

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E DE PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *Stricto sensu*  
MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

ROSELINI TRAPP KRÜGER

**DESENVOLVIMENTO DE PROTOCOLO PARA FABRICAÇÃO DE LICOR DE  
MAÇÃ ENVELHECIDO COM *CHIPS* DE MADEIRA PREVIAMENTE TRATADOS  
POR ULTRASSOM**

PONTA GROSSA

2020

ROSELINI TRAPP KRÜGER

**DESENVOLVIMENTO DE PROTOCOLO PARA FABRICAÇÃO DE LICOR DE  
MAÇÃ ENVELHECIDO COM *CHIPS* DE MADEIRA PREVIAMENTE TRATADOS  
POR ULTRASSOM**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos pertencente ao Setor de Ciências Agrárias e de Tecnologia da Universidade Estadual de Ponta Grossa, como requisito para obtenção do Título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Alessandro Nogueira

PONTA GROSSA

2020

K94 Kruger, Roselini Trapp  
Desenvolvimento de protocolo para fabricação de licor de maçã envelhecido com *chips* de madeira previamente tratados por ultrassom / Roselini Trapp Kruger. Ponta Grossa, 2020.  
125 f.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos - Área de Concentração: Ciências e Tecnologia de Alimentos), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientador: Prof. Dr. Alessandro Nogueira.

1. Envelhecimento de bebidas. 2. Dispositivo ultrassônico. 3. Extração de compostos fenólicos. 4. Atividade antioxidante. 5. Análise sensorial. I. Nogueira, Alessandro. II. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Ciências e Tecnologia de Alimentos. III.T.

CDD: 664

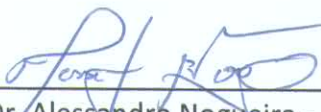
## TERMO DE APROVAÇÃO


ROSELINI TRAPP KRUGER

### DESENVOLVIMENTO DE PROTOCOLO PARA FABRICAÇÃO DE LICOR DE MAÇÃ ENVELHECIDO COM CHIPS DE MADEIRA PREVIAMENTE TRATADOS POR ULTRASSOM.


Dissertação aprovada como requisito para obtenção do grau de Mestre no Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Estadual de Ponta Grossa, pela seguinte banca examinadora:

Orientador:

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Alessandro Nogueira - UEPG - PR

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Acácio Antonio Ferreira Zielinski - UFSC - SC

  
\_\_\_\_\_  
Profª. Drª. Aline Alberti

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Ivo Mottin Demiate

Ponta Grossa, 28 de fevereiro de 2020.

## **AGRADECIMENTOS**

A meu marido Gustavo Minasi e meu filho Gabriel Krüger Minasi pelo apoio, paciência e compreensão durante o tempo em que me dediquei à elaboração deste trabalho.

Ao Professor Alessandro Nogueira, meu orientador, pela confiança depositada para a realização deste trabalho e pela contribuição com seus conhecimentos e vasta experiência acadêmica.

A professora Aline Alberti, pelas sugestões, ideias, ensinamentos e por compartilhar suas experiências pessoais contribuindo com incentivo durante o andamento do trabalho.

Aos colegas do Grupo de Trabalho sobre Maçãs, que de alguma forma, contribuíram para a elaboração desse estudo.

As colegas de mestrado Bárbara Barretti, Gisele Contini, Rafaela Gomes e Vanessa Soltes que me acompanharam nesta jornada, por compartilharem dúvidas e anseios mas principalmente pelo incentivo e apoio durante este período.

À Universidade Estadual de Ponta Grossa e ao programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, pela estrutura no decorrer da pesquisa.

A CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela bolsa de estudo concedida.

A todos que de alguma forma contribuíram para a execução deste trabalho.

Meu sincero agradecimento!

## RESUMO

A diversificação no processamento de maçãs, como o desenvolvimento de licor amadeirado de maçã, agrega valor à cadeia produtiva dessa fruta retornando mais renda para as empresas e produtores. A prática de envelhecer bebidas, como licor de frutas, incorpora compostos fenólicos provenientes da madeira contribuindo com a valorização sensorial devido a incorporação de novos aromas e sabores. O objetivo deste trabalho foi estabelecer um protocolo para elaboração de um licor de maçã envelhecido com *chips* de madeira, previamente tratados por ultrassom. Em uma primeira etapa para obter uma formulação ideal para o novo licor de maçã, foi desenvolvido testes experimentais com três variações do suco de maçã Gala (suco integral, suco integral+pectinase e pectinizado), misturado com álcool de cereais e obtendo diferentes teores alcoólicos (15,0°; 17,5°; 20,0°; 22,5° e 25,0°), como também diferentes teores de açúcar (30, 50, 70 e 100g/L). Aplicou-se o processo de envelhecimento, em licor com 100g/L de açúcar e 20°GL, com adição de *chips* de madeira com queima e sem queima, variando o pré-tratamento desses *chips*, em banho ultrassônico, dispositivo ultrassônico ou sem pré-tratamento, que foram monitorados por 90 dias com a realização de análise de compostos fenólicos totais, atividade antioxidante (FRAP, DPPH e ABTS) e cor para avaliar evolução da maturação do licor. Análises físico-químicas foram realizadas antes e após processo de envelhecimento e avaliação sensorial para definir intensidade dos atributos sensoriais e preferência entre os diferentes licores. A melhor formulação foi definida com suco integral, pectinase e álcool de cereais, com parâmetro L\* de cor, acima de 95,0, devido a qualidade de sedimentação e o teor alcoólico de 20°, porque não apresentou diferença significativa entre os experimentos. O licor com 100g/L de açúcar apresentou maior percentual de aceitabilidade de 77,5%. Após 90 dias, o licor que recebeu *chips* pré-tratados com dispositivo ultrassônico apresentou 116,5% a mais em termos de fenóis totais e em média (entre FRAP, DPPH e ABTS) 4,9 vezes mais em termos de atividade antioxidante do que licor controle. O pré-tratamento com dispositivo ultrassônico acelerou o processo de extração em 60 dias, quando comparado com o licor que recebeu *chips* sem tratamento. Os *chips* sem queima contribuíram com acréscimo no conteúdo fenólico em 17,4% a mais do que os *chips* com queima, em termos de fenóis totais. O licor que recebeu *chips* sem queima pré-tratados em dispositivo ultrassônico também apresentou maior variação de cor total  $\Delta E=7,03$  e sensorialmente apresentou mais preferência. Desta forma foi possível obter um protocolo para elaboração de licor amadeirado de maçã utilizando *chips* de madeira pré-tratados com dispositivo ultrassônico. A utilização da tecnologia de ultrassom acelerou o processo de extração dos compostos fenólicos da madeira, com acréscimo significativo no teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante do licor, e também intensificou a presença dos atributos amadeirados no licor de maçã, contribuindo com a aceitação e preferência do produto final.

**Palavras-chave:** envelhecimento de bebidas, dispositivo ultrassônico, extração de compostos fenólicos, atividade antioxidante, análise sensorial.

## ABSTRACT

The diversification in the processing of apples, such as the development of woody apple liqueur, adds value to the productive chain of this fruit, returning more income to companies and producers. The practice of aging beverages, such as fruit liqueur, incorporates phenolic compounds from wood, contributing to the sensory enhancement due to the incorporation of new aromas and flavors. The objective of this work was to establish a protocol for the elaboration of an aged apple liqueur with wooden chips, previously treated by ultrasound. In a first step to obtain an ideal formulation for the new apple liqueur, experimental tests were developed with three variations of Gala apple juice (whole juice, whole juice + pectinase and pectinized), mixed with cereal alcohol and obtaining different alcoholic levels (15.0°; 17.5°; 20.0°; 22.5° and 25.0°), as well as different sugar levels (30, 50, 70 and 100 g/L). The aging process was applied, in liqueur with 100 g/L of sugar and 20° GL, with addition of wood chips toasting and untoasting, varying the pre-treatment of these chips, in ultrasonic bath, ultrasonic device or without pre-treatment, which were monitored for 90 days with the analysis of total phenolic compounds, antioxidant activity (FRAP, DPPH and ABTS) and color to assess evolution of the liqueur's maturation. Physicochemical analyzes were performed before and after the aging process and sensory evaluation to define the intensity of sensory attributes and preference among different liquors. The best formulation was defined with whole juice, pectinase and cereal alcohol, with color parameter  $L^*$ , above 95.0, due to the sedimentation quality and the alcohol content of 20°, because there was no significant difference between the experiments. The liqueur with 100 g/L of sugar showed a higher percentage of acceptability of 77.5%. After 90 days, the liqueur that received pre-treated chips with an ultrasonic device showed 116.5% more in terms of total phenols and on average (between FRAP, DPPH and ABTS) 4.9 times more in terms of antioxidant activity than control liquor. Pretreatment with an ultrasonic device accelerated the extraction process by 60 days, when compared to the liquor that received untreated chips. Untoasting chips contributed 17.4% more to the phenolic content than toasting chips, in terms of total phenols. The liqueur that received pre-treated chips untoasting in an ultrasonic device also showed a greater variation in total color  $\Delta E = 7.03$  and sensorially presented more preference. In this way it was possible to obtain a protocol for the elaboration of apple woody liqueur using pre-treated wooden chips with an ultrasonic device. The use of ultrasound technology accelerated the extraction process of phenolic compounds from wood, with a significant increase in the content of phenolic compounds and antioxidant activity of the liqueur, and also intensified the presence of the woody attributes in the apple liqueur, contributing to the acceptance and preference of the final product.

**Keywords:** beverage aging, ultrasonic device, extraction of phenolic compounds, antioxidant activity, sensory analysis.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1.	Evolução da produção nacional da maçã entre 1997 e 2017.....	12
Figura 1.2.	Estrutura do ácido clorogênico (ácido 5-p-cafeoilquínico).....	14
Figura 1.3.	Estrutura Básica da classe flavonoides.....	15
Figura 2.1.	Formação de compostos aromáticos a partir da lignina.....	24
Figura 3.1.	Fluxograma dos testes experimentais para formulação de licor de maçã.....	49
Figura 3.2.	Imagens dos licores de maçã da Etapa 1 e resultados de Luminosidade (*L).....	55
Figura 3.3.	Licores de maçã da Etapa 2 com variações na concentração de açúcar.....	59
Figura 3.4.	Avaliação de aceitabilidade dos licores de maçã com diferentes teores de açúcar residual*.....	62
Figura 3.5.	Porcentagens para os níveis agregados de intensidade de cada atributo em cada licor.....	63
Figura 3.6.	Análise de correspondência entre atributos e respectivos licores.....	66
Figura 4.1.	<i>Chips</i> de Madeira de Carvalho Europeu.....	71
Figura 4.2.	Esquema dos experimentos de envelhecimento no licor de maçã.....	73
Figura 4.3.	Licores envelhecidos para ADO.....	78
Figura 4.4.	Evolução dos parâmetros de cor.....	92
Figura 4.5.	Evolução da aparência do L1.....	93
Figura 4.6.	Imagens Microscopia Eletrônica de Varredura antes e após tratamento ultrassônico.....	95
Figura 4.7.	Análise de desempenho dos avaliadores na ADO.....	97
Figura 4.8.	Análise de Componente Principal (ACP).....	100



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1.	Principais compostos fenólicos encontrados na maçã.....	14
Tabela 2.1.	Pesquisas com aplicação de <i>chips</i> de madeira no envelhecimento de bebidas.....	27
Tabela 2.2.	Pesquisas com aplicação de Ultrassom no envelhecimento de bebidas.....	32
Tabela 2.3.	Pesquisas com aplicação de micro-oxigenação no envelhecimento de bebidas.....	34
Tabela 2.4.	Pesquisas com aplicação de Campo Elétrico Pulsado no envelhecimento de bebidas.....	38
Tabela 2.5.	Pesquisas com aplicação de tecnologias combinadas no envelhecimento de bebidas.....	41
Tabela 3.1.	Formulação dos licores de maçã da Etapa 1.....	50
Tabela 3.2.	Formulação dos licores de maçã na Etapa 2.....	50
Tabela 3.3.	Caracterização dos diferentes licores dos 3 experimentos da Etapa 1.....	56
Tabela 3.4.	Dados colorimétricos dos diferentes licores da Etapa 1.....	57
Tabela 3.5.	Caracterização físico-química dos licores da Etapa 2.....	59
Tabela 3.6.	Percentual de penalidades e efeito na média da nota de aceitabilidade.....	64
Tabela 3.7.	Teste de Cochran para cada atributo.....	65
Tabela 4.1.	Parâmetros cromatográficos dos padrões de compostos fenólicos.....	77
Tabela 4.2.	Resultados físico-químicas dos sete licores no $T_i$ e $T_f$ .....	81
Tabela 4.3.	Evolução de fenóis totais nos licores durante envelhecimento em mg EAC/L.....	84
Tabela 4.4.	Resultados de atividade antioxidante pelos métodos FRAP, DPPH e ABTS em $\mu\text{mol TE/L}$ .....	88
Tabela 4.5.	Resultados dos parâmetros de cor para os licores de maçã.....	91
Tabela 4.6.	Resultados dos compostos fenólicos individuais.....	93
Tabela 4.7.	Caracterização dos licores na ADO.....	98

## LISTA DE SIGLAS

ABTS	2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)
ACP	Análise de componentes principais
ADO	Análise descritiva ordenativa
AGP	Análise generalizada de procrustes
CEP	Campo elétrico pulsado
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazilo
EAC	Equivalente ácido clorogênico
FRAP	<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i> (poder antioxidante de redução do ferro)
FT	Fenóis Totais
CQA	Ácido clorogênico
MSQ	Madeira Sem Queima
MQ	Madeira Queimada
MOX	Micro-oxigenação
TE	Trolox
TPTZ	2,4,6-tripiridil-s-trizina
TROLOX	Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico
US	Ultrassom

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO</b> .....	12
<b>OBJETIVOS</b> .....	13
<b>CAPÍTULO 1. REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	14
<b>1.1 Maçã (<i>Malus domestica Borkh</i>)</b> .....	15
1.1.1 Dados produtivos da Maçã.....	15
1.1.2 Compostos fenólicos da maçã.....	17
1.1.3 Suco de Maçã.....	19
<b>1.2 Licor</b> .....	20
1.2.1 Histórico.....	20
1.2.2 Definição e Legislação.....	21
1.2.3 Classificação.....	21
1.2.4 Licor de Frutas.....	22
1.2.4.1 <i>Licor de Maçã</i> .....	23
<b>1.3 Considerações finais</b> .....	24
<b>CAPÍTULO 2. TECNOLOGIAS ALTERNATIVAS PARA ACELERAR O PROCESSO DE ENVELHECIMENTO DE BEBIDAS ALCOÓLICAS: UMA REVISÃO</b> .....	25
<b>2.1 Introdução</b> .....	26
<b>2.2 Formação de compostos durante etapa de maturação</b> .....	27
<b>2.3 Tecnologias alternativas para acelerar envelhecimento de bebidas</b> .....	29
2.3.1 Chips de madeira.....	29
2.3.2 Ultrassom.....	33
2.3.3 Micro-oxigenação.....	37
2.3.4 Campo Elétrico Pulsado.....	39
<b>2.4 Pesquisas com aplicação combinada de tecnologias alternativas</b> .....	43
<b>2.5 Considerações finais</b> .....	48
<b>CAPÍTULO 3. DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÃO IDEAL PARA UM NOVO LICOR DE MAÇÃ</b> .....	49
<b>3.1 Introdução</b> .....	51
<b>3.2 Materiais e métodos</b> .....	52
3.2.1 Materiais.....	52
3.2.2 Métodos.....	52
3.2.2.1 <i>Processamento de suco de maçã</i> .....	52
3.2.2.2 <i>Elaboração de licor de maçã</i> .....	52
3.2.2.3 <i>Determinação de glucose, frutose e sacarose</i> .....	55
3.2.2.4 <i>Determinação de acidez total</i> .....	55

3.2.2.5	<i>Determinação do teor alcoólico.....</i>	55
3.2.2.6	<i>Análise de Densidade e Viscosidade.....</i>	56
3.2.2.7	<i>Análise de Cor.....</i>	56
3.2.2.8	<i>Determinação dos compostos fenólicos totais (CFT).....</i>	56
3.2.2.9	<i>Determinação de Atividade Antioxidante.....</i>	57
3.2.2.10	<i>Análise Sensorial.....</i>	58
3.2.2.11	<i>Análise Estatística.....</i>	59
<b>3.3</b>	<b>Resultados e discussão.....</b>	59
3.3.1	Definição de processamento do licor de maçã – Etapa 1.....	59
3.3.2	Definição da formulação ideal do licor de maçã – Etapa 2.....	62
3.3.3	Avaliação sensorial do licor de maçã.....	65
<b>3.4</b>	<b>Conclusão.....</b>	71

<b>CAPÍTULO 4. AVALIAÇÃO DE DIFERENTES MÉTODOS DE ENVELHECIMENTO ACELERADO DO LICOR DE MAÇÃ.....</b>	<b>72</b>
<b>4.1 Introdução.....</b>	<b>74</b>
<b>4.2 Materiais e métodos.....</b>	<b>75</b>
4.2.1 Materiais.....	75
4.2.2 Métodos.....	76
4.2.2.1 <i>Processo de envelhecimento do licor.....</i>	76
4.2.2.2 <i>Análise de glucose, frutose e sacarose.....</i>	77
4.2.2.3 <i>Análise de acidez total.....</i>	78
4.2.2.4 <i>Análise de teor alcoólico.....</i>	78
4.2.2.5 <i>Análise de Densidade e Viscosidade.....</i>	78
4.2.2.6 <i>Análise de cor.....</i>	78
4.2.2.7 <i>Determinação dos compostos fenólicos totais (CFT).....</i>	79
4.2.2.8 <i>Determinação de Atividade Antioxidante.....</i>	79
4.2.2.9 <i>Identificação e quantificação de compostos fenólicos individuais...</i>	80
4.2.2.10 <i>Microscopia Eletrônica de Varredura por Emissão de Campo.....</i>	81
4.2.2.11 <i>Análise Sensorial.....</i>	82
4.2.2.12 <i>Análise Estatística.....</i>	84
<b>4.3 Resultados e discussão.....</b>	<b>84</b>
4.3.1 Análises físico-químicas.....	84
4.3.2 Análise de fenóis totais e atividade antioxidante.....	87
4.3.3 Parâmetros de Cor.....	95
4.3.4 Compostos fenólicos individuais.....	97
4.3.5 Imagens por Microscopia Eletrônica de Varredura.....	99
4.3.6 Análise Sensorial dos licores após envelhecimento.....	100
4.3.6.1 <i>Avaliação de desempenho dos julgadores na ADO.....</i>	100
4.3.6.2 <i>Caracterização dos licores de maçã pela análise descritiva ordenativa (ADO).....</i>	102
4.3.6.3 <i>Análise de Componente Principal (ACP).....</i>	103
<b>4.4 Conclusão.....</b>	<b>105</b>

<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>106</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>108</b>
<b>ANEXO A - Ficha de avaliação sensorial dos licores – Etapa 2.....</b>	<b>119</b>
<b>ANEXO B – Ficha de avaliação livre para análise descritiva orientativa.....</b>	<b>120</b>
<b>ANEXO C – Ficha com referências para atributos na análise descritiva orientativa.....</b>	<b>121</b>
<b>ANEXO D – Ficha sensorial para análise descritiva orientativa.....</b>	<b>122</b>
<b>ANEXO E – Termo de consentimento livre e esclarecido.....</b>	<b>123</b>

## INTRODUÇÃO

A maçã é a terceira fruta mais produzida no mundo. Consiste na principal fonte de compostos antioxidantes em vários países, pois pode ser encontrada de janeiro a janeiro em grandes supermercados. Esta atividade biológica está correlacionada ao seu perfil fenólico. A recomendação de dietas alimentares ricas em alimentos com altos níveis de compostos fenólicos podem proporcionar benefícios à saúde, reduzindo o risco de incidência de doenças cardiovasculares como também de alguns tipos de câncer.

Produtores e empresas de processamento de maçã devem investir no desenvolvimento de produtos inovadores, principalmente onde possam ser utilizadas as frutas classificadas como descarte industrial, que além de agregar valor à esta matéria-prima, possibilita retorno de renda maior para a cadeia produtiva.

O desenvolvimento de produtos a partir do processamento de frutas, contribui com a preservação de compostos bioativos com características antioxidantes presentes nas frutas, gerando produtos diferenciados com alto valor nutricional. Licor de frutas é um produto de processamento relativamente simples que atende perfeitamente esta demanda.

O envelhecimento de bebidas alcoólicas contribui nas características de cor e aroma do produto final, porque geralmente é realizado em barris de madeira, ocorrendo transferência de compostos químicos e micro-oxigenação, devido a porosidade da madeira, acarretando em reações químicas benéficas à bebida. Entretanto, a maturação de bebidas requer tradicionalmente períodos muito longos de estocagem, necessitando de grandes áreas de processamento, além da ocorrência de perdas de produto por evaporação. Desta forma, a aplicação de tecnologias alternativas para acelerar esta etapa de envelhecimento, como ultrassom, micro-oxigenação, campo elétrico pulsado e *chips* de madeira, vêm ao encontro da necessidade de negócios mais sustentáveis além da redução de custos imobilizados e aumento da lucratividade.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi estabelecer um protocolo de fabricação de bebida licorosa de maçã com envelhecimento acelerado por *chips* de madeira de carvalho tratados previamente com ultrassom.

## OBJETIVOS

### OBJETIVO GERAL

*Estabelecer* um protocolo de fabricação de bebida licorosa de maçã com envelhecimento acelerado por *chips* de madeira tratados previamente com ultrassom.

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- *Definir* o processo e a formulação ideal para elaboração de um novo licor de maçã;
- *Avaliar* o processo de envelhecimento do licor de maçã em presença de *chips* de madeira, com queima e sem queima;
- *Verificar* o efeito do ultrassom com banho ultrassônico e dispositivo ultrassônico no pré-tratamento dos *chips* de madeira;
- *Avaliar* composição fenólica e atividade antioxidante dos diferentes licores, obtidos a partir de diferentes tratamentos;
- *Analisar* o perfil e aceitação sensorial dos licores, elaborados com ausência e presença de *chips* de madeira, com queima e sem queima, tratados ou não com ultrassom.

## **CAPÍTULO 1**

### **REVISÃO DE LITERATURA**



## 1.1 Maçã (*Malus domestica* Borkh)

A maçã consiste em uma importante fonte de antioxidantes, muito eficaz no controle preventivo aos radicais livres, que causam danos oxidativos a várias moléculas no organismo humano, dando origem a muitas doenças degenerativas. A maçã tem alto valor nutricional com presença de compostos fenólicos, vitaminas B e C, cálcio, potássio, fósforo e fibra, recomenda-se incluir a maçã na dieta diária, inclusive que se consuma com a casca, quando ingerida de forma fresca (BOGDANESCU et al., 2017).

Estudos epidemiológicos referenciam que o consumo da maçã contribui com vários benefícios à saúde, desde a diminuição do risco de doenças cardiovasculares e diabetes do tipo II, diminuição nas taxas de colesterol total, diminuição no risco de câncer de pulmão e câncer colorretal, prevenção da demência e Alzheimer até em regimes destinados à redução da obesidade (KALINOWSKA et al., 2014).

### 1.1.1 Dados produtivos da Maçã

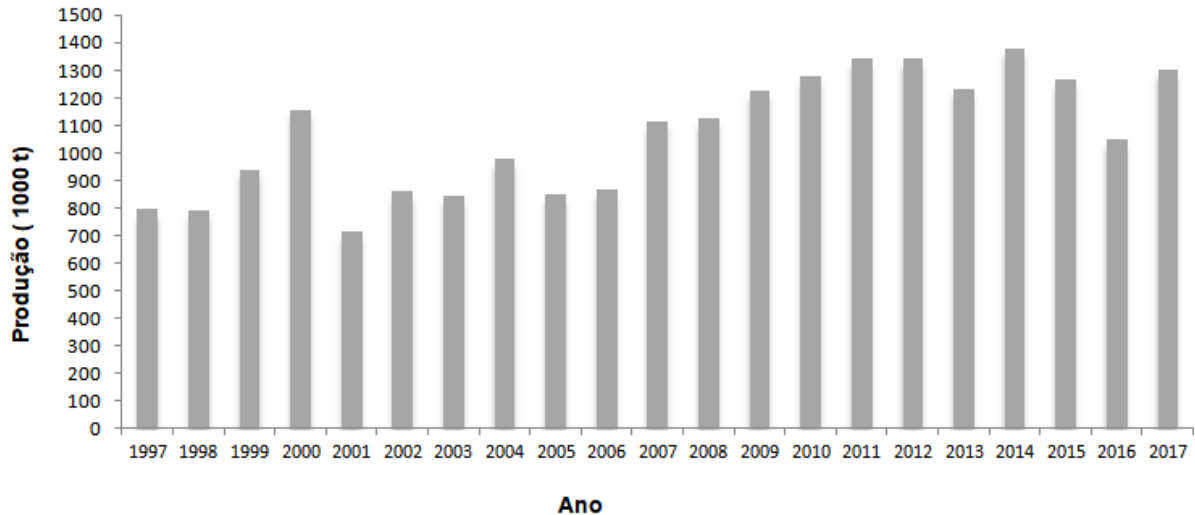
A maçã é a terceira fruta mais consumida no Brasil, ficando atrás apenas da banana e laranja (ABPM, 2017). Em 2013 o consumo *per capita* foi de 4,95 kg, mas inferior se comparado a Argentina (19,72 kg/hab/ano) e Chile (11,13 kg/hab/ano), e a países como Estados Unidos da América (18,45 kg/hab/ano) e a China (20,9 kg/hab/ano) (FAOSTAT, 2019).

A produção nacional está concentrada na região sul, com 98% da produção total, onde as condições de clima e altitude são mais favoráveis ao desenvolvimento da cultura, com predominância das cultivares Gala e Fuji, com 95% da área plantada (IBGE, 2017; ABPM, 2018).

A maçã foi a 3º fruta mais produzida no mundo, atrás da melancia e da banana, com produção mundial em 2017 de 83,14 milhões de toneladas, sendo a China o maior produtor com 41,39 milhões de ton (50% da produção), seguido pelo Estados Unidos da América com 5,17 milhões de toneladas. O Brasil ocupou a 11º lugar com 1,3 milhões de toneladas (FAOSTAT, 2019). A partir da década de 70, a pomicultura brasileira ganhou incentivos políticos e de pesquisa e tecnologia e obteve crescimento significativo, resultando nos últimos dez anos, uma produção

acima de um milhão de toneladas por ano, conforme Figura 1.1 (WOSIACKI; NOGUEIRA, 2018).

**Figura 1.1. Evolução da produção nacional da maçã entre 1997 e 2017**



Fonte: FAOSTAT (2019).

O destino da produção nacional segue entre 70% para consumo *in natura*, 20% para industrialização, principalmente bebidas, e 10% são descartadas. Frutas que apresentam defeitos físicos, danificadas e com alta incidência de defeitos fitopatológicos são classificadas como descarte industrial e conduzidas ao beneficiamento. Esse percentual de industrialização no país tende a aumentar, devido à demanda crescente no mercado interno pelo suco pronto para consumo, sendo considerado o principal produto do processamento de maçã (WOSIACKI; NOGUEIRA, 2018).

Outros produtos também são elaborados como doces, geleias, compotas e vinagre. O fermentado alcoólico de maçã, além do consumo direto, constitui a base para a elaboração da sidra, bebida frísante e para a produção de destilados envelhecidos (SEBRAE, 2018).

### 1.1.2 Compostos fenólicos da maçã

O perfil de compostos fenólicos da maçã varia conforme o tipo de cultivar, o grau de maturação da fruta, condições climáticas e de solo durante o plantio, como também fatores inerentes à etapa de armazenamento durante período de entressafra. Essas diferenças de perfil contribuem em aspectos sensoriais essenciais na definição dos padrões de qualidade de produtos derivados da maçã, como sucos, fermentados e sidras (ZIELINSKI et al., 2014; KARAMAN et al., 2013; BOYER; LIU, 2004).

Os estágios de maturação e a variedade contribuem com variações no perfil fenólico nos sucos de maçã. Na variedade Gala, o conteúdo fenólico diminui quando amadurecem, mas voltam a aumentar na senescência, enquanto na variedade Fuji Suprema os valores diminuem com a senescência. A fermentação do suco para a produção de sidra reduz o conteúdo fenólico que afeta principalmente os ácidos fenólicos e flavanóis (SILVA et al., 2018).

A distribuição e o teor dos compostos fenólicos nos diferentes tecidos da fruta apresentam diferentes capacidades antioxidantes. Enquanto o consumo de polpa de maçã pode fornecer 48-78% da capacidade antioxidante, esse valor pode aumentar para 79-89% quando incluir a casca (ZARDO et al., 2013).

Durante as etapas no processamento de suco de maçã ocorre perda no conteúdo fenólico, principalmente devido as reações de escurecimento enzimático e durante a despectinização, geralmente utilizada para obtenção de suco clarificado (ZARDO et al., 2008).

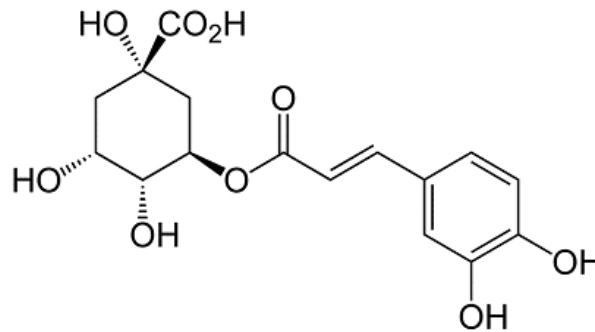
As principais classes de compostos fenólicos encontrados em maçãs são os ácidos fenólicos e os flavonóides. Os ácidos hidroxicinâmicos e os ácidos hidroxibenzóicos aparecem como representantes de ácidos fenólicos e a classe dos flavonóides compreendem os flavan-3-óis (catequina, epicatequina e procianidinas), antocianinas, flavonóis (glicosídeos de quercetinas) e dihidrochalconas (floreтина e floridzina), conforme esquema da Tabela 1.1 (ZIELINSKI et al., 2014; KALINOWSKA et al., 2014; ZARDO et al., 2013).

**Tabela 1.1. Principais compostos fenólicos encontrados na maçã**

Principais Grupos Fenólicos	Principais Compostos representantes
Ácidos hidroxicinâmicos	Ácido Clorogênico (ácido 5-p-caffeoilquínico)
	Ácido p-cumárico
	Ácido cafeico
Flavan-3-óis	Monoméricos – Epicatequina e Catequina
	Oligoméricos - Procianidinas
Antocianinas	Cianidina – forma glicosilada
Flavonóis	Quercetina – formas glicosiladas
Dihidrochalconas	Floretina 2-xiloglucosídeo
	Flordizina

Fonte: Zielinski et al. (2014); Kalinowska et al. (2014).

O ácido clorogênico, ou ácido 5-p-caffeoilquínico, é o principal representante dos ácidos hidroxicinâmicos (Figura 1.2). Importante substrato para a enzima polifenoloxidase, contribuindo para formação de pigmentos marrons (melanoidinas) em maçãs (ALBERTI et al., 2014). A sua distribuição na fruta ocorre de forma desigual, contribuindo com 79% dos fenólicos totais na casca, 76% na polpa e 87% nas sementes (GUYOT et al., 1998).

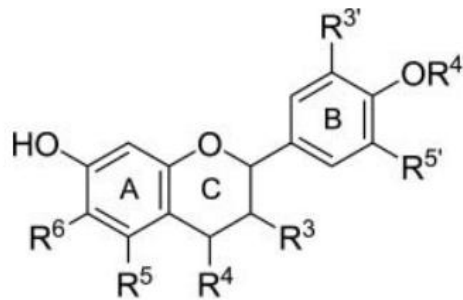
**Figura 1.2. Estrutura do ácido clorogênico (ácido 5-p-caffeoilquínico)**

Fonte: Boyer e Liu (2004).

Os flavonoides são os mais estudados devido à contribuição de atividade antioxidante benéfica a saúde por apresentar elevado poder redutor (TSAO; YANG, 2003). Essencialmente a estrutura consiste de dois anéis aromáticos, A e B, ligados por uma ligação carbono-3, usualmente na forma de um anel heterocíclico, C. Entretanto, variações estruturais dentro dos anéis, como número de hidroxilas e insaturações, subdividem os flavonoides em diferentes classes; antocianinas,

flavonóis e flavan-3-óis. A representação do esqueleto da estrutura química dos flavonóides é apresentada na Figura 1.3 (BUENO et al., 2012).

**Figura 1.3. Estrutura Básica da classe flavonóides**



Fonte: Bueno et al. (2012).

### 1.1.3 Suco de Maçã

As cultivares Gala e Fuji, que são as principais produzidas no Brasil, apresentam pouca aptidão tecnológica para o desenvolvimento de sucos e bebidas alcoólicas, porque o conteúdo de ácidos orgânicos e de compostos fenólicos, principais responsáveis pelo “corpo” da bebida, não é tão significativo. Uma alternativa para este impasse tecnológico é realizar misturas proporcionais com suco de provenientes de cultivares polinizadoras. Alguns países da Europa cultivam variedades específicas, denominadas de industriais, para a produção de bebidas (WOSIACKI; NOGUEIRA, 2018).

O processamento do suco de maçã começa com a seleção e lavagem da matéria-prima, e na sequência, as frutas são trituradas. A massa triturada é prensada para extração de suco bruto ou integral. Para a produção de sucos clarificados, é realizado a despectinização, que consiste em hidrólise das substâncias pécticas, responsáveis pela turvação dos sucos (*haze*) e da formação de sedimentos, comprometendo a transparência da bebida. Na sequência do processamento, o suco clarificado ainda pode passar por etapa de filtração e de pasteurização. Neste momento, o suco está pronto para envase e para ser comercializado (LAZZAROTTO et al., 2016).

A opção de concentração do suco até 70° Brix, a partir de evaporadores, também é uma alternativa para as indústrias. Esse recurso de concentração proporciona redução de custo operacional nas indústrias, com áreas menores de armazenamento e também com custos menores de transporte, além de proporcionar disponibilidade de produto durante todo o ano (WOSIACKI; NOGUEIRA, 2018).

Outra forma de concentrar o suco é por meio da crioc concentração. Nesse processo, a água é parcialmente congelada para produzir uma suspensão de cristais de gelo no produto que está sendo concentrado, que são separados utilizando uma coluna de lavagem ou centrifugação (OMRAN et al., 2013). Um método simples e de baixo custo para a concentração de suco de maçã, que produz um excelente produto natural, que preserva os níveis de compostos fenólicos nos sucos de maçã, bem como a atividade antioxidante, podendo ser utilizado para complementar e enriquecer bebidas, a fim de melhorar as propriedades sensoriais, nutricionais e antioxidantes (ZIELINSKI et al., 2019).

## 1.2 Licor

### 1.2.1 Histórico

O nome licor tem origem nas palavras em Latim *liquefacere* e *liquore*, que significam tornar líquido e líquido, respectivamente (SLIWINSKA et al., 2015). A palavra licor possui outras acepções que podem designar preparações químicas e ou farmacêuticas (LIMA, 2016).

Na Idade Média, o preparo de tinturas, tônicos e antissépticos para fins medicinais, eram obtidos a partir do contato do álcool com ervas e vegetais. A adição de partículas de ouro a essas misturas produziam um remédio que curava todos os males, muito requisitado naquela época. Relatos históricos, no final do século XV retratam a adição de açúcar a estes extratos proporcionando uma bebida reconfortante e requintada, apreciada por pessoas de classes nobres. Naquele momento, as misturas e extratos obtidos da infusão de álcool e ervas, passaram de remédios a bebidas da moda (LIMA, 2016).

### 1.2.2 Definição e Legislação

Licor é uma bebida alcoólica, que se caracteriza pela elevada proporção de açúcar misturada com álcool e com compostos aromáticos extraídos de frutas, raízes, sementes, sucos de frutas, ervas aromáticas, flores, cascas de frutas ou de plantas, bem como produtos de origem animal como creme de leite ou leite condensado. Além disso, óleos essenciais e aromas naturais e sintéticos também podem ser usados (SLIWINSKA et al., 2015).

Os licores são bebidas fáceis de serem consumidas, extremamente agradáveis e muito saborosas, com propriedades digestivas e estimulantes. Podem ser servidos como aperitivo, antes das refeições para estimular o apetite, ou como digestivo, quando consumido após (PENHA, 2006).

No Brasil, o tema é regulado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), com o Decreto Nº 6.871, de 4 de Junho de 2009, define o licor como uma:

“bebida com graduação alcoólica de 15 a 54% (v/v), a 20°C, e um percentual de açúcar superior a 30 g/L, elaborado com álcool etílico potável de origem agrícola, ou destilado alcoólico simples de origem agrícola, ou bebidas alcoólicas adicionadas de extrato ou substâncias de origem vegetal ou animal, substâncias aromatizantes, saborizantes, corantes e outros aditivos permitidos por lei” (BRASIL, 2009).

A mesma legislação também estabelece a denominação recebida pelo licor de acordo com a quantidade de açúcar na composição. Licor seco que contém entre 30 a 100 gramas de açúcares por litro; Licor fino ou doce que contém entre 100 a 300 g/L; Licor creme que contém mais de 350 g/L; Licor escarchado ou cristalizado é a bebida saturada de açúcares parcialmente cristalizados (BRASIL, 2009).

### 1.2.3 Classificação

Há várias formas de classificar e de denominar os licores, porque diversos processos de obtenção são conhecidos assim como as diversas matérias-primas empregadas. As classificações mais encontradas levam em consideração a origem

de obtenção, natural ou artificial, a maneira de obter, o teor de álcool e açúcar, como comuns, finos e superfinos (LIMA, 2016).

Os licores naturais são considerados os licores produzidos a partir da destilação de vinhos e ou bebidas fermentadas. Em geral denominados de aguardentes ou destilados, apresentam elevado teor de álcool entre 40 e 65%. Já os licores propriamente ditos, ou licores artificiais, obtidos da mistura de uma fonte alcoólica, açúcar, água e extrato aromático, neste caso, a qualidade dos ingredientes é fundamental para a obtenção de um produto de qualidade (LIMA, 2016).

Com relação à forma de obtenção os licores podem ser obtidos por destilação, maceração e por mistura de extratos (essências), açúcar e uma fonte de álcool. Os licores obtidos por maceração designam as bebidas obtidas a partir do procedimento onde uma substância sólida é colocada em contato em álcool, por um determinado tempo, para que ocorra a solubilização de compostos solúveis e transferência para a bebida final. É o método mais antigo e praticamente o mais seguido nas preparações artesanais, porque é de simples operacionalização.

Variações da maceração são aplicadas dependendo do tipo de matéria-prima empregada, como a infusão, que seria a maceração a quente, no caso de utilizar flores e folhas, e digestão, uma maceração a quente mais prolongada, quando os compostos voláteis de interesse não são solúveis a temperatura ambiente (LIMA, 2016).

Nos licores por destilação, os aromas são obtidos por maceração ou digestão seguida de destilação. Os licores provenientes da destilação apresentam elevado grau de delicadeza e pureza. Os cuidados em conduzir a destilação, como a escolha do gradiente de temperaturas durante o aquecimento é fundamental para preservar os compostos aromáticos (LIMA, 2016).

#### 1.2.4 Licor de Frutas

Licor de frutas é uma bebida alcoólica preparada sem processo fermentativo, cujos principais componentes naturais são frutas. Cuidados durante o processo de elaboração do licor são fundamentais para preservar as características de cor,



aroma e sabor, que são atributos que o consumidor irá associar à fruta com a qual foi preparado (PENHA, 2006).

Bebidas elaboradas com frutas apresentam em sua composição final, compostos fenólicos provenientes das mesmas e conseqüentemente poder antioxidante benéfico a saúde, quando o consumo não ultrapassar os limites recomendado pela Organização Mundial da Saúde (LETOWSKA et al., 2014).

A etapa de maceração alcoólica, durante a produção de licor, demanda maior atenção devido ao fato que neste momento ocorre a extração de cor, aromas e sabores provenientes da fruta e que vão contribuir com a qualidade final da bebida. Os componentes fenólicos responsáveis por estas características são sensíveis a oxidação e podem se perder durante o processo (PAZ et al., 2014).

A qualidade da fonte alcoólica contribui diretamente na qualidade final do produto, deve ser neutro, de maneira a não interferir no gosto, aroma ou cor do licor. O álcool de cereais é o mais recomendado, porque é refinado e sem odor, o que permite realçar o aroma e sabor da fruta (EMATER, 2018).

#### 1.2.4.1 Licor de Maçã

No noroeste da França, o licor de maçã é um aperitivo tradicional e produzido sob denominação de origem como "*Pommeau*". Três produtos receberam títulos com Appellation d'Origine Contrôlée (AOC) pelo governo Francês: "AOC *Pommeau de Normandie*", "AOC *Pommeau de Bretagne*" e "AOC *Pommeau du Maine*." O *Pommeau de Normandie* é o mais renomado e foi o primeiro a ser rotulado em 1991.

O *pommeau* é elaborado a partir da mistura de suco de maçã bruto ou clarificado e Calvados, destilado de sidra, em proporções de aproximadamente 2:1, respectivamente. Posteriormente, essa mistura é armazenada em barris de madeira e dependendo o produtor, varia o tempo de envelhecimento de 14 a 21 meses. O produto final apresenta cor característica âmbar, com teor alcoólico entre 15-20% e mínimo 69 g/L de açúcar (LÉGIFRANCE, 1991).

### 1.3 Considerações finais

O licor envelhecido de maçã é um produto inexistente no Brasil. O desenvolvimento de uma bebida alcoólica a partir de uma fruta rica em compostos fenólicos e mais compostos provenientes da madeira na etapa de maturação, atende uma demanda atual por produtos naturais e com apelo de identidade e originalidade, além da qualidade intrínseca.

Utilizar a maçã para fabricação de licor agrega valor à matéria-prima, ainda mais se o licor for envelhecido, e conseqüentemente pode gerar mais renda ao produtor desta cultura.

Envelhecer licores em contato com a madeira não é uma prática muito utilizada, o mais comum é realizar um “descanso” da bebida em tanques, antes da etapa de envase. Desenvolver um protocolo que use a madeira nesta etapa de maturação contribui para uma bebida de qualidade com mais complexidade sensorial, pois compostos oriundos da madeira são incorporados.

## **CAPÍTULO 2**

### **TECNOLOGIAS ALTERNATIVAS PARA ACELERAR O PROCESSO DE ENVELHECIMENTO DE BEBIDAS ALCOÓLICAS: UMA REVISÃO**

## 2.1 Introdução

Bebidas alcoólicas (vinhos, cervejas, destilados e licores) podem ser acondicionadas em barris de madeira antes do consumo. Durante esse armazenamento, as bebidas desenvolvem aroma e sabor distintos que são apreciados pelos consumidores (BALCEREK et al., 2017). Originalmente, o acondicionamento em barris servia apenas como meio de armazenamento e transporte, e possivelmente foram os celtas, por volta do século III AC, que inventaram para substituir as ânforas (vasos de cerâmica) que tinham o inconveniente de quebrar facilmente. Os mesopotâmios antigos usavam madeira de palma, para confecção dos barris, mas o uso de carvalho remonta a partir do império romano, com objetivo e necessidade de armazenar e transportar vinho por longas distâncias e longos períodos de tempo (ZHANG et al., 2015).

O processo de envelhecimento ou maturação de bebidas alcoólicas agrega qualidade sensorial ao produto final, principalmente com mudanças na cor, sabor e aromas. Alterações na composição e concentração de compostos químicos da bebida são as principais modificações que ocorrem durante a maturação e são causadas por alguns mecanismos principais: 1) Extração direta de compostos de madeira; 2) Extração e decomposição de macromoléculas da madeira na bebida; 3) Reações entre componentes da madeira e os constituintes da bebida 'jovem'; 4) Reações envolvendo apenas os extratos da madeira; 5) Reações envolvendo apenas os componentes da bebida e 6) Evaporação de compostos voláteis (MOSEDALE; PUECH, 1998).

As práticas de envelhecimento influenciam na qualidade final dos destilados de forma significativa. Aspectos como as espécies de madeira, intensidade de tostagem e período de maturação são os principais fatores que podem modificar a composição química e propriedades sensoriais de destilados (BORTOLETTO et al., 2016). Condições ambientais durante o armazenamento, como controle de temperatura e umidade, também são fatores que podem contribuir para um destilado com características únicas, produzindo uma bebida com identidade própria (AQUINO et al., 2006).

Cada vez mais pesquisas sobre aceleração do envelhecimento despertam interesse, pois oferecem uma alternativa economicamente mais viável aos produtores de bebidas. Além de reduzirem os custos de processo com reposição ou

manutenção dos barris, também proporcionam uma diminuição de perdas de produto por evaporação, que ocorre quando armazenados por longos períodos (MADRERA et al., 2013).

Entretanto, muitos estudos científicos sobre tecnologias alternativas para acelerar etapa de envelhecimento estão sendo realizados, com resultados equivalentes aos métodos tradicionais, onde as características sensoriais e físico-químicas das bebidas são similares (DELGADO-GONZÁLEZ et al., 2017; GARCÍA MARTÍN e SUN, 2013; LAQUI-ESTAÑA et al., 2019; SÁNCHEZ-GÓMEZ et al., 2018; ZHANG et al., 2013). Desta forma, esta revisão tem como objetivo agregar conhecimentos existentes sobre as reações químicas envolvidas durante o envelhecimento de bebidas, os mecanismos responsáveis pelo desenvolvimento dos marcadores de envelhecimento e as tecnologias alternativas para acelerar estas reações, como uso de *chips* de madeira, ultrassom, micro-oxigenação e campo elétrico pulsado.

## **2.2 Formação de compostos durante etapa de maturação**

As reações que ocorrem durante a maturação, envolvendo os compostos presentes na própria bebida 'jovem' como também entre os compostos derivados da madeira, consistem em reações de oxidação, esterificações, reações de Maillard, polimerizações e policondensações. As principais mais citadas são a oxidação gradual do etanol em acetaldeído e ácido acético, seguida pela formação de acetato de etila, via reação de esterificação do etanol e ácido acético (MOSELADE; PUECH, 1998).

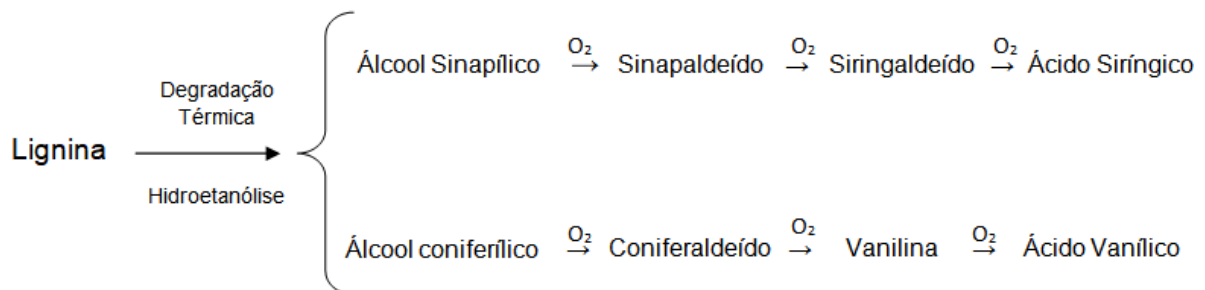
Vários compostos são apontados na literatura internacional como marcadores de envelhecimento de bebidas, como referência nos processos de maturação de uísque e de vinho. Entre eles, os compostos fenólicos de baixo peso molecular, como o ácido gálico, 5-hidroximetilfurfural, furfural, coniferaldeído, vanilina, ácido vanílico, sinapaldeído, siringaldeído e ácido siríngico que são extraídos da madeira durante o período de maturação por vários mecanismos de degradação da celulose, hemicelulose e da lignina (BORTOLETTO; ALCARDE, 2015).

A celulose é uma fibra de reforço, a lignina atua como uma matriz e a hemicelulose como uma espécie de composto intermediário entre eles. Enquanto a hemicelulose e lignina originam açúcares livres e precursores aromáticos durante o

envelhecimento de bebidas alcoólicas, por outro lado, devido à sua estrutura cristalina, a celulose sofre poucas degradações ou modificações químicas, contribuindo mais com a resistência e permeabilidade da madeira (LE FLOCH et al., 2015).

A lignina é um polímero composto por monômeros fenilpropanóicos que se diferenciam de acordo com as posições do grupo metoxila. Em madeiras duras, tipo carvalho, predominam dois monômeros principais, álcool sinapílico e álcool coniferílico (SCHWARZ et al., 2014). Os mecanismos de formação dos congêneres de maturação a partir da lignina inicia-se a partir da degradação térmica, na prática da tanoaria, seguido por processo de hidroetanólise quando a madeira entra em contato com a bebida alcoólica, com liberação de monômeros que são oxidados sucessivamente a aldeídos aromáticos e posteriormente em seus ácidos (Figura 2.1), incluindo sinapaldeído, siringaldeído e ácido siríngico, originários do álcool sinapílico e coniferaldeído, vanilina e ácido vanílico, originários do álcool coniferílico (CERNISEV, 2017; LE FLOCH et al., 2015; ALCARDE et al., 2014).

**Figura 2.1. Formação de compostos aromáticos a partir da lignina**



Fonte: Schwarz (2014); Cernisev (2017).

Importante ressaltar que o pré-tratamento térmico que os barris de madeira recebem antes de serem utilizados, interfere de forma significativa nos níveis de compostos produzidos a partir da degradação principalmente da lignina da madeira, como também da hemicelulose (CERNISEV, 2017; LE FLOCH et al., 2015).

A hemicelulose representa uma fonte de monossacarídeos (pentoses) a partir de sua hidrólise, contribuindo com o corpo da bebida, durante o envelhecimento. Esses açúcares podem caramelizar diretamente durante a etapa de queima do barril e produzir precursores aromáticos como furfural e 5-hidroximetilfurfural, além de

proporcionar a cor do caramelo marrom (ALCARDE et al., 2014; BORTOLETTO; ALCARDE, 2015; LE FLOCH et al., 2015).

O congênera de maturação ácido gálico, oriundo dos taninos hidrolizáveis da madeira, está relacionado ao incremento de viscosidade e textura da bebida durante o processo de envelhecimento. Este composto extraído diretamente da madeira, é uma substância não-volátil, que contribui com visual e textura da bebida com qualidade mas não no bouquet aromático (ALCARDE et al., 2014).

Procedimentos escolhidos durante a tanoaria, nome dado ao ofício de produzir barris de madeira, tendem a modular características específicas na bebida envelhecida. Por exemplo, intensidade da queima final aplicada aos barris, tipo de madeira, ou seja, a origem botânica, e a capacidade do recipiente podem melhorar a complexidade aromática da bebida, porque ocorrem diferenças significativas no perfil fenólico e composição de voláteis durante a extração destes compostos (AQUINO et al., 2006; BORTOLETTO; ALCARDE, 2015; CALDEIRA et al., 2010).

## **2.3 Tecnologias alternativas para acelerar envelhecimento de bebidas**

### **2.3.1 Chips de madeira**

O envelhecimento de destilados e vinhos em contato com a madeira é fundamental para obtenção de aspectos positivos na qualidade da bebida, porém, barris de madeira são difíceis de limpar e que com o passar do tempo podem surgir problemas com contaminação microbológica, principalmente em vinhos (TAO et al., 2014a). Durante este período pode ocorrer evaporação de parte do etanol da bebida entre 1 a 3% por ano, se não houver controle de umidade e temperatura no local de armazenamento (MOSEDALE; PUECH, 1998).

Além disso, o uso prolongado e sucessivo dos barris contribui com a redução da quantidade de substâncias extraíveis e também com a taxa de extração desses compostos (BALCEREK et al., 2017). Garde-Cerdán e Ancín-Azpilicueta (2006), elaboraram uma revisão com estudos experimentais de envelhecimento de vinhos em barris novos, com 3 e 5 reusos. Constataram redução da disponibilidade de compostos voláteis derivados da madeira. A porosidade e a permeabilidade da madeira também são alteradas, causando colmatação progressiva dos poros da

madeira, diminuindo a taxa de consumo de oxigênio pelo vinho (PEREZ-PRIETO et al., 2003).

Com a intenção de aproveitar material residual da fabricação de barris de carvalho ou de barris antigos descartados, produtores iniciaram testes de uso de fragmentos e lascas, adicionando diretamente no vinho ou destilado em tanques de aço inox. Além de tornar o negócio ambientalmente sustentável, foi verificado que esta prática acelerava o processo de envelhecimento (MOSEDALE; PUECH, 1998).

Em 2006, a União Europeia autorizou o uso chips de madeira de carvalho na produção de vinho, pelo Regulamento (EC) nº 1507/2006 de 11 de Outubro de 2006. A partir deste momento, adição de lascas de carvalho foi intensificada para obter vinhos com características de madeira semelhantes aos vinhos envelhecidos em barris (Regulamento (CE) no 1507/2006 da Comissão das Comunidades Europeias, n.d.).

Uma grande variedade de peças de madeira pode ser encontrada no mercado em formato de chips, cubos, pó, aparas, granulados, blocos ou tábuas, de distintas origens botânicas, com vários tamanhos e diferentes graus de queima. Há uma variedade de termos utilizados para designar essas diferentes formas de apresentação de madeiras, como também falta de padronização desses produtos. Devido a imprecisão destes termos, se faz necessário a realização de análises químicas desses formatos de madeiras antes da sua utilização, a fim de prever o seu efeito nas características químicas e sensoriais da bebida (FERNÁNDEZ DE SIMÓN et al., 2010; JORDÃO et al., 2012; TALOUMI; MAKRIS, 2017).

Trabalhos científicos com *chips* de madeira possibilitam estudos com espécies de madeira não usuais na indústria de bebidas (Tabela 2.1), assim diferentes contribuições fenólicas e conseqüentemente contribuições sensoriais podem ser obtidas (BORTOLETTO; ALCARDE, 2013; DE SIMÓN et al., 2014; MADRERA et al., 2010; TALOUMI; MAKRIS, 2017).



Tabela 2.1. Pesquisas com aplicação de *chips* de madeira no envelhecimento de bebidas.

(continua)

Bebida	Madeira/Tratamentos					Principais Resultados	Referência
	Origem Botânica	Queima	Dimensões	Dosagem	Tempo		
Vinho tinto (Feteasca neagra)	Carvalho francês e americano	Sem queima; Média; Média Plus e Forte	0,5x1,5x0,2 cm	3 g/L 5 g/L	1,5 meses 3 meses	Chips sem queima e com queima média apresentaram maior teor fenólico. O grau de queima foi mais significativo do que a dosagem dos chips.	DUMITRIU et al., 2016
Destilado de vinho	Carvalho francês e Castanheira	Forte	Tábuas Tablets Barril (650L)	2 unidades 47 unidades 1 unidade	6 meses	O sistema de envelhecimento afetou o perfil sensorial das aguardentes enquanto a qualidade geral não foi afetada. As aguardentes envelhecidas com tablets parecem mais maduras que a bebida em barril, enquanto as aguardentes envelhecidas com tábuas apresentaram perfil intermediário	CALDEIRA, et al., 2010
Cerveja Lager	Carvalho francês	Leve Média Forte	Cubos Barril (20L)	3 g/L 1 unidade	3 meses	A cerveja armazenada com cubos de carvalho e queima forte teve a maior concentração de compostos fenólicos, seguida pela cerveja amadurecida em barril de carvalho.	WYLER et al., 2015
Vinho tinto (Carmenère e Cabernet sauvignon)	Carvalho francês	Média	Chips Tábuas Barril (225L)	7,8 g/L 12 unidades 1 unidade	12 meses	O estudo mostrou evidências de que a influência modificadora da madeira na composição fenólica do vinho não dependeria apenas da transferência passiva de fenólicos da madeira para o vinho, mas também das modificações físico-químicas dos polifenóis da uva pelos polifenóis da madeira.	LAQUI-ESTAÑA et al., 2019

Tabela 2.1. Pesquisas com aplicação de *chips* de madeira no envelhecimento de bebidas.

(conclusão)

Vinho tinto (Merlot)	Carvalho Francês	Forte	Chips (1x1x1 cm) Barril (200L)	3 g/L 1 unidade	6 meses	A extração de fenólicos foi maior com chips comparado ao barril. Na sensorial foi verificado que a doçura estava menos presente no vinho com chips e que o tanino era mais proeminente. No vinho com chips de madeira, os compostos fenólicos mais influentes foram vanilina, ácido p-hidroxibenzóico, epicatequina, ácido p-cumarico e ácido ferulico. Para o vinho envelhecido em barril, os compostos mais importantes foram os ácidos cafeico e siringico.	ESPITIA-LÓPEZ et al., 2015
Destilado (Mistura hidroalcoólica 55%)	Carvalho: francês, americano e espanhol /Castanheira /Cerejeira /Amieiro/Freixo/Faia	Média Média Plus	Chips	6 g/L	4 semanas	Extratos obtidos a partir da maceração com chips de castanheira, carvalho espanhol e de cerejeira mostraram perfil fenólicos e furânicos, fenóis totais e atividades antioxidantes equivalentes aos carvalhos comerciais (americano e francês).	MADRERA, et al., 2010
Destilado de vinho (40, 55 e 70%)	Carvalho: americano francês	Sem queima; Leve; Média e Forte	Granulado Chips	5 g/L 15 g/L 25 g/L	2 semanas 4 semanas 6 semanas	Os melhores resultados foram obtidos com a madeira no formato granulado e com nível médio de queima. O tempo de contato não influenciou significativamente os parâmetros avaliados.	RODRÍGUEZ-SOLANA et al., 2017

### 2.3.2 Ultrassom

Os efeitos de ultrassom em sistemas líquidos estão relacionados principalmente ao fenômeno da cavitação, que ocorre quando ondas longitudinais são criadas, formando regiões alternadas de compressão e rarefação sobre as moléculas. Esse sistema de cavitação gera energia em pontos do meio líquido, ocasionando aumento de temperatura e de pressão, produzindo efeitos como cisalhamento e turbulência, devido ao colapso de bolhas produzidas durante o processo (SORIA; VILLAMIEL, 2010).

Os sistemas de ultrassom são classificados quanto a forma de aplicação em de baixa intensidade ( $< 1 \text{ W/cm}^2$ ), que emprega alta frequência ( $> 1 \text{ MHz}$ ) e níveis de potência muito baixos e alta intensidade ( $10\text{-}1000 \text{ W/cm}^2$ ), com uso de baixas frequências ( $20\text{-}100 \text{ kHz}$ ) e altas potências. Os sistemas de baixa intensidade são insuficientes para causar cavitação acústica, produzindo mínimas alterações físico-químicas no material através do qual a onda passa. Em contrapartida, os de alta intensidade, geram cavitação e produzem modificações físico-químicas em numerosas aplicações (OJHA et al., 2017).

Os tipos de equipamentos de ultrassom mais usados em escala laboratorial são o banho ultrassônico e a sonda ultrassônica. O banho ultrassônico é comumente utilizado para dispersão sólida em solvente e para desgaseificar soluções. A sonda ultrassônica, muito mais potente, devido a concentração da intensidade ultrassônica em uma superfície reduzida (apenas a ponta da sonda) em comparação ao banho ultrassônico. No sistema de sonda, deve-se ter um cuidado especial com o aumento rápido da temperatura na amostra (CHEMAT et al., 2017b). Outro sistema encontrado são os sonorretores, que podem ser comparados aos banhos de água ultrassônicos de alta intensidade, mas 50 vezes mais intenso. As amostras podem ser processadas em tubos selados ou frascos, eliminando aerossóis e contaminação cruzada (PICÓ, 2013).

A facilidade de reprodução dos resultados de laboratório em escala industrial demonstra um aspecto positivo do ultrassom, realizando ajustes na intensificação do processo e redução do consumo de energia. Ambos os tipos de dispositivos para ultrassom de alta potência, como sonda e sistemas de banho são amplamente utilizados industrialmente. A escolha do sistema dependerá da matriz e com qual objetivo se deseja (CHEMAT et al., 2017b).

Em processos extrativos, quando assistidos por ultrassom, a cavitação rompe as membranas das paredes de células vegetais e outras estruturas facilitando a liberação de compostos orgânicos extraíveis, conseqüentemente, reduzindo o tempo empregado e consumo de solvente, simplificando os processos, conferindo maior pureza ao produto final, eliminando pós-tratamento de águas residuais e reduzindo o consumo de energia fóssil (CHEMAT et al., 2017b; PICÓ, 2013).

Outro aspecto relevante do uso do ultrassom em sistemas líquidos é a formação de radicais livres através de fenômeno denominado sonólise. Durante esse processo a água pura saturada com um gás inerte, sofre homólise térmica das moléculas de água dentro da bolha, produzindo os radicais H e OH, que podem se recombinar formando novamente H<sub>2</sub>O como também H<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (DHARMARATHNE et al., 2013).

A presença de radicais livres produzidos pelo ultrassom, pode induzir reações oxidantes, que contribuem na complexação de sabores e aroma de bebidas envelhecidas, com a presença de compostos fenólicos e compostos voláteis, que são derivados deste tipo de reação de oxidação entre a bebida jovem e os barris de madeira (DELGADO-GONZÁLEZ et al., 2017).

A aplicação de ultrassom ao vinho poderia promover a interação dos seus ingredientes, gerando reações químicas e acelerando as taxas de reação, promovendo mudanças químicas e estruturais da bebida equivalentes àquelas que ocorrem no envelhecimento tradicional, ao longo de vários anos (GARCÍA MARTÍN; SUN, 2013).

Yan et al. (2017) avaliaram os teores de íons e de força iônica para investigar o mecanismo de mudança da condutividade elétrica do vinho sob irradiação ultrassônica. Estudos na alteração da condutividade elétrica durante o processo de envelhecimento em vinhos tem sido uma abordagem científica para quantificar as reações químicas relacionadas ao envelhecimento, porque as reações podem ser iniciadas pela conversão de cátions e pela degradação ou função auxiliar de ácidos orgânicos. Este fenômeno de mudança de condutividade elétrica está relacionado com a alta temperatura localizada a partir do colapso de bolhas a partir do efeito da cavitação ultrassônica ou pelo movimento de íons acelerados pela ultrassonografia. As mudanças nos íons, especialmente para os cátions dos elementos transicionais e os ânions de alguns ácidos orgânicos, são importantes porque podem iniciar as reações redox dos fenóis que ocorrem no envelhecimento natural do vinho.

O ultrassom tem sido estudado como tecnologia alternativa para acelerar o processo de envelhecimento de vinho nas borras (DEL FRESNO et al., 2018). Naturalmente essa técnica ocorre de forma lenta, sendo necessário alguns meses entre a autólise das leveduras até a percepção dos efeitos nos vinhos. O envelhecimento de vinhos nas borras, aumenta os compostos voláteis, promove a estabilidade das cores e reduz a adstringência nos vinhos tintos.

Uso de ultrassom como técnica para acelerar envelhecimento de bebidas alcoólicas, como vinho e destilados, tem sido testado em estudos recentes (Tabela 2.2). Zhang e Wang (2017) realizaram testes com aplicação de ultrassom em vinho tinto Cabernet Sauvignon 'jovem'. Os resultados mostraram que o uso de parâmetros adequados do ultrassom, menor frequência e potência, e tempo de exposição adequada, pode acelerar algumas reações de envelhecimento do vinho e encurtar o tempo de vinificação. Mostrando que as tendências de mudança dos índices de cor do vinho são coincidentes em ambos os vinhos tratados com e sem ultrassom.

**Tabela 2.2. Pesquisas com aplicação de Ultrassom no envelhecimento de bebidas.**

<b>Bebida</b>	<b>Experimento/Parâmetros</b>	<b>Principais Resultados</b>	<b>Referência</b>
Licor de Café	Aplicação US na bebida Banho ultrassônico Frequência: 20 kHz Tempo: 0 a 6 horas	Em 6 horas de aplicação de US atingiu resultados de teor de álcool, teor de cafeína e turbidez similares ao envelhecimento convencional com 180 dias.	SHYR; YANG, 2016
Vinho tinto (Cabernet sauvignon)	Aplicação US no vinho antes estocagem em garrafas vidro. Dispositivo ultrassônico Frequência: 20 kHz Potência: 100 /150/200 W Tempo aplicação US: 0/ 14 / 28min Tempo estocagem: 70 dias	O tratamento com ultrassom não influencia apenas temporariamente as características de cor e compostos fenólicos do vinho, mas também tem um efeito mais longo em suas evoluções durante o armazenamento do vinho. O vinho tratado apresentou mudanças mais rápidas do que a do vinho não tratado em relação aos parâmetros estudados.	ZHANG; WANG, 2017
Vinho greengage	Aplicação na bebida Banho ultrassônico Frequência: 28 kHz e 45 kHz Potência: 240/300/360 W Tempo: 50 minutos Tempo estocagem: 15 dias	A melhor condição de aplicação do US, em 30 minutos, com 45 kHz e 360W, resultou no aumento na concentração de ácidos e ésteres e diminuição de alcoóis secundários.	ZHENG et al., 2014
Vinho tinto (Tempranillo) e Vinho modelo	Aplicação no vinho Dispositivo ultrassônico Frequência: 24 kHz Potência: 400W Densidade de potência acústica: 52 W/cm <sup>2</sup> Probe: 22 mm Amplitude: 50µm Tempo aplicação: 170 min 1° etapa: 5 min – 2x/semana - 5 semanas 2° etapa: 15 min – 2x/semana Tempo envelhecimento: 135 dias	A aplicação de US durante o envelhecimento do vinho nas borras aumenta duas vezes o teor de polissacarídeos. O tratamento afetou alguns parâmetros enológicos, como os compostos voláteis fermentativos e o teor total de antocianinas. A sonificação das borras antes da dosagem nos vinhos pode ser um procedimento mais indicado.	DEL FRESNO et al., 2018

Nota: US = ultrassom

### 2.3.3 Micro-oxigenação

A micro-oxigenação é uma tecnologia onde quantidades mínimas de oxigênio, em taxas de mg O<sub>2</sub>/L bebida, são dissolvidos de forma intencional em bebidas 'jovens', tentando simular o modelo de transferência de oxigênio que ocorre através da porosidade dos barris de madeira, com objetivo de provocar mudanças desejáveis na cor, no aroma e na textura (Tabela 2.3). Na vinificação, as principais afirmações sobre o efeito da micro-oxigenação incluem uma melhoria na vitalidade das leveduras durante a fermentação alcoólica, melhora na cor e estabilidade do vinho, características organolépticas mais complexas, redução nos odores de enxofre e, também, a capacidade de imitar as reações que ocorrem durante o envelhecimento do vinho (GÓMEZ-PLAZA; CANO-LÓPEZ, 2011).

O uso da micro-oxigenação requer o uso de equipamentos especializados para regular as doses de oxigênio administradas, pois um fluxo de oxigênio muito grande pode ser inadequado, levando à oxidação de aromas, a precipitação de polímeros de alto peso molecular e também redução da intensidade da cor do vinho. O uso adequado de micro-oxigenação pode estabilizar a cor e diminuir a adstringência e características herbáceas do vinho. No entanto, a micro-oxigenação somente não fornece sabores e taninos elágicos proveniente do contato com a madeira, e por isso, é recomendado o uso de micro-oxigenação como técnica complementar ao envelhecimento em carvalho (CANO-LÓPEZ et al., 2010; LLAUDY et al., 2006).

A prática do envelhecimento do vinho em tanque de aço inoxidável envolve seu armazenamento em contato com a madeira com pequena dosagem de oxigênio para obter um vinho final mais estável no tempo e com as mesmas características dos vinhos envelhecidos em barril. A dosagem de oxigênio dissolvido é fator determinante para alcançar um desenvolvimento correto de vinho, e deve ser aplicada de acordo com as necessidades de vinho e com o tipo de madeira escolhida. Álamo et al. (2010), realizaram experimentos para determinar a demanda de oxigênio para um mesmo vinho ser envelhecido em tanques, a partir de diferentes fontes de madeira em formato de lascas e tábuas feitas de carvalho americano (*Quercus alba*), francês (*Quercus petraea*) e carvalho espanhol (*Quercus pyrenaica*). Os resultados indicaram que o tamanho e a origem da madeira usada, determinam quantidades diferentes de oxigênio necessárias durante o processo.

**Tabela 2.3. Pesquisas com aplicação de micro-oxigenação no envelhecimento de bebidas.**

Bebida	Dosagem O <sub>2</sub>	Etapa processo	Principais Resultados	Referência
Vinho Tinto (Cabernet sauvignon)	3 mg/L/mês Tempo: 3 meses	Aplicação antes do envelhecimento em barril	Produziu vinhos com cor vermelha menos intensa. Aumento na concentração de antocianinas e redução da adstringência.	LLAUDY et al., 2006
Vinho Tinto (Cabernet sauvignon)	1° estágio: 3 dias: 90 mg/L/mês; 17 dias: 10 mg/L/mês 3° estágio: 2 mg/L/mês Tempo: 3 meses	Dividiram experimento em 5 estágios. Aplicaram MOX antes e após fermentação malolática (2° estágio).	Demonstrou que a MOX pode fornecer benefícios duradouros ao vinho ao longo do tempo, como o desenvolvimento de uma cor mais intensa sustentada por compostos resistentes à descoloração do SO <sub>2</sub> .	DEL POZO et al., 2010
Vinho tinto	3 mL/L/mês Tempo: 3 meses	Antes do engarrafamento	Após três meses, os vinhos com MOX apresentaram perfil cromático e fenólico similar com vinhos envelhecidos em barris de carvalho. Porém após 6 meses engarrafados, os vinhos com MOX não apresentaram a mesma similaridade cromática, com aumento da cor amarela.	CANO-LÓPEZ et al., 2010
Vinho Tinto (Cabernet sauvignon)	1,04 mg/L/ano 2,35 mg/L/ano 3,65 mg/L/ano Tempo: 12 meses	Aplicaram em vinhos com 4 composições microbiológicas diferentes. Níveis de acetaldeído inicial: 4,86; 8,67 e 29,66 mg/L Antes Engarrafamento em garrafas de vidro transparentes	Os níveis de acetaldeído no engarrafamento foram um fator significativo no perfil dos compostos fenólicos após um ano, com as antocianinas mais afetadas, depois flavonóis, flavonóides e ácidos hidroxicinâmicos. Níveis aumentados de acetaldeído e entrada de oxigênio também produziram níveis mais altos de acetais heterocíclicos do glicerol.	HAN et al., 2019

Nota: MOX = micro-oxigenação



### 2.3.4 Campo Elétrico Pulsado

A tecnologia de Campo Elétrico Pulsado (CEP) consiste na aplicação de um campo elétrico na forma de pulsos de alta voltagem sobre um alimento, colocado entre dois eletrodos por um curto período de tempo, geralmente de microsegundos. Esse tratamento com CEP, também conhecido como eletroporação ou eletropermeabilização, é considerado um processo não térmico, reduzindo o risco de degradação térmica de compostos termolábeis (CHEMAT et al., 2017a; YANG et al., 2016).

Os primeiros estudos do uso de campos elétricos pulsados referenciam a aplicação para redução da carga microbiana em alimentos, que ocorre devido ao dano gerado à integridade da membrana celular dos microrganismos presentes, induzida pelos pulsos de alta voltagem. Este mecanismo é chamado de eletroporação celular. A eletroporação celular por CEP é dividida em quatro etapas: (1) construção do potencial transmembrana pelo campo elétrico externo aplicado, (2) criação de pequenos poros hidrofílicos metaestáveis, quando a transmembrana potencial foi construída; (3) evolução da população de poros – a mudança no número e / ou tamanho dos poros durante um tratamento elétrico; e (4) estágio pós-tratamento, com ocorrência de processos posteriores ao tratamento como vazamento de compostos intracelulares e encolhimento de poros (SAULIS, 2010).

Devido a essa capacidade de gerar poros em membranas celulares animais ou vegetais, o CEP tem sido utilizado em processos de extração por solventes (difusão) e campos de força (prensagem, filtração e centrifugação), muito utilizados para a produção de alimentos líquidos e bebidas, melhorando rendimento da produção de sucos de fruta, por exemplo, bem como intensificando o processo de extração de moléculas de interesse, como os polifenóis. Pré-tratamentos que modificam a permeabilidade das membranas celulares, para melhorar transferência de massa, tais como moagem, aquecimento ou tratamento enzimático, podem exigir uma quantidade de energia e custos extras, e pode causar perdas de compostos de interesse nutricional. O uso de CEP é uma opção alternativa, pois permite aceleração da extração sólido-líquido, de forma mais seletiva e com consumo menor de energia (CHEMAT et al., 2017a; EL KANTAR et al., 2018).

Outro aspecto relevante proporcionado pela aplicação do CEP é a intensificação das reações de esterificação entre etanol e ácido acético.

Naturalmente em uma matriz alimentar, as reações de esterificação são demoradas e de baixa eficiência, mas quando submetida a um tratamento com CEP sob condições apropriadas de temperatura, tempo de reação e razão molar entre reagentes (etanol-ácido acético), há alteração na cinética da reação de esterificação. Quando um campo elétrico externo é aplicado, as moléculas absorvem esta energia proporcionando uma vibração adicional de ligações de hidrogênio, diminuindo a energia de ativação, e conseqüentemente favorecendo e acelerando o rompimento da ligação química (LIN et al., 2012).

Campo elétrico pulsado têm sido usado na vinificação para intensificar o processo de extração de compostos fenólicos da casca da uva, que ocorre durante a etapa de maceração, com aplicação prévia sobre as frutas (Tabela 2.4). Este tratamento intensifica as características cromáticas, incrementa conteúdo de compostos voláteis e melhora nos atributos sensoriais, e que são percebidos no vinho após envelhecimento em garrafas ou barris de madeira (PUÉRTOLAS et al., 2010; YANG et al., 2016).

Ainda dentro do ramo na vinificação, a aplicação de CEP tem sido estudada como técnica para substituir a adição de dióxido de enxofre (SO<sub>2</sub>), que usualmente é utilizado para reduzir o risco de contaminação microbiana dos vinhos. O efeito antimicrobiano do CEP devido à eletroporação das membranas celulares dos microrganismos, de forma seletiva, pode evitar a contaminação com leveduras selvagens e bactérias (CLODOVEO et al., 2016).

Durante a etapa de envelhecimento de vinhos, a presença de manoproteínas, geradas a partir da autólise das cepas de *Saccharomyces cerevisiae*, é estudada e relacionadas ao ganho de estabilidade de vinhos. Sua presença contribui com redução da formação de turbidez, previne a precipitação de sais de tártaro, redução de adstringência, aumento de flavor e aromas além de estabilizar a cor. Em um processo tradicional de envelhecimento de vinhos com a presença de borras, a liberação de moléculas de manoproteínas ocorre em longos períodos de tempo. A aplicação de campo elétrico pulsado tem sido estudada como alternativa para acelerar esta etapa agindo na aceleração da autólise das cepas da levedura, devido a geração da eletroporação da membrana celular destas (MARTÍNEZ et al., 2019).

Um aspecto negativo recorrente nos estudos sobre aplicação de CEP em alimentos trata-se da migração de íons metálicos do eletrodo utilizado, conferindo sabor metálico as bebidas e alimentos, com aumento na concentração de íons ferro,

principalmente. Um controle rigoroso dos parâmetros desta tecnologia é fundamental para amenizar este inconveniente (YANG et al., 2016).

**Tabela 2.4. Pesquisas com aplicação de Campo Elétrico Pulsado no envelhecimento de bebidas.**

<b>Bebida</b>	<b>Parâmetros</b>	<b>Local aplicação</b>	<b>Resultados</b>	<b>Referência</b>
Destilado de vinho	1 kV/cm – 50Hz Tempo: 12 horas	Sobre barris de madeira (2 L e 5 L) com bebida	O teor de compostos fenólicos no destilado, como taninos, fenóis totais e fenóis voláteis, foi significativamente aumentado após o tratamento com CEP, em ambos os tamanhos de barril testados e também superior a bebida envelhecida em barril de 225 L, após 14 meses.	ZHANG et al., 2013
Vinho tinto (Cabernet sauvignon)	50 kV/cm 50 pulsos - 3 $\mu$ s Tempo: 14 meses	Aplicação sobre as uvas	As melhores características cromáticas e maior conteúdo fenólico foram obtidas devido ao tratamento com CEP e permaneceram após o processo de fermentação ou até aumentaram durante o envelhecimento em condições oxidativas em barris de carvalho americano e seu posterior armazenamento em garrafa. Não foram detectadas diferenças sensoriais de cor e buquê após 8 meses de envelhecimento em garrafa por meio de testes triangulares.	PUÉRTOLAS et al., 2010
Vinho tinto (Merlot) Vinho branco (Chardonnay)	6, 12, 18 e 24 kV/cm Pulsos: 0, 100, 200, e 300 $\mu$ s Tempo: 210 dias	Aplicação em garrafas	Níveis mais baixos de CEP podem ser mais eficazes do que níveis elevados de CEP na mudança de concentração de ácidos orgânicos que ocorreram durante o armazenamento em garrafa. A resistência do CEP aplicado ao vinho branco durante o envelhecimento da garrafa foi menor que o vinho tinto.	WANG et al., 2015
Vinho branco (Chardonnay)	5 e 10 kV/cm Pulso: 75 $\mu$ s Tempo: 6 meses	Aplicação sobre as leveduras	Características cromáticas, índice de fenóis total, acidez volátil total, pH, etanol e parâmetros de cor do vinho não foram afetados durante o envelhecimento nas borras com levedura não tratada e tratada com CEP. Não houve diferença significativa na diminuição da turbidez, formação de espuma e interação com os taninos, entre os vinhos que receberam leveduras tratadas e não tratadas com CEP. Vinho que recebeu levedura tratada com CEP liberou manoproteínas em um mês equivalente ao vinho com leveduras não tratadas liberou em seis meses.	MARTÍNEZ et al., 2019

Nota: CEP = campo elétrico pulsado

## 2.4 Pesquisas com aplicação combinada de tecnologias alternativas

Muitos trabalhos científicos tem estudado o uso combinado de tecnologias alternativas, com chips de madeira e ultrassom ou com micro-oxigenação e presença de chips de madeira em tanques de inox, sobre a bebida e em diferentes etapas do processamento. A aplicação dessas tecnologias conjuntamente tem se mostrado mais efetivos do que se usados de forma isolada (ÁLAMO et al., 2010; BALCEREK et al., 2017; DELGADO-GONZÁLEZ et al., 2017; OBERHOLSTER et al., 2015; PIZARRO et al., 2014; RUBIO-BRETÓN et al., 2018; SCHWARZ et al., 2014; TALOUMI; MAKRIS, 2017). O resumo de algumas pesquisas pode ser visualizado na Tabela 2.5.

Madrera et al. (2013) aplicaram o tratamento combinado de micro-oxigenação e chips de carvalho em destilados de sidra e avaliaram uma aceleração de mudanças ocorridas, quando comparado ao envelhecimento tradicional em barris. A presença de oxigênio é considerada fundamental nos processos de oxidação de compostos que ocorrem durante etapa de envelhecimento para conferir qualidade sensorial aos produtos acabados.

Tao et al. (2014b), desenvolveram experimentos com uso de chips de carvalho francês e banho ultrassônico com 25 kHz de frequência, em modelo de vinho (solução etanol 12% (v/v), acidificada pH 3,5 com ácido tartárico), para estabelecer modelo cinético de extração de compostos fenólicos. Vinte e sete experimentos foram realizados variando a densidade da energia acústica (W/L) e temperatura. Os resultados mostraram que o rendimento fenólico total liberado não foi afetado pela densidade de energia acústica, enquanto aumentou significativamente com o aumento da temperatura durante a sonificação. Os resultados da modelagem em vinho modelo, mostraram que a concentração de equilíbrio, a taxa de liberação inicial e a difusividade efetiva dos fenólicos totais aumentaram com a densidade e temperatura da energia acústica.

Schwarz et al. (2014) realizaram experimento de envelhecimento acelerado, em escala laboratorial de um Brandy de Jerez, empregando chips de carvalho e ultrassom como método de extração. Após 30 dias, o método com o dobro da dosagem de madeira, uma hora de aplicação de US e mais 24 horas de maceração, permitiu obter um Brandy com características analíticas e sensoriais semelhantes

àquelas que foram envelhecidas da maneira tradicional por um prazo médio de 6 a 18 meses.

Tabela 2.5. Pesquisas com aplicação de tecnologias combinadas no envelhecimento de bebidas

(continua)

Bebida	Tecnologias combinadas	Parâmetros	Experimento	Resultados	Referência
Destilado de ameixa	Ultrassom	400 W – 24 kHz; 50% amplitude 3 minutos/dia em 5 dias/semana	6 experimentos em triplicatas Tempo: 12 meses.	Melhora da cor e aumento das concentrações de compostos fenólicos, importantes para o aroma e sabor. Essas mudanças dependeram do tipo e da dose dos chips e das condições de maturação. Com aquecimento de 35° C as mudanças foram mais intensas.	BALCEREK et al., 2017
	<i>Chips</i>	Madeira: chips carvalho francês e de barril usado; Queima: leve; Tamanho: 7,5x10 mm; Dosagem: 3,5 e 7 g/L	Sistema: estático, com circulação e com ultrassom. Temperatura: 18, 20, 35 e 45°C		
Destilado grego	Ultrassom	Banho ultrassônico: com 37 kHz, 200 W, densidade 50 W/L. 5 minutos e intervalos de 72h.	Comparou envelhecimento com modelo estático e com aplicação de US.	Não foram mostradas diferenças estatísticas entre os tratamentos de envelhecimento. A atividade antioxidante no destilado tratado com chips de castanheira foi alta.	TALOUMI; MAKRIS, 2017
	<i>Chips</i>	Madeira: chips de carvalho, acácia, cerejeira, e castanheira. Queima: sem queima.  Dosagem chips: 4,5 g/L	Tempo: 30 dias		
Destilado de vinho (Holanda) 65 e 40% (ABV*)	Ultrassom	US: de 40 kHz e 40 W/L em períodos (min): 6'/24' e 1'/4' (US/descanso)	Avaliar a influência da potência do US, com e sem pulso e o tempo ótimo do envelhecimento. Circulação bebida: 40 L/hr e 50 L/hr.	A potência de 40 W/L, melhorou a extração de fenólicos em 33,9%, após sete dias de envelhecimento. 80% da extração de fenóis totais aconteceu até o 3° dia do experimento. O melhor destilado envelhecido produzido foi obtido com o maior teor alcoólico, a maior quantidade de chips de carvalho, com temperatura ambiente e alta taxa de fluxo. Além disso, a presença de oxigênio na amostra e a ausência de luz aumentam a qualidade da bebida.	DELGADO-GONZÁLEZ et al., 2017
	<i>Chips</i>	Madeira: carvalho Dosagem chips: 4 e 5 g/L Queima: média	Luz: com e sem. Temperatura: 13 e 25°C. Aeração: com e sem. Tempo: 7 dias		

Tabela 2.5. Pesquisas com aplicação de tecnologias combinadas no envelhecimento de bebidas

(continuação)

Vinho tinto (Tempranillo)	MOX	Dosagem O <sub>2</sub> : 2 meses: 2 mL/L/mês 2 meses: 1 mL/L/mês	Testou diferentes condições de armazenamento.  Tanques inox: 250 L (8 unidades); 4 unidades com chips: 2 com MOX e 2 sem MOX; 4 unidades com tábuas: 2 com MOX e 2 sem MOX; Tempo: 6 meses em tanques + 18 meses em garrafas	Parâmetros cromáticos não apresentaram diferença entre os tratamentos. Compostos voláteis: furfural e 5-metilfurfural, foram superiores nos primeiros 6 meses, nos tratamentos com barril e tábuas. Ácido gálico e elágico, foram maiores no tratamento com chips, devido ao maior contato com a madeira e também pelo tratamento térmico reduzido. O tempo de contato ótimo entre os fragmentos e o vinho pode ser estimado em 2 meses. Avaliação sensorial: a melhor qualidade sensorial dos vinhos tratados com tábuas foi obtida em curtos períodos, enquanto que para aqueles envelhecidos em barris, foi melhor com tempo mais longo. Vinhos envelhecidos com chips foram avaliados mais fracamente do que os demais tratamentos.	RUBIO-BRETÓN et al., 2018
	<i>Chips</i>	Madeiras: chips e tábuas carvalho americano.  Queima: média.  Dosagem: Chips – 4 g/L. Tábuas - 0,4 m <sup>2</sup> /hL	Barril carvalho: 225 L (2 unidades). Tempo: 12 meses em barris + 12 meses em garrafas		
Destilado de sidra	MOX	Dosagem O <sub>2</sub> : 50 mL/L/mês	Comparou sistema tradicional de envelhecimento em barril com envelhecimento alternativo  Tempo: 12 meses	O tratamento com MOX acelerou as mudanças ocorridas nos destilados de sidra quando comparado ao envelhecimento tradicional em barris. Um maior grau de oxidação em aguardentes micro-oxigenadas, favorece o conteúdo de derivados benzóicos e acetaldeído total. Também apresentaram um maior grau de hidrólise, resultando em uma maior concentração de lactonas de carvalho e ácido gálico e uma diminuição mais pronunciada nos níveis de 3-metil-1-butil acetato e 2-feniletil acetato.	MADRERA et al., 2013
	<i>Chips</i>	Madeiras: carvalho francês, americano e espanhol.  Queima: forte  Dosagem chips: 178 cm <sup>2</sup> /L			
Vinho tinto (Blend: Cabernet sauvignon+Merlot +Malbec)	MOX	Dosagem O <sub>2</sub> : 1mg/L/mês	6 experimentos: 1- barril de carvalho americano 2-barril carvalho francês 3-tanque inox: MOX 4-tanque inox: chips+ MOX 5-tanque inox: tábuas+MOX 6-tanque inox: extrato tanino (3 g/hL)+ MOX Tempo: 6 meses (tanques e barris) e mais 5 meses após engarrafamento	Foram observadas diferenças na composição química dos vinhos devido à exposição ao oxigênio (MOX), com aumento da densidade de cor, um efeito que ainda era evidente após cinco meses de envelhecimento em garrafa, embora apenas significativo para o tratamento com MOX adicionado de tanino.  Apesar de não haver diferenças sensoriais significativas entre os tratamentos em relação ao paladar, as adições de carvalho afetaram os perfis aromáticos dos vinhos. Tratamentos MOX com tábuas e chips de madeira, respectivamente, compartilharam atributos de aroma com os tratamentos de barril de carvalho francês e americano.	OBERHOLST ER et al., 2015
	<i>Chips</i>	Madeira: carvalho americano e francês  Formato: chips, tábuas e barril  Queima: média plus e média  Chips: 1,63 g/L			



Tabela 2.5. Pesquisas com aplicação de tecnologias combinadas no envelhecimento de bebidas

(conclusão)

Vinho tinto (Tempranillo)	MOX	Dosagem O <sub>2</sub> : 1 e 7 mL/L/mês	Planejamento com 18 experimentos. Temperatura: 18°C Tanques aço inox: 6 unidades 145L Tempo: 6 semanas	Os resultados obtidos indicaram que o perfil volátil dos vinhos pode ser modulado pela aplicação de diferentes combinações das condições dos fatores, observados através de análise cromatográfica e análise sensorial. Os resultados obtidos revelaram uma notável influência da origem da madeira e a presença de efeitos de interação significativos entre os fatores.	PIZARRO et al., 2014
	<i>Chips</i>	Madeira: carvalho americano e francês e mistura ambos. Dosagem chips: entre 1,5 e 7,5 g/L. Queima: média, média plus, forte e forte plus			
Vinho tinto	MOX	Dosagem O <sub>2</sub> : 20 µg/L	Estudo testou consumo de oxigênio de acordo com tipo de fragmento de carvalho em tanques aço inox 225 L. Tempo: 195 dias	O controle do experimento se deu com determinação da concentração de O <sub>2</sub> consumido pelo vinho. Foram analisados compostos voláteis, antocianinas, taninos e Os resultados indicam que o tamanho e a origem da madeira utilizada determinam o manejo de oxigênio durante o processo. O vinho tratado com peças grandes (tábuas) consome mais oxigênio do que os chips, e com relação a origem botânica da madeira, o vinho envelhecido com produtos de carvalho francês necessita de uma dosagem mais alta de oxigênio.cor.	ÁLAMO et al., 2010
	<i>Chips</i>	Madeira: carvalho: francês, americano e espanhol. Forma: tábuas e chips. Queima: média			

Nota: *Chips*: chips de madeira; CEP: campo elétrico pulsado; US: ultrassom; MOX: micro-oxigenação

\*ABV- Álcool por volume

## 2.5 Considerações finais

A busca constante por inovação tecnológica nas indústrias de bebidas, através da revisão dos modelos tradicionais por práticas de processamento mais sustentáveis e com melhora na eficiência, é fundamental para se manterem competitivas e lucrativas no mercado. Dentro deste contexto, inúmeras pesquisas demonstraram grandes benefícios em novas tecnologias, no envelhecimento de bebidas como campo elétrico pulsado, ultrassom, micro-oxigenação e *chips* de madeira.

Os principais trabalhos se concentram na viticultura, com o uso de micro-oxigenação primeiramente, e campo elétrico pulsado (CEP) mais recentemente. Trabalho com CEP se concentram em aplicação na produção de vinhos durante a maceração, para intensificar extração de compostos que conferem cor, trabalhos referentes ao uso de CEP durante envelhecimento ainda é restrito. As pesquisas com ultrassom abrangem outros tipos de bebidas além do vinho. O uso combinado dessas tecnologias se mostraram mais promissoras do que quando usadas de forma isolada. O uso de *chips* de madeira se mostra eficiente em trabalhos de pesquisa prévia, possibilitando testar diferentes dosagens da quantidade deste material, variando a superfície de contato da madeira com a bebida, e de que forma estes arranjos contribuem sensorialmente as bebidas, antes de decidir por alto investimento em barris, como também na pesquisa de novas fontes de madeira com diferente origem botânica, além do carvalho, já amplamente estudado.

A continuidade das pesquisas em tecnologias alternativas para acelerar a etapa de envelhecimento de bebidas se mostra necessária, porque ainda há lacunas de conhecimentos com relação à aplicação desses nossos processos em diferentes tipos de bebidas, como cervejas, destilados, licores e conhaques.

## **CAPÍTULO 3**

### **DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÃO IDEAL PARA UM NOVO LICOR DE MAÇÃ**

## RESUMO

O desenvolvimento de licor de fruta, especialmente de maçã, contribui com a diversificação no processamento desta matéria-prima, além de produzir um produto com presença de atividade antioxidante devido a transferência de compostos fenólicos oriundos da fruta. O objetivo deste capítulo, foi estabelecer uma formulação e tecnologia de processamento de licor de maçã, e através de avaliação sensorial, estabelecer os principais atributos sensoriais ao licor de maçã e definir qual o teor de açúcar com maior aceitabilidade pelos julgadores. Em uma primeira etapa, foram realizados testes experimentais para o licor de maçã a partir de suco de maçã Gala de três formas (integral, integral com enzima pectinase e despectinizado) misturado com álcool de cereais, em diferentes proporções até obter diferentes teores alcoólicos (15,0; 17,5; 20,0; 22,5 e 25,0°GL). Durante 30 dias foram mantidos sob refrigeração (10°C), e posteriormente os licores testes foram caracterizados com análises de acidez, teor de álcool, densidade e cor ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $h^\circ$  e  $C^*$ ). Em uma segunda etapa, quatro novos licores foram formulados, fixando o teor alcoólico em 20°GL e variando o teor de açúcar em 30, 50, 70 e 100 g/L, que foram mantidos sob refrigeração (10°C), durante 30 dias. Posteriormente, os licores foram trasfegados com realização de análises de teor de álcool, pH, acidez, densidade, viscosidade, açúcar, cor ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $h^\circ$  e  $C^*$ ), fenóis totais e capacidade antioxidante (FRAP, DPPH e ABTS). Uma análise sensorial foi realizada para definir maior aceitabilidade com relação ao teor de açúcar, e também para escolha dos atributos sensoriais do licor, através das metodologias de CATA e JAR, além de indicação de preferência. Os resultados dos testes experimentais da primeira etapa, indicaram que o processamento com suco bruto+pectinase, apresentaram os melhores resultados de cor, com Luminosidade ( $L^*$ ) superior a 95,0, com sedimentação bem formada e boa clarificação do produto final. Os resultados de acidez e densidade não demonstraram diferença significativa entre os experimentos mas sim entre os teores alcoólicos, ao contrário dos resultados colorimétricos que apresentaram diferença significativa entre os experimentos. Os resultados físico-químicos da segunda etapa demonstraram diferença significativa entre todos eles, devido a formulação dos licores com diferentes proporções de suco de maçã. A análise sensorial demonstrou que o licor formulado para teor de açúcar residual de 100g/L, obteve o maior percentual de aceitabilidade de 77,5% entre os julgadores e que os atributos correlacionados a este licor foram doce e frutado, reforçando a preferência pelo licor com maior quantidade de suco de fruta na sua formulação. O licor com 100g/L de açúcar, também apresentou resultados dos atributos doçura, teor alcoólico e frutado, mais de 50% dentro da escala do ideal, demonstrando equilíbrio entre os atributos e corroborando com a melhor nota de aceitabilidade. O melhor procedimento para elaboração do licor de maçã foi utilizando a formulação com suco integral de maçã mais a adição da pectinase, com teor alcoólico de 20°GL e concentração de açúcar final do licor em 100 g/L.

**Palavras-chave:** formulação de licor, luminosidade, análise sensorial, aceitabilidade

### 3.1 Introdução

O desenvolvimento de produtos como licor envelhecido de maçã, agrega valor à cadeia produtiva desta cultura, principalmente quando são utilizadas frutas oriundas do processo de classificação que foram descartadas por apresentarem problemas com tamanho e formato como também defeitos fisiológicos e fitopatológicos, ficando fora do padrão comercial para consumo *in natura*. Desta forma, contribuindo com a valorização desta matéria-prima e com a diversificação no processamento da maçã (NOGUEIRA et al., 2019).

Os licores podem ser obtidos por destilação de líquidos fermentados, sendo denominados de licores naturais ou destilados, por maceração (fria) ou infusão (quentes) quando uma matriz vegetal permanece em contato com uma fonte alcoólica durante determinado tempo para extração de compostos aromáticos, e por fim podem ser obtidos por mistura entre uma fonte aromática, álcool e adoçante, considerados os licores propriamente ditos (LIMA, 2016).

Licores de frutas apresentam atividade antioxidante superior aos destilados ou brandys, pois derivam da maceração de frutas em álcool, onde ocorre transferência de compostos fenólicos presentes naturalmente nas frutas para a bebida final (MRVCIC et al., 2012). O grau de maturação da fruta, a proporção de frutas e solvente, a concentração da fonte alcoólica e o tempo de extração, podem gerar perfil aromático e gostos diferenciados, influenciando significativamente a qualidade do produto final (FILHO et al., 2018).

A aceitação de um licor entre os consumidores está relacionada a um equilíbrio entre a concentração de açúcar e o teor alcoólico. Geralmente, ao aumentar o percentual de açúcar eleva-se também o teor de álcool, possibilitando o alcance de harmonia entre o gosto doce e o sabor alcoólico (TEIXEIRA et al., 2007).

O objetivo deste capítulo foi elaborar uma nova formulação de licor de maçã natural, sem adição de outra fonte de açúcar além de suco integral de maçã, com elevada aceitabilidade sensorial.

## 3.2 Materiais e métodos

### 3.2.1 Materiais

Foram utilizadas maçãs da cultivar Gala, adquiridas no comércio local da cidade de Ponta Grossa, Paraná, Brasil. O destilado de álcool de cereais com grau alcoólico de 97% (BIOTEC, Labmaster, Pinhais, Paraná, Brasil) e enzima pectinase (Pectinex® Ultra Clear, LNF Latino Americana, Novozymes, Brasil) foram utilizados na fabricação do licor de maçã.

Os reagentes utilizados Trolox (6 - hidroxil - 2,5,7,8 - tetrametilcromano - 2-ácido carboxílico), TPTZ (2,4,6 - tripiridil-s-triazina) e DPPH (2,2 - difenil -1-picrilhidrazil), ABTS (2,2'- Azino - bis(ácido 3 - etilbenzotiazolína - 6 - ácido sulfônico) e Folin Ciocalteu foram adquiridos da Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemanha).

### 3.2.2 Métodos

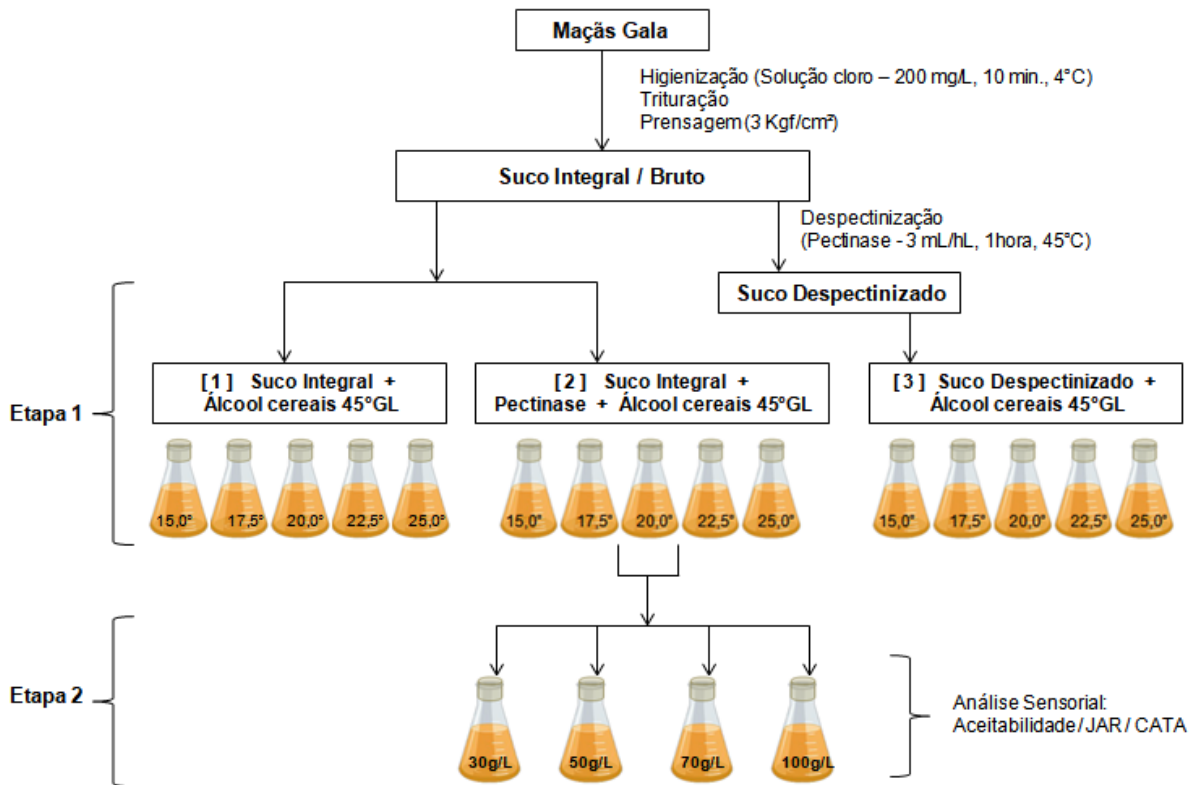
#### 3.2.2.1 *Processamento de suco de maçã*

As maçãs foram selecionadas, lavadas e sanitizadas (GOMES et al., 2014), posteriormente trituradas em microprocessador (Metvisa, Type MPA, Brasil), na planta piloto do Grupo de Trabalho sobre Maçã (GTM). A massa ralada foi colocada em telas plásticas (fio de polietileno 0,27 mm) e submetida a uma pressão de 294 kPa por 5 min em prensa hidráulica (Eureka Hydraulic Press, Brasil), obtendo o suco bruto ou integral. Parte do suco foi despectinizado com 3,0 mL/hL de pectinase (Pectinex® Ultra Clear, LNF Latino Americana, Novozymes, Brasil) a 45°C por 60 min. Após período da reação, o sedimento foi removido através de trasfega, obtendo o suco despectinizado (SILVA et al., 2018).

#### 3.2.2.2 *Elaboração de licor de maçã*

O desenvolvimento de um novo licor de maçã foi realizado a partir de testes experimentais, em duas etapas, como pode ser observado na Figura 3.1.

Figura 3.1. Fluxograma dos testes experimentais para formulação de licor de maçã



Fonte: A autora

Na Etapa 1, foram realizados testes preliminares utilizando processos diferentes, [1] suco integral, [2] suco integral + enzima pectinase (0,04 mL/L) e [3] suco despectinizado, com diferentes proporções entre suco: álcool de cereais, para compor os diferentes licores. O álcool de cereais 97 °GL foi diluído para 45 °GL com água destilada. Para cada um dos três experimentos, foram elaborados cinco licores distintos, variando o teor alcoólico entre 15,0; 17,5; 20,0; 22,5 e 25,0°GL, totalizando 15 licores. Na Tabela 3.1 seguem as proporções de cada componente dos licores, formulados na Etapa 1. Foram elaborados 400 mL de cada licor.

**Tabela 3.1. Formulação dos licores de maçã da Etapa 1.**

Experimento	Álcool teórico, °GL	Proporção da Formulação		
		Suco Integral : Álcool	Suco Integral + Pectinase : Álcool	Suco Despectinizado: Álcool
[1]	15,0	1 : 0,47		
	17,5	1 : 0,59		
	20,0	1 : 0,74		
	22,5	1 : 0,91		
	25,0	1 : 1,13		
[2]	15,0		1 : 0,47	
	17,5		1 : 0,59	
	20,0		1 : 0,74	
	22,5		1 : 0,91	
	25,0		1 : 1,13	
[3]	15,0			1 : 0,47
	17,5			1 : 0,59
	20,0			1 : 0,74
	22,5			1 : 0,91
	25,0			1 : 1,13

Nota: álcool = 45°GL

A partir de resultados prévios obtidos na etapa anterior, novos licores foram produzidos com mistura de suco integral com 13,5° Brix, álcool de cereais 97°GL, água destilada e enzima pectinase (0,04 mL/L), variando as proporções, de forma a obter licores com 20°GL de teor alcoólico e concentrações finais de açúcar entre 30, 50 e 70 e 100 g/L. Não foi adicionado outra fonte de açúcar, além do suco integral de maçã. Na Tabela 3.2 seguem as proporções de cada componente do licor. Foram produzidos 2L de cada licor.

**Tabela 3.2. Formulação dos licores de maçã na Etapa 2.**

	Licor 1	Licor 2	Licor 3	Licor 4
<b>Açúcar teórico (g/L)</b>	30	50	70	100
<b>Proporção (v:v:v)</b> <b>Suco : álcool : água</b>	1 : 0,9 : 2,6	1 : 0,6 : 1,14	1 : 0,39 : 0,54	1 : 0,27 : 0,07

Nota: Suco = Integral 13,5°Brix; álcool = 97°GL; água = destilada

Os licores foram mantidos durante 30 dias, sob refrigeração (10°C). Após este período, foi realizado análise sensorial para definir maior aceitabilidade geral



entre os quatro licores, escolha dos atributos sensoriais do licor (CATA) e graus de intensidade de teor alcoólico, doçura e aroma frutado (JAR).

### *3.2.2.3 Determinação de glucose, frutose e sacarose*

Os açúcares glucose, frutose e sacarose, foram determinados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), Waters Alliance 2695 (Milford, MA, EUA). O sistema possui uma bomba quaternária, desgaseificador, injetor automático e detector de índice de refração 2414 (Waters, Milford, MA, EUA). A separação ocorreu em coluna Aminex HPX-87H (300 x 7,8 mm), eluição foi a 30° C (coluna e detector), com taxa de fluxo de 0,5 mL/min, usando ácido sulfúrico 5mM como fase móvel. As amostras de licor de maçã foram diluídas 1:10 (v/v) com água ultrapura e depois filtradas através de um filtro de seringa de nylon de 0,22 µm (Waters, Milford, MA, EUA) (SANTOS et al., 2018).

As concentrações foram calculadas a partir de uma curva padrão de sacarose ( $S=1,25 \times 10^{-6} \times \text{área} + 0,466$ ;  $R^2 = 0,9913$ ); de glucose ( $G= 1,11 \times 10^{-6} \times \text{área} + 0,415$ ;  $R^2 = 0,9925$ ) e de frutose ( $F=1,0 \times 10^{-6} \times \text{área} + 0,445$ ;  $R^2 = 0,9926$ ); previamente preparadas e os resultados foram expressos em gramas por litro de licor (g/L). Todas as determinações foram realizadas em triplicata.

### *3.2.2.4 Determinação de acidez total*

A acidez total foi determinada por titulação com NaOH 0,1M, utilizando fenolftaleína 1% como indicador. O resultado foi expresso em g de ácido málico/100mL de amostra (IAL, 2008).

### *3.2.2.5 Determinação do teor alcoólico*

O teor de álcool etílico foi determinado a partir da destilação de 25 mL de amostra em Micro Destilador de água TE-012 (TECNAL, Piracicaba, São Paulo, Brasil), e posteriormente determinado em densímetro eletrônico (Density Meter DMA 4500M, Anton Paar, Graz, Áustria), e expresso em % v/v.

### 3.2.2.6 *Análise de Densidade e Viscosidade*

A densidade dos licores base foi medida em densímetro eletrônico (Density Meter DMA 4500M, Anton Paar, Graz, Áustria), e expressa em g/cm<sup>3</sup>, assim como a viscosidade dinâmica, expressa em mPa.s.

### 3.2.2.7 *Análise de Cor*

Os resultados foram expressos nas coordenadas do espaço de cores da Comissão Internacional d'Eclairage (CIE) L\*, a\* e b\*. As amostras de licor foram analisadas em colorímetro digital (CM-5-ID, KONICA MINOLTA, Osaka, Japão). O parâmetro L\*, determina a luminosidade (branco = 100 e preto = 0), a\* as coordenadas de verde (-a) a vermelho (+a) e b\*, coordenadas de azul (-b) a amarelo (+b). O parâmetro Chroma (C\*) referente a intensidade de cor, foi calculado por  $C^* = (a^2 + b^2)^{1/2}$ . O parâmetro ângulo Hue (h°) referente a tonalidade, foi calculado por  $h^* = \tan^{-1} (b^*/ a^*) + 180^\circ$  quando  $a^* < 0$  e  $h^* = \tan^{-1} (b^*/ a^*)$  quando  $a^* > 0$ .

### 3.2.2.8 *Determinação dos compostos fenólicos totais (CFT)*

O teor de compostos fenólicos totais (CFT) nos quatro licores, na etapa 2, foi determinado por análise colorimétrica utilizando o reagente de Folin Ciocalteu, como descrito por Singleton e Rossi (1965). As análises foram conduzidas em tubos de ensaio, com adição de 4,2 mL de água destilada, 50 µL dos licores diluídos (1:2) e 250 µL do reativo de Folin Ciocalteu diluído (1:10). Depois de 3 min de reação, 500 µL de carbonato de sódio saturado (20% m/v) foi adicionado nos tubos e agitado por 5 segundos em vortex. As amostras foram mantidas em local escuro por 1 hora, e posteriormente foi efetuada leitura das absorbâncias em espectrofotômetro (SHIMADZU, UVmini-1240, SP, Brasil) a 720 nm. As concentrações foram calculadas a partir de uma curva padrão de ácido clorogênico ( $CFT = 1317,5 \times \text{absorbância} - 8,71$ );  $R^2 = 0,9996$ ) previamente preparada e os resultados foram expressos em miligramas equivalentes de ácido clorogênico por litro (mg EAC/L). Todas as determinações foram realizadas em triplicata.

### 3.2.2.9 Determinação de Atividade Antioxidante

Para a determinação da atividade antioxidante dos licores base, na etapa 2, foram utilizados os métodos de redução do ferro, FRAP, segundo Benzie e Strain (1996); o método da captura do radical livre DPPH, de acordo com Brand-Willians, Cuvelier e Berset (1995) e o método de descoloração do cátion ABTS, descrito por Re et al. (1999), adaptados para o leitor de microplacas, e com leitura de absorbância em espectrofotômetro (EPOCH microplate spectrophotometer, Bio Tek, USA).

Para o método de FRAP, o reagente foi preparado pela mistura do tampão acetato (300 mM, pH 3,6), com uma solução de 10 mM TPTZ em 40 mM HCl, e 20 mM FeCl<sub>3</sub> na proporção de 10:1:1 (v/v/v). Uma alíquota de 20 µL de amostra diluída (1:2), foi colocada em microplaca, seguido de 280 µL do reagente FRAP, recém-preparado. A microplaca com a mistura foi agitada por trinta segundos e mantida no escuro em repouso, por trinta minutos, seguido de leitura das absorbâncias a 593 nm. A curva padrão FRAP = 588,23 x absorbância – 61,17; R<sup>2</sup> = 0,9907 foi plotada usando diferentes concentrações de Trolox (100-1000 µmol/L). Os resultados foram expressos em µmol de equivalente de Trolox por litro de licor (µmol TE/L). Todas as determinações foram realizadas em triplicata.

No método de DPPH, foi utilizado 50 µL de amostra diluída (1:5) acrescido de 250 µL do reagente DPPH (125 µmol/L), realizando a leitura a 517 nm após o período de trinta minutos em ausência de luz. Uma curva padrão foi plotada usando diferentes concentrações de Trolox (50-275 µmol/L). Os resultados foram expressos em µmol de equivalente de Trolox por litro de licor (µmol TE/L). Todas as determinações foram realizadas em triplicatas. A curva padrão DPPH = 333,33 x absorbância + 2,26; R<sup>2</sup> = 0,9902

E para o método de ABTS, as soluções estoques incluíram a solução de ABTS (7 mmol/L) e a solução de persulfato de potássio (2,45 mmol/L), que foram preparadas e misturadas em igual quantidade e deixada reagir por 16 h à temperatura ambiente (25 °C) no escuro. A solução foi então diluída pela mistura de 4 mL da solução de ABTS e completadas até 200 mL de água destilada. Para a análise, 20 µL de amostra diluída (1:5) acrescida de 280 µL do reagente ABTS, agitadas e deixadas em repouso no escuro por trinta minutos. Em seguida, a leitura

foi efetuada a 734 nm. A curva padrão ABTS =  $8,04 \times \text{absorbância} - 32,17$ ;  $R^2 = 0,99$ , foi plotada usando diferentes concentrações de Trolox (100-1000  $\mu\text{mol/L}$ ). Os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol}$  de equivalente de Trolox por litro de licor ( $\mu\text{mol TE/L}$ ). Todas as determinações foram realizadas em triplicatas.

### 3.2.2.10 Análise Sensorial

A análise sensorial foi aprovada com o registro CAAE 087659919.6.0000.0105 pelo Comitê de Ética em Pesquisa (COEP) da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG).

Para definição da formulação do licor ideal (Etapa 2), foi aplicado o Teste de Aceitabilidade com escala hedônica de 9 pontos, onde a menor nota 1, corresponde ao desgostei extremamente, e a maior nota 9, corresponde ao gostei extremamente (LAWLESS; HEYMANN, 2010). Na mesma ficha (Anexo 1) também foi avaliado escala de ideal para os atributos doçura, teor alcoólico e aroma frutado, com cinco intensidades, variando de muito (nota 5), ideal (nota 3) e pouco (nota 1), conforme o teste JAR (*Just-About-Right*) para indicar quanto o excesso ou falta de determinado atributo influencia no escore hedônico da aceitabilidade, e teste CATA (*check-all-that-apply*), (VARELA; ARES, 2012; ARES et al., 2014), analisada por Teste de Cochran e Análise de correspondência para identificar atributos que caracterizavam os licores avaliados.

Antes da análise sensorial as quatro amostras de licor foram mantidas em temperatura de 20°C. Foram servidas 5 mL de amostra em copos plásticos transparentes e codificados, juntamente com copo de água, uma de cada vez. Um grupo de 85 voluntários não treinados entre 18 e 50 anos de idade foram recrutados e devidamente informados sobre os critérios, cuidados e riscos do experimento, com posterior coleta de assinaturas em Termo de consentimento livre e esclarecido, conforme modelo de ficha no Anexo 5. Os voluntários sentaram-se separadamente em cabines individuais adequadas para avaliação sensorial, juntamente com ficha de avaliação, recebida com cada um dos licores avaliados, conforme modelo no Anexo 1.

### 3.2.2.11 Análise Estatística

Os dados foram apresentados como média e desvio padrão. As diferenças entre as amostras foram avaliadas pela análise de variância (ANOVA, fator único), seguido de teste de médias de Fisher LSD.

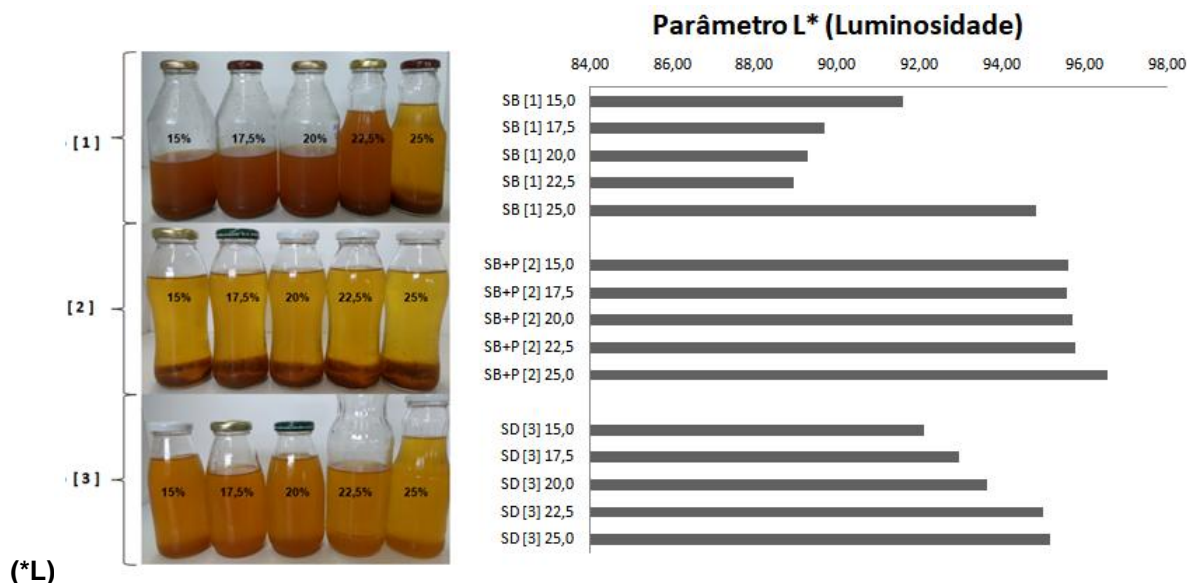
Todas as análises estatísticas foram realizadas no software STATISTICA v. 13.2 (Stat-Soft Inc., Tulsa, OK, USA) e para o tratamento dos dados sensoriais o software XLSTAT (Trial Version). O Teste de Cochran e análise de correspondência foram aplicados para analisar a significância dos atributos selecionados e as respectivas correspondências para cada licor, a partir dos resultados coletados na ficha, pela análise CATA.

## 3.3 Resultados e discussão

### 3.3.1 Definição de processamento do licor de maçã – Etapa 1

Os licores preparados por mistura, conforme os experimentos 1, 2 e 3, descritos anteriormente, foram mantidos sob refrigeração (10°C) durante 30 dias. Após este período, todos os licores foram registrados com imagem fotográfica, conforme Figura 3.2.

**Figura 3.2. Imagens dos licores de maçã da Etapa 1 e resultados de Luminosidade**



Nota: SB = suco bruto; P = pectinase; SD = suco despectinizado

Foi realizada caracterização físico-química de todos os licores, e resultados com desvio padrão foram organizados na Tabela 3.3.

**Tabela 3.3. Caracterização dos diferentes licores dos três experimentos da Etapa 1**

Álcool teórico, °GL	Experimento	Acidez total, g/100mL	Densidade, g/cm <sup>3</sup>	Teor alcoólico, °GL
15,0	[1]	0,144 <sup>a</sup> ± 0,006	1,0116 <sup>b</sup> ± 0,0004	14,96 <sup>fg</sup> ± 1,19
	[2]	0,145 <sup>a</sup> ± 0,006	1,0124 <sup>a</sup> ± 0,0005	13,73 <sup>h</sup> ± 0,25
	[3]	0,141 <sup>ab</sup> ± 0,003	1,0117 <sup>ab</sup> ± 0,0009	13,91 <sup>gh</sup> ± 0,13
17,5	[1]	0,142 <sup>a</sup> ± 0,001	1,0064 <sup>d</sup> ± 0,0002	15,87 <sup>f</sup> ± 0,11
	[2]	0,139 <sup>ab</sup> ± 0,007	1,0076 <sup>c</sup> ± 0,0008	15,48 <sup>f</sup> ± 0,09
	[3]	0,134 <sup>b</sup> ± 0,001	1,0073 <sup>c</sup> ± 0,0003	15,73 <sup>f</sup> ± 0,11
20,0	[1]	0,126 <sup>c</sup> ± 0,001	1,0018 <sup>f</sup> ± 0,0006	19,07 <sup>de</sup> ± 1,49
	[2]	0,123 <sup>cd</sup> ± 0,001	1,0026 <sup>e</sup> ± 0,0005	19,86 <sup>cd</sup> ± 1,32
	[3]	0,125 <sup>c</sup> ± 0,002	1,0020 <sup>ef</sup> ± 0,0132	18,67 <sup>e</sup> ± 0,52
22,5	[1]	0,112 <sup>e</sup> ± 0,005	0,9961 <sup>g</sup> ± 0,0003	20,65 <sup>cd</sup> ± 1,27
	[2]	0,117 <sup>de</sup> ± 0,001	0,9966 <sup>g</sup> ± 0,0004	20,64 <sup>bc</sup> ± 0,33
	[3]	0,113 <sup>ef</sup> ± 0,001	0,9960 <sup>g</sup> ± 0,0004	21,28 <sup>b</sup> ± 0,40
25,0	[1]	0,109 <sup>fg</sup> ± 0,009	0,9912 <sup>i</sup> ± 0,0002	23,00 <sup>a</sup> ± 0,09
	[2]	0,103 <sup>g</sup> ± 0,001	0,9920 <sup>h</sup> ± 0,0002	23,06 <sup>a</sup> ± 0,38
	[3]	0,104 <sup>g</sup> ± 0,005	0,9915 <sup>hi</sup> ± 0,0004	23,20 <sup>a</sup> ± 0,14

Nota 1: [1] – Experimento 1: suco integral+álcool 45°GL; [2] – Experimento 2: suco integral+pectinase+álcool 45°GL; [3] – Experimento 3: suco despectinizado+álcool 45°GL

Nota 2: Resultados expressos com média ± desvio padrão. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) de acordo com o teste de Fisher LSD

Os resultados de acidez demonstram diferença significativa entre os teores alcoólicos e não entre os experimentos [1], [2] e [3] (Tabela 3.3). A formulação que recebeu maior proporção de suco apresentou valores de acidez maiores, na faixa 0,14 g/100mL. Os resultados de densidade variaram conforme a diluição do suco integral, devido à formulação dos licores, e também apresentaram diferença significativa entre os teores alcoólicos e não entre os experimentos.

Os parâmetros de cor se encontram na Tabela 3.4. Os resultados obtidos foram determinantes para definir qual o melhor processamento do licor base. O método [2] apresentou os melhores resultados de luminosidade, acima de 95,5%, em todos os teores alcoólicos, com decantação total de material precipitado, como pode ser observado na Figura 3.2. Essa característica tem relevância tecnológica, porque facilita a trasfega do produto, onde o sobrenadante é transferido para outro recipiente e o depósito permanece no fundo do primeiro, e também garante a manutenção do produto clarificado.

**Tabela 3.4. Dados colorimétricos dos diferentes licores da Etapa 1**

Álcool teórico, °GL	Experimento	Parâmetros de cor				
		L*	a*	b*	C*	h°
15,0	[1]	91,61 <sup>e</sup> ± 1,84	-3,73 <sup>b</sup> ± 1,41	43,83 <sup>b</sup> ± 4,04	44,01 <sup>b</sup> ± 3,92	94,99 <sup>d</sup> ± 2,18
	[2]	95,60 <sup>ab</sup> ± 0,22	-6,45 <sup>d</sup> ± 0,16	36,65 <sup>c</sup> ± 0,80	37,22 <sup>c</sup> ± 0,77	99,98 <sup>ab</sup> ± 0,43
	[3]	92,09 <sup>de</sup> ± 0,44	-4,62 <sup>bc</sup> ± 0,39	50,17 <sup>a</sup> ± 1,08	50,39 <sup>a</sup> ± 1,01	95,27 <sup>d</sup> ± 0,56
17,5	[1]	89,70 <sup>f</sup> ± 1,83	-2,16 <sup>a</sup> ± 1,57	48,67 <sup>a</sup> ± 3,88	48,74 <sup>a</sup> ± 3,79	92,66 <sup>e</sup> ± 2,13
	[2]	95,57 <sup>ab</sup> ± 0,19	-6,18 <sup>d</sup> ± 0,13	35,84 <sup>c</sup> ± 0,80	36,37 <sup>c</sup> ± 0,77	99,79 <sup>ab</sup> ± 0,41
	[3]	92,96 <sup>de</sup> ± 0,42	-5,09 <sup>bcd</sup> ± 0,34	46,73 <sup>ab</sup> ± 1,03	47,01 <sup>ab</sup> ± 0,98	96,22 <sup>d</sup> ± 0,55
20,0	[1]	89,28 <sup>f</sup> ± 1,86	-1,70 <sup>a</sup> ± 1,59	50,04 <sup>a</sup> ± 4,15	50,09 <sup>a</sup> ± 4,08	92,06 <sup>e</sup> ± 2,09
	[2]	95,72 <sup>ab</sup> ± 0,11	-6,15 <sup>d</sup> ± 0,02	34,95 <sup>c</sup> ± 0,42	35,49 <sup>c</sup> ± 0,41	99,97 <sup>ab</sup> ± 0,11
	[3]	93,63 <sup>cd</sup> ± 0,69	-5,28 <sup>cd</sup> ± 0,53	43,66 <sup>b</sup> ± 1,93	43,98 <sup>b</sup> ± 1,84	96,93 <sup>cd</sup> ± 1,01
22,5	[1]	88,95 <sup>f</sup> ± 1,83	-1,19 <sup>a</sup> ± 1,54	50,36 <sup>a</sup> ± 4,16	50,40 <sup>a</sup> ± 4,11	91,46 <sup>e</sup> ± 1,96
	[2]	95,77 <sup>ab</sup> ± 0,11	-5,78 <sup>cd</sup> ± 0,08	33,72 <sup>c</sup> ± 0,23	34,21 <sup>c</sup> ± 0,22	99,73 <sup>ab</sup> ± 0,19
	[3]	94,99 <sup>abc</sup> ± 0,18	-5,58 <sup>cd</sup> ± 0,12	36,89 <sup>c</sup> ± 0,93	37,31 <sup>c</sup> ± 0,92	98,60 <sup>bc</sup> ± 0,30
25,0	[1]	94,83 <sup>bc</sup> ± 0,63	-5,39 <sup>cd</sup> ± 0,37	36,83 <sup>c</sup> ± 2,17	37,23 <sup>c</sup> ± 2,09	98,37 <sup>bc</sup> ± 1,09
	[2]	96,56 <sup>a</sup> ± 0,07	-5,71 <sup>cd</sup> ± 0,04	29,48 <sup>d</sup> ± 0,31	30,03 <sup>d</sup> ± 0,30	100,97 <sup>a</sup> ± 0,14
	[3]	95,16 <sup>abc</sup> ± 0,35	-5,35 <sup>cd</sup> ± 0,25	35,20 <sup>c</sup> ± 0,80	35,60 <sup>c</sup> ± 0,75	98,64 <sup>bc</sup> ± 0,58

Nota: Resultados expressos com média ± desvio padrão. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) de acordo com o teste de Fisher LSD

No método [1], com uso de suco bruto apenas, após o período de descanso, não houve decantação de material, mantendo o licor turvo, com valor de luminosidade entre 88 e 91%, menos com teor alcoólico de 25%, onde o valor alcançou 94,83%, apresentando diferença significativa. Neste experimento não houve adição de enzima pectinase, e nos teores alcoólicos de 15,0; 17,5; 20,0 e 22,5%, não ocorreu precipitação da pectina. Ao contrário do licor com 25,0% de álcool, que nesta faixa alcoólica foi suficiente para ocorrer a precipitação, como pode ser observado na Figura 3.2.

No experimento [3], com uso de suco despectinizado, os valores de luminosidade se mantiveram entre 92,09 a 95,16%, com diferença significativa entre os diferentes teores de álcool.

Os valores de índice de saturação de cor, C\*, variaram entre 30,03 a 50,40. Os maiores valores foram obtidos no experimento [1], onde não foi utilizado a pectinase, apenas suco bruto e álcool, não ocorreu precipitação da pectina e a turbidez inicial do suco bruto se manteve ao longo dos 30 dias. No experimento [2], onde foi utilizado suco bruto + pectinase, o índice C\* foi menor, variando entre 30,03

a 37,22. No experimento [3] os resultados foram intermediários, variando entre 35,60 a 50,39.

Todos os resultados para o ângulo Hue ( $h^\circ$ ), se mantiveram no quadrante  $90^\circ$  e  $180^\circ$ , que corresponde a tonalidade entre amarelo e verde. Os valores de  $h^\circ$  variaram de 91,46 a 100,97, entre os resultados.

Os resultados da coordenada  $a^*$ , que representa o eixo entre verde (-a) e vermelho (+a), mostram dados concentrados entre -6,45 a -1,19, ainda na faixa considerada verde. Os experimentos [2] obtiveram menores valores, -6,45 a -5,71, onde ocorreu maior precipitação e a luminosidade foi superior. Os maiores valores de  $a^*$ , entre -1,19 e -3,73, foi no experimento [1] onde não utilizou a pectinase, apenas suco integral e álcool, a turbidez se manteve elevada traduzindo em índices inferiores de luminosidade.

Os resultados da coordenada  $b^*$ , que representa o eixo entre azul (-b) e amarelo (+b) mostram dados que variaram entre 50,36 a 29,48, representando o espectro amarelo.

De maneira geral houve diferença significativa entre os experimentos [1], [2] e [3], mas não entre os diferentes teores alcoólicos. Apenas com o maior teor alcoólico de 25°GL, ocorreu a precipitação da pectina presente no licor, formando uma estrutura mais densa e arrastando todos os compostos presentes, proporcionando maior precipitação em todos os experimentos contribuindo com a diferenciação de todos os parâmetros de cor.

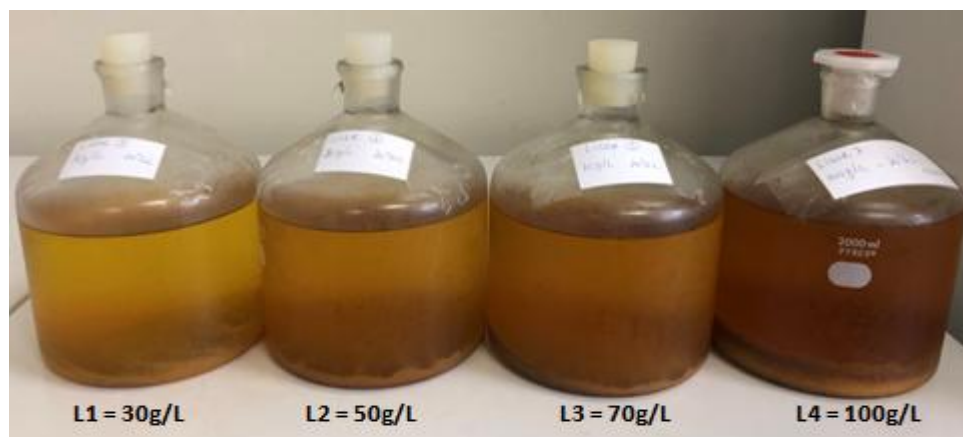
Como não houve diferença significativa dos parâmetros de cor entre os diferentes teores alcoólicos, o teor intermediário de 20°GL foi escolhido para dar continuidade ao trabalho.

### 3.3.2 Definição da formulação ideal do licor de maçã – Etapa 2

Após definição do processamento ideal testados na etapa 1, um novo lote de licores foram produzidos, fixando 20 °GL de álcool e variando as concentrações de açúcar total residual, em 30, 50, 70 e 100 g/L, que podem ser visualizados na Figura 3.3.



**Figura 3.3. Licores de maçã da Etapa 2 com variações na concentração de açúcar**



Fonte: A autora

Os resultados da caracterização dos quatro licores podem ser observados na Tabela 3.5.

**Tabela 3.5. Caracterização físico-química dos licores da Etapa 2**

	Licor 1	Licor 2	Licor 3	Licor 4
Concentração açúcar, g/L	30	50	70	100
<b>Parâmetros analíticos</b>				
Teor alcoólico, °GL	18,99 <sup>b</sup> ± 0,90	18,95 <sup>b</sup> ± 0,08	19,45 <sup>b</sup> ± 0,39	17,71 <sup>a</sup> ± 0,25
Açúcar total, g/L	33,11 <sup>d</sup> ± 0,18	53,43 <sup>c</sup> ± 0,06	78,18 <sup>b</sup> ± 0,75	110,36 <sup>a</sup> ± 1,54
Frutose, g/L	19,81 ± 0,10	32,26 ± 0,02	47,24 ± 0,48	63,76 ± 0,95
Glucose, g/L	6,53 ± 0,03	10,77 ± 0,01	15,42 ± 0,14	19,12 ± 0,25
Sacarose, g/L	6,77 ± 0,04	10,40 ± 0,02	15,53 ± 0,13	27,48 ± 0,34
Acidez, g/100mL	0,11 <sup>d</sup> ± 0,00	0,17 <sup>c</sup> ± 0,00	0,23 <sup>b</sup> ± 0,00	0,32 <sup>a</sup> ± 0,00
pH	4,17 <sup>a</sup> ± 0,02	4,13 <sup>c</sup> ± 0,01	4,14 <sup>c</sup> ± 0,01	4,10 <sup>b</sup> ± 0,01
Densidade, g/cm <sup>3</sup>	0,9862 <sup>d</sup> ± 0,00	0,9947 <sup>c</sup> ± 0,00	1,0031 <sup>b</sup> ± 0,00	1,0176 <sup>a</sup> ± 0,00
Viscosidade Dinâmica, mPa.s	2,06 <sup>d</sup> ± 0,01	2,16 <sup>c</sup> ± 0,00	2,31 <sup>b</sup> ± 0,00	2,42 <sup>a</sup> ± 0,00
Fenóis Totais, mg EAC/L	56,36 <sup>d</sup> ± 0,00	103,79 <sup>c</sup> ± 2,64	160,01 <sup>b</sup> ± 5,49	224,13 <sup>a</sup> ± 5,49
FRAP, µmol TE/L	226,18 <sup>d</sup> ± 18,26	439,12 <sup>c</sup> ± 9,37	781,47 <sup>b</sup> ± 84,52	1032,84 <sup>a</sup> ± 35,30
DPPH, µmol TE/L	109,11 <sup>d</sup> ± 12,02	271,33 <sup>c</sup> ± 10,71	526,33 <sup>b</sup> ± 6,31	779,66 <sup>a</sup> ± 14,93
ABTS, µmol TE/L	577,06 <sup>d</sup> ± 3,98	922,99 <sup>c</sup> ± 30,44	1358,73 <sup>b</sup> ± 73,42	1937,34 <sup>a</sup> ± 86,76
L*	98,47 <sup>a</sup> ± 0,03	98,32 <sup>a</sup> ± 0,10	97,37 <sup>b</sup> ± 0,08	97,11 <sup>b</sup> ± 0,67
a*	-4,41 <sup>c</sup> ± 0,02	-5,71 <sup>b</sup> ± 0,00	-4,26 <sup>c</sup> ± 0,02	-6,44 <sup>a</sup> ± 0,58
b*	16,51 <sup>b</sup> ± 0,16	20,93 <sup>c</sup> ± 0,37	21,69 <sup>c</sup> ± 0,33	29,78 <sup>a</sup> ± 1,83
C	17,09 <sup>b</sup> ± 0,16	21,70 <sup>c</sup> ± 0,36	22,10 <sup>c</sup> ± 0,32	30,48 <sup>a</sup> ± 1,66
h°	104,96 <sup>a</sup> ± 0,10	105,26 <sup>a</sup> ± 0,26	101,11 <sup>b</sup> ± 0,19	102,27 <sup>b</sup> ± 1,82

Nota: Resultados expressos com média ± desvio padrão. Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) de acordo com o teste de Fisher LSD

Os resultados de pH, acidez, densidade, viscosidade, teor de açúcar, fenóis totais e atividade antioxidante (Tabela 3.5) variaram conforme a proporção entre suco : álcool : água (Tabela 3.2). Quanto maior a proporção de suco na formulação, mais elevado foram os resultados de acidez, densidade, viscosidade, teor de açúcar, fenóis totais e atividade antioxidante. O resultado do pH para cada licor, foi inversamente proporcional a acidez, enquanto a acidez aumentou o pH reduziu.

O resultado de acidez variou entre 0,108 e 0,324 g/100mL o pH entre 4,17 e 4,10 para os licores L1 e L4, respectivamente (Tabela 3.5). Haider et al. (2014), encontraram resultados semelhantes em 13 amostras de *Pommeau de Normandie*, com valores de 3,9 a 4,3 e 1,28 a 2,34 g/L para o pH e acidez total, respectivamente.

A distribuição do perfil de açúcares encontrados nos licores foi de aproximadamente 60% de frutose, seguido de 20% de glicose e 20% de sacarose (Tabela 3.5). Confirmando o uso exclusivo de suco de maçã, sem adição de açúcar extra. Em 1994, Marqués e colaboradores, realizaram estudo analítico em várias amostras de licor de maçã e destacaram uma média no teor de açúcar redutor (frutose e glicose) ao redor de 90%.

Os resultados de fenóis totais também apresentam o mesmo comportamento, quanto maior a proporção de suco, maior os valores. Os resultados encontrados para fenóis totais foram de 56,36 mg EAC/L até 224,13 mg EAC/L (57,95 até 196,06 mg ácido gálico/L), nos licores 1 e 4, respectivamente (Tabela 3.5). O resultado encontrado no suco bruto utilizado para formular os licores, foi de 383,62 mg EAC/L. Sliwinska et al. (2016), avaliaram licores de maçã produzidos de maneira artesanal com cinco variedades diferentes da fruta, encontraram valores entre 600,52 e 1005,98 mg ácido gálico/L. Esses licores foram produzidos com maceração por oito semanas da fruta inteira, ao contrário do experimento em questão que utilizou suco bruto misturado com água e álcool. A quantidade de fenóis totais foi superior, provavelmente devido a presença da casca da fruta, e não apenas o suco integral, o que em parte explicaria um valor superior em 3 vezes de fenóis totais (ZARDO et al., 2013).

A análise de atividade antioxidante, assim como fenóis totais, também apresentaram resultados com diferença significativa entre os quatro licores (Tabela 3.5). O método de FRAP obteve resultados que variaram de 226,18 a 1032,84  $\mu\text{mol TE/L}$ , nos licores 1 e 4, respectivamente. Para o método de DPPH, os resultados

obtidos variaram de 109,11 a 779,66  $\mu\text{mol TE/L}$ , nos licores 1 e 4, respectivamente. No método de ABTS, os resultados encontrados variaram de 577,06 a 1937,34  $\mu\text{mol TE/L}$ , nos licores 1 e 4, respectivamente. Essa última metodologia analítica apresentou os maiores resultados, expressos em  $\mu\text{mol TE/L}$ .

Com relação aos parâmetros de cor, quanto maior a proporção de suco de maçã menor o índice de Luminosidade (Tabela 3.5). O licor com menor proporção de suco (L1) obteve resultado de 98,47, enquanto o licor com maior proporção de suco (L4) obteve 97,11. Entre os licores 1 e 2 não houve diferença significativa assim como entre os licores 3 e 4.

Todos os resultados para o ângulo Hue ( $h^\circ$ ), se mantiveram no quadrante  $90^\circ$  e  $180^\circ$ , que corresponde a tonalidade entre amarelo e verde. Os valores variaram de  $101,11^\circ$  a  $105,26^\circ$ , entre os quatro licores, todos próximos do espectro amarelo. Entre os licores 1 e 2 não houve diferença significativa assim como entre os licores 3 e 4.

Os valores de índice de saturação de cor,  $C^*$ , variaram entre 17,09 a 30,48. Os maiores valores foram obtidos no licor 4, onde foi utilizado maior proporção de suco bruto, conseqüentemente maior concentração de compostos dissolvidos. Entre os L2 e L3 não houve diferença significativa.

Os resultados da coordenada  $a^*$ , que representa o eixo entre verde (-a) e vermelho (+a), mostram que os dados variaram entre -4,41 a -6,44, L1 e L4, respectivamente, ainda na faixa considerada verde. Com relação a esses resultados, quanto maior foi a proporção de suco bruto na formulação, menor foi o valor de  $a^*$ . Não houve diferença significativa entre os L1 e L3.

Os resultados da coordenada  $b^*$ , que representa o eixo entre azul (-b) e amarelo (+b) mostram que os dados variaram entre 16,51 a 29,78, L1 e L4, respectivamente, e representando o espectro amarelo. Quanto maior o valor de  $b^*$ , maior foi a proporção de suco de bruto na formulação do licor. Não houve diferença significativa entre os L2 e L3.

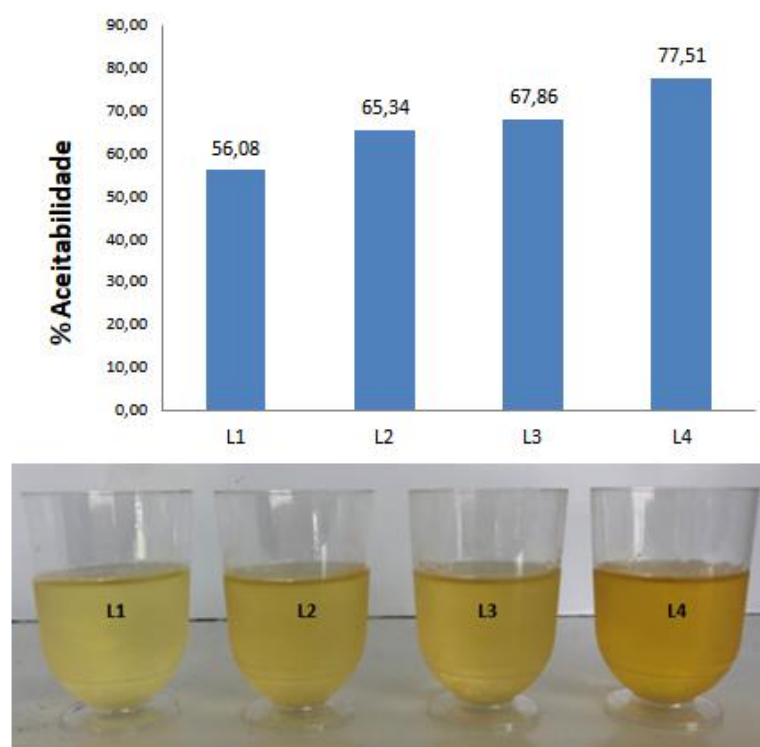
### 3.3.3 Avaliação sensorial do licor de maçã

O licor 4 apresentou a maior aceitação sensorial com 77,51% de aceitabilidade (Figura 3.4). Esse licor apresenta a maior proporção de suco bruto na

formulação e concentração final de açúcar em 100 g/L, possivelmente produziu maior harmonia entre a graduação alcoólica escolhida e aromas frutados, além da doçura residual do licor.

No Brasil, são escassos os dados estatísticos de produção e consumo de licor em escala industrial. Usualmente os licores produzidos de forma artesanal, e com distribuição local são os produtos que podem ser encontrados frequentemente.

**Figura 3.4. Avaliação de aceitabilidade dos licores de maçã com diferentes teores de açúcar \***



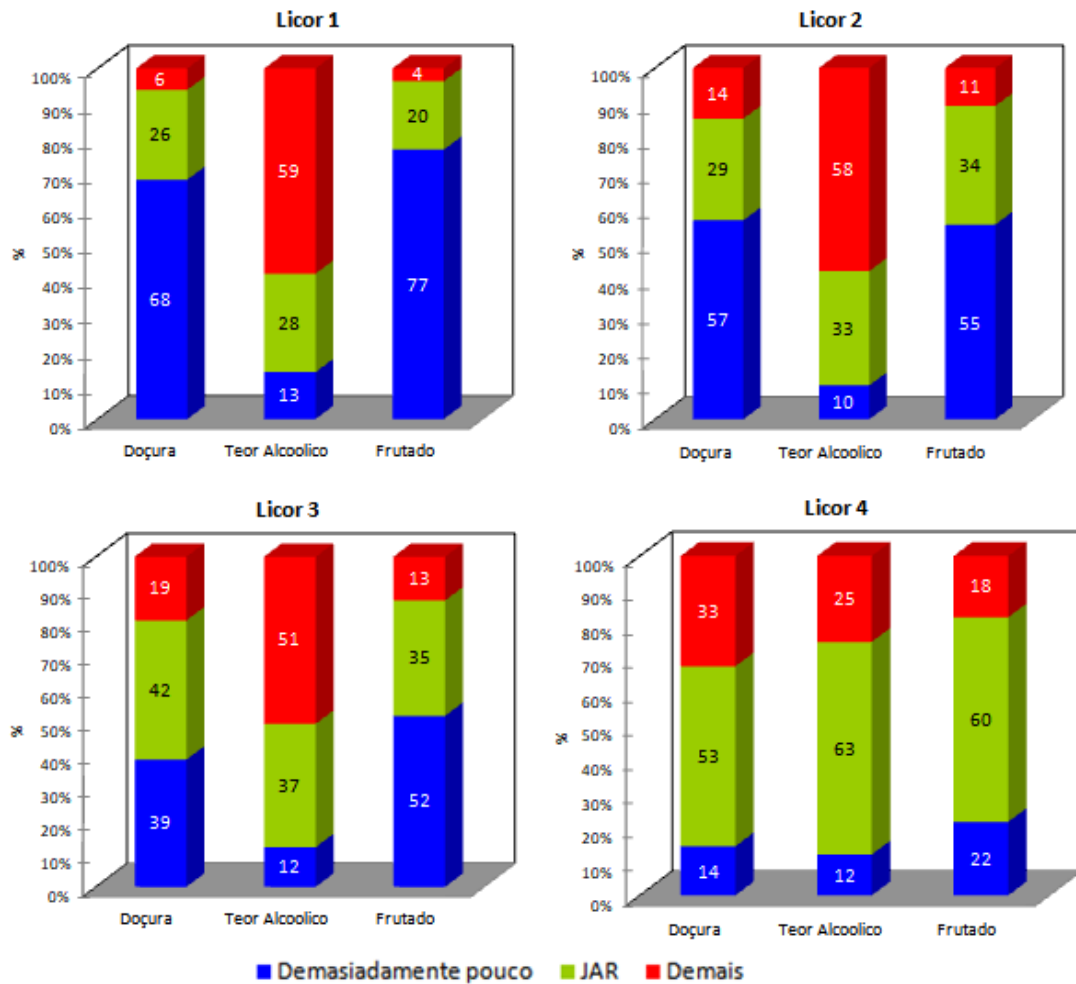
Nota: \* Teor de açúcar: L1= 30g/L; L2=50g/L; L3=70g/L e L4=100g/L

Fonte: A autora

O teste JAR (*Just-About-Right*) avaliou a intensidade dos atributos doçura, teor alcoólico e aroma frutado nos quatro licores, e quanto esses atributos penalizaram na nota de aceitabilidade de cada licor. Os resultados podem ser visualizados na Figura 3.5 e Tabela 3.2.

Na Figura 3.5 pode ser observado os níveis JAR agregados, ou seja, nível 1 e 2 agregados em demasiadamente pouco (barra azul), nível 4 e 5 agregado em demais (barra vermelha) e nível 3 representa o ideal (JAR – barra verde), e os percentuais correspondentes para cada nível agregado e para cada licor.

**Figura 3.5. Porcentagens para os níveis agregados de intensidade de cada atributo em cada licor**



Nota: JAR = *Just-About-Right*

O licor 4 apresentou resultados dos atributos doçura, teor alcoólico e frutado, mais de 50% dentro da escala do ideal, corroborando com a melhor nota de aceitabilidade.

A Tabela 3.6 demonstra as principais penalidades, acima de 20%, destacados em vermelho, que contribuíram com a redução da nota de aceitabilidade, em cada licor. O Efeito corresponde em quantos pontos a nota de aceitabilidade foi penalizada.

**Tabela 3.6. Percentual de penalidades e efeito na média da nota de aceitabilidade.**

Atributo	Nível	Licor 1		Licor 2		Licor 3		Licor 4	
		%	Efeito	%	Efeito	%	Efeito	%	Efeito
Doçura	Pouco	68,29	2,06	56,63	1,81	38,55	1,67	14,46	1,62
	Demais	6,09	0,92	14,46	0,25	19,28	0,76	32,53	0,82
Teor alcoólico	Pouco	13,41	0,52	9,64	0,12	12,05	0,58	12,05	1,00
	Demais	58,53	0,67	57,83	0,87	50,60	0,82	25,30	1,31
Frutado	Pouco	76,82	1,93	55,42	0,77	51,81	1,19	21,69	1,33
	Demais	3,65	0,56	10,84	-0,31	13,25	0,09	18,07	1,11

Nota: Efeito = quantos pontos a média da aceitabilidade foi penalizada

O licor 1 foi, foi o licor mais penalizado, em pouca doçura com 68,3%, com demasiado teor alcoólico em 58,5% e com pouco frutado em 76,8%. Este licor foi formulado com menor quantidade de suco de maçã e conseqüentemente, menor concentração de açúcar (30 g/L) e recebeu a menor nota de aceitabilidade. Os licores 2 e 3 também foram penalizados de forma semelhante ao licor 1, mas em menor proporção, de acordo com o aumento da quantidade de suco de maçã utilizado na formulação.

O licor 4 apesar de receber a melhor nota de aceitabilidade, e mostrou um equilíbrio na escala ideal entre os atributos avaliados, também recebeu uma penalização de nota com o atributo doçura na intensidade demais em 32,53%, neste caso, essa nota compreende a um nicho que pessoas que preferem bebidas menos doces.

Os resultados do teste CATA, mostraram que dos 16 atributos listados na ficha sensorial (ANEXO1), apenas 10 foram significativos, ou seja, com percentual de menções superior a 20%, para caracterizar os 4 licores avaliados.

O teste de Cochran foi aplicado sobre 10 atributos mais mencionados, para avaliar a homogeneidade das variâncias e indicar a correspondência destes para cada licor. Os resultados podem ser visualizados na Tabela 3.7.

**Tabela 3.7. Teste de Cochran para cada atributo.**

		Licor 1	Licor 2	Licor 3	Licor 4
Concentração açúcar, g/L		30	50	70	100
Atributos	p-valores				
Sabor alcoólico	0,0013	0,723 <sup>ab</sup>	0,807 <sup>b</sup>	0,747 <sup>b</sup>	0,578 <sup>a</sup>
Odor maçã	0,0006	0,241 <sup>a</sup>	0,386 <sup>ab</sup>	0,494 <sup>b</sup>	0,494 <sup>b</sup>
Ácido	0,0394	0,265 <sup>b</sup>	0,205 <sup>ab</sup>	0,241 <sup>ab</sup>	0,120 <sup>a</sup>
Cor amarela claro	0,0000	0,855 <sup>b</sup>	0,855 <sup>b</sup>	0,711 <sup>ab</sup>	0,566 <sup>a</sup>
Odor alcoólico	0,6149	0,518 <sup>a</sup>	0,518 <sup>a</sup>	0,554 <sup>a</sup>	0,590 <sup>a</sup>
Translucido	0,2093	0,458 <sup>a</sup>	0,422 <sup>a</sup>	0,398 <sup>a</sup>	0,361 <sup>a</sup>
Doce	0,0000	0,145 <sup>a</sup>	0,253 <sup>ab</sup>	0,325 <sup>b</sup>	0,578 <sup>c</sup>
Aroma frutado	0,0023	0,241 <sup>a</sup>	0,313 <sup>ab</sup>	0,410 <sup>ab</sup>	0,482 <sup>b</sup>
Sabor maçã	0,0000	0,169 <sup>a</sup>	0,434 <sup>b</sup>	0,506 <sup>bc</sup>	0,675 <sup>c</sup>
Sabor Frutado	0,0000	0,181 <sup>a</sup>	0,253 <sup>a</sup>	0,313 <sup>a</sup>	0,494 <sup>b</sup>

Nota: Letras minúsculas diferentes na linha indicam diferença significativa entre todos os resultados ( $p < 0,05$ ).

O sabor alcoólico apresentou maior correspondência com os licores 1, 2 e 3, sem diferença significativa entre eles, e o licor 4 apresentou menor correspondência com este atributo. A maior concentração de suco de bruto neste licor amenizou o sabor alcoólico.

O odor de maçã apresentou maior correspondência ao licor 4 e licor 3, sem diferença significativa. Já o odor alcoólico não apresentou diferença significativa entre os quatro licores, ou seja, é um atributo que não diferencia as amostras.

Com relação a acidez, apresentou maior correspondência ao licor 1, que recebeu a menor proporção de suco de maçã.

A cor amarela claro apresentou maior correspondência com os licores 1, 2 e 3, sem diferença significativa entre eles, e o licor 4 apresentou menor correspondência com este atributo. Este atributo está diretamente relacionada a formulação dos licores.

O atributo translúcido não pode ser considerado para diferenciar as amostras porque não houve diferença significativa entre os resultados, é um atributo comum aos quatro licores.

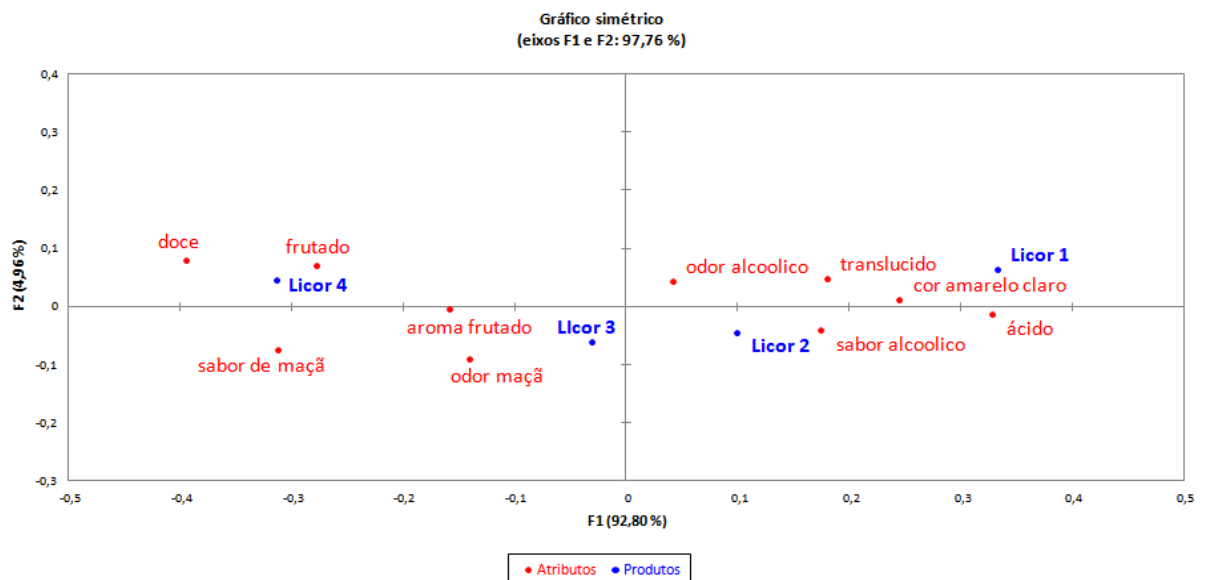
Os atributos doce e sabor frutado apresentaram maior correspondência com o licor 4. O sabor frutado não apresentou diferença significativa nos demais licores,

já o atributo doce apresentou menor correspondência com o licor 1 e sem diferença entre os licores 2 e 3.

Com relação ao sabor de maçã, apresentou maior correspondência com os licores 3 e 4, sem diferença significativa. E o aroma frutado, apresentou maior correspondência com os licores 2, 3 e 4, mas sem diferença significativa. Esses dois atributos apresentaram menor correspondência com o licor 1, que corrobora com a formulação, onde o licor 1 recebeu menor quantidade de suco de maçã integral.

A Figura 3.6 mostra gráfico simétrico com os atributos mais significativos, identificados com análise de correspondência e os respectivos licores.

**Figura 3.6. Análise de correspondência entre atributos e respectivos licores**





### 3.4 Conclusão

Para elaboração do licor de maçã, o processo com o uso de suco bruto diluído com água e álcool de cereais e adição de enzima pectinase demonstrou melhores resultados, principalmente com relação à geração de precipitados, que facilmente decantaram e contribuíram com um produto translúcido, com valor de luminosidade ( $L^*$ ) acima de 95,0, sem a necessidade de clarificação posterior.

O licor com concentração de 100g/L de açúcar apresentou maior percentual de aceitabilidade, destacando os atributos doce e sabor frutado, que foram mais correlacionados ao produto, reforçando a preferência pelo licor com a presença de suco de fruta em maior quantidade. Esse teor de açúcar final classifica o licor de maçã como licor seco, pela legislação vigente. Além de atender uma demanda atual por menor consumo de açúcar, proporcionou boa harmonização da bebida e não mascarando os atributos sensoriais da fruta.

## **CAPÍTULO 4**

### **AVALIAÇÃO DE DIFERENTES MÉTODOS DE ENVELHECIMENTO ACELERADO DO LICOR DE MAÇÃ**

## RESUMO

O envelhecimento de bebidas alcoólicas é uma etapa tecnológica que valoriza sensorialmente seus produtos, agregando aromas e suavizando o sabor alcoólico, presentes na bebida jovem. O objetivo deste capítulo 4, foi definir um protocolo que utilizasse uma alternativa acelerada a etapa de maturação, utilizando *chips* de madeira previamente tratados com ultrassom. A partir do licor com 100 g/L de açúcar e 20 °GL de teor alcoólico, definido no capítulo anterior, iniciou-se o processo de envelhecimento, com adição de *chips* de madeira de carvalho europeu, de 1cm<sup>3</sup>, com queima e sem queima, na dosagem de 5 g/L, e variando o pré-tratamento desses *chips*, antes da introdução no licor. Foram testados *chips* sem tratamento, *chips* tratados em banho ultrassônico, com 100 W de potência e 45 kHz de frequência, e em dispositivo ultrassônico, com 750 W de potência, 20 kHz de frequência, 90% de amplitude e probe de 13 mm. Em ambas as situações, os *chips* ficaram imersos em solução alcoólica padrão a 20 °GL, durante 1 hora, a 25 °C. Ao total, sete diferentes experimentos foram testados que foram monitorados em 1; 7; 14; 30; 60 e 90 dias. Um licor sem a presença de *chips*, foi estabelecido como controle. Análise de compostos fenólicos totais, atividade antioxidante pelos métodos, FRAP, DPPH e ABTS, e cor (L\*, a\*, b\*, h°, C\*) foram realizados para avaliar a evolução da maturação do licor. Análises físico-químicas de pH, acidez, teor alcoólico, densidade, viscosidade e açúcar, foram realizadas antes e após processo de envelhecimento. Análise Descritiva Ordenativa foi utilizada para verificar a intensidade de atributos selecionados entre os diferentes licores testados, após 90 dias de maturação. Ao final do período de envelhecimento o licor que recebeu *chips* pré-tratados com dispositivo ultrassônico apresentou um teor 116,5% maior de fenóis totais do que licor controle. O pré-tratamento com dispositivo ultrassônico acelerou o processo de extração em 60 dias, quando comparado com o licor que recebeu *chips* sem tratamento. Os *chips* sem queima contribuíram com acréscimo no conteúdo fenólico em 17,4% a mais do que os *chips* com queima. O acréscimo em termos de atividade antioxidante, comparando o licor com *chips* sem queima pré-tratados com dispositivo ultrassônico com o licor controle, foi 5,7 vezes superior por FRAP, 4,7 vezes por DPPH e 4,4 vezes por ABTS. Esse mesmo licor também apresentou as maiores variações de cor, comparando com licor controle, o  $\Delta E$ , diferença total de cor, foi de 7,03. As análises físico-químicas realizadas antes e após período de envelhecimento mostraram acréscimo da acidez e da densidade e decréscimo do pH, mas sem diferença significativa na acidez e densidade entre os licores. O teor de açúcar total acrescentou em 7% no licor que recebeu *chips* sem queima e sem pré-tratamento. Na análise descritiva ordenativa, o licor com *chips* sem queima pré-tratados com dispositivo ultrassônico apresentou maior preferência. Os atributos cor, turbidez, sabor doce, residual amadeirado, odor amadeirado e sabor amadeirado foram os descritores percebidos com mais intensidade, corroborando com os resultados analíticos. O pré-tratamento com dispositivo ultrassônico acelerou a etapa de maturação do licor de maçã com extração significativa de compostos fenólicos da madeira, acrescentando o teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante e com aceitação sensorial e percepção evidente dos atributos amadeirados incorporados ao licor.

**PALAVRAS-CHAVE:** licor amadeirado, maturação bebidas, atividade antioxidante, ADO (análise descritiva ordenativa), APG (análise procrustes generalizada)

## 4.1 Introdução

O aproveitamento de frutas de maçã que foram descartadas do consumo *in natura* no processamento de produtos inovadores, incentiva a cadeia produtiva com possibilidades de retorno mais lucrativo. Uma alternativa é investir no desenvolvimento de bebidas alcoólicas a partir desta matéria-prima como sidras, destilados de sidra e licor de maçã (NOGUEIRA et al., 2019). O desenvolvimento de licor a partir de suco de maçã, agrega compostos não voláteis à bebida alcoólica como açúcares, ácidos orgânicos e compostos fenólicos, contribuindo com a complexidade sensorial da bebida, com alteração de cor e sabor desejáveis (HAIDER et al. 2014).

O envelhecimento tradicional de bebidas alcoólicas em barris de madeira, contribui nas características de cor, sabor e aromas do produto final, através de mecanismos de transferência ou decomposição de macromoléculas da madeira que são incorporados à bebida (MOSEDALE; PUECH, 1998). Durante este período, não apenas os atributos sensoriais são modificados, mas também o conteúdo de fenóis totais, que por vezes podem contribuir com o aumento da atividade antioxidante (BALCEREK et al., 2017).

A maturação tradicional de bebidas ocorre em períodos muito longos de estocagem devido ao lento processo de extração de componentes de madeira. O uso de barris torna o processo caro, devido ao alto custo para substituição por novos além de dificuldades com higienização e manuseio. O uso de *chips* ou fragmentos de madeira tem sido testado no envelhecimento de vinhos e destilados como alternativa sustentável ao uso de barris de madeira (ALANÓN et al., 2018).

A aplicação de tecnologias que otimizem o tempo empregado no processo tradicional de envelhecimento de bebidas alcoólicas, tem relevância industrial pelo interesse na redução de custos empregados. O uso de *chips* de madeira, possibilita aumentar a área de contato da bebida com a madeira, variando a dosagem e formatos desse tipo de madeiras, como também realizar testes com outros tipos de madeira (TAO et al., 2014a). Técnicas como ultrassom, aceleram os processos de extração devido ao fenômeno da cavitação, e também podem ser utilizados na maturação de bebidas (DELGADO-GONZALES et al., 2017).

O objetivo deste capítulo foi definir um protocolo que utilizasse uma alternativa acelerada a etapa de maturação, utilizando *chips* de madeira previamente tratados ou não com dispositivos ultrassônicos.

## 4.2 Materiais e métodos

### 4.2.1 Materiais

As maçãs da cultivar Gala foram adquiridas no comércio local da cidade de Ponta Grossa, Paraná, Brasil. O destilado de álcool de cereais com grau alcoólico de 97% (BIOTEC, Labmaster, Pinhais, Paraná, Brasil) foi utilizado na fabricação do licor. Os *chips* de 1cm<sup>3</sup> utilizados foram de madeira de carvalho europeu, com queima média e sem queima (Dornas Havana, Taiobeiras, Minas Gerais, Brasil) (Figura 4.1).

**Figura 4.1. Chips de Madeira de Carvalho Europeu**



Fonte: A autora

Os reagentes utilizados Trolox (6 -hidroxi - 2,5,7,8 - tetrametilcromano - 2-ácido carboxílico), TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazina) e DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), ABTS (2,2'-Azino-bis(ácido 3-etilbenzotiazolona-6-sulfônico), Folin-Ciocalteu foram adquiridos da Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemanha) .

Foram utilizados como padrões para perfil fenólico o ácido 5-cafeoilquínico (ácido clorogênico), ácido siríngico, vanilina e ácido gálico da Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemanha). Os solventes utilizados para dissolver amostras e preparação de fase móvel para análises cromatográficas foram metanol 99,8%, acetonitrila, ácido acético e ácido sulfúrico (JTBaker, Estados Unidos).

## 4.2.2 Métodos

### 4.2.2.1 Processo de envelhecimento do licor

A partir da definição da formulação com maior aceitabilidade para o licor de maçã com 100 g/L de açúcar e 20°GL de teor alcoólico, aplicou-se o processo de envelhecimento, com adição de *chips* de madeira de carvalho europeu, de 1cm<sup>3</sup>, com queima média e sem queima, e dosagem de 5 g/L, variando o pré-tratamento desses *chips*, antes da introdução no licor.

Foram testados *chips* sem tratamento, *chips* tratados em banho ultrassônico, (Cole-Parmer 8892, Illinois, USA), com 100W de potência e 45 kHz de frequência, e em dispositivo ultrassônico (SONICS Vibra-Cell modelo VCX750, Newtown, USA), com 750W de potência, 20 kHz de frequência, 90% de amplitude e probe de 13 mm. Durante a aplicação dos tratamentos ultrassônicos, os *chips* ficaram imersos em 100 mL de solução alcoólica padrão a 20°GL, durante 1 hora, a 25°C. Após o pré-tratamento dos *chips*, esta solução foi descartada. Os *chips* sem tratamento foram adicionados aos licores sem imersão em solução alcoólica previamente. A Figura 4.2 demonstra esquema desenvolvido para envelhecimento dos licores, exemplificando os experimentos. Ao total, sete condições diferentes foram testadas, originando sete licores diferentes:

Licor 1 (L1) – licor controle. Sem adição de madeira

Licor 2 (L2) – Licor com MQ, sem tratamento US

Licor 3 (L3) – Licor com MSQ, sem tratamento US

Licor 4 (L4) – Licor com MQ, com pré-tratamento banho US

Licor 5 (L5) – Licor com MSQ, com pré-tratamento banho US

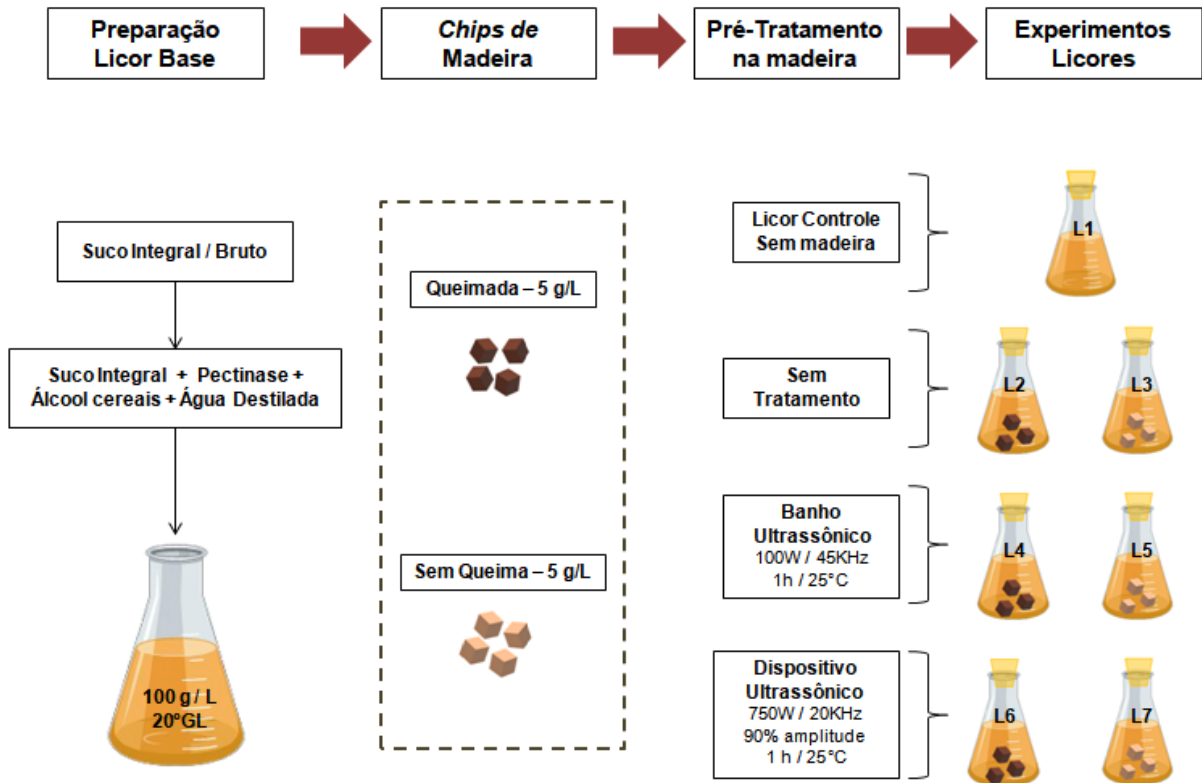
Licor 6 (L6) – Licor com MQ, com pré-tratamento sonda US

Licor 7 (L7) – Licor com MSQ, com pré-tratamento sonda US

Onde: MQ – Madeira Queimada; MSQ – Madeira Sem Queima

Posteriormente, esses sete licores, foram monitorados periodicamente, até finalizar 90 dias de processo de envelhecimento.

Figura 4.2. Esquema dos experimentos de envelhecimento no licor de maçã



Fonte: A autora

#### 4.2.2.2 Análise de glucose, frutose e sacarose

Os açúcares glucose, frutose e sacarose, foram determinados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), Alliance 2695 (Waters, Milford, MA, EUA). O sistema possui uma bomba quaternária, degaseificador, injetor automático e detector de índice de refração 2414 (Waters, Milford, MA, EUA). A separação ocorreu em coluna Aminex HPX-87H (300 x 7,8 mm), eluição foi a 30° C (coluna e detector), com taxa de fluxo de 0,5 mL/min, usando ácido sulfúrico 5mM como fase móvel. As amostras de licor de maçã foram diluídas 1:10 (v/v) com água ultrapura e depois filtrada através de um filtro de seringa de nylon de 0,22 µm (Waters, Milford, MA, EUA) (SANTOS et al., 2018).

As concentrações foram calculadas a partir de uma curva padrão de sacarose ( $S=1,25 \times 10^{-6} \times \text{área} + 0,466$ ;  $R^2 = 0,9913$ ); de curva padrão de glucose ( $G= 1,11 \times 10^{-6} \times \text{área} + 0,415$ ;  $R^2 = 0,9925$ ) e de curva padrão de frutose ( $F=1,0 \times 10^{-6} \times \text{área} + 0,445$ ;

$R^2 = 0,9926$ ); previamente preparada e os resultados foram expressos em gramas por litro de licor (g/L). Todas as determinações foram realizadas em triplicatas.

#### 4.2.2.3 *Análise de acidez total*

A acidez total foi determinada por titulação com NaOH 0,1M, utilizando fenolftaleína 1% como indicador. O resultado foi expresso em g de ácido málico/100mL de amostra (IAL, 2008).

#### 4.2.2.4 *Análise de teor alcoólico*

O teor de álcool etílico foi determinado a partir da destilação de 25 mL de amostra em Micro Destilador de água TE-012 (TECNAL, Piracicaba, São Paulo, Brasil), e posteriormente determinado em densímetro eletrônico (Density Meter DMA 4500M, Anton Paar, Graz, Áustria), e expresso em % v/v.

#### 4.2.2.5 *Análise de Densidade e Viscosidade*

A densidade dos licores base foi medida em densímetro eletrônico (Density Meter DMA 4500M, Anton Paar, Graz, Áustria), e expressa em g/cm<sup>3</sup>, assim como a viscosidade dinâmica, expressa em mPa.s.

#### 4.2.2.6 *Análise de cor*

Os resultados foram expressos nas coordenadas do espaço de cores da Comissão Internacional d'Eclairage (CIE) L\*, a\* e b\*. As amostras de licor foram analisadas em colorímetro digital (CM-5-ID, KONICA MINOLTA, Osaka, Japão). O parâmetro L\*, determina a luminosidade (branco = 100 e preto = 0), a\* as coordenadas de verde (-a) a vermelho (+a) e b\*, coordenadas de azul (-b) a amarelo (+b). O parâmetro Chroma (C\*) referente a intensidade de cor, foi calculado por  $C^* = (a^2 + b^2)^{1/2}$ . O parâmetro ângulo Hue (h°) referente a tonalidade, foi calculado por  $h^* = \tan^{-1} (b^*/ a^*) + 180^\circ$  quando  $a^* < 0$  e  $h^* = \tan^{-1} (b^*/ a^*)$  quando  $a^* > 0$ .



As diferenças totais de cor ( $\Delta E^*$ ) entre as amostras testadas (após a maturação) e a amostra controle (sem madeira-L1) foram calculadas de acordo com a seguinte equação:

$$\Delta E^* = (\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2)^{1/2}$$

#### 4.2.2.7 Determinação dos compostos fenólicos totais (CFT)

O teor de compostos fenólicos totais (CFT) nos 4 licores, na etapa 2, foi determinado por análise colorimétrica utilizando o reagente de Folin Ciocalteu, como descrito por Singleton e Rossi (1965). As análises foram conduzidas em tubos de ensaio, com adição de 4,2 mL de água destilada, 50  $\mu$ L dos licores diluídos (1:2) e 250  $\mu$ L do reativo de Folin Ciocalteu diluído (1:10). Depois de 3 min de reação, 500  $\mu$ L de carbonato de sódio saturado (20% m/v) foi adicionado nos tubos e agitado por 5 segundos em vortex. As amostras foram mantidas em local escuro por 1 hora, e posteriormente foi efetuada leitura das absorbâncias em espectrofotômetro (SHIMADZU, UVmini-1240, SP, Brasil) a 720 nm. As concentrações foram calculadas a partir de uma curva padrão de ácido clorogênico (CFT = 1317,5 x absorbância - 8,71);  $R^2 = 0,9996$ ) previamente preparada e os resultados foram expressos em miligramas equivalentes de ácido clorogênico por litro (mg EAC/L). Todas as determinações foram realizadas em triplicatas.

#### 4.2.2.8 Determinação de Atividade Antioxidante

Para a determinação da atividade antioxidante dos licores base, na etapa 2, foram utilizados os métodos de redução do ferro, FRAP, segundo Benzie e Strain (1996); o método da captura do radical livre DPPH, de acordo com Brand-Willians, Cuvelier e Berset (1995) e o método de descoloração do cátion ABTS, descrito por Re et al. (1999), adaptados para o leitor de microplacas, e com leitura de absorbância em espectrofotômetro (EPOCH microplate spectrophotometer, Bio Tek, USA).

Para o método de FRAP, o reagente foi preparado pela mistura do tampão acetato (300 mM, pH 3,6), com uma solução de 10 mM TPTZ em 40 mM HCl, e 20 mM  $FeCl_3$  na proporção de 10:1:1 (v/v/v). Uma alíquota de 20  $\mu$ L de amostra diluída

(1:2), foi colocada em microplaca, seguido de 280  $\mu\text{L}$  do reagente FRAP, recém-preparado. A microplaca com a mistura foi agitada por trinta segundos e mantida no escuro em repouso, por trinta minutos, seguido de leitura das absorvâncias a 593 nm. A curva padrão FRAP =  $588,23 \times \text{absorbância} - 61,17$ ;  $R^2 = 0,9907$  foi plotada usando diferentes concentrações de Trolox (100-1000  $\mu\text{mol/L}$ ). Os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol}$  de equivalente de Trolox por litro de licor ( $\mu\text{mol TE/L}$ ). Todas as determinações foram realizadas em triplicatas.

No método de DPPH, foi utilizado 50  $\mu\text{L}$  de amostra diluída (1:5) acrescido de 250  $\mu\text{L}$  do reagente DPPH (125  $\mu\text{mol/L}$ ), realizando a leitura a 517 nm após o período de trinta minutos em ausência de luz. Uma curva padrão foi plotada usando diferentes concentrações de Trolox (50-275  $\mu\text{mol/L}$ ). Os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol}$  de equivalente de Trolox por litro de licor ( $\mu\text{mol TE/L}$ ). Todas as determinações foram realizadas em triplicatas. A curva padrão DPPH =  $333,33 \times \text{absorbância} + 2,26$ ;  $R^2 = 0,9902$

E para o método de ABTS, as soluções estoques incluíram a solução de ABTS (7 mmol/L) e a solução de persulfato de potássio (2,45 mmol/L), que foram preparadas e misturadas em igual quantidade e deixada reagir por 16 h à temperatura ambiente (25 °C) no escuro. A solução foi então diluída pela mistura de 4 mL da solução de ABTS e completadas até 200 mL de água destilada. Para a análise, 20  $\mu\text{L}$  de amostra diluída (1:5) acrescida de 280  $\mu\text{L}$  do reagente ABTS, agitadas e deixadas em repouso no escuro por trinta minutos. Em seguida, a leitura foi efetuada a 734 nm. A curva padrão ABTS =  $8,04 \times \text{absorbância} - 32,17$ ;  $R^2 = 0,99$ , foi plotada usando diferentes concentrações de Trolox (100-1000  $\mu\text{mol/L}$ ). Os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol}$  de equivalente de Trolox por litro de licor ( $\mu\text{mol TE/L}$ ). Todas as determinações foram realizadas em triplicatas.

#### *4.2.2.9 Identificação e quantificação de compostos fenólicos individuais*

Uma amostra de 50mL de cada licor, foi concentrada por evaporação sob vácuo (40°C) em evaporador rotativo (Tecnal TE-211, Piracicaba, SP, Brasil), congelado em ultrafreezer (NUAIRE, NU-9668GC, MN, USA), e posteriormente liofilizada (LD1500, Terroni, São Paulo, SP, Brasil). As amostras foram reconstituídas com 3 mL de ácido acético a 2,5% e metanol (3: 1, v/v) e filtradas em

filtro de seringa 0,22 µm (Nylon) (Waters, Milford, MA, EUA) antes da análise, de acordo com Alberti et al. (2014).

A análise de compostos fenólicos individuais foi realizada com identificação e quantificação por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). O cromatógrafo (2695 Alliance, Waters, EUA), apresenta detector de matriz de fotodíodos PDA 2998 (Waters, EUA), bomba quaternária e amostrador automático. A separação foi realizada em uma coluna Symmetry C<sub>18</sub> (4,6 x 150 mm, 3,5 µm) (Waters, EUA) a 20°C. A fase móvel foi composta pelo solvente A (ácido acético a 2,5% v/v) e solvente B (acetonitrila). O gradiente a seguir foi aplicado: 3 a 9% de B (0 a 5 minutos), 9 a 16% de B (5 a 15 minutos), 16 a 36,4% de B (15–33 min), seguido de uma corrida isocrática a 100% de B (5 min) e acondicionamento da coluna (3% de B, 10 min). A taxa de fluxo foi de 1,0 mL/min. A identificação dos compostos fenólicos foi realizada comparando o tempo de retenção e espectros com os de padrões. A identificação e quantificação dos compostos foram realizadas por meio da comparação dos tempos de retenção e espectro das amostras (Tabela 4.1), com as corridas monitoradas a 271,5 nm (ácido gálico), 274,8 nm (ácido siríngico), 280 nm (ácido gálico), 308 nm (siringaldeído), 310,4 nm (vanilina) e 326,2 nm (ácido clorogênico).

**Tabela 4.1. Parâmetros cromatográficos dos padrões de compostos fenólicos**

Compostos Fenólicos	TR (min)	Banda UV (nm)	Regressão Linear (mg/L)	R <sup>2</sup>	LOD (µg/mL)	LOQ (µg/mL)
Ácido Gálico	3,11	271,5	Y = 23597x - 193026	0,9974	0,78	2,35
Ácido Clorogênico	9,21	326,2	Y=26323x - 210273	0,9964	0,59	1,80
Ácido Siríngico	11,8	274,8	Y=30274x + 91924	0,9996	4,74	14,39
Siringaldeído	15,4	308	Y=30274x + 91924	0,9996	4,74	14,39
Vanilina	14,8	310,4	Y=29083x - 76901	0,9996	4,16	12,61

Nota: TR = tempo de retenção; LOD = limite de detecção; LOQ = limite de quantificação

#### 4.2.2.10 Microscopia Eletrônica de Varredura por Emissão de Campo

Antes e após os tratamentos de ultrassom, os *chips* de madeira, foram submetidos à microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo (MIRA 3, Tescan, República Tcheca) para captação de imagens.

Os *chips* foram divididos ao meio para facilitar o preparo das amostras. As amostras foram fixadas em suporte de alumínio com fita dupla face de carbono. Em

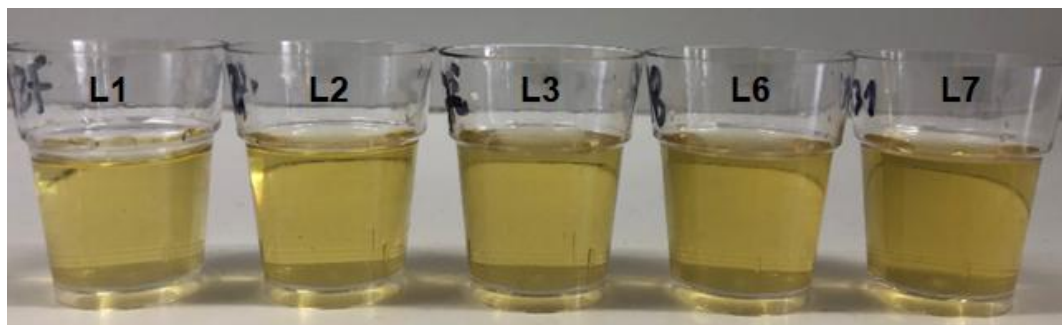
seguida foram metalizadas com ouro, durante 3 minutos (Metalizador Quorum SC7620, Inglaterra), em alto vácuo com corrente elétrica de 10mA. Foram testadas diferentes ampliações de imagem, com escolha de 5000 vezes de aumento para realizar a captura das imagens.

#### 4.2.2.11 Análise Sensorial

A análise sensorial foi iniciada após a aprovação do projeto CAAE 087659919.6.0000.0105 pelo Comitê de Ética em Pesquisa (COEP) da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG).

Devido aos resultados analíticos não significativos dos licores que utilizaram *chips* de madeira tratados com banho de US, optou-se por não considerar os licores L4 e L5 na avaliação sensorial final. Portanto os licores escolhidos para dar continuidade ao experimento foram os tratamentos L1, L2, L3, L6 e L7 (Figura 4.3).

**Figura 4.3. Licores envelhecidos para ADO**



Fonte: A autora

A metodologia escolhida para avaliar as características de cada licor, foi a Análise Descritiva Ordenativa (RICHTER, 2010). Um grupo de 15 julgadores, 13 mulheres e dois homens com idades entre 21 e 48 anos, foram selecionados através de entrevista, onde foram questionados sobre hábitos de consumo, se apreciam e consomem esse tipo de bebida eventualmente, se não apresentam problemas de saúde e se faziam uso de medicamentos que impediam o consumo de bebida alcoólica, além também da disponibilidade de tempo para participar de todas as etapas da metodologia sensorial.

A primeira etapa da metodologia consiste em realizar sessões individuais, nas quais duas amostras (A e B), com características bem opostas, foram apresentadas, e foi solicitado aos julgadores que as comparassem e descrevessem similaridades e diferenças, utilizando atributos de forma livre. Os julgadores foram instruídos a observar a aparência, o odor, o sabor e residual das amostras e fizessem registro em ficha de avaliação, conforme modelo em Anexo 2.

A segunda etapa da metodologia consistiu em organizar uma sessão de discussão entre o grupo que participou da primeira etapa, para selecionar os termos mais citados, agrupar os semelhantes, e desenvolver uma lista de atributos definitiva de forma consensual. Para compreensão do significado de cada atributo, foram utilizadas amostras de referências, como suco integral de maçã, suco clarificado de maçã, whisky e água, além do uso das próprias amostras A e B.

Foram definidos os seguintes descritores: os atributos cor e turbidez para avaliar a aparência das amostras, os atributos odor alcoólico, odor amadeirado e odor frutado, para avaliar odor, os atributos sabor doce, sabor álcool, sabor amadeirado e sabor frutado para avaliar sabor e residual amargo e residual amadeirado para avaliar aspectos de residual final da bebida. Foi elaborada uma ficha (Anexo 3) com as referências consensadas pelo grupo, além de critério e exemplos para reforçar as diferenças de intensidade do forte e fraco para cada atributo, para servir de material de apoio e consulta, se necessário, durante avaliação das amostras

Uma ficha com todos os atributos selecionados foi elaborada para realizar a ordenação das amostras conforme a intensidade percebida de cada atributo. Ao final da mesma ficha encontra-se espaço para também ordenar de maior a menor preferência entre as cinco amostras provadas, conforme modelo Anexo 4.

A terceira e última etapa da metodologia, consistiu na análise em triplicata das cinco amostras de licores de maçã. 5 mL de cada amostra foram servidas simultaneamente em copos plásticos transparentes, codificadas com números aleatórios de três dígitos, em cabine individual, adaptada para avaliação sensorial com luz branca juntamente com a ficha de avaliação (Anexo 4) e ficha de referências (Anexo 3) para apoio na análise. Também foi ofertado copo com água e bolacha água e sal para auxiliar no processo de degustação.

#### 4.2.2.12 Análise Estatística

Os dados foram apresentados com média e desvio padrão. As diferenças entre as amostras foram avaliadas pela análise de variância (ANOVA, fator único), seguido de teste de médias de Fisher LSD. O teste de correlação de Pearson ( $r$ ), foi utilizado para determinar a intensidade de correlação entre os resultados obtidos de fenóis totais e atividade antioxidante. Todas as análises estatísticas foram realizadas no software STATISTICA v. 13.2 (Stat-Soft Inc., Tulsa, OK, USA).

Os resultados da avaliação sensorial obtidos por ADO foram avaliados pela Análise Procrustes Generalizada (APG) utilizando-se o programa XLSTAT (Trial Version), para comparação da configuração das amostras e verificação da eficiência e do consenso da equipe (GOWER, 1975).

Os dados da ADO foram avaliados por teste de Friedman (NEWELL; MacFARLANE, 1987) para verificar diferenças entre amostras que indica a diferença crítica entre os totais de ordenação de acordo com o número de tratamentos testados e o número de julgamentos obtidos, considerando-se cinco amostras e 15 julgadores.

### 4.3 Resultados e discussão

#### 4.3.1 Análises físico-químicas

Os sete licores elaborados na etapa de envelhecimento com chips de carvalho, foram analisados com análises físico-químicas no tempo inicial ( $T_i$ ) e tempo final ( $T_f$ ), após 90 dias. Os resultados podem ser visualizados na Tabela 4.2.

Tabela 4.2. Resultados físico-químicas dos sete licores no Ti e Tf.

Análise	Tempo	LICORES						
		Controle S/M	Sem tratamento		Banho US		Sonda US	
		L1	L2 (MQ)	L3 (MSQ)	L4 (MQ)	L5 (MSQ)	L6 (MQ)	L7 (MSQ)
pH	Ti	4,19 <sup>a</sup> ± 0,03	4,19 <sup>a</sup> ± 0,03	4,19 <sup>a</sup> ± 0,03	4,19 <sup>a</sup> ± 0,03	4,19 <sup>a</sup> ± 0,03	4,19 <sup>a</sup> ± 0,03	4,19 <sup>a</sup> ± 0,03
	Tf	4,03 <sup>bc</sup> ± 0,01	4,02 <sup>c</sup> ± 0,01	4,00 <sup>d</sup> ± 0,01	4,04 <sup>b</sup> ± 0,01	4,00 <sup>d</sup> ± 0,01	4,14 <sup>a</sup> ± 0,01	3,95 <sup>e</sup> ± 0,00
Acidez total, g/100mL	Ti	0,228 <sup>a</sup> ± 0,004	0,228 <sup>a</sup> ± 0,004	0,228 <sup>a</sup> ± 0,004	0,228 <sup>a</sup> ± 0,004	0,228 <sup>a</sup> ± 0,004	0,228 <sup>a</sup> ± 0,004	0,228 <sup>a</sup> ± 0,004
	Tf	0,245 <sup>b</sup> ± 0,000	0,252 <sup>ab</sup> ± 0,007	0,250 <sup>ab</sup> ± 0,004	0,245 <sup>b</sup> ± 0,000	0,250 <sup>ab</sup> ± 0,004	0,254 <sup>a</sup> ± 0,004	0,257 <sup>a</sup> ± 0,004
Densidade, g/cm <sup>3</sup>	Ti	1,0046 <sup>a</sup> ± 0,0002	1,0046 <sup>a</sup> ± 0,0002	1,0046 <sup>a</sup> ± 0,0002	1,0046 <sup>a</sup> ± 0,0002	1,0046 <sup>a</sup> ± 0,0002	1,0046 <sup>a</sup> ± 0,0002	1,0046 <sup>a</sup> ± 0,0002
	Tf	1,0076 <sup>a</sup> ± 0,0005	1,0089 <sup>a</sup> ± 0,0012	1,0078 <sup>a</sup> ± 0,0008	1,0083 <sup>a</sup> ± 0,0015	1,0087 <sup>a</sup> ± 0,0009	1,0089 <sup>a</sup> ± 0,0009	1,0078 <sup>a</sup> ± 0,0007
Viscosidade dinâmica, mPa.s	Ti	2,72 <sup>a</sup> ± 0,02	2,72 <sup>a</sup> ± 0,02	2,72 <sup>a</sup> ± 0,02	2,72 <sup>a</sup> ± 0,02	2,72 <sup>a</sup> ± 0,02	2,72 <sup>a</sup> ± 0,02	2,72 <sup>a</sup> ± 0,02
	Tf	2,66 <sup>a</sup> ± 0,01	2,60 <sup>b</sup> ± 0,04	2,63 <sup>a</sup> ± 0,01	2,62 <sup>b</sup> ± 0,02	2,60 <sup>b</sup> ± 0,01	2,60 <sup>b</sup> ± 0,01	2,62 <sup>b</sup> ± 0,01
Açúcar total, g/L	Ti	99,79 <sup>a</sup> ± 0,13	99,79 <sup>a</sup> ± 0,13	99,79 <sup>a</sup> ± 0,13	99,79 <sup>a</sup> ± 0,13	99,79 <sup>a</sup> ± 0,13	99,79 <sup>a</sup> ± 0,13	99,79 <sup>a</sup> ± 0,13
	Tf	102,06 <sup>d</sup> ± 0,08	106,50 <sup>c</sup> ± 0,01	106,95 <sup>c</sup> ± 0,03	104,54 <sup>a</sup> ± 0,04	101,70 <sup>d</sup> ± 0,04	101,74 <sup>d</sup> ± 0,04	103,60 <sup>b</sup> ± 0,02
Sacarose, g/L	Ti	12,05 ± 0,17	12,05 ± 0,17	12,05 ± 0,17	12,05 ± 0,17	12,05 ± 0,17	12,05 ± 0,17	12,05 ± 0,17
	Tf	6,67 ± 0,01	6,56 ± 0,00	6,56 ± 0,01	6,83 ± 0,01	6,43 ± 0,01	6,68 ± 0,01	6,75 ± 0,01
Glucose, g/L	Ti	26,60 ± 0,17	26,60 ± 0,17	26,60 ± 0,17	26,60 ± 0,17	26,60 ± 0,17	26,60 ± 0,17	26,60 ± 0,17
	Tf	29,04 ± 0,02	30,26 ± 0,00	30,32 ± 0,01	29,66 ± 0,01	29,03 ± 0,01	28,94 ± 0,01	29,52 ± 0,01
Frutose, g/L	Ti	61,14 ± 0,38	61,14 ± 0,38	61,14 ± 0,38	61,14 ± 0,38	61,14 ± 0,38	61,14 ± 0,38	61,14 ± 0,38
	Tf	66,33 ± 0,05	69,66 ± 0,01	70,05 ± 0,01	68,04 ± 0,01	66,23 ± 0,03	66,09 ± 0,02	67,32 ± 0,01

Nota 1: Ti= 0 dia ; Tf= 90 dias

Nota 2: Resultados expressos com média ± desvio padrão. Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa (p<0,05) de acordo com o teste de Fisher LSD.

Nota 3: L1 = Licor controle (sem madeira); L2 = Licor com chips MQ sem tratamento US; L3 = Licor com chips MSQ sem tratamento US; L4= Licor com chips MQ com tratamento Banho US; L5= Licor com chips MSQ com tratamento Banho US; L6 = Licor com chips MQ com tratamento Sonda US; L7 = Licor com chips MSQ com tratamento Sonda US

Nota 4: MQ = madeira queimada ; MSQ = madeira sem queima ; US = Ultrassom ; S/M = sem madeira

Com relação ao pH, houve decréscimo do valor em todos os licores, comparando com o tempo inicial. E entre os licores houve diferença significativa entre todos eles. De maneira geral, os licores envelhecidos com madeira sem queima (L3, L5 e L7), houve decréscimo mais acentuado se comparar com os licores que utilizaram madeira queimada (L2, L4 e L6). O licor controle sem madeira, apresentou decréscimo do pH, mas permaneceu com valor intermediário de 4,03.

Os resultados de acidez total, corroboram com os resultados do pH, havendo acréscimo em todos os licores. Uma pequena variação foi observada nos licores L6 e L7 que receberam chips tratados com sonda US, mas sem diferença significativa entre os sete licores. Esses resultados para pH e acidez são esperados, após período de envelhecimento de bebidas alcoólicas, devido as reações de oxidação do etanol à ácido acético. A presença de oxigênio se fez presente durante os momentos de coleta de amostra regularmente.

Os resultados de densidade mostraram acréscimo após 90 dias em todos os licores, mas sem diferença significativa entre eles. O aumento na densidade pode ser explicado pela migração de compostos orgânicos da madeira para a bebida.

Com relação a viscosidade dinâmica, houve redução em 0,1 mPa.s dos valores em todos os licores. Praticamente não houve diferença significativa entre os licores que receberam *chips* de madeira. Essa redução se deve ao processo de sedimentação dos compostos precipitados, principalmente pectina, ao longo dos 90 dias.

Os resultados de açúcar total mostram acréscimo após 90 dias, com diferença significativa nos L2 e L3, que receberam chips com queima e sem queima, respectivamente, sem pré-tratamento. O teor de açúcar total aumentou em 7% no L3 (Tabela 4.2). Enquanto o teor de sacarose reduziu de 12 para 6,5 g/L o de glucose aumentou de 26 para 30 g/L e o de frutose aumentou de 61 para 66 g/L . Esse aumento no teor de glucose é explicado pela possível hidrólise da sacarose em glucose e frutose, o que também explica o incremento no teor da frutose.

O teor de álcool foi analisado no tempo inicial e no tempo final. De maneira geral houve uma pequena redução ao redor de 1°GL, em todos os licores.



#### 4.3.2 Análise de fenóis totais e atividade antioxidante

A Tabela 4.3 demonstra a evolução do resultado das análises de fenóis totais em cada um dos sete licores, expressos em mg EAC/L, durante os 90 dias dos experimentos.

Ao final de 90 dias, o L1, licor controle – sem madeira, que no início apresentou valor de 140,68 mgEAC/L, finalizou o processo com 120,14 mgEAC/L, uma redução de 15% do conteúdo inicial. Mas estatisticamente, a partir do 14º dia a redução não foi mais significativa. Zardo et al. (2008) relata a perda de fenóis totais e atividade antioxidante devido as reações de escurecimento enzimático e operação de despectinização no suco, durante processamento de sidra.

A partir do 7º dia, os resultados já apresentaram diferença significativa entre os licores que receberam *chips* de madeira pré-tratados com sonda US (L6 e L7) com os demais licores L2, L3, L4 e L5, e apresentando o maior conteúdo fenólico, 190,7 e 197,8 mgEAC/L.

Tabela 4.3. Evolução de fenóis totais nos licores durante envelhecimento em mg EAC/L.

Dias	LICORES						
	Controle S/M	Sem tratamento		Banho US		Sonda US	
	L1	L2 (MQ)	L3 (MSQ)	L4 (MQ)	L5 (MSQ)	L6 (MQ)	L7 (MSQ)
1	140,68 <sup>bA</sup> ± 7,91	167,91 <sup>aC</sup> ± 8,47	164,40 <sup>aE</sup> ± 2,64	157,37 <sup>aC</sup> ± 0,65	156,49 <sup>aD</sup> ± 4,56	157,37 <sup>aE</sup> ± 5,49	163,52 <sup>aE</sup> ± 3,04
7	137,17 <sup>eA</sup> ± 3,04	171,42 <sup>bcBC</sup> ± 7,61	179,33 <sup>bd</sup> ± 1,52	167,91 <sup>cBC</sup> ± 5,49	174,94 <sup>bcC</sup> ± 4,56	190,75 <sup>aC</sup> ± 4,56	197,78 <sup>aD</sup> ± 3,04
14	134,53 <sup>eAB</sup> ± 4,03	179,33 <sup>cBC</sup> ± 5,49	197,78 <sup>bc</sup> ± 4,03	164,40 <sup>dBC</sup> ± 4,56	185,48 <sup>cBC</sup> ± 6,97	196,02 <sup>bCD</sup> ± 4,56	210,95 <sup>aD</sup> ± 3,04
30	121,36 <sup>eB</sup> ± 12,17	183,72 <sup>cdB</sup> ± 11,88	200,41 <sup>bBC</sup> ± 5,49	172,30 <sup>dBC</sup> ± 4,56	199,53 <sup>bcAB</sup> ± 5,49	207,44 <sup>bBC</sup> ± 9,98	228,52 <sup>aC</sup> ± 10,97
60	126,63 <sup>dAB</sup> ± 8,47	208,32 <sup>ba</sup> ± 8,05	212,71 <sup>bb</sup> ± 5,49	177,57 <sup>cb</sup> ± 13,18	200,41 <sup>baB</sup> ± 15,44	213,59 <sup>bb</sup> ± 9,25	245,21 <sup>ab</sup> ± 6,63
90	120,14 <sup>eB</sup> ± 10,25	206,56 <sup>da</sup> ± 4,56	242,57 <sup>aba</sup> ± 15,44	197,78 <sup>da</sup> ± 10,65	210,95 <sup>ca</sup> ± 12,17	228,52 <sup>bcA</sup> ± 9,25	260,14 <sup>aA</sup> ± 14,51

Nota 1: Resultados expressos com média ± desvio padrão.

Nota 2: Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) de acordo com o teste de Fisher LSD.

Nota 3: Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) de acordo com o teste de Fisher LSD.

Nota 4: L1 = Licor controle (sem madeira); L2 = Licor com chips MQ sem tratamento US; L3 = Licor com chips MSQ sem tratamento US; L4 = Licor com chips MQ com tratamento Banho US; L5 = Licor com chips MSQ com tratamento Banho US; L6 = Licor com chips MQ com tratamento Sonda US; L7 = Licor com chips MSQ com tratamento Sonda US

Nota 5: MQ = madeira queimada ; MSQ = madeira sem queima ; US = Ultrassom; S/M = sem madeira

Ao final do período de 90 dias, o L7 que recebeu *chips* de madeira sem queima e pré-tratado com sonda US, apresentou o melhor resultado em termos de fenóis totais, finalizando com 260,14 mgEAC/L. Um aumento de 116,5% quando comparado com o licor controle que não recebeu madeira. Seguido do L3 que recebeu *chips* de madeira sem queima sem pré-tratamento, com 242,57 mgEAC/L. Os licores L4 e L5 que receberam *chips* de madeira com queima e sem queima, respectivamente, mas pré-tratados no banho ultrassônico, apresentaram resultados inferiores, quando comparando com os licores equivalentes.

Uma hipótese para este resultado é que o pré-tratamento dos *chips* de madeira no banho de ultrassom acelerou a extração de compostos superficiais da madeira que reagem com os compostos fenólicos durante o envelhecimento. Isto ocorre devido à intensidade da ação ultrassônica ser menor, irregular e dispersa uma vez que a amostra fica contida dentro de um Becker parcialmente submersa na água do recipiente do banho, ao contrário do pré-tratamento dos *chips* com sonda, onde a ação da intensidade/potência é maior e diretamente sobre as amostras (*chips*) devido ao contato com o probe (CHEMAT et al., 2017b). Os *chips* que receberam pré-tratamento com sonda US apresentaram estrutura superficial da parede vegetal modificada pela cavitação (Figura 4.6), ou seja, os compostos da madeira além de serem extraídos também na solução de pré-tratamento dos *chips*, ainda proporcionou a continuação e intensificação da extração de compostos da madeira durante o envelhecimento do licor.

No caso dos licores L4 e L5, onde os conteúdos fenólicos foram menores, atribui-se isso o fato da solução alcoólica padrão 20°GL a qual os *chips* ficaram imersos durante o pré-tratamento, foi descartada posteriormente, e com isso descartando também os possíveis compostos fenólicos extraídos da madeira. E posteriormente, como o mecanismo do banho US apresenta menos intensidade do tratamento, não proporcionando de forma significativa a abertura de canais de extração, devido a cavitação.

Quando comparamos os licores L2 e L4 (ambos licores receberam MQ), mas sem tratamento e banho US, respectivamente, os resultados de fenóis totais ao final dos 90 dias, não apresentou diferença significativa (Tabela 4.3), ou seja, o pré-tratamento em banho US não demonstrou ação eficaz que acelerasse ou intensificasse o processo de extração de compostos da madeira.

Comparando os licores L2 e L3, que receberam *chips* não tratados, o L3, que utilizou MSQ, apresentou 17,4% a mais em termos de fenóis totais do que L2, que utilizou MQ. Dumitriu et al. (2016) encontrou resultados, em pesquisa com uso de *chips* de madeira em vinho tinto jovem, com quantidade superior de fenóis totais nos vinhos que receberam *chips* sem queima ou com leve queima, comparando com *chips* com queima mais intensa.

Em termos de aceleração do processo de extração, quando os *chips* foram tratados com sonda US, apresentou conteúdo fenólico ao L6 de 207,4 mgEAC/L no 30º dia (Tabela 4.3). Esse mesmo conteúdo aproximadamente 206,6 mgEAC/L, somente foi atingido em 90 dias, no L2, que recebeu *chips* sem tratamento, 60 dias antes. Quando os *chips* foram tratados em banho US, além de não acelerar o processo, o conteúdo fenólico final aos 90 dias foi ainda inferior, ficando em 197,78 mgEAC/L.

Avaliando a evolução do resultado de fenóis totais (Tabela 4.3), entre 1 e 90 dias de cada licor, observa-se que ao final do período, a maioria dos licores apresentavam diferença significativa com relação ao tempo de 60 dias, ou seja, o processo de extração de compostos fenólicos ainda não havia cessado.

Os resultados de atividade antioxidante dos licores, pelos métodos FRAP, DPPH e ABTS, podem ser visualizados na Tabela 4.4.

O L1 apresentou redução de atividade antioxidante em média 17%, pelos diferentes métodos empregados, ao final dos 90 dias. Pelo método FRAP a partir do 30º dia não houve mais diferença significativa até o resultado do 90º dia. Pelo método DPPH, a partir do 14º e pelo método ABTS a partir do 7º dia. Essas diferenças podem ser explicadas pelo espectro diferente de compostos fenólicos que cada método é capaz de quantificar, conforme os potenciais de redução, como também características de solubilização dos mesmos.

Os L2 e L4, ambos receberam madeira queimada mas sem pré-tratamento e tratada no banho US, respectivamente, apresentaram uma demora no processo de extração dos compostos fenólicos. O L2 apenas no 30º dia apresentou um acréscimo na atividade antioxidante de forma significativa, pelo método ABTS. Já o L4, apresentou acréscimo após o 14º dia, pelos métodos DPPH e ABTS. Esse comportamento já não foi visualizado no L6, que também recebeu madeira

queimada mais pré-tratada no dispositivo ultrassônico, a atividade antioxidante já apresentou acréscimo a partir do 7º dia, pelos três métodos utilizados (Tabela 4.4).

Tabela 4.4. Resultados de atividade antioxidante pelos métodos FRAP, DPPH e ABTS em  $\mu\text{mol TE/L}$ 

LICORES								
Análises	Dias	Controle S/M	Sem tratamento		Banho US		Sonda US	
		L1	L2 (MQ)	L3 (MSQ)	L4 (MQ)	L5 (MSQ)	L6 (MQ)	L7 (MSQ)
FRAP	1	295,59 <sup>eA</sup> ± 13,80	371,18 <sup>cdE</sup> ± 19,80	425,51 <sup>abE</sup> ± 31,87	348,24 <sup>df</sup> ± 13,53	395,59 <sup>bcd</sup> ± 30,56	359,12 <sup>de</sup> ± 15,41	430,88 <sup>ac</sup> ± 17,35
	7	262,94 <sup>eb</sup> ± 19,09	446,76 <sup>dj</sup> ± 26,78	487,35 <sup>cl</sup> ± 14,74	422,65 <sup>de</sup> ± 28,00	516,47 <sup>ce</sup> ± 18,24	563,24 <sup>bl</sup> ± 38,80	652,35 <sup>ad</sup> ± 12,56
	14	227,94 <sup>ec</sup> ± 15,29	495,29 <sup>dc</sup> ± 39,06	592,35 <sup>bcc</sup> ± 20,62	457,94 <sup>dj</sup> ± 18,41	548,82 <sup>cl</sup> ± 5,22	598,53 <sup>bl</sup> ± 21,40	773,24 <sup>ac</sup> ± 67,74
	30	204,12 <sup>el</sup> ± 7,53	525,00 <sup>dc</sup> ± 16,99	619,12 <sup>cc</sup> ± 49,06	504,12 <sup>dc</sup> ± 10,18	581,76 <sup>cc</sup> ± 18,81	664,71 <sup>bc</sup> ± 28,34	800,59 <sup>ac</sup> ± 25,06
	60	203,03 <sup>ed</sup> ± 10,71	705,88 <sup>db</sup> ± 20,17	839,41 <sup>bb</sup> ± 24,18	618,82 <sup>fb</sup> ± 12,41	745,88 <sup>cb</sup> ± 20,42	772,66 <sup>cb</sup> ± 17,62	1081,76 <sup>ab</sup> ± 36,97
	90	213,60 <sup>elj</sup> ± 8,84	760,59 <sup>da</sup> ± 34,80	1000,59 <sup>ba</sup> ± 29,71	715,29 <sup>da</sup> ± 35,58	881,18 <sup>ca</sup> ± 24,13	915,00 <sup>ca</sup> ± 23,81	1214,88 <sup>aa</sup> ± 79,73
DPPH	1	190,92 <sup>ca</sup> ± 9,08	191,75 <sup>ct</sup> ± 8,49	219,65 <sup>bf</sup> ± 10,39	185,92 <sup>cc</sup> ± 10,23	222,58 <sup>bt</sup> ± 12,36	187,54 <sup>ct</sup> ± 7,75	238,48 <sup>at</sup> ± 9,61
	7	152,33 <sup>eb</sup> ± 5,18	228,50 <sup>cl</sup> ± 4,20	266,47 <sup>be</sup> ± 29,85	187,33 <sup>dc</sup> ± 5,50	261,89 <sup>bt</sup> ± 29,78	217,72 <sup>ct</sup> ± 21,32	351,89 <sup>at</sup> ± 7,07
	14	134,25 <sup>ic</sup> ± 3,60	228,17 <sup>el</sup> ± 1,57	335,58 <sup>bl</sup> ± 16,57	222,08 <sup>eb</sup> ± 22,04	306,89 <sup>cl</sup> ± 16,61	259,39 <sup>dj</sup> ± 16,13	467,31 <sup>ad</sup> ± 25,51
	30	131,25 <sup>ec</sup> ± 7,07	246,75 <sup>dc</sup> ± 20,06	394,67 <sup>bc</sup> ± 42,05	240,92 <sup>db</sup> ± 28,72	375,08 <sup>bc</sup> ± 20,15	312,33 <sup>cc</sup> ± 5,50	536,33 <sup>ac</sup> ± 12,91
	60	120,50 <sup>lu</sup> ± 6,13	291,75 <sup>eb</sup> ± 13,43	491,75 <sup>bb</sup> ± 18,82	302,17 <sup>ea</sup> ± 13,23	415,92 <sup>cb</sup> ± 12,57	356,75 <sup>db</sup> ± 17,39	685,92 <sup>ab</sup> ± 24,35
	90	159,60 <sup>lb</sup> ± 3,44	329,67 <sup>ea</sup> ± 5,16	534,67 <sup>ba</sup> ± 9,36	320,50 <sup>ea</sup> ± 13,15	508,83 <sup>ca</sup> ± 2,85	409,67 <sup>da</sup> ± 29,73	745,92 <sup>aa</sup> ± 20,95
ABTS	1	448,00 <sup>ea</sup> ± 55,16	654,58 <sup>ac</sup> ± 24,82	602,79 <sup>bct</sup> ± 27,97	557,77 <sup>cdj</sup> ± 9,65	612,43 <sup>abt</sup> ± 46,19	517,43 <sup>de</sup> ± 5,26	614,04 <sup>bt</sup> ± 18,93
	7	348,17 <sup>fb</sup> ± 40,10	614,04 <sup>dc</sup> ± 45,47	768,38 <sup>be</sup> ± 26,25	536,65 <sup>ed</sup> ± 31,94	704,07 <sup>cd</sup> ± 63,88	618,87 <sup>dj</sup> ± 31,23	924,65 <sup>ae</sup> ± 18,45
	14	377,43 <sup>eb</sup> ± 28,60	617,21 <sup>dc</sup> ± 38,93	882,32 <sup>bl</sup> ± 15,12	687,10 <sup>cc</sup> ± 27,97	832,38 <sup>bc</sup> ± 40,99	825,31 <sup>bc</sup> ± 46,64	1212,59 <sup>ad</sup> ± 90,08
	30	388,11 <sup>eb</sup> ± 15,10	791,69 <sup>dab</sup> ± 50,32	1164,59 <sup>bc</sup> ± 26,20	796,07 <sup>db</sup> ± 21,83	1072,39 <sup>cb</sup> ± 73,95	1014,57 <sup>cb</sup> ± 16,97	1372,26 <sup>ac</sup> ± 50,90
	60	386,33 <sup>fb</sup> ± 38,92	749,56 <sup>eb</sup> ± 56,55	1236,63 <sup>bb</sup> ± 84,89	798,65 <sup>eb</sup> ± 30,31	1142,98 <sup>cb</sup> ± 53,31	1032,03 <sup>db</sup> ± 29,39	1530,49 <sup>ab</sup> ± 50,73
	90	400,71 <sup>ea</sup> ± 32,88	856,35 <sup>da</sup> ± 39,19	1384,04 <sup>ba</sup> ± 23,35	885,19 <sup>da</sup> ± 32,14	1331,13 <sup>ba</sup> ± 75,92	1096,82 <sup>ca</sup> ± 18,06	1753,29 <sup>aa</sup> ± 94,49

Nota1 : US = Ultrassom; S/M = sem madeira

Nota 2: Resultados expressos com média ± desvio padrão. Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) de acordo com o teste de Fisher LSD.

Nota 3: Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) de acordo com o teste de Fisher LSD.

Nota 4: L1 = Licor controle (sem madeira); L2 = Licor com chips MQ sem tratamento US; L3 = Licor com chips MSQ sem tratamento US; L4 = Licor com chips MQ com tratamento Banho US; L5 = Licor com chips MSQ com tratamento Banho US; L6 = Licor com chips MQ com tratamento Sonda US; L7 = Licor com chips MSQ com tratamento Sonda US

Nota 5: MQ = madeira queimada ; MSQ = madeira sem queima

Com apenas um dia de contato com a madeira, todos os licores já demonstraram incorporação de compostos fenólicos, principalmente análises de FRAP e ABTS, com diferenças significativas entre todos os licores.

Os licores que receberam *chips* de madeira sem queima (L3, L5 e L7), apresentaram os maiores valores nos três experimentos (*chips* sem tratamento, com banho US e com sonda US), ao final de 90 dias, nas três diferentes metodologias de análise de atividade antioxidante.

Avaliando o tipo de madeira utilizada (com queima e sem queima), houve diferenças significativas entre os experimentos. Na análise de DPPH, o licor L3 apresentou resultado 62% a mais do que L2, ou seja, o licor que recebeu madeira sem queima contribuiu com compostos fenólicos com maior capacidade antioxidante do que com o que recebeu madeira queimada. Esse comportamento se repete com os Licores 7 e 6, que receberam os *chips* sem queima e com queima pré-trados com sonda US, onde o resultado do L7 foi superior em 82% sobre L6. Já nos licores L5 e L4, onde os *chips* foram pré-trados no banho US, essa diferença caiu para 59%.

Kanaki et al. (2015) pesquisaram contribuição fenólica de *chips* de carvalho sem queima, com queima média e queima forte, em solução modelo de vinho, com 45 dias de maceração, e encontraram resultados com mesmo comportamento. Concluíram que o processo de queima degrada compostos nativos do carvalho, principalmente taninos hidrolizáveis (granidina, roburina E, vescalagin e castalagin), que apresentam poder antioxidante mais elevado do que os compostos fenólicos oriundos da degradação da lignina (vanilina, ácido vanílico, ácido siríngico, siringaldeído), quando a madeira é submetida a queima. Os experimentos que utilizaram *chips* sem queima apresentaram resultados de atividade antioxidante (DPPH) superior a 90% com relação aos que utilizaram *chips* com queima média e forte.

Com relação ao pré-tratamento dos *chips* de madeira, a aplicação de sonda US foi mais potente que o banho US. Os resultados obtidos para atividade antioxidante dos licores, demonstraram o impacto dos pré-tratamentos nos *chips* com relação ao processo de extração dos compostos da madeira para a bebida. Em geral, o tratamento com sonda US, acrescentou entre 24 e 29% aos resultados de atividade antioxidante, nos licores com madeira queimada e com madeira sem

queima, respectivamente, ao final dos 90 dias, comparando com os licores que receberam *chips* sem tratamento.

O pré-tratamento com banho US não apresentou diferença significativa aos licores L2 e L4, ambos utilizaram madeira com queima, onde no L2 os *chips* não receberam pré-tratamento e no L4 os *chips* foram tratados. Já aos licores que receberam madeira sem queima, L3 e L5, onde no L3 os *chips* não receberam pré-tratamento e no L5 os *chips* foram tratados houve redução de 12%, na metodologia FRAP e 4,8%, na metodologia DPPH, mas sem diferença significativa na metodologia ABTS.

Todos os licores que receberam *chips* de madeira, ao final de 90 dias, obtiveram acréscimo à atividade antioxidante, quando comparados com o L1. Os maiores valores obtidos para atividade antioxidante foi no L7 (Tabela 4.4), que recebeu *chips* de madeira sem queima pré-tratadas com sonda US, foi de 5,7 vezes superior por FRAP; 4,7 vezes superior por DPPH e superior 4,4 vezes por ABTS, quando comparados ao L1.

O segundo licor que mais teve acréscimo de atividade antioxidante foi o L3, que recebeu *chips* de madeira sem queima e sem tratamento prévio, com acréscimo médio (nos três métodos) de 3,80 vezes superior ao L1.

Os resultados de atividade antioxidante dos licores, estão fortemente correlacionados com os resultados de fenóis totais (Tabela 4.3) (FRAP:  $r=0,9823$ ,  $p<0,001$ ; DPPH:  $r=0,9253$ ,  $p<0,001$ ; ABTS:  $r=0,9460$ ,  $p<0,001$ ). Segundo Haminiuk et al. (2012), o teor de compostos fenólicos pode ser correlacionado diretamente com a atividade antioxidante da matriz estudada, conforme maior o teor fenólico, maior a ação antioxidante dos compostos.

A evolução dos resultados de atividade antioxidante (Tabela 4.4), entre 1 e 90 dias de cada licor, observa-se que ao final do período, a maioria dos licores apresentavam diferença significativa com relação ao tempo de 60 dias, ou seja, o processo de extração de compostos fenólicos ainda não havia cessado, da mesma forma como nos resultados de fenóis totais (Tabela 4.3).



### 4.3.3 Parâmetros de Cor

Na Tabela 4.5 podem ser observados os dados obtidos para os parâmetros  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , seguido dos cálculos para ângulo Hue ( $^\circ h$ ), Chroma ( $C^*$ ), assim como a diferença total de cor com o  $\Delta E$ .

**Tabela 4.5. Resultados dos parâmetros de cor para os licores de maçã**

Parâmetros cor	LICORES						
	Controle S/M	Sem tratamento		Banho US		Sonda US	
	L1	L2 (MQ)	L3 (MSQ)	L4 (MQ)	L5 (MSQ)	L6 (MQ)	L7 (MSQ)
$L^*$	97,22 <sup>a</sup> ±0,12	96,27 <sup>b</sup> ±0,02	95,85 <sup>e</sup> ±0,04	96,35 <sup>b</sup> ±0,01	96,11 <sup>c</sup> ±0,06	95,97 <sup>d</sup> ±0,07	95,14 <sup>f</sup> ±0,03
$\Delta L^*$		-0,95	-1,37	-0,87	-1,11	-1,25	-2,08
$a^*$	-5,63 <sup>f</sup> ±0,00	-5,41 <sup>c</sup> ±0,00	-5,59 <sup>e</sup> ±0,00	-5,41 <sup>c</sup> ±0,00	-5,46 <sup>d</sup> ±0,01	-5,33 <sup>b</sup> ±0,02	-5,07 <sup>a</sup> ±0,00
$\Delta a^*$		0,22	0,04	0,22	0,17	0,30	0,56
$b^*$	25,18 <sup>f</sup> ±0,45	29,36 <sup>d</sup> ±0,05	31,02 <sup>b</sup> ±0,11	28,84 <sup>e</sup> ±0,03	29,12 <sup>de</sup> ±0,25	30,58 <sup>c</sup> ±0,2	31,87 <sup>a</sup> ±0,04
$\Delta b^*$		4,18	5,84	3,66	3,94	5,40	6,69
$\Delta E$		4,29	6,00	3,77	4,10	5,55	7,03
$C^*$	25,80 <sup>f</sup> ±0,44	29,85 <sup>d</sup> ±0,05	31,52 <sup>b</sup> ±0,11	29,34 <sup>e</sup> ±0,03	29,62 <sup>de</sup> ±0,25	31,04 <sup>c</sup> ±0,19	32,27 <sup>a</sup> ±0,04
$^\circ h$	102,6 <sup>a</sup> ±0,23	100,4 <sup>c</sup> ±0,01	100,2 <sup>d</sup> ±0,04	100,6 <sup>bc</sup> ±0,00	100,6 <sup>b</sup> ±0,11	99,89 <sup>a</sup> ±0,1	99,03 <sup>f</sup> ±0,02

Nota 1: Resultados expressos com média  $\pm$  desvio padrão. Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferença significativa ( $p < 0,05$ ) de acordo com o teste de Fisher LSD

Nota 2: L1 = Licor controle (sem madeira); L2 = Licor com chips MQ sem tratamento US; L3 = Licor com chips MSQ sem tratamento US; L4 = Licor com chips MQ com tratamento Banho US; L5 = Licor com chips MSQ com tratamento Banho US; L6 = Licor com chips MQ com tratamento Sonda US; L7 = Licor com chips MSQ com tratamento Sonda US

Nota 3 : US = Ultrassom; S/M = sem madeira; MQ = madeira queimada ; MSQ = madeira sem queima

Analisando a diferença total de cor ( $\Delta E$ ) nos licores, percebe-se que os licores L7 e L3, que receberam *chips* sem queima, apresentaram maior diferença de cor, com 7,03 e 6,00, respectivamente.

A presença dos *chips* de madeira contribuíram com o decréscimo de luminosidade ( $L^*$ ) em todos os licores, quando comparados com licor 1, que não recebeu os *chips*. Balcerek et al. (2017) também evidenciou o decréscimo de  $L^*$  com a presença de *chips* de carvalho francês, durante um ano em destilado de ameixa.

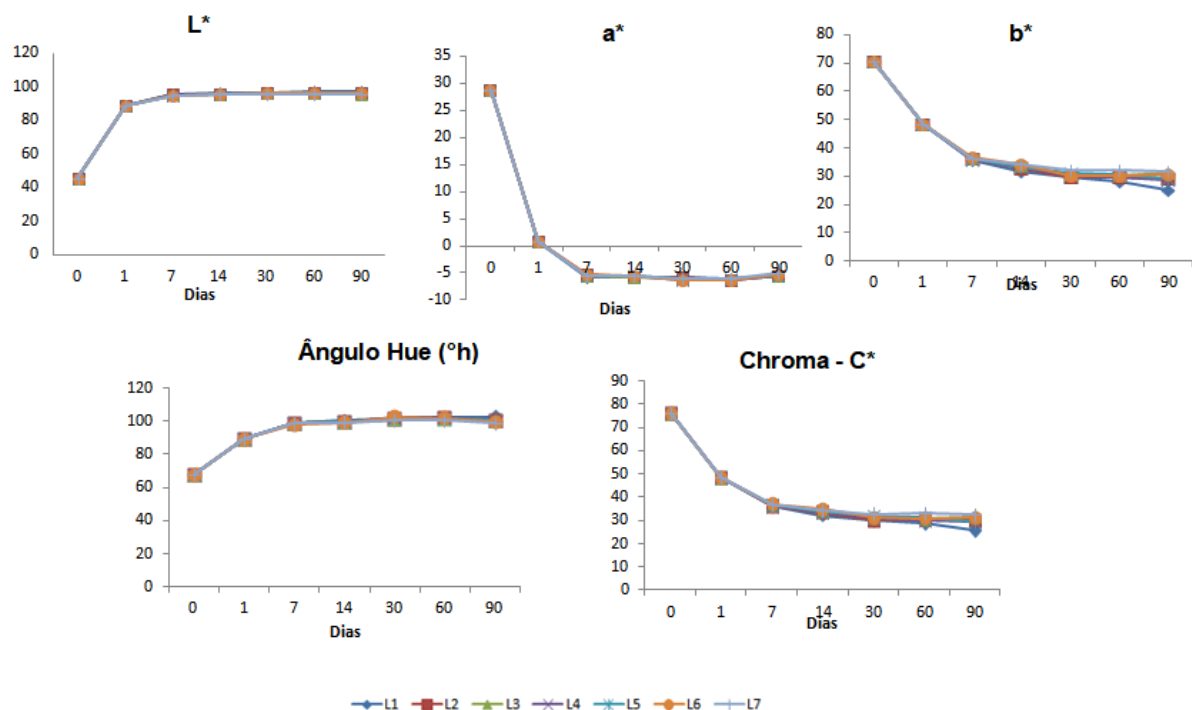
Entre os licores L2 e L4, ambos receberam *chips* de madeira queimada, sem tratamento e com tratamento com banho US, respectivamente, não apresentaram diferença significativa entre os parâmetros  $L^*$ ,  $a^*$  e  $^\circ h$ .

O licor L7 também apresentou maior valor de Chroma de 32,27, ou seja, maior saturação da cor e menor ângulo Hue de 99,03, incrementando mais a cor amarela. Também apresentou o menos índice de Luminosidade  $L^*$  com 95,14, maior

valor de  $a^*$  -5,07 e maior valor de  $b^*$  com 31,87. Em todos os parâmetros, foi o que apresentou maior diferença significativa com o licor controle L1.

Os parâmetros cromáticos são indicadores de qualidade em bebidas alcoólicas envelhecidas. O incremento na intensidade de cor ( $C^*$ ), do espectro vermelho ( $a^*$ ) e do espectro amarelo ( $b^*$ ), assim como a redução de luminosidade ( $L^*$ ) e ângulo Hue ( $h^\circ$ ), são resultados esperados em bebidas destiladas envelhecidas em contato com a madeira (SCHWARZ et al., 2011). Todos os resultados obtidos dos parâmetros de cor no experimento com os licores (Tabela 4.5), apresentaram esse comportamento.

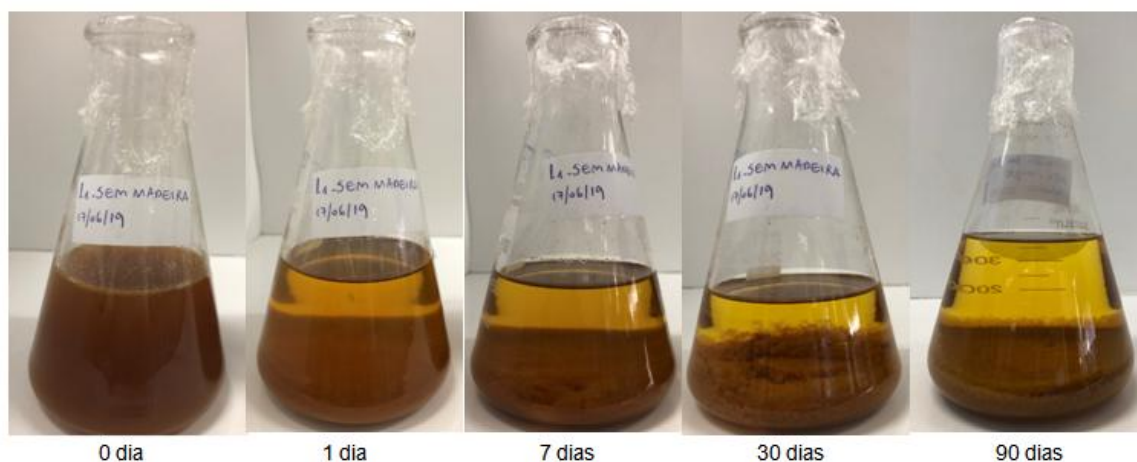
**Figura 4.4. Evolução dos parâmetros de cor**



Nota: L1 = Licor controle (sem madeira); L2 = Licor com chips MQ sem tratamento US; L3 = Licor com chips MSQ sem tratamento US; L4 = Licor com chips MQ com tratamento Banho US; L5 = Licor com chips MSQ com tratamento Banho US; L6 = Licor com chips MQ com tratamento Sonda US; L7 = Licor com chips MSQ com tratamento Sonda US

A Figura 4.4. demonstra a evolução dos parâmetros de cor ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $h^\circ$  e  $C^*$ ) de 0 a 90 dias para os sete licores testados. O gráfico de  $L^*$  mostra uma evolução da Luminosidade dos licores de forma similar e significativa até o sétimo dia. Essa informação pode ser visualizada pela imagem da Figura 4.5, corroborando com o dado analítico.

**Figura 4.5. Evolução da aparência do L1**



Fonte: A autora

Nota: L1= licor controle (sem madeira)

Em termos tecnológicos, o processo mais intenso de clarificação ocorreu durante os primeiros 14 dias e permaneceu inalterado até o final dos 90 dias, no L1 (Figura 4.5).

#### 4.3.4 Compostos fenólicos individuais

Após 90 dias do contato dos licores de maçã com os *chips* de madeira, alguns compostos fenólicos foram identificados e quantificados (Tabela 4.6).

**Tabela 4.6. Resultados dos compostos fenólicos individuais**

Licores	Compostos Fenólicos, mg/L				
	Ácido clorogênico	Ácido gálico	Ácido siríngico	Vanilina	Siringaldeído
L1	11,65 <sup>d</sup> ± 0,19	-	-	-	-
L2	13,13 <sup>b</sup> ± 0,14	-	40,38 <sup>a</sup> ± 1,78	10,74 <sup>a</sup> ± 1,60	70,32 <sup>b</sup> ± 2,95
L3	12,17 <sup>cd</sup> ± 0,05	31,91 <sup>b</sup> ± 0,31	-	-	-
L4	12,41 <sup>c</sup> ± 0,06	-	25,99 <sup>c</sup> ± 0,57	8,91 <sup>ab</sup> ± 0,88	56,44 <sup>c</sup> ± 0,79
L5	12,14 <sup>cd</sup> ± 0,06	22,57 <sup>c</sup> ± 0,11	-	-	-
L6	12,53 <sup>c</sup> ± 0,03	-	36,78 <sup>b</sup> ± 0,07	7,56 <sup>b</sup> ± 0,06	77,20 <sup>a</sup> ± 0,21
L7	13,95 <sup>a</sup> ± 0,83	40,75 <sup>a</sup> ± 1,15	-	-	-

Nota1: Resultados expressos com média ± desvio padrão. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) de acordo com o teste de Fisher LSD

Nota 2: "-": não foi detectado

Nota 3: L1 = Licor controle (sem madeira); L2 = Licor com chips MQ sem tratamento US; L3 = Licor com chips MSQ sem tratamento US; L4 = Licor com chips MQ com tratamento Banho US; L5 = Licor com chips MSQ com tratamento Banho US; L6 = Licor com chips MQ com tratamento Sonda US; L7 = Licor com chips MSQ com tratamento Sonda US

Nota 4: US = Ultrassom; MQ = madeira queimada; MSQ = madeira sem queima

O ácido clorogênico é um composto fenólico encontrado na maçã e produtos derivados. As quantidades variaram entre 11,65 a 13,95 mg/L, sem diferença significativa nos L3, L4, L5 e L6. O licor L7, que recebeu *chips* sem queima e tratado com sonda US apresentou a maior quantidade de ácido clorogênico, ao final dos 90 dias, assim como também apresentou a maior atividade antioxidante.

Nos licores testados que utilizaram madeira com queima, L2, L4 e L6, foi possível identificar os compostos vanilina, ácido siríngico e siringaldeído (Tabela 4.6). Esses compostos são considerados marcadores de envelhecimento, derivados da lignina. Cerniserv (2017) resume os mecanismos que envolvem as principais alterações da lignina, começando pela degradação térmica, na prática da tanoaria, seguido de alterações bioquímicas por processo de hidroetanólise quando a madeira entra em contato com a bebida alcoólica, com liberação de monômeros que são sucessivamente oxidados a aldeídos aromáticos e seus ácidos.

Foi obtida um medida do composto siringaldeído de 77,20 mg/L no L6, superior nos demais licores. O licor L6, recebeu *chips* tratados na sonda US, corrobora com as referências bibliográficas (CHEMAT et al., 2017b) que citam o aumento nos processos extrativos quando matrizes vegetais são submetidos ao dispositivo ultrassônico. Os compostos ácido siríngico e vanilina não seguiram o mesmo comportamento.

Os compostos vanilina e ácido siríngico foram superiores no L2, que receberam *chips* que não foram tratados previamente. Os resultados foram de 10,74 mg/L para vanilina e 40,38mg/L de ácido siríngico.

Nos licores testados que utilizaram madeira sem queima, L3, L5 e L7, o ácido gálico foi o composto identificado. Segundo Zhang et al. (2015), quando a madeira é submetida a queima esse composto, que é derivado de taninos hidrolizáveis, tem suas estruturas comprometidas. A ausência dos compostos vanilina, ácido siríngico e siringaldeído, também é coerente porque a madeira utilizada não foi submetida a altas temperaturas.

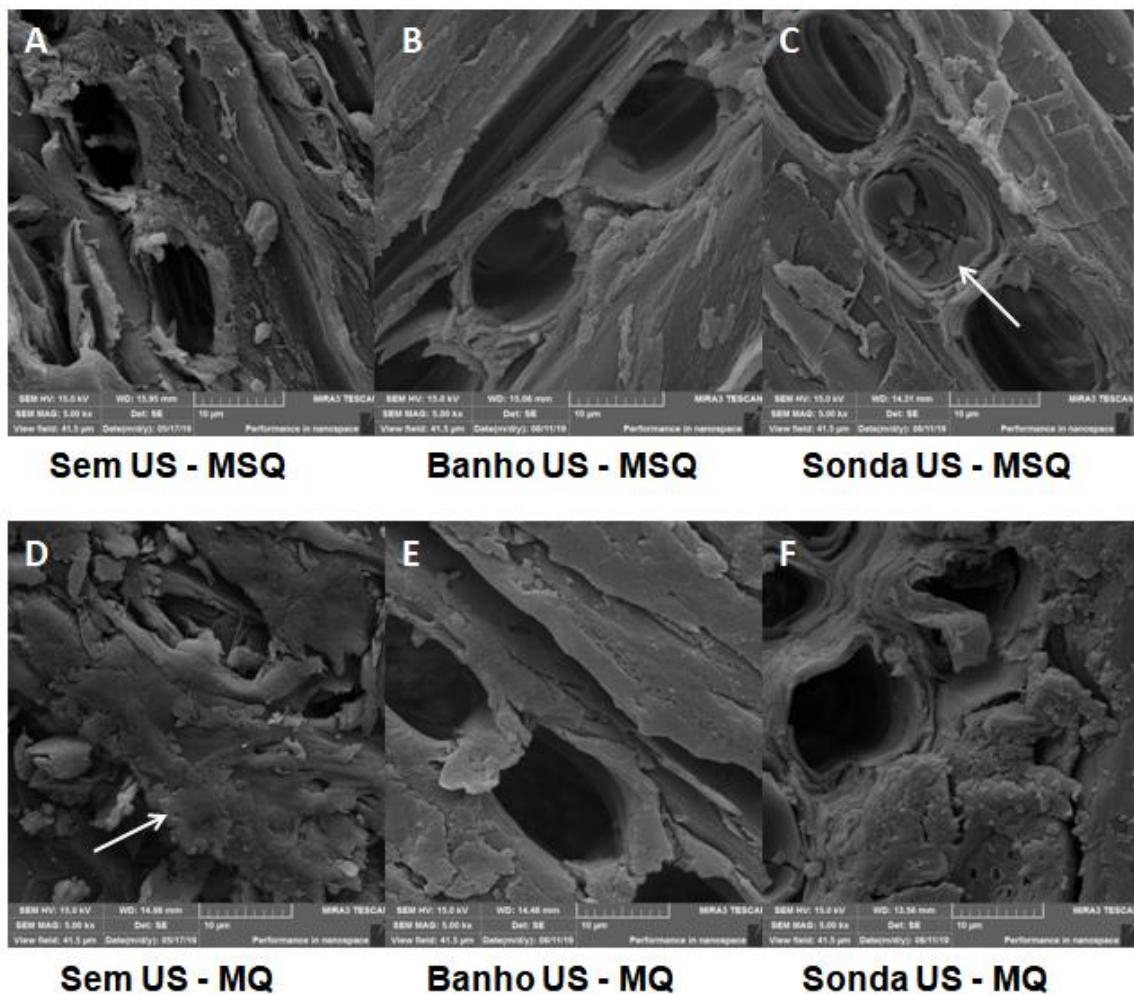
O maior resultado de ácido gálico foi no L7, com 40,75 mg/L, que recebeu *chips* de madeira tratados com sonda US, considerado tratamento mais potente. Seguido de 31,91 mg/L no L3, que recebeu *chips* sem tratamento e por final 22,57 mg/L no L5, que recebeu *chips* tratados em banho US. Esses resultados tem comportamento similar aos resultados obtidos de fenóis totais, onde os licores que

receberam chips tratados no banho US, obtiveram menor extração de compostos da madeira.

#### 4.3.5 Imagens por Microscopia Eletrônica de Varredura

As imagens obtidas na microscopia eletrônica, Figura 4.6, demonstram ação do ultrassom sobre parede celular dos chips de madeira, corroborando de forma qualitativa, com os resultados quantitativos das análises de determinação de fenóis totais, do aumento da extração de compostos fenólicos, quando comparado com dos *chips* sem tratamento ultrassônico.

**Figura 4.6. Imagens Microscopia Eletrônica de Varredura antes e após tratamento ultrassônico**



Nota 1: Ampliação 5000x. US – ultrassom; MQ – madeira queimada; MSQ – madeira sem queima.  
 Nota 2: A: MSQ sem tratamento; B:MSQ após tratamento em banho US; C: MSQ após tratamento em sonda US;  
 D: MQ sem tratamento; E: MQ após tratamento em banho US; F: MQ após tratamento em sonda US

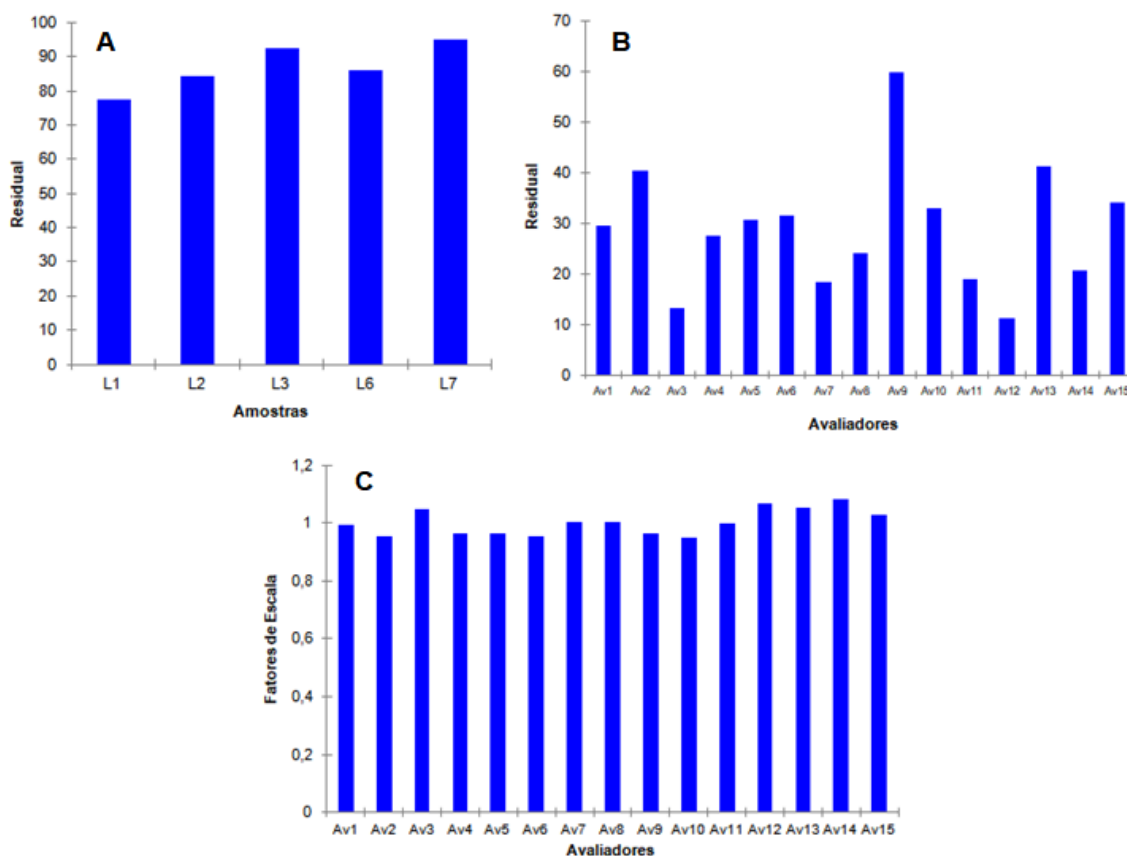
As imagens da madeira queimada (D) mostram maior compactação (ver local com seta) das estruturas celulares, se comparado com imagem da madeira sem queima (A). Após tratamento em banho US as estruturas são liberadas de material depositado, como mostra imagens (B) e (E). Na madeira sem queima essa compactação é menor e após tratamento de US, principalmente com sonda (C), demonstra dilaceração da parede celular da madeira (ver local com seta), facilitando processo de extração de compostos presentes. O que corrobora com os resultados mais significativos de fenóis totais e atividade antioxidante do licor L7 que recebeu *chips* de madeira pré-tratado no dispositivo ultrassônico, equivalente a imagem C.

#### 4.3.6 Análise Sensorial dos licores após envelhecimento

##### 4.3.6.1 Avaliação de desempenho dos julgadores na ADO

Para verificar a confiabilidade da equipe de julgadores, foram observados os gráficos de resíduo por objeto (amostras), resíduo por configuração (avaliadores) e fatores de escalonamento, obtidos por Análise Procrustes Generalizada (APG) dos dados obtido na ADO (Figura 4.7).

**Figura 4.7. Análise de desempenho dos avaliadores na ADO**



Nota: A – Gráfico de Resíduos por amostra; B – Gráfico de Resíduos por Avaliador; C – Gráfico de Fator de Escala

Na análise dos resíduos por amostra, avalia-se o percentual de erros por amostra, quanto menor o valor mais consenso dos avaliadores por amostra. Segundo o gráfico A, que mostra os resíduos por amostra, não houve discrepância de avaliação entre as cinco amostras, a variação entre elas foi menor de 20 pontos, ou seja, houve consenso dos avaliadores sobre cada amostra.

A análise dos resíduos por avaliador, gráfico B, mostra valores considerados baixos, que por definição quer dizer bom consenso do avaliador comparando com os demais. Os avaliadores 2, 9 e 13, apresentaram valores maiores, ou seja, suas avaliações discordaram com os demais, mas estatisticamente não afetaram a avaliação geral e não foram retirados na análise.

O gráfico C, mostra resultados próximos de 1,0 de todos os avaliadores, ou seja, que usam a escala de forma coerente e semelhante com o que foi proposto.

Com a análise destes 3 gráficos, obtida da APG, a configuração geral do grupo de avaliadores selecionados se mostrou apto e com desempenho satisfatório,

com baixos resíduos e comportamento consensual semelhante, contribuindo com a confiabilidade aos dados obtidos.

#### 4.3.6.2 Caracterização dos licores de maçã pela análise descritiva ordenativa (ADO)

Os dados obtidos na ADO foram tratados pelo teste de Friedman, para verificar diferenças significativas entre amostras para cada descritor, conforme Tabela 4.7.

**Tabela 4.7. Caracterização dos licores na ADO**

Descritores	Amostras				
	L1	L2	L3	L6	L7
Turbidez	110,5 <sup>C</sup>	106 <sup>C</sup>	83,5 <sup>C</sup>	56,5 <sup>AB</sup>	48,5 <sup>A</sup>
Cor	207 <sup>C</sup>	190,5 <sup>C</sup>	130,5 <sup>B</sup>	82 <sup>A</sup>	65 <sup>A</sup>
Odor Álcool	112,5 <sup>A</sup>	121 <sup>A</sup>	128,5 <sup>A</sup>	135,5 <sup>A</sup>	177,5 <sup>B</sup>
Odor Amadeirado	194,5 <sup>C</sup>	158,5 <sup>BC</sup>	141 <sup>B</sup>	86 <sup>A</sup>	95 <sup>A</sup>
Odor Frutado	103,5 <sup>A</sup>	110 <sup>A</sup>	130,5 <sup>AB</sup>	170,5 <sup>B</sup>	160,5 <sup>B</sup>
Sabor Doce	161 <sup>B</sup>	138 <sup>AB</sup>	124,5 <sup>AB</sup>	114 <sup>A</sup>	122,5 <sup>AB</sup>
Sabor Alcoólico	115 <sup>A</sup>	125,5 <sup>A</sup>	136 <sup>A</sup>	145 <sup>A</sup>	153,5 <sup>A</sup>
Sabor Amadeirado	193 <sup>B</sup>	168 <sup>B</sup>	152,5 <sup>B</sup>	84,5 <sup>A</sup>	77 <sup>A</sup>
Sabor Frutado	89,5 <sup>A</sup>	99 <sup>A</sup>	122 <sup>A</sup>	175,5 <sup>B</sup>	189 <sup>B</sup>
Residual Amargo	127,5 <sup>A</sup>	131 <sup>A</sup>	134 <sup>A</sup>	127 <sup>A</sup>	155,5 <sup>A</sup>
Residual Amadeirado	185 <sup>C</sup>	166 <sup>BC</sup>	144 <sup>B</sup>	100 <sup>A</sup>	80 <sup>A</sup>
Preferência	172 <sup>B</sup>	150,5 <sup>AB</sup>	144 <sup>A</sup>	120,5 <sup>A</sup>	112,5 <sup>A</sup>

Nota 1: Soma dos valores de ordenação para 45 respostas

Nota 2: Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ( $p \leq 0,05$ )

Nota 3: L1 = Licor controle (sem madeira); L2 = Licor com chips MQ sem tratamento US; L3 = Licor com chips MSQ sem tratamento US; L6 = Licor com chips MQ com tratamento US; L7 = Licor com chips MSQ com tratamento US

Nota 4: US = Ultrassom; MQ = madeira queimada; MSQ = madeira sem queima

A turbidez percebida foi superior nos L6 e L7 e sem diferença nos demais. Estes licores receberam madeira MQ e MSQ, respectivamente, pré-tratadas por sonda ultrassônica, que corrobora com os resultados do parâmetro L\* (luminosidade), que foram inferiores aos demais, ou seja, há migração mais intensa de compostos da madeira para o licor devido ao pré-tratamento.

A cor, também foi um atributo percebido de forma mais intensa nos L6 e L7, ambos pertencendo ao grupo A, seguido pelo L3, no grupo B e posteriormente pelo L2 e L1, no grupo C.

O odor alcoólico foi inferior no L7 e nos demais não houve diferença. Isso é devido a proeminência do odor amadeirado que foi superior no L6 e L7. De forma



contrária, o odor frutado foi preponderante nos L1, L2 e L3, onde o L1, que era o licor controle – sem madeira, o L2 e o L3, receberam madeiras MQ e MSQ, mas sem pré-tratamento.

Quanto ao sabor doce, apesar da formulação ser a mesma para todos os licores, houve percepção de maior intensidade do doce no L6 seguido do L7, L3, L2 e por último o L1. Esse resultado sensorial não corrobora com a análise físico-química de quantificação de açúcar após 90 dias, onde houve maior aumento do teor de açúcar nos licores L2 e L3, seguido dos licores L6 e L7.

O sabor amadeirado nos L7 e L6, foram percebidos de forma significativa diferenciando dos demais avaliados. Inversamente ao sabor frutado, que foi percebido de forma mais intensa nos L1, L2 e L3 e menos nos L6 e L7.

O residual amadeirado, assim como o sabor amadeirado, também foram proeminentes nos L7 e L6 e menor nos L3, L2 e L1.

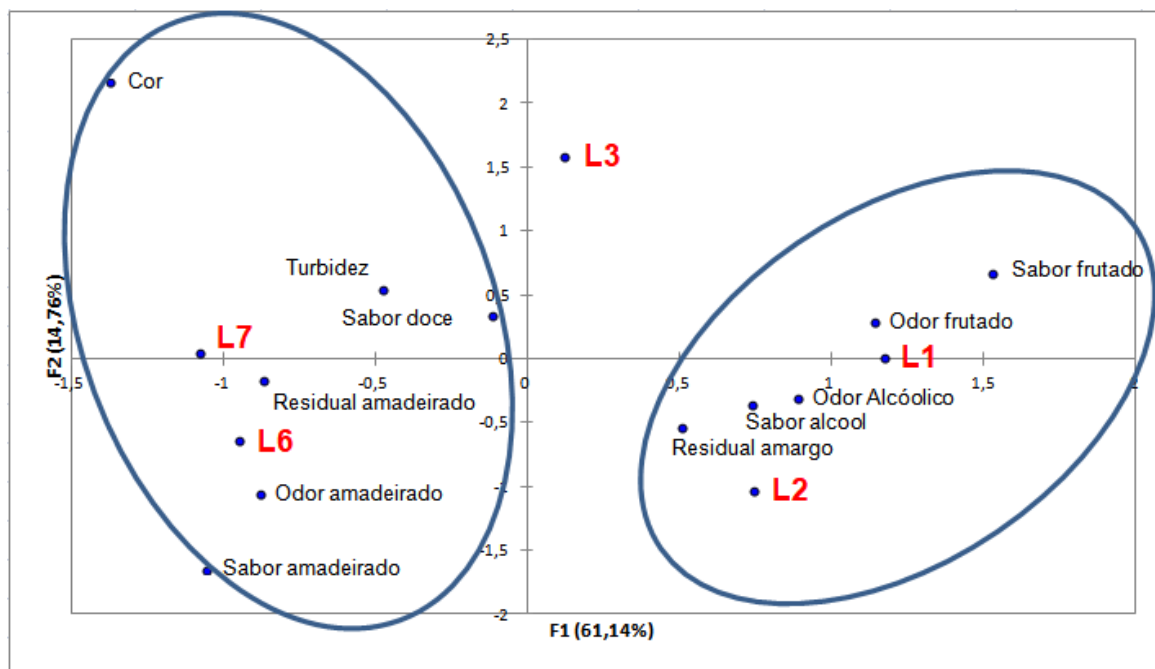
Entre os licores não houve diferença significativa para os descritores Residual amargo e Sabor alcoólico.

Com relação a preferência dos licores, o licor L7 recebeu menor nota, ou seja, em primeiro lugar, seguido do L6, L3, L2 e por último o L1 (Tabela 4.7). Em termos de diferença, apenas o L1 ficou no grupo B, os demais não apresentaram diferença significativa e permaneceram no grupo A, de maior preferência. Ou seja, os licores que receberam *chips* de madeira, apresentaram maior preferência quando comparado ao licor que não recebeu.

#### 4.3.6.3 *Análise de Componente Principal (ACP)*

Com os dados obtidos após análise estatística por APG, um gráfico de Análise de Componente Principal foi plotado (Figura 4.8), correlacionando as cinco amostras de licores analisadas com os respectivos atributos mais citados.

Figura 4.8. Análise de Componente Principal (ACP)



Nota 1: L1 = Licor controle (sem madeira); L2 = Licor com chips MQ sem tratamento US; L3 = Licor com chips MSQ sem tratamento US; L6 = Licor com chips MQ com tratamento US; L7 = Licor com chips MSQ com tratamento US  
 Nota 2: US = Ultrassom; MQ = madeira queimada ; MSQ = madeira sem queima

O total da variância acumulada de 75,9%, está explicado no F1(eixo x) com 61,14% e no F2 (eixo Y) com 14,76%. Usando o eixo x como referência observa-se uma divisão bem clara das amostras dos licores e seus respectivos atributos correlacionados.

No lado direito, podem ser observados os licores L1, L2 e L3, com os atributos sabor frutado, odor frutado, odor alcoólico, sabor álcool e residual amargo como principais descritores. No lado esquerdo os L6 e L7, que receberam *chips* de madeira pré-tratados com sonda ultrassônica, com os atributos cor, turbidez, sabor doce, residual amadeirado, odor amadeirado e sabor amadeirado como os descritores mais identificados.

#### 4.4 Conclusão

O pré-tratamento dos *chips* de madeira utilizando dispositivo ultrassônico acelerou o processo de maturação, intensificando o processo de extração de compostos fenólicos da madeira com incorporação significativa de fenóis totais e atividade antioxidante ao licor de maçã, após 90 dias de contato, como também nos parâmetros cromáticos, apresentando as maiores variações de cor e de intensidade.

Sensorialmente, os descritores amadeirados (sabor, odor e residual) foram percebidos com mais intensidade nos licores que recebem *chips* de madeira pré-tratamentos em dispositivo ultrassônico e com as melhores notas de aceitação entre os julgadores.

Quando avaliado o tipo de madeira, os *chips* sem queima contribuíram com maior acréscimo no conteúdo fenólico e atividade antioxidante quando comparado aos *chips* com queima.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando os resultados obtidos nos capítulos 3 e 4, foi desenvolvido um protocolo para fabricação de licor de maçã envelhecido utilizando *chips* de madeira previamente tratados por ultrassom.

Utilizando suco de maçã da cultivar Gala e álcool de cereais 97°GL, foi estabelecido uma formulação para licor de maçã, que consiste de uma parte de suco integral com 13,5° BRIX : 0,27 de álcool de cereais 97°GL : 0,07 de água destilada, com adição de 3,0 mL/hL enzima pectinase, para obtenção de concentração de açúcar residual em 100 g/L e teor alcoólico final de 20°GL.

Adicionar *chips* de madeira de carvalho sem queima, com formato de 1 cm<sup>3</sup>, em dosagem de 5 g/L, pré-tratados com dispositivo ultrassônico, com parâmetros de funcionamento ajustados em 750W de potência, frequência de 20 kHz, amplitude de 90%, temperatura 25°C, durante 1 hora, imersos em solução alcoólica de 20°GL. Utilizando probe de 13 mm.

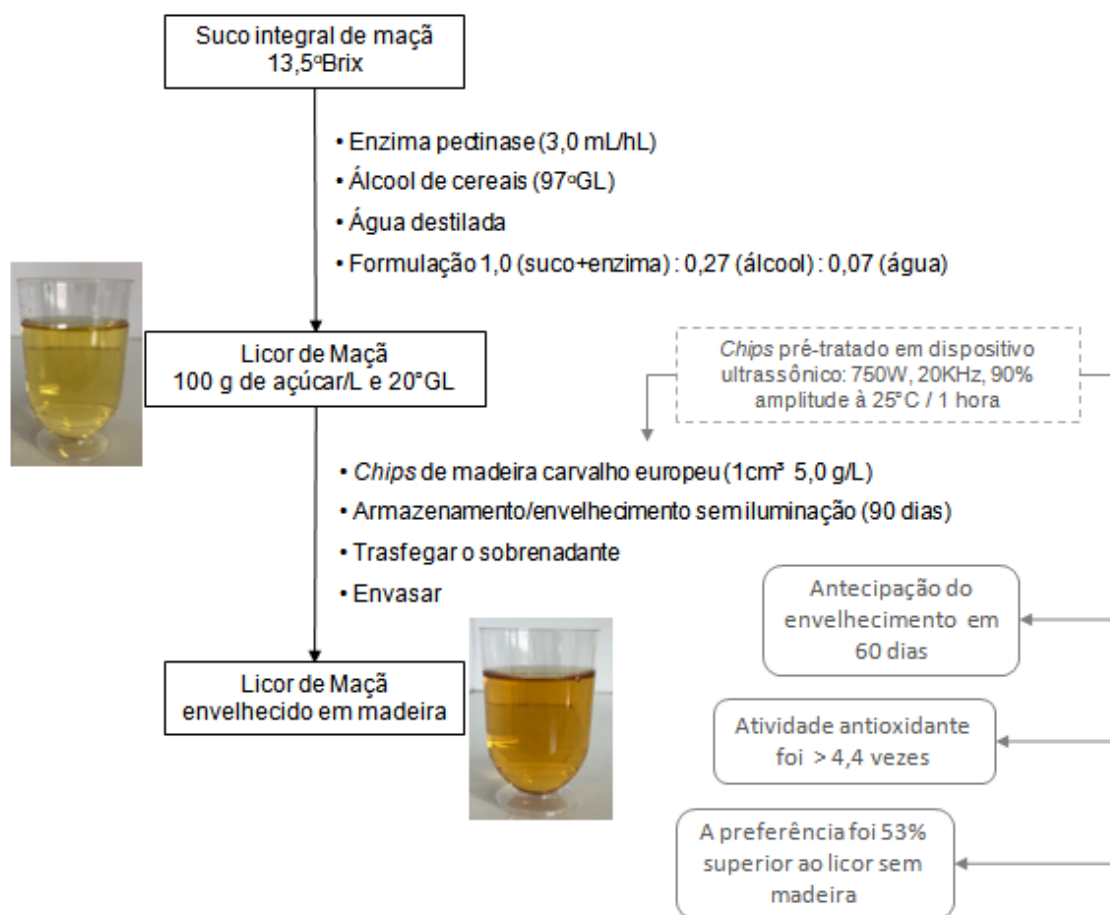
O licor de maçã com *chips* pré-tratados, devem ser mantidos em local ambiente, sem iluminação direta e frasco vedado, durante 90 dias.

Após este período trasfegar a mistura para separar o sobrenadante e remover conteúdo sedimentado no fundo do recipiente, acondicionar em embalagem de vidro (evitar transparente) e manter armazenada em local escuro.

Recomenda-se aumentar o tempo de contato dos *chips* de madeira a mistura do licor por mais 60 dias, caso não haja possibilidade de prévio-tratamento com ultrassom.

O licor de maçã após 30 dias, após trasfega do sobrenadante, também pode ser envasado para consumo. Houve alta aceitabilidade, mesmo sem ser envelhecido com madeira.

O esquema a seguir demonstra de forma ilustrativa as melhores práticas obtidas e resumo do protocolo para obtenção de licor envelhecido de maçã.



## REFERÊNCIAS

ÁLAMO, M. DEL; NEVARES, I.; GALLEGO, L.; DE SIMÓN, B. F.; CADAHÍA, E. Micro-oxygenation strategy depends on origin and size of oak chips or staves during accelerated red wine aging. **Analytica Chimica Acta**, v. 660, p.92–101, 2010.

ALANÓN, M. E.; MARCHANTE, L.; ALARCÓN, M.; DIAZ-MAROTO, I. J.; PÉREZ-COELHO, S.; DIAZ-MAROTO, M. C. Fingerprints of acacia aging treatments by barrels or chips based on volatile profile, sensorial properties, and multivariate analysis. **Journal Science Food Agriculture**, v. 98, p. 5795-5806, 2018.

ALBERTI, A.; ZIELINSKI, A. A. F.; ZARDO, D. M.; MOTTIN, I. D.; NOGUEIRAM A.; MAFRA, G. I. Optimisation of the extraction of phenolic compounds from apples using response surface methodology. **Food Chemistry**, v. 149, p. 151–158, 2014.

ALCARDE, A. R.; SOUZA, L. M.; BORTOLETTO, A. M. Formation of volatile and maturation related congeners during the aging of sugarcane spirit in oak barrels. **Institute of Brewing e Distilling**, v. 120, p. 529-536, 2014.

AQUINO, F. W. B.; NASCIMENTO, R. F.; RODRIGUES, S.; CASEMIRO, A. R. S. Determinação de marcadores de envelhecimento em cachaças. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26 (1), p.145-149, 2006.

ARES, G.; TÁRREGA, A.; IZQUIERDO, L.; JAEGER, S. R. Investigation of the number of consumers necessary to obtain stable sample and descriptor configurations from check-all-that-apply (CATA) questions. **Food Quality and Preference**, v.31, p. 135–141, 2014.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE MAÇÃ. ABPM. Anuário da Maçã – 2018 e 2017. Disponível em: <<http://www.abpm.org.br/anuarios-da-maca>>. Acesso em: 5 de julho 2018.

BALCEREK, M.; PIELECH-PRZYBYLSKA, K.; DZIEKONSKA-KUBCZAK, U.; PATELSKI, P.; STRAK, E. Changes in the chemical composition of plum distillate during maturation with oak chips under different conditions. **Food Technology and Biotechnology**, v. 55 (3), p. 333–359, 2017.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239 (1), p. 70-76, 1996.

BOGDANESCU, D.; BORDEAN, D. M.; POIANA, A. M.; HADARUGA, M.; TATARU, O.; RIVIS, A. Apples and derivated beverages, benefits for health. **Lucrari Stiintifice**, v. 60 (2), p.159-164, 2017.

BOYER, J; LIU, R. H. Apple phytochemicals and their health benefits. **Nutrition Journal**, v. 3, p.1-15, 2004.

BORTOLETTO, A. M.; CORREA, A. C.; ALCARDE, A. R. Aging practices influence chemical and sensory quality of cachaça. **Food Research Internacional**, v.86, p. 46–53, 2016.

BORTOLETTO, A. M.; ALCARDE, A. R. Aging marker profile in cachaça is influenced by toasted oak chips. **Journal of the Institute of Brewing**, v.121, p. 70–77, 2015.

BORTOLETTO, A. M.; ALCARDE, A. R. Congeners in sugar cane spirits aged in casks of different Woods. **Food Chemistry**, v.139, p. 695–701, 2013.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel – Wissenschaft und -Technologie**, v. 22, p. 2530, 1995.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto Nº 6.871, de 4 de Junho de 2009. Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Disponível em: [https://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_ato2007-2010/2009/decreto/d6871.htm](https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2009/decreto/d6871.htm) . Acessado em : 15 de julho de 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Política Agrícola. Cenário da Cadeia Produtiva da Maçã. Informativo Nº 54, Ano 6, Vol 54, 2013.

BUENO, J. M.; RAMOS-ESCUADERO, F.; SAEZ-PLAZA, P.; MUNOZ, A. M.; NAVAS, M. J.; ASUERO, A.G. Analysis and antioxidant capacity of anthocyanin pigments. Part I: General considerations concerning polyphenols and flavonoids critical reviews. **Analytical Chemistry**, v. 42, p.102–125, 2012.

CALDEIRA, I.; ANJOS, O.; PORTAL, V.; BELCHIOR, A. P.; CANAS, S. Sensory and chemical modifications of wine-brandy aged with chestnut and oak wood fragments in comparison to wooden barrels . **Analytica Chimica Acta**, v. 660, p. 43–52, 2010.

CANO-LÓPEZ, M.; LÓPEZ-ROCA, J. M.; PARDO-MINGUEZ, F.; GÓMEZ PLAZA, E. Oak barrel maturation vs. micro-oxygenation: Effect on the formation of anthocyanin-derived pigments and wine colour. **Food Chemistry**, v.119 (1), p.191–195, 2010.

CARVALHO, J. R. F.; SILVA, K. M.; SIMÕES, D. R. S.; WOSIACKI, G.; NOGUEIRA, A. Elaboração de fermentado frísante de maçã com características semelhantes à sidra francesa. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v. 28 (1), p. 97-114, 2010.

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

CHEMAT, F.; HUMA, Z.; KHAN, M. K. Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. **Ultrasonics Sonochemistry**, v.18, p. 813–835, 2011.

CHEMAT, F.; ROMBAUT, N.; MEULLEMIESTRE, A.; TURK, M.; PERINO, S.; FABIANO-TIXIER, A. S.; ABERT-VIAN, M. Review of Green Food Processing techniques. Preservation, transformation, and extraction. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 41, p.357–377, 2017a.

CHEMAT, F.; ROMBAUT, N.; SICAIRE, A. G.; MEULLEMIESTRE, A.; FABIANO-TIXIER, A. S.; ABERT-VIAN, M. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 34, p.540–560, 2017b.

CLODOVEO, M. L.; DIPALMO, T.; RIZZELLO, C. G.; CORBO, F.; CRUPI, P. Emerging technology to develop novel red winemaking practices: An overview. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 38, p.41–56, 2016.

DE SIMÓN, B. F.; SANZ, M.; CADAHÍA, E.; MARTÍNEZ, J.; ESTERUELAS, E.; MUÑOZ, A. M. Polyphenolic compounds as chemical markers of wine ageing in contact with cherry, chestnut, false acacia, ash and oak wood. **Food Chemistry**, v. 143, p.66–76, 2014.

DELGADO-GONZALES, M. J.; SANCHEZ-GUILLEN, M. M.; GARCIA-MORENO, M. V.; RODRIGUEZ-DODERO, M. C.; GARCIA-BARROSO, C.; GUILLEN-SANCHEZ, D. A. Study of a laboratory-scaled new method for the accelerated continuous ageing of wine spirits by applying ultrasound energy. **Ultrasonics Sonochemistry**, v.36, p. 226–235, 2017.

DEL FRESNO, J. M.; LOIRA, I.; MORATA, A.; GONZÁLEZ, C.; SUÁREZ-LEPE, J. A.; CUERDA, R. Application of ultrasound to improve lees ageing processes in red wines. **Food Chemistry**, v. 261, p. 157-163, 2018.

DEL POZO, A. G.; AROZARENA, Í.; NORIEGA, M. J.; NAVARRO, M.; CASP, A. Short- and long-term effects of micro-oxygenation treatments on the colour and phenolic composition of a Cabernet Sauvignon wine aged in barrels and/or bottles. **European Food Research and Technology**, v. 231(4), p.589–601, 2010.

DHARMARATHNE, L.; ASHOKKUMAR, M.; GRIESER, F. On the generation of the hydrated electron during the sonolysis of aqueous solutions. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 117, p.2409-2414, 2013.

DUMITRIU, G. D.; DE LERMA, N. L.; COTEA, V. V.; ZAMFIR, C. I.; PEINADO, R. A. Effect of aging time, dosage and toasting level of oak chips on the color parameters, phenolic compounds and antioxidant activity of red wines (var. *Fetească neagră*). **European Food Research and Technology**, v. 242(12), p.2171–2180, 2016.

EL KANTAR, S.; BOUSSETTA, N.; LEOVKA, N.; FOUKART, F.; RAJHA, H. N.; MAROUN, R. G.; VOROBIEV, E. Pulsed electric field treatment of citrus fruits:



Improvement of juice and polyphenols extraction. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.46, p.153–161, 2018.

ESPITIA-LÓPEZ, J.; ESCALONA-BUENDÍA, H. B.; LUNA, H.; VERDE-CALVO, J. R. Multivariate study of the evolution of phenolic composition and sensory profile on mouth of Mexican red Merlot wine aged in barrels vs wood chips. **CyTA-Journal of Food**, v. 13(1), p.26-31, 2015.

EMPRESA DE ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL. **EMATER**. Agroindústria: Processamento Artesanal de Frutas – Licor. Disponível em: <http://www.emater.mg.gov.br/doc%5Csite%5Cservicoseprodutos%5Clivraria%5CAgroind%3%BAstria%5CProcessamento%20Artesanal%20de%20Frutas%20%20Licor.pdf>. Acesso em: Julho de 2018.

FERNÁNDEZ DE SIMÓN, B.; MUIÑO, I.; CADAHÍA, E. Characterization of volatile constituents in commercial oak wood chips. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58 (17), p.9587–9596, 2010.

FILHO, M. J.; CARMO, L. B.; LUCIA, S. M. D.; SARAIVA, S. H.; COSTA, A. V.; OSORIO, V. M.; TEIXEIRA, L. J. Q. Banana Liquor: Optimization of the alcohol and sugar contents, sensory profile and analysis of volatile compounds, **LWT-Food Science and Technology**, v. 97, p.31-38, 2018.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (**FAO**). Production-crops. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data>. Acesso em: Dezembro de 2019.

GARCIA MARTÍN, J. F.; SUN, D. W. Ultrasound and electric fields as novel techniques for assisting the wine ageing process: The state-of-the-art research. **Trends in Food Science and Technology**, v. 33 (1), p.40–53, 2013.

GARDE-CERDÁN, T.; ANCÍN-AZPILICUETA, C. Review of quality factors on wine ageing in oak barrels. **Trends in Food Science and Technology**, v.17(8), p.438–447, 2006.

GOMES, T. A.; FILHO, M. R. S.; ZIELINSKI, A. A. F.; PIETROWSKI, G. A. M.; NOGUEIRA, A. Microbial levels in Apple must and their association with fruit selection, washing and sanitization. **Journal of Food Safety**, v. 34, p. 141–149, 2014.

GÓMEZ-PLAZA, E.; CANO-LÓPEZ, M. A review on micro-oxygenation of red wines: Claims, benefits and the underlying chemistry. **Food Chemistry**, v. 125, p.1131–1140, 2011.

GOWER, J.C. Generalized procrustes analysis. **Psychometrika**, v. 40, p.33-51, 1975.

GUYOT, S.; MARNET, N.; LARABA, D.; SANONER, P.; DRILLEAU, J. F. Reversed phase HPLC following thiolysis for quantitative estimation and characterization of the four main classes of phenolic compounds in different tissue zones of a french cider

apple variety (*Malus domestica* var. *Kermerrien*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46 (5), p. 1698-1705, 1998.

HAIDER, W.; DELAHAIE, S.; SAINT-CLAIR, J-F.; HAYAT, A.; BARILLIER, D.; LEDAUPHIN, J. Physicochemical characterization of pommeau de normandie: establishing a relationship between metal contents and turbidity of the pommeau samples. **European Food Research and Technology**, v. 239 (4), p. 567-575, 2014.

HAMINIUK, C. W. I.; MACIEL, G. M.; PLATA-OVIEDO, M. S. V.; PERALTA, R. M. Phenolic compounds in fruits - an overview. **International Journal of Food Science & Technology**, v.47(10), p.2023–2044, 2012.

HAN, G.; WEBB, M. R.; WATERHOUSE, A. L. Acetaldehyde reactions during wine bottle storage. **Food Chemistry**, v. 290, p.208–215, 2019.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. IAL. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos**. Edição IV. 1º Edição Digital. Disponível em: [http://www.ial.sp.gov.br/resources/editorinplace/ial/2016\\_3\\_19/analisedealimentosial\\_2008.pdf](http://www.ial.sp.gov.br/resources/editorinplace/ial/2016_3_19/analisedealimentosial_2008.pdf). Acesso em: 15 de julho 2018.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. IBGE. 2017. **Levantamento sistemático da Produção Agrícola**. Disponível em: [http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa\\_201712.pdf](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa_201712.pdf). Acessado em: Julho 2018.

JORDÃO, A. M.; CORREIA, A. C.; DELCAMPO, R.; GONZÁLEZ SANJOSÉ, M. L. Antioxidant capacity, scavenger activity, and ellagitannins content from commercial oak pieces used in winemaking. **European Food Research and Technology**, v. 235 (5), p.817–825, 2012.

KALINOWSKA, M.; BIELAWSKA, A.; LEWANDOWSKA-SIWKIEWICS, H.; PRIEBE, W.; LEWANDOWSKI, W. Apples: Content of phenolic compounds vs. variety, part of apple and cultivation model, extraction of phenolic compounds, biological properties. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.84, p.169-188, 2014.

KANAKI, E.; SIDERAKOU, D.; KALLITHRAKA, S.; KOTSERIDIS, Y.; MAKRIS, D. P. Effect of the degree of toasting on the polyphenols leached from oak chips in model wine systems. **European Food Research and Technology**, v. 240, p.1065-1074, 2015.

KARAMAN, S.; TÜTEM, E.; BASKAN, K. S.; APAK, R. Comparison of antioxidant capacity and phenolic composition of peel and flesh of some apple varieties. **Journal Science Food Agriculture**, v. 93; p. 867–875, 2013.

LAQUI-ESTAÑA, J.; LÓPEZ-SOLÍS, R.; PEÑA-NEIRA, Á.; MEDEL-MARABOLÍ, M.; OBREQUE-SLIER, E. Wines in contact with oak wood: the impact of the variety (Carménère and Cabernet Sauvignon), format (barrels, chips and staves), and aging time on the phenolic composition. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 99, p.436-448, 2019.

LAZZAROTTO, J. J.; GIRARDI, L.; ZANDONÁ, G. P. Parâmetros para investimentos na produção de suco integral de maçã com alto padrão tecnológico. **EMBRAPA. Circular Técnica 133**. Dezembro de 2016. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/155224/1/CircTec133.pdf>. Acesso em: 27 de julho de 2018.

LLAUDY, M. D. C.; CANALS, R.; GONZÁLEZ-MANZANO, S.; CANALS, J. M.; SANTOS-BUELGA, C.; ZAMORA, F. Influence of micro-oxygenation treatment before oak aging on phenolic compounds composition, astringency, and color of red wine. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.54(12), p.4246–4252, 2006.

LAWLESS, H.T.; HETMANN, H. H. Sensory evaluation of food. Springer, New York, 2010.

LE FLOCH, A.; JOURDES, M.; TEISSEDRE, P.-L. Polysaccharides and lignin from oak wood used in cooperage: Composition, interest, assays: A review. **Carbohydrate Research**, v. 417, p. 94–102, 2015.

LIN, Z. R.; ZENG, X. A.; YU, S. J.; SUN, D. W. Enhancement of Ethanol-Acetic Acid Esterification Under Room Temperature and Non-catalytic Condition via Pulsed Electric Field Application. **Food and Bioprocess Technology**, v.5(7), p.2637–2645, 2012.

LÉGIFRANCE. Décret du 10 avril. Définissant les conditions de production des apéritifs à base de cidre à appellation d'origine contrôlée "Pommeau de normandie", France, 1991.

LETOWSKA, A. S.; KUCHARSKA, A. Z.; WINSKA, K.; SZUMNY, A.; NAWIRSKA-OLSZANSKA, A.; MIZGIER, P. Composition and antioxidant activity of red fruit liqueurs. **Food Chemistry**, v. 157, p. 533-539, 2014.

LIMA, U. A. **Capítulo 27. Licores**. Em: VENTURINI FILHO, W.G. Bebidas Alcoólicas – Ciência e Tecnologia. Volume 1, 2ª Ed., Editora Blucher, São Paulo, 2016.

MADRERA, R. R.; VALLES, B. S.; GARCÍA, Y. D.; DEL VALLE ARGÜELLES, P.; LOBO, A.P. Alternative woods for aging distillates - An insight into their phenolic profiles and antioxidant activities. **Food Science and Biotechnology**, v.19 (4), p.1129–1134, 2010.

MADRERA, R. R.; HEVIA, A. G.; VALLES, B. S. Comparative study of two aging systems for cider brandy making. Changes in chemical composition. **LWT - Food Science and Technology**, v. 54, p. 513-520, 2013.

MARQUÉS, C. D.; HELLÍN, L. C.; RUIZ, L. G.; REVILLA, A. Z. Analytical study of apple liqueurs. **Z. Lebensm Unters Forsch**, v. 198, p. 60-65, 1994.

MARTÍNEZ, J. M.; DELSO, C.; MAZA, M. A.; ÁLVAREZ, I.; RASO, J. Pulsed electric fields accelerate release of mannoproteins from *Saccharomyces cerevisiae* during aging on the lees of Chardonnay wine. **Food Research International**, v.116, p.795-801, 2019.

MOSEDALE, J. R.; PUECH, J-L. Wood maturation of distilled beverages. **Trends in Food Science & Technology**, Vol 9 (3), p. 95-101, 1998.

MRVCIC, J.; POSAVEC, S.; KAZAZIC, S.; STANZER, D.; PESA, A.; STEHLIK-TOMAS, V. Spirit drinks: a source of dietary polyphenols. **Croatian Journal Food Science and Technology**, v. 4 (2), p. 102-111, 2012.

NEWELL, G. J.; MacFARLANE, J. D. Expanded tables for multiple comparison procedures in the analysis of ranked data. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 52 (6), p. 1721-1725, 1987.

NOGUEIRA, A.; ZARDO, D. M.; KUIJSCHAL, M. V.; COUTO, M.; ZIELINSKI, A. A. F.; ALBERTI, A. Diversificação de negócios na propriedade frutícola: processamento de maçã. **Brazilian Journal of Development**, v.5(10), p.18734-18742, 2019.

OBERHOLSTER, A.; ELMENDORF, B. L.; LERNO, L. A.; KING, E. S.; HEYMANN, H.; BRENNEMAN, C. E.; BOULTON, R. B. Barrel maturation, oak alternatives and micro-oxygenation: Influence on red wine aging and quality. **Food Chemistry**, v.173, p.1250–1258, 2015.

OJHA, K. S.; MASON, T. J.; O'DONNELL, C. P.; KERRY, J. P.; TIWARI, B. K. Ultrasound technology for food fermentation applications; **Ultrasonics Sonochemistry**, v.34, p.410–417, 2017.

OMRAN, M. N.; PIROUZIFARD, M. K.; ARYAEY, P.; NEJAD, M. H. Cryoconcentration of sour cherry and orange juices with novel clarification method; comparison of thermal concentration with freeze concentration in liquid. **Journal Foods Agriculture Science Technology**, v. 15, p. 941-950, 2013.

PAZ, I.; FERNANDEZ, A.; MATÍAS, C.; PINTO, G. Effect of temperature on the evolution of colour during the maceration of fruit in liquor. **Czech J. Food Science**, v. 32 (1), p. 90-95, 2014.

PENHA, E. M. **Licor de Frutas**. Coleção Agroindústria Familiar. Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, DF, 2006.

PEREZ-PRIETO, L. J.; DE LA HERA-ORTS, M. L.; LÓPEZ-ROCA, J. M.; FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, J. I.; GÓMEZ-PLAZA, E. Oak-matured wines: Influence of the characteristics of the barrel on wine colour and sensory characteristics. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 83(14), p.1445–1450., 2003

PICÓ, Y. Ultrasound-assisted extraction for food and environmental samples. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 43, p. 84-99, 2013.

PINGRET, D.; TIXIER, A-S. F.; CHEMAT, F. Degradation during application of ultrasound in food processing: A review. **Food Control**, v. 31, p. 593-606, 2013.

PIZARRO, C.; RODRÍGUEZ-TECEDOR, S.; ESTEBAN-DÍEZ, I.; PÉREZ-DEL-NOTARIO, N.; GONZÁLEZ-SÁIZ, J. M. Experimental design approach to evaluate

the impact of oak chips and micro-oxygenation on the volatile profile of red wines. **Food Chemistry**, v.148, p.357–366, 2014.

PUÉRTOLAS, E.; SALDAÑA, G.; ÁLVAREZ, I.; RASO, J. Effect of pulsed electric field processing of red grapes on wine chromatic and phenolic characteristics during aging in oak barrels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58(4), p.2351–2357, 2010.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGENTTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICEEVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABST radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, p. 1231-1237, 1999.

RICHTER, V. B.; ALMEIDA, T. C. A.; PRUDENCIO, S. H.; BENASSI, M. T. Proposing a ranking descriptive sensory method. **Food Quality and Preference**, v.21, p.611-620, 2010.

RODRÍGUEZ-SOLANA, R., RODRÍGUEZ-FREIGEDO, S.; SALGADO, J. M.; DOMÍNGUEZ, J. M.; CORTÉS-DIÉGUEZ, S. Optimisation of accelerated ageing of grape marc distillate on a micro-scale process using a Box–Behnken design: influence of oak origin, fragment size and toast level on the composition of the final product. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v. 23 (1), p.5–14, 2017.

RUBIO-BRETÓN, P.; GARDE-CERDÁN, T.; MARTÍNEZ, J. Use of oak fragments during the aging of red wines. Effect on the phenolic, aromatic, and sensory composition of wines as a function of the contact time with the wood. **Beverages**, v.4 (4), p.102, 2018.

SÁNCHEZ-GÓMEZ, R.; NEVARES, I.; MARTÍNEZ-GIL, A.; DEL ALAMO-SANZA, M. Oxygen consumption by red wines under different micro-oxygenation strategies and *Q. Pyrenaica* chips. Effects on color and phenolic characteristics. **Beverages**, v. 4(3), 69, 2018.

SANTOS, T. P. M.; ALBERTI, A.; JUDACEWSKI, P.; ZIELINSKI, A. A. F.; NOGUEIRA, A. Effect of sulphur dioxide concentration added at different processing stages on volatile composition of ciders. **Journal of the Institute Brewing**, v. 124, p.261-268, 2018.

SAULIS, G. Electroporation of cell membranes: The fundamental effects of pulsed electric fields in food processing. **Food Engineering Reviews**, v.2 (2), p.52–73, 2010.

SEBRAE. **O cultivo e o mercado da maçã** Disponível em: <http://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/artigos/o-cultivo-e-o-mercado-da-maca>. Acesso em: 10 de julho 2018.

SCHWARZ, M.; RODRIGUEZ, M. C.; GUILLEN, D. A.; BARROSO, C. G. Analytical characterization of a Brandy de Jerez during its aging. **European Food Research and Technology**, v. 232, p.813-819, 2011.

SCHWARZ, M.; RODRIGUEZ, M. C.; SANCHEZ, M.; GUILLEN, D. A.; BARROSO, C. G. Development of an accelerated aging method for Brandy . **LWT - Food Science and Technology**, v. 59, p.108-114, 2014.

SHYR, J-J.; YANG, S-H. Acceleration of the aging process in coffee liqueur bu ultrasonic wave treatment. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 40, p. 502–508, 2016.

SINGLETON, V.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 16 (3), p. 144-158, 1965.

SILVA, K. M.; ZIELINSKI, A. A. F.; BENVENUTTI, L.; BORTOLINI, D. G.; ZARDO, D. M.; BELTRAME, F. L., NOGUEIRA, A.; ALBERTI, A. Effect of fruit ripening on bioactive compounds and antioxidant capacity of apple beverages. **Food Science and Technology**, 2018.

SLIWINSKA, M.; WISNIEWSKA, P.; DYMERSKI, T.; WARDENCKI, W.; NAMIESNIK, J. The flavor of fruit spirits and fruit liqueurs: a review. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 30, p.197-207, 2015.

SLIWINSKA, M.; GARCIA-HERNANDEZ, C.; KOSCINSKI, M.; DYMERSKI, T.; WARDENCKI, W.; NAMIESNIK, J.; SLIWINSKA-BARTKOWAK, M.; JURGAS, S.; GAUCIA-CABEZON, C.; RODRIGUESZ-MENDEZ, M.L. Discrimination of apple liqueurs (Nalwka) using a voltammetric electronic tongue, UV-Vis and Raman Spectroscopy. **Sensors**, v. 16, p.1654-1668, 2016.

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, p. 323-331, 2010.

TALOUMI, T.; MAKRIS, D. P. Accelerated aging of the traditional greek distillate tsipouro using wooden chips. part i: effect of static maceration vs. ultrasonication on the polyphenol extraction and antioxidant activity. **Beverages**, v.3 (5), p.1-9, 2017.

TAO, Y.; GARCÍA, J. F.; SUN, D-W. Advances in wine aging Technologies for enhancing wine quality and accelerating wine aging process. **Critical reviews in food science and nutrition**, v.54 (6), p. 817-835, 2014a.

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(5), p.1839–1848, 2014b.

TEIXEIRA, L. J. Q.; RAMOS, A. M.; CHAVES, J. B. P.; STRINGHETA, P. C. Testes de aceitabilidade de licores de banana. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 13 (2), p.205-209, 2007.

TSAO R.; YANG, R. Optimization of a new mobile phase to know the complex and real polyphenolic composition: towards a total phenolic index using high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v.1018, p. 29–40, 2003.

VARELA, G.; ARES, G. Sensory profiling, the blurred line between sensory and consumer science. A review of novel methods for product characterization . **Food Research International**, v. 48, p. 893–908, 2012.

WANG, X. Q.; SU, H. N.; ZHANG, Q. H.; YANG, P. P. The effects of pulsed electric fields applied to red and white wines during bottle ageing on organic acid contents. **Journal of Food Science and Technology**, v.52(1), p.171–180, 2015.

WOSIACKI, G.; NOGUEIRA, A. Capítulo 20. Suco de Maçã. Em: VENTURINI FILHO, W.G. Bebidas Não Alcoólicas – Ciência e Tecnologia. Volume 2, 2ª Ed., Ed. Blucher, São Paulo, 2018.

WYLER, P.; ANGELONI, L. H. P.; ALCARDE, A. R.; DA CRUZ, S. H. Effect of oak wood on the quality of beer. **Journal of the Institute of Brewing**, v.121(1), p.62–69, 2015.

YAN, Y. Y.; ZHANG, Q. A.; LI, E. C.; ZHANG, Y. F. Ions in wine and their relation to electrical conductivity under ultrasound irradiation. **Journal of AOAC International**, v. 100(5), p.1516–1523, 2017.

YANG, N.; HUANG, K.; LYU, C.; WANG, J. Pulsed electric field technology in the manufacturing processes of wine, beer, and rice wine: A review. **Food Control**, v.61, p.28–38, 2016.

ZARDO, D. M.; SILVA, K. M.; GUYOT, S.; NOGUEIRA, A. Phenolic profile and antioxidant capacity of the principal apples produced in Brazil. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v.64(5), p. 611–620, 2013.

ZARDO, D. M.; ALBERTI, A.; DANTAS, A. P. C.; GUYOT, S.; WOSIACKI, G.; NOGUEIRA, A. Effect of the processing in the phenolic compounds content and antioxidant activity in apple wine. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 29 (4), p. 829-838, 2008.

ZHANG, Q-A; WANG, T-T. Effect of ultrasound irradiation on the evolution of color properties and major phenolic compounds in wine during storage. **Food Chemistry**, v. 234, p. 372–380, 2017.

ZHANG, B.; CAI, J.; DUAN, C. Q.; REEVES, M. J.; HE, F. A review of polyphenolics in oak woods. **International Journal of Molecular Sciences**, v.16(4), p. 6978–7014, 2015.

ZHANG, B.; ZENG, X.; TIE, W.; SUN, D.; CAI, J. Effects of electric field treatments on phenol compounds of brandy aging in oak barrels. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 20, p. 106–114, 2013.

ZHENG, X.; ZHANG, M.; FANG, Z.; LIU, Y. Effects of low frequency ultrasonic treatment on the maturation of steeped greengage wine. **Food Chemistry**, v. 162, p.264–269, 2014.

ZIELINSKI, A. A. F.; ALBERTI, A.; BRAGA, C. M.; SILVA, K. M.; CANTERI, M. H. G.; MAFRA, L. I.; GRANATO, D.; NOGUEIRA, A.; WOSIACKI, G. Effect of mash maceration and ripening stage of apples on phenolic compounds and antioxidant power of cloudy juices: A study using chemometrics . **LWT - Food Science and Technology**, v. 57, p. 223-229, 2014.

ZIELINSKI, A. A. F.; ZARDO, D. M.; ALBERTI, A.; BORTOLINI, D. G.; BENVENUTTI, L; DEMIATE, I. M.; NOGUEIRA, A. Effect of cryoconcentration process on phenolic compounds and antioxidant activity in apple juice. **Journal Science Food Agric**, v.99, p. 2786–2792, 2019.



## ANEXO A - Ficha de avaliação sensorial dos licores – Etapa 2

Nome: \_\_\_\_\_

**1) Por favor, prove a amostra e avalie quanto a Impressão Global (sabor e aparência) de acordo com a escala a seguir:**

- 1 - Desgostei extremamente  
 2 - Desgostei muito  
 3 - Desgostei moderadamente  
 4 - Desgostei ligeiramente  
 5 - Indiferente  
 6 - Gostei ligeiramente  
 7 - Gostei moderadamente  
 8 - Gostei muito  
 9 - Gostei extremamente
- Amostra : \_\_\_\_\_ Nota: \_\_\_\_\_

**2) Marque com o X na escala indicando sua opinião sobre o produto**

Doçura

Muito doce      Ideal      Pouco doce

Teor Alcoólico

Muito alcoólico      Ideal      Pouco alcoólico

Frutado

Muito frutado      Ideal      Pouco frutado

**3) Marque com um X em TODAS as características que se aplicam na amostra que você provou:**

- |  |   |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Cor âmbar         | <input type="checkbox"/> Alta qualidade |
| <input type="checkbox"/> Amargo            | <input type="checkbox"/> Translúcido    |
| <input type="checkbox"/> Sabor Alcoólico   | <input type="checkbox"/> Adstringente   |
| <input type="checkbox"/> Odor de maçã      | <input type="checkbox"/> Doce           |
| <input type="checkbox"/> Ácido             | <input type="checkbox"/> Aroma frutado  |
| <input type="checkbox"/> Sabor Amadeirado  | <input type="checkbox"/> Sabor de maçã  |
| <input type="checkbox"/> Cor amarela claro | <input type="checkbox"/> Viscoso        |
| <input type="checkbox"/> Odor Alcoólico    | <input type="checkbox"/> Frutado        |

4) escreva em poucas palavras quais características teria o produto ideal para você:

---



---



---



---

Obrigado pela colaboração!

**ANEXO B – Ficha de avaliação livre para análise descritiva orientativa**

1º Etapa: Avaliar similaridades e diferenças entre as amostras A e B

Nome: ----- Idade:-----

**APARÊNCIA****Similar****Diferente****ODOR****Similar****Diferente****SABOR****Similar****Diferente****RESIDUAL****Similar****Diferente**

**ANEXO C – Ficha com referências para atributos na análise descritiva ordenativa****REFERÊNCIAS PARA ATRIBUTOS ESCOLHIDOS****APARÊNCIA**

---

- 1)Turbidez:  
Forte: Suco maçã integral  
Fraco: água
- 2)Cor:  
Forte: Whisky  
Fraco: suco maçã clarificado

**ODOR**

---

- 3)Alcoólico:  
Forte: álcool de cereais  
Fraco: Amostra licor sem madeira (A)
- 4)Amadeirado:  
Forte: Amostra licor com madeira (B)  
Fraco: Amostra licor sem madeira (A)
- 5)Frutado:  
Forte: Amostra licor sem madeira (A)  
Fraco: Amostra licor com madeira (B)

**SABOR**

---

- 6)Doce:  
Forte: Amostra licor com madeira (B)  
Fraco: Amostra licor sem madeira (A)
- 7)Alcoólico:  
Forte: Amostra licor sem madeira (A)  
Fraco: Amostra licor com madeira (B)
- 8)Amadeirado:  
Forte: Amostra licor com madeira (B)  
Fraco: Amostra licor sem madeira (A)
- 9)Frutado:  
Forte: Amostra licor sem madeira (A)  
Fraco: Amostra licor com madeira (B)

**RESIDUAL**

---

- 10)Amargo:  
Forte: Amostra licor sem madeira (A)  
Fraco: Amostra licor com madeira (B)
- 11)Amadeirado:  
Forte: Amostra licor com madeira (B)  
Fraco: Amostra licor sem madeira (A)

**ANEXO D – Ficha sensorial para análise descritiva ordenativa**

Nome: \_\_\_\_\_

**Por favor, prove as amostras e avalie a intensidade dos seguintes atributos:**

APARÊNCIA:

**Turbidez**

Forte \_\_\_\_\_ Fraco

**Cor**

Forte \_\_\_\_\_ Fraco

ODOR:

**Álcool**

Forte \_\_\_\_\_ Fraco

**Amadeirado**

Forte \_\_\_\_\_ Fraco

**Frutado**

Forte \_\_\_\_\_ Fraco

SABOR:

**Doce**

Forte \_\_\_\_\_ Fraco

**Álcool**

Forte \_\_\_\_\_ Fraco

**Amadeirado**

Forte \_\_\_\_\_ Fraco

**Frutado**

Forte \_\_\_\_\_ Fraco

RESIDUAL:

**Amargo**

Forte \_\_\_\_\_ Fraco

**Amadeirado**

Forte \_\_\_\_\_ Fraco

Por favor, ordene as amostras em ordem de **preferência** para você:**Mais** \_\_\_\_\_ **Menos**

## ANEXO E – Termo de consentimento livre e esclarecido

### PESQUISAS COM SERES HUMANOS

#### Dados de identificação do voluntário

Nome completo do voluntário:

RG do voluntário:

Idade do voluntário:

Endereço do voluntário:

#### Preencha nos casos de autorização fornecida por responsável:

Nome do responsável legal pelo voluntário:

Idade do responsável pelo voluntário:

RG do responsável pelo voluntário:

Endereço:

Grau de parentesco e prova documental comprobatória da responsabilidade:

#### Detalhamento da pesquisa e seus procedimentos

Você está sendo convidado a participar do projeto de pesquisa intitulado **Desenvolvimento de licor amadeirado de maçã com envelhecimento acelerado por ultrassom** que tem como pesquisador responsável o **Prof. Dr. Alessandro Nogueira** (CPF 004.874.939-74). Essa pesquisa tem como objetivo desenvolver uma bebida alcoólica do tipo licor, obtido a partir da mistura de suco natural de maçã e álcool de cereais.

Essa pesquisa é justificada pela necessidade de desenvolver novos produtos com alto valor agregado e contribuir à cadeia produtiva da maçã, com tecnologias inovadoras e de fácil reprodutibilidade. Outro aspecto relevante do trabalho está relacionado em disponibilizar aos consumidores uma bebida alcoólica produzida apenas com suco de maçã integral, sem adição de aditivos artificiais como edulcorantes, corantes e outros conservantes. Compostos fenólicos e atividade antioxidante serão quantificados ao longo do processo, para avaliar a contribuição desta bebida na ingestão de compostos antioxidantes, provenientes do suco integral da maçã como também da contribuição de compostos da madeira, extraídos durante etapa de envelhecimento. Você nos auxiliará provando esse produto e atribuindo notas para as características dele como sabor, cor e textura para que possamos desenvolver um produto de acordo com as expectativas dos consumidores. O licor foi elaborado no Laboratório de Ciência e Tecnologia de Alimentos da UEPG localizado no Centro Interdisciplinar de Pesquisa e Pós Graduação. O produto foi elaborado e acondicionado de acordo com as boas práticas de fabricação e higiene e será servido à você no Laboratório de Análises Sensoriais nesse mesmo Centro.

Os participantes que poderão compreender alunos, funcionários e demais pessoas que estejam frequentando a UEPG nas datas previstas para esse teste serão convidados aleatoriamente dentro do própria universidade para provar o produto desenvolvido.

Você poderá participar da pesquisa somente caso tenha idade superior a 18 anos, não tenha alergia e ou intolerância aos ingredientes do licor (maçã e álcool de cereais) e também que não esteja ministrando nenhum tipo de medicação controlada, e deverá concordar com os termos dessa pesquisa assinando esse termo de consentimento a seguir.

Caso concorde, após a assinatura desse termo poderá acomodar-se em uma das cabines de análise sensorial do laboratório no qual o produto será testado e então poderá experimentar 6 amostras de 10 ml do

produto desenvolvido pelos pesquisadores (licor base de maçã – jovem e licor amadeirado de maçã - envelhecido).

Você receberá um impresso, no qual não será necessária sua identificação, contendo uma escala para avaliar sob vários aspectos as características da bebida que recebeu como a aparência, odor, cor, sabor e intenção de compra do produto que ingeriu. Após entregar essa avaliação do produto, você será dispensado.

Não há métodos alternativos à esse processo de análise sensorial para avaliar a aceitação de um produto antes de ele ser comercializado.

Quanto aos transtornos ou riscos que a sua participação como voluntário da análise sensorial do produto desenvolvido é que você terá que ir até o laboratório de análise sensorial e permanecer nesse local durante o período aproximado de 30 minutos para avaliar a amostra. Durante o momento da avaliação não poderá comunicar-se com outros avaliadores para evitar influência da avaliação dos demais. Caso você seja intolerante ou alérgico a um dos componentes do produto poderá ter reações indesejáveis que podem variar desde o desconforto em estômago e intestino até a falta de ar no caso de alergia alimentar. Para minimizar esse risco você deverá certificar-se de não ter intolerância ou alergia aos ingredientes do produto antes de assinar o TCLE para a participação na pesquisa.

Os benefícios esperados são que caso o produto seja bem avaliado em todos os atributos pelos provadores voluntários o mesmo poderá ser futuramente comercializado e a população terá acesso a um produto inovador e com uma valorização da cadeia de produção da maçã. Possíveis efeitos colaterais podem ocorrer devido ser um produto que contém álcool até 25°GL, alguns indivíduos mais sensíveis à bebidas alcoólicas, devem evitar a ingestão do produto, mas esse risco será mínimo devido a quantidade de amostra ingerida que é pequena (6 amostras de 10 ml). Ficará à sua disposição uma equipe treinada para primeiros socorros até a chegada do serviço de urgência (SAMU) e o tratamento médico, assim como a indenização a que tem direito por parte do órgão financiador em casos de danos que a justifiquem, diretamente causados pela pesquisa. No caso de eventual intercorrência médica comunicar-se com o pesquisador **Roselini Trapp Kruger (42) 99994-0095**, endereço Rua Dr. Leopoldo Guimarães da Cunha, 1551, quadra 07/ lote 16, Bairro Oficinas, Ponta Grossa-Pr.

Os pesquisadores garantem à você o direito de receber resposta a qualquer pergunta e esclarecimento a qualquer dúvida acerca de assuntos relacionados com a pesquisa e o tratamento e informam que o voluntário poderá deixar de participar da pesquisa a qualquer tempo, sem prejuízo do atendimento, cuidado e tratamento pela equipe da especialidade da UEPG. Garantimos que serão mantidos o sigilo e o caráter confidencial das informações que você nos forneceu, zelando pela sua privacidade e garantindo que sua identificação não será exposta nas conclusões ou publicações. Em caso de recurso ou reclamação o voluntário poderá entrar em contato com a secretaria da Comissão de Ética em Pesquisa: (42) 3220-3108. Caso tenha entendido o que foi descrito nesse termo leia o compromisso a seguir e assine caso estiver de acordo.

“Entendi o que foi descrito nesse termo e estou ciente dos objetivos dessa pesquisa, não apresento reação alérgica e ou de intolerância aos ingredientes, sou maior de 18 anos e aceito participar como voluntário dessa pesquisa. Declaro que, após esclarecido pelos pesquisadores e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente protocolo de pesquisa”

\_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Assinatura do responsável pela pesquisa (Prof. Dr. Alessandro Nogueira):

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Assinatura do voluntário da pesquisa:

\_\_\_\_\_

Endereço do COEP: Av. Gen. Carlos Cavalcanti, nº 4748, Bloco M. CEP 84.030-900 Campus Universitário em Uvaranas. E-mail: [coep@uepg.br](mailto:coep@uepg.br) site: [www.uepg.br](http://www.uepg.br) Fone: 042 3220-3108 Ponta Grossa – Paraná

Projeto de Pesquisa: Desenvolvimento de licor amadeirado de maçã com envelhecimento acelerado por ultrassom

Prof. Orientador: Prof. Dr. Alessandro Nogueira

Aluno Pesquisador: Roselini Kruger

Data:

#### DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DOS VOLUNTÁRIOS

Nome Completo	Assinatura	Documento (CPF/RG)
1.		
2.		
3.		
4.		
5.		
6.		
7.		
8.		
9.		
10.		
11.		
12.		
13.		
14.		
15.		
16.		
17.		
18.		
19.		
20.		
21.		
22.		
23.		
24.		
25.		
26.		
27.		
28.		
29.		
30.		
31.		
32.		
33.		
34.		
35.		
36.		
37.		
38.		
39.		
40.		