



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

NÁDSON LÍBIO BESERRA FERREIRA

DESENVOLVIMENTO DE BEBIDAS ALCOÓLICAS POR INFUSÃO UTILIZANDO
FOLHAS E SEMENTES DE ESPÉCIES NATIVAS DA MATA ATLÂNTICA

DEVELOPMENT OF ALCOHOLIC BEVERAGES BY INFUSION USING LEAVES AND
SEEDS OF NATIVE SPECIES OF THE ATLANTIC FOREST

Campinas/SP

2022

NÁDSON LÍBIO BESERRA FERREIRA

DESENVOLVIMENTO DE BEBIDAS ALCOÓLICAS POR INFUSÃO UTILIZANDO
FOLHAS E SEMENTES DE ESPÉCIES NATIVAS DA MATA ATLÂNTICA

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Flávio Luís Schmidt

ESTE TRABALHO CORRESPONDE À
VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO
DEFENDIDA PELO ALUNO NÁDSON
LÍBIO BESERRA FERREIRA, E
ORIENTADA PELO PROF. DR. FLÁVIO
LUÍS SCHMIDT.

Campinas/SP
2022

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Engenharia de Alimentos
Claudia Aparecida Romano - CRB 8/5816

Ferreira, Nádson Lívio Beserra, 1989-

F413d Desenvolvimento de bebidas alcoólicas por infusão utilizando folhas e sementes de espécies nativas da Mata Atlântica / Nádson Lívio Beserra Ferreira. – Campinas, SP: [s.n.], 2022.

Orientador: Flavio Luís Schmidt.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Jabuticaba. 2. *Calophyllum brasiliense*. 3. Toxicidade. 4. Capacidade antioxidante. I. Schmidt, Flavio Luis. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Development of alcoholic beverages by infusion using leaves and seeds of native species of the Atlantic Forest

Palavras-chave em inglês:

Jabuticaba

Calophyllum brasiliense

Toxicity

Antioxidant capacity

Área de concentração: Tecnologia de Alimentos

Titulação: Mestre em Tecnologia de Alimentos

Banca examinadora:

Flavio Luis Schmidt

Priscilla Efraim

Diana Clara Nunes de Lima

Data de defesa: 14-04-2022

Programa de Pós-Graduação: Tecnologia de Alimentos

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0003-0190-603>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/1935833648845221>

Agência(s): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)
Nº do Proc: 131370/2020-0

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Flávio Luís Schmidt
Faculdade de Engenharia de Alimentos - UNICAMP
Orientador – Presidente

Professora Dra. Priscilla Efrain
Faculdade de Engenharia de Alimentos - UNICAMP
Membro Titular

Prof. Dra. Diana Clara Nunes de Lima
Centro Federal de Educação Tecnológica Celso Suckow da Fonseca, Campus Valença
Professor (a) Externo
Membro Titular

A Ata da defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da Unidade.

DEDICATÓRIA

*Aos anjos que Deus me concedeu nessa vida, meus pais
Luciane e Nivaldo; aos meus príncipes e filhos Nicolas
e Guilherme e minha princesa e filha Maria Isabel, e
claro ao amor da minha vida e esposa Aline.*

Tudo devo e a vocês dedico!!!

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus por minha vida com saúde física e mental, sempre me dando força para ultrapassar todas as barreiras encontradas no caminho, e a minha Virgem Aparecida por todos os milagres alcançados, principalmente diante desses dois anos de completa escuridão e incerteza de um futuro com vida e em paz.

Principalmente aos meus anjos na terra Luciane da Silva e Nivaldo Faustino, pais, melhores amigos, conselheiros e incentivadores, que diante de tantas dificuldades e oposições sobre a chegada deste dia, nunca arredaram um pé para trás, pelo contrário, sempre me motivaram para realização deste sonho. **O mais difícil dessa jornada é estar longe de vocês.**

A minha amada esposa e companheira de sempre Aline, que por mais difícil que seja a distância sempre me impulsionou com uma certeza de absoluta vitória. E com coração cheio de esperança de um dia poder estar perto de vocês, agradeço aos meus amados filhos Nicolas e Guilherme e minha princesa que está chegando Maria Isabel, isso e todo sacrifício é regado pelo amor que sinto por vocês e busca de um futuro melhor para nossa família, desta forma ressalto as palavras supracitadas: **O mais difícil dessa jornada é estar longe de vocês.**

Em especial ao meu Professor Dr. Flávio Luís Schmidt pela impecável orientação desde da recepção até a conclusão deste trabalho, sempre com uma incrível paciência apontando os melhores caminhos em relação a tudo, são vocês professores que fazem o mundo do conhecimento girar, são vocês professores que dão oportunidades para um matuto do Sertão Paraibano (com orgulho), poder sonhar com um diploma de excelência e um futuro melhor, tomo emprestadas as palavras de Bráulio Bessa que diz *“Um guerreiro sem espada sem faca, foice ou facão, armado só de amor segurando um giz na mão, o livro é seu escudo que lhe protege de tudo que possa lhe causar dor, por isso eu tenho dito, Tenho fé e acredito na força do professor...”*

Ao Licorista e amigo Renato Boaretto, como um exímio enxadrista me apontando as peças corretas no momento correto de serem jogadas, agradeço por todo tempo, assim como todo material disponibilizado, e o principal, agradeço por todo conhecimento passado, afinal como diz Johnny De Carli *“Você se torna imortal, ao dividir seu conhecimento, e ao compartilhar sua sabedoria”*.

Imensamente agradeço a toda minha família: avós, tios, irmãos, primos, compadres... sempre me dando força nas maiores fragilidades que a vida impunha durante esse trajeto, e aos amigos de verdade que não apenas aplaudiram minhas vitórias (isso é fácil), mas também puxaram minha orelha quando necessário (e não foram poucas), a vocês desejo tudo que me proporcionaram em dobro, e sempre contem comigo.

Agradeço a toda equipe do Laboratório de Frutas, Hortaliças, Bebidas e Produtos Açucarados, em especial à Professora Dra. Priscila Efraim e a Técnica Dra. Juliana Hashimoto, a toda equipe de limpeza e segurança do departamento, e aqueles que nunca poderiam faltar, aos meus colegas de jornada, todos os alunos do Lab. que sabem o quanto custa ficar longe da família, e de todas as renúncias que temos que fazer para realização deste sonho, todas as gargalhadas e conversas nos chás levarei sempre comigo, a vocês minha eterna gratidão por todo companheirismo e ajuda durante esse percurso.

Agradeço a todos os membros da Banca Examinadora, Professora Dr.^a Priscilla Efraim, Prof. Dr. Carlos Alberto Rodrigues Anjos, Prof. Dra. Diana Clara Nunes de Lima e Dr. Paulo Roberto Nogueira Carvalho pela disponibilidade e colaboração.

A toda equipe da FEA/UNICAMP em especial ao Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos por toda disponibilidade para execução deste trabalho.

Agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão de bolsa e financiamento deste trabalho – Processo nº 131370/2020-0.

RESUMO

Bebidas alcoólicas por infusão vem sendo material de estudo pelos seus atributos sensoriais e riqueza em compostos bioativos com propriedades antioxidantes, nesse mercado o Brasil destaca-se pela sua biodiversidade vegetal a qual permite a utilização de uma grande diversidade de frutas, folhas, sementes, raízes e cascas para infusão. Uma vez que as folhas de jabuticabeira e sementes de guanandi são tidas como descarte no manejo florestal e industrial, o presente estudo objetivou-se produzir bebidas alcoólicas por infusão utilizando folhas da jabuticabeira (*P. cauliflora*) e sementes de guanandi (*C. brasiliensis*), espécies nativas da Mata Atlântica. Foram formuladas 18 bebidas com 3 proporções de matéria em infusão (10, 20 e 30g de folhas/500 mL de álcool de cereais) e (25, 40, 55 g de sementes/500 mL de álcool), variando no °GL com duas formulações controle, sendo 6 a 50 °GL (F1j10, F1j20, F1j30 – j = folhas de jabuticaba, 10, 20 30g) e (F1g25, F1g40, F1g55 – g = sementes de guanandi, 25, 40 e 55 g), 6 a 38 °GL (F8j10, F8j20, F8j30; F8g25, F8g40, F8g55), e 6 que sofreram diluição gradativa, de 50 a 38 °GL (F2j10, F3j20, F4j30, F5g25, F6g40, F7g55). As formulações ficaram por 27 dias em infusão, sendo avaliada a cinética de extração através do pH, densidade (DS), extrato seco (ES), sólidos solúveis totais (SST), acidez titulável (ATT) e cor. Logo após, foi feita uma seleção especializada por licorista. As formulações selecionadas foram reproduzidas e avaliadas: sua toxicidade, características físico-químicas, composição fenólica e capacidade antioxidante pelos ensaios de DPPH, ABTS e FRAP. Os resultados indicam que a quantidade de matéria seca afeta a cinética de extração quanto aos parâmetros de ATT, pH, DS, ES e SST, já a diluição gradativa apresentou picos nos níveis de pH e ATT, e alterações mínimas para DS, ES e SST. A variação da cor mostrou linearidade para as formulações com folhas a partir do 3º dia com ganho médio total de 29,08%, e para as formulações com sementes de 12,07%, crescente durante toda a infusão. As 7 formulações selecionadas (F1j20, F3j20, F8j20, F1g25, F7g55, F8g25 e F8g55) ficaram dentro dos padrões para toxicidade com taxas de sobrevivência acima de 50% sobre *Artemias salina*. Sobre as características físico-químicas após a filtração, destacou-se os níveis de ES com uma redução de resíduo de 43,7% (para folhas) e 71,6% (para sementes). A capacidade antioxidante (CA) apresentou maiores valores para as formulações com folhas, e com maiores quantidades de matéria seca destacando as F3j20, F7g55 e F8g55, apontando interferência da diluição gradativa. Tendo em vista todos os resultados, o presente trabalho oferece perspectivas ambientais e socioeconômicas promissoras na utilização dessas matérias na produção industrial de bebidas alcoólicas.

Palavras-chave: *Plinia cauliflora*; *Calophyllum brasiliense*; Toxicidade; Capacidade antioxidante; Maceração alcoólica; Composição química; Bebidas alcoólicas por infusão.

ABSTRACT

Alcoholic beverages by infusion have been studying material for their sensory attributes and richness in bioactive compounds with antioxidant properties. In this production, Brazil stands out for its plant biodiversity where fruits, leaves, seeds, roots and barks are used for infusion. Seeing that the leaves of jaboticabeira and guanandi seeds are considered to be discarded in the forest or industrial management, the present study aimed at the production of alcoholic beverages by infusion using jaboticabeira leaves (*P. cauliflora*) and guanandi seeds (*C. brasiliensis*), native species of the Atlantic Forest. 18 beverages with 3 proportions of infusion matter were formulated (10, 20 and 30g of leaves/500 mL of cereal alcohol) and (25, 40, 55g of seeds/500 mL of alcohol), ranging in °GL with two control formulations, being 6 to 50 °GL (F1j10, F1j20, F1j30 – j = jaboticaba leaves, 10, 20 30g) and (F1g25, F1g40, F1g55 - g = guanandi seeds, 25, 40 and 55g), 6 to 38 °GL (F8j10, F8j20, F8j30; F8g25, F8g40, F8g55), and 6 others that underwent gradual dilution, from 50 to 38 °GL (F2j10, F3j20, F4j30, F5g25, F6g40, F7g55). The formulations were in infusion for 30 days, and the extraction kinetics were evaluated through pH, density (DS), dry extract (ES), total soluble solids (TSS), titratable acidity (TA) and color. Soon after, a specialized selection was made by a liqueur. The selected formulations were reproduced and evaluated: their toxicity, physicochemical characteristics, phenolic composition and antioxidant capacity by DPPH, ABTS and FRAP assays. The results indicate that the amount of dry matter affects the extraction kinetics monitored by the parameters of ATT, pH, DS, ES and SST, while gradual dilution showed peaks in pH and ATT levels, and minimal changes for DS, ES and SST. The color variation showed linearity for the formulations with leaves from the 3rd day with a total average gain of 29.08%, and for the formulations with seeds of 12.07%, increasing throughout the infusion. The 7 selected formulations (F1j20, F3j20, F8j20, F1g25, F7g55, F8g25 and F8g55) were within the standards for toxicity with survival rates above 50% on *Artemias Salina*. On the physical-chemical characteristics after filtration, the levels of SS with a reduction of the residue of 43.7% (for leaves), 71.6% (for seeds) stood out, indicating efficiency at this stage in particle removal. The antioxidant capacity (CA) showed higher values for leaf formulations, and with higher amounts of dry matter, highlighting F3j20, F7g55 and F8g55, indicating gradual dilution interference. In view of all the results, this work offers promising environmental and socio-economic perspectives in the use of these materials in the industrial production of alcoholic beverages.

Keywords: *Plinia cauliflora*; *Calophyllum brasiliensis*; Toxicity; Antioxidant capacity; Alcoholic macerated; Chemical composition; Alcoholic beverages by infusion.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Consumo de bebidas alcoólicas no Brasil em 2018 em milhões de litros -----	24
Figura 2. Folhas de jabuticabeira desidratadas (A); Sementes de guanandi secas (B) -----	33
Figura 3. Fluxograma de produção das bebidas por infusão -----	34
Figura 4. Distribuição das 18 Formulações em duplicata -----	35
Figura 5. Sistema de filtragem a vácuo -----	35
Figura 6. Bebidas engarrafadas long neck com tampa metálica -----	36
Figura 7. Fluxograma de análises realizadas durante maceração alcoólica -----	37
Figura 8. Estrutura para eclosão dos Náuplios de Artemia salina. -----	47
Figura 9. Contagem dos Náuplios sobreviventes após incubação por 24 horas -----	47
Figura 10. Média e comportamento na variação de pH durante os 27 dias de infusão (A - formulações com folhas de jabuticabeira e B - formulações com sementes de guanandi). ----	55
Figura 11. Média e comportamento na variação da densidade durante os 27 dias de infusão (A formulações com folhas de jabuticabeira e B formulações com sementes de guanandi). ----	57
Figura 12. Variação do Extrato seco durante os 27 dias de infusão (Imagem A formulações com folhas de jabuticabeira e Imagem B formulações com sementes de guanandi). -----	59
Figura 13. Média e comportamento na variação do SST em °Brix durante os 27 dias de infusão (A formulações com folhas de jabuticabeira e B formulações com sementes de guanandi). -	61
Figura 14. Média e variação da acidez titulável (mg/100 mL) durante a infusão (A - formulações com folhas de jabuticabeira); (B - formulações com sementes de guanandi). -----	63
Figura 15. Variação da cor durante o processo de infusão para as formulações com folhas de jabuticabeira (intensidade de verde)-----	65
Figura 16. Variação da cor durante o processo de infusão para as formulações com sementes de guanandi (intensidade de laranja e amarelo) -----	67
Figura 17. Percentual de sobrevivência das Artemias salinas nos extratos com sementes de guanandi -----	70
Figura 18. Percentual de sobrevivência das Artemias salinas nos extratos com folhas de jabuticabeira. -----	72
Figura 19. Média da caracterização de pH para as 7 amostras selecionadas -----	75
Figura 20. Média da caracterização da densidade para as 7 amostras selecionadas -----	76
Figura 21. Resultados da análise do extrato seco das 7 formulações antes e após a filtragem a vácuo -----	77
Figura 22. Resultados para sólidos solúveis totais ° Brix para as 7 formulações selecionadas	80

Figura 23. Resultados dos níveis de acidez titulável apresentadas em mg/100 mL das 7 formulações selecionadas -----	81
Figura 24. Avaliação da cor das 7 amostras selecionadas para as medidas de L*, a* e b*----	83
Figura 25. Resultado final da cor das formulações utilizando folhas de jabuticabeira (F1j20, F3j20 e F8j20) -----	85
Figura 26. Resultado Final da coloração das formulações com semente de guanandi para as 3 concentrações de matéria seca/solvente (25, 40 e 55g) -----	86
Figura 27. Valores das médias para DPPH, ABTS e FRAP como medidor da capacidade antioxidante e Teor de Fenólicos Totais das 7 formulações selecionadas -----	88
Figura 28. Curva padrão do Trolox para método de ABTS -----	91
Figura 29. Curva padrão do Trolox para método de FRAP -----	94

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Formulações controle fixas e utilizadas na diluição gradual -----	38
Tabela 3. Gasto por amostra das análises físico-químicas com reutilização das amostras inalteradas (pH; ES = extrato seco; Cor; SS = sólidos solúveis; °GL = teor alcoólico; DS = densidade; AT = ácidos totais) -----	41
Tabela 4. Quantidade das matérias primas utilizadas para produção de 500 mL de cada formulação-----	42
Tabela 5. Cores do espectro da luz visível e seus respectivos comprimentos de onda-----	45
Tabela 6. Preparo das concentrações da solução para curva-padrão Trolox-----	50
Tabela 7. Preparo das concentrações da solução para curva-padrão Trolox-----	51
Tabela 8. Médias e desvio padrão das análises físico-químicas durante processo infusão (pH; ES = extrato seco; SS = sólidos solúveis; °GL = teor alcoólico; DS = densidade; AT = acidez titulável)-----	53
Tabela 9. Resultados das análises físico-químicas das 7 formulações selecionadas após processo de infusão. -----	74
Tabela 10. Porcentagem da atividade antioxidante (%AA) DPPH para 7 Formulações. -----	89
Tabela 11. Resultado do potencial antioxidante utilizando o método ABTS para as 7 formulações das bebidas com folha de jabuticabeira e sementes de guanandi -----	92
Tabela 12. Resultados da absorbância e capacidade antioxidante pelo método de FRAP para as 7 formulações de bebidas.-----	94

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	15
2. OBJETIVO	18
2.1. Objetivo geral.....	18
2.2. Objetivos específicos	18
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	19
3.1 Guanandi (<i>Calophyllum brasiliense</i> Cambess)	19
3.2 Jabuticabeira (<i>Myrciaria cauliflora</i> Berg.)	20
3.3 Bebidas alcoólicas	22
3.4 Mercado e legislação das bebidas alcoólicas por infusão	23
3.5 Metodologías analíticas	27
3.5.1 Composição fenólica	27
3.5.2 Capacidade antioxidante	28
3.5.3 Citotoxicidade	30
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	32
4.1. Material	32
4.1.1 Álcool de cereais.....	32
4.1.2 Folhas e Sementes	32
4.2 Produção das bebidas alcoólicas por infusão	33
4.2.1 Maceração alcoólica (Infusão)	34
4.2.2 Filtração.....	35
4.2.3 Trasfega, engarrafamento e armazenamento	36
4.3. Métodos analíticos no decurso e após maceração alcoólica	36
4.4 Preparo das soluções extratoras	37
4.4.1 Diluição gradual das formulações	39
4.4.2 Quantificação da matéria-prima utilizada em todas infusões.....	42
4.5 Cinética de extração através da caracterização físico-química.....	43
4.5.1 Teor alcoólico	43
4.5.2 Extrato seco	43
4.5.3 Sólidos solúveis.....	43
4.5.4 Acidez titulável	44
4.5.5 Densidade	44
4.5.6 pH.....	44

1. INTRODUÇÃO

As bebidas alcoólicas por infusão, vem sendo motivo de estudo na indústria, não só pelos seus atributos sensoriais, mas também, pelas suas características funcionais, ricas em compostos bioativos como carotenoides, fenólicos, flavonoides, cumarinas, alcaloides, poliacetilenos, saponinas e terpenoides, responsáveis por propriedades antioxidantes (KUZMIN; MISHU ROVSKYI, 2020).

Pesquisas apontam que essas bebidas teriam sido desenvolvidas desde 3400 a.C., utilizando sementes e folhas junto com fermentado de malte, e prescritas por médicos gregos antes da realização de cirurgias em soldados após batalhas, servindo principalmente como um entorpecente ou anestésicos (ABDOLI et al., 2019; SOUZA, 2019).

Sobre o consumo de bebidas alcoólicas em geral, segundo números revelados pela Organização Mundial da Saúde – OMS, 54,1% dos consumidores de bebidas alcoólicas no mundo fizeram consumo das mesmas nos últimos 12 meses. Nessa pesquisa o Brasil apresentou um consumo médio diário de 3 doses/dia (41,7 g/dia), um número maior que do que obtido no mundo, com um valor de 2,3 doses ou 32,8 g/dia (OMS, 2018).

Quando dividimos esse consumo entre os tipos de bebida alcoólica, as bebidas destiladas aparecem em primeiro lugar no mundo, com 44,8% do consumo, seguido da cerveja, com 34,3%, e do vinho, com 11,7% (OMS, 2018), sendo a Europa a primeira colocada em consumo de destilados (SIMIONI et al., 2018).

Com relação aos 9,2% não evidenciados na pesquisa da OMS (2018), esses dizem respeito justamente às bebidas alcoólicas elaboradas por infusão (mistura), que se utilizam de inúmeras fontes vegetais para atribuir sabores e essências (SUHAG, 2017). De qualquer forma, bebidas por infusão em geral são consumidas longinquamente em paralelo a evolução humana, iniciando-se no período paleolítico em forma de chás, (COOPER, 2012), e utilizada na medicina popular até os dias de hoje (SANLIER; GOKCEN; ALTUĞ, 2018).

No Brasil, as bebidas alcoólicas por infusão foram regulamentadas pela Instrução Normativa MAPA nº 55 de 31/10/2008, e agora Instrução Normativa nº 35 de 16/11/2010 que “aprova os regulamentos técnicos para a fixação dos padrões de identidade e qualidade para as bebidas alcoólicas por mistura” (BRASIL, 2008b).

Os licores são considerados as bebidas alcoólicas preparados por infusão de maior interesse comercial e maior consumo em todo o mundo (HEFFERNAN; MULVIHILL; KELLY, 2016), sendo consideradas ainda uma das mais antigas bebidas espirituosas (WAKELY, 2001).

No entanto, no Brasil existem várias bebidas legalizadas elaboradas através do processo de infusão, sendo elas ao todo o licor; bebida alcoólica mista; batida; fermentado de frutas misto; caipirinha industrializada; preparado líquido ou sólido para... (acrescido do nome da bebida alcoólica por mistura a ser elaborada); coquetel composto; bebida alcoólica composta; aperitivo; e aguardente composta. (BRASIL, 2008b)

Além das frutas, na maioria das vezes utilizadas para infusão, são adicionadas também folhas, sementes, raízes e cascas de plantas, as quais proporcionam uma extração de componentes sensoriais através da maceração alcoólica, o que vem chamando cada vez mais a atenção do consumidor pelas suas características sensoriais (SOKÓŁ-ŁĘTOWSKA et al., 2014). Também presentes nessas bebidas, os compostos fenólicos são fitoquímicos encontrados em praticamente todos os tecidos vegetais, que possuem função bioativa, onde sua ingestão oferece bons efeitos à saúde (DE LA ROSA et al., 2019).

Um estudo realizado por Stafussa *et al.*, (2018) propôs apresentar a composição fenólica assim como a capacidade antioxidante de 44 espécies de frutas nativas e exóticas do Brasil, e apontou que todas as amostras apresentaram níveis consideráveis de compostos bioativos. Dentro dessas cultivares nativas, existe uma grande variedade provenientes da Mata Atlântica.

Dessas espécies nativas da Mata Atlântica podemos citar o guanandi (*Calophyllum brasiliense*), a qual através de um estudo realizado por Gonçalves (2011) apresentou uma rica composição de compostos bioativos como cumarinas, xantonas, esteroides, triterpenos e flavonoides, proporcionando propriedades curativas já muito utilizadas na medicina popular no tratamento de bronquite, distúrbios gástricos e hepáticos, dores, inflamações, diabetes, hipertensão, diarreia e herpes.

Outra espécie nativa da Mata Atlântica e bem mais conhecida é a jabuticabeira (*Myrciaria cauliflora*), cujo fruto já é muito apreciado, tanto para o consumo *in natura*, quanto para o processamento. Ela também apresenta na sua composição grande quantidade de compostos bioativos, entre eles, compostos fenólicos, tocoferóis e ácidos orgânicos, sendo estes apontados como agentes de capacidade antioxidante, antiproliferativa, anti-inflamatória e antimicrobiana (ALBUQUERQUE et al., 2020).

Com isso podemos dizer que o Brasil se destaca frente a outros países em variedade de frutas, sendo a sua grande maioria, nativas, o que conseqüentemente mostra um grande potencial para elaboração de bebidas alcoólicas a partir do uso de extratos vegetais por infusões (SANTOS et al., 2019a).

O Brasil também apresenta uma enorme geração de resíduos oriundos dos cultivos de frutas, os quais são formados por folhas, sementes, talos, lascas e galhos que são descartados tanto na produção no campo quanto no processamento na indústria (INFANTE, 2013). Algumas culturas já apresentam na literatura a utilização de suas sementes como fonte para extração de óleos, como é o caso das sementes de romã (*Punica granatum* L) (GOULA, 2013), sementes de uva (*Vitis vinifera* L.) (ROMBAUT et al., 2014), entre outras frutíferas. Porém, não foram encontrados na literatura dados sobre a utilização das sementes de guanandi para extração de óleos, apesar de diversos estudos apontarem a utilização das sementes de guanandi na produção de mudas (SARAIVA; SOUZA; RODRIGUES, 2014; SILVA; VIEIRA; PANOBIANCO, 2014).

Já relacionados ao descarte das folhas de jabuticabeira, o que mais se aproxima de um aproveitamento em escala industrial é a participação destas folhas como cobertura vegetal em pomares com policultivo (MIGUEL VIEIRA; CONCLUSÃO DE CURSO, 2014). Outras citações que referenciam as folhas estão voltadas à pesquisa acadêmica, sem indicação clara de utilização industrial.

Tendo em vista o potencial químico e econômico dessas duas espécies nativas da Mata Atlântica e a grande carga de resíduos (folhas e sementes), ambas se mostram promissoras para utilização industrial.

2. OBJETIVO

2.1. Objetivo geral

Produzir bebidas alcoólicas por infusão utilizando folhas e sementes de duas espécies de frutíferas nativas da Mata Atlântica: jabuticabeira (*P. cauliflora*) – folhas; e o guanandi (*C. brasiliensis*) - sementes.

2.2. Objetivos específicos

Os objetivos específicos do presente estudo estão distribuídos em:

- Estudar a cinética de extração dos componentes durante a maceração alcoólica através das análises de pH, acidez, cor, teor de sólidos solúveis, teor alcoólico, extrato seco e densidade;
- Selecionar as formulações por profissional de bebidas, com os melhores atributos sensoriais (cor e aroma), aliada às características físico-químicas, por profissional de bebidas;
- Avaliar as características citotóxicas das bebidas selecionadas através do Bioensaio com *Artemia salina* L. (*Brine Shrimp Test*);
- Distinguir as características físico-químicas das bebidas após 27 dias de infusão, sem alterações no conteúdo sólido/líquido;
- Avaliar o teor de fenólicos totais pelo método espectrofotométrico com reagente de *Folin-Ciocalteu* e potencial antioxidante das bebidas por meio dos testes de DPPH, ABTS e FRAP.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Guanandi (*Calophyllum brasiliense* Cambess)

O Guanandi (*C. brasiliensis*) é uma árvore nativa da mata atlântica, pertencente à família *Clusiaceae* (*Gutiferáceas*), sendo apelidada de várias outras formas como bálsamo-jacareúba, beleza, landinho, guanandi-amarelo, guanandi-carvalho, guanandi-cedro, guanandi-Landim, entre outras, de acordo com a região. Em termos científicos, a palavra *Calophyllum* significa folha bonita, com isso a expressão que define o guanandi cientificamente pode ser tido como “Folha bonita do Brasil” (CARVALHO, 2003).

No Brasil, o guanandi apresenta três variedades cultivadas, sendo elas diferenciadas pela cor de sua madeira, sendo elas o guanandi-carvalho (madeira amarelada), o guanandi-cedro (madeira vermelha) e o guanandi-piolho (madeira avermelhada). Essas apresentam características físicas comuns de cultivares nativas da Mata-Atlântica, como tronco cilíndrico com média de 15 metros de altura; ramificação dicotômica, vigorosa com copa larga, arredondada, densa, com folhagem verde-escura; possui uma casca externa com espessura de até 40 mm, e coloração marrom-escura; folhas em cruz, elípticas, coriáceas, com 5 a 15 cm de comprimento por 3 a 7 cm de largura e fruto do tipo drupa globosa, carnosa, indeiscente, com pericarpo verde lactescente quando madura, com 19 a 30 mm de diâmetro, com polpa oleaginosa, e uma semente de cor castanha, com 14 a 22 mm de diâmetro (CARVALHO, 2003).

O maior interesse de cultivo dessa espécie no Brasil é o alto potencial de exploração de sua madeira considerada de extrema qualidade para o setor de móveis e sua quantidade de compostos químicos interessantes para a produção de fármacos (DA SILVA; VIEIRA; PANOBIANCO, 2018). A *C. brasiliense* apresenta grande adaptabilidade a diferentes tipos de solo, clima e recursos hídricos sendo cultivado em lugares encharcados por longos períodos, como em lugares de estiagem e solos bem drenados, mesmo com essas características, a produção comercial do guanandi no Brasil se concentra com mais de 50% de sua totalidade nos estados do Rio de Janeiro, onde foi utilizado no início do século passado para a restauração de nascentes, no Sul da Bahia, Goiás e Norte de São Paulo, estado que vem ganhando destaque nos últimos anos na produção de guanandi também na Região Sul (SILVA et al., 2019).

No Brasil esse grande valor econômico agregado à madeira do Guanandi está associado principalmente pela espécie ter sido reconhecida como a “primeira madeira de lei do Brasil”, em 1835, no período regencial. O Guanandi também aponta números precoces, onde a partir dos 4 anos de plantio já é possível a comercialização de mudas, após isso, sendo aproveitado 0,7m³/planta de madeira com média de 18 anos de idade, utilizada na fabricação

de móveis, barris de vinho e instrumentos musicais, além disso por conta da sua incrível impermeabilidade e resistência é bastante utilizada como dormentes para trilhos de trem e na indústria naval (MENDES, 2012).

Outros estudos, apontam o uso da casca do tronco do guanandi, no preparo de infusões com propriedades curativas, por exemplo, no tratamento de reumatismo, varicoses, hemorróidas e úlceras crônicas, utilizadas na medicina popular (CORREIA, 1984). Resultados apresentados por Sartori et al., (1999), corroboram com essas propriedades ao evidenciarem os efeitos citoprotetor, anti-secretor e antiúlcera da fração diclorometano obtida da casca do *C. brasiliense* Cambess. Pesquisas utilizando as folhas do guanandi, também apresentam resultados positivos quanto a presença de compostos bioativos que estão relacionados a atividade analgésica e anti-inflamatória (DA SILVA et al., 2001).

Esses estudos com a casca e folhas do guanandi, apresentam caráter predominantemente de nível acadêmico, com isso, essas partes da espécie são consideradas descartes no setor de cultivo e na indústria de alimentos e bebidas. Assim como as sementes do guanandi, que não apresentam aproveitamento em escala industrial, sendo evidenciado praticamente por completo, em estudos voltados a sua classificação para produção de mudas, direcionadas ao uso em programas de recuperação de áreas degradadas, e plantios para a exploração da madeira (MARCOS FILHO, 2005).

Para proporcionar uma melhor classificação, alguns poucos estudos apontam as características químicas dessas sementes, como os valores apresentados por Nery et al., (2007) que já a classifica como uma oleaginosa, por conter em média 24,5% de extrato etéreo em seu embrião, com níveis de amido de 10,6%, proteína bruta (N total) de 6,8%, fibra bruta 3,34%, sendo resíduo mineral fixo 2,13% e açúcares solúveis totais representaram 2,27%. Esses estudos apesar de não serem muito evidenciados na literatura, se fazem importantes, principalmente pela semente do guanandi, ser considerada recalcitrante, por apresentar baixa resistência a dessecação, dificultando e diminuindo sua vida útil durante o armazenamento (SILVA; VIEIRA; PANOBIANCO, 2014).

3.2 Jabuticabeira (*Myrciaria cauliflora* Berg.)

A jabuticaba (*M. cauliflora*), mais comumente conhecida pelos consumidores, apresenta uma maior utilização na indústria de alimentos, o que a evidência em pesquisas mostrando o seu potencial de composição fenólica, vitaminas, níveis de açúcares e minerais, que podem contribuir para o enriquecimento nutricional com benéficos a saúde dos

consumidores. É uma variedade cultivada em todas as regiões do Brasil, porém com uma maior incidência nos estados do Sudeste (LIMA et al., 2011).

A jabuticaba é um fruto oriundo da jabuticabeira (*M. cauliflora*), planta nativa da Mata Atlântica, pertencente à família das Mirtáceas, podendo chegar a 15 metros de altura, com alto grau de ramificações, apresenta frutos verdes, esféricos, que tornam-se vermelhos e por fim negros, quando completamente amadurecidos, esses possuem uma casca fina e sensível, com uma polpa branca e succulenta muito apreciada de forma *in natura*, e muito utilizada no preparo de sucos, licores, aguardentes, vinagres, doces e sobremesas (NERI-NUMA et al., 2017).

Segundo dados apresentados pelo Censo Agro 2017 (IBGE, 2017), no Brasil o cultivo de jabuticabeira apresenta sua maior importância nos estados de Goiás, com cerca de 1,7 mil toneladas, acompanhado por São Paulo e Minas Gerais, sendo produzidos em 2017 cerca de 3,7 mil toneladas do fruto (jabuticaba), obtendo valores econômicos próximos de 10,5 milhões de reais.

Existem dezenas de variedades de jabuticabeiras cultivadas no Brasil, no entanto três espécies se destacam na produção, principalmente pelas características sensoriais apresentadas pelos seus frutos, são elas a Jabuticaba Paulista ou Pohema (*Plinia cauliflora*), cultivada desde período colonial, em fazendas de café e cana de açúcar, principalmente na região Sudeste; também apresenta-se a Jabuticaba Sabará (*Myrciaria jabuticaba* (Vell) Berg) sendo esta, muito apreciada em seu estado *in natura*, por apresentar coloração muito escura e brilhante, ser extremamente succulenta e doce, e a mais tradicionalmente utilizada no preparo de doces e licores; e ainda a jabuticaba olho de boi (*Plinia cauliflora* (DC.) Kausel) que apresenta entre as cultivadas a de maior tamanho, no entanto, menor doçura quando comparada a Sabará, tem sua maior produção nos estados de Minas Gerais e São Paulo, sendo cultivada comumente ainda em pomares domésticos (BECKER et al., 2015; JESUS et al., 2004).

Além dessas valiosas características sensoriais encontradas no fruto da jabuticabeira, pesquisas vem mostrando o seu potencial de compostos químicos polifenólicos que vem sendo estudado principalmente pela sua relação com propriedades antialérgica, antiviral, anti-inflamatória e vasodilatadora, citotoxicidade contra células cancerígenas e inibição de enzimas oxidativas e inflamatórias, e por possuir uma coloração intensa a jabuticaba vem sendo estudadas como fonte de antocianinas, ácidos fenólicos, flavonoides e depsídes (PLAGEMANN et al., 2012).

Estudos utilizando por exemplo a casca do fruto da jabuticaba, destacam suas atividades fitoterápicas e farmacológicas, como os resultados apresentados por Lenquiste et al.,

(2012) que utilizou a casca da jabuticaba liofilizada, e avaliou o efeito sobre a dieta hiperlipídica e desenvolvimento da obesidade com resistência à insulina em Ratos *Sprague-Dawley*, e apontou que o consumo da casca aumentou o HDL-colesterol (bom), e melhorias na resistência à insulina nesses animais.

As folhas da jabuticabeira já utilizadas há anos na medicina popular, apresentam propriedades farmacológicas como antidiarreica, combate inflamações da garganta, anginas, erisipelas e asma, isso ocorre principalmente pela quantidade de elementos voláteis como terpenos, compostos fenólicos e alcalóides presentes, isso vem incidindo diretamente em pesquisas fitoquímicas buscando inovação para indústria farmacêutica e alimentícia (PEREIRA; MARTINS, 2007).

Como é classificada como material de descarte na produção de jabuticaba, as folhas de jabuticabeira apresentam um valioso potencial de viabilidade econômica no uso farmacológico e alimentício, como retratado por Macedo-Costa et al., (2009) que avaliaram o potencial atividade antimicrobiana do extrato da folha de *Myrtaceae* (jabuticabeira), sobre bactérias orais, e apontaram uma significativa atividade bacteriostática *in vitro* sobre as bactérias do biofilme dental, sugerindo a utilização dessa substância como meio alternativo e economicamente viável para o controle de infecções em Odontologia.

3.3 Bebidas alcoólicas

Existem muitas teorias e registros com relação ao surgimento e consumo de bebidas alcoólicas em todo o mundo, podendo ser datadas desde o período paleolítico em paralelo ao surgimento da agricultura sendo produzidas a partir da fermentação espontânea de frutas e grãos (MCGOVERN; GORDON; KATZ, 1996).

Essas transições do consumo de bebidas alcoólicas apresentam diversas associações ao longo da história, como seu uso em celebrações sociais e religiosas assim como seu emprego medicinal (PURCELL, 2003). No Egito antigo o consumo de bebidas alcoólicas estava ligado ao combate de germes e parasitas advindos do Rio Nilo, além de serem consumidas em rituais religiosos (VIALA-ARTIGUES; MECHETTI, 2003).

De maneira mais evoluída, levando em consideração a época da Idade Média, o consumo de bebidas alcoólicas cresceu com a disseminação do vinho e da cerveja, as quais se tornaram o principal item de consumo nas tabernas (VIALA-ARTIGUES; MECHETTI, 2003).

Com passar do tempo, em meados do século XVIII já na idade contemporânea, estimulada principalmente pelas mudanças geográficas ocasionadas pela revolução industrial,

os países europeus modificam seus costumes em relação a essas bebidas, atingindo um nível extremamente elevado de consumo (ANDERSON; MELONI; SWINNEN, 2018; JAFFE, 1993).

Junto a este elevado consumo aumenta a diversidade e curiosidade dos consumidores e também da indústria, o que leva a estudiosos desvendarem diferenças entre as bebidas fermento-destiladas e as bebidas fermentadas, em especial o vinho, tendo destaque a declaração aferida por Pasteur em 1865, que “declara o vinho como a bebida mais higiênica das bebidas alcoólicas”, ao não encontrar germes maléficos na sua composição (BORNEMAN; SCHMIDT; PRETORIUS, 2013).

Já no século XX países como a França, vendo o consumo exacerbado entre a população em geral, estabelece maioridade de 18 anos para consumo de bebidas alcoólicas, e em janeiro de 1920, acontece nos Estados Unidos o que muitos encaram como desastre industrial, a prática da “Lei seca” ou “*Prohibition*”, onde foi proibida a fabricação, transporte e venda de bebidas alcoólicas em todo o país se estendendo durante 12 anos (RAJAN; RAMCHARAN, 2015).

Nos dias de hoje o mercado de bebidas alcoólicas é avaliado e está classificado em quatro categorias: cervejas apresentando variedades como *ale*, *lager* e híbrida; os vinhos, os quais abrangem os espumantes ou fortificados; os destilados, que incluem rum, uísque, vodca e cachaça, e por fim os classificados como “outros”, onde se encontram as bebidas por infusão (PRASANNAN, 2018).

Bebidas alcoólicas por infusão trazem em sua composição extratos das mais variadas espécies vegetais, o que as tornam bebidas com características de sabor, aroma e refrescância únicas, cada vez mais apreciadas e exigidas pelos consumidores de bebidas alcoólicas (KUZMIN; MISHUROVSKYI, 2020).

3.4 Mercado e legislação das bebidas alcoólicas por infusão

As bebidas por infusão, mistas ou espirituosas como também são chamadas, englobam uma enorme variedade de destilados, principalmente no Brasil que tem uma produção de cachaça e aguardente muito diversificada, que vai de grandes a pequenos produtores espalhados por todo território, as quais são largamente utilizadas para essas infusões (CERVIERI JÚNIOR et al., 2014).

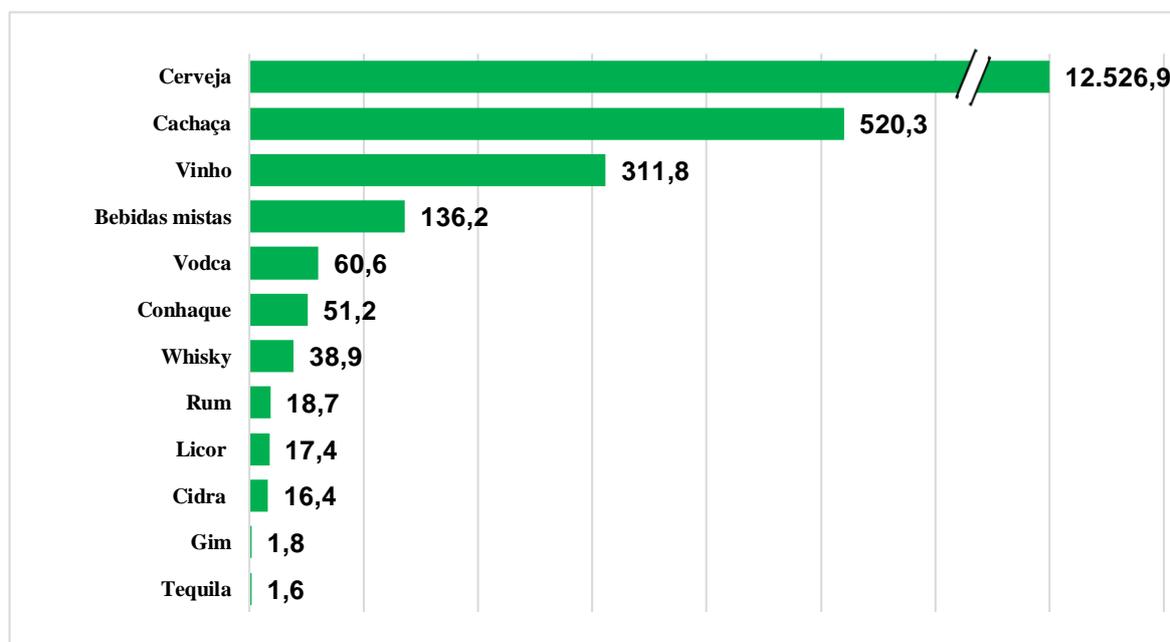
A procura por bebidas que tragam diferenciais sensoriais vem crescendo em paralelo ao conhecimento técnico dos consumidores em relação a produção e ingredientes, o

que traz uma busca maior de investimentos das empresas em recursos e desenvolvimento de pesquisas na área (PARENTE et al., 2014).

Segundo Associação Brasileira de Bebidas (ABRABE), mesmo diante da crise, o crescimento da categoria de bebidas foi possível diante dos acordos bilaterais entre o Brasil e grandes mercados, além das mudanças nos hábitos de consumo, onde os consumidores estão dispostos a pagar mais por novas experiências (ABRABE, 2019).

O ranking de consumo em 2018 entre as variedades de bebidas no Brasil (Figura 1), aponta os licores, que são as bebidas produzidas por infusão de maior consumo, com 17,4 milhões de litros, porém em alguns lugares do país, essas bebidas por infusão são comercializadas como “bebidas mistas” as quais se destacam em 4º colocação, com 136,2 milhões de litros consumidos em 2018 (EUROMONITOR, 2019).

Figura 1. Consumo de bebidas alcoólicas no Brasil em 2018 em milhões de litros



Fonte: Associação Brasileira de Bebidas (ABRABE, 2019)

Tendo em vista essa mudança no hábito dos consumidores de bebidas alcoólicas, as indústrias e também produtores de médio e pequeno porte vem buscando principalmente inovar na produção (VIANA, 2019), tendo em vista principalmente que essa diversidade se torna bem mais abrangente diante da enorme variedade de fontes vegetais disponíveis no Brasil (SANTOS et al., 2019b).

Observando essa larga possibilidade de infusões, a legislação exhibe uma lista de 10 bebidas que se classificam como bebidas por mistura regulamentadas pela Instrução Normativa nº 35, De 16 de novembro de 2010 (BRASIL, 2008b) (Quadro 1).

Quadro 1. Padrões de identidade e qualidade para as bebidas alcoólicas por mistura

Identificação	Definição e padrões
Licor	O Licor é a bebida com graduação alcoólica de 15 a 54% v/v a 20°C, com um percentual de açúcar superior a 30 g/L ⁻¹ , elaborada com uma parte alcoólica e com uma parte não alcoólica de origem vegetal ou animal.
Bebida alcoólica mista	Bebida alcoólica mista ou coquetel ou cocktail é a bebida com graduação alcoólica 0,5 a 54% v/v 20°C, obtida pela mistura de uma ou mais bebidas alcoólicas, ou álcool etílico potável de origem agrícola, ou destilados alcoólicos simples de origem agrícola com outras bebidas não alcoólicas, ou sucos de frutas, ou frutas maceradas, ou xarope de frutas, ou outras substâncias de origem vegetal ou animal, ou de ambas, permitidas em ato administrativo próprio.
Batida	Batida é a bebida alcoólica mista com graduação alcoólica de 15 a 36% v/v a 20°C, obtido pela mistura de aguardente de cana, outras bebidas destiladas, destilado alcoólico simples de cana-de-açúcar, álcool etílico potável de origem agrícola com sucos, polpas de frutas, ou outras substâncias de origem vegetal ou animal, permitidas em ato administrativo próprio, com mínimo de açúcar de 50g/L ⁻¹ .
Fermentado de frutas misto	Fermentado de frutas misto é a bebida elaborada por meio de processo tecnológico adequado que assegure a sua apresentação e conservação até o momento do consumo. A proporção de participação de cada ingrediente obrigatório na formulação não poderá ser inferior a 5% e superior a 50% do volume total da bebida fabricada.
Caipirinha industrializada	Caipirinha é a bebida típica do Brasil, com graduação alcoólica de 15 a 36% v/v a 20°C, elaborada com cachaça, limão e açúcar, podendo ser adicionada de água para padronização da graduação alcoólica e de aditivos.
Preparado líquido ou sólido para...	O preparo sólido ou líquido será destinado à elaboração de bebida alcoólica por mistura para o consumo, após sua diluição em bebida alcoólica, ou em álcool etílico potável de origem agrícola, ou em destilado alcoólico simples de origem agrícola, conforme estabelecido no respectivo padrão de identidade e qualidade da bebida alcoólica por mistura.
Coquetel composto	Coquetel composto é a bebida definida no art. 69 do Decreto nº 6.871, de 2009, elaborada por meio de processo tecnológico adequado que assegure a sua apresentação e conservação até o momento do consumo.
Bebida alcoólica composta	Bebida alcoólica composta é a bebida alcoólica por mistura, com graduação alcoólica 13 a 18% v/v a 20°C, obtida pela maceração ou infusão de substância vegetal, adicionada de álcool etílico potável de origem agrícola, com adição ou não de açúcares.
Aperitivo	Aperitivo é a bebida com graduação alcoólica de 0,5 a 54% v/v a 20°C, que contiver princípios amargos ou aromáticos, com características aperitivas ou estimulantes do apetite, obtidas a partir de extrato de um ou mais vegetais, ou parte dos mesmos.
Aguardente composta	Aguardente composta é a bebida com graduação alcoólica de 38 a 54% v/v a 20°C, resultante da adição na aguardente ou no destilado alcoólico simples de origem agrícola, de substâncias de origem vegetal ou animal.

Fonte: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – Brasil, (2010).

3.5 Metodologias analíticas

3.5.1 Composição fenólica

Iniciado com os vinhos, o estudo da composição fenólica, associada a sua capacidade antioxidante, se tornou uma prática regular tanto a nível acadêmico como industrial, visando otimizar a concentração desses componentes nessas bebidas (GIOVINAZZO; GRIECO, 2019).

Atualmente, os compostos fenólicos são amplamente estudados pela classe científica, os quais são considerados moléculas bioativas formadas pelo metabolismo secundário das plantas, que exercem ações benéficas no organismo mesmo sendo encontrados em pequenas quantidades, porém amplamente presente em praticamente todos os tecidos vegetais, consequentemente na maioria dos produtos que utilizem frutas na sua produção (ALBUQUERQUE et al., 2021).

Na indústria de bebidas alcoólicas destiladas, a avaliação da composição fenólica está diretamente ligada a cor atribuída às bebidas durante o armazenamento e envelhecimento em barris de diferentes madeiras, de onde esses compostos são progressivamente extraídos e incorporados aos destilados durante esses processos, atribuindo cor característica de cada variedade (ALCARDE; SOUZA; BELLUCO, 2010).

Alguns compostos fenólicos são característicos de algumas madeiras utilizadas no envelhecimento de bebidas destiladas como por exemplo a cachaça e a aguardente, entre essas madeiras podemos destacar algumas nativas e seus respectivos compostos fenólicos, como o carvalho apresentando predominantemente ácidos elágico e vanílico; a amburana com predominância de ácido vanílico e sinapaldeído; o bálsamo tendo majoritariamente a vanilina e ácido elágico; no jequitibá a maior presença de ácido gálico; no jatobá a grande presença de coniferaldeído, e no ipê-roxo destaque para o ácidos siríngico e vanílico e coniferaldeído, cada particularidade dessas madeiras em relação a sua composição fenólica, apresenta características finais de sabor, aroma e cor a bebida envelhecida (DIAS; MAIA; NELSON, 1998).

Os compostos fenólicos estão basicamente divididos em dois grupos, os não flavonoides e os flavonoides, este último, se apresentando com grande vantagem com cerca de 70% da composição de fenólicos totais apresentada nos vegetais, como uma estrutura básica formada por dois anéis aromáticos, ligadas por três carbonos (GÜLÇİN, 2012). Os outros 30% da composição fenólica presente nos vegetais, se apresentam como ácidos fenólicos, podendo estar nas formas livres e ligadas, esses por sua vez são considerados os compostos fenólicos que apresentam uma melhor atividade antioxidante, ocorrendo utilizando um mecanismo de

doação de átomos de hidrogênio a radicais livres, onde se interrompe a propagação de reações em cadeia que causam oxidação (SHI et al., 2005).

Diante de todos os potenciais sensoriais e funcionais atribuídos aos compostos fenólicos (FRANITZA; GRANVOGL; SCHIEBERLE, 2016), a quantificação e classificação dessa composição se estende hoje para toda a indústria de bebidas, desde cervejas, até rums, cachaças envelhecidas em diferentes madeiras, aguardentes saboreadas e licores com extratos das mais variadas matérias primas (TABAGO; CALINGACION; GARCIA, 2021).

Em relação aos métodos utilizados para determinação de fenólicos totais de origem vegetal, os mais comumente utilizados são os ensaios conhecidos como colorimétricos de quantificação de fenóis, sendo os mais conhecidos os que utilizam os reagentes de *Folin-Denis* e *Folin-Ciocalteu*, que se baseiam na redução dos ácidos fosfotúngstico e fosfomolibdico em óxidos de tungstênio e molibdênio de cor azul em meio alcalino (MONTEIRO et al., 2006). A grande diferença entre esses dois reagentes, é que quando utilizado o reagente de *Folin-Denis* apresenta-se a formação de precipitados que interferem na leitura espectrofotométrica, não ocorrendo a distinção entre os compostos fenólicos e outros materiais redutores ou antioxidantes, como o ácido ascórbico, desta forma visando a interrupção na formação destes precipitados, foi adicionado sulfato de lítio ao reagente de *Folin-Ciocalteu* (SARTORI; CASTRO; MORI, 2014).

3.5.2 Capacidade antioxidante

Os compostos químicos que apresentam essa capacidade de combate do estresse oxidativo, vem ganhando notório espaço nas diversas indústrias, destacando-se a de fármacos e alimentos, principalmente pela associação dessa atividade com a redução do desenvolvimento de doenças crônicas como câncer, aterosclerose e disfunção cerebral (PATEL et al., 2011).

Esses componentes são amplamente encontrados em tecidos vegetais na forma de compostos fitoquímicos, os quais são considerados metabólitos secundários gerados para executarem funções como para proteção UV, proteção contra patógenos e herbívoros, pigmentação para melhorar as chances de polinização entre outras fatores que visam a melhoria da saúde da planta (BAGNIEWSKA-ZADWORNA et al., 2008).

Outro ponto importante relacionado a esses compostos, é sua característica antibacteriana, e isso elevou notavelmente o interesse de pesquisas relacionadas à quantificação e identificação desses compostos, uma vez que o uso de antioxidantes e compostos

antibacterianos sintéticos vêm sendo postos como cancerígenos e instáveis em alimentos (BANSAL et al., 2013; CHANDRA et al., 2014).

Para analisar a atividade antioxidante destes compostos são comumente utilizados ensaios *in vitro*, mesmo sendo apresentado na literatura algumas controvérsias por não ser um método responsável pela biodisponibilidade, estabilidade, retenção e reatividade quando comparada a ensaios *in vivo* (HUANG et al., 2005). No entanto, apesar destas questões, as metodologias onde se utilizam ensaios *in vitro*, são amplamente empregadas em laboratórios principalmente por sua facilidade, velocidade e reprodutibilidade, pontos importantes quando se trata da análise de numerosas amostras de extratos vegetais (TAN; LIM, 2015).

Esses métodos de avaliação do potencial antioxidante *in vitro*, podem ser divididos basicamente em duas categorias, sendo comumente encontrados na literatura, os que utilizam ensaios baseados na transferência de elétron único (SET), e ensaios baseados em transferência de átomo de hidrogênio (HAT) (TAN; LIM, 2015).

Os ensaios baseados em SET apresentam uma única reação redox, onde mede a capacidade de um AO de fornecer um elétron que possa se ligar e reduzir um radical livre, podendo ser eles metais pró-oxidantes (Fe^{2+} e Cu^{2+}) e carbonilas (APAK et al., 2013). Os ensaios baseados nesse mecanismo são: Conteúdo fenólico total (TPC); Atividade de eliminação do radical livre 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH); Poder antioxidante redutor férrico (FRAP); Ensaio de redução de cobre (CUPRAC) e Capacidade antioxidante equivalente de Trolox (TEAC) (TABART et al., 2009).

Já os ensaios que se fundamentam em HAT avaliam a capacidade de um AO de eliminar os radicais livres, comumente radicais peroxilas que são biologicamente mais relevantes, esse radical é extinguido através da doação de um átomo de H, onde são utilizados uma fonte sintética de radical livre, o material de capacidade AO e uma sonda molecular oxidável, onde é avaliado a reação de competitividade sendo quantificada através de curvas cinéticas (XIAO et al., 2020).

Exemplos de ensaios que se baseiam em HAT são: Parâmetro antioxidante de captura total de radicais (TRAP), Capacidade de absorção de radicais de oxigênio (ORAC) e Oxidação de lipoproteína de baixa densidade (LDL) (TAN; LIM, 2015).

Mesmo apresentando distintas formas de leitura da cinética, tanto os ensaios baseados em SET quanto em HAT apresentam o mesmo resultado proposto, que é a redução ou eliminação de um radical livre (POWER; JAKEMAN; FITZGERALD, 2013).

No entanto, esses dois ensaios apresentam duas diferenças muito significativas que devem ser levadas em consideração, a primeira é o parâmetro medido, utilizando o SET um

antioxidante é avaliado de acordo com seu potencial de doação de um único elétron para o radical livre, já no HAT é avaliado essa capacidade de doação de um átomo de H (HUANG et al., 2005). A outra diferença é a quantificação dos resultados, esse quando utilizado SET são medidos através da avaliação das diferenças na absorbância UV-Vis do indicador (oxidante), já quando se usa o HAT a medição é equivalente a curva apresentada na cinética entre sonda, o antioxidante e os radicais peróxilas (HUANG et al., 2005).

3.5.3 Citotoxicidade

O estudo sobre a toxicidade em bebidas alcoólicas destiladas é uma prática comum na indústria e em pesquisas acadêmicas, isso pela presença comum de excessos de álcoois contaminantes como é o caso do metanol, e de contaminantes inorgânicos como os metais, acima dos níveis estabelecidos pela legislação, na maioria das vezes procedentes das más condições nos processos de produção e da matéria-prima (CARUSO; NAGATO; ALABURDA, 2010; FERNANDES et al., 2013).

No caso de bebidas alcoólicas, que além dos processos corriqueiros utilizados na produção como a fermentação e destilação, valem-se da incorporação de extratos vegetais em suas formulações, esse cuidado deve ser criteriosamente melhor avaliado, uma vez que, inúmeras cultivares apresentam composição química que podem ser tóxicas ao organismo de humanos (OVANDO-MARTÍNEZ et al., 2013).

Essa composição química presente nos extratos vegetais, naturalmente são produzidos como metabólitos secundários, e se comportam como meio de defesa de predadores das plantas, no entanto, dependendo da quantidade, forma de ingestão e/ou inalação de seres humanos e animais causam alterações patológicas, sendo relacionadas com inúmeras substâncias que podem ou não ser tóxicas, dependendo da quantidade e utilização, como felandreno, carvacrol, pineno e catecóis, que podem apresentar dermatites de contato (bolhas, vermelhidão e prurido), e manifestações gastrointestinais, assim como (CAMPOS et al., 2016).

No estudo toxicológico desses extratos vegetais são empregados alguns processos avaliativos, utilizando animais como referência, os mais comuns são: o Bioensaio com *Artemia salina* L. (*Brine Shrimp Test*), que ao apresentar valores acima dos estabelecidos como máximos faz-se necessário a Avaliação da Toxicidade Aguda e crônica utilizando na maioria das vezes ratos de laboratório (*Rattus norvegicus*) (VALADARES, 2007).

O *Brine Shrimp Test*, é a muito tempo o mais utilizado na avaliação de extratos vegetais principalmente pela sua eficácia e simplicidade de aplicação (MERINO et al., 2015).

Larva de *Artemia salina* L., é um microcrustáceo da classe *anostracea* que se apresenta em formas de meta náuplios originados a partir da eclosão dos ovos de camarão marinho (SILVA et al., 2016). Para avaliação da toxicidade utilizando o *Brine Shrimp Test* é apontada a Concentração Letal Média (CL₅₀), que consiste na letalidade da substância em 50% das larvas de *Artemia salina* variando em suas concentrações. O nome *Artemia salina* foi introduzido pela primeira vez por Leach em 1814 e o teste em 1927 por Trevan, visando o julgamento de substâncias que seriam posteriormente utilizadas como tratamento em seres humanos como a *digitallis* e a insulina (SCHMIDT, 1989; VALADARES, 2007).

Dantas et al., (2020) avaliaram o potencial tóxico das sementes de *Moringa oleífera* Lam. utilizando o teste com *Artemia salina* Leach, e apresentaram resultados que apontaram que nem a amêndoa e nem a casca da semente da *M. oleífera* Lam. apresentavam toxicidade, uma vez que ambas tiveram valores de CL⁵⁰ acima de 1000 µg.mL⁻¹. Já Laranjeira (2016) ao avaliar a toxicidade do óleo das sementes de *Annona glabra* L., conhecida no Brasil como Araticum-do-brejo, frente a *Artemia salina*, os resultados apontaram DL⁵⁰ de 716,54 µg.mL⁻¹, o que segundo Meyer et al., (1982) indica baixa toxicidade.

A avaliação da toxicidade aguda consiste na determinação dos efeitos tóxicos em animais, produzidos por uma única ou por múltiplas exposições à substância, por qualquer via, por um curto período, inferior a um dia. Geralmente as manifestações ocorrem rapidamente, onde comumente são utilizados ratos criados em cativeiro destinados a esse propósito (CHAN; KRUGER; HAYES, 2014).

Essas avaliações de toxicidade aguda objetivam rotular substâncias de acordo com seu potencial de letalidade ou toxicidade de acordo com os parâmetros estabelecidos na legislação, onde também são estudados a toxicidade sistêmica levando em consideração órgãos específicos identificando a toxicocinética e a relação dose-resposta (VALADARES, 2007).

Habitualmente o *Brine Shrimp Test* e a avaliação da toxicidade aguda, são utilizadas em paralelo nas pesquisas, tendo em vista primeiramente, a letalidade acima dos níveis de CL₅₀ encontrados no *Brine Shrimp Test*. O segundo é posto em prática em animais de maior resistência a componentes tóxicos, sendo necessário a avaliação e autorização de órgãos reguladores como o Comitê de Ética em Experimentação Animal das entidades de pesquisa (SILVA et al., 2016).

4 MATERIAL E MÉTODOS

A elaboração das bebidas e a maior parte das análises foram realizadas na planta-piloto e no Laboratório de Frutas, Hortaliças e Produtos Açucarados (PPFHPA, LFHPA), Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos (DETA), com algumas análises realizadas no Laboratório de Bioquímica de Alimentos, Departamento de Ciência de Alimentos e Nutrição (DECAN), ambos da Faculdade de Engenharia de Alimentos (FEA), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

4.1. Material

4.1.1 Álcool de cereais

Para realização deste trabalho foi utilizado o álcool de cereais 96 °GL, gentilmente doado pelo Licorista autônomo, Renato Boaretto, sócio proprietário da empresa de bebidas Casa Dom Arturo situada em São Paulo/SP.

Inicialmente foi previsto o processo de extração em duas concentrações alcoólicas fixas: 50 e 38 °GL. Porém, face a experiência de licoristas consultados e relatos bibliográficos (SHEN et al., 2007; SOKÓŁ-ŁĘTOWSKA et al., 2014; SOUZA, 2019), também foram feitos processos de extração em concentrações alcoólicas decrescentes (diluções). Então, o álcool de cereais foi primeiro diluído para 50 e 38 °GL, e foi montado um procedimento para a diluição da solução extratora que levasse em conta o mínimo efeito da retirada das amostras para as análises físico-químicas, principalmente no que se refere à relação sólido-líquido durante a infusão.

4.1.2 Folhas e Sementes

Foram utilizadas duas fontes vegetais nativas da Mata Atlântica, também doadas por Renato Boaretto, já previamente desidratadas, utilizadas como fonte de extratos na infusão (Figura 2), são elas: as folhas de jabuticabeira (*P. cauliflora*) e as sementes de guanandi (*C. brasiliensis*).

Figura 2. Folhas de jabuticabeira desidratadas (A) e Sementes de guanandi secas (B)



Fonte: Próprio autor.

As espécies foram cultivadas na Fazenda Corurutuba, situada no Distrito de Moreira César, na cidade de Pindamonhangaba, (CEP: 12449-899, Latitude - 22.90233/Longitude -45.38899), o cultivo é realizado de maneira agroflorestal com reserva de extrativismo, de responsabilidade do licorista Renato Boaretto e sócios.

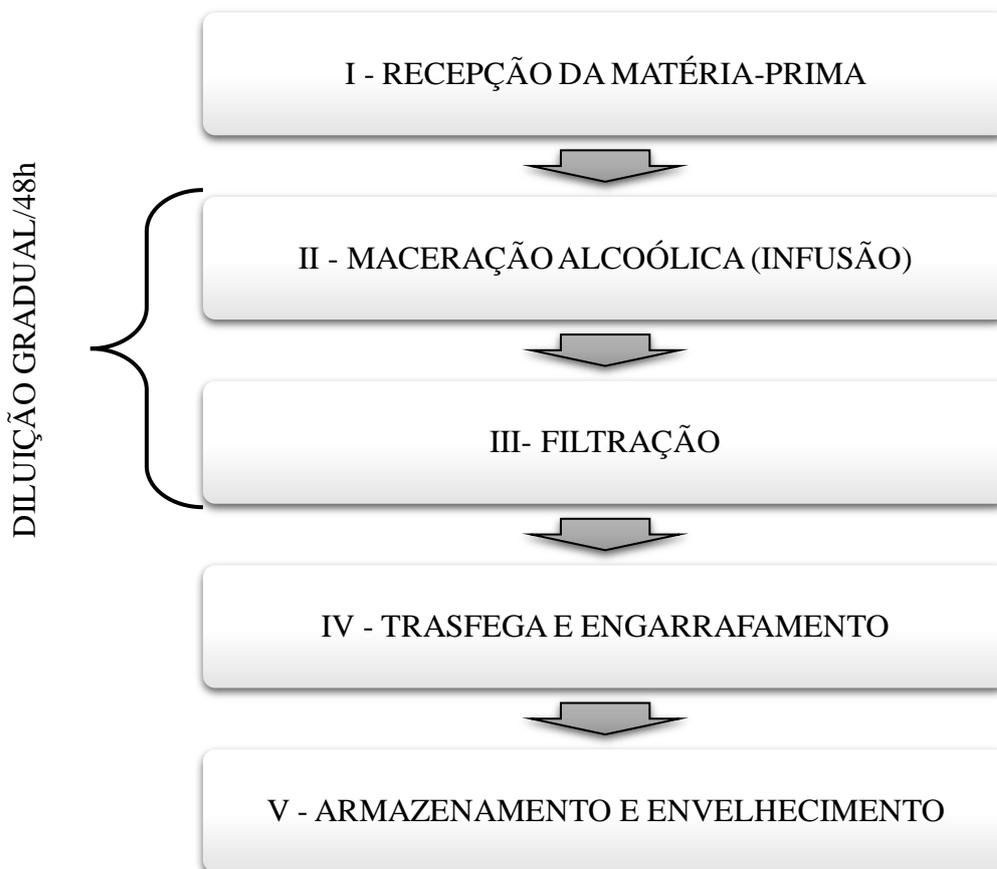
Primeiramente as matérias primas foram recepcionadas, classificadas manualmente e higienizadas utilizando peneiras para retirada de galhos, pedras, poeira e possíveis resíduos de fezes de pássaros, posteriormente foram fracionadas e embaladas em sacos plásticos sob vácuo e armazenadas em refrigerador a 5°C, ao abrigo da luz

4.2 Produção das bebidas alcoólicas por infusão

A produção das bebidas seguiu as recomendações fornecidas na cartilha da coleção “Agroindústria Familiar” elaborada pela EMBRAPA (2006), diferenciando-se na composição da matéria-prima, onde as frutas foram substituídas por folhas de jabuticabeira e sementes de guanandi, além da mudança na forma de maceração alcoólica que terá a diluição gradual e retirada das etapas de adição de xarope e segunda trasfega.

Desta forma a Figura 3 apresenta o fluxograma utilizado para produção das bebidas a partir da recepção das matérias até o armazenamento.

Figura 3. Fluxograma de produção das bebidas por infusão



Fonte: Adaptado da coleção “Agroindústria Familiar - Licor de Frutas” elaborada pela EMBRAPA (2006).

Todas as etapas foram realizadas seguindo os protocolos de higiene e segurança estabelecidas pela IN MAPA no 55 de 10/08 (BRASIL, 2008b).

4.2.1 Maceração alcoólica (Infusão)

Após recepção e divisão da matéria-prima as folhas e sementes foram postas diretamente nos recipientes para infusão, garrafas de espumante de vidro de 900 mL, de cor verde, fechadas com rolha de cortiça, previamente sanitizadas e identificadas de acordo com cada formulação e matéria seca (semente e folhas) - Figura 4. Esse material foi deixado em infusão por 27 dias em temperatura ambiente, sendo homogeneizadas a cada 24 horas durante 30 segundos por agitação manual, deixando depois em pleno repouso por 48 horas.

Figura 4. Distribuição das 18 Formulações em duplicata



Fonte: Próprio autor.

4.2.2 Filtração

A filtração foi realizada seguindo métodos proposto por Rokhsartalab-Azar *et al.*, (2020) com adaptações, utilizando sistema com Bomba de Vácuo Tecnal® modelo TE-058, (Piracicaba/SP), acoplada a um kitassato de 1 litro e funil de Buchner porcelana de 250mL com alonga de borracha, sendo filtradas em Papel de filtro qualitativo 80 grs 135 mm da marca Sinergia Científica, (Campinas/SP) Figura 5.

Figura 5. Sistema de filtragem a vácuo



Fonte: Próprio autor

4.2.3 Trásfega, engarrafamento e armazenamento

Após filtração as bebidas foram transferidas para garrafas de vidro tipo *long neck* de 250 mL, com tampa metálica e arrolhamento de pressão. Cada formulação foi homogeneizada para posterior armazenamento, e aferidos os teores alcoólicos e visando a padronização para 38 °GL Figura 6. As garrafas foram deixadas em repouso por mais 15 dias, em temperatura ambiente, em pé e fora da incidência de luz. Esse segundo tempo de armazenamento promove a harmonização entre todos os componentes extraídos da matéria seca e o álcool, obtendo-se uma bebida mais límpida e com sabor mais suave.

Figura 6. Bebidas engarrafadas *long neck* com tampa metálica



Fonte: Próprio autor.

4.3. Métodos analíticos no decurso e após maceração alcoólica

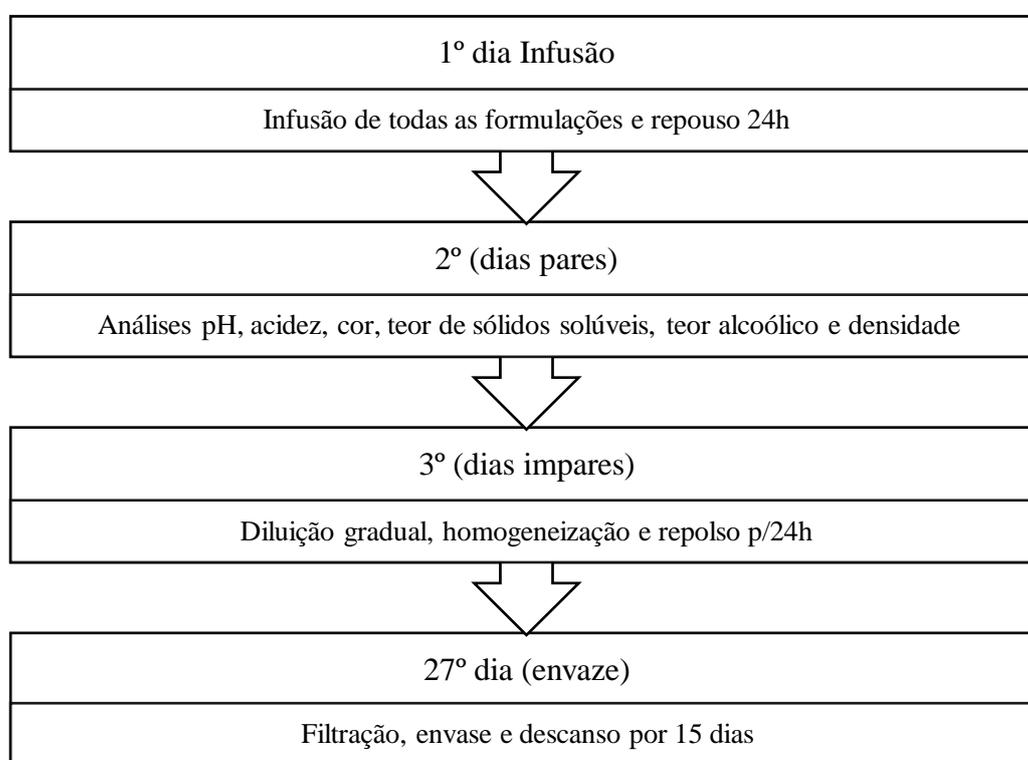
A Figura 7 apresenta o esquema utilizado para realização das análises físico-químicas ao longo da maceração alcoólica (infusão), onde variou as condições do meio de extração, especificamente teor alcoólico e relação sólido/líquido através da diluição gradual.

Terminada essa etapa as amostras foram filtradas, padronizadas em 38 °GL, e descansadas por 15 dias. Então uma análise sensorial preliminar, efetuada pelo Licorista treinado Renato Boaretto, juntamente com a equipe do projeto avaliou o resultado das

extrações, levando em consideração as características físicas sensoriais primárias e desejáveis, as quais apresentaram similaridade com bebidas já encontradas no mercado, que apresentam cor, aroma, limpidez entre outras características atrativas, a partir desta avaliação, foram escolhidas as 7 melhores formulações, as quais foram processadas novamente, em escala suficiente para atender as análises físico-químicas e sensoriais, tendo em vista uma possível análise de CATA futura.

Ao final do processo de extração dessa nova infusão, foram novamente efetuadas todas as análises físico-químicas, análise do potencial de toxicidade e antioxidante, composição fenólica, para que a segurança dos consumidores durante as análises sensoriais posteriores fosse garantida.

Figura 7. Fluxograma de análises realizadas durante maceração alcoólica



Fonte: Licorista Renato Boaretto

4.4 Preparo das soluções extratoras

Para produção inicial foi utilizado como solução extratora álcool de cereais 96 °GL, previamente diluído com água destilada padronizada a 50 e 38 °GL. Essas diluições foram realizadas baseada na relação simplificada de concentração e volume, em temperatura de 20°C/20°C, com correção quando necessário, Equação 1 (ASCA, 1985; CURVELO-SANTANA; EHRHARDT; TAMBOURGI, 2010). Também foram avaliadas soluções

extratoras diluídas, seguindo o modelo adaptado de Stampar *et al.*, (2006), apresentando variações de °GL e relação sólido/líquido.

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2 \quad (1)$$

Onde:

C = concentração molar (mol/L);

V = volume da solução (L);

1 = condição inicial;

2 = condição final.

A primeira diluição do álcool de cereais a 96 °GL foi padronizada para 50 °GL, utilizando 245 mL de água destilada para cada 265 mL de álcool a 96 °GL. Essa diluição foi utilizada na primeira formulação controle (F1 – 500 mL/50 °GL), e para todas as formulações que tiveram a diluição gradual durante o processo de maceração alcoólica (infusão) (F2; F3; F4; F5; F6 e F7) - Tabela 1.

A segunda diluição foi relativa à segunda formulação controle a 38 °GL, onde foram utilizados 305 mL de água destilada para cada 200 mL de álcool de cereais à 96 °GL, completando os 500 mL de solução extratora (Tabela 1).

Tabela 1. Formulações controle fixas e utilizadas na diluição gradual

Formulações	Álcool (500 mL)	Diluição água/álcool	Jabuticabeira (Folhas g)			Guanandi (Sementes g)		
F1*	50 °GL	245/265	10	20	30	25	40	55
F2	-1 °GL/48h	Gradual/48h	10	-	-	-	-	-
F3	-1 °GL/48h	Gradual/48h	-	20	-	-	-	-
F4	-1 °GL/48h	Gradual/48h	-	-	30	-	-	-
F5	-1 °GL/48h	Gradual/48h	-	-	-	25	-	-
F6	-1 °GL/48h	Gradual/48h	-	-	-	-	40	-
F7	-1 °GL/48h	Gradual/48h	-	-	-	-	-	55
F8*	38 °GL	305/200	10	20	30	25	40	55

*Formulações controle, sem diluição, com gradação alcoólica fixa (50 e 38 °GL)

Desta forma foram obtidas 18 formulações, em análise durante os 27 dias de maceração alcoólica (tempo utilizado para infusão na indústria de bebidas), sendo 6 formulações controle a 50 °GL (F1j10, F1j20, F1j30; F1g25, F1g40, F1g55), 6 formulações controle a 38 °GL (F8j10; F8j20, F8j30; F8g25, F8g49, F8g55), e 6 formulações que passaram pela diluição (F2j10, F3j20, F4j30, F5g25, F6g40, F7g55).

As quantidades de água destilada utilizadas nas diluições foram comprovadas utilizando o aplicativo *Dilution Calculator – Play Store* para comprovação dos valores, o aplicativo fornece opções de diluições simples, de estoque, em série, de porcentagem (%) e de proporção com a opção útil Volume mínimo da pipeta pela qual o aplicativo levará em consideração, a menor quantidade de volume pipetável, ou a opção *Step dilutions* para diminuir o volume de solvente adicionados nas etapas de diluição intermediárias ao cálculo, todas as formulações foram elaboradas em duplicata e utilizando um volume total de 500 mL de solução extratora.

4.4.1 Diluição gradual das formulações

Foram realizadas durante 27 dias, diluições e análises físico-químicas a cada 48 horas, sendo as diluições efetuadas em todos os dias ímpares, e as análises físico-químicas em todos os dias pares, onde no 27º dia (último), foi realizada a filtração e engarrafamento das bebidas, ficando mais 15 dias em descanso.

A Tabela 2 apresenta as formulações que passaram pela diluição gradual, com as respectivas quantidades de água destilada que foram adicionadas em cada formulação. Podemos notar que a quantidade de água destilada adicionada vai diminuindo no decorrer da diluição, pois a quantidade retirada para as análises físico-químicas é maior que a quantidade de água adicionada, isso faz com que a concentração final da formulação também diminua.

Tabela 2. Formulações das bebidas por infusão com estimativa na quantidade de água destilada a ser adicionada em cada diluição por formulação

Dias	Água/dia (mL)	Vol. ° GL	Formulações					
			Jaboticaba (folha/g)			Guanandi (semente/g)		
			F2	F3	F4	F5	F6	F7
01	245*	50	10**	20**	30**	25**	40**	55**
03	9,30	49	10	20	30	25	40	55
05	8,80	48	10	20	30	25	40	55
07	8,20	47	10	20	30	25	40	55
09	7,60	46	10	20	30	25	40	55
11	7,10	45	10	20	30	25	40	55
13	6,60	44	10	20	30	25	40	55
15	6,15	43	10	20	30	25	40	55
17	5,65	42	10	20	30	25	40	55
19	5,10	41	10	20	30	25	40	55
21	4,60	40	10	20	30	25	40	55
23	4,10	39	10	20	30	25	40	55
25	3,65	38	10	20	30	25	40	55
27	EN***	<i>Envase</i>	<i>Envase</i>	<i>Envase</i>	<i>Envase</i>	<i>Envase</i>	<i>Envase</i>	<i>Envase</i>

*Primeira diluição com 245 mL de água para 265 mL de álcool de cereais 96 °GL

**Quantidades em gramas de matéria seca somadas e totalizadas: folhas de jaboticabeira (10+20+30 = 60g) e sementes de guanandi (25+40+55 = 120g).

***Diluição encerrada para filtragem e envase das bebidas

Para estimar a quantidade de água que foi adicionada nas formulações, foi levado em consideração a quantidade de amostra retirada para cada análise. Algumas análises puderam ser realizadas com a mesma amostra, e outras amostras puderam ser reintroduzidas nas formulações de origem, diminuindo a quantidade subtraída do volume total (FILHO; SILVA; VASCONCELOS, 2013).

A Tabela 3 mostra as quantidades de cada amostra e diferencia as que foram descartadas após análises daquelas que retornaram à formulação original, totalizando o conteúdo subtraído.

Todas as formulações inclusive as controle, passaram pelas análises físico-químicas sendo retiradas uma média de 45,05 mL de amostra a cada 48 horas. Durante esse processo foram aferidos os níveis de pH, acidez, cor, teor de sólidos solúveis, teor alcoólico, extrato seco e densidade (IAL, 2008).

Tabela 3. Gasto por amostra das análises físico-químicas com reutilização das amostras inalteradas (pH; ES = extrato seco; Cor; SS = sólidos solúveis; °GL = teor alcoólico; DS = densidade; AT = ácidos totais)

Análises	Quantidade amostra/formulação (mL)							
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8
pH ³	20	20	20	20	20	20	20	20
ES ¹	-	-	-	-	-	-	-	-
Cor ²	10	10	10	10	10	10	10	10
SS ³	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
°GL ²	250	250	250	250	250	250	250	250
DS ¹	-	-	-	-	-	-	-	-
AT ³	25	25	25	25	25	25	25	25
Amostras desc. (mL)	45,05	45,05	45,05	45,05	45,05	45,05	45,05	45,05

¹Análises que utilizaram as mesmas amostras da análise antecedente

²Amostras que retornaram às formulações de origem

³Amostras descartadas

Levando em consideração apenas a perda das amostras que foram descartadas, obtemos um total de 45,05 mL por formulação a cada dia de análise. A partir desse resultado foi calculada a adição de água destilada por amostra no decorrer das diluições, sequenciando a subtração da retirada e a soma posterior da água adicionada, Equação 2.

$$F_i - A_d = F_f + A_a = F_d = \text{Valor de } F_i \text{ da diluição subsequente} \quad (2)$$

Onde:

F_i = Formulação inicial (mL);

A_d = Amostra descartada (mL);

F_f = Formulação final (mL);

A_a = Água destilada adicionada (mL);

F_d = Formulação diluída, essa apresentará o valor da segunda diluição (mL).

4.4.2 Quantificação da matéria-prima utilizada em todas infusões

As proporções sólido/líquido, foram avaliadas e decididas pela equipe do projeto, com auxílio do Licorista Renato Boaretto, o qual possui larga escala de conhecimento prático na produção de bebidas por infusão, e utilizando referências que utilizam infusões com frutas desidratadas (SOUZA, 2019), lascas, aparas e chips de madeiras (BORTOLETTO, 2013).

As quantidades das matérias-primas utilizadas estão apresentadas na Tabela 4 e são referentes a produção de 500 mL de cada bebida. Essa quantidade foi estipulada levando em consideração a matéria-prima disponível para produção das 18 formulações em duplicata, totalizando 36 amostras em análise.

O percentual de matéria seca (folhas ou sementes) utilizado em cada formulação ficou dividida para as folhas em 2, 4 e 6% (ou 10g, 20g e 30g) relativo aos 500 mL de solução extratora, e para as sementes de guanandi 5, 8 e 11% (ou 25g, 40g, 55g) também relativo aos 500 mL de solução extratora.

Tabela 4. Quantidade das matérias primas utilizadas para produção de 500 mL de cada formulação

Matéria-prima	Formulações				Total
	F1*	F2 a F4**	F5 a F7**	F8*	
Sementes de guanandi (g)	120	-	120	120	360 g
Folhas de jaboticabeira (g)	60	60	-	60	180 g
Álcool de cereais (mL)	1.590	795	795	1.200	4.380 mL
Água destilada (mL)	1.470	808,85**	808,85**	1.830	4.917,70 mL

*Formulações controle

**Formulações que passaram pela diluição gradual, apresentam valores diferentes por receberem adição de água destilada durante a baixa na graduação alcoólica

4.5 Cinética de extração através da caracterização físico-química

No decorrer dos 27 dias de maceração alcoólica (infusão), foram realizadas as determinações de pH, acidez, cor, teor de sólidos solúveis, teor alcoólico, densidade e extrato seco a cada 48 horas, seguindo métodos físico-químicos para análise de alimentos (IAL, 2008), e seguindo as diretrizes estipuladas pelo Decreto N° 6.871, 07/09 (BRASIL, 2009).

Todas as determinações físico-químicas foram realizadas em duplicata, e conduzidas no LFHPA - DETA - FEA - UNICAMP.

4.5.1 Teor alcoólico

O teor alcoólico das bebidas foi determinado utilizando o Alcoômetro Gay Lussac 0/100:1 GL, diretamente em proveta graduada de vidro. Antes da aferição do °GL a temperatura era medida para posteriores correções caso estivessem fora de 20 °C.

4.5.2 Extrato seco

O extrato seco foi determinado de acordo com IAL (2008), aplicado na análise de bebidas alcoólicas fermento-destiladas e baseia-se na pesagem do resíduo após a evaporação da água e álcool por aquecimento. Foram pesadas entre 20 e 25 mL de cada amostra em uma cápsula, previamente seca em estufa e resfriada em dessecador até temperatura ambiente. Após pesagem as amostras foram adicionadas a cápsula e secas em banho maria a 95 °C até secura total, posteriormente o material foi levado à estufa a uma temperatura de (100 ± 5) °C por 30 minutos ou até evaporação total do material. Após esse período, a cápsula foi posta em dessecador e resfriado até temperatura ambiente. Por fim o resíduo sólido remanescente foi pesado em balança analítica, sendo obtido os resultados e demonstrados em extrato seco em gramas por litro de amostra (AOAC, 2007).

4.5.3 Sólidos solúveis

O teor de sólidos solúveis foi medido através do método de refratometria direta utilizando Refratômetro Digital para Análise BRIX em Alimentos Hanna modelo HI 96813, com resultado expresso em °Brix que representa a % (p/p) de sacarose solúvel em uma solução a 20° C (IAL, 2008).

4.5.4 Acidez titulável

A acidez das bebidas foi determinada através de titulação, e os resultados foram expressos em g de ácido acético por 100 mL da amostra. Para a titulação da bebida que se utiliza sementes de guanandi, a qual apresenta uma cor ouro claro, foi utilizado o método de titulação por neutralização dos ácidos, utilizando solução padronizada álcali, com o uso de indicador fenolftaleína até o ponto de equivalência. Iniciou-se transferindo 25 mL de cada amostra para Erlenmeyer e diluída para 50 mL com água destilada. Em seguida foi adicionada de 0,5 mL do indicador fenolftaleína e titulada com solução de hidróxido de sódio até coloração indicadora (rósea) (IAL, 2008).

Para as amostras de folhas de jabuticabeira, as quais apresentam coloração verde escuro, a determinação da acidez total foi realizada com pHmetro, onde foi controlada o pH durante a titulação com NaOH com auxílio de pHmetro de bancada pH meter modelo HI 8424 (HANNA) até ponto de neutralização com pH 8,2, em seguida realizado o cálculo da Equação 3.

$$\frac{n \times M \times f \times PM}{10 \times V} = \text{ácidos totais, em g de ácido acético por 100 mL da amostra} \quad (3)$$

Onde:

n = volume gasto na titulação da solução de hidróxido de sódio, em mL

M = molaridade da solução de hidróxido de sódio

f = fator de correção da solução de hidróxido de sódio

PM = peso molecular do ácido acético (60g)

V = volume tomado da amostra, em mL.

4.5.5 Densidade

A densidade foi medida através da densidade relativa a 20°C com densímetro de leitura direta (IAL, 2008).

4.5.6 pH

Os valores de pH foram determinados diretamente utilizando pHmetro digital, pH Meter modelo HI 8424 (HANNA), imerso em 25 mL. Esses níveis de pH estão estipulados através da Portaria nº 62, de 23 de abril de 2008 valores entre 3,5 a 5 (BRASIL, 2008a).

4.5.7 Cor

A determinação da variação da cor foi dividida em duas etapas utilizando dois processos distintos.

A primeira foi realizada no Laboratório de Frutas Hortaliças e Produtos Açucarados-FEA-UNICAMP, durante o processo de infusão em todas as formulações através de espectrofotometria na medição da absorbância e transmitância em três comprimentos de onda entre as zonas do visível do espectro: 400 nm, e 700 nm (GLORIES, 1984), com adaptações sugeridas por Encarnação (2019) foi utilizado Espectrofotômetro CIRRUS 80 (São Paulo).

De acordo com França; Santos; de Lima, (2007), a faixa de comprimento de onda na qual a substância reflete pode facilmente ser relacionada às cores do espectro da luz visível (400 a 700 nm), Tabela 5.

Tabela 5. Cores do espectro da luz visível e seus respectivos comprimentos de onda

Cor	Comp. Onda (nm)	Cor	Comp. Onda (nm)
Vermelho	700 a 620	Verde	578 a 500
Laranja	620 a 592	Azul	500 a 450
Amarelo	592 a 578	Violeta	450 a 400

Fonte: França; Santos; de Lima, (2007).

Já na segunda etapa, como não aferimos a cinética das mudanças na intensidade das cores e sim a cor final das bebidas selecionadas, o processo utilizado para a avaliação foi através do método CIELab, seguindo orientações Cruz (2016) com algumas adaptações.

Essa técnica baseia-se em uma linguagem que nos oferece os cálculos de diferença da cor através de escalas sendo L* representando a medida da luminosidade de um objeto, e varia do 0 (para o preto) até ao 100 (para o branco); a*, representa a medida do vermelho (a* positivo) ou do verde (a* negativo) e b*, que representa a medida do amarelo (b* positivo) ou do azul (b* negativo) (MATHIAS-RETTIG; AH-HEN, 2014).

4.6 Análise da toxicidade frente à *Artemia salina*

A análise do efeito citotóxico foi realizada no LBFHBPA-FEA-UNICAMP, foi realizada utilizando apenas com as formulações pré-selecionadas pelo Licorista Renato Boaretto e pela equipe do projeto, onde foi utilizado o bioensaio *Brine Shrimp Test*, de acordo com Meyer *et al.*, (1982) e adaptado por Dias *et al.*, (DIAS et al., 2017).

4.6.1 Preparação dos extratos

Os extratos foram preparados utilizando as formulações selecionadas, onde inicialmente foram submetidas a concentração por evaporação utilizando Banho Maria (Buchi B-480 *Heating Bath*) na temperatura de ebulição do etanol mantendo-se entre 75 e 79 °C, durante 5 horas (MARTINS et al., 2021).

Após a concentração das amostras os extratos obtidos das formulações foram diluídos em água destilada nas concentrações de 1500 ppm; 1000 ppm; 500 ppm e 100 ppm.

4.6.2 Solução salina para cultivo das *Artemias*

Para obtenção dos Náuplios a partir da eclosão, foi utilizado água salina artificial produzida diluindo 18 g de sal de cozinha (cloreto de sódio) em 50 mL de água destilada em Becker de 500 mL, e corrigido pH entre 8 e 9 com 5 mg de bicarbonato de sódio, e oxigenada por 2 horas.

4.6.3 Bioensaio de toxicidade para as larvas de *Artemia salina*

Foram utilizados 50 mg de cistos de *Artemia salina* incubados em Becker de vidro de 500 mL na solução salina em temperatura de 25 a 30 °C e pH entre 8,0 e 9,0. O Becker foi inserido em uma caixa de papelão com iluminação artificial utilizando lâmpada de 40w watts abaixo do Becker, visando a concentração dos Náuplios após eclosão, que por decorrência do fototropismo positivo os mesmos se concentram no fundo do Becker o que facilita a captura por pipetagem Figura 8, esses Náuplios foram mantidos no Becker por 48 horas em oxigenação constante (SILVA et al., 2013).

Figura 8. Estrutura para eclosão dos Náuplios de *Artemia salina*.



Fonte: Próprio autor.

4.6.4 Distribuição e contagem dos Náuplios de *Artemia salina*

Após eclosão os Náuplios foram expostos a diferentes concentrações (100, 500, 1000 e 1500 $\mu\text{g/mL}$) das bebidas produzidas, em tubos de ensaio, cada um contendo 10 Náuplios, todos os testes foram realizados em triplicata. Por fim, os tubos foram incubados ao abrigo da luz, e após 24 horas contados os Náuplios sobreviventes, Figura 9.

Figura 9. Contagem dos Náuplios sobreviventes após incubação por 24 horas



Fonte: Próprio autor.

Esses números foram registrados em concentração letal mediana para 50% dos indivíduos (CL_{50}) em $\mu\text{g.mL}^{-1}$, e determinados pelo método estatístico de Probitos utilizando o programa estatístico Microcal Origin 6.0 (SILVA et al., 2020).

4.7 Teor de Fenólicos Totais e análise do potencial antioxidante

As análises do potencial antioxidante foram analisadas no LBFHBPA-DETA, e no LBA-DECAN, ambos da FEA/UNICAMP, e foram determinadas utilizando apenas as formulações pré-selecionadas pelo Licorista Renato Boaretto e pela equipe do projeto.

4.7.1 Determinação de Compostos Fenólicos Totais

A composição Fenólica total foi determinada utilizando método espectrofotométrico e reagente de *Folin-Ciocalteu*, referenciando o procedimento descrito por Carvalho et al, (2020) com algumas adaptações. Essa metodologia é comumente utilizada na rede acadêmica por sua fácil reprodutibilidade, a qual consiste na reação entre os ácidos fosfotúngstico e fosfomolibdico de cor amarela com compostos fenólicos de capacidade redutora ocasionando a mudança para cor azul sendo possível desta forma a quantificação por espectrofotometria (LAZZAROTTO et al., 2020).

Para a determinação 200 μL de cada amostra foi diluída em proporção de 1:20 com água ultrapura (sistema Milli-Q), e em seguida adicionados 100 μL de *Folin-Ciocalteu* 2 N, e deixados em repouso por 5 minutos, após foram adicionados 850 μL de carbonato de sódio (Na_2CO_3) 7% e deixados em repouso por 2 horas ao abrigo da luz, pôr fim a absorbância foi medida a 765 nm em Espectrofotômetro CIRRUS 80.

O branco foi preparado seguindo os mesmos procedimentos supracitados substituindo as amostras por solução de etanol 38% (v/v), e a curva de calibração padrão preparada diariamente com ácido gálico variando nas concentrações de 0,5 a 8 mg L^{-1} .

Os resultados foram expressos em EAG mg/L^{-1} (equivalência de ácido gálico), todas as análises foram realizadas em triplicata.

4.7.2 Capacidade antioxidante pelo método de DPPH

O ensaio de sequestro do radical DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) para análise do potencial antioxidante, é largamente empregado na indústria de bebidas, mais comumente em vinhos e aguardentes por se tratar de um método de fácil controle e de simples reprodutibilidade,

onde se utiliza um dos poucos radicais orgânicos estáveis encontrados no mercado (DPPH) (DA PORTO et al., 2000; NIEDERLÄNDER et al., 2008).

O presente projeto baseou-se na avaliação com método de DPPH utilizando a metodologia descrita por Brand-Williams; Cuvelier; Berset (1995) e adaptações realizadas por Mira (2009) & Beloti (2019), os quais otimizaram o processo de avaliação analisando diferentes concentrações de DPPH e amostras de aguardentes. Desta forma a técnica utilizou 0,3 mL de solução de trabalho de DPPH (0,4 Mm), acrescentado de 0,5 mL da amostra e 3 mL de etanol 95% (v/v) homogeneizadas em tubos de 10 mL em agitador vortex por 30 segundos, e colocadas em repouso por 30 minutos ao abrigo da luz. A solução controle foi obtida com 0,3 mL de solução de trabalho de DPPH (0,4 mM) e em substituição da formulação foi acrescentado 0,5 mL de etanol, e para o branco foi utilizado etanol. As amostras foram submetidas a análise em Espectrofotômetro CIRRUS 80 medindo a absorbância em 517nm, em triplicata. Os resultados para avaliação do sequestro do radical DPPH foram expressos em porcentagem (AA%) de acordo com a Equação 4.

$$\% \text{ Capacidade antioxidante} = \frac{A_{\text{controle}} - A_{\text{amostra}}}{A_{\text{controle}}} \times 100 \quad (4)$$

Onde:

A_{amostra} = Absorbância da solução DPPH (formulações)

A_{controle} = Absorbância da solução de DPPH com solvente

4.7.3 Capacidade antioxidante pelo método de ABTS

Esse método de avaliação da capacidade antioxidante pela eliminação do radical 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico (ABTS), apresenta algumas vantagens em relação ao método de DPPH, tendo em vista que permite analisar amostras polares e não polares, e por possuir interferência espectral minimizada por utilizar absorção de até 760 nm, sendo por isso muito utilizada em substâncias puras, misturas aquosas ou bebidas (VALDANTAS, 2013).

A avaliação pelo método de ABTS desse estudo seguiu a metodologia descrita por RE *et al.*, (1999) com adaptações. Para a solução de trabalho do radical ABTS, foi utilizado 5 mL de solução estoque ABTS (7mM) com 88 µL da solução de persulfato de potássio (140 Mm) ambos adicionados a vidro âmbar e mantidos ao abrigo da luz por 16 horas. Após esse

tempo foi pipetado 1 mL dessa amostra e diluído em álcool etílico PA até obter uma absorvância $0,7 \text{ nm} \pm 0,05 \text{ nm}$ em espectrofotômetro a 734 nm. Para este ensaio foi necessário a obtenção da curva de calibração utilizando Trolox (2000 μM) que apresenta poder antioxidante conhecido, para esta solução foi adicionado 25 mg de Trolox em balão de 50 mL e completado o volume até o menisco homogeneizado e armazenado em vidro âmbar, a partir desta solução foi traçada curva padrão variando as concentrações de 100 μM a 2000 μM conforme Tabela 6.

Foram transferidos 30 μL de cada solução de Trolox para tubos de ensaio e adicionados 3000 μL da solução radical ABTS, agitados em vortex por 30 segundos, deixados em repouso por 6 minutos e submetidos a leitura em Espectrofotômetro CIRRUS 80 a 734 nm, o aparelho foi calibrado utilizando álcool etílico PA.

Tabela 6. Preparo das concentrações da solução para curva-padrão Trolox

Padrão de Trolox (mL)	Álcool etílico (mL)	Concentração Final (μM)
0,5	9,5	100
2,5	7,5	500
5,0	5,0	1000
7,5	2,5	1500
10,0	0	2000

Inicialmente as amostras foram diluídas em água destilada nas proporções de 1:100. Para reação com as formulações foram transferidos para tubos, 30 μL de cada amostra e 3 mL da solução ABTS, agitados em vortex por 30 segundos e armazenados por 6 minutos (mantendo as amostras em ambiente escuro), após isso foram transferidos para cubetas de vidro 4 mL, onde foram para leitura em espectrofotômetro a 734 nm. Os resultados foram plotados com as médias das leituras obtidas (triplicatas) na equação obtida com a curva padrão Trolox.

4.7.4 Capacidade antioxidante pelo método de FRAP

O ensaio para capacidade antioxidante utilizando o método de Poder Redutor Férrico (FRAP) foi realizado no Laboratório de Bioquímica de Alimentos, Departamento de Ciência de Alimentos e Nutrição, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). O ensaio foi baseado utilizando a metodologia descrita por FIRUZI et al., (2005).

Para comparação e equivalência dos resultados fez-se necessário a obtenção da equação da reta obtida do gráfico da curva de calibração de Trolox, construída pela concentração das soluções de Trolox no eixo y e pela absorvância obtida no eixo x. o preparo

do Trolox foi realizada pesando 0,0025g (1M) diluindo em 10 mL de solvente, e a curva foi traçada variando as concentrações de 25 μM a 250 μM de acordo com a Tabela 7.

Tabela 7. Preparo das concentrações da solução para curva-padrão Trolox

Padrão de Trolox (μM)	Solvente (μM)	Concentração Final (μM)
25	975	25
50	950	50
75	925	75
100	900	100
150	850	150
200	800	200
250	750	250

Para avaliação das bebidas inicialmente as amostras foram diluídas em água destilada nas proporções de 1:100. Em seguida alíquotas de 25 μL das amostras foram misturadas com 175 μL do reagente FRAP, constituído por uma solução de TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine) (10 mmol L^{-1}), cloreto férrico (20 mmol L^{-1}) e tampão acetato (0,3 mol L^{-1}) pH 3,6, essa mistura foi mantida a 37°C durante 30 minutos na ausência de luz. A absorbância foi determinada a 593 nm em leitor de microplacas e os resultados expressos em $\mu\text{mol TE mL}^{-1}$ de amostra.

4.8 Análise estatística

Os resultados das determinações físico-químicas, fenólicos totais e capacidade antioxidante foram expressos através das médias e desvio padrão. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de *Tukey* para comparação de médias ($p < 0,05$). Toda a análise estatística foi realizada utilizando o software *Past* versão 4.08 (University of Oslo - Noruega).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Avaliação físico-química do processo de infusão (cinética de extração)

O processo de extração de componentes químicos presentes nos produtos de origem vegetal apresentam diferentes características com inúmeros fatores que podem melhorar ou dificultar esse processo, assim como trazer para o produto características indesejáveis quando utilizados de maneira incorreta, por isso o conhecimento dos fatores que influenciam na cinética de extração desses componentes é de extrema importância (FERNÁNDEZ et al., 2012).

Segundo alguns autores na literatura o processo de extração por solvente tem relação com as concentrações sólido/líquido, proporção solvente/água, temperatura, tempo de extração, entre outros parâmetros que através do delineamento de curvas experimentais visam estimar a viabilidade do processo em escala industrial (KARNOFSKY, 1987; SO; MACDONALD, 1986).

Os resultados obtidos na primeira etapa do experimento (cinética de extração alcoólica) durante o processo de infusão foram avaliados levando em consideração a matéria seca (folhas ou sementes), relacionando com as variações dos teores alcoólicos. A Tabela 8 apresenta o resultado das médias de todas as formulações para as análises de pH, acidez, teor de sólidos solúveis, teor alcoólico, densidade e extrato seco.

Tabela 8. Médias e desvio padrão das análises físico-químicas durante processo infusão (pH; ES = extrato seco; SS = sólidos solúveis; °GL = teor alcoólico; DS = densidade; AT = acidez titulável)

Matéria-prima	Formulações	Análises físico-químicas					
		pH	DS	°GL	ES	SST	AT
Folhas de jabuticabeira	F1j10	4,90 ± 0,27 ^{cd}	934 ± 1,66 ^c	49,7 ± 1,00	3,5438 ± 2,45 ^c	16,5 ± 0,35 ^{ab}	7,69 ± 2,27 ^c
	F1j20	4,79 ± 0,14 ^d	934 ± 1,72 ^c	49,7 ± 0,93	6,7973 ± 0,84 ^b	16,9 ± 0,35 ^{ab}	13,79 ± 3, ^{91ab}
	F1j30	4,75 ± 0,12 ^d	934 ± 2,27 ^c	49,4 ± 0,81	9,1798 ± 1,62 ^a	17,2 ± 0,59 ^{ab}	16,17 ± 4,48 ^a
	F2j10	4,65 ± 0,22 ^d	938 ± 3,51 ^{bc}	45,0 ± 3,96	3,1317 ± 0,66 ^d	15,9 ± 0,30 ^{bc}	7,82 ± 2,13 ^c
	F3j20	4,61 ± 0,25 ^d	939 ± 3,40 ^b	45,1 ± 3,92	6,9583 ± 1,35 ^b	16,4 ± 0,28 ^{bc}	13,51 ± 3,77 ^b
	F4j30	4,56 ± 0,28 ^d	941 ± 3,41 ^{ab}	45,1 ± 3,83	9,1660 ± 1,34 ^a	16,4 ± 0,23 ^{bc}	17,24 ± 5,32 ^a
	F8j10	4,52 ± 0,30 ^d	951 ± 0,92 ^a	37,8 ± 0,37	3,4035 ± 0,68 ^{cd}	13,8 ± 0,25 ^c	7,79 ± 2,41 ^c
	F8j20	4,54 ± 0,24 ^d	952 ± 0,99 ^a	37,8 ± 0,37	7,2794 ± 1,40 ^b	14,2 ± 0,18 ^c	12,78 ± 3,31 ^b
	F8j30	4,55 ± 0,22 ^d	954 ± 1,22 ^a	37,5 ± 0,65	8,2094 ± 1,68 ^a	14,3 ± 0,28 ^c	16,16 ± 4,88 ^a
Sementes de guanandi	F1g25	5,33 ± 0,10 ^a	933 ± 1,48 ^c	49,5 ± 0,65	1,2263 ± 0,58	16,0 ± 0,29 ^{bc}	3,09 ± 1,27 ^d
	F1g40	5,20 ± 0,09 ^a	934 ± 1,84 ^c	49,4 ± 0,64	2,1073 ± 1,37 ^{cd}	16,0 ± 0,41 ^{bc}	4,65 ± 1,78 ^{cd}
	F1g55	5,28 ± 0,11 ^a	934 ± 1,79 ^c	49,8 ± 0,37	3,9235 ± 1,89 ^{cd}	16,3 ± 0,50 ^{bc}	6,97 ± 2,75 ^c
	F5g25	5,12 ± 0,18 ^{ad}	938 ± 4,20 ^{bc}	44,9 ± 3,53	1,2536 ± 0,67	15,2 ± 0,45 ^c	3,37 ± 1,30
	F6g40	5,20 ± 0,14 ^a	938 ± 3,78 ^{bc}	44,8 ± 3,74	3,0074 ± 1,41 ^{cd}	15,7 ± 0,37 ^c	5,90 ± 2,35 ^{cd}
	F7g55	5,17 ± 0,13 ^a	939 ± 4,82 ^b	44,8 ± 3,89	3,2908 ± 1,53 ^{cd}	15,8 ± 0,17 ^c	6,97 ± 2,75 ^c
	F8g25	5,00 ± 0,18 ^{cd}	953 ± 0,95 ^a	37,9 ± 0,27	0,9696 ± 0,64	13,1 ± 0,26 ^d	2,97 ± 1,09 ^d
	F8g40	5,01 ± 0,17 ^{cd}	954 ± 1,73 ^a	38,1 ± 0,27	2,4135 ± 1,38 ^{cd}	13,0 ± 0,22 ^d	4,98 ± 2,21 ^d
	F8g55	5,05 ± 0,14 ^c	954 ± 1,24	37,9 ± 0,27	3,9173 ± 2,12 ^{cd}	13,1 ± 0,35 ^d	6,85 ± 3,02 ^c

Valores com letras diferentes diferem entre si a um nível de significância de $p < 0,05$.

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 8, todas as formulações utilizando folhas de jabuticabeira apresentaram diminuição nos valores de pH proporcional ao aumento da matéria seca (folhas), permanecendo com os maiores valores de pH as formulações com 10g de folhas/500mL de álcool, com 4,86, 4,75 e 4,52 para as formulações F1j10, F2j10 e F8j10 respectivamente. Consequentemente, os valores intermediários foram apresentados pelas formulações F1j20, F3j20 e F8j20 (20g/500mL de álcool), e os menores valores de pH para as formulações F1j30, F4j30 e F8j30 (30g/500mL álcool) com valores de pH de 4,75, 4,56 e 4,55, respectivamente.

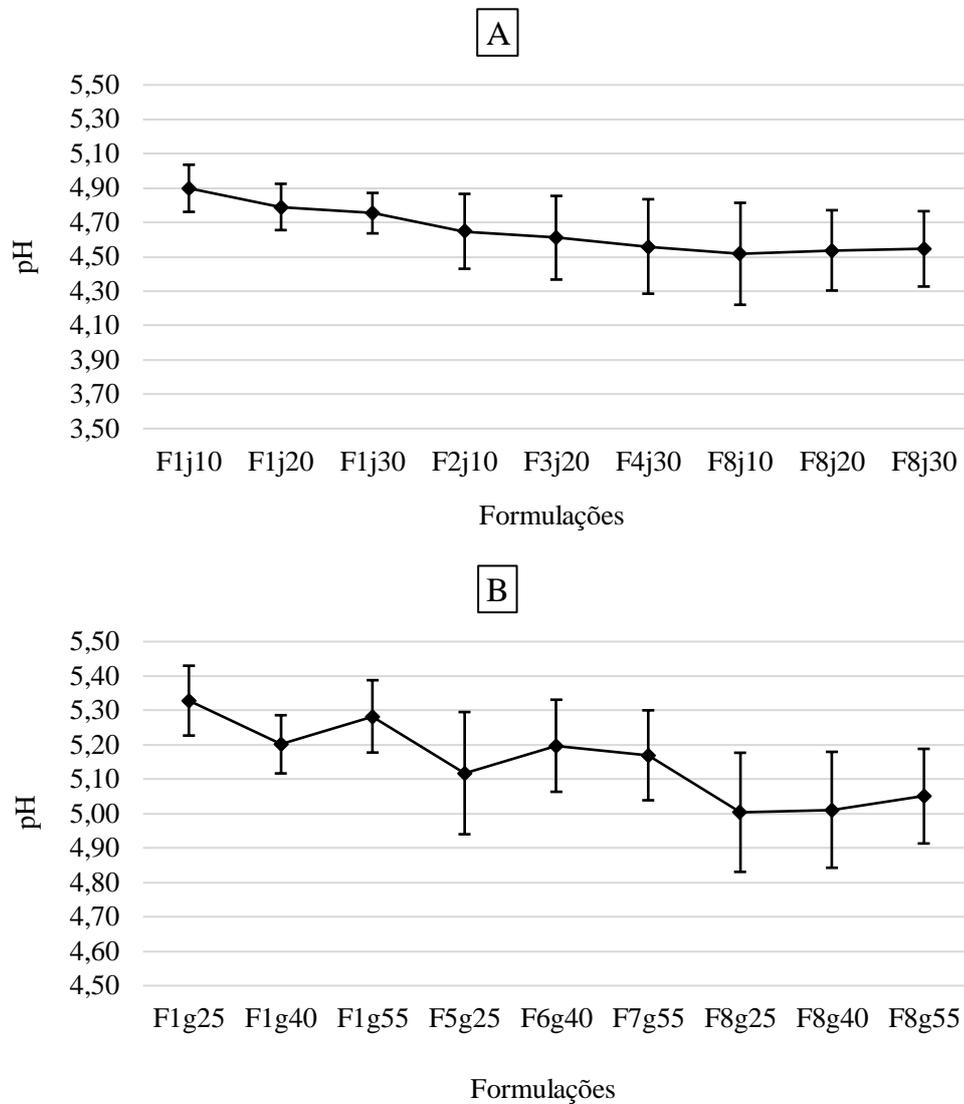
As formulações utilizando sementes de guanandi apontaram alterações de pH principalmente relacionadas ao teor alcoólico do solvente, apresentando queda nas graduações mais baixas, principalmente quando mantidas em infusão direta e fixa, como representado pelas formulações controle a 38 °GL (F8g25, F8g40 e F8g55) que obtiveram pH de 5,00, 5,01 e 5,05, respectivamente, bem abaixo dos valores encontrados nas formulações que se mantiveram em infusão com álcool a 50 °GL (F1g25, F1g40 e F1g55), com pH de 5,33, 5,20 e 5,28, respectivamente. Os valores de pH também estão de acordo com os níveis de acidez titulável.

A queda no pH em bebidas alcoólicas produzidas por infusão é comum, e no caso dos destilados está associado ao tempo de maturação e/ou envelhecimento onde ocorre a interação entre os componentes presentes no barril de armazenamento e a bebida, aumentando a acidez e a coloração, junto com as concentrações de compostos secundários (PARAZZI et al., 2008), ocorrendo no nosso caso a interação entre os componentes da matéria seca (folhas e sementes) e o álcool de cereais.

Essas interações entre a bebida e o material de envelhecimento, ou como em nosso caso do solvente e da matéria seca, com queda no pH também foram evidenciadas por Cruz (CRUZ, 2016), que avaliou as mudanças físico-químicas apresentadas durante o envelhecimento de aguardente em diferentes madeiras por 6 meses, as quais apresentaram uma queda gradual do pH obtendo uma média geral de 4,86, com pH de 5,50. Nossos resultados também apresentados resultados semelhantes durante a cinética de extração alcoólica, indicando queda no pH, com início de 4,95 e 5,29, 1º dia de infusão para folhas e sementes, respectivamente, e finalizaram com uma média de 4,39 e 4,98 no 13º dia para folhas e sementes, respectivamente.

A Figura 10 apresenta a média e a variação apresentada pelas formulações durante os dias de infusão, correspondendo às formulações com folha de jabuticabeira a Imagem (A) e para as formulações com sementes de guanandi a Imagem (B).

Figura 10. Média e comportamento na variação de pH durante os 27 dias de infusão (A - formulações com folhas de jabuticabeira e B - formulações com sementes de guanandi).



Fonte: Próprio autor

Por se tratar de uma bebida caracterizada pela utilização do processo de infusão para obtenção de atributos sensoriais desejáveis, onde se assemelha a produção de licores, faz-se necessário a comparação dos resultados desses parâmetros com outros trabalhos. Barros et al., (2016), avaliaram as características físico-químicas de licor feito utilizando o engaço de uva durante dois períodos de maceração (0,90 e 180 dias) e compararam com licor já comercializado no mercado (licor base). Os licores apresentaram uma média de pH que variou de 4,27 (licor base) a 3,96 (90 dias). Essa informação apresenta importância expressiva no quesito de produção industrial, uma vez que o menor valor obtido não foi relativo ao maior tempo de

maceração (180 dias) que apresentou um pH de 4,04. Esses resultados condizem por exemplo com os resultados apresentados em nosso estudo para as formulações F1j10 que iniciou com pH de 6,15, caindo para 5,89 no 3º, voltando a subir no 4º dia para 6,01 e se mantendo superior a 5,89 (3º dia), até o 8º dia. A formulação Fg25 também apresentou queda gradativa até o 10º dia, com média de 4,88, voltando a subir no último dia de análise com pH de 5,01.

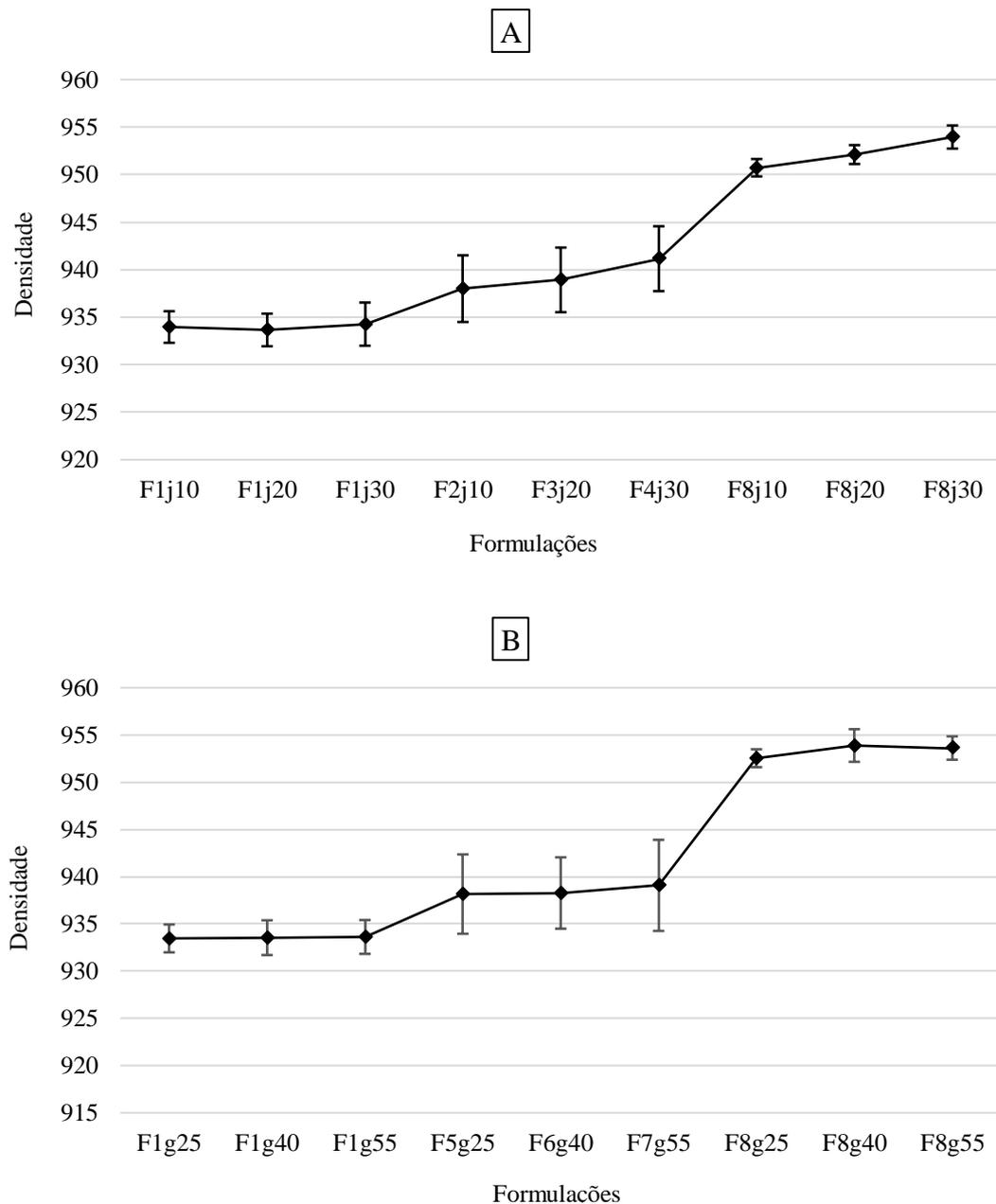
A avaliação da densidade em bebidas está associada diretamente a graduação alcoólica, bebidas elaboradas a partir do processo de mistura (infusão) são necessariamente examinadas quanto a esse parâmetro por apresentarem graduação alcoólica mais elevada quando comparadas a bebidas apenas fermentadas (OTEGBAYO; AKWA; TANIMOLA, 2020), e consideravelmente em nosso estudo por também utilizarmos um processo de diluição durante a maceração alcoólica.

Os resultados das médias para densidade apresentados (Tabela 8), mostraram para todas as formulações, tanto as produzidas com folha de jabuticabeira quanto com semente de guanandi, um aumento em paralelo a quantidade de água presente na solução. As menores médias ocorreram para as formulações F1j10 F1j20 e F1j30 com densidade de 0,934 g/cm³, e maior média para a F8j30 com densidade de 0,954 g/cm³, para as formulações com folhas de jabuticabeira. Para a semente de guanandi a menor média foi 0,933 g/cm³, para formulação F1g25, e as maiores médias para F8g40 e F8g55, com 0,954 g/cm³.

Segundo Da Silva Porto et al., (2021), as interações que ocorrem entre os componentes do solvente e os componentes presentes na matéria seca atuam diretamente na densidade da bebida as quais influenciam diretamente na viscosidade. Já os nossos resultados estão próximos das médias apresentadas por Jesus et al., (2020) que avaliou as propriedades físico-químicas de cachaça e tiquira comercializadas em São Luiz/MA as quais apresentaram uma média de 0,940 e 0,941 g/cm³ respectivamente. Essa variação está associada a diferença na graduação alcoólica, no caso a quantidade de álcool e água no solvente, além da composição de resíduos e matérias secas, constituídas de substâncias dissolvidas presentes em bebidas fermentadas que geram um “corpo” como exemplo, o teor de sólidos solúveis existente entre a cachaça e o vinho diminuindo a graduação alcoólica (OTEGBAYO; AKWA; TANIMOLA, 2020).

A Figura 11 apresenta a média e a variação da densidade durante o processo de infusão, correspondendo a Imagem (A) as formulações com folhas de jabuticabeira e a Imagem (B) as formulações com sementes de guanandi.

Figura 11. Média e comportamento na variação da densidade durante os 27 dias de infusão (A formulações com folhas de jabuticabeira e B formulações com sementes de guanandi).



Fonte: Próprio autor.

Como dispostos na metodologia da pesquisa foram intencionalmente reduzidos gradualmente nas formulações F2j10, F3j20, F4j30, F5g25, F6g40 e F7g55 iniciando em 50 °GL e finalizando em 38 °GL através da diluição com água destilada. Essa diminuição intencional na graduação alcoólica buscava apontar durante o processo de maceração alcoólica, principalmente, qual o melhor ponto de extração dos componentes presentes na matéria seca, uma vez que a quantidade de água disponível no solvente afeta diretamente na extração dos

compostos hidrofílicos presentes, além da capacidade de alterações nos atributos sensoriais durante a diluição (OLIVEIRA et al., 2015).

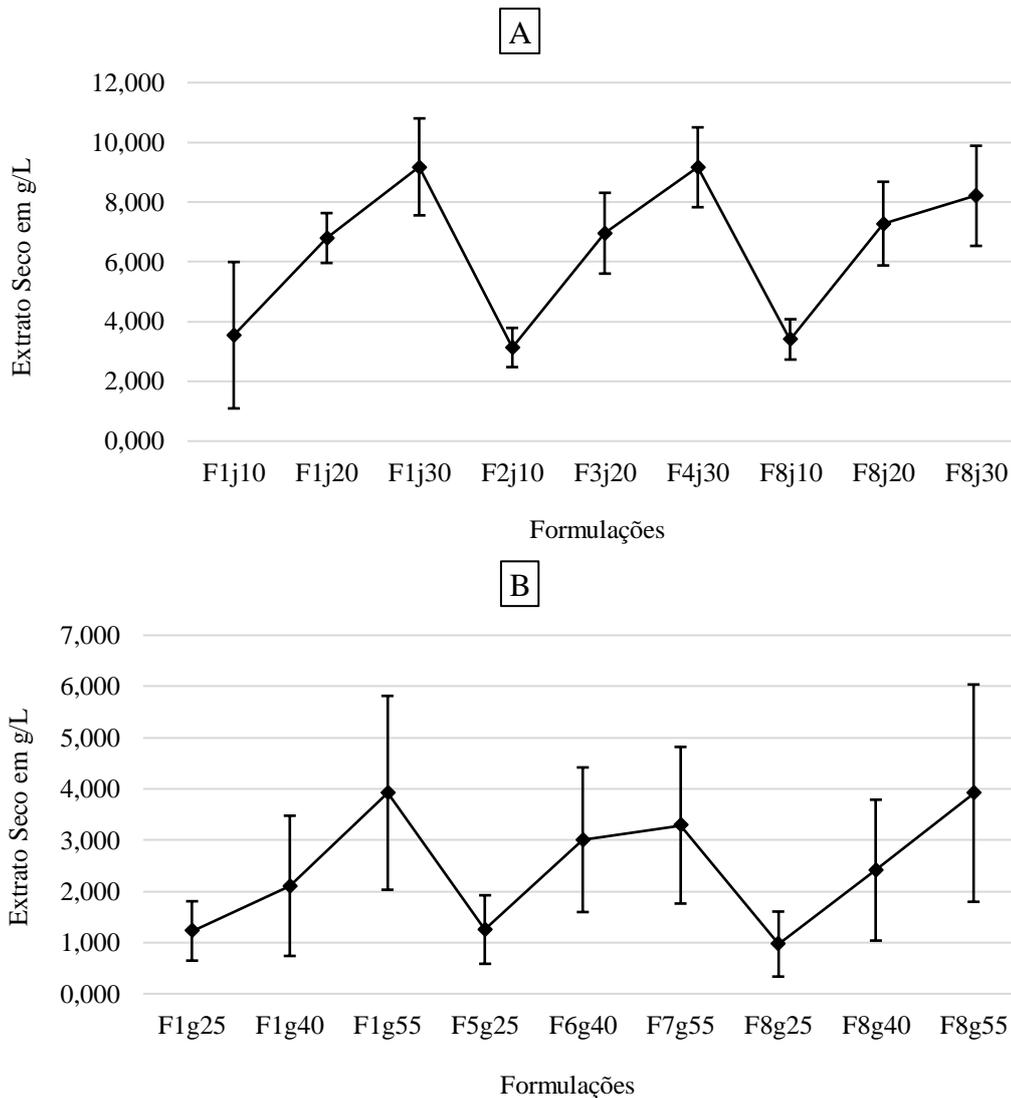
O extrato seco em bebidas alcoólicas representa o peso do resíduo restante, após evaporação do conteúdo volátil da amostra, onde são somados todo conteúdo não volatilizado durante secagem em estufa. Esse resíduo é formado por sais orgânicos e minerais, compostos fenólicos e nitrogenados, poliálcoois, açúcares e polissacarídeos (OLIVEIRA, 2015; RIZZON; MIELE, 2002). A avaliação desse parâmetro é extremamente importante principalmente quando se trata de bebidas espirituosas que se apropriem do processo de infusão como é o caso dos licores, que se diferenciam de outras bebidas destiladas como vodkas e uísques por apresentarem interação direta com a matéria orgânica após a destilação e em alguns casos serem adicionados de açúcares, apresentando desta forma maior quantidade de resíduos (ARZBERGER; LACHENMEIER, 2008).

Segundo os resultados apresentados na Tabela 8, os conteúdos de extrato seco apresentaram aumento em paralelo a maior quantidade de matéria seca postas em infusão, apresentando maior quantidade a F1j30 com $9,1798 \text{ g/L}^{-1}$ e menor a F2j10 com $3,1317 \text{ g/L}^{-1}$ para as formulações com folhas de jabuticabeira. Para as formulações com semente de guanandi a maior quantidade de resíduo ocorreu para a F1g55 com $3,9235 \text{ g/L}^{-1}$ e a menor para F8g25 g/L^{-1} . Outro fator que podemos observar que interferiu na maior quantidade de resíduos foi a graduação alcoólica, onde as formulações que se mantiveram em infusão em álcool de cereais a $50 \text{ }^\circ\text{GL}$ obtiveram maior quantidade de extrato seco.

Segundo Miranda et al., (MIRANDA et al., 2008) uma das causas do aumento na quantidade de extrato seco em bebidas envelhecidas em barris de madeira por longos períodos, e com altas concentrações do $^\circ\text{GL}$, pode ser explicado pela interação do álcool etílico com a composição fenólica, onde ocorre por exemplo a degradação da lignina pelo etanol em compostos aromáticos como a vanilina, ocorrendo também alterações em decorrência a oxidação e etanólise desses compostos sendo estes incorporados a bebida. Arzberger; Lachenmeier (2008), avaliaram e compararam o extrato seco de bebidas destiladas (rum, vodka, conhaque, uísque, e tequila) de bebidas com processo de infusão após destilação (licores). Os resultados apresentaram uma média geral para os destilados de $0,46 \text{ g/L}^{-1}$ e como esperado níveis maiores para os licores com média de $4,2 \text{ g/L}^{-1}$. Esses valores estão de acordo e dentro das médias apresentadas em todas as formulações com menor porcentagem de matéria seca do nosso estudo.

A Figura 12 apresenta a média e a variação na quantidade de extrato seco apresentada durante o processo de infusão, correspondendo a Imagem A as formulações com folhas de jabuticabeira e a Imagem B as formulações com sementes de guanandi.

Figura 12. Variação do Extrato seco durante os 27 dias de infusão (Imagem A formulações com folhas de jabuticabeira e Imagem B formulações com sementes de guanandi).



Fonte: Próprio autor.

Já quando se trata de fermentados de frutas Bessa et al., (2018) encontraram para bebida alcoólica fermentada de melão (*Cucumis melo* L.) uma média de extrato seco de 59,83 g/L⁻¹, Oliveira (OLIVEIRA, 2015) ao avaliar fermentada à base de jabolão (*Syzygium cumini*) e caldo de cana-de-açúcar encontro uma média de extrato seco de 27,58 g/L⁻¹ e Rizzon; Miele (2002) ao avaliarem o vinho produzido com cv. Cabernet Sauvignon obtiveram uma média de

extrato seco de 24,70 g/L⁻¹. Esses maiores valores para estas bebidas estão relacionados à incorporação de compostos fenólicos durante o processo de fermentação, e associado à inexistência do processo de destilação, onde, conseqüentemente, apresentam uma composição residual mais elevada.

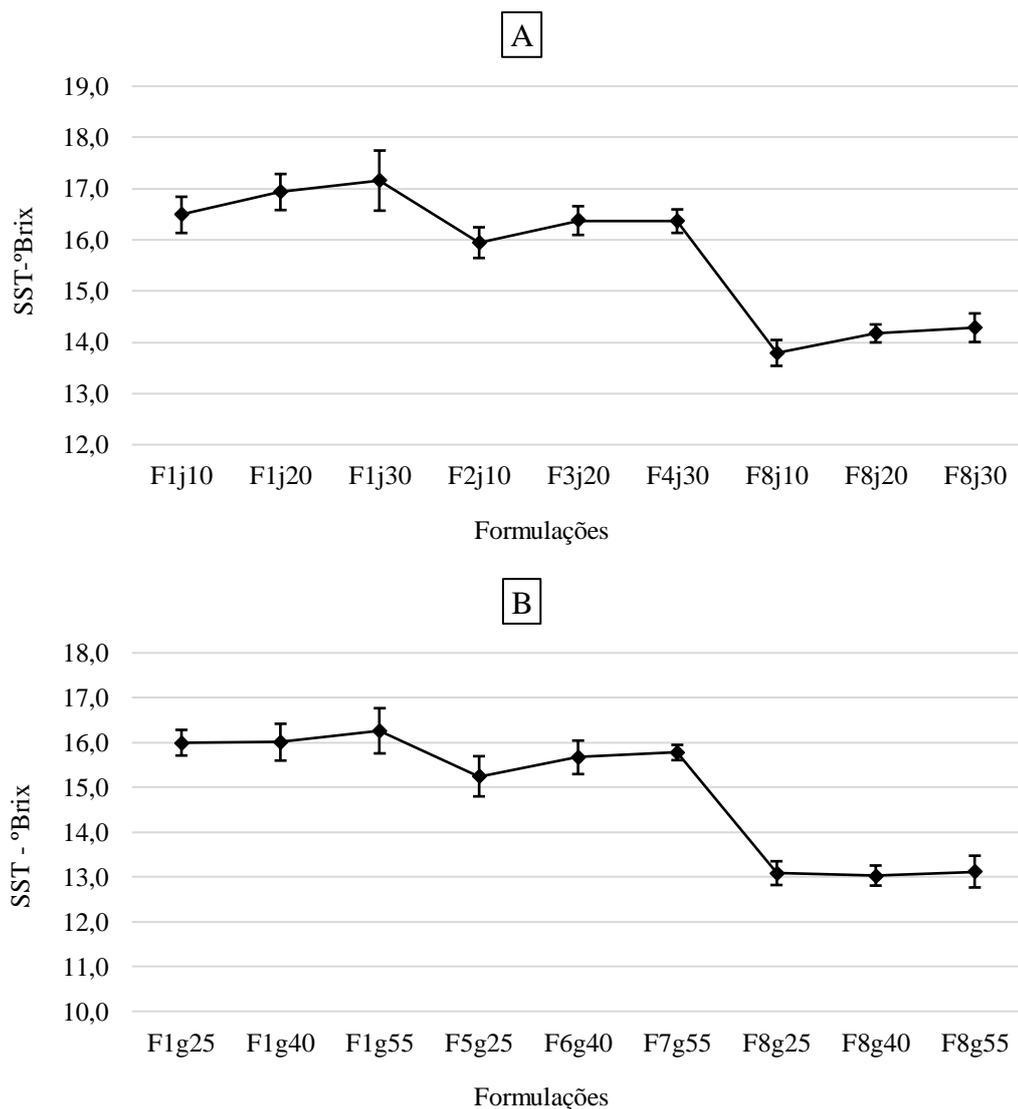
Por possibilitar a adição de açúcares e/ou xaropes após todo o processo de infusão, a legislação brasileira determina que para bebidas alcoólicas que utilizem o processo de mistura seja determinado a quantidade de açúcares totais em g/L⁻¹, no entanto para a bebida produzida neste trabalho a qual é definida como aguardente composta essa adição não ocorreu, sendo estipulado a princípio em 0 g/L⁻¹ em açúcares totais (BRASIL, 2008b). De qualquer forma, por utilizarmos material vegetal procedentes de variedades frutíferas, na quantificação dos sólidos solúveis totais (SST) foram considerados a soma de todos os sólidos dissolvido na bebida, os quais foram constituídos por outros sólidos, além do açúcar (LIMA; LIMA; GALVÃO, 2011).

Avaliando a Tabela 8 podemos observar que o aumento na quantidade de sólidos solúveis totais dissolvido está diretamente atrelado a quantidade de matéria seca presente nas infusões, apresentando uma elevação de 4,24% entre F1j10 e F1j30, de 3,14% entre as F2j10 e F4j30, e de 3,62% entre F8j10 e F8j30 para as formulações com folhas de jabuticabeira. Já para as formuladas utilizando sementes de guanandi, observamos um menor aumento na quantidade de SST, com uma média percentual de 1,87% entre as F1g25 e F1g55, e 3,94% entre as F5g25 e F7g55. Para as formulações controle que permaneceram em infusão com álcool de cereais a 38 °GL (F8g25, F8g40 e F8g55) as mesmas não apresentaram variação na quantidade de SST.

Na indústria, a avaliação e quantificação de SST está ligada ao rendimento, sobretudo quando se deseja avaliar o processo de fermentação onde é gerado o álcool e os produtos secundários que trazem atributos sensoriais à bebida (MIRANDA et al., 2008). Bebidas destiladas que não passam pelo processo de infusão comumente apresentam uma quantidade de SST menor mesmo que utilizando matéria-prima rica em açúcares, sendo estes convertidos em álcool e CO₂ quase que completamente durante a fermentação, como podemos ver nos resultados apresentados por Ramos (2018), que avaliou o processo fermentativo de aguardente produzida com seriguela (*Spondias purpurea* L.), a qual após a Chaptalização do mosto aferiu-se um Brix de 16°, e ao término da fermentação esse valor caiu para 6° Brix. Para Bessa et al., (2018), ao avaliarem bebida alcoólica fermentada de melão (*Cucumis melo* L.), apontaram um Brix inicial do mosto de, 15° e, ao término da fermentação, uma um valor de 5° Brix.

A Figura 13 apresenta o comportamento na variação de sólidos solúveis total em °Brix juntamente com suas respectivas médias apresentadas durante o período de infusão, correspondendo a Imagem (A) as formulações com folhas de jabuticabeira e a Imagem (B) as formulações com sementes de guanandi.

Figura 13. Média e comportamento na variação do SST em °Brix durante os 27 dias de infusão (A formulações com folhas de jabuticabeira e B formulações com sementes de guanandi).



Fonte: Próprio autor.

Esses valores estão abaixo dos valores encontrados neste estudo, tendo em vista que em nosso processo de produção não existe uma destilação ou etapa após a infusão que separem esses sólidos solúveis. Mesmo sendo inferiores, nossos resultados são similares no aumento dos valores de SST quando comparado a processos de produção de licores, como nos resultados

apresentados por Marques et al., (2020) que apresentaram uma média de 20,24° Brix para licor de maracujá com flores de jambu; ou Oliveira et al., (OLIVEIRA et al., 2015) que apontaram uma média de 29,1° Brix para licores de graviola; e por Andrade et al., (2020) que ao avaliarem as características físico-químicas de licor de açaí apresentaram uma média de 26,16° Brix.

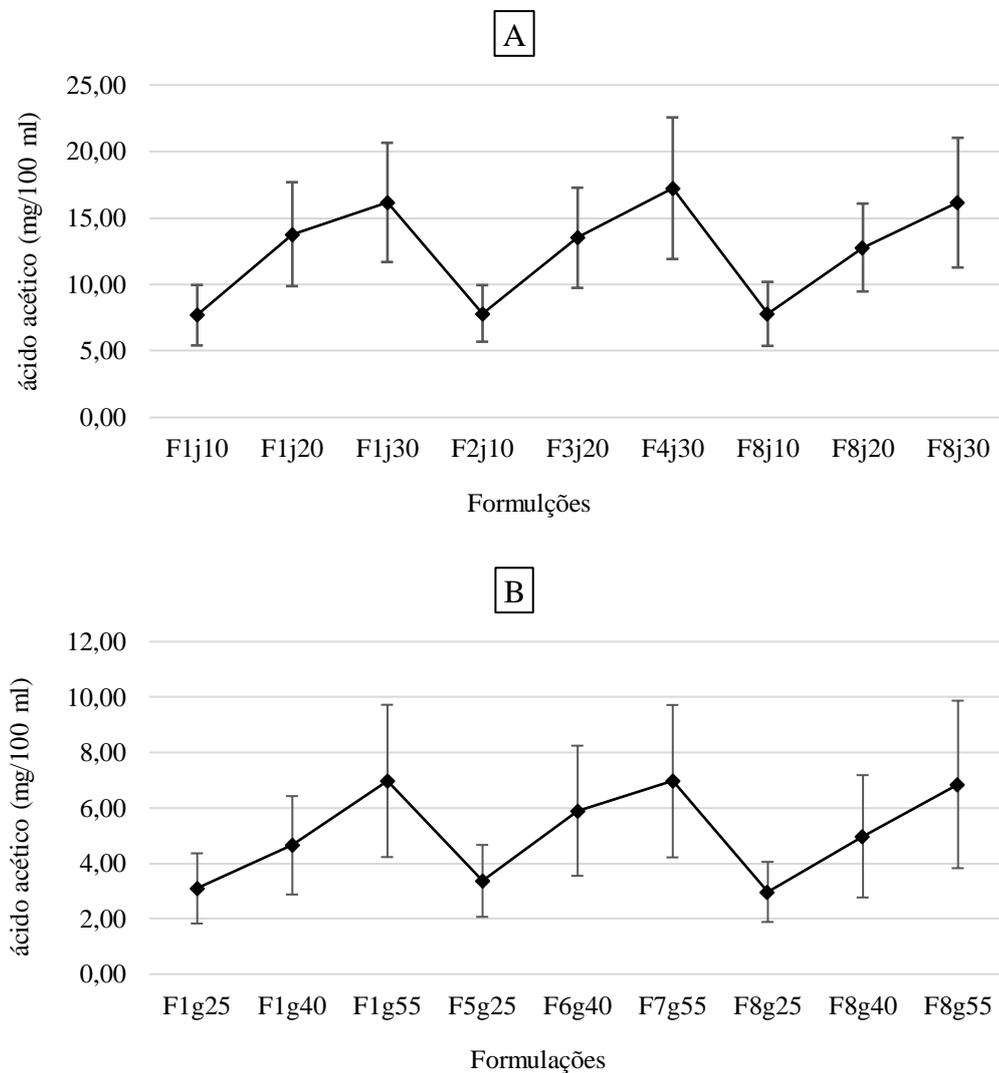
Avaliando a Tabela 8 as médias de acidez titulável (AT) para nossas formulações, assim como SST, apresentaram um aumento em relação à quantidade de matéria seca em infusão. Para as formulações controle que ficaram em uma graduação alcoólica de 50 °GL os resultados apresentaram um aumento de 110,2% entre as F1j10 e F1j30, passando de 7,69 para 16,17 em mg/100 mL. Já as formulações que passaram pela diluição gradativa apresentaram um aumento de 120,4% entre as F2j10 e F4j30, indo de 7,82 para 17,24 em mg/100 mL. Para as formulações controle que ficaram a 38 °GL houve um aumento de 107,4% entre as F8j10 e F8j30, subindo de 7,79 para 16,16 mg/100 mL esses resultados são referentes às formulações que utilizam folhas de jabuticabeira.

Já as que foram produzidas com sementes de guanandi apresentaram uma acidez titulável bem menor, todavia com um aumento até mais expressivo em relação a quantidade de matéria seca em infusão. Essa diferença apontou uma elevação de 125,6% entre as F1g25 e F1g55 passando de 3,09 para 6,97 de mg ácido/100 mL, 75,6% entre F5g25 e F7g55, indo de 3,37 para 6,97 de mg /100 mL, e aumento de 131,3% entre as F8g25 e F8g55, iniciando em 2,97 e finalizando com 6,85 de mg /100 mL.

A acidez total se apresenta como um dos parâmetros que influenciam diretamente na qualidade sensorial e estabilidade da bebida principalmente quando adicionado de matérias-primas orgânicas (SILVA et al., 2011). A acidez total de uma bebida alcóolica está fortemente ligada ao processo de fermentação, e por isso na maioria das vezes está associada à qualidade do fermento e o estado em que o mesmo se encontra, assim como a procedência do mosto e da matéria-prima utilizada. A rigorosidade no controle desses parâmetros é de extrema importância para produção de uma bebida mais suave, ou seja, menos ácido (PENG et al., 2016).

A Figura 14 apresenta a variação assim como o aumento na média da acidez total em mg de ácido acético/100 mL de álcool anidro, durante o período de infusão, correspondendo a Imagem (A) as formulações com folhas de jabuticabeira e a Imagem (B) as formulações com sementes de guanandi.

Figura 14. Média e variação da acidez titulável (mg/100 mL) durante a infusão (A - formulações com folhas de jabuticabeira); (B - formulações com sementes de guanandi).



Fonte: Próprio autor.

Mesmo utilizando álcool de cereais inicialmente a 96 °GL e diluídos para 38 e 50 °GL o que apresenta um valor de acidez titulável próximos a neutralidade, o nosso estudo utiliza-se do processo de infusão com matéria-prima de origem vegetal, essa etapa associada com o tempo de maceração alcoólica influencia diretamente no aumento da acidez, decorrentes da oxidação do etanol o qual contribui para formação de acetaldeído, conduzindo a formação de ácido acético (MIRANDA et al., 2008; REAZIN, 1981).

Segundo Catão et al., (2011), que avaliaram a interação de 5 espécies de madeiras para envelhecimento de cachaça e a relação entre o tempo de armazenamento e o aumento da acidez total, onde apontam um acréscimo nas médias em paralelo ao tempo de envelhecimento,

assim como no nosso estudo esse avanço na acidez titulável pode estar associado às reações de extração de compostos presentes na matéria seca como taninos e compostos fenólicos, compostos secundários e ácidos não voláteis (MORI et al., 2003), o que também explica a maior concentração de acidez titulável nas formulações com maior proporção de matéria seca.

5.2 Avaliação da mudança na intensidade de cor no decorrer do processo de infusão

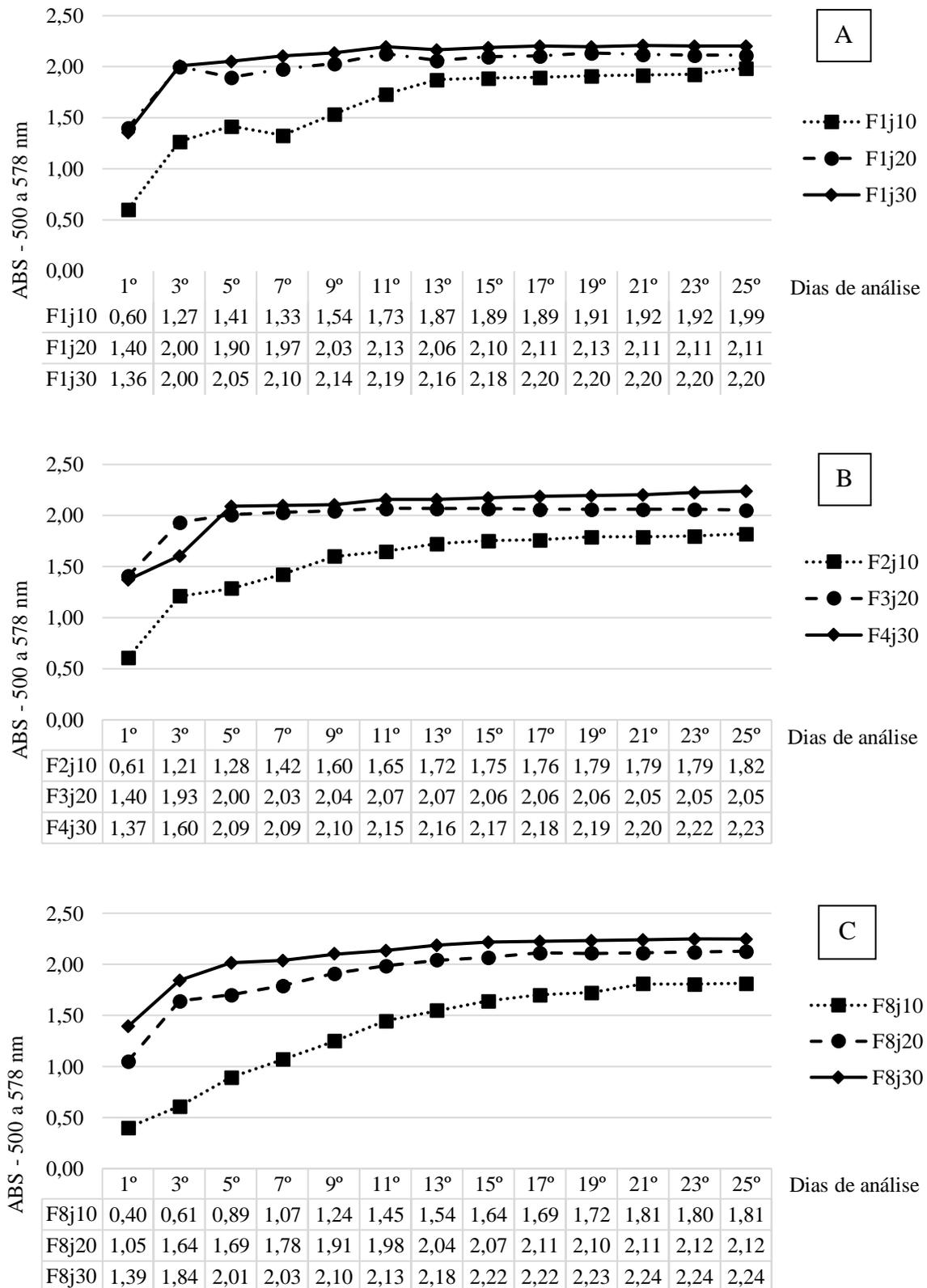
A avaliação das alterações na intensidade de cor foi realizada levando em consideração a absorbância obtida por espectrofotômetro durante os 27 dias de infusão, sendo realizada a cada 48 horas. Para as formulações utilizando as folhas de jabuticabeira a intensidade apresentou níveis com variação maior em comprimentos de onda, variando de 500 a 578 nm, que segundo França; Santos; de Lima, (2007) estão relacionadas a tonalidade verde.

Segundo alguns autores, a cor da bebida é o primeiro dos atributos sensoriais que se apresenta ao consumidor. Desta forma, a utilização de componentes que agreguem uma cor que chame atenção é um fator indispensável para o sucesso de uma nova bebida (CATÃO et al., 2011). Para obtenção desse atributo a indústria de bebidas alcoólicas, utilizam-se de processos como o envelhecimento em barris de diversas espécies de madeira, adição de corantes artificiais como o caramelo IV (ASHURST; HARGITT, 2009; CASTRO et al., 2015), e nos últimos anos, produtores principalmente de cachaças e aguardentes vêm utilizando o processo de infusão com lascas, chips e aparas de madeira para alcance das características desejadas de cor. Segundo Bortoletto (2013) a utilização desta tecnologia apresenta uma taxa de extração de compostos mais rápida quando comparada apenas àquelas envelhecidas em barris.

As folhas da jabuticabeira apresentam uma composição rica em compostos voláteis como terpenos, flavonoides, quercetina, compostos fenólicos e alcalóides, seus óleos essenciais são muito utilizados na indústria farmacêutica e de cosméticos, porém, sabe-se há muitos anos que as folhas também são matéria-prima na produção de chás considerados fitoterápicos. Isso faz com que apresentem uma composição química com potencial para agregar características sensoriais de cor e sabor desejáveis à bebida durante o processo de maceração alcoólica (PEREIRA; MARTINS, 2007).

A Figura 15 apresenta a variação na cor da bebida para as formulações com folhas de jabuticabeira, distribuídas entre formulações F1j10, F1j20 e F1j30 (Imagem A) correspondente as formulações controle a 50 °GL, as F2j10, F3j20 e F4j30 (Imagem B) para as formulações que passaram pela diluição gradual e as F8j10, F8j20 e F8j30 (Imagem C) para as formulações controle que permaneceram a 38 °GL.

Figura 15. Variação da cor durante o processo de infusão para as formulações com folhas de jabuticabeira (intensidade de verde)



Fonte: Próprio autor.

Observando a Figura 15 podemos observar uma inclinação expressiva em todas as formulações entre o 1º e o 3º dia de análise, mantendo um ganho significativo na intensidade da cor verde, onde houve aumento na absorbância de 111, 42 e 47% para F1j10, F1j20 e F1j30 respectivamente; de 98, 38 e 17% para F2j10, F3j20 e F4j30 respectivamente e de 52, 56 e 32% para as F8j10, F8j20 e F8j30 respectivamente.

As alterações de cor ao longo tempo, observadas em nosso trabalho, estão de acordo com os resultados apresentados por Krüger (2016) ao avaliar a evolução dos parâmetros de cor (L^* , a^* e b^*) em licor de Maçã envelhecido com chips de madeira, durante 90 dias, em infusão. Este trabalho mostrou uma evolução nos parâmetros de L^* (luminosidade), e uma queda nos parâmetros a^* (+a indica vermelho e -a indica verde), expressiva até o 7º dia, exibindo alterações relevantes até o 14º dia e depois permanecendo inalterado.

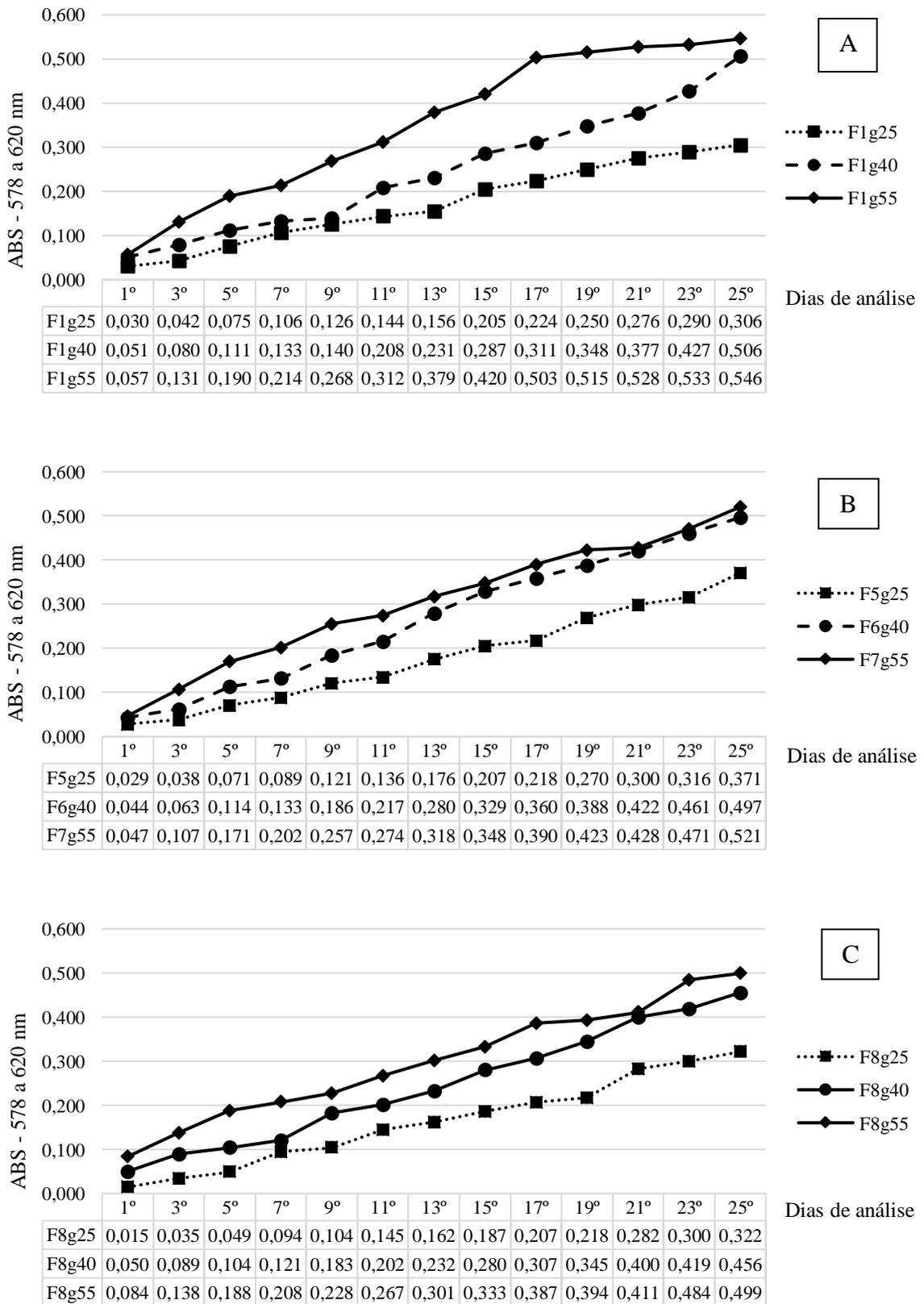
Já os resultados apresentados por Barros et al., (2016) apresentam resultados contraditórios aos expressos por Krüger (2016), porém semelhantes aos nossos em relação à luminosidade. Estes autores avaliaram um licor à base de engaço de uva, e apontaram uma queda na luminosidade que pode ser explicada pelo tempo de maceração alcoólica utilizado, 180 dias, sendo esta queda da luminosidade influenciada pela passagem de partículas da matéria-prima vegetal para a bebida, aumentando sua turbidez. Além disso, por ser uma bebida rica em polifenóis, como é o caso de nossas folhas, é possível que ocorra a precipitação de compostos bioativos durante o armazenamento (GIRONÉS-VILAPLANA et al., 2015).

Para as formulações utilizando sementes de guanandi, as amostras se mostraram com variações de intensidade de cor entre 592 a 578 nm, o que representa a cor amarelo, e de 620 a 592 nm, representando variação da cor laranja (FRANÇA; SANTOS; DE LIMA, 2007).

A madeira do guanandi já é bastante referenciada na literatura principalmente pelas suas características de resistência para utilização na fabricação de móveis, embarcações e o que mais nos interessa na produção de barris utilizados no envelhecimento de bebidas alcoólicas (LORENZI, 1992). Já as sementes de guanandi apesar de não apresentarem um grande número de estudos de sua composição química na literatura, exibem índices de germinação e desenvolvimento das plântulas bem definidos e com resistência a variações de solo e clima (LIMA, 2011).

A Figura 16 apresenta os resultados obtidos com as análises espectrofotométricas na mudança da intensidade de cor das formulações utilizando sementes de guanandi, divididas entre as formulações F1g25, F1g40 e F1g55 (Imagem A); F5g25, F6g40 e F7g55 (Imagem B) e F8g25, F8g40 e F8g55 (Imagem C).

Figura 16. Variação da cor durante o processo de infusão para as formulações com sementes de guanandi (intensidade de laranja e amarelo)



Fonte: Próprio autor.

Observando a Figura 16 podemos observar que, diferente das formulações que utilizam as folhas de jabuticabeira, as produzidas com semente de guanandi proporcionaram um aumento na tonalidade de amarelo durante todo o processo de maceração alcoólica, ou seja, durante todos os 27 dias de infusão, todas as formulações apresentaram maior absorção do espectro 578 e 620 nm, o que indica o aumento na tonalidade de amarelo.

A cor amarela dourada em bebidas destiladas é comumente buscada e apreciada tanto pelos produtores quanto pelos consumidores, nossos resultados apontaram um enorme potencial das sementes de guanandi como fonte de pigmentos que trazem essa cor as bebidas em um curto prazo de infusão, uma vez que, todas as formulações já apresentaram cor desejada, quando comparadas a produtos similares encontrados no mercado, que na maioria das vezes passam por anos de envelhecimento como no caso dos uísques, ou utilizam-se da adição de corantes artificiais como em alguns conhaques, e não estagnando esse aumento na tonalidade de amarelo até o último dia de infusão.

Bortoletto (2016) ao avaliar a influência da madeira na qualidade química e sensorial de cachaças envelhecidas por 24 meses constatou, assim como em nosso estudo, um aumento na tonalidade de gradativo e contínuo durante todo período de envelhecimento. O mesmo autor aponta que ao utilizar lascas de carvalho europeu em infusão em cachaças em período de envelhecimento, esse tempo necessário para obtenção do atributo de cor desejada pode cair bruscamente para menos de 12 meses. Esses resultados vão de encontro aos apresentados neste estudo uma vez que as sementes de guanandi apresentam coloração semelhante à de lascas de madeira e mesmo as bebidas não estando em envelhecimento em barris, a solução hidro alcoólica proporciona a extração de compostos para a bebida.

5.3 Seleção preliminar das melhores formulações por profissional especializado

Para a seleção das formulações que mais se destacaram, foram levadas em consideração primeiramente a conformidade diante da legislação, seguindo as instruções descritas para aguardente composta na Instrução Normativa nº 35, de 16 de novembro de 2010 (BRASIL, 2008b), onde apenas as formulações F4j30 e F6g40 não terminaram com graduação alcoólica entre de 38 e 54 °GL, aferindo ao final 36 °GL, porém, todos os outros parâmetros se apresentaram dentro dos limites estipulados.

A cor é um importante atributo avaliado pelos consumidores em uma bebida, e incide diretamente na composição química destas bebidas, onde estão ligadas a quantidade de pigmentos extraídos durante os processos de produção, o que leva a expectativas de sabor e

aroma pelo consumidor (OLIVEIRA, 2015). Desta forma, o segundo ponto levado em consideração foi a cor, onde a partir da avaliação do licorista Renato Boaretto, 9 formulações se descaram: as F1j20, F2j10, F3j20 e F8j20 para as bebidas utilizando folhas de jabuticabeira, e para as formulações produzidas com sementes de guanandi as F1g25, F1g55, F7g55, F8g25 e F8g55. Essa avaliação foi realizada em comparação com bebidas alcoólicas similares encontradas no mercado.

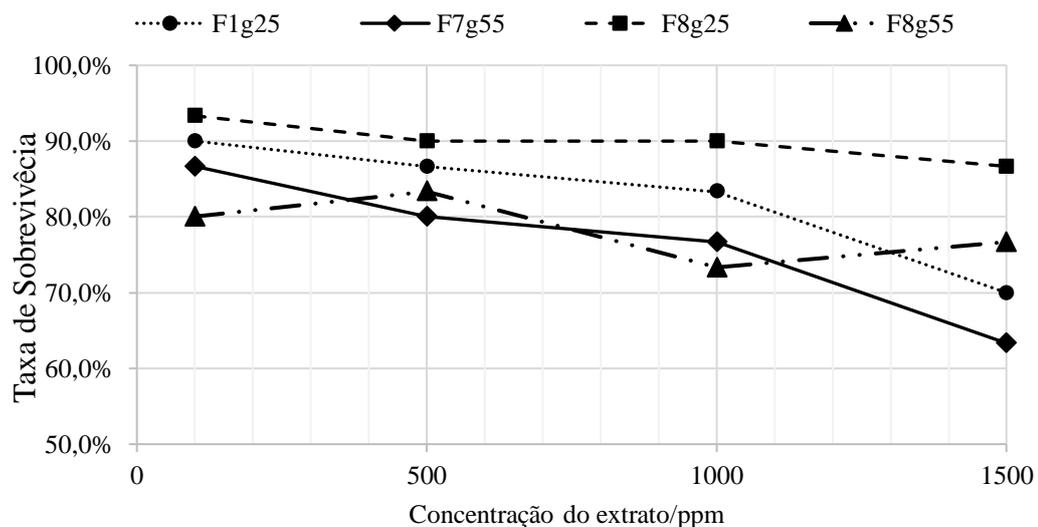
Quando falamos de aromas em bebidas alcólicas, estamos relacionando uma série de percepções apresentadas pela composição e reações químicas presentes e ocorridas na bebida durante as várias etapas de produção, e formam o que chamamos de “buquê aromático”, e estão relacionadas desde a qualidade da matéria-prima, passando pela fermentação, destilação e o mais comum para bebidas destiladas o envelhecimento, que caracterizam inúmeras bebidas através da formação do buquê durante o processo, associadas a transferência de ésteres dos barris para as bebidas (VOLPE; BONA; CAMPO, 2013). As duas avaliações sensoriais realizadas pelo licorista Renato Boaretto foram conduzidas no Hotel Meliá Paulista, Av. Paulista, 2181 - Consolação, São Paulo/SP.

Mesmo nossas bebidas não apresentando o processo de envelhecimento em barris, e utilizar álcool de cereais com pureza de 96%, foram utilizados os processos de infusão com matéria-prima de origem vegetal, o qual desencadeia a transferências de compostos que formam o “buquê aromático”. Desta forma, foi realizado a avaliação do aroma buscando as que se destacam com um buquê aromático que ressaltasse características herbais para as formulações com folhas de jabuticabeira sendo selecionadas numa segunda fase as F1j20, F3j20 e F8j20, e para formulações com sementes de guanandi um buquê aromático com notas de madeira, destacando-se a F1g25, F7g55, F8g25 e F8g55.

5.4 Resultado da análise citotóxica das formulações selecionadas

A Figura 17 mostra as curvas de dispersão obtidas no bioensaio *Brine Shrimp Test*, realizadas com extratos das formulações com semente de guanandi (F1g25, F7g55, F8g25 e F8g55), e aponta a taxa de sobrevivência das *Artemias salinas* frente às diferentes concentrações.

Figura 17. Percentual de sobrevivência das *Artemias salinas* nos extratos com sementes de guanandi



Fonte: Próprio autor

Observando os resultados obtidos na Figura 17, podemos destacar que nas concentrações utilizadas (100 ppm, 500 ppm, 1000 ppm e 1500 ppm) não foi constatada letalidade de 50% para nenhuma das formulações.

As taxas de sobrevivência são calculadas de acordo com a mortalidade das *Artemias salinas* em exposição nas diferentes concentrações, sendo expostas 10 Náuplios em cada tubo. Dentre todas as formulações a com maior taxa de sobrevivência a F8g25 que obteve 93,3% para 100 ppm; 90,0% para 500 ppm; 90,0% para 1000 ppm e 86,7% para 1500 ppm. Em contra partida, a formulação que apresentou a menor taxa de sobrevivência e que mais se aproximou de 50% de letalidade foi a Fg7⁵⁵, que apresentou 86,7% para 100 ppm; 80,0% para 500 ppm; 76,7% para 1000 ppm, e 63,3% para 1500 ppm. Desta forma, os resultados se apresentam inversamente proporcionais, ou seja, à medida que se aumenta a concentração dos extratos observa-se uma queda na taxa de sobrevivência, que segundo Meyer et al., (1982), taxas de 50% de mortalidade com valores de amostra > 1000 µg mL⁻¹ são consideradas atóxicas, servido

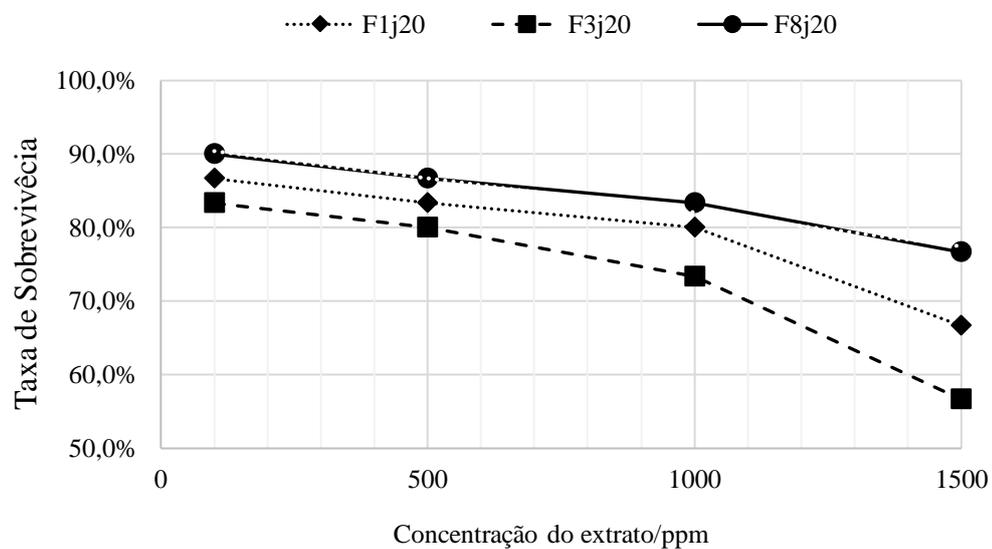
principalmente para direcionar esses novos compostos, se tóxicos, frente a *A. salina*, para estudos mais aprofundados como no uso para herbicidas e inseticidas, já quando se mostrando atóxicos podendo seguir para estudos farmacológicos e alimentícios.

Os testes com *A. salina* são comumente utilizados pela sua baixa complexibilidade, baixo custo e podem ser realizado com uma pequena quantidade de amostras, além do descarte de equipamentos específicos que na maioria das vezes impossibilitam a realização de análises de toxicidade em alimentos, sendo usado como um teste inicial na avaliação do potencial citotóxico de novos compostos (MCLAUGHLIN; ROGERS; ANDERSON, 1998).

Não foi encontrado na literatura ensaios de toxicidade realizados com sementes de guanandi, por outro lado, outros estudos encontrados na literatura, assim como os nossos, apontaram resultados atóxicos utilizando o bioensaio com *A. salinas* para sementes de *Moringa oleífera* Lam, por Dantas et al., (2020), também em sementes e vagens de *Lupinus lanatus* Benth Lopes et al., (2015), e quando realizado o mesmo ensaio sobre o óleo das sementes de *Annona glabra* L. realizados por Laranjeira (2016), os resultados foram de taxa de mortalidade de 50% com valor de $716,54 \mu\text{g mL}^{-1}$ que segundo Meyer et al., (1982) indica baixa toxicidade. Em contra partida, Mazepa (2014) e Sousa (2007) ao avaliarem sementes de *Joannesia princeps* e *Annona Atemoya* Mabb, respectivamente, apontaram altas taxas de mortalidade com baixos valores na concentração dos extratos $< 100 \mu\text{g mL}^{-1}$, o que indica alta toxicidade frente a *salinas* (MEYER et al., 1982).

Para as formulações em que foram utilizadas as folhas de jabuticabeira como matéria-prima (F1j20, F3j20 e F8j20), as taxas de sobrevivência das *A. salinas* expostas as diferentes concentrações dos extratos, estão dispostas na Figura 18.

Figura 18. Percentual de sobrevivência das *Artemias salinas* nos extratos com folhas de jabuticabeira.



Fonte: Próprio autor.

Observa-se que a taxa de sobrevivência das *Artemias Salinas* nas formulações com as folhas de jabuticabeira se assemelha com as taxas obtidas nas formulações utilizando sementes de guanandi. Ambas apresentam um comportamento de queda na sobrevivência de acordo com o aumento da concentração do extrato, apresentando a melhor taxa de sobrevivência a F8j20 com 90% para 100 ppm e menor de 76,7% para 1500 ppm, já a formulação que obteve a maior taxa de mortalidade, foi a F3j20 com percentuais de 83,3 e 56,7% maior e menor taxa de sobrevivência respectivamente.

Desta forma podemos observar que as formulações com folhas de jabuticabeira apresentaram índices de mortalidade para população de *Artemias Salinas* maiores que as formulações utilizando sementes de guanandi, entretanto, nenhuma das formulações alcançou a taxa de 50% em nenhuma das concentrações do extrato.

Estudos sobre a composição química das folhas de jabuticabeira são mais fáceis de encontrar na literatura, isso devido a sua longínqua utilização na produção chás na medicina popular, principalmente pelas suas propriedades fitoterápicas (PEREIRA; MARTINS, 2007). No entanto, em contradição aos nossos resultados, um estudo recente realizado por Mendonça de Assis et al., (2021) avaliou a toxicidade das folhas de jabuticabeira (*P. cauliflora*) e apontou resultados frente à *A. salina* e constatou mortalidade de 50% a uma concentração de 360,92 $\mu\text{g mL}^{-1}$, o que segundo Meyer et al., (1982) apresenta um toxicidade moderada, de outro modo Chavasco et al., (2014) avaliou os extratos da folhas de jabuticabeira (*P. cauliflora*) utilizando

o método de MTT onde são empregadas células (derivado de *Aedes albopictus*larvae), e constatou taxas atóxicas para todas amostras. Desta forma deve-se ressaltar que a partir dos resultados apresentados em ensaios preliminares de toxicidade onde aponte altas taxas de mortalidade (> 50%) deve-se haver aprofundamento dos testes citotóxicos, utilizando ensaios mais robustos e sensíveis como por exemplo toxicidade aguda e crônica (PELLI et al., 2008).

5.5 Avaliação físico-química das formulações selecionadas

Após seleção das formulações levando em consideração alguns aspectos físicos e sensoriais as 7 amostras preferidas, segundo avaliação do Licorista Renato Boaretto (F1j20, F3j20, F8j20, F1g25, F7g55, F8g25 e F8g55), foram novamente produzidas seguindo as etapas de produção inicial apresentadas no tópico 4.3, diferenciando-se apenas pela retirada do processo de remoção de alíquotas para avaliação da cinética de extração.

Foram realizadas as análises de pH, acidez total titulável, densidade, cor, sólidos solúveis e extrato seco, sendo esta realizada nas amostras antes e após a filtração, ao final do período de 27 dias. Todas as formulações foram padronizadas para 38 °GL e a Tabela 09 apresenta o resultado para análises físico-químicas das 7 formulações selecionadas.

Tabela 9. Resultados das análises físico-químicas das 7 formulações selecionadas após processo de infusão.

Análises físico-químicas										
Form.	pH	Densidade	°GL	Extrato seco (em g/L ⁻¹)		SST (°Brix)	ATT	Cor		
				AF	DF			L*	a*	b*
F1j20	5,10±0,01 ^{cd}	950±0,58 ^a	49	14,2167±3,88 ^b	7,9983±1,14 ^a	14,5±0,15 ^a	4,080±0,93 ^{ab}	27,45±0,24 ^{bc}	1,09±0,04 ^{bd}	0,32±0,06 ^d
F3j20	5,20±0,01 ^c	948±1,00 ^b	37	10,8980±2,62 ^d	6,9117±1,48 ^{ab}	14,4±0,06 ^{ab}	4,692±1,07 ^a	27,86±0,04 ^{bc}	1,39±0,01 ^b	0,86±0,12 ^d
F8j20	5,21±0,02 ^c	951±1,15 ^a	38	11,0733±1,90 ^c	7,1017±1,06 ^a	14,5±0,15 ^a	4,386±0,35 ^a	28,37±0,16 ^b	2,15±0,03 ^{ac}	1,51±0,06 ^c
F1g25	5,90±0,02 ^{ab}	951±1,00 ^a	51	10,5633±2,57 ^d	4,5733±2,03 ^d	14,2±0,17 ^b	2,142±0,81 ^{bc}	32,61±0,27 ^a	1,02±0,03 ^d	5,67±0,02 ^{ab}
F7g55	5,82±0,02 ^b	949±0,58 ^{ab}	37	17,8767±7,14 ^a	5,0783±3,12 ^c	14,1±0,10 ^b	1,734±0,64 ^c	31,91±0,02 ^a	2,03±0,02 ^c	6,10±0,04 ^a
F8g25	5,93±0,02 ^a	950±1,00 ^a	39	11,3458±2,26 ^{cd}	6,3500±1,17 ^b	14,1±0,06 ^b	1,836±0,61 ^c	32,49±0,02 ^a	1,30±0,02 ^{cd}	5,90±0,02 ^a
F8g55	5,91±0,01 ^a	948±0,58 ^b	38	16,3680±3,83 ^a	9,6083±3,73 ^a	14,5±0,06 ^a	2,346±0,35 ^{bc}	30,93±0,02 ^a	2,35±0,02 ^{ac}	5,08±0,06 ^{ab}

Extrato Seco: AF = Antes da filtragem e DF = Depois da filtragem;

ATT: Acidez Total Titulável em mg de ácido acético/100 mL da amostra;

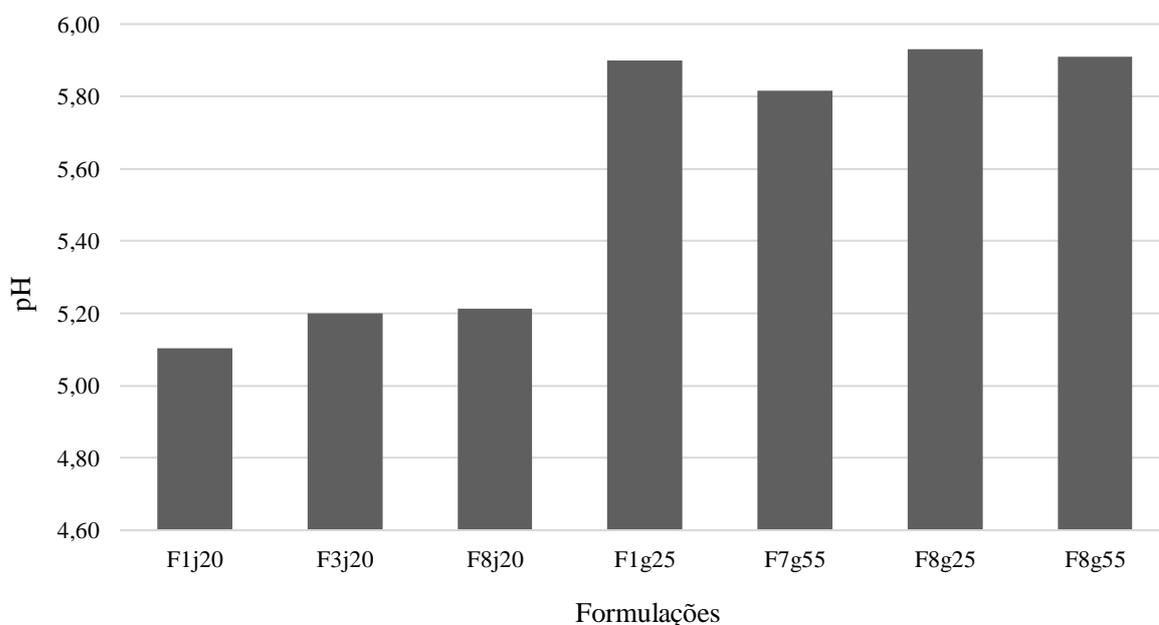
Cor: L* = Luminosidade, a* = coordenada vermelho/verde e b* = coordenada amarelo/azul;

Valores com letras diferentes diferem entre si a um nível de significância de $p < 0,05$

5.5.1 Avaliação de pH

A Figura 19 apresenta os valores de pH obtidos nas 7 formulações selecionadas e avaliadas após a maceração alcoólica.

Figura 19. Média da caracterização de pH para as 7 amostras selecionadas



Fonte: Próprio autor.

Avaliando a Figura 19 podemos observar que os níveis de pH estão de acordo com os apresentados nas análises durante a cinética de extração, estando as formulações com folhas de jabuticabeira com menores valores que as formulações com sementes de guanandi, sendo a F1j20 a que mais se aproximou dos valores apresentados anteriormente com menor pH de 5,10. Já 2 das 3 formulações com folhas de jabuticabeira selecionadas não apresentam diferença significativa entre si F3j20 e F8j20 com pH de 5,20 e 5,21 respectivamente, e em todas as formulações houve uma aumento quando comparado a cinética de extração, o qual pode ser explicado pela não retirada de alíquotas durante a infusão, o que causa uma menor interação sólido/líquido.

Para as sementes de guanandi podemos observar uma linearidade entre os valores de pH, não apresentando diferença significativa entre as formulações F1g25, F8g25 e F8g55 com valores médios de 5,90, 5,93 e 5,91 respectivamente e com menor valor a F7g55 com 5,82.

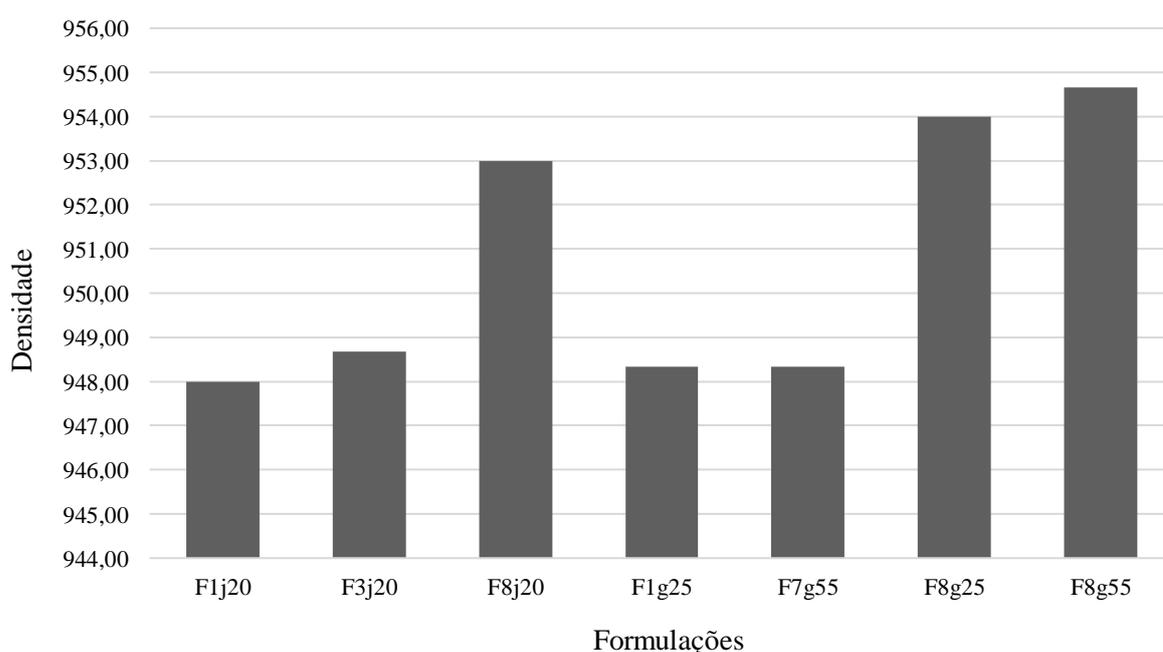
O Gráfico também aponta uma elevação em todos os valores quando comparados com os resultados apresentados na cinética de extração com taxas de 6,5% para F1j20, 12,8% para F3j20 e 14,76% para F8j20 para as formulações com folhas de jabuticabeira, e de 10,7% para F1g25, 12,6% para F7g55, 18,4% para F8g25 e 17% para F8g55 representado as formulações com sementes de guanandi. O que pode ter ocorrido para essa elevação nos valores de pH foi a estabilidade na interação entre solvente e matéria seca, por não haverem retiradas de alíquotas para análises diárias, isso fez com que a proporção sólido/líquido se mantivessem mais estáveis, acarretando em uma maior quantidade de solução (álcool de cereais e água) nas infusões os quais apresentam um pH próximo ao neutro (SHIGEMATSU et al., 2018).

Quando comparamos os resultados entre as formulações que passaram pela diluição gradual, e as formulações controle, as quais permaneceram em infusão em solvente com graduação alcoólica fixa, os valores de pH diminuíram a uma faixa de 1,9% da F3j20 para F1j20, mantendo-se estável para F8j20 para as formulações com folhas de jabuticabeira. Para as sementes de guanandi, as formulações diluídas apresentaram uma redução nos valores de pH de 8,4% da F7g55 para F8g55.

5.5.2 Avaliação da densidade

A Figura 20 apresenta o resultado da variação da densidade para as 7 formulações selecionadas após o processo de maceração alcoólica.

Figura 20. Média da caracterização da densidade para as 7 amostras selecionadas



Fonte: Próprio autor.

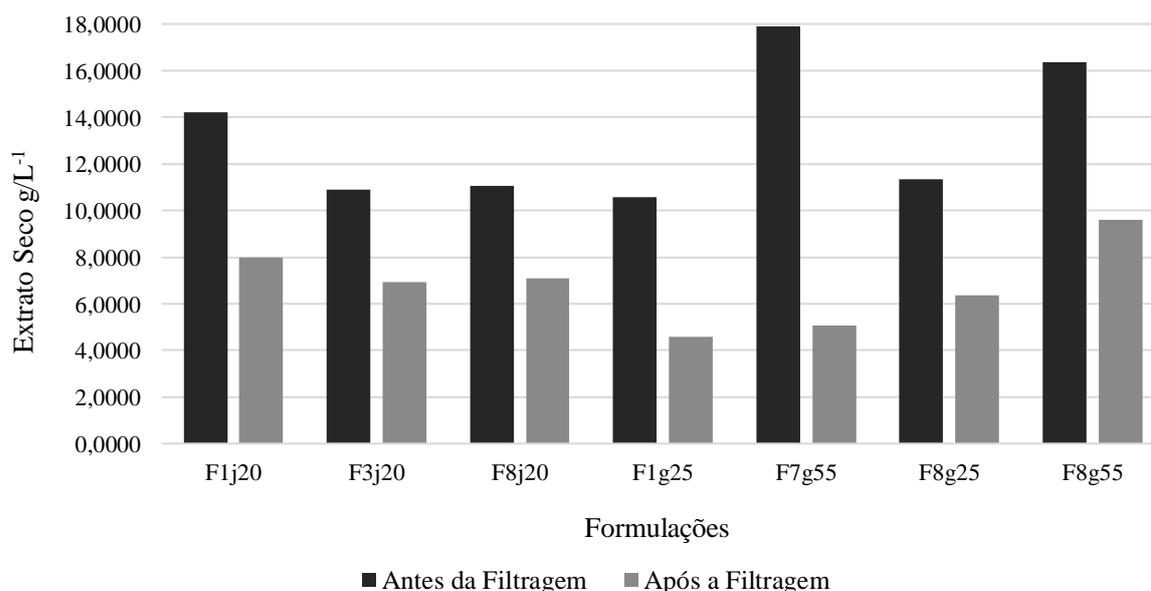
Os valores de densidade segundo a Figura 20, apresentaram acréscimo em todas as formulações quando comparadas aos valores apresentados na cinética de extração, e mesmo as análises sendo realizadas após a padronização para 38 °GL das formulações controle que ficaram a 50 °GL durante a infusão (F1j20 e F1g25), essas apresentaram as menores média de densidade com 0,948 e 0,9483 g/cm³ respectivamente, as quais apresentaram um aumento de 1,5 e 1,6%.

As demais formulações, apesar de apresentarem aumento nos valores de densidade quando comparados com a cinética de extração, não chegaram a 1% de acréscimo. Resultados que expressam a relação proporcional de maior densidade para maior quantidade de água no solvente (ALMEIDA, 2012).

5.5.3 Avaliação do Extrato seco

A análise de extrato seco foi realizada em duas etapas, a primeira foi avaliada as 7 formulações antes da filtragem, em seguida todas as formulações foram filtradas a vácuo e novamente avaliadas quanto ao seu extrato seco Figura 21, a utilização desses dois processos visa apresentar a quantidade de resíduos sólidos retidos da bebida após a filtragem.

Figura 21. Resultados da análise do extrato seco das 7 formulações antes e após a filtragem a vácuo



Fonte: Próprio autor.

As quantidades de extrato seco limites não são mencionados na legislação brasileira, no entanto, são compostos que se relacionam com as mudanças sensoriais na bebida como cor, aroma e sabor, principalmente se tratando de bebidas envelhecidas ou que passem pelo processo de infusão, e é representada pela quantidade de resíduos não voláteis presentes na bebida (VIANA et al., 2016). Um extrato seco elevado também pode levar à precipitação de componentes ao longo da vida-de-prateleira da bebida, o que prejudica seu aspecto visual.

Observando a Figura 21 podemos notar que entre as formulações com folhas de jabuticabeira, as quais possuíam o mesmo peso de matéria seca (20g/500 mL de álcool de cereais), a que maior apresentou peso de extrato seco foi a F1j20 que antes da filtragem obtinha 14,2167 e depois da filtragem 7,9983 g/L⁻¹ representando uma queda de 43,7%. As demais formulações com folhas apresentaram queda de 36,6% para a F3j20, passando de 10,8980 para 6,9117 g/L⁻¹, e 35,8% para F8j20, caindo de 11,0733 para 7,1017 g/L⁻¹.

Já para as formulações que utilizam semente de guanandi, assim como os resultados apresentados na cinética de extração, os maiores pesos residuais de extrato seco estão relacionados com a maior quantidade de matéria seca em infusão. A F7g55 apresentou valor 17,8767 g/L⁻¹ antes da filtragem, reduzindo para 5,0783 g/L⁻¹ depois da filtragem a vácuo, com uma queda de 71,6%, e a F8g55, que antes da filtragem apresentou 16,3680 caindo para 9,6083 g/L⁻¹ significando uma redução de 41,3% de resíduos não voláteis. As demais formulações com semente de guanandi apresentaram queda de 56,7% e 44% para F1g25 e F8g25.

Os maiores valores encontrados em nosso estudo antes da filtragem são semelhantes aos apresentados por Pinto et al., (2015) que avaliou o extrato seco de bebidas alcoólicas fermentadas obtida a partir de resíduos agroindustriais, onde utilizou um processo de filtragem apenas com películas de *nylon* e algodão e obtiveram médias de 20,49 g/L⁻¹, valores distantes dos nossos depois da filtragem, o que nos aponta uma maior eficiência quando utilizado o processo de filtragem a vácuo junto com película de separação e remoção de resíduos, o uso de filtro de papel de filtro qualitativo 80g, sua eficiência está associada a ampla concentração de alfa-celulose de algodão com grande capacidade de retenção de partículas residuais (LIZZETH; QUISPE; NOLET, 2007).

Já Viana et al., (2016) fizeram uma comparação do aumento do extrato seco no decorrer do tempo de envelhecimento de aguardentes em barris de sassafrás durante 12 meses, os resultados apontaram uma taxa de aumento de resíduo de 78,77% iniciando em 0,52 e finalizando com 2,45 g/L⁻¹, esse resultado aponta a influência que o tempo de maceração pode

influenciar na extração de compostos não voláteis, esse resultado vai de encontro aos nossos apresentados na cinética de extração onde o parâmetro de extrato seco foi o que mais apresentou variações no decorrer do processo de infusão.

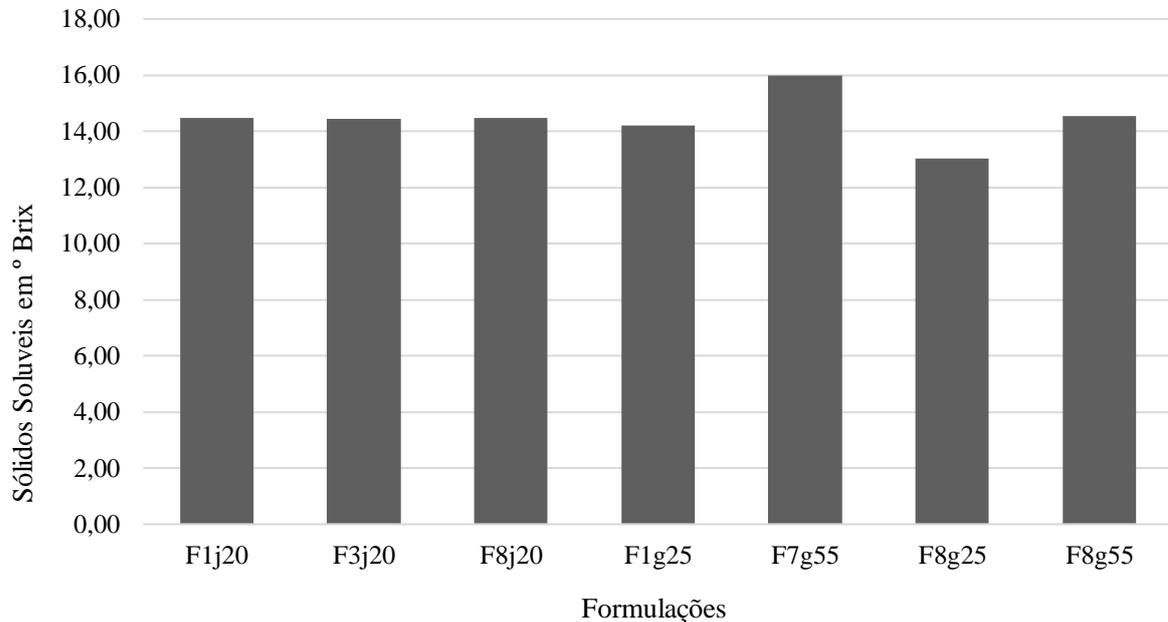
Outro estudo interessante que podemos evidenciar como referência foi o realizado por Santos Neto et al., (2021) que avaliaram licor produzido com folhas de umbu (*Spondias tuberosa* Arruda) e microalga (*Spirulina* spp.), o qual apresentou média de extrato seco de 7,96 g/L⁻¹, valor muito próximo aos nossos para as formulações com folhas de jabuticabeira depois da filtração a vácuo.

Avaliando os pesos residuais entre as formulações controle e as formulações diluídas, observamos uma redução em todos os valores de extrato seco antes da filtração, apresentando queda de 23,3% da F1j20 para a F3j20, e de 1,6% da F8j20 para a F3j20, para as formulações com folhas de jabuticabeira, já para as com sementes de guanandi a redução foi inversa, com queda de 8,4% da F7g55 para a F8g55. Após a filtração a vácuo as formulações com folhas de jabuticabeira ainda apresentaram uma redução nos pesos residuais das formulações diluídas para as controle com queda de 13,6% da F1j20 para a F3j20 e de 1,4% da F8j20 para a F3j20, e se destacando para os valores de extrato seco, as formulações com sementes de guanandi que apresentaram redução 47,1% da F8g55 para a F7g55, formulações controle e fixa respectivamente.

5.5.4 Avaliação dos Sólidos solúveis (°Brix)

Os sólidos solúveis totais foram avaliados quanto ao seu ° Brix tendo em vista que as duas matérias secas utilizadas são oriundas de frutíferas nativas da Mata Atlântica e podem trazer níveis de sólidos solúveis dissolvidos para a bebida (BERNARDO et al., 2021). Os resultados para SST estão apresentados na Figura 22.

Figura 22. Resultados para sólidos solúveis totais ° Brix para as 7 formulações selecionadas



Fonte: Próprio autor.

Ao avaliarmos a Figura 22 podemos observar que entre as formulações com folhas de jabuticabeira não houve uma diferença significativa entre as formulações, que apresentaram 14,47, 14,43 e 14,47° Brix. As formulações F1j20, F3j20 tiveram uma queda de 14,4 e 12,0%, respectivamente, enquanto a F8j20 apresentou um acréscimo de 1,9% quando comparadas com os resultados apresentados durante o estudo da cinética de extração.

Para as formulações com sementes de guanandi a maior concentração de SST foi observada nas F7g55, com 16,0° Brix, e na F8g55, com 14,53° Brix, ambas apresentando um aumento de 1,2% e 10,9%, respectivamente, quando comparadas aos resultados apresentados na cinética de extração. Já as formulações com menor quantidade de sementes, F1g25 e F8g25, apresentaram queda nos níveis de SST, com taxas de 11,25% para F1g25 e 0,7% para F8g25, o que nos apresentando aumento proporcional a quantidade de matéria seca em infusão.

Santos Neto et al., (2021) ao avaliar licor produzido com folhas de umbu apresentou resultados com maiores valores de SST com média de 17,11° Brix, já o mesmo autor ao avaliar o licor produzido com a polpa do umbu apresenta resultados semelhantes aos nossos com média de SST de 15,24° Brix. Nossos resultados entre a cinética de extração e das formulações selecionadas, também estão dentro dos valores encontrados por Leonarski et al., (2021) para licores de jabuticaba, amora e guabiroba que apresentaram média de SST em 16,3, 15,8 e 16,3°

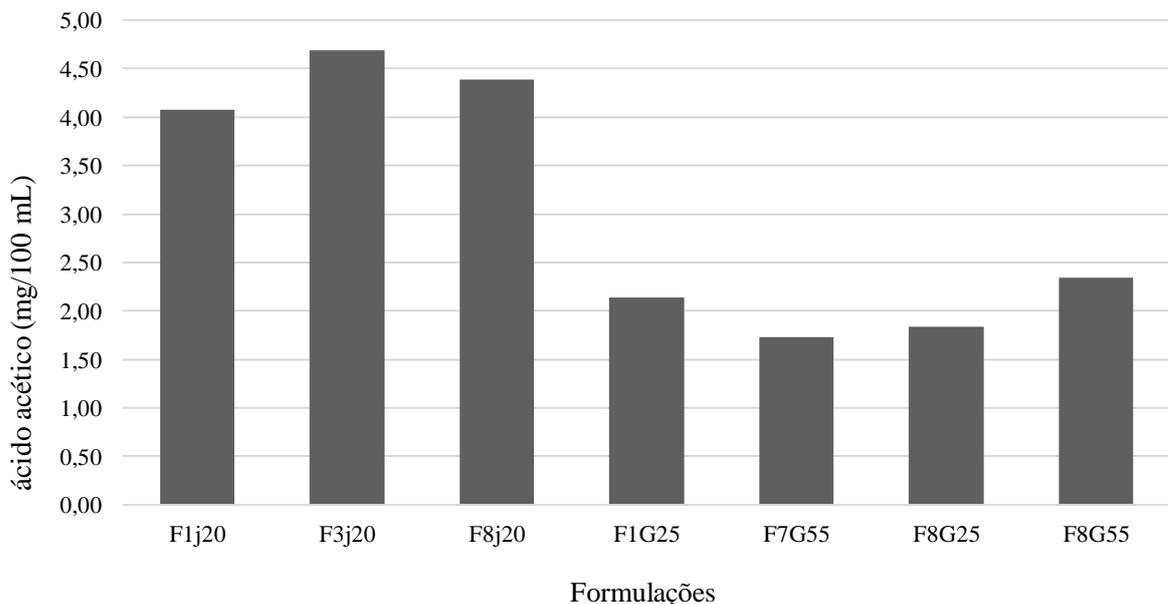
Brix respectivamente, esses licores foram classificados como secos segundo a legislação (BRASIL, 2008b).

Já levando em consideração a diferenças apresentadas entre as formulações diluídas e as que permaneceram em solvente com graduação alcoólica fixa (controle), a variação nos valores de SST apresentaram uma redução de apenas 0,2% da F1j20 e F8j20 para a F3j20, isso para as formulações com folhas de jabuticabeira. O contrário do que aconteceu para as formuladas utilizando sementes de guanandi que apresentaram aumento de 12,7% da F1g25 e de 11,1% da F8g25 quando comparadas a F7g55.

5.5.5 Avaliação Acidez Titulável (mg/100 mL)

A acidez titulável foi determinada em níveis de mg de ácido acético (mg/100 mL) de álcool anidro da amostra, os resultados estão apresentados na Figura 23.

Figura 23. Resultados dos níveis de acidez titulável apresentadas em mg/100 mL das 7 formulações selecionadas



Fonte: Próprio autor.

Avaliando os valores de acidez titulável apresentados na Figura 23 observamos que, assim como na cinética de extração, as formulações com folhas de jabuticabeira apontam valores superiores em relação às formulações com sementes de guanandi. Todos os níveis de acidez caíram consideravelmente quando relacionadas com os resultados obtidos no estudo da cinética de extração, com taxas de declínio referente às formulações com folhas de jabuticabeira

de 70,4%, 65,3% e 65,6% para F1j20, F3j20 e F8j20, respectivamente. Para as formulações com sementes de guanandi os valores apresentaram quedas de 30,7%, 75,2%, 38,0% e 65,7% para F1g25, F7g55, F8g25 e F8g55, respectivamente. Outro ponto que podemos aferir é que as médias de acidez total não se relacionaram proporcionalmente com as quantidades de matéria seca em infusão, diferente dos resultados apresentados na cinética que mostraram uma relação entre esses parâmetros.

Segundo a Instrução Normativa nº 35, de 16 de novembro de 2010, foi estipulado um valor máximo de 150 mg de ácido acético/100 mL (BRASIL, 2008b), justamente por este parâmetro apresentar grande influência nas características sensoriais e de estabilidade das bebidas alcoólicas (GARBIN; BOGUSZ JUNIOR; AURÉLIO MONTANO, 2005). Desta forma nossas formulações se enquadram todas dentro destes parâmetros.

Segundo Casagrande e Santos (2019), que apresentaram valores médios entre 7,927 a 65,088 de acidez total em amostras de cachaça comercializadas na região Oeste de Santa Catarina, os valores ideais para bebidas destiladas devem estar em níveis intermediários, ou seja, não muito baixo, podendo afetar negativamente o sabor da bebida, deixando ela mais “fraca”, assim como não muito alto, o que deixaria a bebida com características de ardência da garganta ao ser consumida. Vilhalva et al., (2013) ao avaliarem aguardente de mandioca produzidas a partir de resíduos de fecularia, apontaram valores próximos dos encontrados em nossas formulações com semente de guanandi, com média de 2,9 ácido acético (mg/100 mL), estando também dentro dos padrões exigidos.

Para bebidas alcoólicas produzidas utilizado o processo de infusão, as mais comumente citadas na literatura são os licores, sendo assim podemos citar os apresentados por Leonarski et al., (2021) que apontou os valores de acidez titulável para licores de jabuticaba, amora e guabiroba com médias de 120, 480 e 80 mg ácido acético/100 mL. Desta forma, entre os três licores avaliados o produzido com amora está fora dos padrões exigidos, sendo que esses valores podem ser corrigidos. Esses altos valores de acidez titulável nos licores, quando comparamos com outras bebidas, está associado ao alto teor de ácidos orgânicos presentes nas frutas, como os já apresentados na literatura, sendo para jabuticaba uma média de 1,35 g de ácido cítrico 100 g⁻¹ (DE LIMA et al., 2008), para amora com média de 1,45 g de ácido cítrico 100 g⁻¹ (SOUZA et al., 2018), e para guabiroba uma média de 0,72 g de ácido cítrico 100 g⁻¹ (PEREIRA et al., 2012).

A diferença da acidez titulável, entre as formulações controle em relação às formulações diluídas gradativamente apresentaram um aumento de 14,6% e 6,8% da F1j20 e

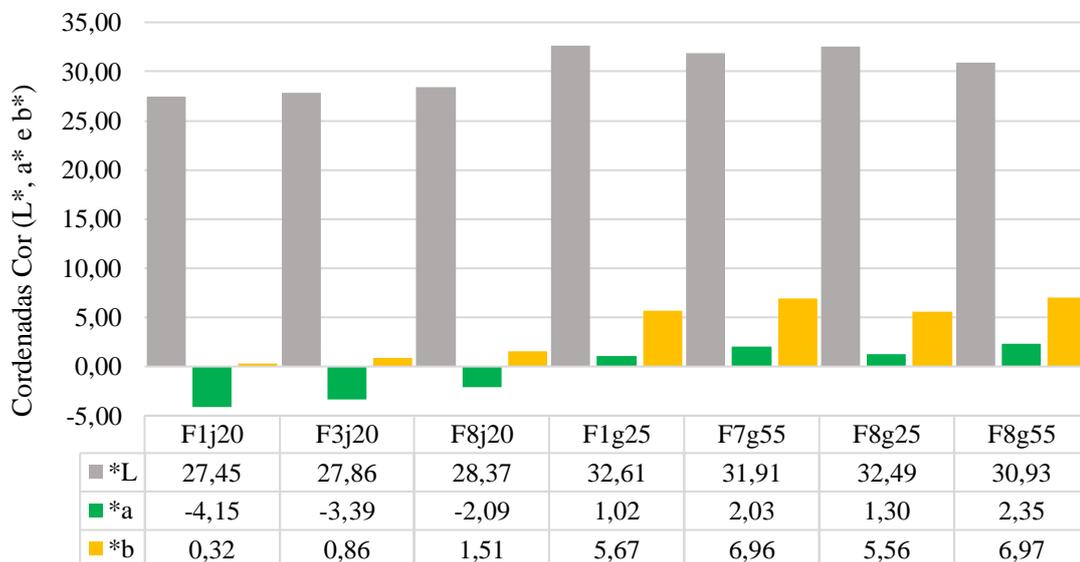
F8j20 respectivamente em relação a F3j20. Já em contrapartida, todas as formulações utilizando sementes de guanandi apresentaram redução na acidez titulável das formulações controle para as diluídas, com queda de 19,2% da F1g25 para a F7g55 e de 26,4% da F8g55 para a F7g55.

5.5.6 Avaliação da cor colorimétrica para as 7 formulações selecionadas

A análise de cor utilizada para as formulações selecionadas foi realizada seguindo metodologia CIELAB, que avalia os níveis de L^* que indica a Luminosidade, a^* que indica a coordenada vermelho/verde (+a indica vermelho e -a indica verde) e b^* que indica a coordenada amarelo/azul (+b indica amarelo e -b indica azul) (FERREIRA, 2021).

Observando os resultados apresentados na Figura 24, podemos evidenciar que as coordenadas variaram positivamente para todas os parâmetros com maior índice apresentada pela Luminosidade (L^*) com máxima de 28,37,61 para a F8j20 e mínima intensidade para F1j20 com 27,45 para as formulações com folhas de jabuticabeira. Já para as formulações produzidas com sementes de guanandi, a maior intensidade foi apresentada pela F1g25 com 32,61 e com menor intensidade pela F8g55 com 30,93.

Figura 24. Avaliação da cor das 7 amostras selecionadas para as medidas de L^* , a^* e b^*



Fonte: Próprio autor.

Quando observamos os parâmetros a^* podemos notar nas formulações utilizando folhas de jabuticabeira (F1j20, F3j20 e F8j20) uma escala negativa, indicando tendência a coloração verde. Essa convergência para tons de verde está associada principalmente a extração da clorofila presente nas folhas para bebida (DOTTO, 2015), o que acarreta também na

diminuição da luminosidade onde as formulações com folhas apresentaram os menores valores de escala (L^*).

Para as formulações com sementes de guanandi (F1g25, F7g55, F8g25 e F8g55), a escala de a^* apresentou tendências positivas sem diferença significativa entre elas, o que apresenta uma indicação de cor vermelha. No entanto, os valores estão abaixo das escalas de b^* , indicando uma tendência de cor amarelo, com a maior escala para F7g55 e F8g55. Segundo Silva; Santos (2010) a predominância da escala da cor amarela refere-se a presença de flavonas e xantonas, no entanto como as formulações com sementes também apresentam uma tendência de a^* positivo que refere-se a cor vermelha, isso ligando-se a cor amarela indica um potencial de cor alaranjada evidenciando uma potencial presença de flavonóis.

A escala de a^* apontando para tendências positiva que expressam a cor verde estão associadas a extração da clorofila muito presente nas folhas, produto hoje já utilizado na indústria farmacêutica, alimentícia e de cosméticos como potencial corante natural conhecida como clorofilina cúprica, e já evidenciados na literatura por suas possíveis propriedades antimutagênicas e anti genotóxicas (OBÓN; RIVERA, 2006). No entanto esse composto apresenta uma instabilidade quanto a incidência de luz, aquecimento e em contato com oxigênio causando modificações que podem alterar negativamente a qualidade do produto, por isso nos EUA, a clorofila não é utilizada como corante natural, podendo ser apenas utilizada como extrato vegetal (VOLP; RENHE; STRINGUETA, 2009). A Figura 25 apresenta o resultado das bebidas selecionadas formuladas com folhas de jabuticabeira (F1j20, F3j20 e F8j20 da esquerda para direita).

Na figura 25, todas as formulações selecionadas produzidas com folhas de jabuticabeira possuíam a mesma quantidade matéria seca em relação a quantidade de solvente (todas com 20g/500 mL). Porém, ocorre uma maior concentração de cor indo na formulação F1j20, seguida da F3j20, e depois a F8j20, ou seja, uma maior extração de clorofila nas formulações controle que permaneceram em álcool a 50 °GL. Isso está de acordo com o que apresenta Delgado-Vargas; Jiménez; Paredes-López (2000) que atribuem às clorofilas um caráter hidrofóbico, por serem porfirinas e ainda possuem um quinto anel isocíclico (ciclopentanona) com uma cadeia abrangente de fitil ($C_{20}H_{39}$), esterificada no ácido propiônico.

Figura 25. Resultado final da cor das formulações utilizando folhas de jabuticabeira (F1j20, F3j20 e F8j20)



Fonte: Próprio autor.

Para as formulações utilizando as sementes de guanandi, e a cor correspondendo às coordenadas de b^* serem positivas e mais expressivas que as coordenadas de a^* , as cores sobressalentes foram expressas pela cor amarela. Nesse caso, as formulações apresentaram relação ao aumento da concentração da cor amarela ligada à quantidade de matéria seca em infusão. A Figura 26 apresenta o resultado final utilizando as 3 concentrações de sementes de guanandi para cada 500 mL de solvente, onde podemos notar maior intensidade na cor para 25g, seguida de 40g e finalmente 55g.

Esse aumento na concentração das coordenadas de b^* positivamente, também afeta a luminosidade (L^*), assim como está exposto na Figura 26. Essa coloração amarelo alaranjada está relacionada com os flavonóis e antocianinas que podem estar presentes nas bebidas produzidas com sementes de guanandi, esse compostos são pigmentos naturais que pertencem a classe dos flavonoides, os quais apresentam capacidade antioxidante, são considerados metabólitos secundários e exibem uma coloração que vai de branco a amarelo claro para os flavonóis e de vermelho vivo à violeta para as antocianinas (LIMA et al., 2000).

Existem inúmeros estudos relacionando a quantidade de flavonoides e a estabilidade de vinhos, por exemplo, como mencionado por Sheridan; Elias (2016) que avaliaram a reação entre flavonoides e acetaldeído em vinhos e apontaram o aumento da estabilidade na cor. Além disso, outros estudos apontam que o consumo moderado do vinho

pode trazer benefícios à saúde humana pela concentração desses fitonutrientes fenólicos com potenciais capacidades antivirais e antibacterianas (FRIEDMAN, 2014). Horincar et al., (2020) avaliou as reações da capacidade antioxidante em cervejas *Lager* adicionadas de extrato de casca de berinjela (*Solanum melongena* L.) e apontou aumento expressivo na capacidade antioxidante, sem perda nas características físico-químicas, indicando o extrato como ingrediente promissor na produção de cervejas.

Figura 26. Resultado Final da coloração das formulações com semente de guanandi para as 3 concentrações de matéria seca/solvente (25, 40 e 55g)



Fonte: Próprio autor.

Também se tratando de bebidas destiladas, a concentração de compostos fenólicos, como os possíveis flavonoides responsáveis pela coloração das formulações com sementes de guanandi, podem evidenciar a estabilidade da cor que caracterizam bebidas envelhecidas, como cita Cardoso et al., (2008) que apontaram que teor total de fenólicos, flavonoides e taninos estão diretamente ligados às características de cor e sabor presente em aguardentes brasileiras, assim como, a relação da estabilidade desses atributos.

Sobre as diferenças entre as formulações controle e as formulações diluídas as coordenadas de mudança de cor apresentaram um aumento nos níveis de L^* de 1,5% da F1j20 para a F3j20, e desta para F8j20 uma subida de 3,35%, diferente dos valores de a^* que apresentaram queda de 18,3% da F1j20 para a F3j20, e redução de 38,3% da F3j20 para a F8j20, em contra partida, o valores de b^* com aumento de 168% da F1j20 para a F3j20, e de 75,0% da F3j20 para a F8j20, resultados para as bebidas formuladas utilizando folhas de jaboticabeira.

Para as bebidas utilizando sementes de guanandi estas variações foram menores, quando comparamos as formulações com mesma quantidade de matéria seca, com uma baixa nas coordenadas de L^* de 3,1% da formulação diluída (F7g55) para a formulação controle (F8g55), já para os valores de a^* houve um acréscimo de 15,7% da F7g55 para a F8g55.

5.6 Teor de compostos fenólicos totais e avaliação da capacidade antioxidante

O estudo sobre os teores de compostos fenólicos presente em bebidas alcoólicas fazem-se tão importantes quanto em qualquer outro alimento, tendo em vista o domínio do uso de matérias primas de origem vegetal na produção, as quais apresentam quase que toda totalidade desses compostos, além disso, os compostos fenólicos vêm notoriamente ganhando espaço nas diversas esferas da pesquisa científica por apresentar elevado potencial antioxidante (SILVA et al., 2010).

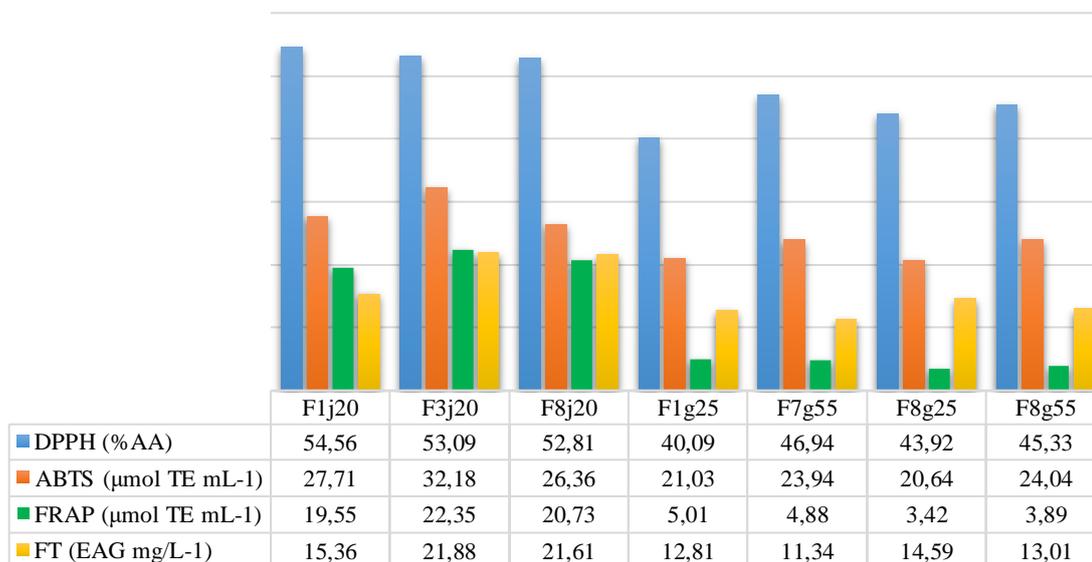
Outro ponto é a origem desses compostos quando empregados em alimentos e bebidas, sendo que existem duas classes básicas de antioxidantes, os naturais que se apresentam como compostos fenólicos, compostos nitrogenados ou carotenoides, bem como o ácido ascórbico. Já os antioxidantes sintéticos são basicamente produzidos utilizando estruturas fenólicas de vários graus de substituição alquil, sendo os mais utilizados na indústria o hidroxianisol butilado (BHA) e o hidroxitolueno butilado (BHT), no entanto, a substituição do uso desses antioxidantes sintéticos por naturais vem ganhando cada vez mais atenção por apresentarem potencial prejuízos à saúde humana (VIANA; ARENARI, 2019). Por isso a importância da leitura dessas concentrações em nossas bebidas, e suas relações com a capacidade antioxidante.

Na Figura 27, estão destacadas a variação da média e os resultados referentes à capacidade antioxidante DPPH (%CA), ABTS ($\mu\text{mol TE mL}^{-1}$), FRAP ($\mu\text{mol TE mL}^{-1}$) e o TFT (Teor de Fenólicos Totais em EAG mg/L^{-1}) para as 7 formulações selecionadas.

Analisando o gráfico exposto na Figura 27, podemos observar grande diferença entre as médias apresentadas pelo método de sequestro do radical DPPH e as demais metodologias, com maior porcentagem de capacidade antioxidante (CA) para a formulação F1j20 com uma média de 54,56%, e menor para a F1g25 com 40,09% de CA. Entre as formulações com folha de jabuticabeira, as quais apresentam a mesma quantidade de matéria seca, as taxas de AA apresentaram uma leve perda, indo de 54,56% para 53,09% e 52,81% entre F1j20, F3j20 e F8j20 respectivamente. Para as formulações com sementes de guanandi, tendo em vista que elas oferecem duas proporções de matéria seca em infusão (25 e 55g), podemos

notar que utilizando o método de sequestro do radical DPPH, as formulações apresentaram uma relação proporcional entre as quantidades de sementes e a %CA.

Figura 27. Valores das médias para DPPH, ABTS e FRAP como medidor da capacidade antioxidante e Teor de Fenólicos Totais das 7 formulações selecionadas



Fonte: Próprio autor.

Sobre a capacidade antioxidante pela eliminação do radical 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolína-6-sulfônico (ABTS), ao analisarmos a Figura 27 podemos destacar a F3j20 com a maior capacidade, e a F8g25 com a menor capacidade de AA, expressas em µmol TE de Trolox. Entre as formulações com folhas de jabuticabeira as amostras apresentaram diferença significativa apenas para a F3j20 em relação a F1j20 e F8j20, com declínio de 13,9% e 18,1%, respectivamente. Já para as formulações utilizando sementes de guanandi os valores apresentaram um aumento proporcional à matéria seca em infusão, com acréscimo de 13,8% e 16% das F1g25 e F8g25, respectivamente, para a F7g55, e percentuais de 14,3 e 16,5% das F1g25 e F8g25, respectivamente, para a F8g55.

Analisando os resultados referente ao método de Poder Redutor Férrico (FRAP) a Figura 27 nos mostra primeiramente que dentre todas as metodologias utilizadas, essa apresentou os menores valores de CA. As formulações com folhas de jabuticabeira apresentaram uma variação significativa para a F3j20 assim como no método de ABTS, apresentando a maior capacidade de CA. Para as formulações com sementes de guanandi as amostras apresentaram uma redução gradual a partir da F7g55, F8g25 e F8g55 quando

comparadas aos valores apresentados pela F1g25, apresentando uma relação proporcional à presença de água no solvente.

A quantificação dos compostos fenólicos totais faz-se necessário pela utilização de material vegetal rico nesses componentes, os quais apresentam hidroxilas e anéis aromáticos conferindo-lhes uma capacidade antioxidante, desta forma podendo relacionar os valores obtidos com as metodologias de medição dessa AA (ANGELO; JORGE, 2007). Comumente os métodos utilizados para essa quantificação de composição fenólica total em alimentos ou material biológica são através da reação desses compostos com um agente colorimétrico, exibindo mudança de coloração com relação aos níveis de compostos, desta forma podendo ser quantificadas pela na fração visível do espectro (MAGALHÃES et al., 2006).

Avaliando o gráfico na Figura 27 podemos observar uma maior concentração de compostos fenólicos totais nas formulações utilizando folhas de jabuticabeira em comparação com as que foram produzidas com sementes de guanandi, e o aumento com uma relação proporcional ao acréscimo de água na composição do solvente.

5.6.1 Percentual antioxidante pelo método de capacidade sequestrante do radical DPPH

Na Tabela 10 estão expressos os resultados com as médias de absorvância do espectro a 517 nm, junto das porcentagens da capacidade antioxidante das 7 formulações analisadas e um ranking entre as formulações.

Tabela 10. Porcentagem da capacidade antioxidante (CA) DPPH para 7 Formulações.

Formulações	Média de Abs 517 nm	CA (%)	Ranking
F1j20	0,034	54,56 ± 0,002 ^a	1°
F3j20	0,038	53,09 ± 0,003 ^a	2°
F8j20	0,040	52,81 ± 0,001 ^a	3°
F1g25	0,070	15,04 ± 0,001 ^c	7°
F7g55	0,050	46,94 ± 0,002 ^b	4°
F8g25	0,048	43,92 ± 0,003 ^b	6°
F8g55	0,056	45,33 ± 0,002 ^b	5°

*Os resultados estão apresentados como média (n = 3) ± desvio padrão

O resultado na Tabela 10 nos mostra superioridade da % de AA das formulações com folhas de jabuticabeira colocando-se de forma seguida em 1°, 2° e 3° as F1j20, F3j20 e

F8j20 respectivamente, essa diferença positiva das folhas em relação às sementes pode estar associada alta presença de compostos fenólicos, como evidenciado na Figura 28. Esses resultados estão de acordo com valores encontrados por Alvarenga (2018) que avaliou a EC_{50} dos extratos etanólico de folhas de jabuticabeira utilizando o método de DPPH, e apontou resultados de 0,014 em $EC_{50}/mg\ mL^{-1}$, indicando um índice de capacidade antioxidante muito forte (MF).

Para as amostras com sementes de guanandi a formulação F1g25 se destacou com a menor % AA entre todas as demais formulações (F7g55, F8g25 e F8g55), tendo que estas não apresentaram diferença significativa entre si. Não foram encontrados na literatura estudos relacionados diretamente a capacidade antioxidante de sementes de guanandi (*Calophyllum brasiliense*), porém, existem várias pesquisas sobre a composição química dos extratos e óleos essenciais com essas sementes, onde segundo Bernabé-Antonio et al., (BERNABÉ-ANTONIO et al., 2015) que avaliaram o perfil dos ácidos graxos do óleo de sementes de guanandi de dois sítios de cultivo (San Andres Tuxtla e Pajapan/México), os resultados apresentaram um conteúdo de ácido palmítico entre 31,32–39,18% e ácido esteárico entre 19,52–21,18% respectivamente, os quais estão associados a capacidade anti-inflamatórias e antioxidantes (RESTREPO; ARIAS; MADRIÑÁN, 2018). Outros estudos envolvendo a *Calophyllum brasiliense* como o apresentado por Gonçalves et al., (2013) que avaliaram a capacidade antioxidante de extratos foliares utilizando o método de DPPH, apresentaram valores maiores que os encontrados neste trabalho com 50,12% de AA. Ainda, estudos envolvendo a casca do guanandi e extratos da madeira indicam uma rica composição de compostos bioativos como cumarinas, xantonas, esteroides, triterpenos e flavonoides (ALI et al., 1999; MCKEE et al., 1998; REYES-CHILPA; JIMENEZ-ESTRADA; ESTRADA-MUÑIZ, 1997).

Também se tratando de bebidas alcoólicas, existe uma vasta variedade de possíveis transferências de compostos fenólicos que apresentam capacidade antioxidante. Isso ocorre não só por utilização de matéria-prima de origem vegetal na etapa de formulação em si, mas também nos processos de armazenamento e envelhecimento, onde ocorrem diversas reações químicas entre a bebida, e normalmente o barril de estocagem (PARAZZI et al., 2008).

Bons exemplos são os resultados encontrados por Li; Beta (2011) que avaliaram a capacidade antioxidante do licor de anthograin ou trigo roxo utilizando o método de DPPH, e apontaram níveis com 66,08% AA, já Que; Mao; Pan (2006) apontaram médias que variaram entre 39,24 -77,57% AA para cinco vinhos de arroz chineses.

Avelar Rodrigues et al., (2014) analisaram a capacidade oxidante utilizando o método de DPPH em cachaças envelhecidas em barris de bálsamo que apresentou o maior percentual de AA, com 66.75% em barris de jequitibá, 57.41%, de ork, 51.308%, e amburana com 49.621%. Comumente licores também são produzidos utilizando partes descartadas de frutos, como cascas, folhas e sementes, como os produzidos e analisados por Coelho et al., (2019), que avaliaram a capacidade antioxidante de licor de casca de manga de duas variedades (*Haden e Tommy Atkins*) utilizando método de DPPH, e apresentaram atividade de 563 e 447 expressos em $\mu\text{mol TEAC } 100 \text{ mL}^{-1}$, respectivamente. Esses resultados apontam ótima capacidade antioxidante quando comparado, por exemplo, com vinhos que são considerados bebidas ricas em composição fenólica, e apresentaram valores entre 317 a 767 $\mu\text{mol TEAC } 100 \text{ mL}^{-1}$ (DPPH) (VAN LEEUW et al., 2014).

5.6.2 Resultados da capacidade antioxidante utilizando método de sequestrador do radical ABTS

Inicialmente foi determinada a curva padrão de Trolox Figura 28. A partir desta curva obtivemos a Equação de reta (5).

$$y = -0,0003x + 0,6874 \text{ com } R^2 = 0,9993 \quad (5)$$

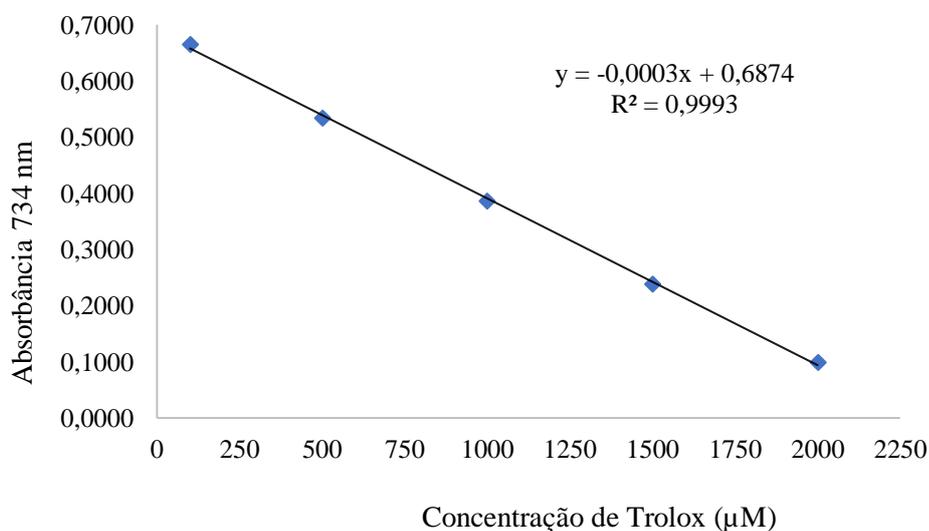
Equação de reta ($y = mx+b$)

Onde:

m = inclinação da reta;

b = interseção em y.

Figura 28. Curva padrão do Trolox para método de ABTS



Fonte: Próprio autor.

A partir da equação obtida pela curva padrão do Trolox, foram calculados os valores da capacidade antioxidante, onde empregando os valores obtidos pela absorbância (y) das amostras em atividade com o ABTS pode-se determinar a concentração (x), os resultados foram expressos em $\mu\text{mol TE mL}^{-1}$ de amostra (Tabela 11).

Tabela 11. Resultado do potencial antioxidante utilizando o método ABTS para as 7 formulações das bebidas com folha de jabuticabeira e sementes de guanandi

Formulações	Média de Abs 734 nm	Capacidade antioxidante ($\mu\text{mol TE mL}^{-1}$)	Ranking
F1j20	0,525	$27,71 \pm 0,58^b$	2°
F3j20	0,452	$32,18 \pm 0,41^a$	1°
F8j20	0,553	$26,36 \pm 1,09^b$	3°
F1g25	0,692	$21,03 \pm 0,17^c$	6°
F7g55	0,608	$23,94 \pm 0,14^c$	5°
F8g25	0,705	$20,64 \pm 0,24^c$	7°
F8g55	0,605	$24,04 \pm 0,26^{bc}$	4°

*Os resultados estão apresentados como média (n = 3) \pm desvio padrão

Os resultados apresentados na Tabela 11, também destacam as formulações com folhas de jabuticabeira como as de maior capacidade antioxidante, diferenciando apenas a posição invertida entre a F1j20 e F3j20, e a Fj820 continuando na mesma colocação. Estudos relacionados a avaliação da capacidade antioxidante utilizando o método de eliminação do radical 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolína-6-sulfônico (ABTS) em folhas de jabuticabeira já foram apresentadas anteriormente na literatura, como exemplo o estudo realizado por Fabiane (2019), que avaliou a capacidade antioxidante dos extratos de folhas de 11 espécies nativas da família *Myrtaceae*, onde está inserida a variedade do nosso estudo (*P. cauliflora* - Jabuticaba híbrida), a qual apresentou uma média capacidade antioxidante pelo método de ABTS de 931,79 em $\mu\text{mol TEAC g}^{-1}$, valor muito acima dos apresentados nesse estudo. No entanto, nossas amostras se referem a uma bebida alcoólica onde a folha apenas desidratada foram colocadas em infusão para extração de seus componentes químicos, diferente dos extratos concentrados das amostras antes citadas.

Já quando comparamos os resultados apresentados neste estudo com valores da capacidade antioxidante evidenciados em bebidas alcoólicas presentes na literatura, os resultados se apresentam mais condizentes, como por exemplo os citados por Andreou et al., (2018) que avaliaram a capacidade antioxidante de destilados de ervas utilizando o método de ABTS, onde utilizaram 13 amostras de diferentes ervas, com valores que variaram de 1,082 a

18,628 $\mu\text{mol TE mL}^{-1}$, valores menores dos que os reportados pelas nossas amostras, uma vez que não passam pelo processo de infusão após a destilação.

Se tratando dos resultados de ABTS para as formulações com as sementes de guanandi (*C. brasiliensis*), podemos observar na Tabela 11 uma menor diferença entre elas, e como nos resultados de DPPH, valores menores que aqueles obtidos utilizando as folhas de jabuticabeira, ficando entre a 4^o, 5^o, 6^o e 7^o posição no ranking sobre a capacidade antioxidante entre as 7 formulações avaliadas. Outro ponto que podemos considerar, é o acréscimo do potencial de AA relacionado à quantidade de matéria seca em infusão com os maiores valores para F7g55 e F8g55 com 23,94 e 24,04 $\mu\text{mol TE mL}^{-1}$, respectivamente.

Como expostos anteriormente, não foram encontrados na literatura referências diretamente ligadas à avaliação do potencial antioxidante das sementes de guanandi, por outro lado, a literatura aponta estudos utilizando outras sementes de espécies, como os resultados citados por Oliveira de Veras et al., (2020) que avaliaram o jatobá (*Hymenaea cangaceira*) e aferiram valores de 113,27 de potencial AA.

Também, frutas tropicais apresentam uma rica diversidade de composição fenólica associadas ao potencial antioxidante, sendo suas sementes na maioria das vezes colocadas como resíduos do cultivo e processamento, no entanto, apresentam um conteúdo de compostos antioxidantes relevante quando extraídos de maneira correta (DINESH; BOGHRA; SHARMA, 2000; JAYAPRAKASHA; SINGH; SAKARIAH, 2001).

Estudo realizado por Soong; Barlow (2004) apontou valores para as sementes de Abacate (*Persea Americana* Mill.) de 13.1 $\mu\text{mol TE mL}^{-1}$; jaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) de 11,0 $\mu\text{mol TE mL}^{-1}$; longan (*Dimocarpus longan* Lour.) de 14.8 $\mu\text{mol TE mL}^{-1}$; manga (*Mangifera indica* L.) de 27,1 $\mu\text{mol TE mL}^{-1}$ e se destacando tamarindo (*Tamarindus indica* L.) com 30.0 $\mu\text{mol TE mL}^{-1}$. Todos esses valores são para as sementes apenas liofilizadas, sem concentração e extração, por isso esses resultados se aproximam mais dos resultados apresentados neste trabalho.

5.6.3 Resultados para a capacidade antioxidante utilizando método de FRAP

Para os resultados do potencial antioxidante utilizando o método de FRAP, primeiramente foi traçada a curva padrão de Trolox (Figura 29), onde a partir desta obteve-se curva de calibração descrita pela equação (6).

$$y = 391,62x - 22,412 \text{ com } R^2 = 0,9993 \quad (6)$$

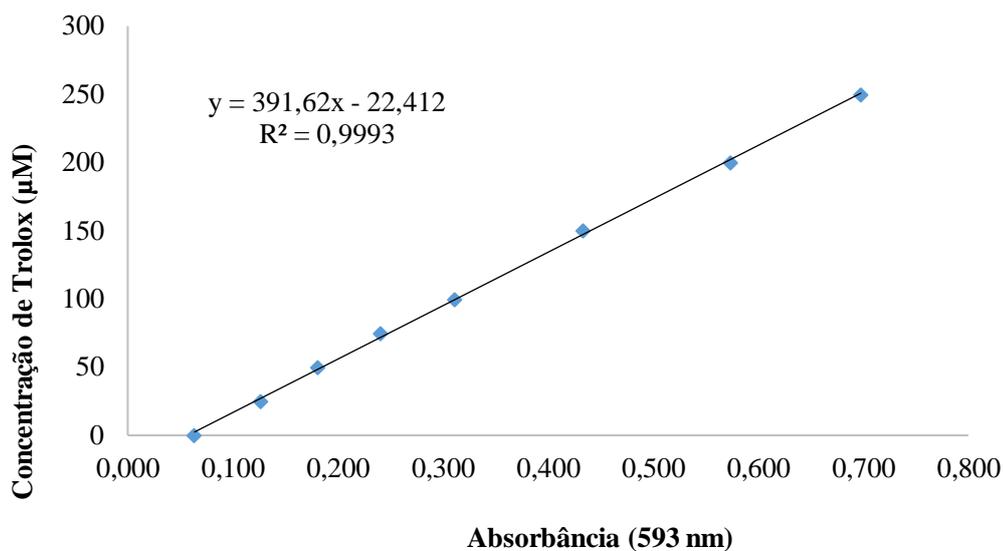
Equação de reta ($y = mx+b$)

Onde:

m = inclinação da reta;

b = interseção em y

Figura 29. Curva padrão do Trolox para método de FRAP



Fonte: Próprio autor.

Utilizando a equação da reta obtida pela curva padrão de Trolox obtivemos os resultados para capacidade antioxidante mensurada pelo método FRAP para as 7 amostras de bebidas alcoólicas (Tabela 12).

Tabela 12. Resultados da absorbância e capacidade antioxidante pelo método de FRAP para as 7 formulações de bebidas.

Formulações	Média Abs (593 nm)	Capacidade antioxidante FRAP ($\mu\text{mol TE mL}^{-1}$)	Ranking
F1j20	0,5565	$19,55 \pm 2,05^a$	3°
F3j20	0,6280	$22,35 \pm 2,27^a$	1°
F8j20	0,5867	$20,73 \pm 1,76^a$	2°
F1g25	0,1852	$5,01 \pm 0,39^b$	4°
F7g55	0,1819	$4,88 \pm 0,33^b$	5°
F8g25	0,1445	$3,42 \pm 0,19^c$	7°
F8g55	0,1565	$3,89 \pm 0,38^{bc}$	6°

*Os resultados estão apresentados como média ($n = 4$) \pm desvio padrão.

De maneira semelhante aos métodos DPPH e ABTS, a avaliação da capacidade antioxidante pelo método de poder redutor férrico (FRAP) analisa a capacidade da amostra, de doar elétrons para determinada substância, agindo desta forma como um agente redutor. No caso do FRAP, essa redução se baseia em reduzir o ferro férrico (Fe^{3+}) a ferro ferroso (Fe^{2+}), os quais podem promover a formação de radicais livres atuando como catalisador de reações de peroxidação lipídica (GRZESIK et al., 2018).

Os resultados apresentados utilizando FRAP também apresentaram, assim como os valores de DPPH e ABTS, maiores concentrações para as formulações com folhas de jabuticabeira, as quais se posicionaram no ranking como 1º, 2º e 3º as formulações F3j20, F8j20 e F1j20, respectivamente, sendo que a F3j20 apresentou diferença significativa em relação à 2º e 3º, o que pode estar relacionado ao fato de utilizarem as mesmas quantidades de matéria seca.

Tedesco et al., (TEDESCO et al., 2020) avaliaram capacidade antioxidante do óleo essencial das folhas de jabuticabeira (*P. cauliflora*) em três fases, vegetativo, folhear e frutífero, e apontaram média de 0,140, 0,117 e 0,026 em μmol ferrous sulfate mg^{-1} , cujos valores estão muito abaixo dos encontrados neste trabalho. Já Mrvčić et al., (2012), ao avaliarem a capacidade antioxidante utilizando o método de FRAP de uma bebida espirituosa com infusão utilizando noz (*Juglans regia* L.) e ginja (*Prunus cerasus*) obtiveram valores de FRAP com 9,5 μmol TE mL^{-1} , valores que já se encontram mais enquadrados nos resultados expostos neste trabalho.

Para as formulações com sementes de guanandi (*C. brasiliensis*) os resultados apresentados na Tabela 12 apontam destaque para a F1g25 a qual apresentou diferença significativa entre as demais formulações com sementes, com a maior capacidade de AA (5,01 μmol TE mL^{-1}) diferenciando-se dos resultados apresentados pelos métodos DPPH e ABTS e ficando em 4º no ranking geral. As formulações F7g55, F8g55 e F8g25 ficaram em 5º, 6º e 7º, respectivamente. Outros estudos corroboram com essa diferença de capacidade antioxidante entre folhas e sementes, como exemplo, um estudo realizado por Barreca et al., (2011) aponta valores de 0,83 e 0,59 μmol TE mL^{-1} para folhas e sementes de chinotto verde e maduro (*Citrus myrtifolia* Raf.) utilizando o método de FRAP.

Bebidas alcoólicas destiladas como as cachaças e aguardentes apresentam um ganho da composição fenólica e conseqüentemente da capacidade antioxidante, principalmente durante o processo de envelhecimento, como cita Oliveira, (2021). Este autor avaliou a capacidade antioxidante de cachaças envelhecidas em diferentes barris utilizando o método de FRAP, e apontou níveis médios de 2,6 μmol TE mL^{-1} para balsamo; 2,9 μmol TE mL^{-1} para

os barris de jatobá das quais que mais se destacou; $1,5 \mu\text{mol TE mL}^{-1}$ para timborana; $1,4 \mu\text{mol TE mL}^{-1}$ para jequitibá, e por fim, com a menor média, os barris de umburana com $0,88 \mu\text{mol TE mL}^{-1}$. Todas as amostras apresentaram ganho de AA em relação ao tempo de envelhecimento.

Quando comparamos esses valores com os resultados encontrados em bebidas que posteriormente passam por processo de infusão, como os licores e o caso desse estudo, notamos um acúmulo bem maior de capacidade antioxidante em infusões, como os resultados apresentados por Petrović et al., (2021) que avaliaram licor a base de nozes verdes com adição de chocolate, mel, frutas e plantas aromáticas, onde através do método de FRAP apontaram uma média de $12,98 \text{ mM TE mL}^{-1}$. Gironés-Vilaplana et al., (GIRONÉS-VILAPLANA et al., 2015) descreveram ao avaliar licor a base de anis adicionado de maqui berry (*Aristotelia chilensis*) valores de $13,99 \text{ mM TE mL}^{-1}$. Os valores mais altos nessas bebidas que passam pelo processo de infusão estão associadas à grande presença de ácidos como gálico e elágico, presentes em frutas e matérias primas vegetais como folhas, sementes e cascas de frutas, que em contato direto com o solvente são incorporando à bebida, sendo esses compostos associados alta capacidade antioxidante (BAJPAI et al., 2005; BURNS et al., 2000).

A quantificação da composição fenólica em bebidas alcoólicas, assim como a determinação da capacidade antioxidante vem cada dia mais sendo explorada, visando principalmente elucidar os benefícios que esses compostos e reações associadas trazem para a qualidade e estabilidade da bebida (GUIDO et al., 2007), como podemos evidenciar em um estudo realizado por Yang et al., (2021), que avaliaram a capacidade antioxidante de bebidas fermentadas de morango com baixo teor alcoólico e compararam com o perfil sensorial. Os resultados demonstraram que as bebidas com maiores valores de capacidade antioxidante também apresentaram maiores quantidades de antocianinas o que levaram a um maior ganho de cor.

Li; Beta (2011) estudaram a capacidade antioxidante em licor de anthograin ou trigo roxo e compararam sua qualidade e estabilidade de aroma com três bebidas existentes no mercado, a vodka iceberg canadense, o Hiram, uísque de centeio, e o uísque canadense. Os resultados mostraram diferença significativa do licor de anthograin para a Hiram uísque e uísque canadense, indicando no licor a maior quantidade de oito tipos de ácidos fenólicos associados ao poder antioxidante, e apontaram uma grande semelhança entre o aroma do licor de anthograin e da vodka iceberg, demonstrando que a utilização de anthograin na produção de bebidas pode trazer benefícios sensoriais de aroma que já estão consolidados no mercado.

Outras bebidas alcoólicas como cervejas também destacam essa relação entre qualidade sensorial e capacidade antioxidante, estudo realizado por Wannemacher et al., (WANNENMACHER et al., 2019) que modificaram o processo de produção de cerveja com três variações, uma delas diferenciando o tempo de adição de lúpulo durante a fervura, a qual obteve dados que mostraram que as cerveja com adição de lúpulo mais tardio apresentaram uma concentração de fenólicos totais maior que as demais, conseqüentemente uma capacidade antioxidante mais elevada. Estes autores destacam que as cervejas foram armazenadas em condições naturais e posteriormente avaliadas quanto ao seu perfil sensorial, que apontou uma redução da iso α -amarga-ácidos que indica o envelhecimento por oxidação, e uma maior pontuação no painel sensorial para as cervejas lupuladas tardiamente, sendo aquela com maior capacidade antioxidante.

Essa composição fenólica em bebidas alcoólicas, assim como, a capacidade antioxidante já é largamente elucidada na literatura como fonte de benefícios a saúde dos consumidores, estando relacionado a ingestão de compostos bioativos, quando consumidos de maneira equilibrada e consciente (SÁNCHEZ-MORENO; JIMÉNEZ-ESCRIG; SAURACALIXTO, 2000). Como outros estudos podem evidenciar que mesmo o álcool se apresentando como um possível agente tóxico para o fígado e pâncreas, o consumo moderado de bebidas alcoólicas como licores, vinhos, uísques e cervejas pode trazer uma composição rica em compostos fenólicos antioxidantes que estão diretamente associados à redução do desenvolvimento de doenças cardiovasculares (DIPLOCK, 1994; GRONBAEK et al., 1995).

Um estudo muito interessante realizado por Pulido; Hernández-García; Sauracalixto (2003), avaliou a relação do consumo de algumas bebidas e a quantidade de ingestão de antioxidantes lipofílicos e hidrofílicos na dieta espanhola. Foram utilizados os métodos de FRAP e ABTS que atribuiu a ingestão de antioxidantes para café de 66 e 61% pelo FRAP e ABTS, respectivamente), o qual se destacou em primeiro lugar, em segundo o vinho tinto com 16 e 22%, seguido de sucos de frutas com 6 e 5%, cerveja 4 e 5%, chá 3 e 5% e leite 4 e 1%.

A literatura demonstra o potencial antioxidante de inúmeros compostos fenólicos, assim como as inúmeras fontes vegetais que se utilizam na indústria de alimentos e bebidas, e relacionam, evidentemente, sua relação com a estabilidade e conservação da qualidade organolépticas de alimentos e bebidas. Além disso, há uma contribuição na ingestão de compostos bioativos relacionados a inúmeros atributos fitoterápicos, valendo ressaltar, no que diz respeito ao consumo de bebidas alcoólicas, as quantidades devem estar dentro das exigências de segurança nutricional de cada indivíduo.

6 CONCLUSÃO

Com resultados apresentados pela cinética de extração, e sobre as características físico-químicas, concluímos que a quantidade de matéria seca em infusão afeta diretamente, onde a diluição gradativa interfere nas variações e queda nos níveis de pH e aumento da acidez titulável, e com alterações mínimas para densidade, extrato seco e SST.

A intensidade de cor para as formulações com folhas de jabuticabeira apresentou um aumento expressivo até o 3º dia de infusão, se destacando as que ficaram em infusão a 38 °GL com 35,46% de aumento na intensidade da cor verde. Já as formulações com sementes de guanandi os valores aumentaram ao longo dos 27 dias de infusão.

Sobre a avaliação preliminar realizada pelo licorista Renato Boaretto em relação a qualidade, intensidade de cor, e formação do buquê aromático, 7 formulações foram classificadas. Essas 7 formulações foram novamente produzidas, e ao final da infusão apresentaram diferenças quando comparadas as análises realizadas durante a cinética de extração em relação às características físico-químicas.

Os resultados de toxicidade utilizando bioensaio *Brine Shrimp Test*, indicaram que todas as formulações estão dentro dos parâmetros de limite encontrados na literatura, com taxas de sobrevivência acima de 50%.

Os resultados do potencial antioxidante determinaram que as formulações utilizando folhas de jabuticabeira apresentaram maior capacidade antioxidante em relação àquelas com sementes de guanandi, em todos os ensaios utilizados (DPPH, ABTS e FRAP). Sobre a diluição gradativa afetarem os valores da CA, os resultados apontaram relação positiva quando comparados aos níveis de fenólicos totais. Isso destaca que a utilização da redução na graduação alcoólica de forma gradual promove uma maior extração de compostos fenólicos.

Tendo em vista que todos os resultados apresentaram concordância com a legislação, por apresentar características antioxidantes e de conteúdo fenólico promissor e atrativo, e além de se tratar da utilização de material considerado de descarte na indústria e no manejo florestal, o presente trabalho mostra oportunidades socioeconômicas para utilização destas matérias primas na produção industrial de bebidas formuladas.

7 SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS

Tendo em vista que essa pesquisa envolve o desenvolvimento de novas bebidas alcoólicas, com potencial produção industrial, ressaltamos a importância da continuidade da pesquisa através de outros trabalhos:

- I. Avaliação do rendimento das matérias secas em comparação com outros tipos de solventes já destinados ao consumo (cachaça, por exemplo);
- II. Quantificação e identificação da composição fenólica e compostos voláteis utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e/ou cromatografia gasosa - espectrometria de massas (CG-EM).
- III. Avaliação da capacidade antioxidante utilizando ensaio de capacidade de absorção de radicais de oxigênio (ORAC – fluoresceína), uma vez que esse método apresenta maior proximidade as reações de oxirredução que acontecem *in vivo*.
- IV. Avaliação sensorial de preferência especializada, através de “*Focus group*”, para identificação dos atributos importantes e similares já encontrados no mercado.

Referências Bibliográficas

- ABDOLI, J. et al. **A Short Review on the History of Anesthesia in Ancient Civilizations** *Journal of Research on History of Medicine*. [s.l.] Shiraz University of Medical Sciences, 1 ago. 2019. Disponível em: <https://rh.m.sums.ac.ir/article_45640.html>. Acesso em: 29 dez. 2020.
- ABRABE. **Mudança de hábitos no consumo de bebidas – Abrabe**. Disponível em: <<https://www.abrabe.org.br/salaimprensa/mudanca-de-habitos-no-consumo-de-bebidas/>>. Acesso em: 3 fev. 2021.
- ALBUQUERQUE, B. R. et al. Jaboticaba residues (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg) are rich sources of valuable compounds with bioactive properties. **Food Chemistry**, v. 309, p. 125735, mar. 2020.
- ALBUQUERQUE, B. R. et al. Phenolic compounds: current industrial applications, limitations and future challenges. **Food & Function**, v. 12, n. 1, p. 14–29, 2021.
- ALCARDE, A. R.; SOUZA, P. A. DE; BELLUCO, A. E. DE S. Aspectos da composição química e aceitação sensorial da aguardente de cana-de-açúcar envelhecida em tonéis de diferentes madeiras. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, p. 226–232, maio 2010.
- ALI, M. S. et al. Epimers from the leaves of *Calophyllum inophyllum*. **Phytochemistry**, v. 50, n. 8, p. 1385–1389, 1 abr. 1999.
- ALMEIDA, R. O. DE. Ajofe e alcoometria: as escolas diante das mudanças socioculturais ligadas à produção de cachaça artesanal na microrregião de Abaíra, Bahia, Brasil. **Ciência & Educação (Bauru)**, v. 18, n. 1, p. 187–214, 2012.
- ALVARENGA, G. F. **Avaliação do potencial antimicrobiano e antioxidante de espécies vegetais para aplicação como aditivo em filmes/revestimentos para alimentos**. [s.l.] UFVJM, 2018.
- ANDERSON, K.; MELONI, G.; SWINNEN, J. Global Alcohol Markets: Evolving Consumption Patterns, Regulations, and Industrial Organizations. **Annual Review of Resource Economics**, v. 10, n. 1, p. 105–132, 5 out. 2018.
- ANDRADE, D. M. DE et al. Estudo físico-químico, quimiométrico e sensorial de licor de açaí produzido em Belém do Pará. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 7, p. 51353–51365, 27 jul. 2020.
- ANDREOU, V. et al. Herbal distillates: A new era of grape marc distillates with enriched antioxidant profile. **Food Chemistry**, v. 253, p. 171–178, 1 jul. 2018.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos - Uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 1–9, 1 jan. 2007.
- AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 26. ed. Gaithersburg: IX, 2007.
- APAK, R. et al. Methods of measurement and evaluation of natural antioxidant capacity/activity (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 85, n. 5, p. 957–

998, 26 fev. 2013.

ARZBERGER, U.; LACHENMEIER, D. W. Fourier Transform Infrared Spectroscopy with Multivariate Analysis as a Novel Method for Characterizing Alcoholic Strength, Density, and Total Dry Extract in Spirits and Liqueurs. **Food Analytical Methods**, v. 1, n. 1, p. 18–22, 29 mar. 2008.

ASCA, J. M. **Alimentos Aspectos Bromatológicos e Legais - Análise Percentual**. 1. ed. São Leopoldo/RS : UNISINOS, 1985. v. 1

ASHURST, P.; HARGITT, R. **Soft Drink and Fruit Juice Problems Solved**. [s.l.] Woodhead Publishing, 2009.

AVELAR RODRIGUES, L. M. et al. “Cachaça” (Sugarcane Spirit) Aged Quantitation of Phenolic Compounds, Antibacterial and Antioxidant Activity. **American Journal of Plant Sciences**, v. 05, n. 20, p. 2935–3942, 24 set. 2014.

BAGNIEWSKA-ZADWORNA, A. et al. Phenolic compound localisation in *Polypodium vulgare* L. rhizomes after mannitol-induced dehydration and controlled desiccation. **Plant Cell Reports**, v. 27, n. 7, p. 1251–1259, 1 jul. 2008.

BAJPAI, M. et al. Phenolic contents and antioxidant activity of some food and medicinal plants. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 56, n. 4, p. 287–291, 6 jan. 2005.

BANSAL, S. et al. Tea: A native source of antimicrobial agents. **Food Research International**, v. 53, n. 2, p. 568–584, 1 out. 2013.

BARRECA, D. et al. Elucidation of the flavonoid and furocoumarin composition and radical-scavenging activity of green and ripe chinotto (*Citrus myrtifolia* Raf.) fruit tissues, leaves and seeds. **Food Chemistry**, v. 129, n. 4, p. 1504–1512, 15 dez. 2011.

BARROS, A. et al. New grape stems-based liqueur: Physicochemical and phytochemical evaluation. **Food Chemistry**, v. 190, p. 896–903, 1 jan. 2016.

BECKER, F. S. et al. Characterization of ‘Sabará’ Jaboticabas at different maturation stages. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 37, n. 4, p. 457, 1 out. 2015.

BELOTI, G. M. **Caracterização in vitro de compostos bioativos de partes aéreas da cana-de-açúcar e sua capacidade antioxidante**. Piracicaba: Universidade de São Paulo, 25 nov. 2019.

BERNABÉ-ANTONIO, A. et al. Fatty acid profile of intact plants of two different sites and callus cultures derived from seed and leaf explants of *Calophyllum brasiliense* Cambess: A new resource of non-edible oil. **Industrial Crops and Products**, v. 77, p. 1014–1019, 23 dez. 2015.

BERNARDO, D. B. DE F. et al. **Caracterização física e química das folhas de seriguela para fins de uso em desenvolvimento de novos produtos alimentícios**. Inovação, Gestão e Sustentabilidade na Agroindústria. **Anais...Instituto internacional Despertando Vocações, 2021** Disponível em: <<https://ciagro.institutoidv.org/ciagro2021/uploads/924.pdf>>

BESSA, M. A. D. et al. Bebida alcoólica fermentada de melão (*Cucumis melo* L.): processamento e caracterização. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 21, p. 2017217,

14 nov. 2018.

BORNEMAN, A. R.; SCHMIDT, S. A.; PRETORIUS, I. S. At the cutting-edge of grape and wine biotechnology. **Trends in Genetics**, v. 29, n. 4, p. 263–271, abr. 2013.

BORTOLETTO, A. **Influência da madeira na qualidade química e sensorial da aguardente de cana envelhecida. Tese apresentada para obtenção do título de Doutora em Ciências. Área de concentração (Ciência e Tecnologia de Alimentos).** [s.l.] Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2016.

BORTOLETTO, A. M. **Composição química de cachaça maturada com lascas tostadas de madeira de carvalho proveniente de diferentes florestas francesas. Dissertação de Mestrado.** [s.l.] Universidade de São Paulo - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2013.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1 jan. 1995.

BRASIL. PORTARIA Nº 62, DE 23 DE ABRIL DE 2008 - Regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para licor (ANEXO I). **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, 23 abr. 2008a.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa MAPA nº 35 de 16/11/2010. Regulamentos técnicos para a fixação dos padrões de identidade e qualidade para as bebidas alcoólicas por mistura. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, 31 out. 2008b.

BRASIL. Decreto Nº 6.871, de 4 de junho de 2009. Dispõe do registro, a padronização, a classificação, a inspeção e a fiscalização da produção e do comércio de bebidas. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, 4 jun. 2009.

BURNS, J. et al. Relationship among Antioxidant Activity, Vasodilation Capacity, and Phenolic Content of Red Wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 2, p. 220–230, 1 fev. 2000.

CAMPOS, S. C. et al. Toxicidade de espécies vegetais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, n. 1 suppl 1, p. 373–382, 2016.

CARDOSO, D. R. et al. Sugarcane spirit extracts of oak and Brazilian woods: Antioxidant capacity and activity. **European Food Research and Technology**, v. 227, n. 4, p. 1109–1116, 6 ago. 2008.

CARUSO, M. S. F.; NAGATO, L. A. F.; ALABURDA, J. Benzo(a)pireno, carbamato de etila e metanol em cachaças. **Química Nova**, v. 33, n. 9, p. 1973–1976, 2010.

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

CARVALHO, P. E. R. Espécies Arbóreas brasileiras. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA**, 2003.

CASAGRANDA, A.; SANTOS, J. V. DOS. **Determinação dos níveis de cobre (II) e análises físico-químicas em amostras de cachaça comercializadas na região Oeste de Santa Catarina**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://repositorio.ifsc.edu.br/handle/123456789/1350>>. Acesso em: 10 jun. 2021.

CASTRO, J. P. et al. Uso de espécies amazônicas para envelhecimento de bebidas destiladas: análises física e química da madeira. **CERNE**, v. 21, n. 2, p. 319–327, jun. 2015.

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

CERVIERI JÚNIOR, O. et al. **O setor de bebidas no Brasil**. [s.l.] Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social, 2014. Disponível em: <<http://web.bndes.gov.br/bib/jspui/handle/1408/3462>>. Acesso em: 3 fev. 2021.

CHAN, P. P. K.; KRUGER, C. L.; HAYES, A. W. Toxicity, Acute. In: **Encyclopedia of Toxicology**. [s.l.] Elsevier, 2014. p. 617–625.

CHANDRA, S. et al. Assessment of Total Phenolic and Flavonoid Content, Antioxidant Properties, and Yield of Aeroponically and Conventionally Grown Leafy Vegetables and Fruit Crops: A Comparative Study. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2014, p. 1–9, 2014.

CHAVASCO, J. M. et al. Evaluation of antimicrobial and cytotoxic activities of plant extracts from southern minas gerais cerrado. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 56, n. 1, p. 13–20, jan. 2014.

COELHO, E. M. et al. Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Mango Peel Liqueurs (*Mangifera indica* L.) Produced by Different Methods of Maceration. **Antioxidants**, v. 8, n. 4, p. 102, 16 abr. 2019.

COOPER, R. Green tea and theanine: health benefits. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 63, n. sup1, p. 90–97, mar. 2012.

CORREIA, M. P. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. In: **Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal**. 2. ed. Rio de Janeiro/RJ: [s.n.]. p. 687.

CRUZ, S. I. DE A. **Evolução da composição físico-química da aguardente vínica Lourinhã nos primeiros seis meses de envelhecimento em sistema tradicional e em sistema alternativo**. [s.l.] ISA-UL, 2016.

CURVELO-SANTANA, J. C.; EHRHARDT, D. D.; TAMBOURGI, E. B. Otimização da produção de álcool de mandioca. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 3, p. 613–617, set. 2010.

DA PORTO, C. et al. Antiradical Properties of Commercial Cognacs Assessed by the DPPH • Test. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 9, p. 4241–4245, 1 set. 2000.

DA SILVA, K. L. et al. Chemical composition and analgesic activity of *Calophyllum brasiliense* leaves. **Therapie**, v. 56, n. 4, p. 431–434, 1 jul. 2001.

DA SILVA PORTO, F. G. et al. Chitosan in *Eucalyptus grandis* Pyroligneous Liquor for Agricultural Application: Physicochemical and Structural Characterization During Storage. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 29, n. 5, p. 1591–1599, 28 maio 2021.

DA SILVA, R. C.; VIEIRA, E. S. N.; PANOBIANCO, M. Morphophysiological characteristics of guanandi fruit and seeds during ripening and harvesting time. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 53, n. 2, p. 212–220, 1 fev. 2018.

DANTAS, D. L. et al. Estudo toxicológico das sementes de *Moringa oleifera* Lam. utilizando o teste com *Artemia salina* Leach. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 9, p. e457997332, 26 ago. 2020.

DE LA ROSA, L. A. et al. Phenolic compounds. In: **Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables**. [s.l.] Elsevier, 2019. p. 253–271.

DE LIMA, A. J. B. et al. Caracterização química do fruto jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) e de suas frações. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v. 58, n. 4, p. 416–421, 1 dez. 2008.

DELGADO-VARGAS, F.; JIMÉNEZ, A. R.; PAREDES-LÓPEZ, O. Natural Pigments: Carotenoids, Anthocyanins, and Betalains — Characteristics, Biosynthesis, Processing, and Stability. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 40, n. 3, p. 173–289, maio 2000.

DIAS, G. T. et al. Toxicidade do extrato hidroalcoólico das folhas de *Cissus sicyoides*. **Acta Brasiliensis**, v. 1, n. 1, p. 8, 15 fev. 2017.

DIAS, S.; MAIA, A.; NELSON, D. Efeito de diferentes madeiras sobre a composição da aguardente de cana envelhecida. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, n. 3, p. 331–334, ago. 1998.

DINESH, P.; BOGHRA, V. R.; SHARMA, R. S. Effect of Antioxidant Principles Isolated from Mango (*Mangifera indica* L.) Seed Kernels on Oxidative Stability of Ghee (Butter fat). **Journal of Food Science and Technology**, v. 37, n. 1, p. 6–10, 2000.

DIPLOCK, A. T. Antioxidants and disease prevention. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 15, n. 4, p. 293–376, 1 jan. 1994.

DOTTO, M. Crescimento e desenvolvimento de *Plinia cauliflora* de acordo com a intensidade luminosa em clima subtropical. **tese**, p. 116 f, 2015.

EMBRAPA. **Licor de Frutas - Coleção agroindústria familiar**. 1. ed. Brasília: [s.n.].

ENCARNAÇÃO, A. C. C. A cor dos vinhos como ferramenta de diferenciação de vinhos tintos. Aplicação da espectrofotometria de UV-Vis. **Mestrado em Viticultura e Enologia Dissertação - ESCOLA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA**, 2019.

EUROMONITOR, I. **BEBIDAS ALCOÓLICAS NO BRASIL**. Disponível em: <<https://www.euromonitor.com/alcoholic-drinks-in-brazil/report>>.

FABIANE, K. C. Atividade antioxidante e antimicrobiana de extratos vegetais de folhas de espécies nativas de myrtaceae. **Journal of Chemical Information and Modeling** Universidade Tecnológica Federal do Paraná, , 18 mar. 2019. Disponível em: <<http://repositorio.utfpr.edu.br:8080/jspui/handle/1/4298>>. Acesso em: 9 fev. 2022

FERNANDES, I. DA C. et al. Níveis de contaminantes inorgânicos em cachaças da região do Quadrilátero Ferrífero armazenadas em copos in natura de esteatito (pedra-sabão). **Química Nova**, v. 36, n. 9, p. 1360–1365, 2013.

FERNÁNDEZ, M. B. et al. Kinetic study of canola oil and tocopherol extraction: Parameter comparison of nonlinear models. **Journal of Food Engineering**, v. 111, n. 4, p. 682–689, 1 ago. 2012.

FERREIRA, N. F. M. **Implementação do Sistema CIELab na Avaliação Colorimétrica de Vinhos Brancos e Vinhos Rosados**. [s.l.] Faculdade de Ciência e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, 2021.

FILHO, A. B. D. M.; SILVA, A. M. A. D.; VASCONCELOS, M. A. DA S. **Análises Físico-Químicas dos Alimentos**. Recife/PE: [s.n.]. Disponível em: <http://proedu.rnp.br/bitstream/handle/123456789/1453/An_Fis_Qui_R_WEB.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 10 abr. 2021.

FIRUZI, O. et al. Evaluation of the antioxidant activity of flavonoids by “ferric reducing antioxidant power” assay and cyclic voltammetry. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v. 1721, n. 1–3, p. 174–184, 18 jan. 2005.

FRANÇA, S. C. A.; SANTOS, S. F.; DE LIMA, S. R. M. ENSAIOS PARA MEDIDAS DE COR EM COLORÍMETROS LOVIBOND E ASTM. In: **Tratamento de Minérios: Práticas Laboratoriais**. [s.l.: s.n.]. p. 541–557.

FRANITZA, L.; GRANVOGL, M.; SCHIEBERLE, P. Characterization of the Key Aroma Compounds in Two Commercial Rums by Means of the Sensomics Approach. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 3, p. 637–645, 27 jan. 2016.

FRIEDMAN, M. Antibacterial, Antiviral, and Antifungal Properties of Wines and Winery Byproducts in Relation to Their Flavonoid Content. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 26, p. 6025–6042, 2 jul. 2014.

GARBIN, R.; BOGUSZ JUNIOR, S.; AURÉLIO MONTANO, M. Levels of copper in “cachaça” samples produced in the Northwest region of Rio Grande do Sul, Brazil. **Ciência Rural**, v. 35, n. 6, p. 1436–1440, 2005.

GIOVINAZZO, G.; GRIECO, F. Tapping Into Health: Wine as Functional Beverage. In: **Alcoholic Beverages**. [s.l.] Elsevier, 2019. p. 279–302.

GIRONÉS-VILAPLANA, A. et al. Novel maqui liquor using traditional pacharán processing. **Food Chemistry**, v. 173, p. 1228–1235, 15 abr. 2015.

GLORIES, Y. La couleur des vins rouges. 2e partie : mesure, origine et interprétation. **OENO One**, v. 18, n. 4, p. 253, 31 dez. 1984.

GONÇALVES, R. et al. Comparing Conventional and Supercritical Extraction of (–)-Mammea A/BB and the Antioxidant Activity of Calophyllum brasiliense Extracts. **Molecules**, v. 18, n. 6, p. 6215–6229, 24 maio 2013.

GONÇALVES, R. M. Obtenção de extratos bioativos de Calophyllum brasiliense Cambess utilizando fluido pressurizado. 2011.

GOULA, A. M. Ultrasound-assisted extraction of pomegranate seed oil – Kinetic modeling. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 4, p. 492–498, 1 ago. 2013.

GRONBAEK, M. et al. Mortality associated with moderate intakes of wine, beer, or spirits. **BMJ**, v. 310, n. 6988, p. 1165–1169, 6 maio 1995.

GRZESIK, M. et al. Antioxidant properties of catechins: Comparison with other antioxidants. **Food Chemistry**, v. 241, p. 480–492, 15 fev. 2018.

GUIDO, L. F. et al. Correlation of Malt Quality Parameters and Beer Flavor Stability: Multivariate Analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 3, p. 728–733, 1 fev. 2007.

GÜLÇİN, İ. Antioxidant activity of food constituents: an overview. **Archives of Toxicology**, v. 86, n. 3, p. 345–391, 20 mar. 2012.

HEFFERNAN, S. P.; MULVIHILL, D. M.; KELLY, A. L. Liqueurs: Cream Liqueurs. In: **Encyclopedia of Food and Health**. [s.l.] Elsevier, 2016. p. 550–555.

HORINCAR, G. et al. Value-Added Lager Beer Enriched with Eggplant (Solanum melongena L.) Peel Extract. **Molecules**, v. 25, n. 3, p. 731, 7 fev. 2020.

HUANG, D. et al. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 6, p. 1841–1856, 1 mar. 2005.

IAL. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed. São Paulo/SP: Odair Zenebon; Neus Sadocco Pascuet; Paulo Tiglea, 2008. v. 1ª Edição Digital

INFANTE, J. **Composição fenólica e atividade antioxidante de polpa, casca, semente e folha de espécies frutíferas nativas do Brasil**. Piracicaba: Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da Universidade de São Paulo, 23 out. 2013.

JAFFE, J. H. The concept of dependence: historical reflections. **Alcohol Health & Research World**, v. 17, n. 3, p. 188–190, 22 jun. 1993.

JAYAPRAKASHA, G. K.; SINGH, R. P.; SAKARIAH, K. K. Antioxidant activity of grape seed (Vitis vinifera) extracts on peroxidation models in vitro. **Food Chemistry**, v. 73, n. 3, p. 285–290, 1 maio 2001.

JESUS, M. L. C. DE et al. QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA DE CACHAÇAS ARTESANAIS E TIQUIRA COMERCIALIZADAS EM SÃO LUÍS-MA. In: **Atividades de Ensino e de Pesquisa em Química 2**. [s.l.] Atena Editora, 2020. p. 278–288.

JESUS, N. DE et al. Caracterização de quatro grupos de jaboticabeira, nas condições de Jaboticabal-SP. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, n. 3, p. 482–485, dez. 2004.

KARNOFSKY, G. Design of oilseed extractors I. Oil extraction (supplement). **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 64, n. 11, p. 1533–1536, nov. 1987.

KRÜGER, R. T. **Desenvolvimento de protocolo para fabricação de licor de maçã envelhecido com chips de madeira previamente tratados por ultrassom.** [s.l.] UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA, 2016.

KUZMIN, O. V.; MISHUROVSKYI, A. S. Improvement of alcoholic beverages technology for restaurant business. In: **Scientific and Technical Progress in European Countries and the Contribution of Higher Education Institutions.** [s.l.] Izdevnieciba "Baltija Publishing", 2020. p. 90–106.

LARANJEIRA, A. G. D. A. PERFIL QUÍMICO, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ATIVIDADE BIOLÓGICA DO ÓLEO DAS SEMENTES DE *Annona glabra* L. (ANNONACEAE). **IOSR Journal of Economics and Finance**, p. 1–78, 12 dez. 2016.

LAZZAROTTO, S. R. DA S. et al. Método de Folin Ciocalteu Adaptado para Quantificar Polifenóis em Extratos de Erva-Mate. **Revista Movimenta**, v. 13, n. 3, p. 419–426, 2020.

LENQUISTE, S. A. et al. Freeze-dried jaboticaba peel added to high-fat diet increases HDL-cholesterol and improves insulin resistance in obese rats. **Food Research International**, v. 49, n. 1, p. 153–160, 1 nov. 2012.

LEONARSKI, E. et al. Development, Chemical, and Sensory Characterization of Liqueurs from Brazilian Native Fruits. **Journal of Culinary Science & Technology**, v. 19, n. 3, p. 214–227, 4 maio 2021.

LI, W.; BETA, T. Evaluation of antioxidant capacity and aroma quality of anthograin liqueur. **Food Chemistry**, v. 127, n. 3, p. 968–975, 1 ago. 2011.

LIMA, A. DE J. B. et al. Sugars, organic acids, minerals and lipids in jaboticaba. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 2, p. 540–550, jun. 2011.

LIMA, J. A. DE. **Padrão de germinação de sementes e estabelecimento de mudas de guanandi (*Calophyllum brasiliense* Cambess.).** [s.l.] Universidade Federal de Uberlândia, 25 abr. 2011.

LIMA, V. L. A. G. DE et al. Flavonoides em seleções de acerola (*Malpighia* sp l.). 1- Teor de antocianinas e flavonóis totais. **Ciência Rural**, v. 30, n. 6, p. 1063–1068, dez. 2000.

LIMA, H. M. R.; LIMA, L. R.; GALVÃO, F. F. DE S. P. Consumo infantil de bebidas lácteas: sólidos solúveis totais (Brix) e pH. **Odontologia Clínico-Científica (Online)**, v. 10, n. 3, p. 237–241, 2011.

LIZZETH, R.; QUISPE, L.; NOLET, C. Phytochemical analysis composition from *Annona squamosa* (ATA) ethanolic extract leaves. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 6, n. 89, p. 6, 2007.

LOPES, M. et al. *Lupinus lanatus* Benth Chemical composition and toxicity assessment face to *Artemia salina* seeds and pods of *Lupinus lanatus* Benth. **Revista Eletrônica de Extensão da URI**, v. 11, n. 20, p. 10–20, 2015.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. [s.l: s.n.].

MACEDO-COSTA, M. R. et al. Eficácia do extrato de *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg. (jaboticabeira) sobre bactérias orais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 2b, p. 565–571, jun. 2009.

MAGALHÃES, L. M. et al. Automatic Method for the Determination of Folin–Ciocalteu Reducing Capacity in Food Products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 15, p. 5241–5246, 1 jul. 2006.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. 3. ed. [s.l.] Fealq, 2005.

MARQUES, L. R. L. H. et al. Avaliação nutricional e sensorial de licor de maracujá (*passiflora edulis*) com flores de jambu (*Acmella oleracea*): In: **Tecnologia de Alimentos: Tópicos Físicos, Químicos e Biológicos**. 1. ed. [s.l: s.n.]. p. 298–307.

MARTINS, A. C. R. et al. Avaliação da toxicidade das tinturas de aroeira e de romã através do bioensaio com *Artemia salina*. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 3, p. e52010313751, 24 mar. 2021.

MATHIAS-RETTIG, K.; AH-HEN, K. El color en los alimentos un criterio de calidad medible. **Agro Sur**, v. 42, n. 2, p. 57–66, 29 ago. 2014.

MAZEPA, L. **Análise do perfil físico-químico, atividade antioxidante e atividades biológicas da espécie vegetal *Annona x atemoya* Mabb**. [s.l.] UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ, 2014.

MCGOVERN, P. E.; GORDON, L.; KATZ, S. **Origins and Ancient History of Wine (Food and Nutrition in History and Anthropology) (Food & Nutrition in History & Anthropology)**. [s.l: s.n.].

MCKEE, T. C. et al. Pyranocoumarins from Tropical Species of the Genus *Calophyllum*: A Chemotaxonomic Study of Extracts in the National Cancer Institute Collection. **Journal of Natural Products**, v. 61, n. 10, p. 1252–1256, 1 out. 1998.

MCLAUGHLIN, J. L.; ROGERS, L. L.; ANDERSON, J. E. The Use of Biological Assays to Evaluate Botanicals. **Drug Information Journal**, v. 32, n. 2, p. 513–524, 30 abr. 1998.

MENDES, V. H. **Análise da Viabilidade Econômica da Cultura do Guanandi: Um estudo de caso no município de Prudentópolis (PR)**. [s.l.] Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2012.

MENDONÇA DE ASSIS, P. et al. *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel: toxicological assays, biological activities, and elemental analysis of organic compounds. **Natural Product Research**, v. 35, n. 10, p. 1727–1731, 19 maio 2021.

MERINO, F. J. Z. et al. Análise fitoquímica, potencial antioxidante e toxicidade do extrato bruto etanólico e das frações da espécie *Senecio westermanii* Dusén frente à *Artemia salina*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 4 suppl 3, p. 1031–1040, 2015.

MEYER, B. et al. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents.

Planta Medica, v. 45, n. 05, p. 31–34, 29 maio 1982.

MIGUEL VIEIRA, V.; CONCLUSÃO DE CURSO, T. DE. **Desenvolvimento de jaboticabeira híbrida de acordo com a intensidade luminosa**. [s.l.] Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 12 ago. 2014.

MIRA, R. **Actividade antioxidante de aguardentes vnicas envelhecidas portuguesas e francesas**. [s.l.] Instituto Politécnico de Beja, Escola Superior Agrária, 2009.

MIRANDA, M. B. DE et al. Perfil físico-químico de aguardente durante envelhecimento em tonéis de carvalho. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. SUPPL., p. 84–89, dez. 2008.

MONTEIRO, J. M. et al. The effects of seasonal climate changes in the caatinga on tannin levels in *Myracrodruon urundeuva* (Engl.) Fr. All. and *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 3, p. 338–344, set. 2006.

MORI, F. A. et al. Utilização de eucaliptos e de madeiras nativas no armazenamento da aguardente de cana-de-açúcar. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 3, p. 396–400, dez. 2003.

MRVČIĆ, 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.

NERI-NUMA, I. A. et al. Small Brazilian wild fruits: Nutrients, bioactive compounds, health-promotion properties and commercial interest. **Food Research International**, 28 out. 2017.

NERY, F. C. et al. Caracterização Morfológica e Química de Sementes de *Calophyllum brasiliense* Cambess. **Brazilian Journal of Biociences**, p. 144–146, 2007.

NIEDERLÄNDER, H. A. G. et al. Antioxidant activity assays on-line with liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1210, n. 2, p. 121–134, 14 nov. 2008.

OBÓN, C.; RIVERA, D. Plant Pigments and their manipulation. **Economic Botany**, v. 60, n. 1, p. 92–92, 2006.

OLIVEIRA, E. N. A. DE et al. Estabilidade física e química de licores de graviola durante o armazenamento em condições ambientais. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 19, n. 3, p. 245–251, mar. 2015.

OLIVEIRA DE VERAS, B. et al. Chemical composition and evaluation of the antinociceptive, antioxidant and antimicrobial effects of essential oil from *Hymenaea cangaceira* (Pinto, Mansano & Azevedo) native to Brazil: A natural medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 247, p. 112265, 30 jan. 2020.

OLIVEIRA, É. R. **Desenvolvimento de bebida alcoólica fermentada à base de jambolão e caldo de cana-de-açúcar**. [s.l.] Universidade Federal de Goiás, 14 out. 2015.

OLIVEIRA, W. DE S. **Avaliação da capacidade antioxidante de cachaças envelhecidas em barris de madeira nativa do Brasil e desenvolvimento de uma metodologia de sequestro de ácido hipocloroso em sistema ex-vivo**. [s.l.] Universidade Federal de Alagoas, 9 ago. 2021.

OMS, O. M. D. S. Global status report on alcohol and health - 2018. In: REKVE, V. P. AND

D. (Ed.). . Genebra: [s.n.]. p. 450.

OTEGBAYO, B. O.; AKWA, I. M.; TANIMOLA, A. R. Physico-chemical properties of beetroot (*Beta vulgaris* L.) wine produced at varying fermentation days. **Scientific African**, v. 8, p. e00420, 1 jul. 2020.

OVANDO-MARTÍNEZ, M. et al. Analysis of Deoxynivalenol and Deoxynivalenol-3-glucoside in Hard Red Spring Wheat Inoculated with *Fusarium Graminearum*. **Toxins**, v. 5, n. 12, p. 2522–2532, 17 dez. 2013.

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

PARENTE, D. C. et al. Production of sensory compounds by means of the yeast *Dekkera bruxellensis* in different nitrogen sources with the prospect of producing cachaça. **Yeast**, v. 32, n. 1, p. n/a-n/a, 1 out. 2014.

PATEL, D. et al. *Pedaliium murex* Linn (Pedaliaceae) fruits: a comparative antioxidant activity of its different fractions. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 1, n. 5, p. 395–400, 1 out. 2011.

PELLI, A. et al. Toxicidade aguda e crônica de diflubenzuron para o jaú, *Zungaro zungaro* (Humboldt, 1821) (Pisces, Pimelodidae). **Revista Brasileira de Zootecias**, v. 10, n. 1, 2008.

PEREIRA, A. C. M. B.; MARTINS, R. C. C. Estudo Fitoquímico de Extratos Vegetais da Jabuticabeira (*Myrciaria truncifl ora*). **Revista PIBIC**, p. 49–56, 2007.

PEREIRA, M. C. et al. Characterization and Antioxidant Potential of Brazilian Fruits from the Myrtaceae Family. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 12, p. 3061–3067, 28 mar. 2012.

PETROVIĆ, M. et al. Evaluation of novel green walnut liqueur as a source of antioxidants: Multi-method approach. **Journal of Food Science and Technology**, v. 58, n. 6, p. 2160–2169, 19 jun. 2021.

PINTO, L. I. F. et al. **Desenvolvimento de bebida alcoólica fermentada obtida a partir de resíduos agroindustriais**. Anais do XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química. Anais...São Paulo: Editora Edgard Blücher, 11 fev. 2015Disponível em: <<http://www.proceedings.blucher.com.br/article-details/17121>>. Acesso em: 5 fev. 2022

PLAGEMANN, I. et al. Volatile constituents of jabuticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) O. Berg) fruits. **Journal of Essential Oil Research**, v. 24, n. 1, p. 45–51, fev. 2012.

POWER, O.; JAKEMAN, P.; FITZGERALD, R. J. Antioxidative peptides: enzymatic production, in vitro and in vivo antioxidant activity and potential applications of milk-derived antioxidative peptides. **Amino Acids**, v. 44, n. 3, p. 797–820, 12 mar. 2013.

PRASANNAN, A. **Alcoholic beverages market by type (beer, distilled spirits, wine, and others) and distribution channel (convenience stores, on premises, liquor stores, grocery shops, internet retailing, and supermarkets): Global opportunity analysis and industry**

forecas. Disponível em: <https://www.alliedmarketresearch.com/alcoholic-beverages-market?utm_source=sumit>. Acesso em: 26 jan. 2021.

PULIDO, R.; HERNÁNDEZ-GARCÍA, M.; SAURA-CALIXTO, F. Contribution of beverages to the intake of lipophilic and hydrophilic antioxidants in the Spanish diet. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 57, n. 10, p. 1275–1282, 24 out. 2003.

PURCELL, N. The Way We Used to Eat: Diet, Community, and History at Rome. **American Journal of Philology**, v. 124, n. 3, p. 329–358, 2003.

QUE, F.; MAO, L.; PAN, X. Antioxidant activities of five Chinese rice wines and the involvement of phenolic compounds. **Food Research International**, v. 39, n. 5, p. 581–587, 1 jun. 2006.

RAJAN, R.; RAMCHARAN, R. The Anatomy of a Credit Crisis: The Boom and Bust in Farm Land Prices in the United States in the 1920s. **American Economic Review**, v. 105, n. 4, p. 1439–1477, 1 abr. 2015.

RAMOS, B. DE F. **Avaliação do processo fermentativo na produção de aguardente de seriguela (Spondias purpúrea L.)**. [s.l.] Brasil, 13 jul. 2018.

RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9–10, p. 1231–1237, 1 maio 1999.

REAZIN, G. H. Chemical mechanisms of whiskey maturation. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 32, n. 4, p. 283–289, 1981.

RESTREPO, J.; ARIAS, N.; MADRIÑÁN, C. Determinación del valor nutricional, perfil de ácidos grasos y capacidad antioxidante de la pulpa de Aguaje(Mauritia Flexuosa). **Revista de Ciencias**, v. 20, n. 1, p. 8, 2018.

REYES-CHILPA, R.; JIMENEZ-ESTRADA, M.; ESTRADA-MUÑIZ, E. Antifungal Xanthones from Calophyllum brasiliensis Heartwood. **Journal of Chemical Ecology**, v. 23, n. 7, p. 1901–1911, jul. 1997.

RIZZON, L. A.; MIELE, A. Avaliação da cv. Cabernet Sauvignon para elaboração de vinho tinto. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, n. 2, p. 192–198, ago. 2002.

ROKHSARTALAB-AZAR, S. et al. A new rye-based beverage with high polyphenols and amino acids: Production and study of physicochemical and sensory properties. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 44, n. 3, 10 mar. 2020.

ROMBAUT, N. et al. Grape seed oil extraction: Interest of supercritical fluid extraction and gas-assisted mechanical extraction for enhancing polyphenol co-extraction in oil. **Comptes Rendus Chimie**, v. 17, n. 3, p. 284–292, 1 mar. 2014.

SÁNCHEZ-MORENO, C.; JIMÉNEZ-ESCRIG, A.; SAURA-CALIXTO, F. Study of low-density lipoprotein oxidizability indexes to measure the antioxidant activity of dietary polyphenols. **Nutrition Research**, v. 20, n. 7, p. 941–953, 1 jul. 2000.

SANLIER, N.; GOKCEN, B. B.; ALTUĞ, M. Tea consumption and disease correlations. **Trends in Food Science & Technology**, v. 78, p. 95–106, 1 ago. 2018.

SANTOS, D. DA C. et al. Drying kinetics and thermodynamic properties of patauá pulp (*Oenocarpus bataua* mart.). **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 22, 2019a.

SANTOS NETO, J. P. DOS et al. Licor funcional a base de umbu (*Spondias tuberosa* Arruda) e microalga (*Spirulina* spp.). **Research, Society and Development**, v. 10, n. 3, p. e42010313557, 21 mar. 2021.

SANTOS, R. T. DOS S. E et al. Estudo Prospectivo de Documentos de Patentes Relacionados à Produção de Bebidas Alcoólicas Fermentadas de Frutas. **Repositório Alice**, 2019b.

SARAIVA, G. F. R.; SOUZA, G. M.; RODRIGUES, J. D. Aclimação e fisiologia de mudas de guanandi cultivadas em telas de sombreamento foto-protetoras. **Colloquium Agrariae**, v. 10, n. 2, p. 01–10, 20 dez. 2014.

SARTORI, C. J.; CASTRO, A. H. F.; MORI, F. A. Teores de fenóis totais e taninos nas cascas de angico-vermelho (*Anadenanthera peregrina*). **Floresta e Ambiente**, v. 21, n. 3, p. 394–400, 1 ago. 2014.

SARTORI, N. . et al. Gastroprotective effect from *Calophyllum brasiliense* Camb. bark on experimental gastric lesions in rats and mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 67, n. 2, p. 149–156, nov. 1999.

SCHMIDT, R. The application of *Artemia salina* L. bioassay for screening of *Fusaria* toxins. In: **Fusarium**. [s.l.] Elsevier, 1989. p. 121–130.

SHERIDAN, M. K.; ELIAS, R. J. Reaction of Acetaldehyde with Wine Flavonoids in the Presence of Sulfur Dioxide. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 45, p. 8615–8624, 16 nov. 2016.

SHI, J. et al. Extraction of Polyphenolics from Plant Material for Functional Foods—Engineering and Technology. **Food Reviews International**, v. 21, n. 1, p. 139–166, jan. 2005.

SHIGEMATSU, E. et al. Determinação do tempo de maturação dos licores de abacaxi com coco e hortelã com pimenta: análises sensoriais e físico-químicas. **Revista Unimar**, v. 27, n. 1–2, 9 dez. 2018.

SILVA, J. R. B. DA; SANTOS, A. F. DOS. Efeito Alelopático de Extratos Aquosos de *Senna obtusifolia* (L.) H. Irwin e Barneby. **Floresta e Ambiente**, v. 17, n. 2, p. 90–97, 2010.

SILVA, R. C. DA et al. Subsidies for propagation of native species in Brazil with medicinal potential: *Calophyllum brasiliense* Cambess. **Journal of Seed Science**, v. 41, n. 3, p. 318–327, jul. 2019.

SILVA, R. C. DA; VIEIRA, E. S. N.; PANOBIANCO, M. Técnicas para superação da dormência de sementes de guanandi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 49, n. 9, p. 719–727, set. 2014.

SILVA, S. L. DA et al. Avaliação da toxicidade aguda pré-clínica do extrato metanólico das cascas do caule de *Parahancornia amapa* (Apocynaceae). **Acta Amazonica**, v. 46, n. 1, p. 73–80, 1 mar. 2016.

SILVA, W. A. DA et al. Perfil fitoquímico e avaliação toxicológica *Croton Heliotropiifolius*

frente à *Artemia Salina* Leach. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 3, n. 4, p. 10580–10590, 2020.

SILVA, M. L. C. et al. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, p. 669, 1 set. 2010.

SILVA, R. C. DE S. et al. Avaliação da toxicidade dos extratos do Araribá (*Centrobium tomentosum*) com utilização do bioensaio com *Artemia salina*. **Ambiente e Agua - An Interdisciplinary Journal of Applied Science**, v. 8, n. 4, 31 dez. 2013.

SIMIONI, S. C. C. et al. Temporal dominance of sensations and preferences of Brazilians and Slovaks: A cross-cultural study of cachaças stored with woods from the Amazon rainforest. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 98, n. 11, p. 4058–4064, ago. 2018.

SO, G. C.; MACDONALD, D. G. Kinetics of oil extraction from canola (rapeseed). **The Canadian Journal of Chemical Engineering**, v. 64, n. 1, p. 80–86, 1 fev. 1986.

SOKÓŁ-ŁĘTOWSKA, A. et al. Composition and antioxidant activity of red fruit liqueurs. **Food Chemistry**, v. 157, p. 533–539, 15 ago. 2014.

SOONG, Y.-Y.; BARLOW, P. J. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. **Food Chemistry**, v. 88, n. 3, p. 411–417, 1 dez. 2004.

SOUSA, O. V. DE et al. Propriedades biológicas das sementes de *Joannesia princeps* Vellozo. **HU Revista**, v. 33, n. 1, p. 23–27, 1 fev. 2007.

SOUZA, A. G. DE et al. Caracterização físico-química de frutos nativos da região Sul do Brasil. **Evidência - Ciência e Biotecnologia**, v. 18, n. 1, p. 81–94, 2018.

SOUZA, A. M. B. DE. **Influência do tempo de infusão com duas fontes alcoólicas diferentes na elaboração e caracterização físico-química do licor de açaí**. [s.l.] UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA, 25 jan. 2019.

STAFUSSA, A. P. et al. Bioactive compounds of 44 traditional and exotic Brazilian fruit pulps: phenolic compounds and antioxidant activity. **International Journal of Food Properties**, v. 21, n. 1, p. 106–118, 1 jan. 2018.

STAMPAR, F. et al. Traditional walnut liqueur – cocktail of phenolics. **Food Chemistry**, v. 95, n. 4, p. 627–631, abr. 2006.

SUHAG, N. An Empirical Study on New Outlook in the Product Development of Beverages. **International Journal of Academic Research and Development**, p. 217–219, 2017.

TABAGO, M. K. A. G.; CALINGACION, M. N.; GARCIA, J. Recent advances in NMR-based metabolomics of alcoholic beverages. **Food Chemistry: Molecular Sciences**, v. 2, p. 100009, jul. 2021.

TABART, J. et al. Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests. **Food Chemistry**, v. 113, n. 4, p. 1226–1233, 15 abr. 2009.

TAN, J. B. L.; LIM, Y. Y. Critical analysis of current methods for assessing the in vitro antioxidant and antibacterial activity of plant extracts. **Food Chemistry**, v. 172, p. 814–822, 1

abr. 2015.

TEDESCO, L. et al. Fases fenológicas da jabuticaba (*Plinia cauliflora*) e composição química do óleo essencial das folhas e atividade antioxidante. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 9, p. e396997305, 22 ago. 2020.

VALADARES, M. C. Avaliação de toxicidade aguda: estratégias após a “era do teste dl50”. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n. 2, p. 93–98, 23 out. 2007.

VALDANTAS, S. **Capacidade antioxidante e compostos fenólicos de madeiras com uso enológico: influência do grau de tosta**. [s.l.] Universidade de Évora, 2013.

VAN LEEUW, R. et al. Antioxidant capacity and phenolic composition of red wines from various grape varieties: Specificity of Pinot Noir. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 36, n. 1–2, p. 40–50, 1 nov. 2014.

VIALA-ARTIGUES, J.; MECHETTI, C. **Histoire de l'alcool archéologie partie 2**. Disponível em: <<http://www.alcoologie.org/Histoire-de-l-alcool-archeologie,118.htm>>. Acesso em: 25 jan. 2021.

VIANA, F. L. E. **BEBIDAS ALCOÓLICAS**. Disponível em: <<http://www.bnb.gov.>>. Acesso em: 3 fev. 2021.

VIANA, L. F. et al. Características Físico-Químicas de Aguardente de Cana-de-Açúcar Submetida a Diferentes Condições de Envelhecimento. **Revista Processos Químicos**, v. 10, n. 19, p. 65–82, 4 jan. 2016.

VIANA, M. V.; ARENARI, V. S. Antioxidantes sintéticos utilizados em indústrias alimentícias e a possível substituição por antioxidantes naturais. **REVISTA DE TRABALHOS ACADÊMICOS - UNIVERSO CAMPOS DOS GOYTACAZES**, v. 1, n. 12, 2019.

VILHALVA, D. A. A. et al. Produção de aguardente a partir de resíduo de fecularia de mandioca. **Interciencia**, v. 38, n. 11, p. 808–813, 1 nov. 2013.

VOLP, A. C. P.; RENHE, I. R. T.; STRINGUETA, P. C. Pigmentos naturais bioativos. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 20, n. 1, p. 157–166, 2009.

VOLPE, T. C.; BONA, E.; CAMPO, C. **Avaliação das características físico-químicas da cachaça industrial e artesanal comercializadas no centro norte paranaense**. [s.l.] Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 22 fev. 2013.

WAKELY, J. The production of spirits. In: **The International Spirits Industry**. [s.l.] Elsevier, 2001. p. 26–44.

WANNENMACHER, J. et al. Technological influence on sensory stability and antioxidant activity of beers measured by ORAC and FRAP. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 99, n. 14, p. 6628–6637, 9 nov. 2019.

XIAO, F. et al. Guidelines for antioxidant assays for food components. **Food Frontiers**, v. 1, n. 1, p. 60–69, 9 mar. 2020.

YANG, W. et al. Chemical composition, sensory profile and antioxidant capacity of low-

alcohol strawberry beverages fermented with *Saccharomyces cerevisiae* and *Torulaspora delbrueckii*. **LWT**, v. 149, p. 111910, 1 set. 2021.