom e temperatura no processo de envelhecimento de cachaça

*Autora: Cinthia Lopes*

*Orientadores: Prof<sup>a</sup>. Dra. Luciane Ferreira Trierweiler e*

*Prof. Dr. Marcelo Farenzena*

*Coorientadores: Msc. Débora Gonçalves Carvalho e*

*Dr. Lucas Ranzan*

Porto Alegre, dezembro de 2021

Autora: Cinthia Lopes

## Estudo da influência de ultrassom e temperatura no processo de envelhecimento de cachaça

*Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à COMGRAD/ENQ da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como parte dos requisitos para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia Química*

Orientadores: Prof<sup>a</sup>. Dra. Luciane Ferreira Trierweiler e Prof. Dr. Marcelo Farenzena  
Coorientadores: Msc. Débora Gonçalves Carvalho e Dr. Lucas Ranzan

Banca Examinadora:

Prof<sup>a</sup>. Dra. Júlia Ribeiro Sarkis, UFRGS

Msc. Caroline Trevisan Weber, UFRGS

Porto Alegre

2021

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha mãe, Claudete, e à minha madrinha, Sandra, por todo amor, apoio e por me ensinarem desde cedo a importância da educação. Vocês são meus maiores exemplos. Aos meus tios, Cláudio e Jorge, por todo carinho incondicional dado durante suas vidas e após elas também.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul pela educação pública e de qualidade. A meus orientadores, prof.<sup>a</sup> Luciane e prof. Farenzena, por todos os ensinamentos, pela disponibilidade e pela ajuda durante este período. Ao Lucas, meu coorientador, pelas ótimas sugestões e pela confiança. À Debora, minha coorientadora, pela motivação, dedicação e pelo imensurável suporte oferecido durante todas as etapas deste trabalho. Ao prof. Jorge pelos muitos aprendizados e pelas oportunidades dadas.

A todos amigos que, de alguma forma, fizeram parte desta jornada. Vocês contribuíram para que eu me tornasse quem sou hoje e estarão sempre em meu coração. Ao Gustavo, ao Douglas e ao Daniel por todas as conversas, risadas, vivências e por estarem comigo nos melhores e piores momentos. À Blume pela incrível amizade e por todos os momentos compartilhados. À Júlia, minha primeira amiga na Engenharia, por toda a parceria durante a graduação. Eu não teria chegado tão longe sem vocês.

Por fim, agradeço a todos aqueles que lutam pela democratização do Ensino Superior e pelo fortalecimento das Universidades Públicas.

## RESUMO

O consumo de bebidas alcoólicas tem sofrido mudanças nos últimos anos, com um aumento na busca de produtos diferenciados e de melhores características sensoriais. Tradicionalmente, o processo mais comum utilizado para enriquecer bebidas sensorialmente é o envelhecimento. Apesar de seus benefícios, sofre com elevados custos associados, tempo de operação, e também com o baixo controle operacional. Os principais indicadores químicos do processo do envelhecimento são os compostos fenólicos, extraídos da madeira. A quantificação destes compostos é usualmente feita através de técnicas destrutivas, que requerem preparação da amostra, uso de solventes e longo tempo de análise. Neste trabalho, investigam-se métodos alternativos para realizar o envelhecimento de cachaça, utilizando *chips* de Amburana (*Amburana cearensis*) e submetendo as amostras a influência de ultrassom e de aquecimento, de forma a reduzir o tempo necessário para incorporação de compostos de interesse à bebida. Avalia-se também o método alternativo para quantificação de fenólicos proposto por Carvalho *et al.* (2020), que se baseia na espectroscopia por fluorescência. Além disso, todas as amostras envelhecidas foram analisadas pelo método de Folin-Ciocalteu, tradicional para quantificação fenólica total. Os resultados encontrados mostram que, para o envelhecimento não convencional, o ultrassom e aumentos de temperatura podem individualmente acelerar a extração de fenólicos às bebidas, com destaque para a influência da temperatura. Mantendo-se os pares de Excitação/Emissão descritos pelos autores, o método baseado em espectroscopia por fluorescência mostra-se originalmente pouco sensível para a quantificação de compostos fenólicos totais das amostras envelhecidas não tradicionalmente, tornando-se compatível somente após uma reparametrização no modelo.

**Palavras-chave:** *Compostos fenólicos, ultrassom de baixa frequência, fluorescência 2D, cachaça, Amburana*

## ABSTRACT

The consumption of alcoholic beverages has changed in the past years, with an increase in search for distinct products with improved sensory characteristics. Traditionally, the most common process used to sensorially enrich beverages is aging. Despite its benefits, it suffers with high associated costs, high operating time, and low operational control. The main chemical indicators during the aging process are phenolic compounds extracted from wood. The quantification of these compounds is usually done through destructive techniques that require sample preparation, large use of solvents, and long analysis time. In this work, alternative methods to *cachaça* aging are investigated, using *Amburana* chips (*Amburana cearensis*) and treating samples with ultrasound and heating; aiming to reduce the necessary time for phenolic compounds to be incorporated to the beverage. The method for phenolic quantification proposed by Carvalho *et al.* (2020), based on fluorescence spectroscopy, is also evaluated. In addition, all aged samples were analyzed by the traditional Folin-Ciocalteu method, for total phenolic quantification. The results show that, for unconventional aging, ultrasound and temperature increases can each accelerate the extraction of phenolics compounds, with temperature having the largest influence. When keeping the Excitation/Emission pairs described by the authors, the fluorescence spectroscopy-based method was originally not very sensitive to the quantification of total phenolic compounds in samples unconventionally aged, becoming more compatible only after a reparameterization in the model.

**Keywords:** *Phenolic compounds, low-frequency ultrasound, 2D fluorescence, cachaça, Amburana*

## LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1: Fluxograma do processo produtivo de cachaça .....	4
Figura 2.2: Efeitos do processo de envelhecimento .....	6
Figura 2.3: Degradação da lignina e formação de compostos fenólicos.....	7
Figura 2.4: Principais compostos fenólicos extraídos do Carvalho no processo de envelhecimento tradicional.....	9
Figura 2.5: Reação entre ácido gálico e reagente Folin- Ciocalteu em meio básico .....	9
Figura 2.6: Diagrama de Jablonski para um sistema fotoluminescente.....	11
Figura 2.7: Fenômeno de cavitação induzida por ultrassom .....	12
Figura 2.8: Influência da cavitação na liberação de solutos de uma matriz vegetal ao meio..	13
Figura 2.9: Equipamentos utilizados em operações com ultrassom.....	14
Figura 3.1: Lascas de Amburana de tosta média e granulometria variada.....	15
Figura 3.2: Equipamentos utilizados: (A) Banho ultrassônico e (B) Banho Maria.....	16
Figura 3.3: Validação cruzada em k dobras .....	18
Figura 4.1: Amostra envelhecidas à 41°C em banho ultrassônico de 40 kHz .....	19
Figura 4.2: Concentração de fenólicos totais em cachaças envelhecidas sob diferentes configurações: (A) à temperatura ambiente e sem ultrassom, (B) envelhecimento com ultrassom e à temperatura ambiente, (C) envelhecimento com aquecimento e sem ultrassom, (D) envelhecimento com ultrassom e com aquecimento .....	20
Figura 4.3: Espectros de Fluorescência de amostras envelhecidas à 41°C em banho ultrassônico de 40 kHz.....	23
Figura 4.4: Compostos fenólicos totais reais e previstos por: (A) modelo SG1 e (B) modelo SG1 com fator de correção .....	24
Figura 4.5: Compostos fenólicos totais reais e previstos pelos modelos: (A) P1 e (B) P2 .....	26
Figura 1.A: Espectros de Fluorescência: A) Cachaça sem envelhecimento, B) Cachaça envelhecida com concentração de 1561 mg EAG L <sup>-1</sup> , C) 5 mg EAG L <sup>-1</sup> , D) 10 mg EAG L <sup>-1</sup> , E) 20 mg EAG L <sup>-1</sup> , F) 25 mg EAG L <sup>-1</sup> , G) 50 mg EAG L <sup>-1</sup> , H) 75 mg EAG L <sup>-1</sup> .....	35

## LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1: Composição química e requisitos de qualidade da aguardente de cana e da cachaça estabelecidos pela legislação brasileira .....	4
Tabela 4.1: Teor de compostos fenólicos de cachaça envelhecida à 41°C em banho ultrassônico de 40 kHz .....	22
Tabela 4.2: Métricas encontradas para modelo reparametrizados .....	25
Tabela 1.A: Métricas para modelos preditivos baseados em Fluorescência .....	34

## SUMÁRIO

1	Introdução	1
2	Revisão Bibliográfica	3
2.1	Cachaça	3
2.2	Envelhecimento	5
2.3	Compostos Fenólicos	8
2.3.1	Técnicas para identificação e quantificação de compostos fenólicos	8
2.3.2	Espectroscopia por fluorescência	10
2.4	Ultrassom	12
3	Materiais e Métodos	15
3.1	Cachaça e Madeira	15
3.2	Envelhecimento não convencional	15
3.3	Análise de compostos fenólicos totais	16
3.4	Método alternativo para quantificação de fenólicos utilizando Espectroscopia por Fluorescência	17
3.4.1	Preparação de amostras	17
3.4.2	Análises	17
4	Resultados	19
4.1	Envelhecimento não convencional	19
4.2	Análise de compostos fenólicos por espectroscopia de fluorescência	22
4.2.1	Avaliação do Modelo Preditivo	24
5	Conclusões e Trabalhos Futuros	27
	REFERÊNCIAS	29
	ANEXO A	34



## 1 Introdução

A indústria de bebidas alcoólicas possui grande importância econômica e cultural no país e no mundo. Em 2020, o mercado foi caracterizado por uma forte contração devido à pandemia. Mundialmente, foram produzidos cerca de 241 bilhões de litros de bebida, marcando uma queda de 6% com relação ao ano anterior. Apesar desta contração, as perspectivas são que a indústria tenha um crescimento significativo nos próximos anos, com o aumento da população vacinada e conseqüentemente a retomada de atividades sociais regulares. O Brasil destaca-se neste cenário, sendo um dos países com maior perspectiva de recuperação e crescimento do setor, principalmente pela grande adesão da população à vacinação (Euromonitor, 2021).

Nos últimos anos, o mercado nacional tem sido marcado por uma mudança no perfil do consumidor, que tem optado por adquirir menos, mas com maior qualidade. O consumo de cerveja, usualmente o maior dentre as bebidas alcoólicas, tem perdido espaço para o consumo de bebidas destiladas, bebidas prontas para beber e bebidas consideradas “*premium*”, sendo estes os segmentos de maior crescimento dentro da indústria (VIANA, 2020). A fim de atender este público, buscam-se cada vez mais novas estratégias para a produção de bebidas diferenciadas.

Com esta tendência, o consumo de cachaças com características sensoriais diferenciadas tem se destacado, ganhando espaço entre outros destilados nobres. A cachaça é uma das bebidas mais importantes para a indústria e para a cultura do Brasil, sendo considerada a bebida nacional por Decreto Federal, além de Patrimônio Cultural de Minas Gerais por Lei Estadual e Patrimônio Histórico e Cultural do Rio de Janeiro por Lei Estadual (BRAGA; KIYOTANI, 2015). Não se restringindo ao mercado do país, a cachaça é o terceiro destilado regional mais consumido no mundo, e sua exportação representa uma das principais fontes de receita para os produtores (FAULIN; SERIGATI; PINTO, 2020).

O envelhecimento é uma das técnicas mais antigas empregadas para o enriquecimento sensorial da cachaça, podendo ser aplicado também a uma variedade de produtos, como uísques, licores, vinhos e outro destilados regionais. Tradicionalmente, o processo consiste no armazenamento da bebida em barris de madeira, onde mudanças físico-químicas levam à incorporação de diversos compostos ao produto. Apesar de seus benefícios, esta técnica muitas vezes não é empregada devido a fatores econômicos, ao elevado tempo de operação – que pode chegar a décadas – e às dificuldades associadas no acompanhamento dos parâmetros do processo (MOSEDALE; PUECH, 1998).

Diferentes alternativas têm sido utilizadas para otimizar o processo de envelhecimento. Modificações relacionadas ao casco, como a substituição de barris tradicionais por cascos com revestimento interno ou uso de cascos metálicos combinados a *chips* de madeira podem aumentar a vida-útil dos recipientes de processo, levando a um menor impacto ambiental e investimento necessário. Além disso, pode-se associar estas modificações a tecnologias que intensifiquem a extração de componentes orgânicos à bebida, como o uso de irradiação por microondas, tratamento por pulsos elétricos ou por ultrassom (GARCÍA-ALCARAZ et al., 2020; TAO; ZHANG; SUN, 2014).

Inicialmente, o uso de ultrassom na indústria de alimentos restringia-se à esterilização de produtos e superfícies, devido a seu comportamento destrutivo à microorganismos. Nos últimos anos, ele tem se tornado parte de múltiplos processos, como tratamento de grãos, emulsificação de soluções, cristalização, estimulação de atividade biológica e intensificação de extrações. No último caso, seu uso está associado às propriedades mecânicas da onda, que causam alterações a paredes vegetais e estimulam a transferência de massa, levando a produtos com maior concentração de componentes orgânicos de interesse, como proteínas, ácidos e compostos fenólicos (MASON; PANIWNYK; LORIMER, 1996).

Os compostos fenólicos são os principais indicadores de qualidade de bebidas e alimentos envelhecidos, agregando valor sensorial aos produtos. Ainda, segundo a legislação brasileira, a diferenciação entre cachaças regulares e cachaças premium está na quantidade destes compostos (BRASIL, 2005). A quantificação de compostos fenólicos é feita usualmente através de técnicas espectrofotométricas ou cromatográficas. Técnicas espectrofotométricas são em grande parte destrutivas e necessitam de diversas etapas para preparação de amostras, implicando em um alto tempo de análise e elevado custo associado. Métodos cromatográficos, por sua vez, são realizados somente por operadores qualificados, requerem quantias significativas de solvente e equipamentos específicos, implicando também em altos custos associados (CARVALHO, 2019).

Considerando a perspectiva de crescimento do mercado e a mudança no perfil do consumidor, a produção de bebidas diferenciadas tem o potencial de se tornar foco de investimentos dentro do ramo. Assim, a criação de novos processos, e a otimização daqueles já existentes, tornam-se essenciais. Com isso, o objetivo geral deste trabalho é investigar o uso de *chips* de madeira associado ao ultrassom e ao aquecimento como novas alternativas ao envelhecimento tradicional, visando reduzir o tempo do processo e facilitar seu emprego. Avalia-se também a aplicação de um método alternativo para quantificação de compostos fenólicos totais, a fim de otimizar o controle dos produtos obtidos.

Como objetivos específicos, pode-se mencionar:

- Quantificar compostos fenólicos totais de amostras envelhecidas com *chips* de Amburana sob os efeitos de ultrassom, aquecimento, ultrassom com aquecimento e sob temperatura ambiente.
- Comparar as concentrações obtidas em cada configuração e avaliar a influência dos parâmetros ultrassom e temperatura.
- Comparar as concentrações relatadas na literatura para o envelhecimento convencional e àquelas obtidas no presente estudo.
- Avaliar a compatibilidade do método desenvolvido por CARVALHO *et al.* (2020) para quantificação de compostos fenólicos por espectroscopia por fluorescência com amostras envelhecidas não convencionalmente.

## 2 Revisão Bibliográfica

### 2.1 Cachaça

A cachaça é uma bebida destilada típica brasileira, derivada da cana-de-açúcar e sendo reconhecida na literatura como elemento essencial para a construção da identidade nacional (BRAGA; KIYOTANI, 2015). A teoria mais aceita sobre sua origem considera que, no século XVII, pessoas escravizadas consumiram a espuma produzida na fervura da cana-de-açúcar e descobriram acidentalmente o que se tornaria a cachaça (BARBOSA, 2014). Sua popularidade cresceu entre a comunidade local e, com interesse em aumentar a produção da bebida, portugueses teriam aplicado ao mosto da cana-de-açúcar as mesmas técnicas de destilação utilizadas na produção de vinhos, dando origem ao processo de obtenção da cachaça (TRINDADE, 2006).

Em 2020, a cachaça foi exportada para 70 países, gerando uma receita de US\$9,52 milhões e sendo o terceiro destilado regional mais consumido no mundo. Neste mesmo ano, o Brasil contava com 1.131 produtores de cachaça, com capacidade total de produção de aproximadamente 1,2 bilhão de litros anuais, mas efetivamente produzindo abaixo de 800 milhões de litros. Internacionalmente, os principais países consumidores foram os Estados Unidos, a Alemanha, a França, o Paraguai e a Itália, enquanto nacionalmente destaca-se o consumo em São Paulo, Pernambuco, Rio de Janeiro, Ceará, Bahia e Minas Gerais (IBRAC, 2021).

De acordo com a Instrução Normativa nº 13 de 2005, cachaça é a denominação exclusiva da aguardente de cana produzida no Brasil, com graduação alcoólica entre 38% e 48% – em volume por volume – obtida pela destilação do mosto fermentado do caldo de cana-de-açúcar e com características sensoriais peculiares, podendo ter açúcares adicionais em concentrações de até 6 g L<sup>-1</sup>, expressos em sacarose (BRASIL, 2005). A legislação determina também os limites de cada componente químico, exibidos na Tabela 2.1, para garantir a qualidade da bebida.

A produção de cachaça pode ser resumida nos seguintes estágios: preparação da matéria-prima, extração do caldo e fermentação, destilação e repouso. Inicialmente, a cana de açúcar é lavada e prensada para extração de seu caldo, que em sequência passa por processos de filtração e decantação para eliminação de impurezas. Após isso, o caldo purificado segue para a fermentação, onde seus açúcares são convertidos principalmente em etanol e dióxido de carbono (BOGUSZ et al., 2006).

O produto da fermentação segue para a destilação, que pode ser contínua (em colunas de destilação contínuas) ou descontínua (em alambiques). Este produto é fracionado em “cabeça”, “coração” e “cauda”, sendo que as frações cabeça e cauda são usualmente descartadas, podendo também ser reutilizadas para produção de etanol combustível, enquanto a fração coração irá dar origem à cachaça comercial, representando de 80 a 85% do volume total de destilado e possuindo um teor alcoólico entre 40 e 48% (MEIRELES et al., 2010). A cachaça pode ser comercializada imediatamente sua destilação, sendo conhecida neste caso como “cachaça verde”, ou passar por uma etapa de descanso, para estabilização das reações químicas iniciadas na fermentação ou destilação, que dura normalmente entre dois e três meses (CARVALHO, 2019; SILVA, 2009).

Tabela 2.1: Composição química e requisitos de qualidade da aguardente de cana e da cachaça estabelecidos pela legislação brasileira

Componente	Máximo	Mínimo	Unidade
Acidez volátil, em ácido acético	150	-	mg por 100 mL de álcool anidro
Ésteres totais, em acetato de etila	200	-	mg por 100 mL de álcool anidro
Aldeídos totais, em acetaldeído	30	-	mg por 100 mL de álcool anidro
Furfural e Hidroximetilfurfural	5	-	mg por 100 mL de álcool anidro
Álcoois superiores <sup>1</sup>	360	-	mg por 100 mL de álcool anidro
Congêneres <sup>2</sup>	650	250	mg por 100 mL de álcool anidro
Álcool metílico	20	-	mg por 100 mL de álcool anidro
Carbamato de etila	150	-	mg por L de bebida
Acroleína	5	-	mg por 100 mL de álcool anidro
Álcool sec-butílico	10	-	mg por 100 mL de álcool anidro
Álcool n-butílico	3	-	mg por 100 mL de álcool anidro
Cobre (Cu)	5	-	mg por L de bebida
Chumbo (Pb)	200	-	µg por L de bebida
Arsênio (As)	100	-	mg por L de bebida

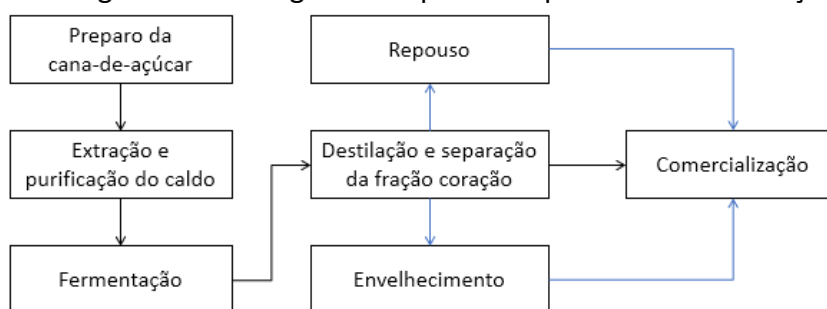
Fonte: BRASIL (2005)

<sup>1</sup> Soma dos álcoois isobutílico, isoamílicos (2-metil-1butanol e 3-metil-1 butanol) e n-propílico (1-propanol).

<sup>2</sup> Soma da acidez volátil, aldeídos, ésteres totais, furfural e hidroximetilfurfural e álcoois superiores.

Antes de sua comercialização, é possível também realizar o processo de envelhecimento para melhora de suas qualidades sensoriais, sendo uma etapa opcional. Atualmente, considera-se cachaça envelhecida a bebida que contiver, no mínimo, cinquenta por cento de aguardente de cana envelhecida por período não inferior a um ano, sendo necessária a presença de compostos fenólicos na mesma. Além disso, os únicos aditivos permitidos durante o processo são caramelo e água, sendo vetada o uso de materiais como extratos ou lascas de madeira (BRASIL, 2005). Na Figura 2.1, ilustra-se as etapas do processo produtivo da cachaça, descritas previamente, sendo que as configurações operacionais de cada etapa podem levar a alterações químicas e sensoriais no produto final, o que resulta em grande diversidade de cachaças dentro do mercado (FARIA, 2012).

Figura 2.1: Fluxograma do processo produtivo de cachaça



Fonte: Autoria Própria

O processo de envelhecimento e as especificações relacionadas à cachaça são considerados bastante rígidos, e discussões sobre a modernização das indústrias e da legislação têm sido levantadas nos últimos anos, buscando impulsionar este mercado. Prevê-se que a Normativa nº 13 de 2005 sofra alterações ainda durante o ano de 2021, refletindo a consulta pública realizada sobre alterações dos termos, onde se sugere alterações nos limites de carbamato de etila permitidos, nas especificações do rótulo, no teor alcoólico de aguardentes que podem ser envelhecidas e na permissão do uso de *chips* de madeira (BRASIL, 2021). Com isso, o uso de novas rotas tecnológicas para a produção de cachaças podem se popularizar dentro da indústria.

## 2.2 Envelhecimento

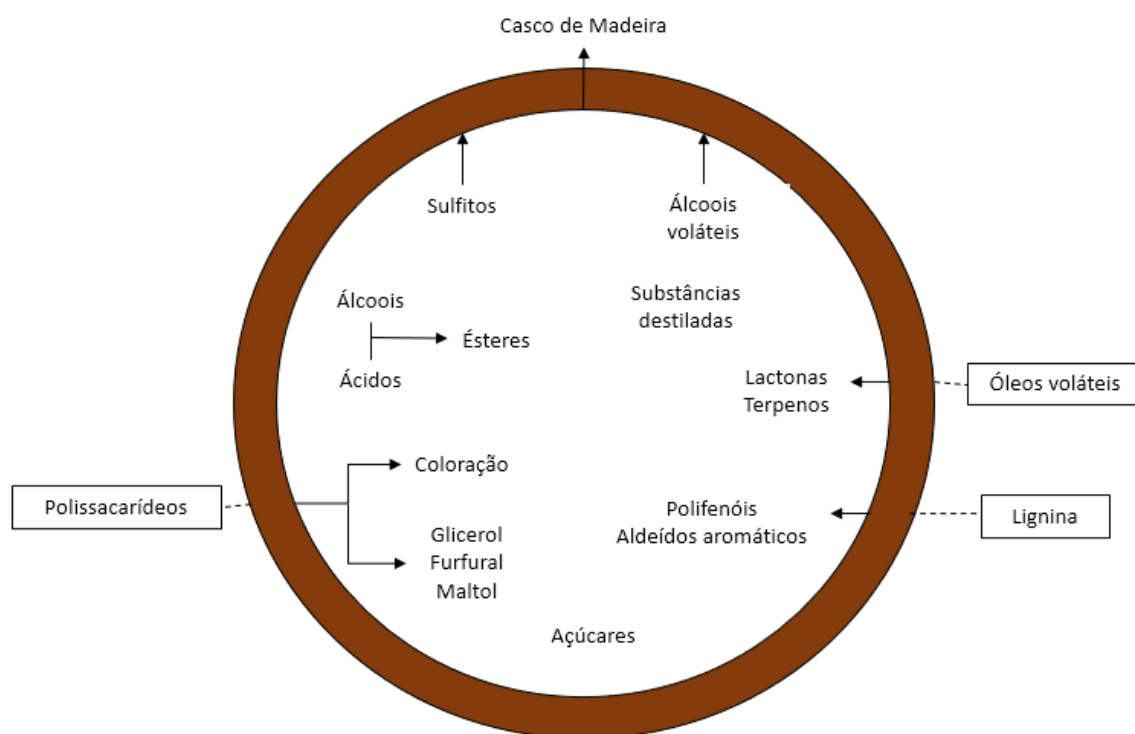
O envelhecimento, ou maturação, é um processo caracterizado por mudanças na cor, aroma e sabor da bebida, podendo levar também a uma leve diminuição de seu volume e teor alcoólico. O processo tradicional consiste no armazenamento do produto destilado em barris de madeira por tempo determinado e em condições adequadas (MILLER, 2019). As mudanças na composição da bebida ocorrem devido a diferentes efeitos, classificados em: extração de componentes da madeira, reações químicas envolvendo substâncias do destilado assim como substâncias da madeira, evaporação de componentes voláteis e alterações de propriedades da solução, como o pH, que afetam a liberação de compostos aromáticos (MOSEDALE; PUECH, 1998; PIGGOTT; CONNER, 2003).

Na Figura 2.2, ilustram-se as principais modificações ocorrendo com o sistema durante o processo de envelhecimento. A superfície interna do barril, rica em carbono, é capaz de absorver substâncias sensorialmente desagradáveis, como sulfitos, permitindo também a evaporação de álcoois voláteis devido a sua porosidade. Ao mesmo tempo, múltiplos compostos orgânicos de interesse são liberados à bebida. O furfural, por exemplo, está associado a coloração e sabor amadeirados; maltol e glicerol levam a sabores adocicados e a bebidas mais encorpadas. Compostos ácidos liberados, como taninos hidrolisáveis, sofrem reações oxidativas com os álcoois já presentes no meio e levam à formação de ésteres, que têm baixo limiar de odor e características normalmente de agradáveis de sabor. Assim, cada composto incorporado à bebida leva a um aumento na complexidade sensorial do produto final (PALMER, 2016; SILVA et al., 2020).

No envelhecimento tradicional, considerações sobre a área de contato são feitas em conjunto com o volume total do barril: volumes maiores implicam em uma maior vida-útil e em maiores quantias de bebidas processadas, sendo, portanto, economicamente favoráveis; volumes menores facilitam a movimentação e o armazenamento dos cascos, porém limita-se a quantia de produto a ser processada no intervalo de tempo (PRIETO et al., 2002). Por outro lado, quanto maior a área de contato do barril, mais intensos serão os efeitos difusivos do processo, levando a uma maior incorporação de compostos orgânicos da madeira à bebida. Isto pode ser explicado pela Lei de Fick, dada pela Equação (2.1), onde a quantidade de soluto transportada por unidade de tempo ( $\dot{q}$ ) é igual ao coeficiente de difusão ( $D$ ) multiplicado pelo gradiente da concentração na direção do transporte ( $\frac{dC}{dx}$ ) e pela área perpendicular à mesma ( $A$ ). Assim, cascos com uma maior razão área/volume podem levar a uma maior concentração de componentes de interesse no produto final.

$$\dot{q} = -D A \frac{dC}{dx} \quad (2.1)$$

Figura 2.2: Efeitos do processo de envelhecimento



Fonte: Adaptado de PALMER (2016)

A madeira mais utilizada na construção de barris para envelhecimento de bebidas é o Carvalho, se restringindo às espécies do gênero *Quercus*. De forma geral, essa madeira é considerada atrativa para o envelhecimento devido a suas características operacionais: durabilidade, impermeabilidade, baixa umidade e quantidade desejável de compostos extraíveis (PETROZZIELLO et al., 2020). Por se tratar de uma madeira nobre, típica do Hemisfério Norte, o custo do Carvalho pode ser elevado no Brasil, tornando a substituição por madeiras nacionais atrativa (DIAS; MAIA; NELSON, 1998).

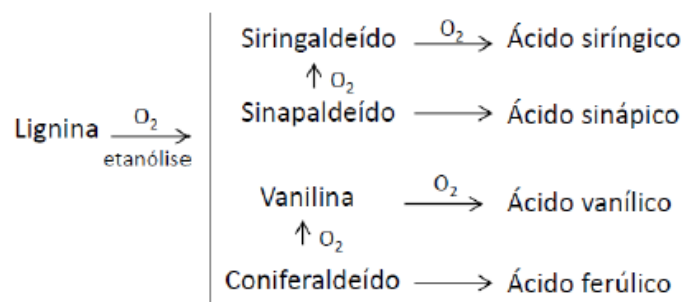
BORTOLETTO e ALCARDE (2013) relatam que o envelhecimento de cachaça em Amburana, Grábia, Jequitibá Rosa e Cabreúva apresenta potencial para substituição do processo tradicional em Carvalho, com agregação de uma variedade de compostos fenólicos aos produtos estudados. CATÃO *et al.* (2011), ao analisar os efeitos de diferentes madeiras na composição química de cachaças envelhecidas, constataram que o envelhecimento utilizando Bálamo, em comparação com aquele realizado com Carvalho, pode levar a perdas menores de etanol, redução na acidez e nas concentrações finais de metanol e álcoois superiores. Além disso, o Bálamo e a Amburana levam a produtos avaliados positivamente em análises sensoriais, incorporando às bebidas gosto, cor e sabor agradáveis.

Madeiras são constituídas essencialmente por hemicelulose, celulose e lignina. Encontram-se também, em menor concentração, compostos extrativos – como ácidos graxos, óleos voláteis e esteroides – e compostos não extrativos – material inorgânico, proteínas e substâncias pécticas (AQUINO, 2004). Com isso, uma das influências mais significantes no processo será o tipo de madeira empregado, já que sua composição química irá variar

conforme a espécie, os tratamentos realizados e o número de utilizações prévias (PIGGOTT; CONNER, 2003)

Dentre os componentes de madeira, destaca-se a lignina, cuja degradação é a principal origem de uma variedade de compostos de interesse. A lignina pode ser degradada durante o envelhecimento ou na preparação do casco. Em contato com a bebida, a degradação ocorre por hidrólise e por etanólise, enquanto tratamentos térmicos irão promover sua degradação prévia na madeira (CERNÍŠEV, 2017; CONNER; PATERSON; PIGGOTT, 1992). Os principais indicadores químicos do envelhecimento de diversas bebidas, como uísques, conhaques e cachaças, serão os compostos fenólicos obtidos a partir da degradação da lignina, ilustrados na Figura 2.3 (DE CASTRO et al., 2021).

Figura 2.3: Degradação da lignina e formação de compostos fenólicos



Fonte: PUESCH (1981)

A quantia de compostos disponíveis na madeira, para reação ou extração, diminui conforme ela é utilizada sucessivamente. Com isso, tem-se uma vida-útil limitada para cada casco, que pode variar entre 5 e 7 anos. A reutilização de cascos também irá impactar negativamente o envelhecimento através de outros fatores: (i) o material pode ser contaminado por microorganismos que prejudicam os atributos sensoriais da bebida e trazem riscos biológicos; (ii) sais minerais e pigmentos podem se depositar na madeira, o que reduz a porosidade do casco e minimiza o fluxo mássico por ele, reduzindo assim a evaporação de componentes da bebida e leva a maiores níveis de ésteres e ácidos voláteis (PRIETO et al., 2002).

O envelhecimento tradicional necessita de um alto investimento devido a diferentes fatores, como: custo de compra e manutenção do barril, vida útil limitada do casco, necessidade de amplo espaço físico e manutenção do produto. Com isso, tem-se ampliado o uso de técnicas alternativas para obtenção de produtos com qualidade sensorial semelhante. Dentre estas alternativas, pode se destacar o uso de lascas de madeira combinado a cascos metálicos – não perecíveis, ao contrário de cascos orgânicos –, representando uma via economicamente mais acessível (GARCÍA-ALCARAZ et al., 2020; PETROZZIELLO et al., 2020).

No envelhecimento utilizando *chips*, um dos principais fatores a ser considerado é a área de contato entre a madeira e a bebida, buscando aproximar-se ao máximo da operação tradicional, para obtenção de produtos semelhantes. Porém, diferenças são relatadas mesmo com um bom ajuste deste parâmetro. ARAPITSAS *et al.* (2004) compararam dois processos não convencionais, com *chips*, em que a área superficial total de madeira em contato com a bebida era mantida constante mas o tamanho dos *chips* era modificado, relatando que a

extração de certos compostos orgânicos, como o guaiacol, é dependente do tamanho dos *chips*. Além disso, ao avaliarem o envelhecimento utilizando barril comparativamente ao envelhecimento com *chips* de área superficial total semelhante, os autores relatam que os produtos finais obtidos apresentam variações na concentração de diversos componentes fenólicos, como o ácido siringaldeído, que teve uma concentração significativamente maior no envelhecimento não convencional.

De acordo com ORTEGA-HERAS *et al.* (2010), a concentração de antocianinas é uma das principais diferenças encontrada entre vinhos envelhecidos utilizando chips de madeira e aqueles envelhecidos em barril de mesmo material. Os autores relatam que o método alternativo pode levar a produtos de características sensoriais próximas as de produtos envelhecidos tradicionalmente por poucos meses. De forma semelhante, ORTÍN *et al.* (2008) constataram que a liberação de compostos fenólicos por chips é inicialmente intensa, estabilizando em sequência e decaindo após 3 meses. Com isso, o uso desta técnica pode fornecer produtos semelhantes àqueles obtidos com envelhecimento tradicional de curto tempo, ainda que com diferenças na composição de fenólicos. Porém, produtos envelhecidos tradicionalmente por um longo período possuem características que não são atingidas com o uso do método alternativo.

### 2.3 Compostos Fenólicos

Compostos fenólicos são substâncias antioxidantes que possuem um anel aromático ligado a uma ou mais hidroxilas, sendo divididos em dois grupos principais: flavonoides (como flavonas e antocianinas) e não-flavonoides (como ácidos fenólicos). São as substâncias de maior impacto sensorial em bebidas envelhecidas, junto com as lactonas, ácidos graxos, carotenoides e polissacarídeos (GRANATO *et al.*, 2016; HÍC *et al.*, 2021).

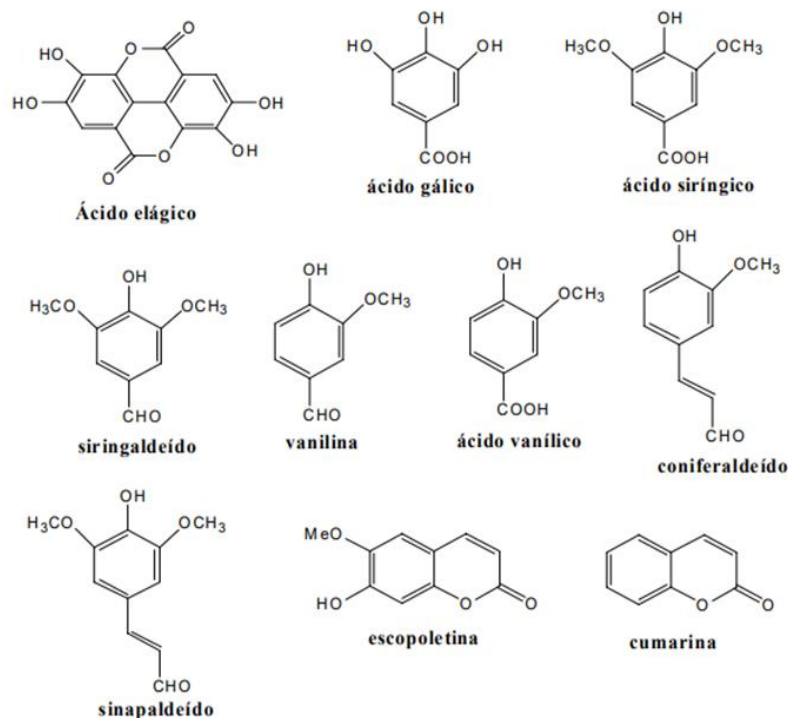
Os principais compostos fenólicos detectados em bebidas envelhecidas são o coniferaldeído, sinapaldeído, siringaldeído, cumarina e vanilina, que podem posteriormente ser convertidos em outros ésteres ou ácidos na solução (AQUINO, 2004). Na Figura 2.4, indica-se estes principais componentes assim como alguns de seus derivados, obtidos no envelhecimento realizado tradicionalmente utilizando Carvalho. É importante ressaltar que a madeira empregada no processo irá implicar em um perfil distinto de fenólicos no produto final (RODRIGUES, 2013).

#### 2.3.1 Técnicas para identificação e quantificação de compostos fenólicos

A quantificação de compostos fenólicos é realizada principalmente através da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC, do inglês *High Performance Liquid Chromatography*) e da Cromatografia Gasosa (GC, do inglês *Gas Chromatography*). Nessas técnicas cromatográficas, a amostra é transportada por uma fase móvel líquida e gasosa, respectivamente, através de uma fase estacionária imiscível e fixa. A diferença de mobilidade dos componentes em cada uma das fases leva a formação de bandas ou zonas discretas que são analisadas de forma qualitativa ou quantitativa. Estas técnicas permitem identificar e quantificar compostos fenólicos de forma específica, porém com um alto custo associado (KHODDAMI; WILKES; ROBERTS, 2013; SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2009). Além disso, as técnicas são consideradas invasivas, pois requerem a extração de amostras da matriz original, e destrutivas, pois estas amostras são destruídas durante a análise.



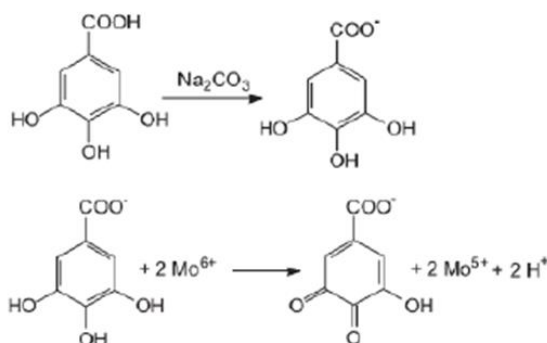
Figura 2.4: Principais compostos fenólicos extraídos do Carvalho no processo de envelhecimento tradicional



Fonte: RODRIGUES (2013)

Técnicas espectrofotométricas, como os métodos de Folin-Denis (F-D) e Folin-Ciocalteu (F-C), são muito utilizadas para a quantificação de compostos fenólicos totais. Os reagentes de Folin, que contêm tungstênio e molibdênio, são reduzidos ao entrar em contato com compostos fenólicos, formando complexos de cor azul que podem ser detectados em absorvâncias próximas a 760 nm. A Figura 2.5 ilustra essa reação para o reagente de Folin-Ciocalteu, que se difere por sua maior proporção de molibdênio, conferindo uma maior sensibilidade a técnica de F-C quando comparada à de F-D (SÁNCHEZ-RANGEL et al., 2013).

Figura 2.5: Reação entre ácido gálico e reagente Folin- Ciocalteu em meio básico



Fonte: OLIVEIRA et al. (2009)

Apesar de muito utilizadas, as técnicas de F-C e F-D requerem múltiplas etapas de preparação e são destrutivas a amostras, gerando resíduos químicos. Além disso, ambos os métodos podem sofrer desvios devido à presença de outros compostos redutores que interagem com o reagente de Folin, como ácido ascórbico e glicose, e não detectam todos

compostos fenólicos existentes. Assim, pode-se ter diferenças significativas entre os resultados obtidos por essas técnicas e aqueles obtidos por cromatografia (STALIKAS, 2007).

Diante disso, o estudo de alternativas não destrutivas para a quantificação de compostos fenólicos totais tem crescido nos últimos anos. CARVALHO *et al.* (2020) utilizaram espectroscopia por fluorescência, em conjunto com ferramentas quimiométricas, para desenvolver modelos preditivos de quantificação de compostos fenólicos totais em cachaças envelhecidas com Amburana, avaliando concentrações entre 0,1 e 1561,75 mg EAG L<sup>-1</sup>. Para melhorar a qualidade de previsão, os autores separaram as amostras em subgrupos, conforme a concentração, construindo modelos lineares distintos que utilizavam entre 2 e 5 variáveis. As variáveis empregadas foram pares de Emissão/Excitação selecionados através de métodos de otimização estocástica, do tipo Otimização de Colônias de Formigas (*Ant Colony Optimization* – ACO) (RANZAN, 2021).

O método por fluorescência não necessita da preparação prévia das amostras e não é destrutivo, tendo, portanto, potencial para ser aplicado diretamente no processo, com o uso de sensores específicos que façam a medição das variáveis de interesse de forma não invasiva, ou seja, sem a necessidade da retirada de amostras da matriz original. Com isso, seria possível acompanhar a concentração de compostos fenólicos durante o envelhecimento da bebida continuamente, sem a perda de produto.

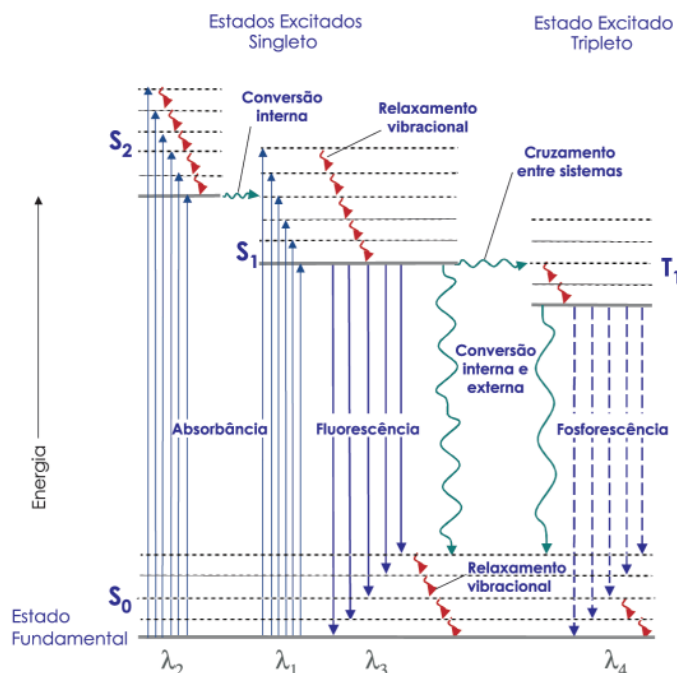
### 2.3.2 *Espectroscopia por fluorescência*

A absorção de radiação ótica em determinados comprimentos de onda – conhecidos como banda de excitação – e a emissão de parte desta radiação em outros comprimentos – banda de emissão – dá origem ao fenômeno geral da fotoluminescência. Este fenômeno pode ser dividido em fosforescência e fluorescência, distinguindo-se entre eles de acordo com o tipo de transição elétrica envolvida na emissão (ZWINKELS; DEROSE; LELAND, 2014).

O Diagrama de Jablonski, exibido na Figura 2.6, ilustra os níveis de energia de uma molécula fotoluminescente típica. Quando um de seus elétrons absorve energia e é excitado, a molécula transiciona rapidamente – entre 10<sup>-14</sup> e 10<sup>-15</sup> segundos – de seu estado eletrônico fundamental de energia (S<sub>0</sub>) para um estado eletrônico excitado singleto (S<sub>1</sub> ou S<sub>2</sub>). Em sequência, a molécula irá retornar ao seu estado eletrônico fundamental através de diferentes mecanismos. Caso a molécula retorne a seu estado S<sub>0</sub> diretamente a partir de um estado S<sub>1</sub> ou S<sub>2</sub>, emitindo um fóton de radiação, tem-se o fenômeno da fluorescência. Em algumas situações, porém, a molécula pode transicionar para um estado excitado tripleto (S<sub>3</sub>). Neste caso, o retorno ao estado S<sub>0</sub> será associado ao fenômeno da fosforescência (SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2009).

A diferença entre o tempo de emissão e de excitação é chamada de vida útil, estando normalmente entre 10<sup>-10</sup>–10<sup>-8</sup> s para a fluorescência, e entre 10<sup>-3</sup>–10 s para a fosforescência. Antes de retornar a seu estado fundamental, moléculas excitadas dissipam energia através de colisões com outras moléculas do meio. Com isso, a emissão passa a ter uma menor energia, traduzida em menores frequências e maiores comprimento de onda, do que a excitação, em um fenômeno chamado de deslocamento de Stokes (SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2009; ZWINKELS; DEROSE; LELAND, 2014).

Figura 2.6: Diagrama de Jablonski para um sistema fotoluminescente



Fonte: SKOOG; HOLLER; CROUCH (2009)

Em compostos fluorescentes, chamados fluoróforos, a fluorescência pode ser classificada em intrínseca, quando ocorre naturalmente, ou extrínseca, quando necessita de aditivos que alterem as propriedades espectrais da amostra. Em alimentos e bebidas, tem-se uma variedade de compostos fluorescentes, como: aminoácidos, polifenóis, flavinas, derivados de reações de Maillard, aditivos (como corantes e antioxidantes) e contaminantes (como aflatoxinas). Cada composto possui um espectro de fluorescência característico, que, em associação a técnicas quimiométricas, pode trazer informações sobre a composição da amostra. Com isso, a fluorescência tem se tornado uma importante ferramenta analítica para o controle de qualidade dentro da indústria de alimentos (LAKOWICZ, 2006).

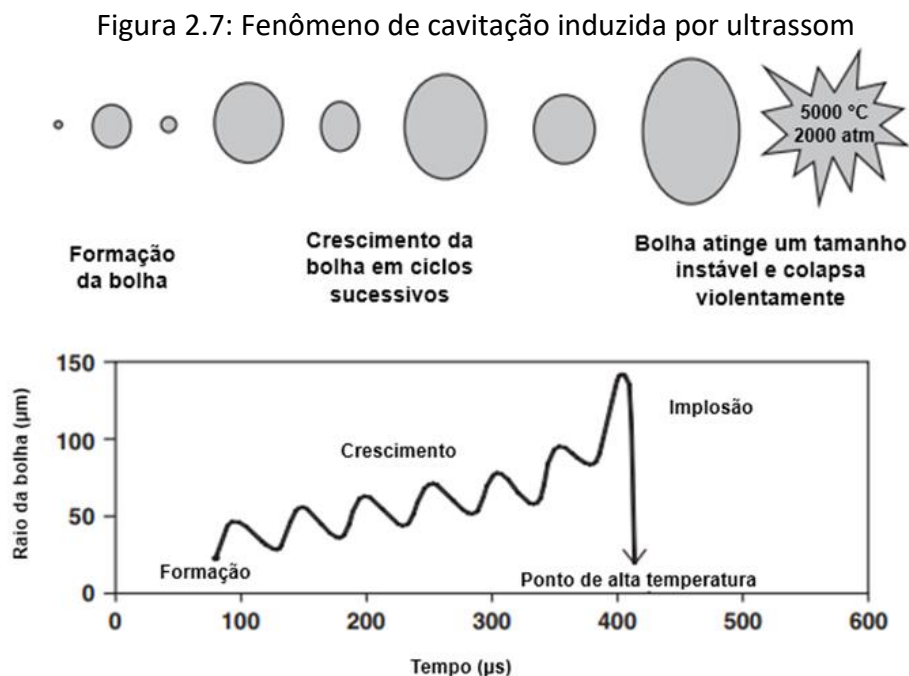
Os equipamentos utilizados para medição de fluorescência são os fluorímetros e os espectrofluorímetros. Ambos são constituídos por transdutores, uma fonte de excitação, um sistema computacional para cálculo dos valores obtidos, um seletor de emissão e um seletor de excitação. Distingue-se os fluorímetros dos espectrofluorímetros pelos seletores utilizados: filtros no primeiro e monocromadores no segundo (SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2009).

Na fluorescência, pode-se obter espectros de emissão, de excitação e de emissão-excitação (EEM). O espectro de emissão é obtido pela varredura dos comprimentos de onda de emissão, em um comprimento de onda de excitação fixo. Já um espectro de excitação é obtido mantendo o comprimento de emissão fixo e alterando-se o comprimento de excitação. O espectro EEM é obtido pela coleta simultânea de combinações entre comprimentos de onda de excitação e de emissão, com resultados sendo representados na forma tridimensional ou por gráficos de contorno (PATRA; MISHRA, 2002).

## 2.4 Ultrassom

Ultrassom refere-se a ondas sonoras com frequência acima de 16 kHz, ultrapassando o limite auditivo humano. Em suas aplicações, o ultrassom é normalmente dividido em alta frequência (2 – 10 MHz), ondas de baixa energia empregadas usualmente na medicina, e baixa frequência (20 – 1000 kHz), ondas de alta energia mais utilizadas na indústria (SILLANPÄÄ; PHAM; SHRESTHA, 2011).

Em líquidos, os efeitos produzidos por ultrassom são relacionados principalmente ao fenômeno da cavitação, ilustrado na Figura 2.7. As ondas sonoras se propagam em séries de compressões e rarefações nas moléculas do meio e, ao atingir energia suficiente, o ciclo de rarefação excede as forças atrativas das moléculas, formando bolhas de cavitação a partir de nucléolos de gás existentes no fluido. As bolhas formadas seguem crescendo ao longo dos próximos ciclos até atingirem dimensões instáveis e colapsarem de forma violenta, levando a regiões de temperaturas e pressões extremas (SORIA; VILLAMIEL, 2010).



Fonte: Adaptado de DE CASTRO e CAPOTE (2007)

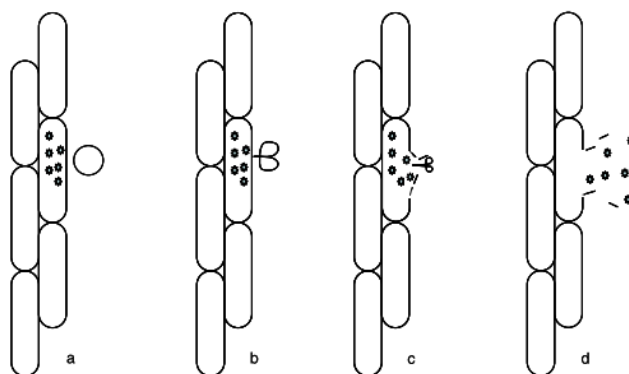
LORIMER e MASON (1987) descrevem o comportamento da cavitação como inversamente proporcional à frequência do ultrassom utilizado. Conforme a frequência aumenta, a produção de bolhas diminui e a cavitação é mais branda; conforme a frequência diminui, tem-se mais bolhas e uma cavitação mais violenta. Além disso, a viscosidade e a temperatura irão influenciar no fenômeno: líquidos viscosos dificultam a formação de bolhas e conseqüentemente a cavitação; maiores temperaturas levarão a mais nucléolos de gás formados em solução, favorecendo a formação de bolhas. Porém, a temperatura terá um valor ótimo conforme o meio reacional, que se ultrapassado pode dificultar a cavitação devido ao aumento da pressão de vapor.

A cavitação está associada a ocorrência de múltiplos fenômenos físicos e químicos em líquidos. As altas temperaturas derivadas do colapso de bolhas podem levar à degradação de moléculas de água, produzindo radicais livres  $H^+$  e  $OH^-$ , ambos altamente reativos e que

levam a múltiplas reações secundárias no meio. As alterações bruscas de volume em regiões do líquido durante a cavitação são vinculadas a elevadas forças de cisalhamento, que podem emulsificar líquidos originalmente imiscíveis. Além disso, o colapso de bolhas pode alterar as características do meio e facilitar reações de líquidos com superfícies sólida (SUSLICK, 1989). Assim, o ultrassom tem amplo emprego na indústria de alimentos, sendo utilizado em processos como cozimento, filtração, emulsificação, oxidação, cristalização e extração.

Diferentes estudos relatam o potencial do ultrassom para intensificar a extração de componentes vegetais (CARRERA et al., 2012; OROIAN; URSACHI; DRANCA, 2020; PALMA et al., 2021). A Figura 2.8 ilustra o mecanismo da cavitação nestes processos: uma bolha de cavitação formada próxima à parede vegetal (a), irá formar micro jatos de alta velocidade ao explodir (b, c), levando a uma ruptura na parede vegetal da matriz de extração, que sendo simultaneamente exposta a altas temperaturas locais, leva a maior liberação de compostos de interesse (d). Além de aumentar a liberação de componentes e a seletividade, o uso de ultrassom em processos extrativos também reduz o tempo de operação e o uso de solventes químicos, aumentando a qualidade do produto final e sendo uma alternativa ambientalmente vantajosa, com menor número de resíduos (CHEMAT; ZILL-E-HUMA; KHAN, 2011).

Figura 2.8: Influência da cavitação na liberação de solutos de uma matriz vegetal ao meio



Fonte: CHEMAT; ZILL-E-HUMA; KHAN (2011)

Tendo em vista que o envelhecimento se baseia principalmente na extração de componentes vegetais aos produtos, o potencial do ultrassom para o envelhecimento não convencional de alimentos e bebidas tem se tornado foco de estudos (COCITO; GAETANO; DELFINI, 1995; ELIZABETH ROGERSON, 2016; SORIA; VILLAMIEL, 2010). O ultrassom tem se mostrado um facilitador do processo tanto em casos dependentes somente da reação de compostos disponíveis previamente na bebida, como em processos dependentes da extração de componentes de madeira (CALDEIRA et al., 2004; CHANG, 2003).

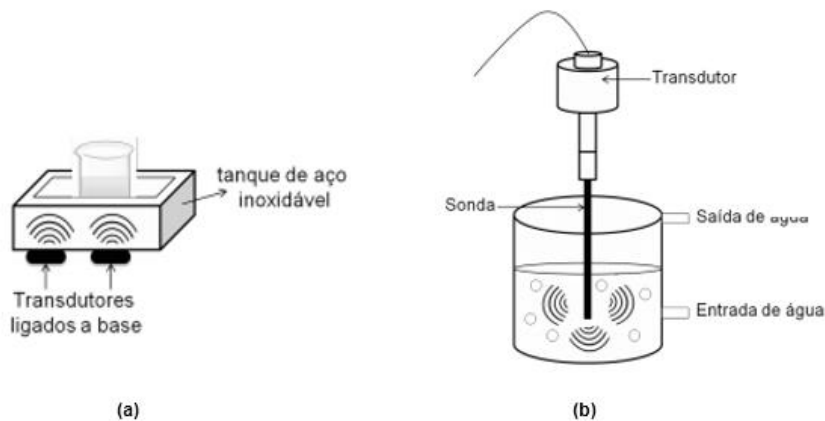
CHANG e CHEN (2002) avaliaram os efeitos de sucessivos tratamentos com ultrassom 20 kHz para acelerar o envelhecimento de bebidas chinesas derivadas do arroz e do milho, comparando-as com versões que repousaram tradicionalmente por um ano. Cada tratamento consistia na passagem do líquido por um canal onde placas vibracionais emitiam ultrassom e, em seguida, na posterior armazenagem deste em um tanque distinto. A bebida de arroz tratada 16 vezes com esse processo apresentou pH e teor alcoólico semelhantes àquela envelhecida tradicionalmente, mas com uma redução de aproximadamente 30% no teor acetaldeído, resultando em melhores características sensoriais. O vinho de milho submetido

ao tratamento ultrassônico, por outro lado, teve maiores níveis de álcoois fúseis e menor concentração de acetato de etila do que àquele envelhecido, compostos que trazem aromas desagradáveis ao produto.

JIMÉNEZ-SÁNCHEZ *et al.* (2020) avaliaram os efeitos do envelhecimento de vinagre de Jerez em barris de aço, utilizando 5 grama de lascas de madeira (Carvalho americano e Carvalho espanhol) por litro de líquido e empregando ultrassom de 28 kHz com o uso de uma sonda em cada barril. Paralelamente, realizou-se também o envelhecimento tradicional do vinagre em barris de madeiras correspondentes, para fins comparativos. Constatou-se que após 4 dias realizando ciclos intercalados de ultrassom e descanso (5 e 25 minutos para cada, respectivamente) já havia se obtido produtos semelhantes àqueles que passaram por um ano de envelhecimento tradicional, sendo que as características organolépticas de cada produto estavam associadas a madeira utilizada.

Utiliza-se principalmente dois tipos de dispositivos nas operações com ultrassom de baixa frequência: banho ultrassônico ou sondas, ilustrados respectivamente na Figura 2.9 (a) e (b). O banho ultrassônico é mais utilizado em escala laboratorial e tem um menor custo associado, porém apresenta algumas desvantagens, como: baixa reprodutibilidade, difícil controle de temperatura e perda de potência fornecida diretamente ao sistema analítico, dependendo do tipo e grossura do recipiente utilizado assim como da posição dele no banho. Sondas são equipamentos que evitam as desvantagens listadas para banhos, tendo maior intensidade ultrassônica – fornecida por uma superfície menor e diretamente ao meio analítico – maior controle do operador, maior adaptabilidade e diversidade comercial.

Figura 2.9: Equipamentos utilizados em operações com ultrassom



Fonte: Adaptado de VERRUCK; PRUDENCIO (2018)

### 3 Materiais e Métodos

Todos os ensaios descritos neste item foram realizados no Laboratório de Controle e Integração de Processos (LACIP) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

#### 3.1 Cachaça e Madeira

Neste estudo, foi utilizada a cachaça não envelhecida comercial da marca 51<sup>®</sup>, com teor alcoólico de 39% (v/v). Para realização do envelhecimento foram utilizadas lascas (*chips*) de Amburana (*Amburana Cearenses*) com tosta média e granulometria variada, exibidas na Figura 3.1, adquiridas da tanoaria Mesacaza.

Figura 3.1: Lascas de Amburana de tosta média e granulometria variada



Fonte: Autoria Própria

#### 3.2 Envelhecimento não convencional

No presente estudo, quatro configurações de envelhecimento não convencional foram inicialmente avaliadas, visando investigar a influência do ultrassom de baixa frequência e da temperatura. As configurações empregadas foram:

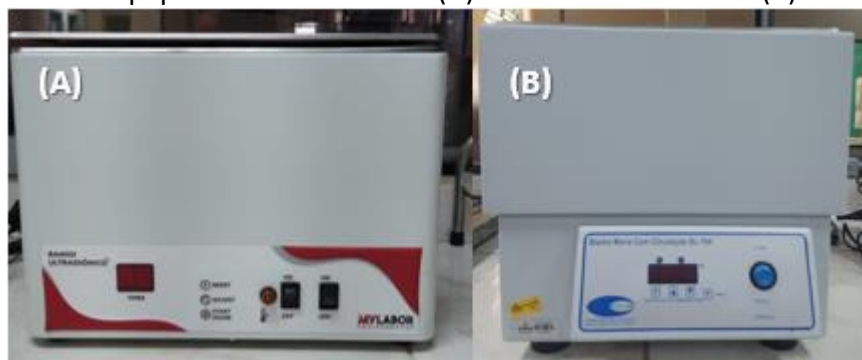
- A. Envelhecimento à temperatura ambiente ( $19^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) e sem ultrassom;
- B. Envelhecimento com ultrassom e à temperatura ambiente ( $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ );
- C. Envelhecimento com aquecimento ( $41^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) e sem ultrassom;
- D. Envelhecimento com ultrassom e com aquecimento ( $41^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ).

Através de experimentos prévios estabeleceu-se que a concentração das lascas de madeira a ser utilizada em cada amostra seria fixa e igual a  $5 \text{ g L}^{-1}$ . Foram pesados, para cada configuração citada anteriormente, 1,25 g de *chips* e em sequência combinou-se os mesmos a 250 mL de cachaça em frascos tipo Erlenmeyer, à temperatura ambiente.

Para avaliar o efeito do ultrassom, os ensaios foram conduzidos em Banho Ultrassônico, com capacidade de 6L e frequência igual 40kHz (SSbu, MyLabor), indicado na Figura 2-A. A

temperatura do banho foi controlada manualmente, de forma a permanecer dentro de faixas especificadas para as configurações (B) e (D). Para avaliar o efeito da temperatura isoladamente, configuração (C), utilizou-se Banho Maria com Circulação (SL-154, SoLab), indicado na Figura 2-B. Para verificar o envelhecimento sem efeitos adicionais, configuração (A), as amostras permaneceram em repouso à temperatura ambiente, em frascos fechados e sem proteção de luz. Todos os experimentos foram realizados em triplicata. Além disso, foram coletadas amostras de cada Erlenmeyer em intervalos de 30 min, durante um período de 420 minutos.

Figura 3.2: Equipamentos utilizados: (A) Banho ultrassônico e (B) Banho Maria



Fonte: Autoria própria

### 3.3 Análise de compostos fenólicos totais

Durante cada ensaio de envelhecimento, foram retiradas alíquotas de 1,25 mL das soluções a cada 30 minutos, para acompanhar a concentração de compostos fenólicos. A variação total de volume das soluções durante o experimento foi igual a 7%, considerando-se a mesma desprezível na dinâmica de extração dos componentes vegetais. Considerando cada triplicata realizada, ao todo 168 amostras foram coletadas e armazenadas à baixa temperatura (4°C), protegidas de luz, para posterior análise de compostos fenólicos totais.

A determinação dos compostos fenólicos totais foi realizada pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu (SINGLETON; ORTHOFER; LAMUELA-RAVENTÓS, 1999). Para a análise, retirou-se de cada amostra uma alíquota de 200 µL que foi homogeneizada com 850 µL de água ultrapura e uma alíquota de 100 µL de reagente Folin-Ciocalteu 2N. No período entre 30 segundos e 8 minutos após a adição de Folin-Ciocalteu, 850 µL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> a 7% (m/v) foram adicionados. Cada solução permaneceu em repouso por 1 hora a temperatura ambiente e protegida da luz. Após este período de descanso, a absorbância foi medida a 765 nm em Espectrofotômetro UV-VIS (1600<sup>a</sup>, Pró-análise).

A quantificação dos compostos fenólicos foi realizada utilizando uma curva padrão de ácido gálico com concentrações variando de 0,5 a 8 mg L<sup>-1</sup>. Os resultados foram expressos em miligrama de Equivalente de ácido gálico por litro de amostra (mg EAG L<sup>-1</sup>). A concentração zero, também conhecida como Branco, foi considerada igual à da cachaça original. Para isso, realizou-se a medição da absorbância de uma amostra de cachaça não envelhecida, preparada conforme as etapas previamente descritas, e o valor desta foi descontada das absorbâncias de cada ponto lido posteriormente.



### 3.4 Método alternativo para quantificação de fenólicos utilizando Espectroscopia por Fluorescência

#### 3.4.1 Preparação de amostras

Após os experimentos em diferentes configurações, realizou-se um novo ensaio de envelhecimento não convencional, também por um período de 420 minutos, a fim de avaliar a quantificação de fenólicos utilizando os modelos preditivos baseados em fluorescência apresentados em CARVALHO *et al.* (2020).

Prepararam-se inicialmente três soluções de 400 mL e concentração de 5 g chips L<sup>-1</sup>, que foram imersas em sequência no banho ultrassônico. Em intervalos de 30 minutos, durante o envelhecimento, alíquotas de 2 mL foram retiradas de cada solução. Estas alíquotas eram homogeneizadas entre si para preparação de uma amostra, de volume igual a 6 mL, que seguia para aquisição dos espectros de fluorescência.

#### 3.4.2 Análises

Os espectros de fluorescência foram medidos com o equipamento Horiba Fluoromax-4, equipado com uma lâmpada de xenônio de 150 W. As medições foram feitas na faixa de comprimentos de onda de excitação entre 260 e 600 nm e emissão entre 290 e 850 nm, com incremento de 10 nm. Cada espectro de fluorescência foi obtido como uma matriz de tamanho 57 × 35, contendo intensidade de fluorescência de 1995 pares de excitação/emissão. Cada um dos espectros de fluorescência (referente a cada mistura) foi posteriormente desdobrado em um vetor de dimensão 1 × 1995, sendo a linha referente à amostra e as colunas contendo as informações referentes à intensidade de fluorescência dos pares de excitação/emissão. Os espectros de fluorescência foram medidos em triplicata.

A quantidade total de fenólicos de cada amostra também foi quantificada pelo método de Folin-Ciocalteu, descrito na seção 3.2. As concentrações obtidas por este método foram referência para os cálculos teóricos, sendo consideradas como as concentrações reais. Além disso, com base na faixa de valores encontrados, se definiu qual dos modelos preditivos desenvolvidos por CARVALHO *et al.* (2020) seria utilizado para quantificação baseada em fluorescência. No Anexo A, pode-se encontrar as métricas relacionadas a cada modelo preditivo desenvolvido pelos autores e as faixas de concentração associadas aos mesmos.

As ferramentas quimiométricas utilizadas foram implementadas em Python 3.8.2. Antes dos dados serem aplicados ao modelo selecionado, as matrizes de fluorescência passaram por uma fase de pré-processamento de dados, com Padronização Normal de Sinal (SNV). As métricas utilizadas para avaliar compatibilidade do modelo foram: raiz quadrada do erro médio (RMSE), erro percentual absoluto médio (MAPE) e coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>). O RMSE, MAPE e R<sup>2</sup> são calculados conforme as equações (3.1), (3.2), (3.3), onde  $\hat{y}$  é a variável predita pelo modelo;  $y$  a variável observada (concentração obtida pelo método de Folin);  $\bar{y}$  o valor médio de  $y$ ;  $n$  o número de amostras.

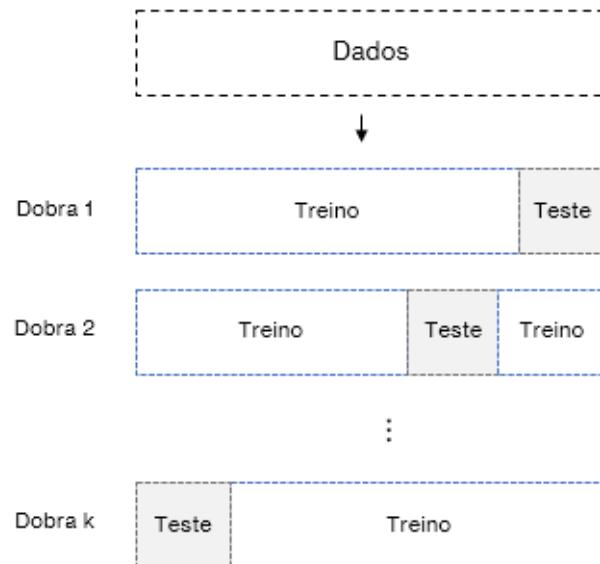
$$RMSE = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_i (y_i - \hat{y}_i)^2} \quad (3.1)$$

$$MAPE = \frac{100\%}{n} \sum_i^n \left| \frac{y_i - \hat{y}_i}{y_i} \right| \quad (3.2)$$

$$R^2 = 1 - \frac{\sum (y_i - \hat{y}_i)^2}{\sum (y_i - \bar{y})^2} \quad (3.3)$$

Após a avaliação do modelo original, realizaram-se novas reparametrizações para o mesmo conjunto de variáveis, utilizando regressão Ridge com diferentes bases de dado (MCDONALD, 2009). Para evitar problemas de aleatoriedade, utilizou-se o método de validação cruzada para separação dos dados em cada caso. Este método separa os dados originais em  $k$  subgrupos (dobras) com porções distintas de *treino* e *teste*, conforme ilustrado na Figura 3.3, avaliando o modelo para cada dobra e retornando ao fim o resultado médio entre elas. As métricas avaliadas foram, novamente, o MAPE, a RMSE e o  $R^2$ .

Figura 3.3: Validação cruzada em  $k$  dobras



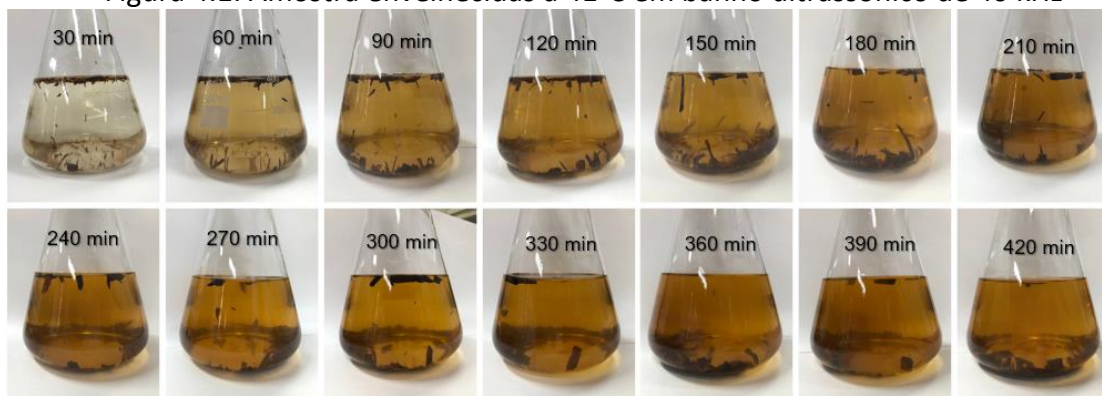
Fonte: Autoria própria

## 4 Resultados

### 4.1 Envelhecimento não convencional

Conforme mencionado na seção 3, a cachaça utilizada para a preparação das amostras não foi submetida a nenhum envelhecimento prévio, sendo incolor e com concentração inicial de compostos fenólicos considerada igual a zero em todos os casos. Após entrar em contato com os *chips* de madeira, as amostras foram imediatamente submetidas aos ensaios de envelhecimento. Verificou-se que a coloração de todas as amostras sofreu alterações ao decorrer dos ensaios, indicando a incorporação de componentes da madeira ao líquido. Na Figura 4.1, ilustra-se o aspecto visual de uma amostra, ao longo da operação com banho ultrassônico e aquecimento.

Figura 4.1: Amostra envelhecidas à 41°C em banho ultrassônico de 40 kHz



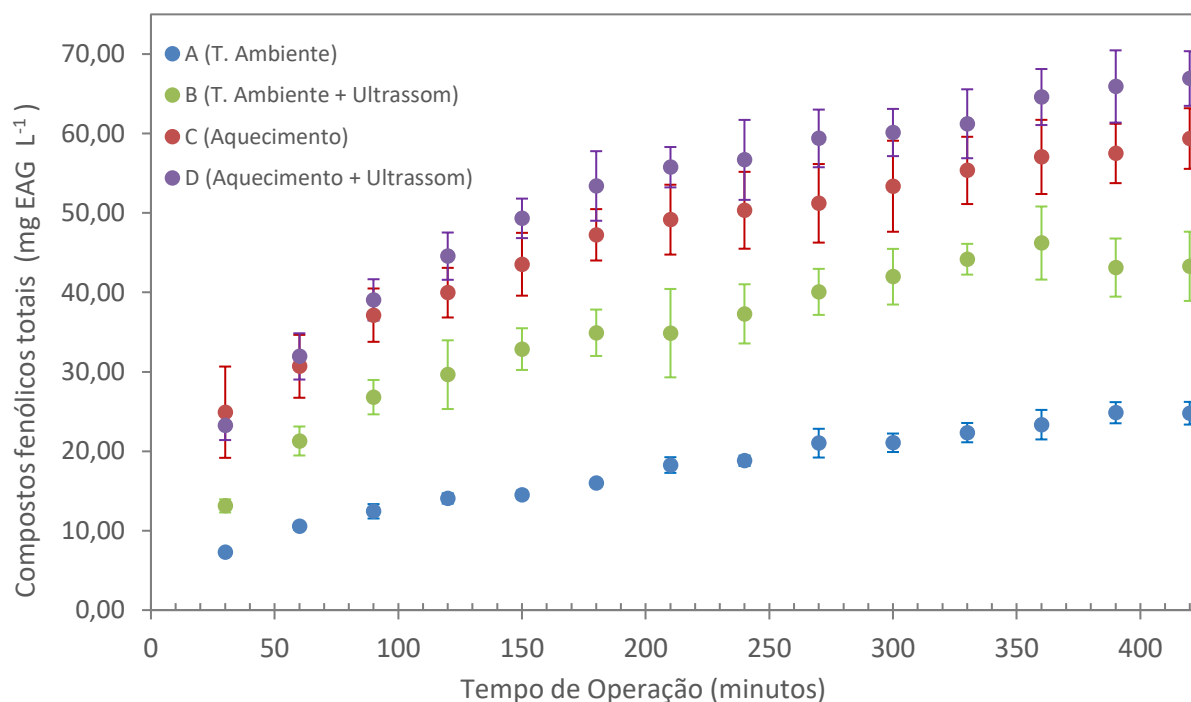
Fonte: Autoria própria

Na Figura 4.2 apresentam-se os teores de compostos fenólicos totais encontrados para cada amostra durante o processo de envelhecimento alternativo, assim como os desvios associados. As siglas indicam a configuração do processo utilizada, sendo: envelhecimento à temperatura ambiente e sem ultrassom (A); envelhecimento com ultrassom e à temperatura ambiente (B); envelhecimento com aquecimento e sem ultrassom (C); envelhecimento com ultrassom e com aquecimento (D).

A operação realizada à temperatura ambiente e sem ultrassom (configuração A), levou às menores concentrações de compostos fenólicos, que variaram de  $7,28 \pm 0,40$  mg EAG L<sup>-1</sup> até  $24,79 \pm 1,43$  mg EAG L<sup>-1</sup>. Com o emprego do banho ultrassônico e mantendo-se a temperatura ambiente (configuração B), a concentração de compostos fenólicos encontrada variou de  $13,12 \pm 0,83$  mg EAG L<sup>-1</sup> até  $43,28 \pm 4,36$  mg EAG L<sup>-1</sup>. O emprego de aquecimento (configuração C) e seu uso combinado ao ultrassom (configuração D) levaram a maiores concentrações de fenólicos em todo período de ensaio, variando de  $24,92 \pm 5,75$  mg EAG L<sup>-1</sup> até  $59,37 \pm 3,82$  mg EAG L<sup>-1</sup>, para configuração C, e entre  $23,23 \pm 1,83$  mg EAG L<sup>-1</sup> e  $66,92 \pm 3,44$  mg EAG L<sup>-1</sup>, para configuração D. Nota-se que, para as configurações B, C e D, necessitou-se de um tempo consideravelmente menor para atingir a concentração máxima obtida por A, sendo que após 120 minutos destas operações, todas já exibiam teor de fenólico superior ao do envelhecimento sem efeitos adicionais.

Na Figura 4.2, observou-se também que os desvios verticais, associados às diferenças de concentração entre as configurações de envelhecimento, indicavam faixas de variação consideráveis. Estes grandes desvios podem ser causados pela granulometria heterogênea dos *chips*, que leva a uma razão área/volume diferente em cada amostra, impactando no transporte de massa. Para verificar estatisticamente se há diferença entre os métodos, decidiu-se então realizar o teste de Tukey, com significância de 0,05, avaliando em cada ponto de tempo se estatisticamente há diferença entre as curvas (ABDI; WILLIAMS, 2010). De acordo com o teste, o método A e B levam a resultados estatisticamente semelhantes somente aos 30 minutos de operação; após esse ponto, os métodos permanentemente levam a concentrações distintas. Os métodos A e B também foram identificados como sempre distintos dos métodos C e D. Porém, os dois últimos levam a resultados estatisticamente iguais entre si, ao longo de todo intervalo de operação, sugerindo que não há diferença entre o emprego de cada um.

Figura 4.2: Concentração de fenólicos totais em cachaças envelhecidas sob diferentes configurações: (A) à temperatura ambiente e sem ultrassom, (B) envelhecimento com ultrassom e à temperatura ambiente, (C) envelhecimento com aquecimento e sem ultrassom, (D) envelhecimento com ultrassom e com aquecimento



Fonte: Autoria Própria

CARDELLO; FARIA (2000) encontraram, para três diferentes cachaças comerciais envelhecidas em Carvalho, concentrações totais de fenólicos entre 40,04 e 54,05 mg de ácido tânico equivalente por litro; as amostras envelhecidas nas configurações C e D potencialmente superam estes teores após 7 horas de envelhecimento. SANTIAGO *et al.* (2014) encontraram, avaliando com HPLC os principais fenólicos associados à madeira, uma concentração total igual a 20,049 mg EAG L<sup>-1</sup>, para cachaça comercial envelhecida por 12 meses em um barril de Amburana de 130 L; valor inferior a todas as concentrações finais obtidas nos ensaios aqui

realizados. Por outro lado, SANTIAGO, CARDOSO e NELSON (2017), avaliando também por HPLC, relatam concentração total de fenólicos igual a 88,66 mg L<sup>-1</sup> para cachaça envelhecida pelo mesmo período, em um barril de Amburana de 20 L; valor superior a todas as concentrações encontradas no presente estudo. RANZAN (2021), ao utilizar o método de Folin-Ciocalteu para avaliar o teor de fenólicos de três cachaças comerciais envelhecidas por um ano com Amburana, relata concentrações iguais a 264,36 e 132,16 mg EAG L<sup>-1</sup> para cachaças do mesmo produtor, e 78,56 mg EAG L<sup>-1</sup> para uma de produtor diferente, reforçando a baixa padronização nos produtos comerciais.

As diferenças entre valores de literatura podem ser associadas às condições operacionais, sendo que parâmetros como área de contato, condições ambientais, tempo de envelhecimento, madeira utilizada e teor alcoólico da bebida influenciam no processo. No presente estudo, além do emprego de ultrassom e aquecimento, o uso de *chips* pode ser a causa da diferença entre a concentração de fenólicos experimental e a de literatura; ainda que a relação área/volume do envelhecimento com *chips* fosse igual à do envelhecimento com barril, diferenças seriam encontradas, como mencionado previamente (ARAPITSAS et al., 2004). Assim, não é possível saber qual dos efeitos (uso de temperatura, ultrassom ou *chips*) ocasiona a diferença entre os teores aqui encontrados e os teores da literatura. Cabe ressaltar também que, não foi realizada uma avaliação individual de componentes fenólicos presentes em cada solução e, portanto, o perfil de cada amostra é desconhecido.

Avaliando a diferença de concentração média entre as configurações A, B e C, ao longo de 420 minutos, é possível identificar qual dos parâmetros individuais (temperatura ou ultrassom) exerce a maior influência na obtenção de compostos fenólicos dentro dos ensaios realizados. Em comparação à operação à temperatura ambiente (19°C), a extração sem ultrassom e à 41°C levou a um aumento de 139% no teor final de fenólicos, enquanto somente o uso de ultrassom, com temperatura média aproximadamente idêntica (20°C), levou a um aumento de 78%. Com isso, pode-se notar que a temperatura demonstra ser o parâmetro individual de maior impacto. TAO, ZHANG e SUN (2014), ao avaliarem a cinética de liberação de compostos fenólicos de *chips* de Carvalho sob a influência de ultrassom (25 kHz) e diferentes temperaturas (10°C – 25°C), relatam de forma semelhante que, apesar da densidade acústica influenciar na liberação de compostos fenólicos, a temperatura é o parâmetro mais relevante para intensificação da transferência de massa.

Aumentos de temperatura irão influenciar positivamente diferentes parâmetros cinéticos e termodinâmicos da extração, como coeficiente difusivo e solubilidade de analitos no meio reacional, intensificando assim a eficiência do processo (AGU et al., 2021; BUCIĆ-KOJIĆ et al., 2013). O ultrassom, por outro lado, irá influenciar processos extrativos através dos efeitos da cavitação, conforme descrito previamente na seção 2.4, sendo que o aumento ou a diminuição deste fenômeno irá impactar na obtenção de produtos (CHEMAT; ZILL-E-HUMA; KHAN, 2011). Assim, ainda que a temperatura influencie positivamente na cinética de reação da extração, a contribuição específica do ultrassom pode tanto ser intensificada quanto prejudicada por este parâmetro, já que a temperatura aumenta a cavitação dentro de uma determinada faixa e prejudica o fenômeno caso esses valores sejam excedidos (MASON; PANIWNYK; LORIMER, 1996).

A dualidade de efeitos associadas ao aquecimento pode explicar por que, neste estudo, a incorporação do ultrassom levou a mudanças mais significativas quando realizada no processo

de menor temperatura: a diferença de concentração média final entre as operações A e B (ambas a temperatura ambiente) foi de 78%, enquanto a diferença entre as concentrações médias finais da operação C e D (ambas a 41°C) foi inferior a 13%, sendo inclusive consideradas estatisticamente iguais pelo método de Tukey.

O aumento da temperatura, portanto, melhora de forma geral os resultados da extração, mas ao mesmo tempo pode prejudicar o fenômeno da cavitação, reduzindo a relevância do ultrassom o processo. Maiores estudos são necessários para identificar a temperatura ótima de cavitação, já que esta irá depender de fatores como frequência do ultrassom utilizado, densidade acústica e solvente utilizado (ENTEZARI; KRUUS, 1996).

Como mencionado previamente, o perfil de fenólicos encontrado em cada amostra não é conhecido e, portanto, não é possível avaliar se as diferentes configurações levaram à incorporação ou degradação preferencial de componentes específicos. Considerando que o objetivo do envelhecimento é enriquecer o aspecto sensorial das bebidas, a presença de componentes específicos que sejam percebidos positiva ou negativamente pelo paladar é um parâmetro crucial para a qualidade do processo. Neste estudo, não foram realizados testes sensoriais, não sendo possível identificar qual método seria mais benéfico ao produto final em termos de preferência do consumidor.

#### 4.2 Análise de compostos fenólicos por espectroscopia de fluorescência

A Tabela 4.1 exibe a concentração total de compostos fenólicos encontrados para cada ponto da repetição realizada, que variou de  $27,44 \pm 2,17$  mg EAG L<sup>-1</sup> até  $67,67 \pm 1,71$  mg EAG L<sup>-1</sup>. Estes valores são compatíveis com os relatados na subseção 4.1.1, para o processo de mesma configuração, sendo que a diferença mais significativa entre os valores encontrados foi de 15%, aos 30 minutos, decaindo para aproximadamente 1% aos 420 minutos.

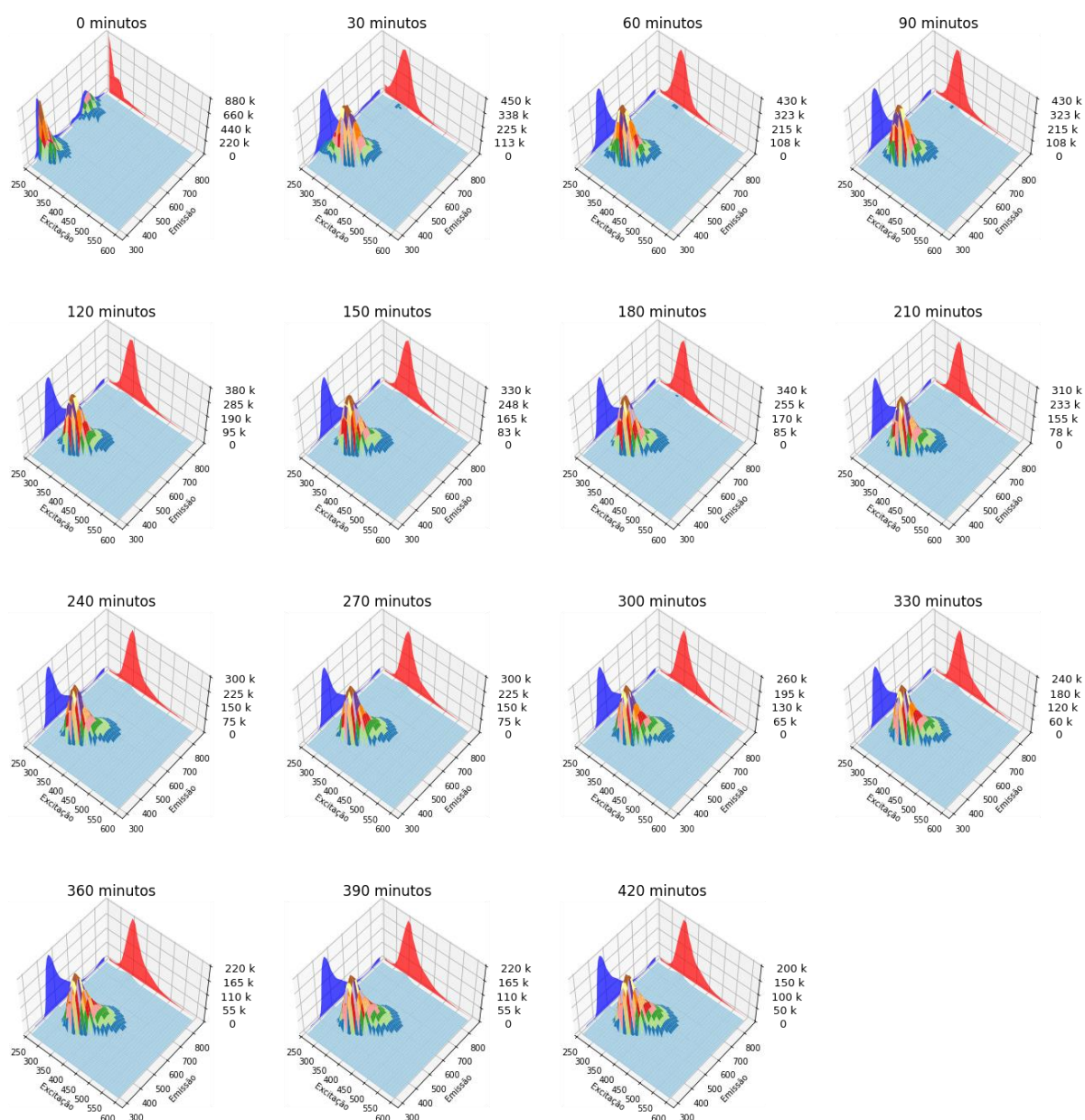
Tabela 4.1: Teor de compostos fenólicos de cachaça envelhecida à 41°C em banho ultrassônico de 40 kHz

Tempo (minutos)	Compostos fenólicos totais (mg EAG L <sup>-1</sup> )
30	27,44 ± 2,17
60	37,15 ± 1,23
90	44,56 ± 1,90
120	46,44 ± 0,64
150	50,09 ± 0,78
180	55,92 ± 0,85
210	57,38 ± 0,65
240	60,06 ± 0,24
270	60,58 ± 1,65
300	63,56 ± 3,60
330	65,85 ± 1,99
360	67,96 ± 0,70
390	65,66 ± 1,30
420	67,67 ± 1,71

Fonte: Autoria Própria

A Figura 4.3 mostra o espectro de fluorescência das amostras ao longo do processo de envelhecimento não convencional. A cachaça original, que não passou por esse processo, é apresentada no minuto 0, portanto, não apresenta fenólicos na sua composição. É possível observar mudanças significativas nas regiões de fluorescência. A cachaça sem envelhecimento apresenta a maior intensidade de emissão entre as amostras, com duas regiões de emissão definidas, entre 350 e 450 nm e entre 650 e 800 nm, ambas para excitações entre 200 e 325 nm. Após 30 minutos de envelhecimento, com o aumento da concentração de fenólicos, nota-se uma redução na intensidade de emissão e, também, que as bandas iniciais foram suprimidas, com a amostra passando a apresentar somente uma região de emissão entre 400 e 600 nm, para excitações entre aproximadamente 200 e 400 nm.

Figura 4.3: Espectros de Fluorescência de amostras envelhecidas à 41°C em banho ultrassônico de 40 kHz



Fonte: Autoria Própria

Conforme a concentração de fenólicos cresce, a intensidade de emissão continua a ser reduzida, ocorrendo também um leve deslocamento da banda para regiões de maior excitação, entre 300 e 450 nm, como pode ser observado na Figura 4.3, com o aumento do tempo de envelhecimento de cada amostra. A redução de intensidade de emissão observada, assim como a supressão das bandas encontradas para a cachaça não envelhecida, podem estar associadas ao aumento da concentração de componentes que absorvem energia sem emitir radiação nos comprimentos de onda estudados, como sugerido por CARVALHO *et al.* (2020).

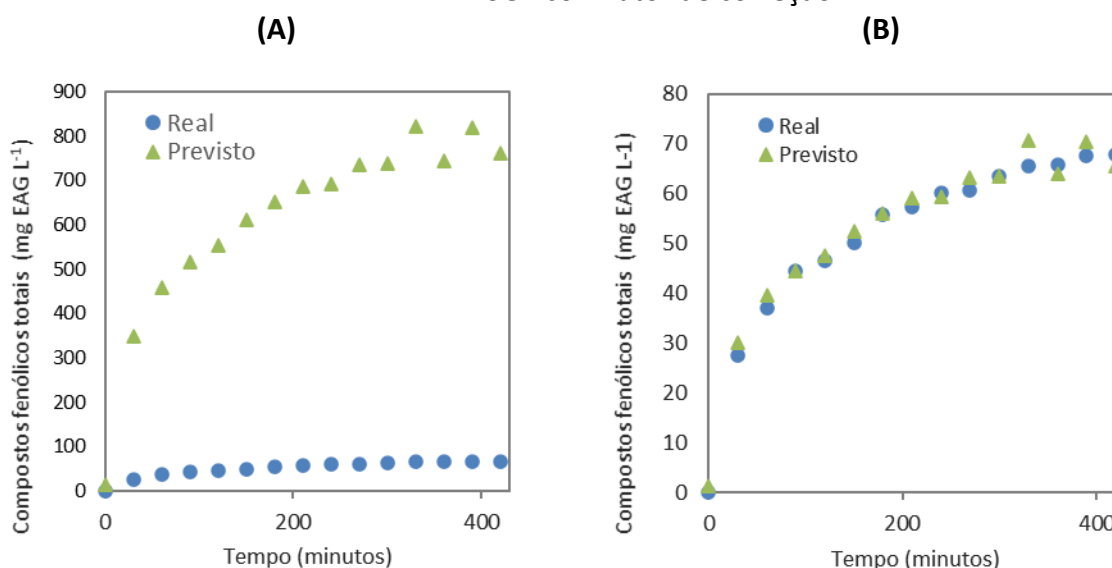
#### 4.2.1 Avaliação do Modelo Preditivo

Para o presente estudo, o modelo selecionado foi o modelo SG1, construído em uma faixa de concentração compatível com a aqui encontrada, abaixo de 200 mg EAG L<sup>-1</sup> (CARVALHO *et al.*, 2020). O modelo utiliza as intensidades de fluorescência de pares de Excitação/Emissão: Ex400/Em610, Ex450/Em670, Ex470/Em550, Ex590/Em850.

O modelo escolhido foi utilizado para prever o teor de fenólicos ao longo de todo envelhecimento, de 0 a 420 minutos. As concentrações previstas pelo modelo SG1 e as concentrações reais de fenólicos totais, consideradas como aquelas obtidas pelo método de Folin-Ciocalteu, são exibidas na Figura 4.4 (A). Nota-se que, com exceção do ponto inicial, os valores previstos foram significativamente maiores do que os reais, o que é traduzido em elevados valores de RMSE e MAPE, calculados como 610,37 mg EAG L<sup>-1</sup> e 1091,70% respectivamente. Cabe ressaltar que, para o cálculo do MAPE, o primeiro ponto foi descartado devido à indefinição matemática que seria obtida pelo divisor nulo ( $y = 0$ ).

Na Figura 4.4 (B), os dados previstos foram multiplicados por um fator de correção igual a 0,082, obtido através de um ajuste manual entre as curvas. Com isso, melhora-se consideravelmente os resultados e indicando que, assim como as amostras utilizadas para construção do modelo original, as amostras envelhecidas no presente estudo seguem uma relação de linearidade com a fluorescência dos pares selecionados.

Figura 4.4: Compostos fenólicos totais reais e previstos por: (A) modelo SG1 e (B) modelo SG1 com fator de correção



Fonte: Autoria Própria



Considerando que a concentração de fenólicos demonstrou ter uma relação linear com as variáveis selecionadas, decidiu-se realizar duas novas reparametrizações do modelo original com grupos distintos: uma utilizando somente dados do envelhecimento com *chips* e ultrassom, a fim de verificar se as variáveis selecionadas podem ser aplicadas para predição dos compostos deste estudo, e outra utilizando dados aglutinados do envelhecimento não convencional e das amostras, com concentrações abaixo de 200 mg EAG L<sup>-1</sup>, envelhecidas tradicionalmente por CARVALHO *et al.* (2020), a fim de verificar a existência de parâmetros que possam atender simultaneamente os dois casos. Em ambas as regressões, a amostra de cachaça pura, com concentração nula de fenólicos, não foi utilizada, devido à indefinição matemática associada ao cálculo da métrica MAPE.

Na Tabela 4.2, exibem-se as métricas médias associadas aos modelos reparametrizados com validação cruzada, com P1 sendo o modelo obtido na regressão realizada somente com dados de envelhecimento alternativo e P2 o obtido na regressão com dados aglutinados. O modelo P1 apresentou métricas consideravelmente melhores do que aquelas encontradas no teste com o modelo original SG1, como esperado. Os valores de R<sup>2</sup> foram próximos a 1, tanto na etapa de treino quanto na de teste, indicando que este modelo é um bom ajuste para os dados estudados; nota-se também que os erros MAPE foram baixos, representando boa precisão. Considerando que a faixa de concentrações nas amostras avaliadas era entre 27,44 e 67,96 mg EAG L<sup>-1</sup>, o valor de RMSE também está relativamente baixo.

Tabela 4.2: Métricas encontradas para modelo reparametrizados

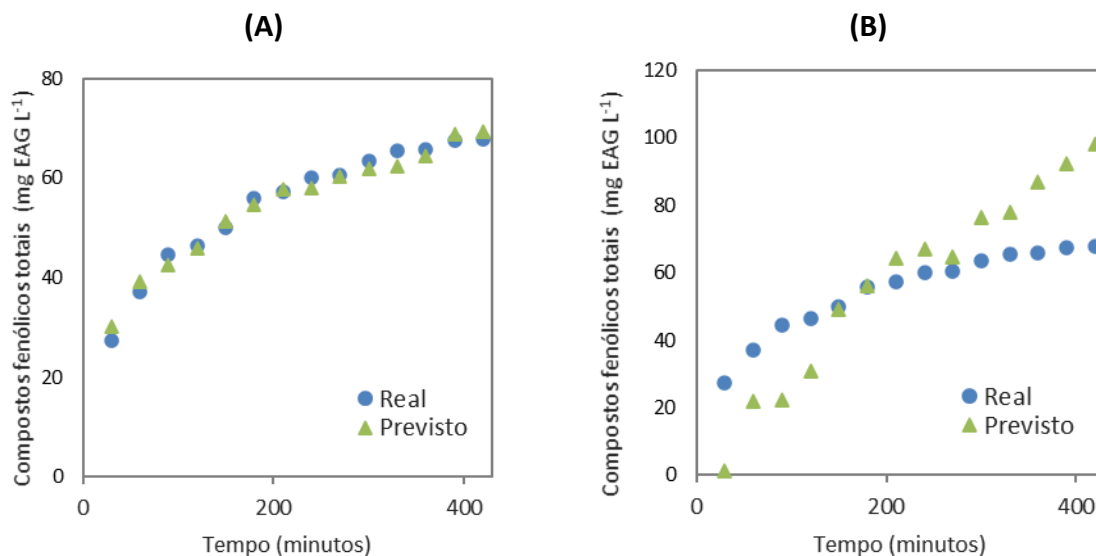
Modelo	Treino			Teste		
	R <sup>2</sup>	RMSE (mg EAG L <sup>-1</sup> )	MAPE (%)	R <sup>2</sup>	RMSE (mg EAG L <sup>-1</sup> )	MAPE (%)
P1	0,973	1,890	3,13	0,959	2,371	4,07
P2	0,448	37,633	2651,1	0	38,806	3060,5

Fonte: Aatoria Própria

As métricas do modelo P2 indicam, assim como para o teste com o modelo SG1, pouca compatibilidade dos parâmetros com o intervalo de dados. A baixa correlação desse modelo com os dados da etapa de treino é observada pelo valor de R<sup>2</sup>, e mostrou-se ainda pior durante a etapa de teste, onde nenhuma correlação foi identificada. O modelo P2 também possui baixa precisão, com valores significativos de MAPE. Além disso, os valores de RMSE mostram-se inadequados, sendo maiores que a concentração de fenólicos em múltiplos pontos.

A concentração real e a prevista pelos modelos reparametrizados, ao longo de todo intervalo de envelhecimento não convencional, são exibidas na Figura 4.5, onde se nota a boa aproximação entre as curvas com o uso do modelo P1, Figura 4.5 (A), e a baixa compatibilidade entre valores com o uso do modelo P2, Figura 4.5 (B). Com isso, estima-se que os pares de Emissão/Excitação selecionados por CARVALHO *et al.* (2020) são variáveis válidas para a quantificação de compostos fenólicos deste estudo, desde que uma reparametrização seja realizada com os dados representativos. Isso sugere que, apesar das variáveis serem compatíveis com quantificação de fenólicos, o perfil específico das amostras necessita de parâmetros (modelos locais) compatíveis.

Figura 4.5: Compostos fenólicos totais reais e previstos pelos modelos: (A) P1 e (B) P2



Fonte: Autoria Própria

A baixa compatibilidade dos modelos, quando há intersecção de dados do envelhecimento tradicional com os dados do envelhecimento não convencional, pode ser explicada por diferentes perfis fenólicos em cada amostra. Nota-se que, para concentrações semelhantes de compostos fenólicos totais, CARVALHO *et al.* (2020) encontraram espectros – exibidos no Anexo A – significativamente diferentes dos obtidos neste estudo. Isto sugere que, apesar da madeira utilizada ser igual nos dois envelhecimentos, o perfil de fenólicos obtido é distinto, reforçando a hipótese de que os compostos extraídos com o envelhecimento não convencional são diferentes daqueles extraídos no envelhecimento tradicional, levantada previamente na seção 4.1. Assim, é possível que pares de Emissão/Excitação diferentes descrevam melhor o perfil de fenólicos do envelhecimento não convencional, sendo necessário maiores estudos para averiguar esta possibilidade.

## 5 Conclusões e Trabalhos Futuros

O processo de envelhecimento é uma das principais técnicas empregadas na indústria para o enriquecimento sensorial de bebidas. Apesar de seus benefícios, ele muitas vezes não é utilizado devido ao custo, ao elevado tempo de operação e às dificuldades associadas no acompanhamento dos parâmetros do processo. Assim, alternativas para acelerar o envelhecimento e otimizar seu controle podem popularizar seu uso entre os produtores de bebidas.

Com os resultados obtidos neste trabalho, para os envelhecimentos realizados com *chips*, foi possível identificar que o uso de ultrassom, assim como o uso de aquecimento, influenciam ativamente na incorporação de compostos fenólicos à cachaça, tornando o processo essencialmente mais rápido do que aquele realizado à temperatura ambiente e sem efeitos do ultrassom. A literatura relata concentrações distintas de fenólicos para cachaças comerciais envelhecidas, encontrando-se valores tanto inferiores quanto superiores aos obtidos aqui.

Comparando as diferentes configurações de envelhecimento empregadas, a temperatura mostrou-se como o parâmetro individual de maior influência na concentração, levando a um aumento de 139% no teor final de fenólicos – com relação à operação sem efeitos adicionais –, enquanto o uso somente do ultrassom levou a um aumento de 78%. No entanto, a união de ultrassom e aquecimento não resultou em diferenças significativas com os valores obtidos somente com o emprego de aquecimento, sendo que as concentrações obtidas para cada método foram estatisticamente iguais entre si ao longo de cada momento do intervalo de estudo.

Na avaliação do método de espectroscopia por fluorescência proposto por CARVALHO *et al.* (2020), o modelo preditivo SG1 e o modelo reparametrizado P2 não quantificaram satisfatoriamente os compostos fenólicos de amostras envelhecidas com ultrassom e aquecimento. O teste com modelo SG1 teve RMSE igual a 610,37 mg EAG L<sup>-1</sup> e MAPE igual a 1091,70%, enquanto o teste com o modelo P2 teve RMSE igual a 38,806 mg EAG L<sup>-1</sup> e MAPE igual a 3060,5%.

Com o modelo reparametrizado P1, foi possível quantificar de forma adequada o teor de fenólicos nas amostras estudadas, com R<sup>2</sup>, MAPE e RMSE iguais a 0,959, 4,07% e 2,371 mg EAG L<sup>-1</sup>, respectivamente. Estes resultados demonstram que os pares de Emissão/Excitação utilizados são apropriados para a quantificação de fenólicos totais no envelhecimento não convencional realizado, desde que uma reparametrização seja aplicada.

Para trabalhos futuros, sugere-se a avaliar os resultados do envelhecimento em diferentes configurações utilizando-se *chips* de granulometria homogênea, reduzindo então as variações de razão área/volume entre amostras. O uso de equipamentos que aumentem a potência do ultrassom em contato com a bebida – como sondas –, também é proposto, buscando otimizar os efeitos associados ao ultrassom. Recomenda-se a realização de testes sensoriais com amostras envelhecidas não convencionalmente, para verificar qual processo leva a produtos preferidos pelo consumidor, assim como recomenda-se a análise do perfil de fenólicos destas amostras, a fim de entender as diferenças quantitativas e qualitativas associadas a cada processo. A avaliação dos custos energéticos e econômicos associados ao uso de ultrassom e aquecimento é indicada para compreender a viabilidade prática das operações. Por fim,

sugere-se também o estudo de novos pares de Emissão/Excitação para quantificação de fenólicos por Fluorescência em amostras envelhecidas não tradicionalmente, investigando a possibilidade de uma adequação ainda maior do método ao perfil obtido.

## REFERÊNCIAS

AGU, C. M. et al. Extraction modeling, kinetics, and thermodynamics of solvent extraction of *Irvingia gabonensis* kernel oil, for possible industrial application. **Engineering Reports**, v. 3, n. 4, p. e12306, 1 abr. 2021.

AQUINO, F. W. B. DE. **Determinação de Compostos Fenólicos em Extratos de Amburana cearensis (Fr. All.) A. C. Smith e em Aguardentes de Cana Envelhecidas do Ceará** Fortaleza - CE, 2004. Acesso em: 4 jul. 2021

ARAPITSAS, P. et al. Artificial aging of wines using oak chips. **Food Chemistry**, v. 86, n. 4, p. 563–570, 1 ago. 2004.

BARBOSA, J. L. A. **Engenho de cana-de-açúcar na Paraíba**. Campina Grande: EDUEPB, 2014.

BOGUSZ, S. et al. Chemical composition of the sugar cane spirit “cachaça” produced in the northwest area of Rio Grande do Sul, Brazil. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 4, p. 793–798, 2006.

BORTOLETTO, A. M.; ALCARDE, A. R. Congeners in sugar cane spirits aged in casks of different woods. **Food Chemistry**, v. 139, n. 1–4, p. 695–701, 15 ago. 2013.

BRAGA, M. V. F.; KIYOTANI, I. B. A Cachaça como patrimônio: turismo, cultura e sabor. **Revista de Turismo Contemporâneo**, v. 3, n. 2, p. 254–275, 30 dez. 2015.

BRASIL. Decreto-lei nº 6.871, de 4 de junho de 2009. Regulamenta a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 106, p. 20-29, 5 jun. 2009. - ISSN 1677-7042

BUCIĆ-KOJIĆ, A. et al. Temperature-dependent kinetics of grape seed phenolic compounds extraction: Experiment and model. **Food Chemistry**, v. 136, n. 3–4, p. 1136–1140, 1 fev. 2013.

CALDEIRA, I. et al. Improved method for extraction of aroma compounds in aged brandies and aqueous alcoholic wood extracts using ultrasound. **Analytica Chimica Acta**, v. 513, n. 1, p. 125–134, 18 jun. 2004.

CARDELLO, H. M. A. B.; FARIA, J. B. Perfil Sensorial e Características FísicoQuímicas de Aguardentes Comerciais Brasileiras Envelhecidas e Sem Envelhecer. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 3, p. 31–40, 2000.

CARVALHO, D. G. **Espectroscopia por fluorescência bidimensional e FT-IR aplicadas na quantificação de compostos fenólicos totais e cafeína**. Dissertação (Mestrado em Engenharia) – Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. 2019.

CARVALHO, D. G. et al. Determination of the concentration of total phenolic compounds in aged cachaça using two-dimensional fluorescence and mid-infrared spectroscopy. **Food Chemistry**, v. 329, p. 127142, 1 nov. 2020.

CATÃO, C. G. et al. Qualidade da madeira de cinco espécies florestais para o envelhecimento da cachaça. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 15, n. 7, p. 741–747, 2011.

CERNÎȘEV, S. Analysis of lignin-derived phenolic compounds and their transformations in aged wine distillates. **Food Control**, v. 73, p. 281–290, 1 mar. 2017.

CHANG, A. C. The effects of different accelerating techniques on maize wine maturation. **Food Chemistry**, v. 86, n. 1, p. 61–68, 1 jun. 2003.

CHANG, A. C.; CHEN, F. C. The application of 20 kHz ultrasonic waves to accelerate the aging of different wines. **Food Chemistry**, v. 79, n. 4, p. 501–506, 1 dez. 2002.

CHEMAT, F.; ZILL-E-HUMA; KHAN, M. K. Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 18, n. 4, p. 813–835, 1 jul. 2011.

COCITO, C.; GAETANO, G.; DELFINI, C. Rapid extraction of aroma compounds in must and wine by means of ultrasound. **Food Chemistry**, v. 52, n. 3, p. 311–320, 1 jan. 1995.

CONNER, J. M.; PATERSON, A.; PIGGOTT, J. R. Analysis of lignin from oak casks used for the maturation of Scotch whisky. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 60, n. 3, p. 349–353, 1 jan. 1992.

DE CASTRO, M. C. et al. Maturation related phenolic compounds in cachaça aged in new oak barrels. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 127, n. 1, p. 70–77, 2021.

DE CASTRO, M. D. L.; CAPOTE, F. P. (EDS.). Fundamentals of ultrasound and basis of its analytical uses. In: **Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry**. [s.l.] Elsevier Science, 2007. v. 26p. 1–34.

DIAS, S.; MAIA, A.; NELSON, D. Efeitos de Diferentes Madeiras na Composição da Aguardente de Cana Envelhecida. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, n. 3, p. 331–334, ago. 1998.

ELIZABETH ROGERSON, L. **High intensity ultrasound assisted extraction of oak compounds for accelerated aging of wines and whiskies**. [s.l.: s.n.].

ENTEZARI, M. H.; KRUUS, P. Effect of frequency on sonochemical reactions II. Temperature and intensity effects. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 3, n. 1, p. 19–24, 1 fev. 1996.

FARIA, J. B. Sugar cane spirits: cachaça and rum production and sensory properties. **Alcoholic Beverages**, p. 348–358, 1 jan. 2012.

FAULIN, E.; SERIGATI, F.; PINTO, T. P. **A Indústria da Cachaça no Brasil e suas Interações com o Comércio Internacional**. [s.l.] FGV Projetos, 2020.

GARCÍA-ALCARAZ, J. L. et al. Economic-environmental impact analysis of alternative systems for red wine ageing in re-used barrels. **Journal of Cleaner Production**, v. 244, p. 118783, 20 jan. 2020.

GHITESCU, R. E. et al. Optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenols from spruce wood bark. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 22, p. 535–541, 1 jan. 2015.

GRANATO, D. et al. Chemical perspective and criticism on selected analytical methods used to estimate the total content of phenolic compounds in food matrices. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 80, p. 266–279, 1 jun. 2016.

HÍC, P. et al. Assessment of spirit aging on different kinds of wooden fragments. **Wood Science and Technology**, v. 55, p. 257–270, 2021.

IBRAC. **Mercado Interno** Instituto Brasileiro da Cachaça , , 2021. Disponível em: <<https://ibrac.net/servicos/mercado-interno>>. Acesso em: 5 ago. 2021

JIMÉNEZ-SÁNCHEZ, M. et al. Use of ultrasound at a pilot scale to accelerate the ageing of sherry vinegar. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 69, p. 105244, 1 dez. 2020.

KHODDAMI, A.; WILKES, M. A.; ROBERTS, T. H. **Techniques for analysis of plant phenolic compounds** *Molecules* Multidisciplinary Digital Publishing Institute, , 19 fev. 2013. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1420-3049/18/2/2328/htm>>. Acesso em: 10 out. 2021

LAKOWICZ, J. R. (ED.). Fluorophores. In: **Principles of Fluorescence Spectroscopy**. Boston, MA: Springer US, 2006. p. 63–95.

LORIMER, J. P.; MASON, T. J. Sonochemistry. Part 1—The physical aspects. **Chemical Society Reviews**, v. 16, n. 0, p. 239–274, 1 jan. 1987.

MASON, T. J.; PANIWNKY, L.; LORIMER, J. P. The uses of ultrasound in food technology. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 3, n. 3, p. S253–S260, 1 nov. 1996.

MCDONALD, G. C. Ridge regression. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics**, v. 1, n. 1, p. 93–100, 1 jul. 2009.

MEIRELES, W. A. et al. Aproveitamento de resíduos da fabricação de cachaça para produção de etanol. **Revista Agrogeoambiental**, v. 2, n. 1, 1 jan. 2010.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E DESENVOLVIMENTO (BRASIL). Instrução Normativa nº 13, de 29 de junho de 2005. Fixa os padrões de identidade e qualidade da aguardente de cana e da cachaça. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 235, p. 3-4, 1 abril 2005.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E DESENVOLVIMENTO (BRASIL). Portaria nº 339, de 28 de junho de 2021. Regulamenta a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 120, p. 14, 29 jun. 2021.

MOSEDALE, J. R.; PUECH, J. L. Wood maturation of distilled beverages. **Trends in Food Science and Technology**, v. 9, n. 3, p. 95–101, 1 mar. 1998.

OLIVEIRA, A. C. DE et al. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 689–702, 2009.

ORTEGA-HERAS, M. et al. Differences in the phenolic composition and sensory profile between red wines aged in oak barrels and wines aged with oak chips. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, n. 10, p. 1533–1541, 1 dez. 2010.

ORTÍN, A. B. B. et al. The use of oak chips during the ageing of a red wine in stainless steel tanks or used barrels: effect of the contact time and size of the oak chips on aroma compounds. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v. 14, n. 2, p. 63–70, 1 jul. 2008.

PALMER, G. H. Beverages, Distilled. **Reference Module in Food Science**, 1 jan. 2016.

PATRA, D.; MISHRA, A. K. Recent developments in multi-component synchronous fluorescence scan analysis. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 21, n. 12, p. 787–798, 1 dez. 2002.

PETROZZIELLO, M. et al. Chemistry and Technology of Wine Aging with Oak Chips. **Chemistry and Biochemistry of Winemaking, Wine Stabilization and Aging**, 9 nov. 2020.

PIGGOTT, J. R.; CONNER, J. M. Whiskies. In: **Fermented Beverage Production**. [s.l.] Springer US, 2003. p. 239–262.

PRIETO, L. J. P. et al. Maturing Wines in Oak Barrels. Effects of Origin, Volume, and Age of the Barrel on the Wine Volatile Composition. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 11, p. 3272–3276, 22 maio 2002.

RANZAN, L. **Metodologias para seleção de variáveis explicativas e detecção de inconformidades de predição aplicadas à espectroscopia por fluorescência**. Tese (Doutorado em Engenharia) – Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. 2021.

RODRIGUES, L. M. A. Cachaças envelhecidas em diferentes tipos de madeira: quantificação de compostos fenólicos, atividade antibacteriana e antifúngica. 22 fev. 2013.

SÁNCHEZ-RANGEL, J. C. et al. The Folin–Ciocalteu assay revisited: improvement of its specificity for total phenolic content determination. **Analytical Methods**, v. 5, n. 21, p. 5990–5999, 10 out. 2013.

SANTIAGO, W. D. et al. Comparison and Quantification of the Development of Phenolic Compounds during the Aging of Cachaça in Oak (*Quercus* sp) and Amburana (*Amburana cearensis*) Barrels. **American Journal of Plant Sciences**, v. 5, n. 21, p. 3140–3150, 10 out. 2014.

SANTIAGO, W. D.; CARDOSO, M. DAS G.; NELSON, D. L. Cachaça stored in casks newly constructed of oak (*Quercus* sp.), amburana (*Amburana cearensis*), jatoba (*Hymenaea carbouril*), balsam (*Myroxylon peruiferum*) and peroba (*Paratecoma peroba*): alcohol content,



phenol composition, colour intensity and dry extract. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 123, n. 2, p. 232–241, 1 abr. 2017.

SILLANPÄÄ, M.; PHAM, T.-D.; SHRESTHA, R. A. **Ultrasound Technology in Green Chemistry**. 1. ed. [s.l.] Springer Netherlands, 2011.

SILVA, A. P. DE et al. Composição química de aguardente de cana obtida por diferentes métodos de destilação. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 23, 10 fev. 2020.

SILVA, F. R. DA. **Na embriaguez da cachaça: produção, imaginário e marketing (Minas Gerais 1982-2008)**. Dissertação (Mestrado em História) Programa de Pós-Graduação em História, Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia. 2009.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Princípios de Análise Instrumental**. 6. ed. [s.l.] Bookman, 2009.

SORIA, A. C.; VILLAMIEL, M. Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of food: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 21, n. 7, p. 323–331, 1 jul. 2010.

SUSLICK, K. S. The Chemical Effects of Ultrasound. **Scientific American**, p. 80–86, 1989.

TAO, Y.; ZHANG, Z.; SUN, D. W. Experimental and modeling studies of ultrasound-assisted release of phenolics from oak chips into model wine. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 21, n. 5, p. 1839–1848, 1 set. 2014.

TRINDADE, A. G. **Cachaca, Um Amor Brasileiro**. 1. ed. [s.l.] Melhoramentos, 2006.

VERRUCK, S.; PRUDENCIO, E. S. **Ultrassom na indústria de alimentos: aplicações no processamento e conservação**. [s.l.] Antonella Carvalho de Oliveira, 2018.

VIANA, F. L. E. **Indústria de bebidas alcoólicas. Caderno Setorial ETENE: 117**. Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil, 2020. Disponível em: <[https://www.bnb.gov.br/s482-dspace/bitstream/123456789/332/3/2020\\_CDS\\_117.pdf](https://www.bnb.gov.br/s482-dspace/bitstream/123456789/332/3/2020_CDS_117.pdf)>. Acesso em: 6 jul. 2021.

ZWINKELS, J. C.; DEROSE, P. C.; LELAND, J. E. Spectral Fluorescence Measurements. **Experimental Methods in the Physical Sciences**, v. 46, p. 221–290, 1 jan. 2014.

**ANEXO A**

Tabela 1.A: Métricas para modelos preditivos baseados em Fluorescência

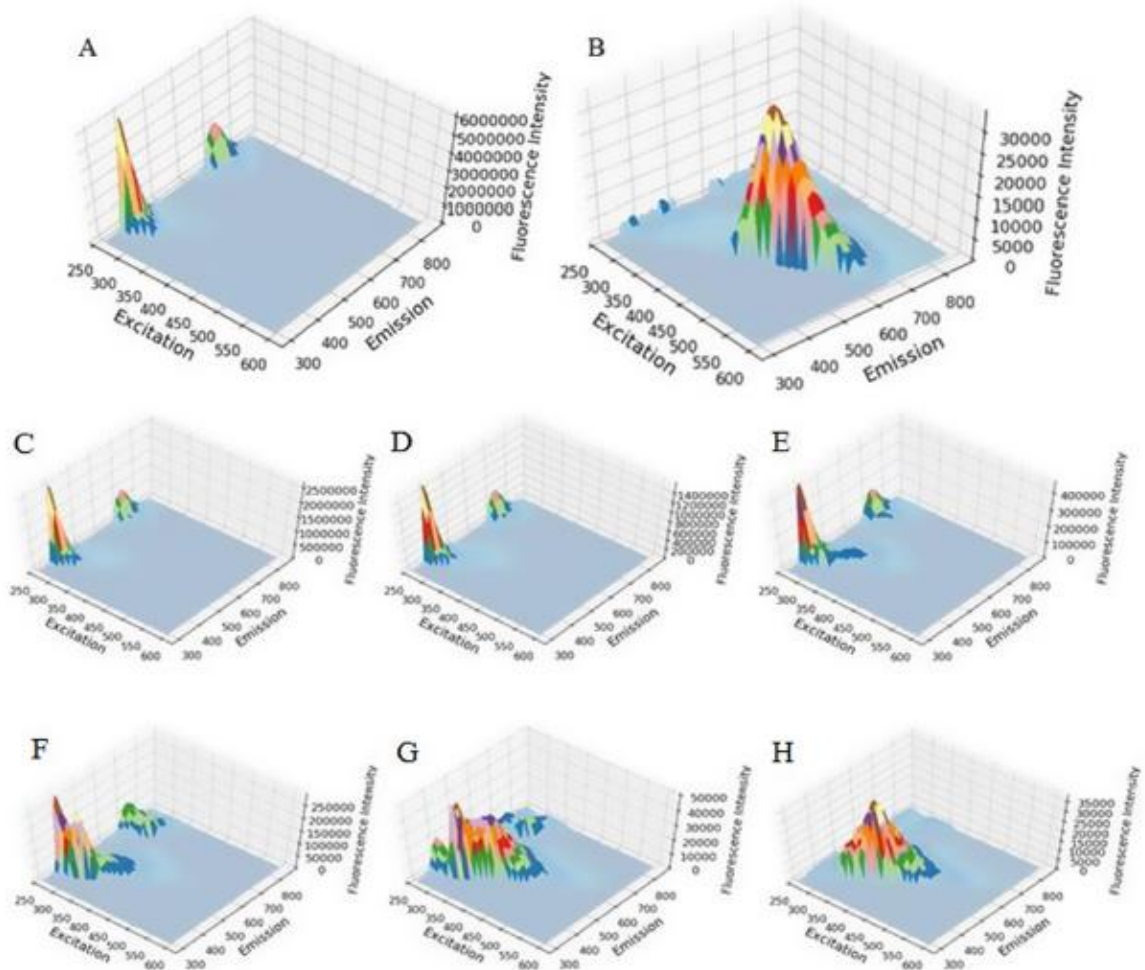
	Calibração			Validação			Teste		
	R <sup>2</sup>	MAPE (%)	RMSE (mg EAG L <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>	MAPE (%)	RMSE (mg EAG L <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>	MAPE (%)	RMSE (mg EAG L <sup>-1</sup> )
<b>SG1</b>	0,998	177,9	2,23	0,957	32,1	11,47	0,995	10,4	3,93
<sup>1</sup>	Abaixo de 200 mg EAG L <sup>-1</sup>								
<sup>2</sup>	Ex350/Em540 Ex410/Em760 Ex460/Em660 Ex460/Em700								
<b>SG2</b>	0,999	1,8	2,53	0,987	6,9	13,44	0,98	6,1	11,6
<sup>1</sup>	Entre 50 e 450 mg EAG L <sup>-1</sup>								
<sup>2</sup>	Ex370/Em510 Ex450/Em640 Ex480/Em570 Ex600/Em840								
<b>SG3</b>	0,993	1,6	24,52	0,878	5,9	86,5	0,909	5,9	77,71
<sup>1</sup>	Entre 523 e 1560 mg EAG L <sup>-1</sup>								
<sup>2</sup>	Ex380/Em840 Ex390/Em560 Ex480/Em770 Ex490/Em740								

Fonte: (CARVALHO et al., 2020)

<sup>1</sup> Faixa de concentração de fenólicos avaliada

<sup>2</sup> Pares de Emissão/Excitação utilizados

Figura 1.A: Espectros de Fluorescência: A) Cachaça sem envelhecimento, B) Cachaça envelhecida com concentração de 1561 mg EAG L<sup>-1</sup>, C) 5 mg EAG L<sup>-1</sup>, D) 10 mg EAG L<sup>-1</sup>, E) 20 mg EAG L<sup>-1</sup>, F) 25 mg EAG L<sup>-1</sup>, G) 50 mg EAG L<sup>-1</sup>, H) 75 mg EAG L<sup>-1</sup>



Fonte: (CARVALHO et al., 2020)