

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ALEXANDRE DE SOUZA MOSER

**EFEITO DA MICRO-OXIGENAÇÃO NA QUALIDADE QUÍMICA E SENSORIAL DA  
CACHAÇA NÃO ENVELHECIDA**

CURITIBA

2012

ALEXANDRE DE SOUZA MOSER

**EFEITO DA MICRO-OXIGENAÇÃO NA QUALIDADE QUÍMICA E SENSORIAL DA  
CACHAÇA**

Dissertação apresentada para qualificação  
no Programa de Pós-Graduação em  
Tecnologia de Alimentos, Setor de  
Tecnologia da Universidade Federal do  
Paraná.

Orientador: Prof.º Dr. Agenor Maccari Jr

CURITIBA

2012

Moser, Alexandre de Souza  
Efeito da micro-oxigenação na qualidade química e sensorial da  
cachaça / Alexandre de Souza Moser. – Curitiba, 2012.  
84 f. : il.; graf., tab.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de  
Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de  
Alimentos.

Orientador: Agenor Maccari Jr.

1. Cachaça - Avaliação sensorial. 2. Oxigênio. I. Maccari Junior,  
Agenor. II. Título.

CDD 660.28443

**ALEXANDRE DE SOUZA MOSER**


**EFEITO DA MICRO-OXIGENAÇÃO NA QUALIDADE QUÍMICA E SENSORIAL DA CACHAÇA**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão formada pelos professores:

Orientador:

  
Prof. Dr. AGENOR MACCARI JUNIOR  
Setor de Ciências Agrárias, UFPR

  
Prof. Dr. VITOR MANFROI  
Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, UFRGS

  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> ROSEMARY HOFFMANN RIBANI  
Setor de Tecnologia, UFPR

Curitiba, 31 de agosto de 2012.

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus, aquele que nos concede o dom da vida, que ilumina nossos caminhos e nos dá força e perseverança para superar os obstáculos encontrados em nossas vidas.

Aos meus pais, Sandra e Delcides, pelo amor, pelo exemplo de vida, ensinamentos, amizade, respeito e que me ensinaram a lutar pelos meus sonhos.

Aos meus irmãos, André e Alessandra, que sempre me apoiaram e me incentivaram em tudo que me propus a fazer.

Aos meus familiares, que me apoiaram e me incentivaram em todos os momentos de minha vida.

A minha namorada, Letícia, por todo o apoio e compreensão, a você todo meu amor e gratidão.

Ao meu orientador, prof. Dr. Agenor Maccari Jr, pela amizade, pela parceria durante esses anos, pelos ensinamentos, pelos conhecimentos obtidos, meus sinceros obrigado.

A minha amiga de pós-graduação Fabiula, pela amizade, pelos ensinamentos, pela ajuda nas preparações e coletas de dados, muito obrigado.

As funcionárias da Agroecológica Marumbi, Chislene e Luciane pela ajuda durante o período de realização dos ensaios, muito obrigado.

Ao PPGTA por propiciar o espaço e a oportunidade de trabalho e a CAPES pelo auxílio financeiro.

A empresa Agroecológica Marumbi S/A, pelo espaço cedido para execução dos ensaios, pelas amostras cedidas para as análises e pelo apoio financeiro para a realização desta pesquisa.

## RESUMO

O conhecimento do processo de envelhecimento de cachaça requer estudos sobre a participação do oxigênio e da madeira no processo, e como estes fatores interagem de modo isolado e associado com os compostos químicos da bebida. Para isto é necessário isolar cada um destes fatores, para assim poder estudá-los individualmente. A oxidação é uma das principais reações que ocorre no envelhecimento de cachaça e pouco se sabe sobre a influência do oxigênio nesse processo. Este trabalho visou isolar o efeito do oxigênio sobre a cachaça através de uma técnica aplicada em vinho chamada micro-oxigenação. Para avaliar a influência do oxigênio sobre a qualidade química da cachaça, a pesquisa empregou três diferentes doses de oxigênio (tratamentos): 6 mg/L/mês; 12 mg/L/mês e 18 mg/L/mês. Cada tratamento foi aplicado em tanque com 2.000 litros de cachaça, durante um período de 60 dias. Os resultados das análises físico-químicas mostraram que o processo de micro-oxigenação alterou significativamente, em relação às doses aplicadas, a concentração dos componentes: graduação alcoólica, acidez volátil, aldeídos e ésteres. Já os resultados das análises sensoriais mostraram que os testes com julgadores não treinados (Consumidores) não apresentaram diferenças significativas entre os julgadores, ou seja, os julgadores não foram capazes de identificar diferenças entre os tratamentos aplicados. Nos testes com julgadores treinados, os resultados mostraram que a técnica de micro-oxigenação alterou a avaliação global das amostras micro-oxigenadas, ou seja, de uma forma geral, as cachaças micro-oxigenadas obtiveram notas inferiores às notas da cachaça sem micro-oxigenação.

**Palavras chaves:** Oxigênio, envelhecimento, reação de oxidação.

## ABSTRACT

The knowledge of the aging process of *cachaça* requires studies on the participation of oxygen and wood in the process and how these factors interact in an isolated or associates with the chemical compounds from the drink. For this it is necessary to isolate each of these factors to study them individually. Oxidation is one of the main reactions that occur during aging, process and little is known about the influence of oxygen in the *cachaça* in this process. This work aims to isolate the effect of oxygen on the *cachaça* through a technique applied in wine called micro-oxygenation. To evaluate the influence of oxygen on the chemical quality of *cachaça*, the survey used three different doses of oxygen (treatment): 6 mg / L / month, 12 mg / L / month and 18 mg / L / month. Each treatment was applied in tank with 2000 liters of *cachaça* during a period of 60 days. The results of physico-chemical analyzes showed that the process of micro-oxygenation changed significantly in relation to the doses applied, the concentration of the components: alcohol content, volatile acids, aldehydes and esters. And the results of the sensory analysis showed that tests with untrained panelists (Consumers) do not presented significant differences among the judges, in other words, the judges were unable to identify differences between the applied treatments. But with the trained judges, the results showed that the micro-oxygenation technique changed the overall evaluation of the micro-oxygenated samples, in other words, the micro-oxygenated *cachaças* had lower grades in relation to the grades got by the *cachaça* without the micro-oxygenation process.

**Keywords:** Oxygen, aging, oxidation reaction.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1- FLUXOGRAMA DO PROCESSO DE PRODUÇÃO DE CACHAÇA .....	16
FIGURA 2 - VIA SIMPLIFICADA DE EMBDEN-MEYERHOFF-PARNAS (EMP) .....	18
FIGURA 3 - FÓRMULA ESTRUTURAL DO ÁCIDO ACÉTICO.....	22
FIGURA 4 - FÓRMULA ESTRUTURAL DO ACETALDEÍDO .....	24
FIGURA 5 - FÓRMULA ESTRUTURAL DO FURFURAL E HIDROXIMETILFURFURAL.....	24
FIGURA 6 - FÓRMULA ESTRUTURAL DO ACETATO DE ETILA .....	25
FIGURA 7 - FÓRMULA ESTRUTURAL DOS ÁLCOOIS SUPERIORES .....	27
FIGURA 8 - FÓRMULA ESTRUTURAL DO CARBAMATO DE ETILA.....	28
FIGURA 9 - REAÇÕES QUE ENVOLVEM A FORMAÇÃO DO CARBAMATO DE ETILA, COM O PRECURSOR CIANETO E PARTICIPAÇÃO DO COBRE.....	29
FIGURA 10 - FÓRMULA ESTRUTURAL DO METANOL.....	30
FIGURA 11 - FÓRMULA ESTRUTURAL DA ACROLEÍNA.....	30
FIGURA 12 - REAÇÃO DE OXIDAÇÃO DE ÁLCOOL PRIMÁRIO.....	33
FIGURA 13 - REAÇÃO DE OXIDAÇÃO DE ÁLCOOL SECUNDÁRIO .....	34
FIGURA 14 – EQUAÇÃO DOS GASES .....	38
FIGURA 15 – (A) APARELHO MicroSafeO <sub>2</sub> . (B) CÁPSULA DE CERÂMICA .....	39
FIGURA 16 - ESQUEMA MONTADO NO EXPERIMENTO PARA MICRO- OXIGENAR A CACHAÇA.....	40
FIGURA 17- REAÇÃO QUÍMICA ENVOLVIDA NA ANÁLISE DE ÁLCOOIS SUPERIORES.....	43
FIGURA 18- REAÇÕES QUÍMICAS ENVOLVIDAS NA ANÁLISE DE ALDEÍDOS...	43
FIGURA 19- REAÇÕES QUÍMICAS ENVOLVIDAS NA ANÁLISE DE FURFURAL..	44
FIGURA 20 – REAÇÕES QUÍMICAS ENVOLVIDAS NA ANÁLISE DOS ÉSTERES	45
FIGURA 21 - REAÇÕES QUÍMICAS ENVOLVIDAS NA ANÁLISE DE COBRE .....	45
FIGURA 22 - MODELO DE FICHA PARA JULGADORES NÃO TREINADOS .....	47
FIGURA 23 - MODELO DE FICHA PARA JULGADORES TREINADOS.....	53
FIGURA 24 - COMPORTAMENTO DOS COMPONENTES DAS CACHAÇAS MICRO-OXIGENADAS AO LONGO DO TEMPO .....	58

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - PADRÕES DE IDENTIDADE E QUALIDADE DE CACHAÇA, REGULAMENTADAS PELA LEGISLAÇÃO BRASILEIRA .....	15
TABELA 2 - CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS VALORIZADAS NA CACHAÇA DE ALAMBIQUE .....	15
TABELA 3 – PROPRIEDADES DE AROMA E SABOR DOS ÁCIDOS ORGÂNICOS E SEUS RESPECTIVOS LIMIARES DE PERCEPÇÃO .....	23
TABELA 4 - PROPRIEDADES FÍSICAS E QUÍMICAS DOS ÉSTERES.....	26
TABELA 5 – ESQUEMA DE DOSAGEM E COLETAS DA PESQUISA .....	41
TABELA 6 - SISTEMA DE DISTRIBUIÇÃO DE PESO E PONTOS PARA OS ATRIBUTOS AVALIADOS.....	51
TABELA 7- CONCENTRAÇÃO DE COMPOSTOS QUÍMICOS NAS AMOSTRAS MICRO-OXIGENADAS.....	56
TABELA 8 - RESULTADOS DA ANÁLISE SENSORIAL COM JULGADORES NÃO TREINADOS .....	59
TABELA 9 - RESULTADOS DA ANÁLISE SENSORIAL COM JULGADORES TREINADOS PARA INTENSIDADE OLFATIVA .....	61
TABELA 10 - RESULTADOS DA ANÁLISE SENSORIAL COM JULGADORES TREINADOS PARA QUALIDADE OLFATIVA.....	61
TABELA 11 - RESULTADOS DA ANÁLISE SENSORIAL COM JULGADORES TREINADOS PARA INTENSIDADE GUSTATIVA .....	62
TABELA 12 - RESULTADOS DA ANÁLISE SENSORIAL COM JULGADORES TREINADOS PARA QUALIDADE GUSTATIVA.....	62
TABELA 13 - RESULTADOS DA ANÁLISE SENSORIAL COM JULGADORES TREINADOS PARA INTENSIDADE DE RETROGOSTO .....	63
TABELA 14 - RESULTADOS DA ANÁLISE SENSORIAL COM JULGADORES TREINADOS PARA QUALIDADE DE RETROGOSTO.....	63
TABELA 15 - RESULTADOS DA ANÁLISE SENSORIAL COM JULGADORES TREINADOS PARA AVALIAÇÃO GLOBAL .....	64

## LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 – DESCRIÇÃO DAS FASES DA PESQUISA .....	36
QUADRO 2 - ESPECIFICAÇÃO DO LOTE DE CACHAÇA UTILIZADO NA PESQUISA.....	37
QUADRO 3 - CARACTERÍSTICAS DA CÁPSULA DE CERÂMICA.....	39

## LISTA DE ABREVIATURAS

mg	- miligrama
µg	- micrograma
g	- grama
kg	- quilograma
n°	- número
v.	- volume
L	- litro
vol.	- volume (unidade de medida)
hL	Hectolitro
t	Tonelada
ed.	- edição
Ed.	- Editor
et al.	- et alli
pH	- potencial hidrogeniônico

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia

IFOAM - International Federation of Organic Movements

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Mín. - mínimo

Máx. - máximo

FDA - Food and Drug Administration

UFPR - Universidade Federal do Paraná

UFLA - Universidade Federal de Lavras

ITEP - Instituto de Tecnologia de Pernambuco

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>12</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS DO TRABALHO.....</b>	<b>13</b>
2.1	OBJETIVO PRINCIPAL.....	13
2.2	OBJETIVOS SECUNDÁRIOS.....	13
<b>3</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>14</b>
3.1	REGULAMENTAÇÕES DA AGUARDENTE DE CANA BRASILEIRA .....	14
3.2	PROCESSO DE FABRICAÇÃO.....	16
3.2.1	Matéria-prima.....	17
3.2.2	Fermentação.....	17
3.2.3	Destilação.....	18
3.2.4	Envelhecimento .....	19
3.3	CONGÊNERES.....	21
3.3.1	Ácidos orgânicos .....	21
3.3.2	Aldeídos.....	23
3.3.2.1	Furfural e hidroximetilfurfural .....	24
3.3.3	Ésteres.....	25
3.3.4	Álcoois superiores .....	26
3.4	CONTAMINANTES .....	28
3.4.1	Cobre.....	28
3.4.2	Carbamato de etila .....	28
3.4.3	Metanol.....	29
3.4.4	Acroleína.....	30
3.5	MICRO-OXIGENAÇÃO .....	30
3.5.1	Reações de oxidação .....	33
3.6	ANÁLISE SENSORIAL DE BEBIDAS .....	34
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>36</b>

4.1	FASES DO DESENVOLVIMENTO DA PESQUISA .....	36
4.2	REALIZAÇÃO DOS ENSAIOS .....	36
4.2.1	Local de execução dos testes e cachaças utilizadas.....	36
4.2.2	Equipamento de micro-oxigenação .....	37
4.2.3	Execução da micro-oxigenação.....	39
4.3	Análises Físico-Químicas .....	41
4.3.1	Análises de rotina .....	42
4.4	ANÁLISE SENSORIAL.....	46
4.4.1	Teste com julgadores não treinados.....	47
4.4.2	Teste com julgadores treinados.....	48
4.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	51
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES .....</b>	<b>54</b>
5.1	Resultados Físico-Químicos .....	54
5.2	Resultados Sensoriais com Julgadores não Treinados .....	59
5.3	Resultados Sensoriais com Julgadores Treinados .....	60
<b>6</b>	<b>- CONCLUSÕES.....</b>	<b>65</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>66</b>
	<b>ANEXOS .....</b>	<b>77</b>
	<b>ANEXO 1 - ANÁLISES DE VARIÂNCIA DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS</b>	<b>77</b>
	<b>ANEXO 2 - ANÁLISES DE VARIÂNCIA DOS TESTES SENSORIAIS COM</b>	
	<b>JULGADORES NÃO TREINADOS.....</b>	<b>80</b>
	<b>ANEXO 3 - ANÁLISES DE VARIÂNCIA DOS TESTES SENSORIAIS COM</b>	
	<b>JULGADORES TREINADOS .....</b>	<b>81</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A produção de cachaça no Brasil gera mais de 1 bilhão de litros e o mercado de cachaça possui cerca de 5 mil marcas registradas no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. Essa grande oferta de produto tem acirrado a competição entre as empresas, levando-as a uma busca constante pela qualidade como diferencial de mercado.

O processo de fabricação vem sendo melhorado e investimentos em inovação mudam o perfil do produto e do processo. Pesquisas sobre a composição química da cachaça mostram a importância da tecnologia de produção para a obtenção de cachaça de qualidade.

No processo de fabricação da cachaça são originados diversos compostos chamados de “compostos secundários”, tais como aldeídos, álcoois, ácidos e ésteres que apresentam grande influência na qualidade final do produto. São produzidos também compostos indesejáveis que possuem toxicidade, como o metanol e o carbamato de etila, que podem colocar em risco a saúde do consumidor.

A micro-oxigenação é uma técnica relativamente nova, aplicada na produção de vinho, que envolve a adição de pequenas quantidades controladas de oxigênio em vários estágios do processo de vinificação. O desenvolvimento da micro-oxigenação foi parcialmente motivado pela necessidade de encontrar maneiras de reproduzir os benefícios do envelhecimento do vinho em barril em menor tempo e menor custo em um mercado cada vez mais competitivo.

Os pioneiros da micro-oxigenação afirmam que a técnica resulta em melhoria de cor, estrutura e sabor dos vinhos tratados. Sendo os compostos fenólicos, responsáveis pela cor e estrutura do vinho, a base da melhoria reivindicada, devido a reações bioquímicas entre os fenóis e o oxigênio.

São raros os estudos sobre micro-oxigenação em cachaça e a literatura não traz dados conclusivos sobre o tema. O uso dessa técnica em cachaça é importante para a compreensão do potencial de impacto da micro-oxigenação na qualidade química e sensorial da bebida, bem como seus benefícios e prejuízos causados pela exposição da bebida ao oxigênio. Este trabalho busca fazer uma avaliação do impacto da micro-oxigenação na composição química e sensorial da cachaça.

## 2 OBJETIVOS DO TRABALHO

### 2.1 OBJETIVO PRINCIPAL

Este trabalho tem como objetivo principal avaliar o efeito da micro-oxigenação na composição química e nos atributos sensoriais da cachaça, usando diferentes doses de oxigênio aplicados durante um tempo determinado.

### 2.2 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS

- ✓ Determinar o efeito de diferentes doses de oxigênio no processo de micro-oxigenação;
- ✓ Determinar possíveis riscos com a adoção da técnica, como a formação de contaminantes no produto;
- ✓ Avaliar o processo em função do fator tempo, com a análise das mudanças químicas e sensoriais na cachaça;
- ✓ Analisar o efeito do processo de micro-oxigenação sobre os atributos sensoriais das cachaças micro-oxigenadas.
- ✓ Identificar os principais benefícios do método sobre a qualidade química e sensorial do produto;

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 REGULAMENTAÇÕES DA AGUARDENTE DE CANA BRASILEIRA

A legislação brasileira define os produtos aguardente e cachaça. Na Instrução Normativa Nº 13 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, de 29 de junho de 2005, “Aguardente de cana é a bebida com graduação alcoólica de 38% vol. (trinta e oito por cento em volume) a 54% vol. (cinquenta e quatro por cento em volume) a 20°C (vinte graus Celsius), obtida do destilado alcoólico simples de cana-de-açúcar ou pela destilação do mosto fermentado de cana-de-açúcar, podendo ser adicionada de açúcares até 6 g/L (seis gramas por litro), expressos em sacarose”.

Pela mesma Instrução, “Cachaça é a denominação típica e exclusiva da aguardente de cana produzida no Brasil, com graduação alcoólica de 38% vol. (trinta e oito por cento em volume) a 48% vol. (quarenta e oito por cento em volume) a 20°C (vinte graus Celsius), obtida pela destilação do mosto fermentado de cana-de-açúcar com características sensoriais peculiares, podendo ser adicionada de açúcares até 6 g/L (seis gramas por litro), expressos em sacarose”. Desse modo, a cachaça seria uma aguardente de cana-de-açúcar.

A qualidade da aguardente de cana produzida no Brasil é regulamentada pela Instrução Normativa Nº 13, de 29 de junho de 2005 (BRASIL, 2005a) e pelo Decreto Federal nº 2314, de 04 de setembro de 1997, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas (BRASIL, 1997).

Na Tabela 1, são mostrados os padrões de identidade e qualidade da cachaça, regulamentados pela Instrução Normativa Nº 13 de 29 de junho de 2005.

Os compostos secundários (congêneres) apresentam grande importância na determinação da qualidade do produto final e podem ser representados pela soma da acidez volátil (expressa em ácido acético), ésteres totais (expressos em acetato de etila), aldeídos (expressos em acetaldeído), furfural + hidroximetilfurfural e álcoois superiores (expressos pela soma dos álcoois n-propílico, isobutílico e isoamílicos). A instrução normativa nº 13 estabelece limites máximos para esses compostos.

TABELA 1 - PADRÕES DE IDENTIDADE E QUALIDADE DE CACHAÇA, REGULAMENTADAS PELA LEGISLAÇÃO BRASILEIRA

Componente	Unidade	Limite	
		Mín.	Máx.
Graduação alcoólica	mg/100 mL de álcool anidro	38°GL	48°GL
Acidez volátil, expressa em ácido acético	mg/100 mL de álcool anidro	-	150
Ésteres totais, expresso em acetato de etila	mg/100 mL de álcool anidro	-	200
Aldeídos, em acetaldeídos	mg/100 mL de álcool anidro	-	30
Soma de furfural e hidroximetilfurfural	mg/100 mL de álcool anidro	-	5
Soma de alcoóis superiores*	mg/100 mL de álcool anidro	-	360
Coefficiente de congêneres**	mg/100 mL de álcool anidro	200	650

Contaminantes	Unidade	Limite	
		Mín.	Máx.
Álcool metílico	mg/100 mL de álcool anidro		20
Carbamato de etila	µg/L		150
Acroleína (2-propenal)	mg/100 mL de álcool anidro		5,0
Álcool sec-butilico (2-butanol)	mg/100 mL de álcool anidro		10,0
Álcool n-butilico (1-butanol)	mg/100 mL de álcool anidro		3,0
Cobre (Cu)	mg/L		5,0
Chumbo (Pb)	µg/L		200
Arsênio (As)	µg/L		200

\* Alcoóis superiores = (isobutilico + isoamílicos + n-propílico)

\*\* Congêneres = (Acidez volátil + ésteres + aldeídos + furfural + hidroximetilfurfural + alcoóis superiores).

**Fonte:** BRASIL (2005)

Segundo Maia & Campelo (2005), além de atender as exigências legais, a cachaça geralmente é mais valorizada quando seus teores de componentes secundários situam-se em determinadas faixas, conforme a Tabela 2.

TABELA 2 - CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS VALORIZADAS NA CACHAÇA DE ALAMBIQUE

Parâmetro	Unidade	Faixa (*)
Teor alcoólico	°GL	38-40
Acidez volátil, em ácido acético	mg/100 mL etanol	60 – 120
Aldeídos, em acetaldeídos	mg/100 mL etanol	5 – 15
Ésteres, em acetato de etila	mg/100 mL etanol	80 – 180
Álcoois superiores (3 a 5 carbonos)	mg/100 mL etanol	80 – 180
Furfural	mg/100 mL etanol	Ausente
Metanol	mg/100 mL etanol	Ausente
Cobre	mg/L	0,5 – 1,5

\* Os valores são mais estreitos que os limites legais para a bebida

**Fonte:** MAIA & CAMPELO (2005).

### 3.2 PROCESSO DE FABRICAÇÃO

A Figura 1 representa o fluxograma básico da produção de cachaça. A produção se inicia com a obtenção do caldo da cana-de-açúcar com o auxílio de moendas e a separação do bagaço, seguida de uma filtração para separar o bagacilho (CARDOSO, 2001). O caldo, denominado de mosto está pronto para ser fermentado na presença de fermento, usualmente o “pé-de-cuba”. Terminada a fermentação do mosto, onde o caldo passa a ser chamado de “vinho”, é feita uma sedimentação e separação do fermento, estando o “vinho” pronto para a destilação. Na destilação são separadas as frações de cabeça, coração e cauda, sendo que a cachaça é a fração intermediária, ou seja, a fração coração. A cachaça pode ser imediatamente engarrafada ou pode ser envelhecida em tonéis de madeira (MAIA *et al.*, 1995; LIMA, 2001).

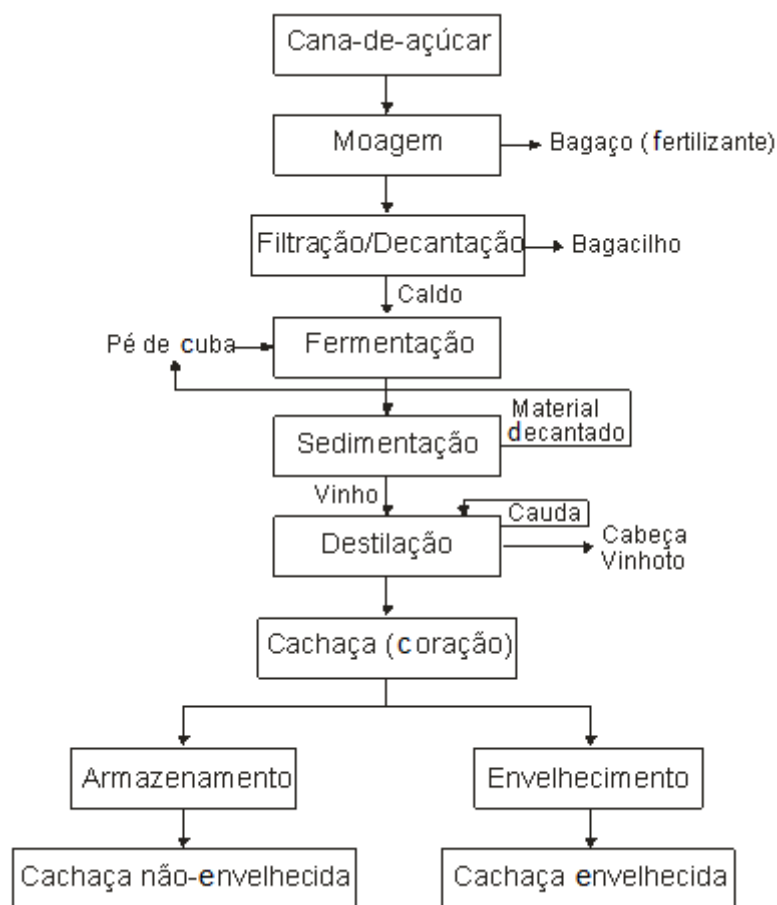


FIGURA 1- FLUXOGRAMA DO PROCESSO DE PRODUÇÃO DE CACHAÇA

### 3.2.1 Matéria-prima

A cana-de-açúcar é uma gramínea tropical pertencente à classe das Monocotiledôneas, família Poaceae (Gramineae), gênero *Saccharum* e espécie *Saccharum* spp. Tem sua origem na Oceania (Nova Guiné) e Ásia (Índia e China). As variedades de cana são usadas na indústria na produção de açúcar, álcool, aguardente, cachaça ou forragem (ANDRADE, 2003).

Os maiores produtores mundiais de cana-de-açúcar são o Brasil, Índia e Cuba, sendo o Brasil o principal produtor (2,7% da produção mundial), com uma área de aproximadamente de 7,0 milhões de hectares e cerca de 550 milhões de t.ano<sup>-1</sup>. São Paulo é o estado de maior expressão com 300 milhões de t.ano<sup>-1</sup> e aproximadamente 55% da produção brasileira, onde a produção gira em torno de 79 t.ha<sup>-1</sup> no Brasil (CORREA, 2007).

No Brasil, entre as variedades existentes para produzir açúcar e álcool é feita uma seleção dessas variedades para que se possa utilizar na produção de cachaça de alambique (ANDRADE *et al.*, 2002).

### 3.2.2 Fermentação

A fermentação alcoólica é responsável pela transformação dos açúcares em gás carbono e etanol, além da formação de uma série de outros compostos secundários responsáveis pela qualidade da cachaça (YOKAYA, 1995).

É realizada pela levedura *Saccharomyces cerevisiae* por meio de uma via principal chamada de *Embden-Meyerhoff-Parnas* (EMP), conforme representado na Figura 2 de forma simplificada. Essa visão bioquímica do processo é pouco lembrada pelos produtores. É comum fazer a divisão do processo de fermentação do caldo em três fases distintas: a fase preliminar, a principal (tumultuosa) e a complementar.

Segundo Faria (2000) e Mutton & Mutton, (2005), a fase preliminar é a responsável pela multiplicação celular. Nessa fase há um aumento do número de células de levedura, atingindo uma população capaz de fermentar o mosto em um tempo adequado. A duração desta fase gira em torno de 4 horas, durante esse tempo há um pequeno aumento da temperatura do caldo, baixa produção de gás

carbônico e pequena produção de álcool. A fase principal ou tumultuosa dura cerca de 12 a 16 horas e é onde se observa a intensa produção de  $\text{CO}_2$ , a densidade do mosto diminui e a temperatura aumenta, assim como a porcentagem de álcool e a acidez. A fase complementar dura cerca de 4 a 6 horas e se caracteriza pelo declínio da produção de  $\text{CO}_2$  e da temperatura, enquanto o açúcar restante é consumido pelas leveduras.

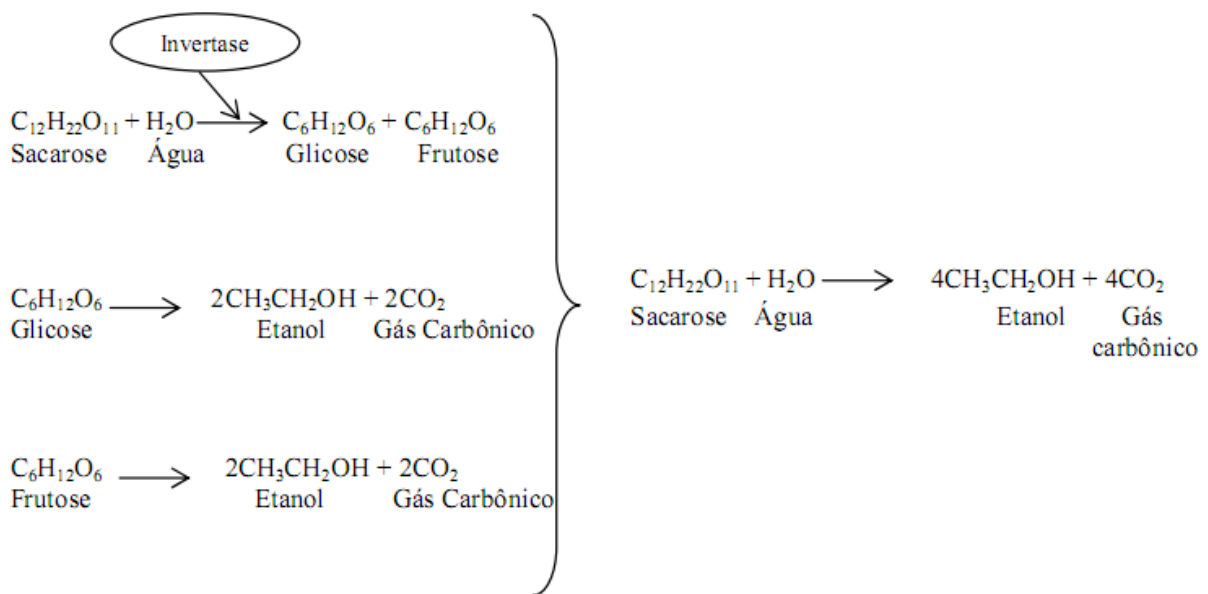


FIGURA 2 - VIA SIMPLIFICADA DE EMBDEN-MEYERHOFF-PARNAS (EMP)

Os principais produtos da fermentação são o álcool etílico e o dióxido de carbono que são chamados de compostos primários, porém existem outros compostos que são formados na fermentação e são denominados compostos secundários ou congêneres, que contribuem para o sabor e aroma final da cachaça (MASSON, 2005). Os principais produtos formados são: glicerol, ácido acético, acetato de etila, álcoois isoamílicos (2-metil butanol-1; 3-metil butanol-1), 2,3-butanodiol, acetaldeído e ésteres (SCHWAN & CASTRO, 2001).

### 3.2.3 Destilação

A destilação é o processo final da produção da cachaça e consiste na vaporização do mosto fermentado “vinho”, produzindo assim vapores que

posteriormente serão condensados, concentrando e purificando o etanol (SORATTO *et al.*, 2007). Esse vinho também contém compostos secundários que são destilados segundo seu ponto de ebulição; afinidade com o álcool ou água; e teor alcoólico no vapor durante a destilação (LÉAUTÉ, 1990).

Segundo Maia (1994), na etapa de destilação, o destilado é dividido em três frações diferentes, sendo elas:

- A “Cabeça”, que são as primeiras frações recolhidas no alambique;
- O “Coração”, que é a fração que corresponde à cachaça;
- A “Cauda” ou “Água fraca”, que é a última fração do destilado, que junto com a cabeça, devem ser separadas do produto final.

A primeira fração do destilado tem em sua composição compostos mais voláteis que o álcool, como os aldeídos, metanol e ésteres. Já a fração “Coração” tem em sua composição o álcool etílico, a maioria dos aldeídos, ésteres, álcoois superiores e os ácidos voláteis. E a última fração é constituída pelos compostos menos voláteis que o álcool etílico, como alguns ácidos voláteis e o furfural (YOKOYA, 1995; BOZA & HORII, 2000).

A destilação da cachaça pode ser processada por dois métodos que são o contínuo, que ocorre em coluna de destilação, e por batelada em alambiques, onde normalmente o material de construção é o cobre (CHAVES & PÓVOA, 1992).

O melhor material para a fabricação dos alambiques é o cobre, pois ele tem influência positiva na qualidade da cachaça (FARIA, 1989). O cobre catalisa reações de oxidação dos compostos sulfurados, indesejáveis na bebida (FARIA *et al.*, 1993; AMPAQ, 1995).

#### 3.2.4 Envelhecimento

A aguardente após a destilação possui um sabor ardente e seco, sendo assim, o envelhecimento é um processo de grande importância para o “amaciamento” dessa aguardente, pois causa inúmeras alterações físico-químicas que proporcionam o melhoramento de suas propriedades organolépticas (AQUARONE *et al.*, 2001).

Segundo Mosedale & Puech (1998), essa mudança de aroma e de sabor da cachaça envelhecida refere-se a alterações na composição e na quantidade dos compostos presentes na cachaça que são causados por diversos fatores, tais como:

- Extração de macromoléculas que formam a estrutura da madeira, como lignina, celulose e hemicelulose;
- Reações entre os compostos do destilado e da madeira;
- Reação entre os próprios extrativos da madeira;
- Reação entre os próprios componentes do destilado;
- Evaporação dos compostos voláteis

Os principais compostos extraídos da madeira dos barris pelos destilados são: óleos voláteis, substâncias tânicas, açúcares, glicerol e ácidos orgânicos não voláteis, que modificam o aroma, o sabor e a coloração da bebida (NISHIMURA & MATSUYAMA, 1989).

Para se obter um efeito positivo e desejável na cachaça, a bebida deve ser envelhecida por um período de um a três anos (MAIA & CAMPELO, 2005).

Segundo Reazin (1981), as alterações químicas que ocorrem durante o envelhecimento consistem especialmente em reações de esterificação e de oxidação, onde:

- Alcoóis reagindo com oxigênio formam aldeídos;
- Aldeídos em contato com oxigênio formam ácidos;
- Ácidos em contato com alcoóis originam ésteres.

A presença de oxigênio no envelhecimento de bebidas se deve à porosidade da madeira usada nos tonéis. A madeira permite a passagem lenta de ar pelos poros, garantindo um aporte contínuo de pequenas quantidades de oxigênio à bebida (VIVAS, 2005). O papel da madeira não é apenas de recipiente poroso, que permite a passagem do ar. A madeira contribui adicionando novos compostos químicos para a bebida, em uma atividade aditiva (CONNER *et al.*, 2003) que afeta diretamente o aroma, o sabor e a cor do produto.

Porém, os compostos da madeira não possuem somente esta ação direta sobre as características da bebida. Segundo a pesquisa de Nishimura e Matsuyama (1989), as próprias mudanças químicas causadas pelo oxigênio no envelhecimento

são influenciadas pela madeira. Assim, reações entre o oxigênio e os compostos da cachaça não-envelhecida dependeriam da presença de compostos da madeira.

O conhecimento do processo de envelhecimento de cachaça requer estudos sobre a participação do oxigênio e da madeira no processo. Como estes fatores interagem de modo isolado e associado com os compostos químicos da bebida. Para isto é necessário isolar cada um destes fatores, para assim poder estudá-los individualmente.

### 3.3 CONGÊNERES

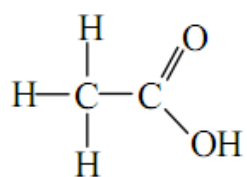
Os principais componentes das bebidas destiladas são o etanol e a água, além de uma série de outros compostos voláteis formados principalmente durante as etapas de fermentação, destilação e armazenagem da bebida (CARDOSO, 2006). Os compostos secundários conferem características peculiares à cachaça, como o aroma e sabor, definindo junto com os compostos principais o chamado “*Flavor*” da bebida (FARIA, 1989; MAIA, 1994).

#### 3.3.1 Ácidos orgânicos

Os ácidos orgânicos são caracterizados pela presença do grupo carboxila (-COOH) em sua estrutura (ALLINGER, 1978). Dentre os ácidos orgânicos, os voláteis são os mais encontrados em bebidas destiladas e são representados principalmente pelo ácido acético (ROSE, 1977).

O ácido acético representa cerca de 60% a 95% da acidez total nas bebidas destiladas (NYKANEN & NYKANEN, 1991), sendo que a acidez total é composta pela acidez volátil e fixa.

A fórmula estrutural do ácido acético encontra-se representada na Figura 3.



Ácido acético

FIGURA 3 - FÓRMULA ESTRUTURAL DO ÁCIDO ACÉTICO

A cachaça com uma acidez muito elevada promove um sabor indesejável e “agressivo” prejudicando a qualidade da bebida (CHERUBIN, 1998). Essa alta acidez pode ser causada por fatores relacionados a contaminações por bactérias acéticas e outras, que podem ocorrer desde a obtenção da matéria-prima, durante a estocagem do caldo de cana após a moagem, e mesmo após a fermentação, quando a destilação do vinho não é realizada logo após o final do processo fermentativo.

Os ácidos são importantes precursores dos ésteres (BERRY & WATSON, 1987). Os ácidos reagem com os álcoois presentes, aumentando a formação de ésteres, que são um dos constituintes responsáveis pelo aroma.

A Tabela 3 apresenta os principais ácidos orgânicos encontrados em destilados.

TABELA 3 – PROPRIEDADES DE AROMA E SABOR DOS ÁCIDOS ORGÂNICOS E SEUS RESPECTIVOS LIMIARES DE PERCEPÇÃO

Ácidos Orgânicos	Aroma e/ou Sabor	Limiares de Percepção
Fórmico	Azedo, adstringente	46 ppm
Acético	Vinagre, azedo	10 ppm
Propiônico	Ranço, queijo	5 ppm
Butírico	Ranço, azedo	240 ppb
Valérico	Ranço, azedo, nozes, queijo	940 ppb
Hexanóico	Ranço, azedo, queijo	93 ppb
Octanóico	Desagradável, ranço, azedo	910 ppb
Decanóico	Desagradável, ranço	2,2 ppm
Láurico	Oleoso	-
Mirístico	Oleoso, ranço	10 ppm
Palmítico	Sem sabor, inodoro	10 ppm
Lático*	Azedo	36 ppm
Málico	Picante, fracamente amargo	67 ppm
Pirúvico	Azedo, Pungente	246,6 ppm
Succínico	Azedo	34 ppm
Cítrico	Salgado, Picante	442 ppm
Glutamálico	*	*
Citramálico	*	*
Malônico	*	*
Oxálico	*	*
Glicólico	*	*

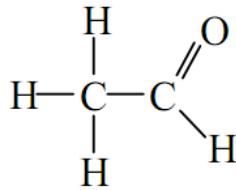
\* = não há informações

Fonte: BURDOCK (2005)

### 3.3.2 Aldeídos

O principal aldeído formado na fermentação alcoólica é o acetaldeído (RIGOTT, 1989; PIGGOTT e PATERSON, 1989). São formados principalmente durante a fermentação e são considerados produtos intermediários da rota biossintética de ácidos ou álcoois formados através da descarboxilação de alfa-cetoácidos pela ação da piruvato descarboxilase (SUOMALAINEN, 1979).

A Figura 4 representa a formula estrutural do principal aldeído presente na aguardente de cana.



Acetaldeído

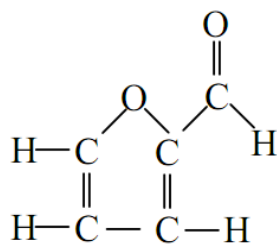
FIGURA 4 - FÓRMULA ESTRUTURAL DO ACETALDEÍDO

O acetaldeído tem um baixo limiar sensorial, sendo muito importante para o “flavour” da bebida. Além de ser formado durante a fermentação, é formado também pela oxidação do álcool etílico (NYKANEN & NYKANEN, 1983).

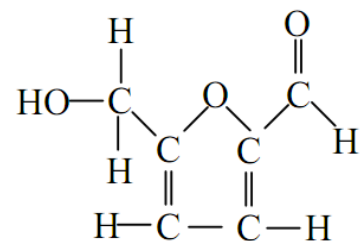
### 3.3.2.1 Furfural e hidroximetilfurfural

A presença dos aldeídos furfural e hidromimetilfurfural não está associada com a fermentação e sim com alguns fatores, tais como a queima da cana, pirogenação de cetoses e hexoses residuais na destilação, e do envelhecimento (MAIA, 1994; CARDOSO, 2006).

As pentoses formam furfural como principal produto de degradação e as hexoses formam o 5-hidroximetilfurfural. A Figura 5 representa a fórmula estrutural desses aldeídos.



Furfural



5-hidroximetilfurfural

FIGURA 5 - FÓRMULA ESTRUTURAL DO FURFURAL E HIDROXIMETILFURFURAL

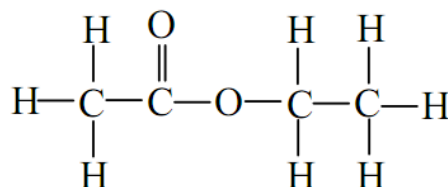
Segundo Cherubin (1998), embora esses aldeídos apresentem elevada toxicidade, eles não representam grandes problemas devido à baixa concentração em cachaças.

### 3.3.3 Ésteres

Os ésteres representam o maior grupo de componentes responsáveis pelo aroma de bebidas destiladas (HART & SCHUETZ, 1983). O principal éster encontrado na cachaça é o acetato de etila, que em baixas concentrações incorpora um aroma agradável de frutas à bebida, porém, em altas concentrações, a bebida adquire um sabor indesejável e enjoativo (WINHOLZ, 1976).

Os ésteres são produzidos no metabolismo secundário das leveduras durante a fermentação alcoólica e durante o envelhecimento pela esterificação de ácidos graxos com o etanol (FARIA *et al.*, 2003).

A Figura 6 representa o principal éster encontrado na aguardente de cana.



Acetato de etila

FIGURA 6 - FÓRMULA ESTRUTURAL DO ACETATO DE ETILA

O acetato de etila em concentrações abaixo de 75 mg L<sup>-1</sup> não contribui com o aroma da bebida e para concentrações acima de 200 mg L<sup>-1</sup> confere um aroma desagradável (ETIÉVANT, 1991).

A Tabela 4 lista alguns ésteres de maior relevância em bebidas destiladas.

TABELA 4 - PROPRIEDADES FÍSICAS E QUÍMICAS DOS ÉSTERES

Nome	Massa molecular	Ponto de ebulição	Aroma
Acetato de etila	88,12	77,06	Solvente; Frutado; Abacaxi
Butanoato de etila	116,16	121	Maçã; Banana; Doce; Frutado
Hexanoato de etila	144,22	168	Banana; Abacaxi; Doce; Frutado; Conhaque; Maçã verde
Lactato de etila	118,13	151	Frutado
Octanoato de etila	172,27	208,5	Frutado; Banana; Abacaxi; Damasco; Vinho; Floral
Nonanoato de etila	186,3	227	Frutado
Decanoato de etila	200,33	241,5	Maçã; Conhaque; Uva; Doce; Frutado; Oleoso
Octanoato de isoamila	198,31	267	Frutado; Floral
Dodecanoato de etila	228,38	269	Frutado; Floral

**Fonte:** WEAST (1971); FERREIRA *et al.*, (1999); CROW *et al.*, (2004).

### 3.3.4 Álcoois superiores

Os álcoois superiores, conhecidos também como óleo fúsel, desempenham um papel importante no aroma de bebidas alcoólicas (RANKINE, 1967; SUOMALAINEN, 1971). Os principais álcoois superiores encontrados nas aguardentes de cana são o álcool isoamílico (3 metil butanol-1), amílico (2 metil butanol-1), n-propílico (propanol-1) e isobutílico (2 metil propanol-1) (WEBB & INGRAHAM, 1963; ALMEIDA & BARRETO, 1973).

A formação desses alcoóis superiores pelas leveduras se dá pela descarboxilação de cetoácidos intermediários da biossíntese de aminoácidos, seguida de redução de aldeídos pela desidrogenase alcoólica conforme descrito por WEBB & INGRAHAM (1963).

A Figura 7 representa os principais álcoois superiores presentes na aguardente de cana.

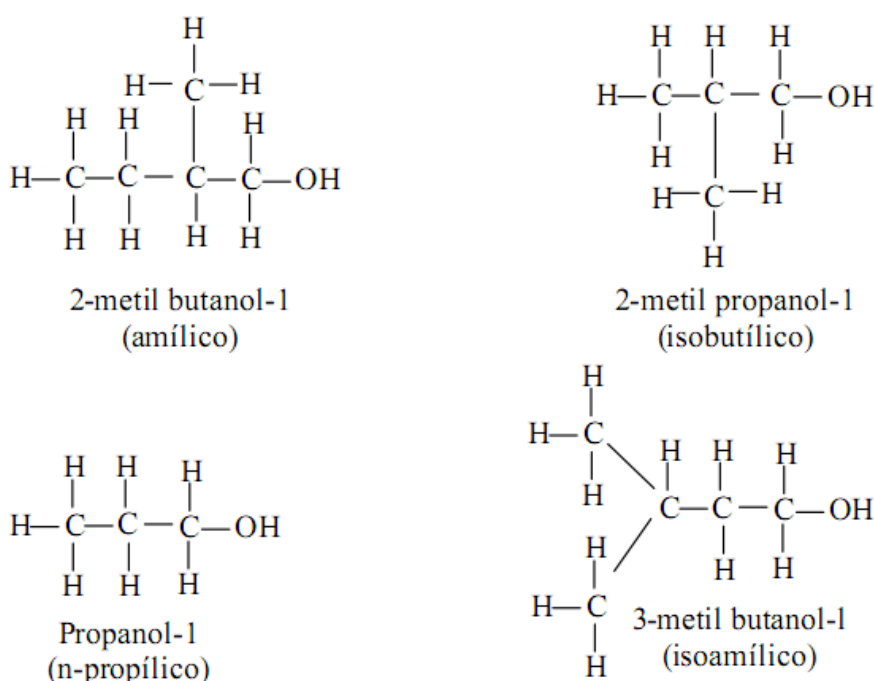


FIGURA 7 - FÓRMULA ESTRUTURAL DOS ÁLCOOIS SUPERIORES

Vários fatores influenciam a formação de alcoóis superiores, tais como a matéria-prima, espécie e linhagem da levedura, temperatura de fermentação, composição e pH do meio de fermentação, concentração inicial de levedura, aeração e presença de outros micro-organismos contaminantes (MAIA, 1994).

Souza e Llistó (1978) citados por Jeronimo (2004) descrevem que em concentrações altas de alcoóis superiores, a qualidade e o valor comercial das aguardentes diminuem e que os alcoóis superiores devem estar em quantidades proporcionais aos teores de ésteres para se ter uma aguardente de boa qualidade.

Os alcoóis superiores podem sofrer reações de esterificação durante o envelhecimento sendo seus ésteres aromaticamente mais agradáveis ao paladar (NYKANEN & NYKANEN, 1991).

### 3.4 CONTAMINANTES

#### 3.4.1 Cobre

A contaminação de cobre na cachaça ocorre na etapa de destilação, pois é o metal de construção dos alambiques. O cobre quando se oxida fica coberto por uma camada esverdeada (“azinhavre”) composta por  $[\text{CuCO}_3\text{Cu}(\text{OH})_2]$ . Durante a destilação, essa camada é dissolvida e arrastada pelos vapores alcoólicos ácidos, contaminando a bebida (BOZA & HORII, 2000).

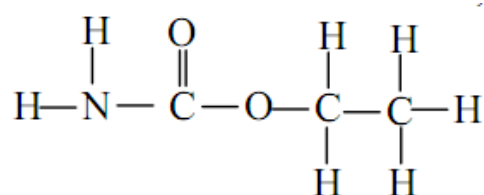
O cobre em excesso pode ser tóxico ao organismo (hipercupremia) devido à sua afinidade com grupos S-H de muitas proteínas e enzimas, causando doenças como a epilepsia, melanoma e artrite reumatoide, bem como a perda de paladar (SARGENTELLI *et al.*, 1996).

Destiladores produzidos com materiais que não seja o cobre apresentam compostos sulfurados, conferindo um defeito organoléptico à cachaça. Já em destiladores de cobre, muitos pesquisadores atribuem ao metal o papel de catalisador durante a destilação, além de eliminar determinados odores desagradáveis, como os sulfetos (NASCIMENTO *et al.*, 1998).

#### 3.4.2 Carbamato de etila

Carbamato de etila, ou uretano, ou etiluretana, é o éster etílico do ácido carbâmico e tem fórmula molecular  $\text{H}_2\text{NCOOC}_2\text{H}_5$  e massa molar de 89,09 g/mol. Tem ponto de fusão entre 48° e 50°C e ponto de ebulição entre 182° e 184° C (NOVAES, 1996; NAGATO *et al.*, 2003).

A Figura 8 representa a fórmula do carbamato de etila.



Carbamato de etila

FIGURA 8 - FÓRMULA ESTRUTURAL DO CARBAMATO DE ETILA

É um composto potencialmente carcinogênico (SCHLATTER, 1995), formado por diferentes vias nas bebidas destiladas, sendo geralmente pela reação entre o etanol e precursores nitrogenados, como a uréia, o fosfato de carbamila e o cianeto (COOK *et al.*, 1990).

O íon cianeto (CN<sup>-</sup>) é o precursor de maior importância para a formação de carbamato de etila em bebidas destiladas (MACKENZIE *et al.*, 1990) e que na presença de cobre se oxida, formando um complexo que pode dar origem ao carbamato de etila (ARESTA *et al.*, 2001).

A Figura 9 representa o mecanismo da complexação do cianeto pelo Cu<sup>2+</sup> (1), posteriormente a oxidação a cianogênio (2) e a transformação a cianato (3). O cianato pode reagir com o etanol e formar o carbamato de etila (4) (BOSCOLO, 2001)

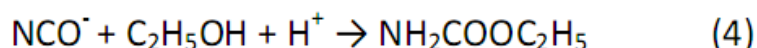
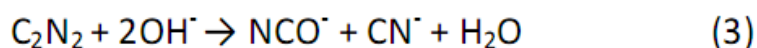
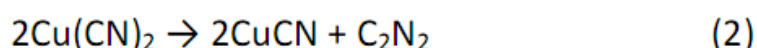
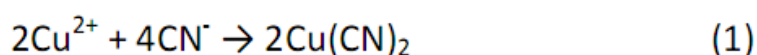


FIGURA 9 - REAÇÕES QUE ENVOLVEM A FORMAÇÃO DO CARBAMATO DE ETILA, COM O PRECURSOR CIANETO E PARTICIPAÇÃO DO COBRE.

Uma medida preventiva para evitar a interação do Cu<sup>2+</sup> com precursores do carbamato de etila (principalmente o cianeto) em cachaça é trocar as partes descendentes dos aparelhos de destilação de cobre para o aço inoxidável (BOSCOLO, 2001; ANDRADE SOBRINHO, 2002).

### 3.4.3 Metanol

O metanol é um álcool indesejável na aguardente (WINDHOLSZ, 1976). É um álcool tóxico originado pela degradação de um polissacarídeo presente na cana-de-açúcar, a pectina (MAIA, 1994).

A Figura 10 representa a estrutura química do metanol.

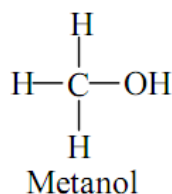


FIGURA 10 - FÓRMULA ESTRUTURAL DO METANOL

O metanol no organismo humano é oxidado a ácido fórmico e posteriormente a CO<sub>2</sub>, provocando uma acidose grave que diminui o pH sanguíneo, afetando assim o sistema respiratório, levando como consequência ao coma e até à morte (CARDOSO, 2001).

#### 3.4.4 Acroleína

A acroleína (2-propenal) é um aldeído de gosto amargo, odor penetrante e apimentado, formado pela desidratação do glicerol na presença de ácidos e temperatura elevada, quando em contato com as superfícies metálicas da coluna de destilação (NYKÄNEN & NYKÄNEN, 1991). A acroleína é altamente tóxica, irritante aos olhos e nariz (AMERINE *et. al.*, 1972).

A Figura 11 representa a fórmula estrutural da acroleína.

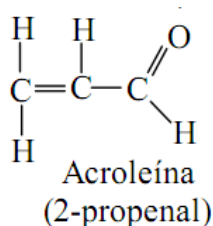


FIGURA 11 - FÓRMULA ESTRUTURAL DA ACROLEÍNA

### 3.5 MICRO-OXIGENAÇÃO

O processo de micro-oxigenação foi desenvolvido por Patrick Ducournau e a família Laplace em 1991 em Madiran na França (MOUTOUNET *et al.*, 2001), na tentativa de reproduzir as condições de envelhecimento em barris para a maturação

de vinho em tonéis de aço inoxidável e grandes vasos de cimento (DUCOURNAU & LAPLACE, 1995; LEMAIRE, 1995).

É uma técnica aplicada em vinhos e se baseia na introdução de pequenas doses de oxigênio na bebida, melhorando sua cor, aroma e textura (PARISH *et al.*, 2000; PAUL, 2002).

Quando o oxigênio entra em contato com a bebida, ele é consumido progressivamente pelos compostos fenólicos do vinho junto com os elagitaninos que catalisam os mecanismos de oxidação, gerando acetaldeído mediante oxidação do etanol. O acetaldeído intervém na condensação entre antocianos e taninos atuando como ponte de união e na formação de novos pigmentos de baixo peso molecular. A existência desses pigmentos produzem um incremento na estabilização da cor ao serem mais resistentes às variações de pH, à descoloração de sulfuroso e às oxidações dos antocianos dos vinhos. Devido a esses fenômenos oxidativos, se produz uma diminuição de antocianos e os taninos evoluem para formas mais polimerizadas diminuindo a adstringência (DURIGAN, 2008).

Segundo Gómez-Plaza (2003), tanto o envelhecimento em barrica como a micro-oxigenação produzem resultados similares, ao incrementar a cor e diminuir a adstringência.

Potencializar aromas e melhorar e estabilizar a cor dos vinhos tintos antes e durante o amadurecimento são os benefícios da micro-oxigenação. Assim, um dos efeitos da adição controlada de oxigênio é a modificação significativa tanto qualitativamente como quantitativamente da fração fenólica dos vinhos. (GONZÁLEZ-SANJOSÉ *et al.*, 2005).

As doses de oxigênio aplicadas em vinhos dependem do tipo do vinho e do estágio de maturação, podendo variar de 2 a 90 mg de O<sub>2</sub> /L de vinho / mês (DYKES, 2007).

Segundo Gómez-Plaza & Cano-López (2011), as principais características sobre o efeito da micro-oxigenação em vinhos incluem:

- Melhoria da saúde das leveduras durante a fermentação alcoólica;
- Aprimora a cor vermelha em vinhos tintos;
- Aprimora a estabilização da cor;
- Melhoria do gosto e da estrutura do vinho;
- Melhoria do aroma do vinho e remoção de sabores indesejáveis;

- Quando usado com chips de carvalho, a micro-oxigenação pode imitar o envelhecimento em barril carvalho.

Estudos sobre as aplicações da micro-oxigenação em vinho indicam que essa técnica pode ser realizada em qualquer etapa da produção, no entanto, os melhores resultados são obtidos quando o oxigênio é adicionado no fim da fermentação alcoólica e antes de começar a fermentação malolática (CASTELLARI *et al.*, 1998; PARISH *et al.*, 2000; GONZÁLEZ-SANJOSE *et al.*, 2008), já que dessa forma se assegura uma maior produção de etanal (acetaldeído) indispensável nas reações de formação de alguns desses novos pigmentos (SANCHEZ-IGLESIAS *et al.*, 2005).

Do ponto de vista sensorial, o tratamento de micro-oxigenação provoca um aumento de sabores frutados, integra o aroma de madeira, e reduz o aroma redutor, verde e herbáceo dos vinhos (ORTEGA-HERAS *et al.*, 2008).

No paladar, a micro-oxigenação tem uma ação claramente benéfica sobre a expressão áspera e de secura atribuída aos taninos. Com a polimerização, a percepção tânica é modificada, pois diminui a reatividade com as proteínas da saliva. Devido à micro-oxigenação, os vinhos ganham em estrutura e complexidade (FLANZY, 2005).

Segundo Flanzy (2000), é preferível proceder ao aporte de oxigênio quando a temperatura dos vinhos está compreendida entre 12 e 17°C. Abaixo dessa faixa, o consumo de oxigênio é muito pequeno com respeito aos aportes, e o oxigênio pode acumular-se no vinho. Acima de 17°C, a evolução é demasiadamente rápida e pode afetar o equilíbrio polifenólico do vinho.

Alguns problemas na qualidade química e sensorial do vinho podem surgir com a implementação da micro-oxigenação sem um controle da aplicação do método. Se o oxigênio for introduzido muito rápido, compostos aromáticos podem ser oxidados, pode ocorrer o escurecimento do vinho, e pode formar precipitados (RIBEREAU-GAYON *et al.*, 2000; PARISH *et al.*, 2000; COTTRELL, 2004). Oxidação excessiva pode também resultar em aumento dos níveis de acetaldeído, um composto que em níveis de limiar sensorial afeta adversamente o sabor e aroma do vinho (AMERINE & ROESSLER, 1976; PEYNAUD, 1996).

### 3.5.1 Reações de oxidação

Estudos sobre a oxidação de compostos orgânicos ocasionada por oxigênio tiveram seu início com a “explanação sobre a combustão por Lavoisier”, a qual marcou a entrada da química na era moderna (DONOHOE, 2000).

A oxidação de um substrato orgânico pode ser definida como a adição de oxigênio, a remoção de hidrogênio ou a remoção de elétrons desse composto (SHELDON & KOCHI, 1981).

Em contato com agentes oxidantes, os álcoois primários reagem (oxidam) formando primeiro um aldeído e então, com o aldeído sendo oxidado, um ácido carboxílico. Quando o produto da oxidação de um álcool primário é um aldeído ela é chamada normalmente de oxidação branda; por sua vez, quando o produto é um ácido carboxílico é chamada normalmente de oxidação enérgica, porém esses nomes podem variar. A oxidação de um álcool a aldeído ou cetona é também chamada de desidrogenação, ou seja, perda de hidrogênio.

A Figura 12 representa a reação de oxidação de álcool primário.

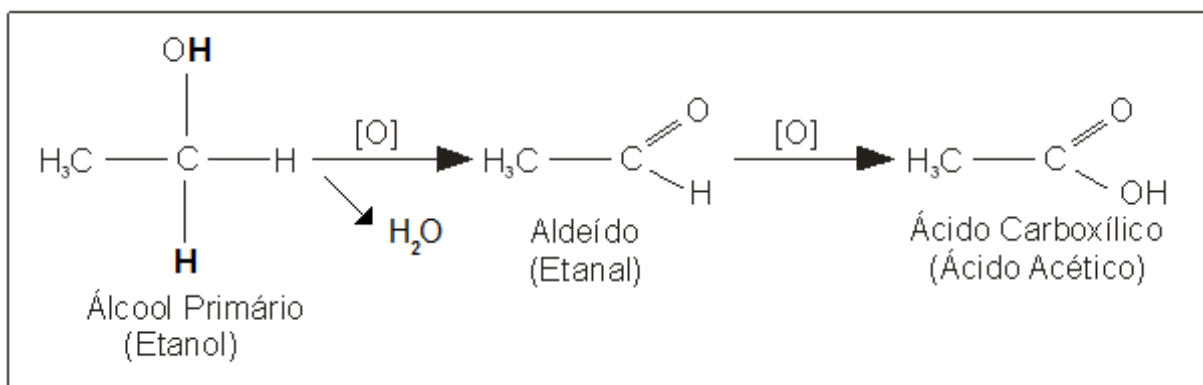


FIGURA 12 - REAÇÃO DE OXIDAÇÃO DE ÁLCOOL PRIMÁRIO

No esquema da Figura 12, os hidrogênios em destaque reagiram com o oxigênio do agente oxidante formando a água que foi retirada. Portanto, diz-se que a oxidação é um processo de "retirada de hidrogênio".

Os álcoois secundários, diferente dos primários, são oxidados em apenas uma forma, gerando sempre como produto uma cetona. A Figura 13 representa a reação de oxidação de álcool secundário.

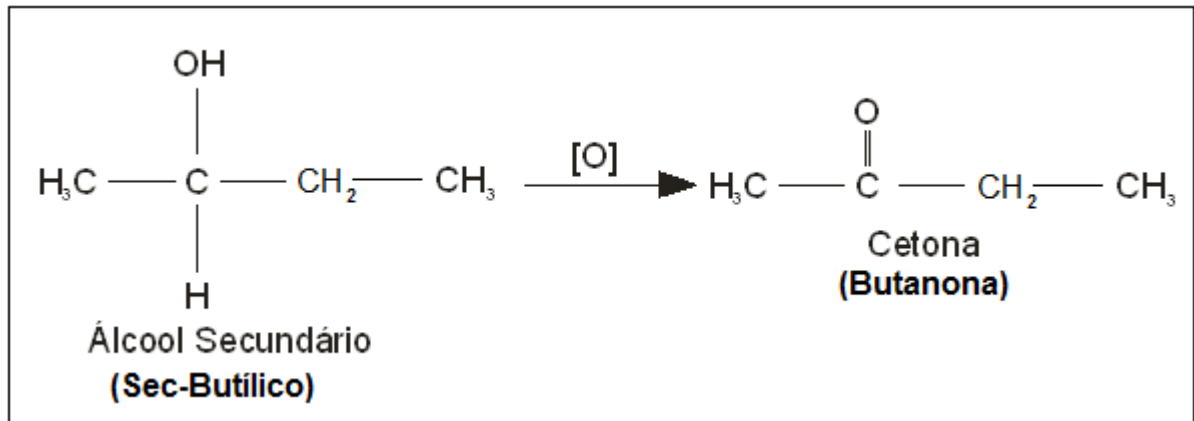


FIGURA 13 - REAÇÃO DE OXIDAÇÃO DE ÁLCOOL SECUNDÁRIO

### 3.6 ANÁLISE SENSORIAL DE BEBIDAS

De acordo com a definição da Associação Brasileira de Normas Técnicas - ABNT (1993), a análise sensorial é a disciplina científica usada para evocar, medir, analisar e interpretar reações das características dos alimentos e materiais como são percebidos pelos sentidos da visão, olfato, gosto, tato e audição.

A análise sensorial é uma ciência multidisciplinar que tem por objetivo a identificação e quantificação das características sensoriais de bebidas e alimentos. Suas vantagens são: identificar a presença ou ausência de diferenças perceptíveis, definir características sensoriais importantes do produto de forma rápida, detectar particularidades não verificadas por outros procedimentos analíticos e, ainda, ser capaz de avaliar a aceitação de produtos (MUÑOZ *et al.*, 1992).

A análise sensorial como ferramenta é um efetivo instrumento utilizado no controle de qualidade de um produto, sendo que por ela podemos detectar sabores e odores desejáveis e indesejáveis e associá-los a problemas ou acertos no processo (CHAVES, 1993; BOZA & HORII, 1998).

A análise sensorial é uma análise subjetiva, sendo que depende dos julgamentos de humanos por meio dos órgãos de sentido, que podem ser influenciados por fatores externos, tais como local da análise, estado emocional e saúde do julgador, condições e formas de apresentação da amostra em teste, etc. Porém, se for utilizada da maneira correta, produz ótimos resultados (CHAVES & SPROESSER, 1993).

Os testes afetivos têm por objetivo conhecer a opinião de um determinado grupo de consumidores em relação a um ou mais produtos. Compreendem os testes de preferência, que medem a preferência dos consumidores de um determinado produto sobre os demais e os testes de aceitação, que avaliam o quanto os consumidores gostam ou desgostam de um ou mais produtos. Já os métodos descritivos ou analíticos descrevem qualitativa e quantitativamente os componentes sensoriais de um produto por uma equipe de provadores treinados (MEILGAARD *et al.*, 1991).

Compostos como os ésteres, aldeídos, compostos fenólicos, ácidos orgânicos e álcoois amílico, butílico, propílico e outros são responsáveis pelo aroma e sabor da cachaça. São originados na fermentação e são passados para o destilado. Esses compostos diferenciam a qualidade de bebidas destiladas (AYLOTT, 2003).

Conhecer quais propriedades sensoriais caracterizam a aguardente de cana-de-açúcar recém destilada e envelhecida é fundamental para a obtenção de uma bebida de boa qualidade e aceitação.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 FASES DO DESENVOLVIMENTO DA PESQUISA

A pesquisa foi desenvolvida em diversas fases e locais, sendo assim, o Quadro 1 representa as fases do projeto em função dos locais onde foram realizadas as atividades.

<b>Local</b>	<b>Descrição da ação</b>
Agroecológica Marumbi	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Seleção da cachaça utilizada nos ensaios</li> <li>• Preparo do equipamento de micro-oxigenação</li> <li>• Realização dos ensaios da pesquisa</li> <li>• Coleta de amostras</li> </ul>
Universidade Federal de Lavras	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Realização de análises físico-químicas de rotina (MAPA)</li> </ul>
Instituto de Tecnologia de Pernambuco	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Realização de análises físico-químicas (MAPA)</li> </ul>
Universidade Federal do Paraná	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Realização das análises sensoriais das amostras micro-oxigenadas</li> </ul>
Escritório	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Análise e interpretações dos dados</li> <li>• Redação da dissertação</li> </ul>

QUADRO 1 – DESCRIÇÃO DAS FASES DA PESQUISA

### 4.2 REALIZAÇÃO DOS ENSAIOS

#### 4.2.1 Local de execução dos testes e cachaças utilizadas

Os experimentos foram realizados com cachaça não-envelhecida, para eliminar a influência do fator "madeira" nos resultados. A cachaça usada na pesquisa foi selecionada entre diferentes lotes de cachaça não-envelhecida, buscando lote com graduação alcoólica elevada e que estivesse de acordo com os requisitos legais (padrões de qualidade).

O lote selecionado foi produzido pela empresa Agroecológica Marumbi, produtora da cachaça Porto Morretes, localizada no município de Morretes, Litoral do Estado do Paraná. Além da produção da cachaça, os ensaios de micro-oxigenação também foram executados nessa empresa, selecionada em função de suas características (estrutura e controle do processo) e do apoio à realização da pesquisa.

Trata-se de um alambique de porte médio, com capacidade para produzir 100.000 L/ano, com eficientes sistemas de registro e controle da produção. Como a empresa já possui certificação orgânica (ECOCERT E IFOAM) e certificações de conformidade (INMETRO) dispõe de ferramentas para o controle de processo e de qualidade, com eficiente sistema de rastreabilidade de toda sua produção.

O Quadro 2 mostra as especificações do lote utilizado nesta pesquisa.

<b>Cachaça (Produto)</b>	<b>Descrição</b>	<b>Safra</b>	<b>Característica</b>
Porto Morretes	Cachaça não-envelhecida	2009	Cachaça produzida na safra 2009, armazenada em tanques de aço inox com capacidade para 35.000 litros

QUADRO 2 - ESPECIFICAÇÃO DO LOTE DE CACHAÇA UTILIZADO NA PESQUISA

#### 4.2.2 Equipamento de micro-oxigenação

O aparelho utilizado para micro-oxigenar a cachaça foi o MicroSafeO<sub>2</sub> da empresa AEB Bioquímica Portuguesa S.A, importado pelo Laboratório de Tecnologia de Produtos Agrícolas da Universidade Federal do Paraná. O modelo de equipamento foi selecionado por dosar com exatidão a quantidade de O<sub>2</sub> a ser inserida na cachaça. O equipamento possui microprocessador interno que calcula a quantidade exata de oxigênio em mg/L através da equação dos gases. A Figura 14 representa a equação dos gases.

$p.v = n.R.T$	(1)	Onde,
Da qual deriva:		n= massa do gás
		T= temperatura absoluta
$n = \frac{p.v}{R.T}$	(2)	p= pressão do gás
		R= constante dos gases (= $0,08205 \frac{\text{atm. L}}{\text{mol. K}}$ )
		V= volume

FIGURA 14 – EQUAÇÃO DOS GASES

Para aplicar essa lei, o aparelho possui uma câmara de expansão do gás interno com volume conhecido e a temperatura e a pressão sendo apuradas constantemente em seu interior através de dois sensores apropriados.

Para estar seguro da dosagem de oxigênio devem também ser considerados os seguintes fatores:

- Contra-pressão provocada por um eventual entupimento do cartucho micro poroso;
- Contra-pressão gerada pelo líquido no interior do depósito;
- Variações da pressão atmosférica;
- Variações de pressão na fase de alimentação;

Essas variáveis são levadas em consideração através de um sistema de autocontrole e diagnóstico controlado por um microprocessador específico e especialmente projetado para esta finalidade. A unidade de dosagem controla continuamente a quantidade de oxigênio e apura a diferença entre o gás introduzido no interior da câmara e aquele que sobra no final da dosagem.

Para a formação das micro bolhas de oxigênio, o aparelho possui uma cápsula cilíndrica de cerâmica por onde o oxigênio será inserido na cachaça. Esta cápsula de cerâmica é constituída principalmente de óxido de titânio. Algumas características desse cartucho estão expressos no Quadro 3.

<b>Características</b>	<b>Cápsula de Cerâmica</b>
Porosidade	Cerca de 0,5 micron (0,005 milímetros)
Resistência	Sensível
Regeneração	-

QUADRO 3 - CARACTERÍSTICAS DA CÁPSULA DE CERÂMICA

As especificações do equipamento recomendam seu uso em volumes de cachaça ou depósitos com tamanho mínimo de 20hL e máximo de 3.000hL. Esses volumes permitem o adequado funcionamento do equipamento e a correta dosagem de oxigênio. A Figura 15 apresenta o aparelho MicroSafeO<sub>2</sub> e a cápsula de cerâmica utilizados no experimento.

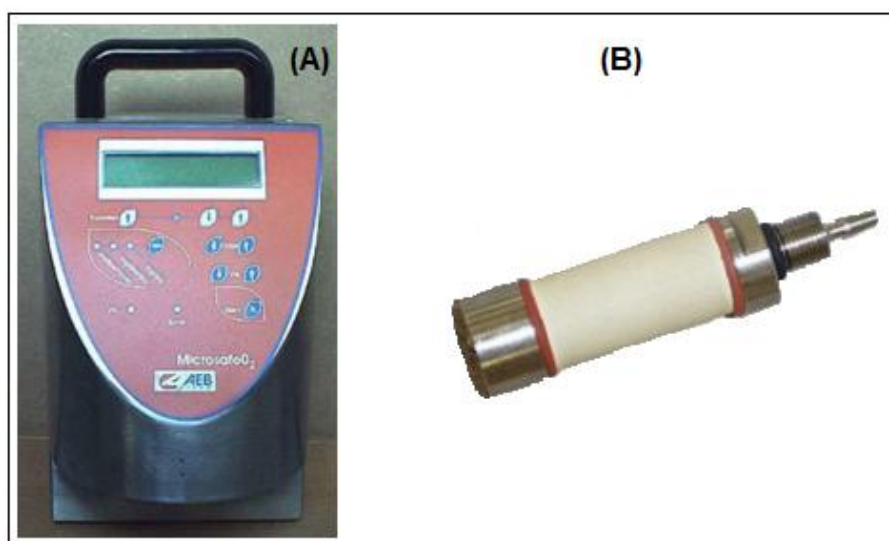


FIGURA 15 – (A) APARELHO MicroSafeO<sub>2</sub>. (B) CÁPSULA DE CERÂMICA

#### 4.2.3 Execução da micro-oxigenação

Para micro-oxigenar a cachaça foi utilizado um cilindro de oxigênio puro, acoplado com um manômetro, e ligado no terminal de entrada do aparelho de micro-oxigenação (MicroSafeO<sub>2</sub>). O aparelho realiza a dosagem do oxigênio e a dose determinada é enviada ao terminal de saída e deste até a cápsula de cerâmica que fica mergulhada na bebida. A Figura 16 apresenta o esquema montado para a micro-oxigenação da cachaça.

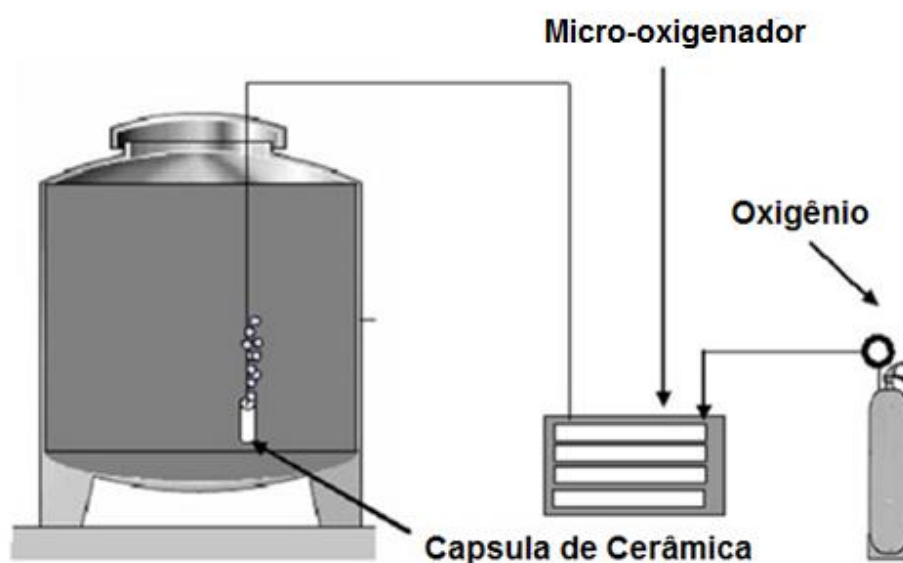


FIGURA 16 - ESQUEMA MONTADO NO EXPERIMENTO PARA MICRO-OXIGENAR A CACHAÇA

**Fonte:** (GÓMEZ-PLAZA & CANO-LÓPEZ, 2011).

Para o início dos experimentos, a cachaça não-envelhecida da safra de 2009 foi transferida do tanque de 35.000 L no qual estava armazenada para um tanque de 2.000 L com medidas de 2 metros de altura e diâmetro de 1,17m. Ambos os tanques eram de aço inoxidável padrão alimentar, construídos para armazenamento de cachaça. O tanque menor, de 2.000 litros de capacidade, foi completamente carregado com cachaça, atingindo sua capacidade máxima. O procedimento foi repetido para cada parcela experimental.

Para estudar a influência do oxigênio sobre a qualidade química e sensorial da cachaça, a pesquisa avaliou a quantidade de oxigênio inserida na cachaça (dosagem) associada tempo em que a bebida foi exposta ao oxigênio. Para isso, a pesquisa trabalhou com 3 diferentes dosagem de oxigênio, 6, 12 e 18 mg/L/mês por um tempo de 60 dias, sendo que as amostras de cada dose foram coletadas quinzenalmente. A cachaça testemunha, ou seja, a cachaça que não sofreu o processo de micro-oxigenação, está representada pela dosagem de 0 mg/L/mês.

A Tabela 5 representa as dosagens e coletas que foram realizadas na pesquisa.

TABELA 5 – ESQUEMA DE DOSAGEM E COLETAS DA PESQUISA

<b>Dose de Oxigênio (mg/L/mês)</b>	<b>Coletas</b>
0	Testemunha
6	0 dias
	15 dias
	30 dias
	45 dias
	60 dias
12	0 dias
	15 dias
	30 dias
	45 dias
	60 dias
18	0 dias
	15 dias
	30 dias
	45 dias
	60 dias

Foram coletadas 6 garrafas de 700 mL de vidro de cada tratamento (dosagem) quinzenalmente. Estas garrafas foram levadas ao Laboratório de Tecnologia de Produtos Agrícolas na Universidade Federal do Paraná e armazenadas sob refrigeração até serem analisadas.

### 4.3 Análises Físico-Químicas

As análises físico-químicas das amostras de cachaça foram realizadas no Laboratório de Análises Físico-Químicas de Aguardentes do Departamento de Química da UFLA e no LABTOX do Instituto de Tecnologia de Pernambuco (ITEP), de acordo com as metodologias recomendadas pela Instrução Normativa nº 24, de 08/09/2005, do Ministério Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (Brasil, 2005b). Na UFLA, foram analisados: grau alcoólico, acidez volátil, álcoois superiores, aldeídos, ésteres, furfural, e cobre. Já no laboratório do ITEP foram analisados os parâmetros carbamato de etila e acroleína. As análises estão descritas a seguir.

### 4.3.1 Análises de rotina

#### Grau alcoólico

Foi determinado por densimetria, sendo o resultado expresso em % em volume. O teor alcoólico foi obtido a partir de medidas a 20°C, com o auxílio de um densímetro digital DensiMat Gibertini.

#### Acidez volátil

Foi determinada por titulação volumétrica de neutralização. Os ácidos voláteis foram extraídos da bebida por arraste de vapor, utilizando o Destilador Eletrônico Enochimico Gibertini. Posteriormente, foi titulado o extrato com hidróxido de sódio 0,1 mol L<sup>-1</sup> em presença de fenolftaleína 1%. Os resultados obtidos foram expressos em miligramas de ácido acético por 100 mL de álcool anidro.

#### Álcoois superiores

A determinação da quantidade total de álcoois superiores foi realizada por meio de reação colorimétrica e a quantificação foi realizada em espectrofotômetro Shimadzu UV-160-1PC a 540 nm. Eles foram determinados pela adição de p-dimetilaminobenzaldeído (DMAB) e posterior acidificação das amostras com ácido sulfúrico concentrado. As concentrações foram determinadas por meio da construção de curvas analíticas de solução de álcoois superiores diluídos em água/etanol 1:1. A quantidade total desses compostos foi expressa em miligramas por 100 mL de álcool anidro. A reação ocorrida nesse processo está representada na Figura 17.

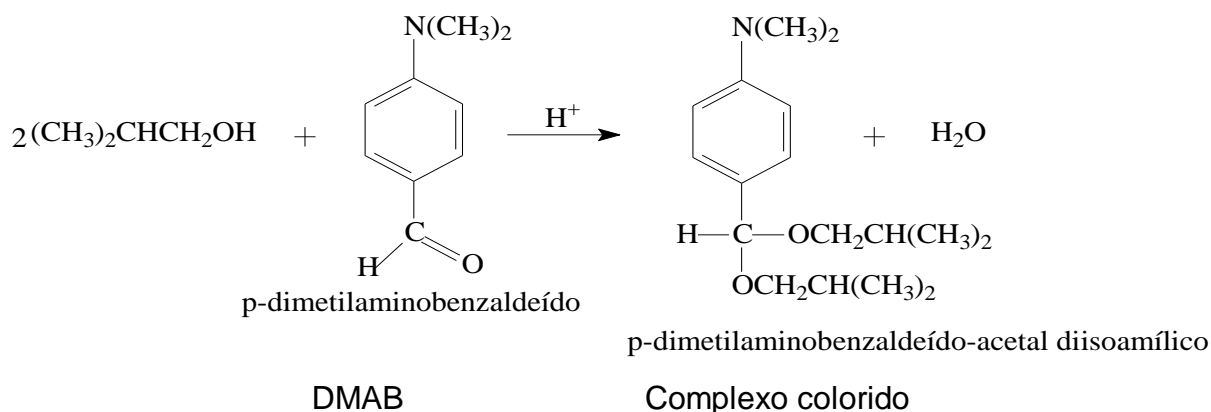
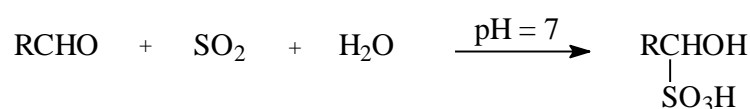


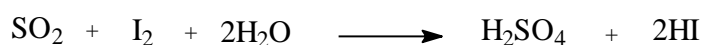
FIGURA 17- REAÇÃO QUÍMICA ENVOLVIDA NA ANÁLISE DE ÁLCOOIS SUPERIORES

### Aldeídos

Foram analisados pelo método titulométrico direto com iodo 0,05 N, titulando o  $\text{SO}_2$  formado por meio das reações envolvidas na análise. A quantidade de aldeídos presente nas amostras foi expressa em miligramas de aldeído acético por 100 mL da amostra ou por 100 mL de álcool anidro. As reações referentes a esse processo estão representadas na Figura 18.



o  $\text{SO}_2$ , em excesso, reage com  $\text{I}_2$ , em meio ácido:



em meio alcalino, o aldeído é então determinado:

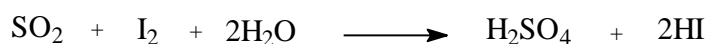


FIGURA 18- REAÇÕES QUÍMICAS ENVOLVIDAS NA ANÁLISE DE ALDEÍDOS

## Furfural

A quantificação foi realizada por meio da adição de anilina e ácido acético glacial nas amostras, efetuando-se medidas espectrofotométricas a 520 nm utilizando um espectrofotômetro Shimadzu UV-1601 PC. As quantidades desse composto foram obtidas por comparação das absorvâncias observadas nas amostras da bebida, com valores de absorvâncias de uma curva analítica, previamente construída com soluções padrão de etanol/furfural. Para a análise de furfural, o grau alcoólico do destilado foi corrigido para 50% v/v. Os resultados obtidos foram expressos em miligramas de furfural por 100 mL de álcool anidro. A reação colorimétrica envolvida nesse processo está descrita na Figura 19.

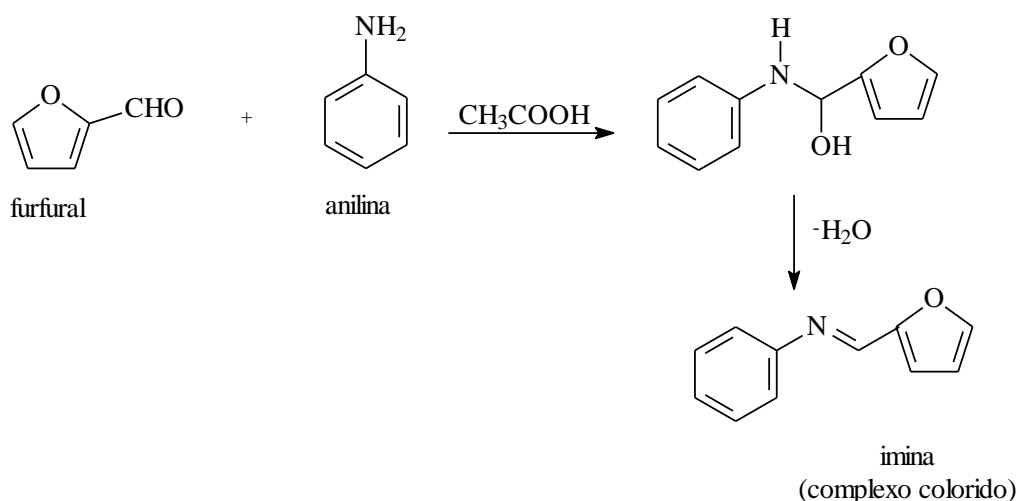


FIGURA 19- REAÇÕES QUÍMICAS ENVOLVIDAS NA ANÁLISE DE FURFURAL

## Ésteres

Os ésteres foram determinados pela titulação dos ácidos carboxílicos obtidos por transesterificação dos ésteres presentes nas amostras. Suas quantidades foram expressas em miligramas de acetato de etila por 100 mL de álcool anidro. As reações que ocorrem durante a análise dos ésteres estão representadas na Figura 20.

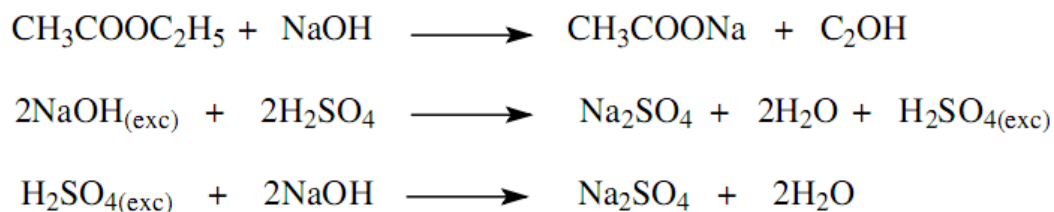


FIGURA 20 – REAÇÕES QUÍMICAS ENVOLVIDAS NA ANÁLISE DOS ÉSTERES

## Cobre

Para a quantificação do cobre, foram adicionados cloridrato de hidroxilamina e acetato de sódio para promover uma redução do  $\text{Cu}^{2+}$  presente nas amostras para  $\text{Cu}^+$ . Em seguida, foi adicionado a solução de 2,2-diquinolilo em álcool isoamílico, formando-se um complexo de coloração violeta entre o cobre reduzido e tal solução. Foram realizadas medidas espectrofotométricas na região visível do espectro, a 546 nm, em um espectrofotômetro Shimadzu UV-1601 PC. As quantidades de cobre foram determinadas por meio da construção de uma curva analítica utilizando-se sulfato de cobre como padrão. Os resultados obtidos foram expressos em  $\text{mg L}^{-1}$  e as reações envolvidas nessa análise estão descritas na Figura 21.

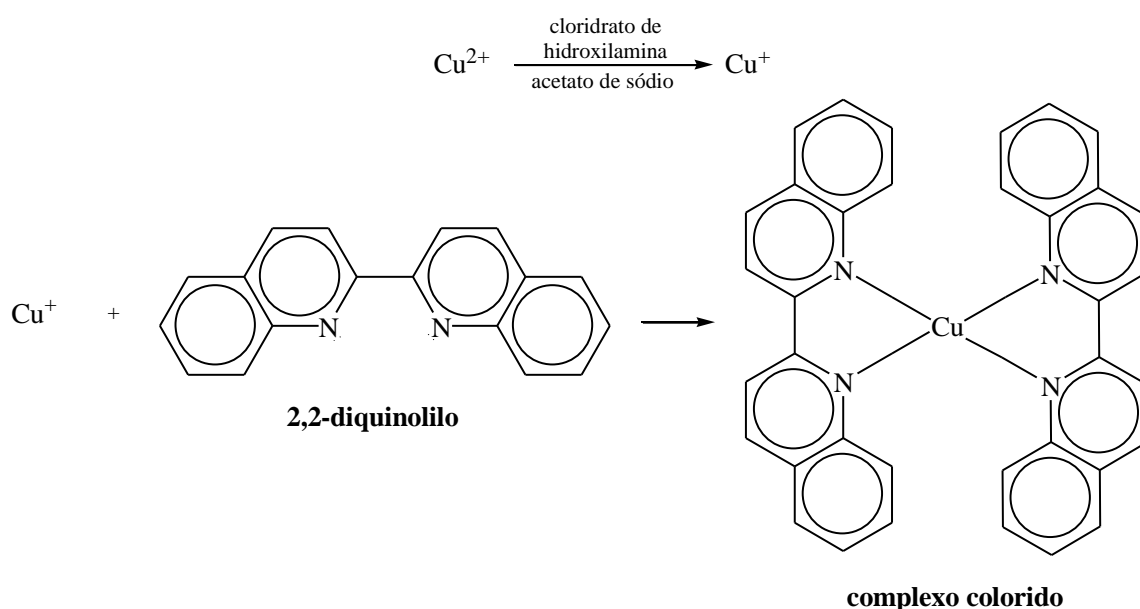


FIGURA 21 - REAÇÕES QUÍMICAS ENVOLVIDAS NA ANÁLISE DE COBRE

## Carbamato de Etila

A determinação da concentração de carbamato de etila foi feita com cromatógrafo gasoso (Thermo TRACE GC ULTRA) acoplado ao espectrômetro de massas (Thermo ISQ). Primeiramente foi preparada uma solução estoque em um béquer com 10 mg de carbamato de etila, onde foram dissolvidos 1 ml de Etano absoluto e essa solução foi transferida para um balão volumétrico de 100ml e completado o volume com solução Hidroalccólica 40%. Depois de preparada a solução de estoque, transferir 0,5 ml dessa solução para um balão volumétrico de 10ml e completar o volume com aguardente de cana ou cachaça. Por final, transferir aproximadamente 1,5 ml para *vials* de injeção. Os resultados obtidos foram expressos em  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

## Acroleína

Foi determinada por cromatógrafo gasoso com injetor “split/splitless”, sistema de injeção, com coluna capilar e detector de chamas (FID). Foi transferido para um balão volumétrico calibrado de 10ml, cerca de 5 ml da amostra. Foi adicionado 0,1ml da solução de padrão interno 3,23g/100ml e completado o volume com a própria amostra, de forma a obter uma concentração aproximada de 32,3mg/100ml de álcool 45% V/V A 20°C. Foi transferido cerca de 1,5 ml as solução para o vial de 2 ml e injetado 1 $\mu\text{L}$ . Os resultados obtidos foram expressos em  $\text{mg L}^{-1}$ .

## 4.4 ANÁLISE SENSORIAL

A análise sensorial teve como finalidade determinar o efeito da micro-oxigenação sobre a qualidade da bebida. Além de avaliar se a oxigenação afetou o padrão sensorial da cachaça destinada ao mercado consumidor nacional, os ensaios procuraram identificar quais as mudanças sofridas pelo produto. Assim, foram usados tanto julgadores não-treinados, buscando analogia com o consumidor de cachaça, quanto julgadores treinados para identificar quais atributos foram alterados nas cachaças micro-oxigenadas.

A graduação alcoólica das amostras foi corrigida para 39% (v/v) de álcool, buscando padronização e adequação ao padrão de mercado. A correção foi feita pela adição de água deionizada, realizada 60 dias antes da aplicação do teste. As amostras padronizadas foram armazenadas em garrafas de vidro até o momento da avaliação.

#### 4.4.1 Teste com julgadores não treinados

As amostras de cachaça foram servidas em copos de acetato, descartáveis, em forma de taça, sendo cada amostra/copo identificada com numeração de três dígitos. Essas taças têm capacidade para 40 mL e foram servidas com 30 mL de amostra. A temperatura de serviço foi mantida em aproximadamente 20°C. As taças foram colocadas em bandejas descartáveis e servidas juntamente com a ficha de avaliação para preenchimento. A avaliação foi feita em bancada, usando ambiente com luz natural, buscando uma análise em condições usuais de consumo da bebida.

O teste usado foi o de escala hedônica, com sete níveis (FERREIRA *et al.*, 2000), conforme a ficha apresentada na Figura 22.

NOME: _____ DATA: _____ BANDEJA Nº: _____															
Avalie cada uma das amostras codificadas e use a escala abaixo para indicar o quanto você gostou ou desgostou de cada amostra.															
Notas	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Amostra (código do copinho)</th> <th>Valor (nota)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>_____</td><td>_____</td></tr> <tr><td>_____</td><td>_____</td></tr> <tr><td>_____</td><td>_____</td></tr> <tr><td>_____</td><td>_____</td></tr> <tr><td>_____</td><td>_____</td></tr> <tr><td>_____</td><td>_____</td></tr> </tbody> </table>	Amostra (código do copinho)	Valor (nota)	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
Amostra (código do copinho)	Valor (nota)														
_____	_____														
_____	_____														
_____	_____														
_____	_____														
_____	_____														
_____	_____														
7 - Gostei muitíssimo															
6 - Gostei muito															
5 - Gostei															
4 - Não gostei/ nem desgostei															
3 - Desgostei															
2 - Desgostei muito															
1 - Desgostei muitíssimo															

FIGURA 22 - MODELO DE FICHA PARA JULGADORES NÃO TREINADOS

O teste foi realizado com 60 julgadores, convidados através de edital espalhado em diferentes campus da Universidade Federal do Paraná. Cada julgador

foi entrevistado buscando garantir a ausência de menores de idade e de pessoas com problema de alcoolismo (alta frequência de consumo). Não houve distinção entre sexo, idade ou profissão.

No momento da avaliação, antes de servir as amostras, foi feita rápida preleção sobre a importância do teste e da moderação no consumo de bebida e das amostras. Foi solicitado a cada julgador que ingerisse apenas a quantidade necessária para poder comparar a amostra com as demais.

Os testes foram realizados nos horários próximos ao almoço e ao final da tarde. Junto com as amostras foram servidos água e biscoito de água e sal.

Cada julgador recebeu quatro amostras, referentes às diferentes doses de oxigênio (0; 6; 12; e 18mg/L.mês). As amostras foram servidas em sequência aleatória para cada julgador, determinada por sorteio.

#### **4.4.2 Teste com julgadores treinados**

Os testes com julgadores não-treinados foram realizados para detectar possíveis variações no padrão comercial do produto, associadas aos tratamentos realizados. Os testes com julgadores treinados buscam detectar diferenças imperceptíveis aos consumidores e, caso presentes, apontar quais atributos foram afetados pelos tratamentos.

##### Equipe de julgadores

O Laboratório de Tecnologia de Produtos Agrícolas possui um grupo de julgadores treinados desde 2009. Esta equipe é formada por 10 técnicos, profissionais do setor que se reúnem quinzenalmente para discutir aspectos de tecnologia de bebidas e participarem de degustações orientadas de cachaça.

O treinamento do grupo se iniciou em 2009, com 20 julgadores com experiência na análise sensorial de bebidas alcoólicas. O treinamento consistiu de palestras sobre análise sensorial, tecnologia de produção e atributos da cachaça.

O treinamento e seleção foram feitos com testes realizados em laboratório, usando amostras com diferenças conhecidas em seus atributos (químicos e

sensoriais). Foram aplicados testes triangulares para seleção sequencial (DELLA MODESTA, 1994), sendo selecionados os 10 julgadores com maior acuidade e frequência nos testes (% de participação).

### Metodologia

Não há normas ou metodologia oficial definindo procedimentos, atributos e descritores para a análise sensorial de cachaça. Por isto, o Laboratório de Tecnologia de Produtos Agrícolas realizou em 2009 uma reunião com pesquisadores de qualidade de cachaça em diferentes instituições para definição de uma metodologia comum. Como consenso, foi adaptado o método usado para análise sensorial de vinhos, método de “100 pontos” - O.I.V./U.I.O.E. - Organização Internacional da Uva e do Vinho (OIV) e da União Internacional de Enólogos (UIOE), para a análise sensorial de cachaça. (CRETENAND, 1999).

A análise foi definida adotando a sequência, visual; olfativa; gustativa e retrogustativa, sendo os atributos julgados:

- Análise visual: limpidez e aparência;
- Análise olfativa: intensidade e qualidade;
- Análise gustativa: intensidade e qualidade;
- Análise retrogustativa: intensidade e qualidade;
- Avaliação global.

### Análise visual

- Limpidez: presença de partículas em suspensão ou turbidez;
- Aparência: brilho, oleosidade no copo (lágrimas ou pernas), tonalidade e intensidade de cor.

### Análise olfativa

- Intensidade: quantidade de aromas presentes na amostra, sendo considerado como características negativas tanto casos de aroma muito intenso (pungente) quanto pouco intenso (apagado ou sem personalidade);
- Qualidade: presença de aromas positivos (floral, frutal, adocicado, amadeirado,...) ou negativos (produto químico, solvente, alcoólico..).

### Análise gustativa

- Intensidade: intensidade dos gostos básicos (doce, salgado, ácido e amargo) e intensidade das sensações bucais (ardência, refrescância, pungência). De modo similar ao aroma, foram consideradas como características negativas tanto casos de gosto muito intenso (pungente) quanto pouco intenso (“diluído”, aguado ou sem personalidade);
- Qualidade: harmonia entre os gostos básicos (doce, salgado, ácido e amargo) e sensações bucais.

### Análise retrogustativa

- Intensidade: persistência do sabor ou retrogosto, sendo considerada como negativa principalmente a baixa persistência do sabor e secundariamente amostras com persistência exagerada de sabor;
- Qualidade: presença de sabores positivos (baunilha, frutas, adocicado, madeira, etc.) ou negativos (solvente, queimado, alcoólico, etc.).

### Avaliação global

Opinião do julgador sobre a qualidade da amostra considerando o conjunto, a harmonia entre todos os atributos.

De acordo com essa metodologia, as notas ou pontos são distribuídas em cinco classes ou categorias: “Excelente”; “Muito bom”; “Bom”; “Regular” e “Insuficiente”, cada uma com pontuação específica para cada atributo e classe, como consta na Tabela 6.

TABELA 6 - SISTEMA DE DISTRIBUIÇÃO DE PESO E PONTOS PARA OS ATRIBUTOS AVALIADOS.

<b>Análise</b>	<b>Peso (%)</b>	<b>Atributo</b>	<b>Pontuação</b>
Visual	10	Limpidez	5
		Aparência	5
Olfativa	24	Intensidade	9
		Qualidade	15
Gustativa	20	Intensidade	8
		Qualidade	12
Retrogustativa	26	Intensidade	6
		Qualidade	20
Avaliação global	20	Avaliação global	20
Total	100		100

As amostras foram servidas igualmente ao procedimento adotado para os julgadores não treinados. Cada julgador provou sete amostras:

Amostra 1: Amostra não oxigenada!

Amostra 2: amostra microoxigenada durante 30 dias com 6mg/L mês,

Amostra 3: amostra microoxigenada durante 60 dias com 6mg/L mês,

Amostra 4: amostra microoxigenada durante 30 dias com 12mg/L mês,

Amostra 5: amostra microoxigenada durante 60 dias com 12mg/L mês,

Amostra 6: amostra microoxigenada durante 30 dias com 18mg/L mês,

Amostra 7: amostra microoxigenada durante 60 dias com 18mg/L mês,

A Figura 23 apresenta o modelo de ficha aplicado na análise sensorial com julgadores treinados.

#### 4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Quanto aos resultados das análises físico-químicas, os dados obtidos foram tabulados e analisados empregando planilhas eletrônicas no programa Microsoft

Excel e o programa de análise estatística SIRICHAÍ'S STATISTICS. Posteriormente, os dados foram comparados pela análise de variância (ANOVA) e por testes adicionais de significância para comparação de médias (Teste de Duncan).

Os resultados das análises sensoriais foram tabulados usando o programa Microsoft Excel, sendo realizada a análise de variância (ANOVA) e as médias obtidas comparadas pelo teste de Tukey (PIMENTEL GOMES, 2000). A análise dos dados dos julgadores treinados foi feita considerando o delineamento em blocos ao acaso e a análise de variância foi feita adotando o esquema de fatorial com dois fatores (fator A = dose e fator = B tempo).

FICHA DE DEGUSTAÇÃO										
Julgador (nome):					Amostra - número			Data e hora:		
		Excelente	Muito bom	Bom	Regular	Insuficiente	Observações			
Visual	Limpidez	(5)	(4)	(3)	(2)	(1)				
	Aparência	(5)	(4)	(3)	(2)	(1)				
Olfativa	Intensidade	(9)	(7)	(5)	(3)	(1)				
	Qualidade	(15)	(13)	(11)	(9)	(7)				
Gustativa	Intensidade	(8)	(7)	(6)	(5)	(4)				
	Qualidade	(12)	(10)	(8)	(6)	(4)				
Retrogosto	Intensidade	(6)	(5)	(4)	(3)	(2)				
	Qualidade	(20)	(18)	(14)	(10)	(6)				
Avaliação Global		(20)	(18)	(14)	(10)	(6)				
Total										

FIGURA 23 - MODELO DE FICHA PARA JULGADORES TREINADOS

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 Resultados Físico-Químicos

Os resultados das análises físico-químicas com o comportamento dos parâmetros ao longo do tempo e dos testes de comparação de médias para as doses são apresentados, respectivamente, pela Figura 24 e Tabela 7. A análise de variância (Anexo 1) mostra que o processo de micro-oxigenação alterou significativamente em relação as doses aplicadas, a concentração dos componentes: graduação alcoólica, acidez volátil, aldeídos e ésteres.

A análise dos resultados da graduação alcoólica mostram diferenças estatísticas significativas entre as médias, especificamente da testemunha em relação aos tratamentos com oxigenação. Com o aporte de oxigênio, a graduação alcoólica teve uma redução para as doses de 6 mg/L/mês, 12 mg/L/mês e 18 mg/L/mês de respectivamente 1%, 1,19% e 0,79% ao final de 60 dias de micro-oxigenação. Com base nestes dados, é possível afirmar que o processo de micro-oxigenação reduz a concentração de álcool das cachaças devido evaporação e/ou oxidação da fração álcool presente nas amostras.

Por ser o tratamento de 18mg/L/mês teoricamente com maior exposição da cachaça ao oxigênio comparativamente aos outros tratamentos, este deveria ter uma redução maior nos parâmetros de graduação alcoólica em relação aos tratamentos de 6 mg/L/mês e 12 mg/L/mês, fato que não ocorreu.

Em trabalho feito por Borragini & Faria (2010), que avaliaram o efeito da circulação forçada e aeração em cachaças envelhecidas durante 180 dias em seis ancorotes de carvalho e um reservatório de vidro, interligados entre si em circuito fechado, contendo uma bomba de circulação submersa com vazão em torno de 30L/h, e uma bomba de aeração que injetava diariamente um volume constante de ar durante 12 minutos, detectaram que a graduação alcoólica no sistema forçado, apresentou uma redução de 2,5% e que no processo de envelhecimento tradicional a graduação teve um aumento de 22,5%. Essa diferença é provavelmente devido à circulação e à aeração realizadas durante o processo, o que favoreceu uma maior evaporação ou oxidação da fração álcool presente nas amostras.

Assim como o trabalho de Padovan *et al.*, (2004), que estudaram o efeito da circulação forçada da aguardente no tempo de envelhecimento em ancorotes de carvalho por 180 dias com uma vazão de 24,6L/h por 106h semanais descansando a aguardente nos fins de semana, detectaram que a graduação alcoólica no sistema de circulação forçada, apresentou um aumento de 1,38% e que no processo de envelhecimento tradicional a graduação também aumentou em 8,27%. Esse aumento foi devido provavelmente ao clima mais seco da época do experimento, que favoreceu uma maior evaporação da água em relação ao álcool, porém como no sistema forçado o aumento foi menor, teve uma maior evaporação ou oxidação do álcool.

Embora a literatura associe um aumento na concentração de aldeídos durante o envelhecimento, principalmente de acetaldeído, este comportamento não foi observado nos dados obtidos nesse estudo. A reação de oxidação do etanol, a qual contribui para a formação de acetaldeído, o qual, por sua vez, conduz à formação de ácido acético (REAZIN, 1981; LITCHEV, 1989), pode ser a explicação para o comportamento apresentado para o parâmetro aldeído nesta pesquisa, sendo o equilíbrio deslocado para a formação de ácido carboxílico. Outra explicação para este comportamento pode estar no trabalho de Nishimura *et al.* (1983) que demonstraram que o extrato de madeira é indispensável para a oxidação do etanol a acetaldeído, aumentando assim sua concentração na bebida.

Sendo assim os resultados da análise dos aldeídos mostram diferenças estatísticas significativas entre as médias, onde os valores tiveram uma redução para as doses de 6 mg/L/mês, 12 mg/L/mês e 18 mg/L/mês de respectivamente, 4%, 6,23% e 2%, ao logo de 60 dias de micro-oxigenação.

A redução da concentração de aldeídos até certo ponto foi benéfica, pois de um modo geral, os aldeídos com até 8 átomos de carbono têm aroma penetrante, desagradável e pungente, e são considerados indesejáveis em bebidas destiladas (MAIA, 1994). Porém, o acetaldeído é importante para a composição do aroma das bebidas, devido ao seu baixo limiar sensorial (NYKANEN & NYKANEN, 1983).

TABELA 7- CONCENTRAÇÃO DE COMPOSTOS QUÍMICOS NAS AMOSTRAS MICRO-OXIGENADAS

Parâmetros	Dose de Oxigênio	Tempo (Dias)					Médias**
		0	15	30	45	60	
<u>Graduação alcoólica</u> (°GL)	Testemunha	47,01	47,01	47,01	47,01	47,01	47,01a
	6	47,01	46,75	46,56	46,24	46,12	46,54b
	12	47,01	46,60	46,44	46,16	46,05	46,45b
	18	47,01	46,82	46,62	46,47	46,29	46,64b
	<b>Médias</b>	47,01	46,80	46,66	46,47	46,37	<b>Médias**</b>
<u>Aldeído</u> (mg/100 mL de álcool anidro)	Testemunha	21,00	21,00	21,00	21,00	21,00	21,00a
	6	21,00	20,74	20,21	19,68	19,03	20,13b
	12	21,00	20,39	19,75	19,05	18,24	19,69b
	18	21,00	20,82	20,59	20,31	20,08	20,56b
	<b>Médias</b>	39,00	39,42	39,69	39,88	40,06	<b>Médias**</b>
<u>Acidez Volátil</u> (mg/100 mL de álcool anidro)	Testemunha	39,00	39,00	39,00	39,00	39,00	39,00b
	6	39,00	39,67	40,15	40,59	41,00	40,08a
	12	39,00	39,59	39,94	40,12	40,24	39,78a
	18	39,00	39,42	39,66	39,82	40,00	39,58b
	<b>Médias</b>	21,00	20,74	20,39	20,01	19,59	<b>Médias**</b>
<u>Ésteres</u> (mg/100 mL de álcool anidro)	Testemunha	35,00	35,00	35,00	35,00	35,00	35,00a
	6	35,00	34,24	33,39	32,77	31,16	33,31ab
	12	35,00	33,46	31,29	29,74	28,07	31,51b
	18	35,00	34,56	33,78	32,94	31,48	33,55ab
	<b>Médias</b>	35,00	34,32	33,37	32,61	31,43	<b>Médias<sup>ns</sup></b>
<u>Álcool Superior</u> (mg/100 mL de álcool anidro)	Testemunha	228,13	228,13	228,13	228,13	228,13	228,13a
	6	228,13	229,20	229,20	227,55	229,46	228,71a
	12	228,13	218,42	225,74	223,29	213,85	221,89a
	18	228,13	230,81	214,69	224,38	209,74	221,55a
	<b>Médias</b>	228,13	226,64	224,44	225,84	220,30	<b>Médias<sup>ns</sup></b>
<u>Furfural</u> (mg/100 mL de álcool anidro)	Testemunha	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36a
	6	0,36	0,31	0,33	0,32	0,30	0,32a
	12	0,36	0,42	0,33	0,29	0,35	0,35a
	18	0,36	0,41	0,31	0,35	0,41	0,37a
	<b>Média</b>	0,36	0,37	0,33	0,33	0,36	<b>Médias<sup>ns</sup></b>
Cobre (mg/L)	Testemunha	2,93	2,93	2,93	2,93	2,93	2,93a
	6	2,93	2,95	2,88	2,93	2,90	2,92a
	12	2,93	2,92	2,87	2,91	2,93	2,91a
	18	2,93	2,87	2,90	2,88	2,99	2,91a
	<b>Médias</b>	2,93	2,92	2,89	2,91	2,94	<b>Médias<sup>ns</sup></b>
Carbamato de Etila (µg/L)	Testemunha	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00a
	6	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00a
	12	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00a
	18	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00a
	<b>Médias</b>	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	<b>Médias<sup>ns</sup></b>
Acroleína (mg/100 mL de álcool anidro)	Testemunha	1	1	1	1	1	1a
	6	1	1	1	1	1	1a
	12	1	1	1	1	1	1a
	18	1	1	1	1	1	1a
	<b>Médias</b>	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	

<sup>1</sup> Médias seguidas por letras distintas diferem pelo teste de Duncan (P<0,01).

<sup>2</sup> n.s.=não-significativo; \*\* significativo 99% probabilidade

No processo de oxidação, álcool em contato com oxigênio se oxida e forma um aldeído, que em contato com o oxigênio forma um ácido. Os resultados das

análises de acidez volátil também mostraram diferenças estatísticas significativas entre as médias, onde as mesmas tiveram um aumento para as doses de 6 mg/L/mês, 12 mg/L/mês e 18 mg/L/mês de respectivamente de 2,77%, 2% e 1,49%, ao longo de 60 dias de micro-oxigenação.

Os ácidos voláteis contribuem para o "flavor" das bebidas destiladas, pois, são capazes de aumentar levemente a acidez (NYKANEN & NYKANEN, 1991). Nesse sentido, o processo de micro-oxigenação pode ser benéfico para a bebida.

O comportamento dos valores de acidez volátil quando a bebida é posta a envelhecer, tende a se elevar devido à extração de ácidos da madeira e às reações de oxidação de aldeídos e alcoóis que produzem ácidos (PIGGOTT *et al.*; 1989). Sendo assim, nesse experimento é comprovado pelo aumento da acidez volátil que o processo de micro-oxigenação altera (oxida) os compostos presentes na cachaça.

No trabalho feito por Borragini & Faria (2010), ambos os processos de envelhecimento foram observadas reduções na acidez volátil, sendo porém, maiores no processo de envelhecimento tradicional, indicando ser este sistema responsável provavelmente por uma maior extração de componentes da madeira. No caso do sistema de circulação forçada sob aeração, não se observou, conforme esperado, um aumento da acidez devido ao favorecimento das reações de oxidação. Por outro lado, o processo de aeração pode também ter promovido um deslocamento do equilíbrio das reações de oxidação até a esterificação, formando assim mais ésteres, a partir dos ácidos presentes na bebida. No experimento realizado por Castro Neto (2004), foram observados teores maiores de acidez na aguardente envelhecida pelo método de circulação forçada sem aeração, indicando um provável efeito conforme acima mencionado, devido à aeração.

A concentração de ésteres variou com a aplicação das doses e os resultados mostraram que houve diferença significativa entre as doses aplicadas. Os valores tiveram uma redução para as doses de 6 mg/L/mês, 12 mg/L/mês e 18 mg/L/mês de respectivamente, 4,82%, 9,96% e 4,14% ao longo de 60 dias de micro-oxigenação.

Os ésteres representam o maior grupo de componentes responsáveis pelo aroma de bebidas destiladas (FARIA, 2003). Os ésteres são produzidos no metabolismo secundário das leveduras durante a fermentação alcoólica e durante o envelhecimento pelas reações de esterificação entre os álcoois e os ácidos da bebida. Os ésteres são um dos principais compostos extraídos da madeira pelos destilados (HART, 1983).

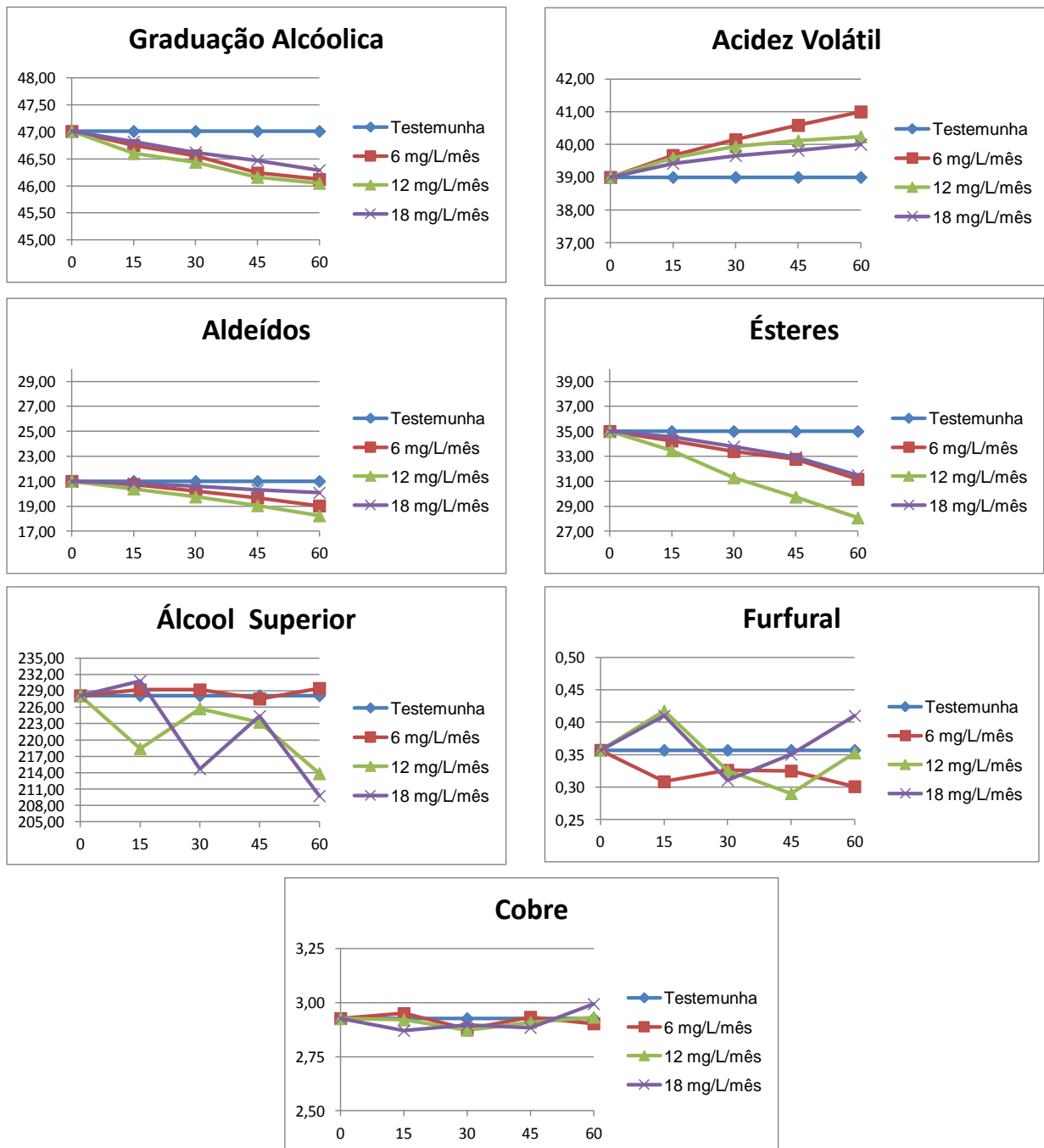


FIGURA 24 - COMPORTAMENTO DOS COMPONENTES DAS CACHAÇAS MICRO-OXIGENADAS AO LONGO DO TEMPO

O processo de micro-oxigenação não alterou significativamente os demais parâmetros analisados. As concentrações de todos os contaminantes analisados ficaram dentro dos padrões estabelecidos pela legislação vigente. Devido a análise aplicada para os parâmetros cabarmato de etila e acroleína, os valores foram

menores que os limiares de detecção dos equipamentos, ou seja, os valores ficaram abaixo de 50 mg/mL de álcool anidro e 1 mg/mL de álcool anidro, respectivamente.

Pesquisas envolvendo a técnica de micro-oxigenação com cachaças envelhecidas seriam interessantes do ponto de vista econômico. O processo tradicional de envelhecimento em barricas de madeiras tem um alto custo em estocagem e levam muito tempo para envelhecer. Pesquisas envolvendo essa técnica com adição de chips de madeira poderiam diminuir o tempo de envelhecimento, com possíveis resultados semelhantes aos processos tradicionais de envelhecimentos.

## 5.2 Resultados Sensoriais com Julgadores não Treinados

A caracterização da cachaça somente sobre o ponto de vista químico, apesar de extremamente relevante, não é suficiente, necessitando ser complementada pelo conhecimento dos atributos sensoriais da bebida. A micro-oxigenação é uma técnica nova e pouco se sabe sobre os efeitos que traria sobre a bebida. Esse fato mostrou a necessidade da condução de testes sensoriais, pois a análise sensorial é considerada a única forma de avaliar a aceitação de produtos alimentares pela percepção humana (STONE et al. 1993).

Os testes com consumidores foram realizados para avaliar possíveis alterações na qualidade do produto após a aplicação da técnica de micro-oxigenação.

A Tabela 8 apresenta os resultados obtidos para os testes aplicados com os julgadores não treinados.

TABELA 8 - RESULTADOS DA ANÁLISE SENSORIAL COM JULGADORES NÃO TREINADOS

<i>Cachaças</i>	<i>Média das Notas</i>
Testemunha	4,98
6 mg/L/mês	5,35
12 mg/L/mês	4,90
18 mg/L/mês	4,97

A análise de variância (Anexo 2) não mostrou diferenças significativas entre este grupo de julgadores, ou seja, os julgadores não foram capazes de identificar diferenças entre os tratamentos aplicados. Porém, nota-se uma maior nota para a cachaça com dose de 6mg/L/mês, que obteve uma média de 5,35 pontos, sendo equivalente na escala sensorial a “Gostei”. As outras cachaças avaliadas ficaram com as médias próximas, sendo suas médias equivalentes na escala sensorial entre “Gostei” e “Nem gostei/Nem desgostei”.

Esse resultado pode ser associado a dois fatores:

1 - a cachaça é uma bebida com graduação alcoólica elevada. Julgadores não treinados podem ter dificuldade em perceber diferenças entre amostras em virtude da pungência do álcool, que poder ter "mascarado" as diferenças entre os tratamentos;

2 - de fato a micro-oxigenação da cachaça, nas doses e tempos testados, não gerou diferenças perceptíveis aos consumidores.

Tais considerações justificaram a realização de novos ensaios, com julgadores treinados para análise de cachaça, deste modo, aptos a detectar diferenças sutis no produto.

### 5.3 Resultados Sensoriais com Julgadores Treinados

A definição das substâncias de impacto sensorial que compõem uma bebida destilada é fundamental no monitoramento da produção, na modificação de suas características e para o controle de sua qualidade. A correlação entre os componentes responsáveis pelo aroma, sabor e aspecto visual com a qualidade da bebida são objetos da análise sensorial.

Os resultados das análises com os julgadores treinados são apresentados nas Tabelas 9, 10, 11, 12, 13, 14 e 15. Antes da análise dos resultados para cada atributo, cabe apresentar algumas considerações sobre a análise estatística dos dados. Para adequar os dados ao delineamento experimental (Blocos ao Acaso) e ao esquema de análise (Fatorial) foram considerados os fatores doses de oxigênio (6, 12 e 18 mg/L/mês) e tempo de micro-oxigenação (0, 30 e 60 dias).

Os dados referentes ao tratamento testemunha, que seria a cachaça sem micro-oxigenar ou dose 0 mg/L/mês, são os representados como tempo 0. Deste

modo, o Fator B ou tempo de micro-oxigenação, através do tempo 0 mostraria a influência da micro-oxigenação sobre a cachaça e o fator A ou dose de oxigênio, mostra o efeito da quantidade de oxigênio ou substrato.

Os dados observados nas Tabelas 9, 11 e 13, referentes à **intensidade** de aroma, gosto e retrogosto, mostram que a cachaça testemunha, ou seja, aquela que não sofreu ação do oxigênio obteve maior média que as obtidas pelas cachaças micro-oxigenadas. Na maior parte dos casos, as diferenças foram estatisticamente significativas. E, mesmo quando as médias foram estatisticamente equivalentes, as notas das cachaças micro-oxigenadas foram inferiores.

TABELA 9 - RESULTADOS DA ANÁLISE SENSORIAL COM JULGADORES TREINADOS PARA INTENSIDADE OLFATIVA

Doses de oxigênio	Tempo de oxigenação			Média
	0 dias	30 dias	60 dias	
6 mg/L/mês	7,0	6,6	6,0	6,5a
12 mg/L/mês	7,0	5,0	4,8	5,6b
18 mg/L/mês	7,0	4,4	6,0	5,8b
Média	7,0a	5,33b	5,6b	

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste do Duncan ao nível de 5% de probabilidade.

TABELA 10 - RESULTADOS DA ANÁLISE SENSORIAL COM JULGADORES TREINADOS PARA QUALIDADE OLFATIVA

Doses de oxigênio	Tempo de oxigenação			Média
	0 dias	30 dias	60 dias	
6 mg/L/mês	12,8	11,8	11,6	12,07a
12 mg/L/mês	12,8	10,8	9,6	11,07b
18 mg/L/mês	12,8	10,4	12,0	11,73a
Média	12,8a	11b	11,06b	

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste do Duncan ao nível de 5% de probabilidade.

O efeito da micro-oxigenação sobre a intensidade desses atributos pode ser observado na análise das médias do fator A (dose de oxigênio) e do fator B (tempo de micro-oxigenação). O valor maior das médias das notas atribuídas à cachaça não micro-oxigenada mostra que a micro-oxigenação tem efeito deletério sobre a intensidade dos atributos.

As menores médias para intensidade do aroma, gosto e retrogosto podem ser associadas aos resultados das análises químicas e às menores concentrações de ésteres e aldeídos nas amostras micro-oxigenadas, tanto para as doses aplicadas, como para o tempo de micro-oxigenação. Concentrações mais baixas de alcoóis superiores nas amostras micro-oxigenadas também podem ter influenciado nesse resultado, pois os álcoois superiores desempenham um papel importante no aroma de bebidas alcoólicas (RANKINE, 1967; SUOMALAINEN, 1971).

TABELA 11 - RESULTADOS DA ANÁLISE SENSORIAL COM JULGADORES TREINADOS PARA INTENSIDADE GUSTATIVA

Doses de oxigênio	Tempo de oxigenação			Média
	0 dias	30 dias	60 dias	
6 mg/L/mês	6,8	6,7	6,0	6,5a
12 mg/L/mês	6,8	6,3	6,0	6,4a
18 mg/L/mês	6,8	5,8	6,4	6,3a
Média	6,8a	6,3a	6,1a	

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste do Duncan ao nível de 5% de probabilidade.

TABELA 12 - RESULTADOS DA ANÁLISE SENSORIAL COM JULGADORES TREINADOS PARA QUALIDADE GUSTATIVA

Doses de oxigênio	Tempo de oxigenação			Média
	0 dias	30 dias	60 dias	
6 mg/L/mês	9,2	8,4	7,4	8,3a
12 mg/L/mês	9,2	7,6	7,8	8,2a
18 mg/L/mês	9,2	6,3	8,8	8,1a
Média	9,2a	7,4b	8,0b	

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste do Duncan ao nível de 5% de probabilidade.

Outra explicação para as menores médias das cachaças micro-oxigenadas poderia ser as concentrações mais baixas de aldeídos nestas. Aldeídos como o acetaldeído possuem um baixo limiar sensorial, sendo muito importantes para o “flavour” da bebida (NYKANEN & NYKANEN, 1983). As concentrações de aldeídos

observadas nas cachaças avaliadas, mesmo da amostra sem micro-oxigenação, são baixas e uma queda pode ter prejudicado a intensidade dos atributos.

Os resultados observados para os atributos de **qualidade** de aroma, gosto e retrogosto, Tabelas 10, 12 e 14, respectivamente, mostram comportamento similar aos observados para as médias dos atributos de **intensidade**. As médias mostram notas maiores para os tratamentos com menor aporte de oxigênio, inclusive com diferenças estatísticas entre as médias na maior parte dos casos. Novamente, maiores doses de oxigênio e maiores tempos de micro-oxigenação parecem prejudicar a qualidade da bebida.

Esses resultados podem ser associados à maior acidez volátil nas amostras micro-oxigenadas, que pode ter influenciado nos resultados para a qualidade. A cachaça com uma acidez muito elevada promove um sabor indesejável e “agressivo” prejudicando a qualidade da bebida (CHERUBIN, 1998). Porém, os ácidos são importantes precursores dos ésteres (BERRY & WATSON, 1987).

TABELA 13 - RESULTADOS DA ANÁLISE SENSORIAL COM JULGADORES TREINADOS PARA INTENSIDADE DE RETROGOSTO

Doses de oxigênio	Tempo de oxigenação			Média
	0 dias	30 dias	60 dias	
6 mg/L/mês	4,6	4,7	4,0	4,4a
12 mg/L/mês	4,6	4,2	3,8	4,2a
18 mg/L/mês	4,6	3,8	4,3	4,2a
Média	4,6a	4,3b	4,0b	

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste do Duncan ao nível de 5% de probabilidade.

TABELA 14 - RESULTADOS DA ANÁLISE SENSORIAL COM JULGADORES TREINADOS PARA QUALIDADE DE RETROGOSTO

Doses de oxigênio	Tempo de oxigenação			Média
	0 dias	30 dias	60 dias	
6 mg/L/mês	16,4	16,2	12,8	15,1a
12 mg/L/mês	16,4	13,2	9,8	13,1b
18 mg/L/mês	16,4	11,2	14,0	13,9b
Média	16,4a	13,5b	12,2b	

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste do Duncan ao nível de 5% de probabilidade.

Porém, se avaliado o efeito das doses e tempos maiores em todos os atributos (resultados das tabelas de 9 a 14) é possível identificar uma tendência importante nos resultados para Intensidade e Qualidade. O tratamento com maior dose de oxigênio (18mg/L/mês) e maior tempo de micro-oxigenação indica uma "recuperação" na intensidade e na qualidade.

Isso pode significar que a queda na intensidade e qualidade do aroma seria sucedida por um incremento nestes atributos. Para ilustrar esta hipótese tem-se o valor da média 4,4, observada na Tabela 9 para Intensidade Olfativa no tratamento com 18 mg/L/mês. Esta média mostra que há forte queda na intensidade do aroma com 30 dias de tratamento. Mas, a média para este mesmo tratamento sobe para 6,6 aos 60 dias. As reações de oxidação, com destruição e formação de compostos, associadas às concentrações de substrato, poderia explicar este comportamento.

Por fim, a Tabela 15 apresenta os resultados para a Avaliação Global das amostras avaliadas. Esta tabela ratifica o observado para os demais atributos avaliados pelos julgadores treinados. Os resultados mostram diferenças estatísticas significativas entre as médias com relação as doses aplicadas, sendo que a dose menor teve a melhor avaliação. Além disto, considerando o tempo de micro-oxigenação, nota-se que a cachaça não oxigenada foi superior às demais. Até mesmo a "recuperação" da intensidade e qualidade da bebida para o tratamento com maior intensidade de micro-oxigenação (18mg/L/mês durante 60 dias) foi confirmada pela média das notas recebidas.

TABELA 15 - RESULTADOS DA ANÁLISE SENSORIAL COM JULGADORES TREINADOS PARA AVALIAÇÃO GLOBAL

Doses de oxigênio	Tempo de oxigenação			Média
	0 dias	30 dias	60 dias	
6 mg/L/mês	16,4	16,4	14,4	15,7a
12 mg/L/mês	16,4	13,6	12,4	14,1b
18 mg/L/mês	16,4	11,2	14,4	14,0b
Média	16,4a	13,7b	13,7b	

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste do Duncan ao nível de 5% de probabilidade.

Assim, os resultados mostram que a técnica de micro-oxigenação alterou a avaliação global das amostras micro-oxigenadas, ou seja, de uma forma geral, as

cachaças micro-oxigenadas obtiveram notas inferiores as notas da cachaça sem micro-oxigenação. Do mesmo modo surge como explicação a composição química das amostras, onde os dados mostram baixas concentrações de ésteres, aldeídos e alcoóis superiores; e maiores concentrações de acidez volátil nas amostras micro-oxigenadas. Esta mudança na composição química pode se refletir nas alterações do aroma, gosto e retrogosto das cachaças.

## **6 - CONCLUSÕES**

Os resultados obtidos neste trabalho permitem considerar que a aplicação da técnica de micro-oxigenação não pode ser usada de modo arbitrário em cachaça. Os dados mostram que apesar das concentrações de alguns parâmetros importantes para o aroma e sabor da cachaça diferirem da amostra testemunha, julgadores não treinados (consumidores finais) não conseguiram perceber as diferenças entre os tratamentos testados.

Por outro lado, os resultados da análise sensorial por julgadores treinados mostram que a composição química da bebida antes da micro-oxigenação, a dose usada e o tempo de tratamento devem ser considerados caso a caso.

Estas observações indicam que a técnica de micro-oxigenação deve ser mais estudada para ser aplicada de forma benéfica a bebida. Novos estudos sobre o envelhecimento tradicional da cachaça antes e depois da aplicação da técnica de micro-oxigenação, e estudos sobre os reflexos do oxigênio no produto ao longo do tempo de envelhecimento podem trazer mais subsídios para a adoção desta prática em escala comercial.

Os resultados desta pesquisa podem ainda ser complementados com novos testes, usando diferentes cachaças de regiões distintas, envelhecidas em diferentes madeiras e com maior concentração de compostos secundários.

## REFERÊNCIAS

ALLINGER, N. L. **Química orgânica**. Rio de Janeiro: Guanabara Dois, 1978.

ALMEIDA, M. E. W. de; BARRETO, H. H. C. Determinação de álcoois superiores em aguardentes de frutas por cromatografia de fase gasosa. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 33, p. 73-84, 1973.

AMERINE, M. A.; ROESSLER, E. B. **Wines: Their Sensory Evaluation**. W.H.Freeman: San Francisco, CA, 1976.

AMPAQ (Associação Mineira dos Produtores de Aguardente de Qualidade). 1º **Curso de AMPAQ de produção de aguardente de qualidade**. Belo Horizonte: AMPAQ, 109 p., 1995.

ANDRADE, L. A. B. Cultura da cana-de-açúcar. IN: **Produção artesanal de cachaça de qualidade**. Lavras: UFLA, p. 01-17, 2003.

ANDRADE, L. A. B.; ANJOS, I. A., FIGUEIREDO, P. A. M.; QUINTELA, A. C. R. **Utilização de variedades selecionadas de cana-de-açúcar na produção de cachaça de alambique**. Informe Agropecuário, EPAMIG, v. 23, n. 217, p. 33-36, 2002.

ANDRADE-SOBRINHO, L. G.; BOSCOLO, M.; LIMA-NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Carbamato de etila em bebidas alcoólicas (Cachaça, tiquira, uísque e grapa). **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 6b, p. 1074-1077, 2002.

AQUARONE, E. LIMA, U. A.; BORZANI, W. Aguardentes. In: **Biotecnologia**. Alimentos e Bebidas Produzidos por Fermentação. Edgard Blucher LTDA, São Paulo, v. 5, cap. 5, p. 79-103, 2001.

ARESTA, M.; BOSCOLO, M.; FRANCO, D. W. Cooper (II) catalysis in cyanide conversion into ethyl carbamate in spirits and relevant reactions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 49, n. 6, p. 2819-2824, 2001.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS –ABNT. NBR 12806. Análise sensorial dos alimentos e bebidas. Classificação. São Paulo: ABNT, 1993.

AYLOTT, R. Whisky analysis. In: RUSSELL, I. **Whisky: Technology, Production and Marketing**. London: Academic Press, 2003. p. 277-309.

BERRY, D. R.; WATSON, D. C. **Production of organoleptic compounds**. Yeast Biotechnology. London: Allen and Unwin, p. 345-368, 1987.

BORRAGINI, M. C. C.; FARIA, J. B. Envelhecimento de cachaça sob circulação forçada e aeração. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 21, n. 1, p. 25-30, 2010.

BOSCOLO, M. **Caramelo e carbamato de etila em aguardentes de cana: ocorrência e quantificação**. 100 p. Tese (Doutorado em Química Analítica). Instituto de Química, USP, São Carlos, 2001.

BOZA, Y., HORII, J. Influência da destilação sobre a composição e a qualidade sensorial da aguardente de cana-de-açúcar. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, n. 4, p. 391-396, 1998.

BOZA, Y.; HORII, J. Influência do grau alcoólico e da acidez do destilado sobre o teor de cobre na aguardente. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas. v. 20, n. 3, p. 279-284, 2000.

BRASIL, Decreto no 2.314, de 04 de setembro de 1997. Regulamenta a Lei nº8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, DF, v. 171, p. 19.556, 1997. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/>>.

BRASIL, Instrução Normativa nº 13, de 29 de junho de 2005a. Aprova o regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para aguardente de cana e para cachaça. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/>>. Acesso em 22/04/2011.

BRASIL, Instrução Normativa nº 24, de 08 de setembro de 2005b. Publicado no **Diário Oficial da União**, 20 de setembro de 2005, Seção 1, Página 11. Acesso: em 06 maio de 2010. Acesso em 22/04/2011.

BURDOCK, G. A. **Fenaroli's handbook of flavor ingredients**. Washington: CRC, v. 1. 2005.

CARDOSO, M. G. **Produção de Aguardente de Cana**. 2 ed. Lavras: Editora UFLA, 2006.

CASTELLARI M.; ARFELLI G.; RIPONI C.; AMATI A. Evolution of phenolic compounds in red winemaking as affected by must oxygenation. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 49, p.91-94, 1998.

CASTRO NETO, J. T. Envelhecimento de aguardente de cana com circulação forçada: efeito da presença de ar no sistema. 2004. 56f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, Araraquara, 2004.

CHAVES, J. B.; PÓVOA, M. E. B. A qualidade da aguardente de cana-de-açúcar. In: MUTTON, M. J. R.; MUTTON, M. A. **Aguardente de cana: produção e qualidade**. Jaboticabal: FUNEP, p. 93-132, 1992.

CHAVES, J.B.P. **Análise Sensorial**: glossário. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1993.

CHAVES, J.B.P.; SPROESSER, R.L. **Práticas de laboratório de análise sensorial de alimentos e bebidas**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 81p., 1993

CHERUBIN, R. A. **Efeitos da adição de benzoatos de sódio na fermentação alcoólica para produção de aguardentes de cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*)**. 70p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1998.

CONNER, J; REID, K; JACK, F. *Whisky - technology, production and marketing :Maturation and blending*, Russell I (ed.) , cap.7, **2003**

COOK, R.; MCCAIG, N.; MCMILLAN, J. M. B.; LUMSDEN, W. B. J. **Ethyl carbamate in alcoholic beverages**. *Journal of the Institute of Brewing*. 96, 233, 1990.

CORRÊA, S. et. al. Cana-de-açúcar: Comparativo de área, produção e produtividade. IN: **Anuário Brasileiro da Cana-de-açúcar**. Santa Cruz do Sul: Gazeta Santa Cruz, 2007.

COTTRELL, T. Micro-oxygenation a modern tool for red wines. *Wine Bus. Mon.*v.11, p.12-16, 2004.

CRETENAND, J. Tasting cards in international wine competitions. **Journal International des sciences de la vigne du vin**, volume especial, 99–106, 1999.

CROW, V. L.; HOLLAND, R.; LIU, S. Q. Ester and Their Biosynthesis in Fermented Dairy Products: A Review. **International Dairy Journal**, v. 14, p. 923-924, 2004.

DELLA MODESTA, R.C. Manual de análise sensorial de alimentos e bebidas:prática. Rio de Janeiro:EMBRAPA-CTAA, 1994.

DONOHUE, T. J. *Oxidations and Reduction in Organic Synthesis*, Oxford University Press Inc., New York, 2000.

DUCOURNAU, P., LAPLACE, F. **Process for metering and injecting gas for a vinification tank and plant for this purpose**. Patent FR2709983, France, 1995.

DURIGAN, A. J. N. **Influência da micro-oxigenação sobre as características cromáticas do vinho touriga nacional**. 53p. Dissertação (Graduação). Centro Federal de Educação Tecnológica, Bento Gonçalves, 2008.

DYKES, S. **The effect of oxygen dosage rate on the chemical and sensory changes occurring during micro-oxygenation of New Zealand red wine**. Ph. D. Thesis. The University of Auckland, New Zealand, 2007.

ETIÉVANT, P. X. Wine. In: MAARSE, H. **Volatile Compounds in Foods and Beverages**. New York: Marcel Dekker, Cap. 14, p. 483-546, 1991.

FARIA, J. B. **A influência do cobre na qualidade das aguardentes de cana (*Saccharum officinarum*, L.)**. 88 p. (Tese de Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, 1989.

FARIA, J. B. **Determinação dos compostos responsáveis pelo defeito sensorial das aguardentes de cana (*Saccharum SSP*) destiladas na ausência de cobre**. 99p. Tese (Livre Docência). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, Araraquara, 2000.

FARIA, J. B.; ELIZA, R.; ROSSI, E. A. Compostos sulfurados e a qualidade das aguardentes de cana (*Saccharum officinarum*, L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 13, n. 1, p. 90-93, 1993.

FARIA, J.B.; CARDELLO, H.M.A.B.; BOSCOLO, M.; ISIQUE, W.D.; ODELLO, L.; FRANCO, D.W. Evaluation of Brazilian woods as an alternative to oak for cachaças aging. **European food research and technology** , n. 218, p. 83-87, 2003.

FERREIRA, V.; LÓPEZ, R.; HERNÁNDEZ, P.; CACHO, J. F. Identification of impact odorants of Young red wines made with Merlot, Cabernet Sauvignon and Grenache grape varieties: a comparative study. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 79, p. 1461-1467, 1999.

FLANZY, C. Enología: **Fundamentos científicos y tecnológicos**. Madrid: Ediciones Mundi – Prensa, 783p, 2000.

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.

GONZÁLEZ-SANJOSÉ, M. L.; RIVERO PÉREZ, M. D.; FERNÁNDEZ, J. A.; GONZÁLEZ HUERTA, C.; HERRERA, P.; ORTEGA-HERAS, M.; PÉREZ-MAGARIÑO, S.; SÁNCHEZ-IGLESIAS, M. **Modificaciones de las características sensoriales de vinos tintos de Castilla y León tras La aplicación controlada de oxígeno**. Actas de las VIII Jornadas de los Grupos de Investigación Enológica. Palencia, p.71-73, 2005.

GONZÁLEZ-SANJOSÉ, M.L.; ORTEGA-HERAS, M.; PÉREZ-MAGARIÑO, S. Microoxygenation treatment and sensory properties of young red wines. **Food Science Technology International**, v.14,nº5, p.123–130, 2008.

HART, H.; SCHUETZ, R.D. **Química orgânica**. Rio de Janeiro. Campus, Cap. 11, p. 218-244, 1983.

JERONIMO, E. M. **O nitrogênio protéico na fermentação alcoólica e sua influência na qualidade da cachaça**. 121p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP, Campinas, 2004.

LABANCA, R. A. **Teores de carbamato de etila, cobre e grau alcoólico em aguardentes produzidas em Minas Gerais**. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos). Faculdade de Farmácia. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2004.

LÉAUTÉ, R. Distillation in alambic. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.41, n.1, p.90-103, 1990.

LEMAIRE, T. (1995). La micro-oxgénation des vins. In: 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.

LIMA, U.A. **Aguardentes**. In: AQUARONE, E., LIMA, U.A.; BORZANI, W. **Biotecnologia Industrial: alimentos e bebidas produzidos por fermentação**. São Paulo: Edgard Blücher, v. 5. p. 145-182, 2001.

MACKENZIE, W. M.; CLYNE, A. H.; MCDONALD, L. S. Ethyl carbamate formations in grain based spirits. Part II: the identification and determination of cyanide related species involved in ethyl carbamate formation in scotch grain whisky. **Journal of the Institute of Brewing.**, v. 96, p.223-232, 1990.

MAIA, A. B. R. A. **Componentes secundários da aguardente**. STAB Açúcar e Álcool e Subprodutos, Piracicaba, v. 12, n. 6, p. 29-34. 1994.

MAIA, A. B. R. A.; CAMPELO, E. A. P. **Tecnologia da cachaça de alambique**. Belo Horizonte: SEBRAE/MG; SINDBEBIDAS, 129p., 2005

MAIA, A.B.R.A; RIBEIRO, J.C.G.M; SILVEIRA, L.C.I. **1º Curso AMPAQ de Produção Artesanal de Aguardente de qualidade**. 106p. (Apostila). Belo Horizonte: AMPAQ, 1995.

MEILGAARD, M. C ; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory evaluation techniques**. 2 ed. Florida: CRC, 1991.

MOSEDALE, J. R.; PUECH, J. L. Wood maturation of distilled beverages. **Food Science & Technology**, v. 9, n. 3, p. 95-101, 1998.

MOUTOUNET, M.; MAZAURIC, J. P.; DUCOURNAU, P.; LEMAIER, T. Microoxygénation des vins. Principe et applications technologiques. In: Cejudo-Bastante, M. J; Herмосín-Gutiérrez, I; Pérez-Coello, M. S. **Micro-oxygenation and oak chip treatments of red wines: Effects on colour-related phenolics, volatile**

**composition and sensory characteristics.** Part I: Petit Verdot wines. Food Chemistry, v.124, p.727-737, 2011.

MUÑOZ, A. M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory evaluation in quality control.** New York: Van Reinhold, p. 23-51, 1992.

MUTTON, M. J. R.; MUTTON, M. A. Aguardente. In: VENTURINI FILHO, W. G. **Tecnologia de bebidas: matéria-prima, processamento, BPF/APPCC, legislação e mercado.** São Paulo: Edgard Blucher, Cap. 20, p. 485-524, 2005.

NAGATO, L. A. F.; NOVAES, F. V.; PENTEADO, M. de V. C. **Carbamato de etila em bebidas alcoólicas.** Bol. SBCTA, Campinas, v.37, nº1, p.40-47, 2003.

NASCIMENTO, R. F.; CARDOSO, D. R.; LIMA-NETO, B. S.; FRANCO, D.W.; FARIA, J. B. Influência do alambique na composição química das aguardentes de cana-de-açúcar. **Química Nova**, São Paulo, v. 21, n. 6, p. 735-739, 1998.

NISHIMURA, K.; MATSUYAMA, R. Maturation and maturation chemistry. In: PIGGOTT, J. R.; SHARP, R.; DUNCAN, R. E. B. **The science and technology os whiskies.** New York: Longman Scientific & Technical, p.235-263, 1989.

NOVAES, F. V., **Testes e análises realizados para assegurar a qualidade da aguardente brasileira.** Engarrafador Moderno, p. 79-81, 1996.

NYKÄNEN, L.; NYKÄNEN, I. **Distilled beverages. Volatile compounds in food and beverages** (Maarse, H, ed.). New York: Mercel Dekker, 1991.

NYKANEN, L.; NYKANEN, I. Rum flavor. In: Piggott, J.R. (ed.) **Flavor of Alcoholic Beverages; Origin and Development.** Chichester, West Sussex: E. Horwood Ltd., p. 49-63, 1983.

NYKÄNEN, L.; SUOMALAINEN, H. Aroma of beer, wine, and distilled alcoholic beverages. Berlin: D. Reidel, 1983.

ORTEGA-HERAS, M., RIVERO-PÉREZ, M. D., PÉREZ-MAGARIÑO, S., GONZÁLEZ-HUERTA, C., & GONZÁLEZ-SANJOSÉ, M.L. (2008). Changes in the volatile composition of red wines during aging in oak barrels due to micro-oxygenation treatment applied before malolactic fermentation. *European Food Research and Technology*, 226, 1485–1493.

PADOVAN, F. C.; BORRAGINI, M. C. C.; FARIA, J. B. Efeito da circulação da aguardente de cana no tempo de envelhecimento em ancorotes de carvalho (*Quercus SP*). **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 15, n. 3, p. 267-271, 2004.

PARISH, M., WOLLAN, D.; PAUL, R. **Micro-oxygenation- a review**. The Austr. New Zealand Grapegrower & Winemaker Annual Technical Issue 438a, p.47-50, 2000.

PAUL, R., 2002. Micro-oxygenation - Where now? In: ALLEN, M., BELL, S., ROWE, N., WALL, G. **Use of gases in winemaking**: Proceedings of Seminar held in Adelaide. Australian Society of Viticulture and Oenology, Adelaide, pp.18–22, 2002.

PEYNAUD, E. **The Taste of Wine**. 2<sup>nd</sup> ed.; Wiley: New York, 1996.

PIGGOTT, J. R. Ç.; SHARP, R. Ç.; DUNCAN, R. E. B. The science and technology of whiskies. New York: Longman Scientific & Technical, 1989. 410 p.

PIGGOTT, J.R.; PATERSON, A. The contributions of the process to flavour in Scotch malt whisky. In PIGGOTT, J.R.; PATERSON, A. (Eds). **Distilled beverage flavours**: recent developments. New York: VCH, 352p., 1989.

PIMENTEL GOMES, F.P. **Curso de estatística experimental**. 14. ed. Piracicaba: Nobel, 477 p., 2000.

RANKINE, B.C. Formation of higher alcohols by wine yeasts relationship to taste thresholds. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.18, p.583-589, 1967.

REAZIN, G.H. Chemical mechanisms of whisky maturation. **American Journal of Enology and Viticulture**. v.32, p.283-239, 1981.

RIBÉREAU-GAYON P. GLORIES Y. MAUJEAN A. AND DUBOURDIEU D. **Handbook of Enology**: The chemistry of wine stabilization and treatments. Ed. Ribéreau-Gayon P., Wiley, Chichester, England. Vol. 2, 2000.

RIGOTT, J. R. (Ed) **Distilled beverage flavour**. Weinheim: VCA, 1989.

ROSE, A. H. **Alcoholic beverages**. London: Academix, 1977.

SÁNCHEZ IGLESIAS, M.; PÉREZ MAGARIÑO, M.; ORTEGA HERAS, M.; GONZÁLEZ HUERTA, C.; RIVERO PÉREZ, M.D.; GONZÁLEZ SAN JOSÉ, M.L. Incidencia de la microoxigenación en la evolución de la dotación antocianica de vinos de crianza. In: **AVANCES EN CIENCIAS Y TÉCNICAS ENOLÓGICAS**. Valladolid. Anais. Valladolid: Ed. Itacyl, vol.1, p.219-221, 2005

SARGENTELLI, V.; MAURO, A. E.; MASSABNI, A. C. Aspectos do metabolismo do cobre no homem. **Química Nova**, São Paulo, v. 19, n. 3, p. 290-293, 1996.

SCHLATTER, J.; LUTZ, W. K. **The carcinogenic potencial of ethyl carbamate**. Food Chemistry. Toxicol., 205 p, 1990.

SCHWAN, R. F.; CASTRO, H. A. **Fermentação alcoólica**. IN: CARDOSO, M. das G. **Produção Artesanal de Aguardente**. Lavras: UFLA, 2001.

SHELDON, R. A.; KOCHI, J. K. **Metal- Catalyzed Oxidations of Organic Compouds**, Academic Press, New York, 1981.

SILVEIRA, E. **Brinde a cachaça. Problemas Brasileiros**. São Paulo, n.320. 2007.

SORATTO, A.N.; VARVAKISII, G.; HORII, J. **A certificação agregando valor à cachaça do Brasil**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v.27, n.4, 2007.

SUOMALAINEN, H. Yeast and its effect on the flavor of alcoholic beverages. **Journal of the Institute of Brewing**, London, v.77, p.164-177, 1971.

SUOMALAINEN, H.; LEHTONEN, M. The production of aroma compounds by yeast. **Journal of the Institute of Brewing**, v.85, n.3, p.149-156,1979.

VIVAS, N. *Manual de toneleria*. Madri: Munid-Prensa Libros, **2005**.

WEAST, R. C. **CRC Handbook of chemistry and physics**: A ready-reference book of chemical and physical data. Cleveland: CRC, p. 1977-1978, 1971.

WEBB, A.D.; INGRAHAM, J.L. **Fusel oil. Advances in Applied Microbiology, Washington**, v.5, p.317-353, 1963.

WINDHOLSZ, M. **The merk index**: an encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals. Rahway: Merk, 1976.

WINDHOLZ, M; BUDAVARI, S. (Ed.) **The merck index**: an encyclopedia of chemicals and drugs. 9<sup>th</sup> Ed. Rahway: Merck & Co, 1835p., 1976.

YOKAYA, F. **Fabricação da aguardente de cana**. Campinas: Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia "André Tosello", Série Fermentações Industriais, n.2, 93p. 1995.

## ANEXOS

### ANEXO 1 - ANÁLISES DE VARIÂNCIA DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

Análise de variância para os resultados da concentração de Graduação Alcoólica<sup>#</sup> nas cachaças micro-oxigenadas.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	F.calc.	F.05	F.01
Blocos	4	1,050	0,262	8,241	3,260	5,410
Tratamentos	3	0,907	0,302	9,499	3,490	5,950
Erro	12	0,382	0,032			
Total	19	2,340	0,123			
Média Geral	46,7					
CV	0,38					

<sup>#</sup>Valores expressos em % v/v a 20°C

Análise de variância para os resultados da concentração de Aldeídos<sup>#</sup> nas cachaças micro-oxigenadas.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	F.calc.	F.05	F.01
Blocos	24	5,084	1,271	5,564	3,260	5,410
Tratamentos	3	4,774	1,591	6,968	3,490	5,950
Erro	12	2,741	0,228			
Total	19	12,599	0,663			
Média Geral	20,3					
CV	2,35					

<sup>#</sup>Valores expressos em mg/100mL de álcool anidro

Análise de variância para os resultados da concentração de Acidez Volátil<sup>#</sup> nas cachaças micro-oxigenadas.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	F.calc.	F.05	F.01
Blocos	4	2,764	0,691	6,471	3,260	5,410
Tratamentos	3	3,120	1,040	9,741	3,490	5,950
Erro	12	1,281	0,107			
Total	19	7,166	0,377			
Média Geral	39,6					
CV	0,82					

<sup>#</sup>Valores expressos em mg/100mL de álcool anidro

Análise de variância para os resultados da concentração de Ésteres<sup>#</sup> nas cachaças micro-oxigenadas.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	F.calc.	F.05	F.01
Blocos	4	31,575	7,894	5,959	3,260	5,410
Tratamentos	3	30,714	10,238	7,729	3,490	5,950
Erro	12	15,897	1,325			
Total	19	78,186	4,115			
Média Geral	33,3					
CV	3,45					

<sup>#</sup>Valores expressos em mg/100mL de álcool anidro

Análise de variância para os resultados da concentração de Álcool Superior<sup>#</sup> nas cachaças micro-oxigenadas.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	F.calc.	F.05	F.01
Blocos	4	142,460	35,615	1,351	3,260	5,410
Tratamentos	3	225,634	75,211	2,853	3,490	5,950
Erro	12	316,292	26,358			
Total	19	684,350	36,018			
Média Geral	225,1					
CV	2,28%					

<sup>#</sup>Valores expressos em mg/100mL de álcool anidro

Análise de variância para os resultados da concentração de Furfural<sup>#</sup> nas cachaças micro-oxigenadas.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	F.calc.	F.05	F.01
Blocos	4	0,006	0,001	1,388	3,260	5,410
Tratamentos	3	0,005	0,002	1,747	3,490	5,950
Erro	12	0,013	0,001			
Total	19	0,024	0,001			
Média Geral	0,35					
CV	9,24					

<sup>#</sup>Valores expressos em mg/100mL de álcool anidro

Análise de variância para os resultados da concentração de Cobre<sup>#</sup> nas cachaças micro-oxigenadas.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	F.calc.	F.05	F.01
Blocos	4	0,004	0,001	1,230	3,260	5,410
Tratamentos	3	0,001	0,000	0,369	3,490	5,950
Erro	12	0,010	0,001			
Total	19	0,016	0,001			
Média Geral	2,9					
CV	1,02					

<sup>#</sup>Valores expressos em mg/100mL de álcool anidro

## ANEXO 2 - ANÁLISES DE VARIÂNCIA DOS TESTES SENSORIAIS COM JULGADORES NÃO TREINADOS

Análise estatística para os resultados da análise sensorial com julgadores não treinados nas cachaças micro-oxigenadas.

<i>Grupo</i>	<i>Contagem</i>	<i>Soma</i>	<i>Média</i>	<i>Variância</i>
Testemunha	60	299	4,98	1,033
6 mg/L/mês	60	321	5,35	0,81
12 mg/L/mês	60	294	4,9	1,04
18 mg/L/mês	60	298	4,96	1,15

Análise de variância para os resultados dos testes sensoriais (escala hedônica com 7 níveis) com cachaças micro-oxigenadas.

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	7,43	3	2,47	2,45	0,06	3,86
Dentro dos grupos	237,96	23	1,0			
Total	245,4	23				
		9				

### ANEXO 3 - ANÁLISES DE VARIÂNCIA DOS TESTES SENSORIAIS COM JULGADORES TREINADOS

Análise de variância para os resultados dos testes sensoriais (método de “100 pontos” - O.I.V./U.I.O.E.) com julgadores treinados para intensidade olfativa

<b>Fonte de Variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F calc.</b>	<b>F<sub>0,5</sub></b>	<b>F<sub>0,1</sub></b>
Repetição	9	13,51	1,50	1,22	2,04	2,72
Tratamento	8	83,55	10,44	8,46	2,09	2,82
Fator A	2	14,49	7,24	5,87	3,15	4,98
Fator B	2	48,09	24,04	19,46	3,15	4,98
Interação AxB	4	20,98	5,24	4,24	2,53	3,65
Erro	72	88,89	1,23			
Total	89	185,96	2,09			
Média	5,97					
C.V	18,59					

Análise de variância para os resultados dos testes sensoriais (método de “100 pontos” - O.I.V./U.I.O.E.) com julgadores treinados para Qualidade olfativa

<b>Fonte de Variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F calc.</b>	<b>F<sub>0,5</sub></b>	<b>F<sub>0,1</sub></b>
Repetição	9	15,51	1,72	2,58	2,04	2,72
Tratamento	8	39,02	4,88	7,10	2,09	2,82
Fator A	2	4,62	2,31	3,46	3,15	4,98
Fator B	2	15,55	7,78	11,64	3,15	4,98
Interação AxB	4	18,84	4,71	7,05	2,53	3,65
Erro	72	48,09	0,67			
Total	89	102,62	1,15			
Média	11,24					
C.V	7,27					

Análise de variância para os resultados dos testes sensoriais (método de “100 pontos” - O.I.V./U.I.O.E.) com julgadores treinados para Intensidade Gustativa

<b>Fonte de Variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F calc.</b>	<b>F<sub>0,5</sub></b>	<b>F<sub>0,1</sub></b>
Repetição	9	6,93	0,77	1,84	2,04	2,72
Tratamento	8	12,60	1,57	3,77	2,09	2,82
Fator A	2	0,47	0,23	0,56	3,15	4,98
Fator B	2	7,47	3,73	8,94	3,15	4,98
Interação AxB	4	4,67	1,17	2,79	2,53	3,65
Erro	72	30,07	0,42			
Total	89	49,60	0,56			
Média	6,4					
C.V	10,10					

Análise de variância para os resultados dos testes sensoriais (método de “100 pontos” - O.I.V./U.I.O.E.) com julgadores treinados para Qualidade Gustativa

<b>Fonte de Variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F calc.</b>	<b>F<sub>0,5</sub></b>	<b>F<sub>0,1</sub></b>
Repetição	9	36,10	4,01	2,51	2,04	2,72
Tratamento	8	81,69	10,21	6,38	2,09	2,82
Fator A	2	0,82	0,41	0,26	3,15	4,98
Fator B	2	48,82	24,41	15,26	3,15	4,98
Interação AxB	4	32,04	8,01	5	2,53	3,65
Erro	72	115,20	1,6			
Total	89	232,99	2,61			
Média	8,21					
C.V	15,40					

Análise de variância para os resultados dos testes sensoriais (método de “100 pontos” - O.I.V./U.I.O.E.) com julgadores treinados para Intensidade de Retrogosto

<b>Fonte de Variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F calc.</b>	<b>F<sub>0,5</sub></b>	<b>F<sub>0,1</sub></b>
Repetição	9	9,16	1,02	2,71	2,04	2,72
Tratamento	8	10,29	1,29	3,42	2,09	2,82
Fator A	2	0,96	0,48	1,27	3,15	4,98
Fator B	2	4,96	2,48	6,60	3,15	4,98
Interação AxB	4	4,38	1,10	2,91	2,53	3,65
Erro	72	27,04	0,38			
Total	89	46,49	0,52			
Média	4,29					
C.V	14,29					

Análise de variância para os resultados dos testes sensoriais (método de “100 pontos” - O.I.V./U.I.O.E.) com julgadores treinados para Qualidade de Retrogosto

<b>Fonte de Variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F calc.</b>	<b>F<sub>0,5</sub></b>	<b>F<sub>0,1</sub></b>
Repetição	9	129,07	14,34	2,76	2,04	2,72
Tratamento	8	527,2	65,90	12,68	2,09	2,82
Fator A	2	73,87	126,4	7,11	3,15	4,98
Fator B	2	252,8	50,13	24,32	3,15	4,98
Interação AxB	4	200,53	5,19	9,65	2,53	3,65
Erro	72	374,13	11,58			
Total	89	1030,4				
Média	14,13					
C.V	16,13					

Análise de variância para os resultados dos testes sensoriais (método de “100 pontos” - O.I.V./U.I.O.E.) com julgadores treinados para Avaliação Global

<b>Fonte de Variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F calc.</b>	<b>F<sub>0,5</sub></b>	<b>F<sub>0,1</sub></b>
Repetição	9	46,93	5,21	1,48	2,04	2,72
Tratamento	8	304,35	38,04	10,79	2,09	2,82
Fator A	2	55,82	27,91	7,92	3,15	4,98
Fator B	2	142,22	71,11	20,17	3,15	4,98
Interação AxB	4	106,31	26,58	7,54	2,53	3,65
Erro	72	253,87	3,53			
Total	89	605,16	6,8			
Média	14,62					
C.V	12,84					