

IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE FENÓLICOS PRESENTES EM SEIS LOTES DE CACHAÇAS ENVELHECIDAS EM BARRIS DE CARVALHO AMERICANO

Antonia I. Fernandes¹; Maria G. Cardoso¹; Wilder D. Santiago¹; Sara C. S. Silva¹; Juliana X. Silva¹; Vinicius S. Patrocínio³; Pedro H. N. Barboza²; Wilton A. Santos¹; Danúbia A. C. S. Rezende¹.

¹ Departamento de Química, Universidade Federal de Lavras

² Departamento de Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras

³ Departamento de Engenharia, Universidade Federal de Lavras

antonia.fernandes1@estudante.ufla.br

Palavras-Chave: Envelhecimento. Caracterização Química. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.

Introdução

A cachaça é uma bebida brasileira de grande importância histórica, cultural e econômica para o Brasil, que surgiu no período de descobrimento do país, de forma empírica pelos escravos nos engenhos de cana-de-açúcar. Seu consumo popularizou-se rapidamente durante todas as classes sociais e, até os tempos atuais, apresenta importância econômica relevante para o país, gerando empregos diretos e indiretos e renda pelo comércio nacional e internacional (Cardoso, 2020; Brasil, 2025).

Em termos legais, só é considerada cachaça a bebida fabricada exclusivamente no território brasileiro e a partir da fermento-destilação do caldo de cana-de-açúcar, com graduação alcoólica entre 38% e 48% v/v a 20 °C. Sua produção pode ocorrer tanto de forma contínua, utilizando destiladores de inox, como de forma descontínua, a partir de alambiques de cobre (Cardoso, 2020; Brasil, 2022).

Suas características físico-químicas são regidas por todas as etapas de produção, desde a obtenção da matéria-prima até o envelhecimento. Logo após a destilação, a cachaça apresenta sabor alcoólico muito forte. Como alternativa para melhoria dessa característica, o armazenamento e envelhecimento em barris de madeira é amplamente difundido em cachaçarias, resultando em um produto de elevada riqueza sensorial e de maior valor agregado. O processo de envelhecimento pode ser favorável para a estabilização da cor e sabor e harmonização dos compostos formados durante a produção da bebida (Bortoleto; Correa; Alcarde, 2016; Souza *et al.*, 2014).

Durante o processo de envelhecimento, a interação madeira-cachaça ocasiona diversos subprocessos, como a evaporação de compostos voláteis e a decomposição de macromoléculas, como a lignina, celulose e hemicelulose, em moléculas menores, como os compostos fenólicos. Carvalho e colaboradores (2020) explicam que os fenólicos são formados por dois mecanismos

distintos: no primeiro, a lignina é extraída pelo etanol e forma compostos etanol-lignina, posteriormente degradados em fenólicos simples. Já no segundo mecanismo, os compostos fenólicos são formados anteriormente na madeira dos barris.

Pesquisas de Santiago *et al.* (2017) citam que diversos aldeídos e ácidos fenólicos (ácido gálico, ácido vanílico, ácido sinápico), vanilina e siringaldeído, provavelmente são oriundos da alcoólise ácida da lignina e já foram identificados em bebidas envelhecidas em barris de carvalho

Os objetivos desse trabalho foram quantificar o teor de fenólicos totais de seis lotes de cachaças envelhecidas em barris de carvalho, bem como identificar e quantificar esses compostos utilizando métodos de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).

Material e Métodos

Seis amostras de cachaça envelhecidas em diferentes barris de carvalho foram coletadas de um produtor localizado no Campo das Vertentes, Minas Gerais, Brasil. As amostras foram armazenadas entre dezembro de 2018 a julho de 2022. Após coleta, as amostras foram identificadas por códigos (L1, L2, L3, L4, L5 e L6) e encaminhadas ao Laboratório de Análise de Qualidade de Aguardente da Universidade Federal de Lavras (LAQA-UFLA).

A determinação de compostos fenólicos totais das amostras de cachaça foi realizada pelo método de Folin-Ciocalteu, seguindo o método de Singleton e Rossi (1965), com modificações propostas por Rodrigues e colaboradores (2016). Após reação, as amostras foram lidas em espectrofotômetro a 725 nm. As concentrações de polifenóis foram determinadas pela construção de curva analítica de ácido gálico e os resultados expressos em miligrama equivalente de ácido gálico por litro (mgEq a.g. L^{-1}).

Os compostos fenólicos foram identificados e quantificados utilizando um cromatógrafo líquido de alta eficiência Shimadzu, equipado com duas bombas de alta pressão SPD-M20A, um desgaseificador DGU-20A3, interface CBM-20A e um injetor automático SIL-10AF. A fase estacionária utilizada foi Agilent-Zorbax Eclipse XDB-C18 (4,6 x 250 mm, 5 μm), acoplada a uma pré-coluna Agilent-Zorbax Eclipse XDB-C18 (4,6 x 12,5 mm, 5 μm). As amostras foram eluídas por gradiente, utilizando como fase móvel ácido acético glacial a 2% (Solvente A) e metanol-água-ácido acético (70:28:2) (Solvente B). O fluxo e o volume de injeção foram equivalentes a 0,8 mL min^{-1} e 20 μL , respectivamente. A detecção dos compostos foi realizada utilizando um detector de arranjo de diodos (DAD), em comprimento de onda de 280 nm.

As amostras foram injetadas em triplicata no sistema cromatográfico após filtragem em membranas filtrantes de polietileno 0,45 μm (Millipore). A identificação dos compostos presentes nas amostras foi realizada a partir da comparação dos tempos de retenção das amostras com os tempos de retenção obtidos a partir dos padrões, enquanto a quantificação destes foi realizada por padronização externa, comparando áreas de picos das amostras de cachaças com os valores das áreas da curva analítica obtida pelo padrão para cada composto analisado em concentrações entre 10 e 500 $\mu\text{g L}^{-1}$. Os padrões utilizados para comparação

foram: ácido gálico, catequina, ácido vanílico, fenol, ácido siríngico, vanilina, siringaldeído, ácido *p*-cumárico, ácido sinápico, cumarina, 4-metilumbeliferona e ácido *o*-cumárico (Santiago *et al.*, 2017).

Resultados e Discussão

Os dados relacionados à concentração de fenólicos totais (mgEq a.g. L⁻¹) (Folin-Ciocalteu) e às concentrações de fenólicos analisados por HPLC nas amostras de cachaças envelhecidas em carvalho estão apresentadas nas Tabelas 1 e 2, respectivamente.

Tabela 1: Teores de fenólicos totais (Folin-Ciocalteu) presentes nos seis lotes de cachaças envelhecidas em carvalho.

Amostra	Concentração de Fenólicos Totais (mEq de Ácido Gálico)
L1	41,76 ± 2,89
L2	48,01 ± 0,87
L3	45,54 ± 0,14
L4	25,32 ± 0,41
L5	33,25 ± 1,30
L6	32,57 ± 0,24

Fonte: os autores (2025).

Tabela 2: Identificação e quantificação de fenólicos presentes em amostras de cachaças envelhecidas em barris de carvalho no HPLC.

Amostra	L1	L2	L3	L4	L5	L6
Ácido Gálico	1,64 ± 0,01	1,96 ± 0,02	2,16 ± 0,03	0,86 ± 0,01	1,20 ± 0,01	1,16 ± 0,00
Ácido Vanílico	0,37 ± 0,02	0,36 ± 0,01	0,32 ± 0,01	0,19 ± 0,01	0,22 ± 0,00	0,18 ± 0,00
Ácido Siríngico	1,36 ± 0,02	1,56 ± 0,03	1,61 ± 0,01	0,71 ± 0,01	0,94 ± 0,01	0,86 ± 0,02
Vanilina	0,65 ± 0,01	0,75 ± 0,02	0,73 ± 0,01	0,41 ± 0,01	0,48 ± 0,01	0,40 ± 0,01
Siringaldeído	2,71 ± 0,01	3,36 ± 0,03	3,24 ± 0,03	1,72 ± 0,00	2,08 ± 0,02	2,00 ± 0,01
Total	6,73 ± 0,03	7,99 ± 0,07	8,06 ± 0,00	3,89 ± 0,00	4,92 ± 0,03	4,60 ± 0,04

Fonte: os autores (2025).

Pelo método espectrofotométrico, o teor de fenólicos nas amostras analisadas manteve-se entre $25,32 \pm 0,41$ e $48,01 \pm 0,87$, ao passo que as concentrações obtidas pelo método cromatográfico estiveram entre $3,89 \pm 0,00$ e $8,07 \pm 0,00$. Quando comparado com o somatório dos resultados obtidos por métodos cromatográficos, a análise de Folin-Ciocalteu apresentou valores consideravelmente superiores.

A superestimação de resultados por esse método espectrofotométrico já havia sido descrita nos estudos Mrvcic *et al.* (2012) que, ao analisarem a composição fenólica e capacidade antioxidante de bebidas alcoólicas, apontaram que o reagente aplicado no método foi capaz de reagir com o corante caramelô presente em algumas das amostras. Posteriormente, Rodrigues e colaboradores (2016), relataram que a diferença de resultados entre os métodos aplicados pode ser justificada pela capacidade de outros compostos presentes, como ésteres aromáticos formados pela interconversão de fenólicos e ésteres oriundos da madeira interagirem com os reagentes aplicados nessa metodologia.

Pelo método cromatográfico, apenas cinco dos doze padrões fenólicos estiveram em concentrações acima dos limites de detecção do método aplicado nesse estudo. A partir dos dados obtidos por análises cromatográficas, foi perceptível que compostos como ácido gálico, vanilina, ácido siríngico e siringaldeído foram identificadas em todas as amostras em questão. Em todas as amostras, o siringaldeído, marcador químico de bebidas envelhecidas em carvalho, mostrou-se como composto majoritário. Resultados similares a esses já foram relatados em diversos estudos disponíveis na literatura, como aqueles encontrados por Barbosa *et al.* (2022), que encontraram ácido gálico, ácido siríngico e siringaldeído como compostos majoritários em cachaças envelhecidas em barris submetidos à diferentes graus de carbonização. Quando presente em bebidas, esses compostos podem adicionar uma tonalidade amarelo-dourado, com características de aroma e sabor agradáveis. Além da melhoria de parâmetros organolépticos, Souza *et al.* (2025) apontam que a presença de compostos fenólicos pode ser favorável para a estabilidade da bebida e aumento do seu potencial antioxidante.

Os compostos catequina, ácido sinápico e ácido *o*-cumárico, comumente encontrados em bebidas envelhecidas em carvalho, não foram identificadas nas amostras investigadas. Esses resultados divergem dos achados de Anjos *et al.* (2011), que indicaram a presença desses em amostras envelhecidas. Alguns fatores, como a posição da madeira na árvore (mais exposta ou mais próximas ao solo), idade da planta utilizada na confecção do barril e tamanho e tempo de uso do barril podem influenciar diretamente nos compostos que serão incorporados na bebida durante o envelhecimento. Outro fator que pode ser decisivo nos compostos a serem incorporados na composição química pós-envelhecimento é o grau alcoólico da bebida a ser armazenada, uma vez que a degradação hidrolítica da madeira exige água (Lima, 2012; Rodrigues *et al.*, 2016). As amostras estudadas nesse trabalho apresentaram teor alcoólico médio correspondente a 43,5% (v/v a 20°C). Para Daniel *et al* (2022), teores alcoólicos entre 40 e 55% garantem a maior extração de ácidos fenólicos e aldeídos furânicos.

Conclusões

A análise do teor de fenólicos totais pelo método espectrofotométrico, atrelado ao método analítico por cromatografia, mostrou-se eficaz para uma explanação abrangente da composição fenólica de bebidas envelhecidas. Nesse estudo, o método de Folin-Ciocalteu apresentou valores superiores aos encontrados por HPLC, justificados pela capacidade de

interferentes mascararem o resultado final. Mesmo que seja a mesma espécie vegetal, outros fatores relacionados ao barril de envelhecimento mostraram-se relevantes para a concentração de fenólicos no produto final.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig – PPE 0035/2023) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq – 311183/2022).

Referências

- ANJOS, J. P. *et al.* Identification of ethyl carbamate during the aging of cachaça in an oak barrel (*Quercus* sp.) and a glass vessel. **Química Nova**, v. 34, p. 874-878, 2011.
- BARBOSA, R. B. *et al.* Physical-chemical profile and quantification of phenolic compounds and polycyclic aromatic hydrocarbons in cachaça samples aged in oak (*Quercus* sp.) Barrels with different heat treatments. **Food and Bioprocess Technology**, v. 15, p. 1977-1987, 2022.
- BORTOLETTO, A. M.; CORREA, A. C.; ALCARDE, A. R. Aging practices influence chemical and sensory quality of cachaça. **Food Research International**, v. 86, p. 46-53, 2016.
- BRASIL. 2022. Ministério da Agricultura e Pecuária (MAP). **Portaria MAPA nº 539 de 26 de dezembro de 2022. Estabelece os Padrões de Identidade e Qualidade da aguardente de cana e cachaça.** 2022.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Anuário da Cachaça 2025: ano de referência 2024.** Brasília: MAPA/SDAV, 2025. 49 p.
- CARDOSO, M. G. **Produção de aguardente de cana.** 4 ed. Lavras: Editora da UFLA. 2020.
- CARVALHO, D. G. *et al.* Determination of the concentration of total phenolic compounds in aged cachaça using two-dimensional fluorescence and mid-infrared spectroscopy. **Food Chemistry**, v. 329, nov./2020.
- DANIEL, B. B. *et al.* Effect of alcoholic strength on the phenolic and furfural compounds of Brandy de Jerez aged in Sherry Casks®. IVES Conference Series, IVAS 2022.
- LIMA, L. M. Z. **Influência da luz na composição fenólica, atividade antioxidante e concentração de carbamato de etila em aguardentes de cana/cachaças envelhecidas em diferentes madeiras.** 2012. 219f. Tese - Programa de Pós Graduação em Agroquímica. Universidade Federal de Lavras. Lavras - MG, 2012.
- RODRIGUES, L. M. A. *et al.* Phenolic extracts of cachaça aged in different woods and quantifying antioxidant activity and antifungal Properties. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 122, n. 4, p. 644-652, 2016.
- SANTIAGO, W. D. *et al.* Cachaça stored in casks newly constructed of oak (*Quercus* sp.), amburana (*Amburana cearensis*), jatoba (*Hymenaea carbouril*), balsam (*Myroxylon peruiferum*) and peroba (*Paratecoma peroba*): alcohol content, phenol composition, colour intensity and dry extract. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 123, p. 232-241, 2017.
- SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, p. 144- 158, 1965.
- SOUZA, P. P. *et al.* Artificially-aged cachaça samples characterised by direct infusion electrospray ionisation mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 143, p. 77-81, 2014.
- SOUZA, E. G. T. *et al.* Accelerated aging of Brazilian sugarcane spirit: Impact of wood chips reuse on the phenolic and volatile profile of the beverage. **Food Chemistry**, v. 476, 2025.
- MRVCIC, J. *et al.* Spirit drinks: a source of dietary polyphenols. **Croatian Journal of Food Science and Technology**, v. 4, n. 2, p. 102-111, 2012.