



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Cátia Sofia Esteves Garcia

LICOR DE FLOR DE CARQUEJA A PARTIR DE AGUARDENTE
ENVELHECIDA COM CASCAS DE FRUTOS SECOS

Dissertação no âmbito do Mestrado em Segurança Alimentar orientada
pelo Professor Doutor Fernando Jorge dos Ramos e pela Professora
Doutora Marta Henriques e apresentada à Faculdade de Farmácia da
Universidade de Coimbra.

Outubro de 2021



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Cátia Sofia Esteves Garcia

**LICOR DE FLOR DE CARQUEJA A PARTIR DE
AGUARDENTE ENVELHECIDA COM CASCAS DE
FRUTOS SECOS**

Dissertação no âmbito do Mestrado em Segurança Alimentar orientada pelo Professor Doutor Fernando Jorge dos Ramos, e pela Professora Doutora Marta Henriques e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra.

Outubro de 2021

Agradecimentos

A conclusão deste trabalho só foi possível graças à colaboração e ao apoio de diversas pessoas, as quais gostaria de exprimir o meu agradecimento genuíno.

Ao meu orientador interno, o Professor Doutor Fernando Ramos, pela orientação e ajuda fornecida no solucionamento de todos os problemas que apareceram ao longo do caminho, e pela disponibilidade, simpatia e paciência demonstrada.

À minha orientadora externa a Professora Doutora Marta Henriques, pelos conhecimentos, orientação e incentivos disponibilizados, bem como pela paciência, amabilidade e a sua disponibilidade para me receber nos laboratórios da Escola Superior Agrária de Coimbra e para a revisão periódica do trabalho.

A todas as pessoas dos laboratórios da Escola Superior Agrária de Coimbra, que de uma forma ou outra contribuíram na conclusão deste trabalho e me apoiaram, com um especial agradecimento ao professor Ivo Rodrigues, à Lara Campos, ao senhor Jorge Viegas e à memória da Engenheira Isabel Costa.

Ao Professor Doutor Fernando Nunes, ao João Siopa e a toda a equipa do Centro de Química – Vila Real (CQVR) da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD) pela disponibilidade da análise das amostras das aguardentes relativas ao seu perfil fenólico e aos seus compostos voláteis e das amostras relativas ao licor para o seu teor de açúcares totais.

Às Professoras doutoras Isabel C.F.R. Ferreira e Lillian Barros, à Maria Inês Dias e a toda a equipa do Centro de Investigação de Montanha (CIMO) do Instituto Politécnico de Bragança (IPB) pela igual disponibilidade da análise do perfil fenólico das amostras de carqueja.

Ao Professor Doutor António Peres e à Ítala Marx do Departamento de Produção e Tecnologia Vegetal da Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Bragança (IPB), pela disponibilidade e receção da minha pessoa e pela ajuda e conhecimentos fornecidos na análise das amostras referentes às técnicas do nariz eletrónico e da língua eletrónica.

Aos meus pais e à minha família, pela força, apoio e amor oferecidos incondicionalmente capazes de transpor a distância.

Ao João, o meu namorado, pelo amor e carinho, o apoio e a força, e por seres o meu porto seguro nos momentos de stress.

Por último a todos os meus amigos entre o Fundão e Coimbra por todo o apoio e incentivos nas horas de desânimo, com especial agradecimento à Soraia, à Carlota, ao André e à Delfina.

Resumo

O envelhecimento da aguardente é um processo moroso e dispendioso para a indústria das bebidas espirituosas. Este processo ocorre através da extração alcoólica de compostos da madeira (normalmente das barricas de carvalho e castanheiro), tais como os compostos fenólicos, taninos, lenhinas, flavonoides e açúcares. Estes mesmos grupos de compostos estão também presentes em diversos subprodutos de frutos secos, mas nunca foi avaliado o seu uso para a maturação de aguardentes. Atualmente estes subprodutos são pouco ou nada valorizados sendo a compostagem ou queima para energia o seu principal destino.

A carqueja é uma planta medicinal com uma capacidade aromática elevada devido aos seus diversos flavonoides. Em especial a sua flor é vulgarmente usada para a produção de infusões, mas a seu potencial aromatizante nos licores nunca foi avaliado quimicamente.

Este trabalho teve como objetivo a avaliação da eficácia do envelhecimento da aguardente com cascas de frutos secos em alternativa ao envelhecimento convencional em barricas de madeira. De seguida usou-se a aguardente envelhecida para a produção de um licor de flor de carqueja, com a consequente avaliação da sua composição, qualidade e características físico-químicas e organolépticas. Os principais parâmetros avaliados foram: o pH, volume alcoométrico, acidez, características cromáticas, os compostos fenólicos totais, os flavonoides totais e os taninos totais. Foi feita uma análise sensorial com painel de provadores e de técnicas como o nariz eletrónico e a língua eletrónica. O perfil fenólico e os compostos voláteis foram também analisados com recurso a HPLC-DAD-ESI/MSⁿ e GC-FID, respetivamente. E por último, no licor foi também avaliada a sua viscosidade e o seu teor de açúcares totais.

O teor de fenólicos, flavonoides e taninos aumentou significativamente quer nas aguardentes quer no licor. Verificou-se a aptidão das cascas dos frutos secos para o envelhecimento de aguardentes, tendo o perfil fenólico destas aguardentes apresentado teores significativos de compostos como o ácido gálico, o ácido elágico, o ácido vanílico, o ácido siringico e a vanilina. No caso do licor, o perfil fenólico revelou a presença de compostos característicos da flor de carqueja tais como a taxifolina, a miricetina, a genisteína e a quercetina. As provas sensoriais comprovaram a aceitação e a qualidade das aguardentes envelhecidas com casca de avelã e casca de amêndoa, e ainda do licor de flor de carqueja, quando em comparação com produtos já presentes no mercado.

Palavras-Chave: aguardente envelhecida; cascas de frutos secos; flor de carqueja; licor.

Abstract

Aging spirits is a slow and expensive process for the alcoholic beverage industry. This process occurs by the alcoholic extraction of compounds from the wood (usually from oak or chestnut barrels), such as phenols, tannins, lignins, flavonoids and sugars. These compounds are also present in the nutshell of dehydrated fruits, a byproduct from nuts industry. However, these by-products, whose ultimate use has been as compost or as a burning fuel, have not yet been used to age spirits.

“Carqueja” is considered a medicinal and aromatic plant with a high flavouring capacity due to its flavonoid profile. However, carqueja flower is commonly used to produce tea and infusions, its use for the production of liqueurs has never been chemically analysed.

In this work, the efficiency of the aging of spirits with dried fruit nutshells as an alternative to the conventional aging method with wooden barrels was studied. This was followed by the use of the aged spirit for the production of a carqueja flower liqueur, with a consequent evaluation of the quality of its physicochemical and organoleptic characteristics. The primary parameters analysed were pH, alcoholic degree, acidity, chromatic characteristics, total phenols, flavonoids and tannins. Sensorial analysis was evaluated by sensorial trials, E-nose and E-tongue techniques. The phenolic profile and volatile compounds were analysed by HPLC-DAD-ESI/MSⁿ and GC-FID, respectively. In last, the liqueur was also analysed for its viscosity and its total sugars.

The content of total phenols, flavonoids and tannins increase significantly either in the spirits or in the liqueur. Determining the aptitude of the dried fruits nutshells for the aging of spirits, and the phenolic profile of said spirits presented significant contents of compounds such as gallic acid, ellagic acid, vanillic acid, syringic acid and vanillin. In the case of the liqueur, the phenolic profile revealed the presence of characteristic compounds as taxifolin, myricetin, genistein and quercetin. The sensorial analysis allowed to verify the appreciation and quality of the aged spirits with hazelnut or almond shells and the carqueja liqueur, when in opposition with commercial products already in the market.

Keywords: aged spirit; dried fruits nutshell; carqueja flower; liqueur.

Índice

Agradecimentos _____	III
Resumo _____	V
Abstract _____	VII
1.Introdução _____	I
2.Enquadramento Teórico _____	2
2.1. Bebidas espirituosas _____	2
2.1.1. Aguardente vínica _____	2
2.1.1.1.Envelhecimento da aguardente _____	2
2.1.1.2.Métodos utilizados _____	3
2.1.1.3.Compostos envolvidos na extração _____	4
2.1.2. Licor _____	4
2.2. Valorização de produtos regionais _____	5
2.2.1. Frutos secos _____	5
2.2.1.1.Casca de castanha _____	6
2.2.1.2.Casca de noz _____	6
2.2.1.3.Casca de amêndoa _____	6
2.2.1.4.Casca de avelã _____	7
2.2.2. Utilização de cascas de frutos secos no envelhecimento de aguardente _____	7
2.2.3. Carqueja _____	8
2.2.4. Valorização da flor de carqueja na produção de licor _____	9
3.Parte Experimental _____	10
3.1. Delineamento experimental _____	10
3.2. Materiais _____	11
3.2.1. Aguardente vínica _____	11
3.2.2. Material para o envelhecimento da aguardente _____	11
3.2.3. Flor de carqueja _____	12
3.2.4. Amostras comerciais de aguardente e licor _____	12
3.3. Procedimento Experimental _____	12
3.3.1. Preparação das cascas e fragmentos de madeira _____	12
3.3.2. Caracterização das cascas, fragmentos de madeira e da flor de carqueja _____	12
3.3.3. Envelhecimento da aguardente _____	13
3.3.4. Preparação do Licor _____	13
3.4. Métodos Analíticos _____	14
3.4.1. Determinação do Título Alcoolométrico Volúmico, Acidez e pH _____	14
3.4.2. Determinação do Extrato seco _____	14
3.4.3. Características cromáticas das bebidas _____	14
3.4.4. Determinação dos compostos fenólicos, flavonoides e taninos _____	15
3.4.4.1.Compostos fenólicos totais _____	15
3.4.4.2.Flavonoides totais _____	15
3.4.4.3.Taninos totais _____	16
3.4.5. Identificação e quantificação dos compostos de baixa massa molecular _____	16

3.4.5.1. Análise dos compostos fenólicos dos extratos das cascas, fragmentos e das aguardentes	16
3.4.5.2. Análise do perfil fenólico da carqueja	17
3.4.5.3. Análise dos compostos voláteis	18
3.4.5.4. Análise açúcares totais	19
3.4.6. Viscosidade	19
3.4.7. Nariz Eletrónico e Língua Eletrónica	20
3.4.7.1. Nariz Eletrónico	20
3.4.7.2. Língua Eletrónica	21
3.4.8. Provas sensoriais	22
3.5. Análise estatística	23
4. Apresentação e Discussão de Resultados	24
4.1. Caracterização das cascas de frutos secos, fragmentos de madeira de carvalho e da flor de carqueja	24
4.2. Características físico-químicas das aguardentes	26
4.2.1. Extrato seco	26
4.2.2. pH	27
4.2.3. Título Alcoolométrico Volúmico	28
4.2.4. Características cromáticas	29
4.2.5. Acidez	32
4.3. Características físico-químicas do licor	34
4.4. Fenólicos, Flavonoides e Taninos Totais das Aguardentes	36
4.5. Fenólicos, Flavonoides e Taninos Totais do Licor de Flor de Carqueja	41
4.6. Compostos de baixa massa molecular	43
4.6.1. Compostos fenólicos dos extratos das cascas/fragmentos e das aguardentes	43
4.6.2. Análise dos compostos voláteis	50
4.6.3. Análise dos açúcares totais	54
4.6.4. Análise do perfil fenólico da flor de carqueja	56
4.7. Características organolépticas	61
4.7.1. Análise Sensorial às Aguardentes	61
4.7.2. Análise Sensorial ao Licor	68
5. Conclusão	71
Referências Bibliográficas	75
ANEXOS	82
Anexo I – Ficha utilizada na análise sensorial	84
Anexo II – Representação gráfica do sistema de cores CIELAB	86
Anexo III – Cromatogramas representativos dos perfis fenólicos das amostras	87
Anexo IV – Cromatograma representativo dos compostos voláteis das amostras	92
Anexo V – Cromatograma representativo do perfil de açúcares das amostras	93
Anexo VI – Fotografias das amostras	94

Lista de Figuras

Figura 1 – Sólitos totais (ST) e humidade (H) dos diferentes tipos de cascas de frutos secos, dos fragmentos de madeira de carvalho e da flor de carqueja.....	24
Figura 2 – Rendimento de extração (%) em etanol 53% para cada tipo de cascas de frutos secos (0,05 g/mL), fragmentos de madeira de carvalho (0,05 g/mL) e flor de carqueja (0,2 g/mL).	25
Figura 3 – Extrato seco (ES, g/L) da aguardente vínica (Av) e das aguardentes envelhecidas com: cascas de castanha (Ac), noz (An), amêndoa (Aam), avelã (Aav) e fragmentos de carvalho (AL) ao longo de 6 meses de envelhecimento.....	27
Figura 4 – pH da aguardente vínica (Av) e das aguardentes envelhecidas com cascas de castanha (Ac), noz (An), amêndoa (Aam), avelã (Aav) e fragmentos carvalho (AL) ao longo de 6 meses de envelhecimento.....	28
Figura 5 – Evolução da Acidez Volátil (AV), Acidez Fixa (AF) e Acidez Total (AT=AV+AF) (mg de ácido acético/L) das aguardentes: vínica (Av) e aguardentes envelhecidas com: cascas de castanha (Ac), noz (An), amêndoa (Aam), avelã (Aav) e fragmentos de madeira de carvalho (AL).....	33
Figura 6 – Fenólicos totais (mg EAG/ L), flavonoides totais (mg ECAT/ L) e taninos totais (mg ET/ 100 g de amostra) dos extratos das cascas de castanha, nozes, amêndoa e avelã, dos fragmentos de carvalho e da flor de carqueja.	37
Figura 7 – Fenólicos totais (mg EAG/ L) da aguardente vínica (Av) e das aguardentes envelhecidas com cascas de castanha (Ac), noz (An), amêndoa (Aam), avelã (Aav) e fragmentos carvalho (AL) ao longo do tempo de envelhecimento.....	39
Figura 8 – Flavonoides totais (mg ECAT/ L) da aguardente vínica (Av) e das aguardentes envelhecidas com cascas de castanha (Ac), noz (An), amêndoa (Aam), avelã (Aav) e fragmentos carvalho (AL) ao longo do tempo de envelhecimento.....	39
Figura 9 – Taninos (mg ET/ 100 g de amostra) da aguardente vínica (Av) e das aguardentes envelhecidas com cascas de castanha (Ac), noz (An), amêndoa (Aam), avelã (Aav) e fragmentos carvalho (AL) ao longo do tempo de envelhecimento.....	40
Figura 10 – Aldeídos voláteis (µg/g): acetaldeído e acetal das aguardentes envelhecidas com cascas de castanha (Ac), noz (An), amêndoa (Aam), avelã (Aav) e fragmentos de madeira de carvalho (AL) ao longo do envelhecimento, e da aguardente comercial (AP).....	50
Figura 11 – Acetato de etilo e etanol (µg/ g) das aguardentes envelhecidas com cascas de noz (An), amêndoa (Aam) e avelã (Aav) ao longo do tempo de envelhecimento, e da aguardente comercial (AP).....	51

Figura 12 – Álcoois superiores ($\mu\text{g/g}$): propanol, 1-butanol, 2-butanol e 2-metil-1-propanol das aguardentes envelhecidas com cascas noz (An), amêndoa (Aam), avelã (Aav) e fragmentos de madeira de carvalho (AL) ao longo do tempo de envelhecimento.....	53
Figura 13 – Metanol ($\mu\text{g/g}$) das aguardentes envelhecidas com cascas de castanha (Ac), noz (An), amêndoa (Aam), avelã (Aav) e fragmentos de madeira carvalho (AL) ao longo do tempo de envelhecimento, e da aguardente comercial (AP).....	54
Figura 14 – Análise sensorial à aguardente vínica (Av), aguardentes envelhecidas com cascas de castanha (Ac), noz (An), amêndoa (Aam), avelã (Aav) e fragmentos carvalho (AL) e á aguardente comercial (AP). Escala hedónica de 1 a 7, em que 1 equivale a “Não gostei” e 7 a “Gostei muito”.....	62
Figura 15 – Intensidade do doce e amargor à aguardente vínica (Av), aguardentes envelhecidas com cascas de castanha (Ac), noz (An), amêndoa (Aam), avelã (Aav) e fragmentos carvalho (AL) e á aguardente comercial (AP). Escala hedónica de 1 a 7, em que 1 equivale a “Nada intenso” e o 7 a “Muito intenso”.....	64
Figura 16 – Intenção de compra. Aguardente vínica (Av), aguardentes envelhecidas com cascas de castanha (Ac), noz (An), amêndoa (Aam), avelã (Aav) e fragmentos carvalho (AL) e á aguardente comercial (AP).....	65
Figura 17 – Análise discriminante linear (LDA) realizada pelo nariz eletrónico (E-nose).....	66
Figura 18 – Análise discriminante linear (LDA) realizada pela língua eletrónica (E-tongue)..	67
Figura 19 – Análise dos componentes principais (PCA) através da língua eletrónica (E-tongue).	67
Figura 20 – Análise sensorial à aguardente envelhecida com cascas de amêndoa (Aam) utilizada na produção do licor de flor de carqueja (LC) e ao licor de carqueja artesanal (LA). Escala hedónica de 1 a 7, em que 1 “Não gostei” e 7 “Gostei muito”.	69
Figura 21 – Intenção de compra da aguardente envelhecida com cascas de amêndoa (Aam) utilizada na produção do licor de flor de carqueja (LC) e do licor de carqueja artesanal (LA).	70
Figura 22 – Representação gráfica do sistema de cores CIELAB (Andersen, 2013).....	87
Figura 23 – Cromatogramas representativos do perfil de compostos fenólicos presentes da amostra ALI (fragmentos carvalho), obtido por HPLC-DAD, a comprimento de onda de 280 nm (1) e 325 nm (2).....	88
Figura 24 – Cromatogramas representativos do perfil de compostos fenólicos presentes nas amostras AcI (casca castanha), obtido por HPLC-DAD, a comprimento de onda de 280 nm (1) e 325 nm (2).....	89

Figura 25 – Cromatogramas representativos do perfil de compostos fenólicos presentes nas amostras AnI (casca de noz), obtido por HPLC-DAD, a comprimento de onda de 280 nm (1) e 325 nm (2).....	90
Figura 26 – Cromatogramas representativos do perfil de compostos fenólicos presentes nas amostras AamI (casca de amêndoa), obtido por HPLC-DAD, a comprimento de onda de 280 nm (1) e 325 nm (2).....	91
Figura 27 – Cromatogramas representativos do perfil de compostos fenólicos presentes nas amostras AavI (casca de avelã), obtido por HPLC-DAD, a comprimento de onda de 280 nm (1) e 325 nm (2).....	92
Figura 28 – Cromatograma representativo dos compostos voláteis presentes na amostra Aav I, obtido por GC-FID.....	93
Figura 29 – Cromatograma representativo do perfil de açúcares da amostra EC (extrato carqueja), obtido por HPAEC.....	94
Figura 30 – Imagens representativas do sistema de envelhecimento.....	95
Figura 31 – Imagem das amostras de aguardente vínica (Av) ao longo do tempo de estudo (6 meses).	95
Figura 32 – Imagem das amostras envelhecidas com casca de castanha (Ac) ao longo do tempo de estudo.....	95
Figura 33 – Imagem das amostras envelhecidas com casca de noz (An) ao longo do tempo de estudo.....	96
Figura 34 – Imagem das amostras envelhecidas com casca de amêndoa (Aam) ao longo do tempo de estudo.....	96
Figura 35 – Imagem das amostras envelhecidas com casca de avelã (Aav) ao longo do tempo de estudo.....	96
Figura 36 – Imagem das amostras envelhecidas com fragmentos de carvalho (AL) ao longo do tempo de estudo.....	97
Figura 37 – Evolução da cor na produção do licor, desde a aguardente vínica, à aguardente de casca de amêndoa, até ao licor final.	97
Figura 38 – Imagem das amostras finais de aguardentes (Av, AL, Ac, An, Aam, Aav) e do licor (LC).....	97

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Lista das variedades e origem dos frutos secos utilizados.....	11
Tabela 2 – Compostos fenólicos analisados por HPLC, tempo de retenção (TR(min)) e comprimento de onda para análise.....	17
Tabela 3 – TAV (%) a 20°C para a aguardente vínica (Av) e aguardentes envelhecidas com: cascas de castanha (Ac), noz (An), amêndoa (Aam), avelã (Aav) e fragmentos de madeira de carvalho (AL) ao longo de 6 meses de envelhecimento (média+dp; n=3).	29
Tabela 4 – Evolução da Intensidade da cor a 445 nm e dos parâmetros L*, a* e b*, para a aguardente vínica (Av) e aguardentes envelhecidas com: cascas de castanha (Ac), noz (An), amêndoa (Aam), avelã (Aav) e fragmentos de madeira de carvalho (AL) ao longo dos 6 meses de envelhecimento (média+dp; n=3).....	30
Tabela 5 – Características físico-químicas dos produtos finais: aguardente vínica (Av); aguardentes envelhecidas ao fim de 6 meses com cascas de castanha (Ac), noz (An), amêndoa (Aam), avelã (Aav) e fragmentos de carvalho (AL), e do licor de flor de carqueja (LC) (média+dp; n=3).....	35
Tabela 6 – Fenólicos totais (mg EAG/L), flavonoides totais (mg ECAT/L) e taninos totais (mg ET/100g amostra) das aguardentes ao fim de 6 meses: aguardente vínica (Av), aguardentes envelhecidas com cascas de castanha (Ac), noz (An), amêndoa (Aam), avelã (Aav) e fragmentos carvalho (AL), e do licor de carqueja (LC) (média+dp).....	42
Tabela 7 – Compostos fenólicos das amostras com casca de castanha (média±dp).	44
Tabela 8 – Compostos fenólicos das amostras com casca de noz (média±dp).	44
Tabela 9 – Compostos fenólicos das amostras com casca de amêndoa (média±dp).	45
Tabela 10 – Compostos fenólicos das amostras com casca de avelã (média±dp).....	45
Tabela 11 – Compostos fenólicos (mg/L) do extrato e da aguardente envelhecida com fragmentos de madeira de carvalho ao longo do tempo (média±dp).....	46
Tabela 12 – Compostos fenólicos da aguardente comercial (mg/L) (média±dp).....	46
Tabela 13 – Açúcares totais (g/L) da aguardente de casca de amêndoa com 4 meses de envelhecimento (Aam4) e do extrato de flor de carqueja (EC) e do licor de carqueja (LC), (média±dp).....	55
Tabela 14 – Tempo de retenção (TR), absorção máxima na região do visível (λ_{max}), ião pseudomolecular ([M-H] ⁻), fragmentação de massa (MS ²), e tentativa de identificação dos compostos fenólicos das amostras de: aguardente vínica, aguardente envelhecida com casca de amêndoa, licor flor de carqueja e extratos de carqueja).	57

Tabela 15 – Compostos fenólicos (mg composto /L) das amostras estudadas: aguardente vínica (Av), aguardente envelhecida com casca de amêndoa com 4 meses (Aam), licor de carqueja (LC) e extratos de flor de carqueja (EC) (média±dp)..... 58

Lista de Abreviaturas

a* – Coordenada a	ESI/MSn – <i>Electrospray Ionization/ Mass Spectrometer</i>
a.ac – Ácido acético	ET – Equivalentes taninos
Aam – Aguardente envelhecida com casca de amêndoa	E-tongue – Língua eletrônica
Aav – Aguardente envelhecida com casca de avelã	GC-FID – Cromatografia gasosa com detetor de ionização de chamas
Abs – Absorvância	HMF – Hidroximetilfurfural
Ac – Aguardente envelhecida com casca de castanha	HPAEC-PAD – <i>High-performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection</i>
AF – Acidez Fixa	HPLC – <i>High performance liquid chromatography</i>
AL – Aguardente envelhecida com fragmentos de carvalho francês	IDLH - <i>Immediately Dangerous To Life or Health</i>
An – Aguardente envelhecida com casca de noz	L* – Luminosidade
AOAC – <i>The Association of Official Analytical Chemists</i>	LA – Licor de carqueja artesanal
AP – aguardente DOC comercial	LC – Licor de flor de carqueja
AT – Acidez Total	LDA – Análise discriminante linear
Av – Aguardente vínica	MOS – Multisensores de detecção de gases
AV – Acidez Volátil	NCBI – <i>National Center for Biotechnology Information</i>
b* – Coordenada b	OIV – <i>International Organisation of Vine and Wine</i>
DAD – <i>Diode Array Detector</i>	PCA – Análise dos componentes principais
DOC – Denominação de Origem Controlada	S/L – Sólido/Líquido
dp – Desvio padrão	ST – Sólidos totais
EAG – Equivalentes ácido gálico	TAV – Título alcoolométrico volúmico
EC – Extratos de flor de carqueja	TR – Tempo de retenção
ECAT – Equivalentes de catequina	UPLC – <i>Ultra Performance Liquid Chromatography</i>
E-nose – Nariz eletrônico	UV/VIS – Ultravioleta/Visível
ES – Extrato seco	

I. Introdução

As cascas de frutos secos são subprodutos da indústria alimentar sem valorização, sendo o seu fim comum a compostagem ou a queima, estando estes usos associados a uma maior carga ambiental. Assim, a valorização destes subprodutos pode mostrar-se benéfica para a melhoria da ecologia desta indústria e o aumento da produção de frutos secos.

A flor de carqueja apresenta elevadas propriedades aromáticas e com associações medicinais. É vulgarmente utilizada em infusões e na aromatização de pratos, sendo que a valorização desta planta é importante para a sua utilização para fins mais nobres e diferenciadores.

Quer os frutos secos quer a carqueja são característicos da região Transmontana e da Beira Interior, possuindo elevadas taxas de crescimento na flora autóctone destas regiões. Deste modo a valorização destes materiais é igualmente importante e interessante para a diversificação de produtos, o enriquecimento e o desenvolvimento destas regiões.

O objetivo deste trabalho foi o estudo do envelhecimento da aguardente vínica com cascas de frutos secos (noz, avelã, amêndoa e castanha), avaliando a eficácia da extração de compostos de interesse, presentes nestas matrizes, ao longo do tempo e as propriedades finais da aguardente em termos físico-químicos e sensoriais. Posteriormente, a aguardente envelhecida com melhor perfil organolético foi utilizada na produção de um licor de flor de carqueja, (*Pterospartum tridentatum* L. Willk.) através da infusão da flor na aguardente. A qualidade dos produtos finais foi avaliada quanto às suas características organoléticas e físico-químicas.

Esta tese organiza-se numa primeira parte, na pesquisa bibliográfica sobre o tema, cujo foco incidiu sobre os aspetos legais e os processos de envelhecimento da aguardente e produção do licor; sobre a composição química das cascas dos frutos secos e da flor de carqueja utilizados; e sobre as características finais dos produtos a desenvolver. O delineamento experimental e a metodologia de investigação aplicados no desenvolvimento prático deste trabalho são, depois, descritos e, por último, mas não menos importante, são apresentados os resultados obtidos, efetuada a discussão dos mesmos e retiradas as principais conclusões.

2. Enquadramento Teórico

2.1. Bebidas espirituosas

De acordo com a associação da spiritsEUROPE (spiritsEUROPE, 2021), o mercado das vendas das bebidas espirituosas alcança os 25 milhões de hectolitros com valores da ordem dos 37 bilhões de euros. Este setor é caracterizado por um leque diversificado de bebidas espirituosas com elevada qualidade, encontrando-se já definidas 44 categorias de bebidas a nível da União Europeia (Regulamento (UE) 2019/787).

2.1.1. Aguardente vínica

Segundo o Regulamento (UE) 2019/787, a aguardente vínica é uma bebida espirituosa com um teor alcoólico mínimo de 37,5% vol. obtida através da destilação de vinho ou destilado de vinho com menos de 86% vol., em que o teor de substâncias voláteis seja igual ou maior que 125 g/hectolitro de álcool a 100% vol. e com um teor máximo de metanol de 200 g/hectolitro de álcool a 100% vol.

A destilação pode ser descontínua (em alambique) ou contínua (coluna de destilação). Cada tipo de destilação origina aguardentes com características diferentes (Cruz, 2016; Canas e Caldeira, 2017).

Após destilação, a aguardente vínica apresenta características como sabor agressivo e amargo e uma transparência e limpidez visível. É rica em água e etanol e apresenta uma elevada concentração em compostos voláteis como ésteres, ácidos alifáticos, álcoois superiores, acetais e furfural. Esta aguardente caracteriza-se pela falta de compostos fenólicos, compostos estes característicos do processo de maturação, também designado de envelhecimento, da aguardente em madeira (Amado, 2014; Cruz, 2016).

2.1.1.1. Envelhecimento da aguardente

O envelhecimento da aguardente é um processo indispensável para a obtenção de um produto de maior qualidade, mais aromático e com melhor sabor. Tradicionalmente este processo ocorre em cascos (barris) de madeira, ou alternativamente em depósitos de inox com fragmentos de madeira de carvalho ou castanheiro (Amado, 2014; Cruz, 2016), durante um período mínimo de seis meses, obtendo-se um produto final de teor alcoólico mínimo de 36% (Regulamento (UE) 2019/787). Após este processo a aguardente passa a denominar-se de aguardente envelhecida ou Brandy. A legislação portuguesa especifica que, aguardentes envelhecidas comercializadas apenas podem ser envelhecidas em cascos de madeira de carvalho (Regulamento (UE) 2019/787), mas segundo Canas *et al.*, (2019) o uso da madeira de

carvalho não é um fator restritivo, podendo ser utilizadas madeiras de outras espécies florestais, como por exemplo o castanheiro, desde que seja assegurada a qualidade do produto.

Para um bom envelhecimento da aguardente o local onde ocorre o processo deve apresentar condições como baixa luminosidade, ausência de ventilação, alta e constante humidade relativa e temperatura ambiente de 22°C (Reazin, 1981). É importante denotar que em ambiente de baixa humidade relativa a perda de água é favorecida, enquanto com humidade relativa alta favorece-se a perda de álcool através dos barris (Miranda *et al.*, 2008).

2.1.1.2. Métodos utilizados

Como foi anteriormente referido, o envelhecimento da aguardente ocorre tradicionalmente em cascos de madeira ou em vasilhas de inox com fragmentos de madeira de carvalho ou castanheiro. Sendo que o último método é mais recente e comprovadamente mais rápido e menos dispendioso que o primeiro, produzindo características sensoriais mais maduras e melhores em comparação ao envelhecimento em cascos de madeira (Amado, 2014; Cruz, 2016; Canas e Caldeira, 2017), justificando-se tal facto pelo aumento da superfície de contacto entre a madeira e a aguardente. Assim, quanto maior a superfície de contacto entre a fase sólida e o líquido maior a taxa de extração dos compostos fenólicos e maior a velocidade de envelhecimento.

Segundo Schwarz *et al.*, (2014), o uso de ultrassons causa um efeito de aumento da permeabilidade da aguardente nos fragmentos de carvalho, aumentando assim o nível de penetração do álcool e acelerando o processo de maturação do Brandy, verificando-se que através deste método é possível obter Brandy ao fim de 30 dias com características semelhantes às de um Brandy envelhecido de forma tradicional no mínimo em 6 meses.

Antes da utilização da madeira na maturação da aguardente, esta sofre um processo de queima que altera as suas propriedades à superfície facilitando a extração dos seus compostos durante o envelhecimento. A intensidade da queima pode ser classificada em três níveis: ligeira (115 – 125°C), média (200 – 215°C) e forte (220 – 230°C) (Amado, 2014). A queima tem ação sobre as macromoléculas da madeira. Por exemplo, a lenhina (um dos constituintes mais abundantes) degrada-se neste processo originando aldeídos cinâmicos e aldeídos benzoicos. A temperatura deste processo também favorece a transformação dos aldeídos fenólicos em ácidos fenólicos, sendo estes precursores de fenóis voláteis que são facilmente extraídos pela aguardente (Cruz, 2016). Durante o processo da queima ocorrem reações de Maillard, com a produção de cromóforos responsáveis pelos tons amarelos, laranjas, vermelhos e castanhos. Assim, quanto

maior a área superficial da madeira durante a torra (caso das lascas e das cascas), maior será a acumulação deste compostos passíveis de extração pela aguardente (Lino, 2013).

2.1.1.3. Compostos envolvidos na extração

Durante o envelhecimento da aguardente para além de ocorrer a extração de vários compostos da madeira também se verifica a evaporação de diversos compostos voláteis da aguardente. Este fator contribui para a diminuição do volume da aguardente, e na obtenção de um produto final com maior estabilidade, maior qualidade geral e um sabor mais suave e menos agressivo. Durante o processo de envelhecimento os principais compostos extraídos da madeira são compostos orgânicos, tais como os compostos furânicos, ácidos carboxílicos, fenóis voláteis, aldeídos fenólicos, latonas, açúcares, ácidos fenólicos, cumarinas, lenhinas e taninos (Amado, 2014). Ao longo do tempo de maturação os compostos extraídos podem reagir entre si ou com os compostos do destilado, sendo as reações de oxidação-redução, polimerizações, esterificações, acetilações e hidrólises, as mais comumente observadas (Macedo, 2015; Canas e Caldeira, 2017).

Durante a maturação os taninos são responsáveis pelas alterações da cor da aguardente que se torna mais saturada podendo obter uma tonalidade entre o citrino, palha, dourado ou topázio (Amado, 2014; Canas e Caldeira, 2017). Os ésteres e os flavonoides são considerados os principais responsáveis pela transformação do aroma mais agradável da aguardente. Os aldeídos fenólicos são marcadores das aguardentes envelhecidas, pois não se encontram presentes antes do envelhecimento. Os 4 aldeídos fenólicos mais abundantes neste produto são: o conideraldeído, o sinapaldeído, a vanilina e o siringaldeído (Amado, 2014). Com o aumento de ácidos neste processo, pode ocorrer uma subsequente diminuição do pH (Miranda *et al.*, 2008), no entanto se a evaporação dos ácidos voláteis for da mesma ordem de grandeza o valor de pH e da acidez total mantém-se estáveis.

2.1.2. Licor

Segundo o Regulamento (UE) 2019/787, o licor é uma bebida espirituosa com um “teor mínimo de produtos edulcorantes, expresso em açúcar invertido, de 100 g/L”, com um teor alcoólico mínimo de 15% e “produzida utilizando álcool etílico de origem agrícola, ou um destilado de origem agrícola, ou uma ou mais bebidas espirituosas, ou uma combinação dessas bebidas, edulcorada e à qual se adicionaram um ou mais aromatizantes, produtos de origem agrícola ou géneros alimentícios” (Regulamento (UE) 2019/787).

Essencialmente, um licor é a junção de um destilado alcoólico (que pode ser uma aguardente, ou aguardente envelhecida) com substâncias aromatizantes e edulcorantes (por exemplo o açúcar) (Teixeira *et al.*, 2005). A aromatização do licor pode ser feita através de uma mistura entre o destilado alcoólico e o composto aromatizante, que pode ser fruta, ervas aromáticas (Teixeira *et al.*, 2005) ou flores (Schmitzer, Mikulic-Petkovsek e Stampar, 2019), ocorrendo uma infusão do álcool no composto aromatizante com efeito de extração dos seus compostos de interesse como, por exemplo flavonoides. Este processo pode demorar algumas semanas a desenvolver. De seguida, procede-se a uma filtração e remoção dos sólidos, à adição de xarope de açúcar, à maturação do licor, clarificação e filtração e por fim ao engarrafamento (Teixeira *et al.*, 2005).

2.2. Valorização de produtos regionais

As regiões da Beira Interior, Trás-os-Montes e Alto Douro são caracterizadas pelo baixo desenvolvimento industrial e pelas elevadas taxas de desertificação. Estas regiões são conhecidas por produtos regionais como os frutos secos (castanha, amêndoa, avelã e a noz) e por espécies autóctones predominantes, como a carqueja. Neste contexto, a valorização destes produtos e subprodutos dos mesmos característicos destas regiões representam uma alta importância para o incentivo do desenvolvimento industrial e urbano, e o combate do despovoamento pela criação de novas atividades e oportunidades de negócio, criando novos postos de trabalho e carreiras profissionais.

2.2.1. Frutos secos

Os frutos secos são bastante valorizados na alimentação e a sua procura tem vindo a aumentar nos últimos anos. Só em 2018, Portugal rentabilizou uma produção de avelã, amêndoa, castanha e noz de 53 mil toneladas, sendo 34 mil toneladas correspondentes à fração comestível e as restantes 19 mil toneladas a cascas e películas. Assim, vemos que as cascas e películas correspondem a uma percentagem significativa, cerca de 36% da produção (Campos *et al.*, 2020).

As cascas dos frutos secos são um subproduto da indústria agroalimentar, que são consideradas como desperdício e, na maioria das vezes, o único destino é a sua utilização para a produção de energia pela queima ou a compostagem, tendo como consequências repercussões negativas na poluição ambiental (Vázquez *et al.*, 2009; Jahanban-Esfahlan e Amarowicz, 2018; Yuan *et al.*, 2018). Assim, é importante encontrar alternativas de valorização e da aplicação destes subprodutos noutras indústrias, inclusive na própria indústria alimentar,

de forma a promover a economia circular diminuindo os problemas ambientais que estes acarretam para as entidades produtoras e para o meio ambiente e conseqüentemente aumentando o retorno económico.

2.2.1.1. Casca de castanha

A casca da castanha (*Castanea sativa* Mill.) é dos subprodutos dos frutos secos mais caracterizada, tendo já sido identificada por conter compostos em quantidades interessantes para a indústria alimentar, tendo vários autores otimizado as condições de extração destes compostos para diferentes métodos, incluindo para a extração alcoólica (Vázquez *et al.*, 2009, 2013; Nazzaro *et al.*, 2012; Fernández-Agulló *et al.*, 2014; Braga *et al.*, 2015; Cerulli *et al.*, 2020). Os compostos identificados que apresentam maior importância para a indústria das bebidas espirituosas são os compostos fenólicos, os taninos e os flavonoides (Nazzaro *et al.*, 2012; Cerulli *et al.*, 2020).

Alguns estudos investigaram se as cascas da castanha continham taninos em quantidades consideráveis para serem utilizados como substitutos fenólicos na formulação de adesivos para colas. Estes verificaram que a extração de taninos ocorre melhor em condições de pH mais baixo (condição característica das aguardentes) e que o seu teor de compostos fenólicos e percentagem de taninos são significativamente relevantes (Vázquez *et al.*, 2008, 2009; Braga *et al.*, 2015). Noutro trabalho desenvolvido por Vázquez *et al.*, (2013), foram caracterizados os extratos das cascas da castanha, revelando que também contém diversos flavonoides em quantidades razoáveis.

2.2.1.2. Casca de noz

As cascas das nozes (*Juglans regia* L.) são um subproduto da indústria alimentar ao qual têm sido feitos estudos para a sua valorização na área da biorrefinaria, do seu potencial antimicrobiano e antioxidante e da sua utilização como agente fertilizante (Jahanban-Esfahlan e Amarowicz, 2018; Queirós *et al.*, 2020). Estes estudos analisaram a composição química das cascas das nozes, verificando que contém teores significativos de lenhina, compostos fenólicos, ácidos orgânicos, cetonas, derivados de furanos e piranos, ésteres, aldeídos como a vanilina, flavonoides, taninos condensados e açúcares.

2.2.1.3. Casca de amêndoa

As cascas de amêndoa (*Prunus dulcis* L.) têm sido objeto de estudo para valorização em diversas áreas, tais como: adsorventes (Li *et al.*, 2018), antioxidantes (Ebringerová *et al.*, 2008) e no tratamento da infeção fúngica de *Tinea capitis* (Thebo *et al.*, 2014). Os resultados

demonstraram que este subproduto é rico em lignina (29,54%) (Li *et al.*, 2018), tendo também na sua composição outros compostos em menor quantidade, mas com elevada importância tais como compostos fenólicos, açúcares (Ebringerová *et al.*, 2008), flavonoides e taninos condensados (Queirós *et al.*, 2020).

2.2.1.4. Casca de avelã

Estudos feitos às cascas de avelã (*Corylus avellana L.*) determinaram que contêm ácidos fenólicos, taninos (fração maioritária dos compostos fenólicos totais), hemicelulose, celulose, lignano e flavonoides (Contini *et al.*, 2008; Nazzaro *et al.*, 2012; Esposito *et al.*, 2017; Yuan *et al.*, 2018). Já foi também determinado que este subproduto possui propriedades antioxidantes (Contini *et al.*, 2008), anti-inflamatórias, anti-mutagénicas e atividade citotóxica (Esposito *et al.*, 2017).

Shataer *et al.*, (2020) extraíram com etanol 95%, teores significativos de fitoesteróis, ácido benzoico e derivados, ácido xiquímico, vanilina, ácidos fenólicos, flavonoides e outros.

2.2.2. Utilização de cascas de frutos secos no envelhecimento de aguardente

Tanto quanto é do nosso conhecimento não foram publicados estudos que avaliem o uso das cascas de frutos secos na indústria de bebidas espirituosas, nomeadamente no envelhecimento de aguardente vínica. Durante a pesquisa bibliográfica apenas foram encontradas duas patentes que mencionam o possível uso de cascas de frutos secos para o envelhecimento de bebidas, não evidenciando de forma limitante o uso solene das cascas, nem especificações técnicas da obtenção dos produtos deste trabalho. A primeira patente de Watson e Watson, (2009), refere o uso de diversos tipos de madeira como a amêndoa, castanha e noz, em formatos possíveis como cascas no uso de envelhecimento de diversas bebidas espirituosas, como o brandy, no entanto, definem um período de envelhecimento máximo de 3 meses e o uso conjunto da pressão pneumática para o aceleração do processo. A segunda patente de Hall *et al.*, (2016), refere o envelhecimento de bebidas espirituosas destiladas, como a aguardente ou o brandy, com teores alcoólicos entre os 40 e 57% com o uso adicional ou alternativo de cascas provenientes de frutos secos, não especificando qualquer tipo de fruto seco e limitando o método à aromatização pelo uso de pressão pneumática sem o contacto direto entre a bebida e os agentes envelhedores/aromatizantes.

Por outro lado, os estudos que existem sobre a caracterização das cascas dos frutos secos são escassos, tornando-se importante avaliar o seu potencial interesse de utilização de forma

mais aprofundada. A presença de certos compostos já identificados nas cascas dos frutos secos, como os taninos, compostos fenólicos, furanos, ácidos orgânicos, lenhinas e flavonoides, têm muito interesse para a indústria das bebidas espirituosas podendo proporcionar características aromáticas únicas para a produção de produtos inovadores e de elevada qualidade.

O envelhecimento da aguardente, como anteriormente referido, é um processo complexo em que a aguardente penetra no material sólido (como é o caso da madeira) para que ocorra a extração dos compostos aí presentes. É um processo que ocorre na presença de oxigénio (Cruz, 2016), com reações de oxidação inerentes ao desenvolvimento físico-químico da aguardente (Lino, 2013).

Neste contexto, será importante avaliar a influência dos compostos antioxidantes presentes nas cascas de castanha, noz, amêndoa e avelã durante o processo de maturação da aguardente por forma a analisar a potencialidade do uso destes subprodutos para uma aplicação mais nobre como é o caso do envelhecimento de aguardente vínica.

2.2.3. Carqueja

A carqueja (*Pterospartum tridentatum* L. Willk.) é uma planta que cresce com elevada facilidade nas montanhas de Portugal em forma de arbusto, e que na época da primavera (março a junho) desabrocha uma flor amarela aromática característica, vulgarmente denominada de flor de carqueja (Ferreira *et al.*, 2012; Pimenta, 2012).

A flor de carqueja é considerada “planta aromática medicinal” que não apresenta toxicidade para o consumidor em doses abaixo de 100 mg/kg (Martins, 2011). É utilizada como infusão para tratar a irritação da garganta, diabetes e para controlar a hipertensão, hipercolesterolemia, possuindo também um efeito diurético (Martins, 2011; Ferreira *et al.*, 2012; Pimenta, 2012). Estas funções derivam das características antioxidantes dos seus compostos fenólicos como os flavonoides que combatem os radicais livres que provém do stress oxidativo (Vitor *et al.*, 2004; Martins, 2011). Também pode ser utilizada como aromatizante em preparações culinárias de arroz ou carnes (Martins, 2011; Ferreira *et al.*, 2012).

Diversos estudos comprovaram que tanto os extratos aquosos como os etanólicos (50%) da flor de carqueja apresentam teores elevados de compostos fenólicos, sendo a sua maior concentração de flavonoides, como o ácido rosmarínico, luteolinas, isorhamnetina, derivados flavonoides glucosídicos, taxifolina, genistina, genisteína, prunetina, quercetinas, biocanina A, apigenina, entre outros (Vitor *et al.*, 2004; Ferreira *et al.*, 2012; Roriz *et al.*, 2014; Aires *et al.*,

2016). Estudos de caracterização desta planta, comprovam também que contém tocoferóis, açúcares em elevada quantidade (sendo o mais abundante a frutose), diversos ácidos orgânicos e óleos essenciais, como por exemplo os carotenoides (Martins, 2011; Roriz *et al.*, 2014). Segundo Luís *et al.*, (2009) o rendimento de extração de compostos fenólicos por via etanólica é de 28,61%.

2.2.4. Valorização da flor de carqueja na produção de licor

Em 2010, a flor de carqueja apresentou uma comercialização de cerca 3,3 toneladas em Portugal (Figueiredo, Pedro e Barroso, 2014). Denota-se que exibe uma importância considerável no setor económico, sendo importante avaliar outras utilizações para esta planta no ramo alimentar, como por exemplo o seu uso na indústria das bebidas espirituosas. Esta flor é popularmente utilizada na produção de licores artesanais, existindo no mercado um licor de carqueja artesanal da região de Castro Daire. No entanto não existem estudos realizados à composição química destes licores, nem a avaliação da sua qualidade e apreciação organolética.

A presença dos diversos flavonoides na flor desta planta torna-a altamente aromatizante e, por conseguinte, será interessante avaliar a sua capacidade aromática para a produção de licores. Assim, após o envelhecimento da aguardente vínica com as várias cascas dos frutos secos, pretende-se utilizar a aguardente com as melhores características organoléticas na produção de um licor de flor de carqueja através da sua infusão na aguardente.

3. Parte experimental

A componente experimental deste trabalho está dividida em dois ensaios distintos, mas que se complementam: o envelhecimento da aguardente vínica com cascas de frutos secos, e a produção de licor de flor de carqueja a partir da aguardente obtida.

3.1. Delineamento experimental

Relativamente à etapa de envelhecimento da aguardente, procedeu-se à caracterização das matérias-primas (aguardente vínica, casca de castanha, casca de noz, casca de amêndoa e casca de avelã), e da aguardente final envelhecida, de forma a aferir quais os compostos extraídos durante o processo de extração e respetivos rendimentos. A caracterização da aguardente envelhecida foi realizada mensalmente até aos seis meses, de forma a avaliar a eficácia e a velocidade de extração em comparação com os métodos tradicionais (barris de madeira) e alternativos (fragmentos madeira).

Os principais compostos analisados foram os taninos, os compostos fenólicos totais e os flavonoides. Ao longo do processo de envelhecimento foram também efetuadas análises de monitorização de pH, volume alcoométrico, acidez e características cromáticas. Através de provas sensoriais com provadores foram avaliadas as características organolépticas ao produto final, tendo esta análise sido complementada pela utilização das técnicas do “nariz eletrónico” e “língua eletrónica”. O perfil fenólico e os compostos voláteis foram também analisados com recurso a HPLC-DAD e GC-FID, respetivamente.

Na elaboração do licor foi utilizada a aguardente envelhecida com as melhores características, de forma a criar um produto de máxima qualidade. Nesta fase foi importante efetuar a caracterização da flor da carqueja usada para a produção do licor, de forma a determinar quais os principais compostos presentes e passíveis de extração. Neste caso os principais compostos analisados foram igualmente os fenólicos, os flavonoides e os taninos. Para além das análises realizadas à aguardente e que foram também aplicadas ao licor (pH, volume alcoométrico, características cromáticas e análise sensorial) avaliou-se também a sua viscosidade. O perfil fenólico foi igualmente caracterizado por HPLC-DAD-ESI/MSn, bem como os açúcares totais, ambos por HPAEC-PAD.

No envelhecimento da aguardente, avaliaram-se o efeito do tipo de cascas utilizadas e tempo de maturação (fatorial com 2 fatores) na qualidade da aguardente final. Testaram-se seis tipos (6 níveis) de material de envelhecimento (cascas de castanha, de noz, de amêndoa e de avelã, fragmentos de carvalho, e o controlo sem o uso de qualquer material). Relativamente ao

tempo de maturação foram avaliados também 6 níveis (30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias). No total foram recolhidas para análise 36 amostras ao longo do tempo e mais a amostra inicial (tempo 0) o que perfaz 37 amostras.

No ensaio de produção do licor, foi testado o tipo de processo e o tempo de envelhecimento. Para o processo de fabrico foi utilizada a aguardente envelhecida com melhor aceitação, e a flor de carqueja. Definiu-se o tempo de maturação inicial de 30 dias, e mais 10 dias após a remoção e filtração da flor de carqueja e da adição da calda. A amostra recolhida e avaliada neste ensaio foi apenas I, o licor final.

3.2. Materiais

3.2.1. Aguardente vínica

A aguardente utilizada neste estudo foi obtida por destilação descontínua de vinho na adega da Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Coimbra.

3.2.2. Material para o envelhecimento da aguardente

Para a realização do ensaio controlo utilizaram-se fragmentos de carvalho francês (Incanto NATURAL) não tostados fornecidos pela Enartis (Portugal). Segundo a ficha técnica do fornecedor este produto deve ser utilizado para maturação de bebidas alcoólicas, tais como vinhos, por um período de 18 a 36 meses. A proporção de sólido/líquido recomendada é de 1 a 4 g/L para vinhos brancos e de 1 a 6 g/L para vinhos tintos.

As cascas dos frutos secos: castanha, noz, amêndoa e avelã foram obtidas a partir dos frutos secos adquiridos em mercados da zona de Coimbra e do Fundão, cuja região de origem foi a da Beira Interior e Trás-os-Montes (Tabela I). As cascas foram separadas dos frutos com o auxílio de martelos, quebra-nozes e facas.

Tabela I – Lista das variedades e origem dos frutos secos utilizados.

Fruto	Variedade	Origem
Castanha	Grada	Beira Interior
Noz	Howard	Trás-os-Montes
Amêndoa	Molar	Trás-os-Montes
Avelã	Butler e Grada	Trás-os-Montes

3.2.3. Flor de carqueja

A carqueja foi recolhida na Serra da Gardunha, Fundão (Portugal), na época de floração (fins de maio de 2020), sendo posteriormente submetida a um processo de secagem natural ao ar e temperatura ambiente, à sombra, durante um período de 3 meses, tendo após este período sido reservada até uso posterior em saco de pano.

3.2.4. Amostras comerciais de aguardente e licor

Nas sessões de análise sensorial das aguardentes e do licor, foram utilizados dois padrões comerciais. Um de uma aguardente vínica envelhecida em madeira DOC (a única em Portugal) da Adega Cooperativa da Lourinhã com um período mínimo de envelhecimento de 5 anos (XO- extra old) (Cruz, 2016) e o outro de um licor de carqueja artesanal da região de Castro Daire, da empresa Vivências – Turismo e Eventos, com um diferente método de produção (junção de aguardente virgem com infusão de carqueja, mel e canela).

3.3. Procedimento Experimental

3.3.1. Preparação das cascas e fragmentos de madeira

As cascas e os fragmentos de madeira de carvalho submeteram-se a um processo de torra em forno elétrico à temperatura de 200°C durante 60 min (Queima Média).

As cascas e os fragmentos destinados ao envelhecimento da aguardente vínica foram utilizados tal qual, e os destinados à caracterização foram moídos num moinho de lâminas (SM100 RETCH) com um crivo de 1 mm.

3.3.2. Caracterização das cascas, fragmentos de madeira e da flor de carqueja

As cascas dos frutos secos, os fragmentos de madeira de carvalho francês e a flor de carqueja foram caracterizados quanto ao conteúdo em compostos fenólicos totais, flavonoides, taninos, perfil fenólico e açúcares (este último, só para a flor de carqueja).

Na extração dos compostos a quantificar foi utilizada uma solução etanólica com o teor alcoólico e pH iguais aos da aguardente vínica original (53% (v/v) e pH 2,05) para simular a extração com a aguardente. Utilizou-se uma proporção S/L de 0,05 g/mL, usando 1 g de material moído (cascas/lascas) para 20 mL de solução. A extração decorreu durante 180 min, à temperatura ambiente com agitação mecânica a 180 rpm (Caldeira, 2004; Lino, 2013).

Para a caracterização da composição da flor de carqueja utilizou-se uma proporção S/L de 0,2 g/mL, com a mesma solução etanólica descrita anteriormente. Posteriormente, os extratos obtidos foram filtrados, sendo a fração líquida utilizada diretamente para a determinação dos fenólicos totais, flavonoides, perfil fenólico e açúcares.

Para a quantificação dos taninos totais, a extração decorreu sob as seguintes condições: proporção S/L de 1,2 g para 100 mL da mesma solução etanólica (53% (v/v) e pH 2,05), agitação mecânica da mistura a 180 rpm durante 240 min, à temperatura ambiente (Atanassova e Christova-Bagdassarian, 2009). A solução final foi filtrada, centrifugada e a fração líquida foi utilizada para a determinação direta dos taninos.

Foi efetuada a determinação da massa seca das amostras: cascas, fragmentos, e da flor de carqueja. Efetuou-se a secagem de 5 g de amostra de cascas ou fragmentos em pó, ou da flor de carqueja numa placa de Petri em estufa a 105°C durante duas horas. De seguida, colocou-se a placa num exsiccador para arrefecer, pesou-se a amostra no final, e por diferença de massa entre a amostra inicial e a humidade perdida durante o processo de secagem, determinou-se o extrato seco das amostras.

3.3.3. Envelhecimento da aguardente

Para cada ensaio de envelhecimento da aguardente vínica utilizaram-se 5 L de aguardente e 250 g de cada tipo de material (cascas de castanha, de noz, de amêndoa, de avelã, e fragmentos de madeira). A proporção S/L utilizada neste trabalho foi a mesma que a indicada em Caldeira (2004), segundo a qual será a proporção ideal para simular o envelhecimento em barril de madeira num típico envelhecimento de aguardente em 6 meses. Esta mesma proporção também foi a aplicada nas extrações para a caracterização das matrizes estudadas e para comparação das taxas de extração.

Foram utilizadas vasilhas opacas de 15 L de capacidade com torneira. As cascas foram colocadas em sacos de rede para facilitar a sua remoção no final do processo, evitar o bloqueio da torneira para recolha de amostras com a deposição de sólidos, e diminuir a quantidade de sólidos suspensos na bebida final. As vasilhas foram agitadas uma vez por semana, e mensalmente foi retirada uma amostra de 300 mL para análise.

3.3.4. Preparação do Licor

A preparação do licor consistiu na pesagem de 300 g de flor de carqueja seca que foram humedecidas com uma pequena quantidade de água e colocadas numa vasilha de 3 L de capacidade com torneira. Juntou-se 1,5 L da aguardente envelhecida com cascas de amêndoa

(que foi a segunda aguardente que apresentou maior aceitação, como se verá mais à frente), fechou-se a vasilha e deixou-se macerar por 30 dias num local fresco e escuro. O recipiente foi agitado 1 vez por dia para ajudar a extração dos compostos da flor de carqueja e promover a homogeneização do licor. Após os 30 dias, o líquido foi filtrado com um pano. Em seguida, preparou-se uma calda de açúcar na proporção de 1:1 (m/v) numa panela sob chama até a calda chegar ao ponto “fio” (aproximadamente 110°C), no fim deixou-se arrefecer até aos $\pm 40^\circ\text{C}$ antes de se juntar ao líquido filtrado. Misturou-se bem e deixou-se o licor a maturar durante mais 10 dias, antes de se proceder à análise do mesmo.

3.4. Métodos Analíticos

3.4.1. Determinação do Título Alcoolométrico Volúmico, Acidez e pH

As bebidas alcoólicas produzidas foram analisadas quanto ao TAV, por densitometria no caso da aguardente vínica e aguardentes envelhecidas, e por ebulliometria (Acal, modelo 2, Porto) no caso do licor.

As acidez AT, AF e AV foram determinadas por titulação segundo o método da OIV-MA-BS-12 (OIV, 2019).

Relativamente à determinação do pH foi determinado por potenciometria segundo o método OIV-MA-BS-13 (OIV, 2019).

3.4.2. Determinação do Extrato seco

O extrato seco foi determinado segundo o método OIV-MA-BS-09 (OIV, 2019), para as aguardentes e para o licor. 25 mL da amostra foram pipetados para uma placa de Petri, que foram colocadas numa grelha suspensa sobre um banho de água em ebulição por duas horas. De seguida as placas foram transferidas para uma estufa a 105°C durante um período de mais duas horas. Por último, colocou-se cada placa num exsiccador para arrefecer, pesando-se no final. O extrato seco das amostras foi calculado.

3.4.3. Características cromáticas das bebidas

Foram determinadas a intensidade da cor e as características cromáticas L^* , a^* e b^* para todas as bebidas alcoólicas produzidas. Nesta avaliação seguiram-se os métodos OIV-MA-BS-26 e OIV-MA-BS-27 (OIV, 2019) para as amostras de aguardente envelhecida e para o licor.

A determinação da intensidade da cor foi efetuada num espectrofotómetro T80+ UV/VIS Spectrometer (PG Instruments Ltd.) com uma célula de vidro de 1 cm de percurso ótico, e a

absorvância da amostra foi lida no comprimento de onda de 445 nm, usando como branco a aguardente vínica não envelhecida.

No caso das características cromáticas utilizou-se o colorímetro CHROMA METER CT-320 (MINOLTA) com uma célula de vidro 2 mm, para determinação das coordenadas L*, a*, b*, do sistema CIEL*a*b*, utilizando também a aguardente vínica como referência.

3.4.4. Determinação dos compostos fenólicos, flavonoides e taninos

3.4.4.1. Compostos fenólicos totais

Os compostos fenólicos totais foram quantificados para todas as amostras segundo o método de Singleton e Rossi (1965) com o reagente Folin-Ciocalteu. Todas as amostras foram adequadamente diluídas, conforme a necessidade, com uma solução metanol:água (70:30) até um volume final de 200 µL, sendo misturadas num tubo de ensaio com 200 µL de reagente Folin-Ciocalteu e 1,6 mL de 5% Na₂CO₃. As amostras ficaram em banho-maria a 40°C por 20 min, e posteriormente a absorvância foi lida a 750 nm no espectrómetro (T80 + UV/VIS Spectrometer). O branco foi realizado com metanol 70:30.

A curva de calibração para o método foi realizada com o padrão ácido gálico (SIGMA-ALDRICH; CAS: 149-91-7), com concentrações entre 0,00 e 0,05 mg/mL. Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico por volume da amostra (mg EAG/mL de amostra).

3.4.4.2. Flavonoides totais

Os flavonoides totais foram quantificados seguindo o método de Kim *et al.* (2003). Todas as amostras foram adequadamente diluídas, conforme necessário, com uma solução de metanol:água (50:50) até um volume final de 1 mL num tubo de ensaio, sendo o branco realizado apenas com o metanol 50:50. Adicionaram-se 4 mL de água bidestilada antes do início da reação com a adição de 0,3 mL de NaNO₂ (5%), 0,3 mL de AlCl₃ (10%), 2 mL de NaOH 1M e 2,4 mL de água bidestilada. Posteriormente foi lida a absorvância da solução a 510 nm no espectrómetro (T80 + UV/VIS Spectrometer).

A curva de calibração para o método foi calculada com o padrão epicatequina (SIGMA-ALDRICH; CAS:225937-10-0, ≥ 98%) nas concentrações de 0,0 e 0,2 mg/mL. Os resultados foram expressos em mg de equivalente de catequina por volume de amostra (mg ECAT/mL).

3.4.4.3. Taninos totais

Os taninos totais foram quantificados pelo método trimétrico (The International Pharmacopeia, 2003) e da AOAC 30.018 (AOAC, 1980), descrito por Atanassova & Christova-Bagdassarian (2009).

25 mL da amostra, previamente pesados, foram colocados num balão de Erlenmeyer de 1 L de capacidade, ao qual foram também adicionados 25 mL de solução indigo-carmim e 750 mL de água destilada. Foi iniciada a titulação com uma solução aquosa de 0,1 N de KMnO_4 , até a cor azul passar para verde. Depois terminou-se a titulação gota a gota até a cor ficar amarelado-dourado, registando-se nesse ponto o volume titulado.

A preparação da solução do indicador indigo-carmim consistiu em dissolver 6 g de indigo-carmim em 500 mL de água destilada por aquecimento. Após arrefecer foram adicionados 50 mL de H_2SO_4 (95-97%), diluiu-se a solução para 1 L e filtrou-se. A amostra “Branco” consistiu na titulação de 25 mL da solução indigo-carmim e 750 mL de água destilada. O teor de taninos totais foi expresso em mg equivalente de taninos por grama de amostra (mg ET /g de amostra).

3.4.5. Identificação e quantificação dos compostos de baixa massa molecular

3.4.5.1. Análise dos compostos fenólicos dos extratos das cascas, fragmentos e das aguardentes

A quantificação dos compostos fenólicos foi feita para os extratos das cascas/lascas, para a aguardente vínica e para as aguardentes envelhecidas. A aguardente comercial foi igualmente analisada para servir de termo de comparação.

Com a exceção do extrato das lascas de carvalho, as amostras dos extratos das cascas, obtidos conforme descrito no ponto 3.3.2., e antes de analisados por HPLC-DAD, foram centrifugados, evaporados num rotavapor (R-210, Buchi), e os extratos resultantes foram liofilizados (UNIXRYO MC 41- 60°C, Uniequip) durante 72h. De seguida, 25 mg desses extratos liofilizados foram dissolvidos com 1 mL de metanol a 50%, tendo a solução sido transferida para um vial para posterior análise.

As amostras de aguardente e do extrato das lascas de carvalho (1 mL acondicionado num vial) foram injetadas diretamente no equipamento.

Os compostos fenólicos foram analisados com recurso a um HPLC-DAD (Vanquish Core, Thermo Fisher Scientific), através do protocolo descrito por Arenas *et al.* (2021). A fase

estacionária utilizada foi uma coluna C-18 (250 mm x 4,6 mm, 5 µm tamanho de partícula, LiChroCART, Merck). O volume de injeção foi de 25 µL.

A curva de calibração com o ácido gálico foi usada para a quantificação do ácido elágico e de todos os outros compostos fenólicos não identificados. A solução-mãe foi preparada pesando para um Eppendorf 1 mg do composto padrão e adicionado 1 mL de metanol. Retirou-se 100 µL dessa solução para um vial e fez-se o volume de 1 mL com água destilada, de modo a ficar com uma concentração final de 0,1 mg/mL. A partir destas soluções mãe prepararam-se soluções padrão para determinar as curvas de calibração com as seguintes concentrações: 0,02; 0,04; 0,06; 0,08 e 0,10 mg/ mL. Os compostos analisados, os seus tempos de retenção e o comprimento de onda estão indicados na Tabela 2. Todos os compostos padrão foram adquiridos Sigma Aldrich, à exceção da epicatequina, que é da Extrasynthese. As análises foram realizadas em duplicado para as amostras das aguardentes e em triplicado para os extratos.

Tabela 2 – Compostos fenólicos analisados por HPLC-DAD, tempo de retenção (TR(min)) e comprimento de onda para análise.

Composto	TR (min)	λ_{max} (nm)
Ácido gálico	5,34	
HMF	9,30	
Furfural	12,90	
Catequina	14,52	
Ácido vanílico	20,50	280
Ácido siringico	23,80	
Vanilina	24,93	
Ácido elágico	37,73	
Ácido caftárico	12,70	
Ácido coumárico	27,52	325
Ácido ferúlico	31,47	

3.4.5.2. Análise do perfil fenólico da carqueja

O perfil fenólico da flor de carqueja foi avaliado através da análise dos extratos da flor e do licor. A aguardente vínica e a aguardente envelhecida (4 meses) com casca de amêndoa, foram igualmente analisadas para servirem de termo comparativo ao licor.

O perfil fenólico foi determinado por recurso a um HPLC-DAD-ESI/MSⁿ (Dionex Ultimate 3000 UPLC, Thermo Scientific, San Jose, CA, USA). Os compostos foram separados e identificados segundo o procedimento anteriormente descrito por Bessada *et al.* (2016).

As amostras foram redissolvidas a uma concentração de 50 mg/mL com etanol:água 80:20. Ocorreu uma dupla deteção *online* com recurso ao DAD (sendo 280, 330 e 370 nm os comprimentos de onda preferenciais) e com um espectrómetro de massa (MS). O MS foi realizado em modo negativo, utilizando o espectrómetro de massa Linear Ion Trap LTQ XL (Thermo Finnigan, San Jose, CA, USA) equipado com uma fonte ESI.

Os compostos fenólicos foram identificados ou pelo seu comportamento cromatográfico, banda UV-vis e espectro de massa, comparando os resultados com o do composto padrão (quando disponível), ou pelo recurso à literatura. Estes encontram-se apresentados mais adiante na Tabela 14.

A aquisição de resultados foi executada pelo sistema Xcalibur[®] (Thermo Finnigan, San Jose, CA, USA). As curvas de calibração para cada padrão fenólico foram construídas com base no seu sinal UV-vis e os compostos correspondentes das amostras analisadas foram quantificados. Para os compostos das amostras sem padrão comercial disponível, a sua quantificação passou pela utilização das curvas de calibração cujo padrão disponível fosse o mais semelhante. Os resultados foram expressos em mg/L de amostra.

3.4.5.3. Análise dos compostos voláteis

Todas as amostras de aguardente (vínica, envelhecidas e a comercial), também utilizadas na prova de análise sensorial, foram analisadas para a identificação e quantificação dos compostos voláteis, seguindo as normas descritas no anexo III.2 do Regulamento (CE) 2870/2000.

Os compostos voláteis foram analisados por GC-FID (Trace GC Ultra Thermo Fisher Scientific). Foi utilizada uma coluna capilar Carbowax 20M (SUPELCOWAX 10, 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm, Supelco, Sigma). Os compostos analisados foram: 2-metil-1-propanol (AnalaR), 1-propanol (Fluka), 1-butanol (Labscan), acetaldeído (Riedel de Haën), 2-butanol (BDH), acetato de etilo (CarloErba), acetal (Sigma), etanol e metanol (Honeywell). O padrão interno utilizado foi o 1-pentanol (Fluka).

Como gás vetor, foram utilizados o Ar (fluxo 350 mL/min) e o Hidrogénio (fluxo 35 mL/min). O fluxo utilizado foi de 0,8 mL/min e o programa de temperaturas foi o seguinte: temperatura inicial 40°C durante 10 minutos, aumentando a 5 °C/min até aos 90°C, seguido de um aumento de 30°C/min até à temperatura final de 250°C que foi mantida durante 6 min. A temperatura do detetor foi de 250°C e a temperatura do injetor foi mantida a 250°C, com uma razão de split de 50:1. O volume de amostra injetado foi de 1 µL. As análises foram realizadas em duplicado.

3.4.5.4. Análise açúcares totais

Os açúcares totais foram quantificados para as amostras: aguardente vínica, aguardente envelhecida com casca de amêndoa (4 meses), licor de carqueja e extrato de carqueja. As amostras foram diluídas com água numa proporção de 1:5, tendo sido a solução transferida para um vial para posterior análise.

A análise foi realizada por HPAEC-PAD (ICS-3000, Dionex). A separação dos açúcares foi feita utilizando uma coluna CarboPac I00 (250 mm x 3 mm), com uma pré-coluna CarboPac I00 e foram usados 3 eluentes: A – 2 mM Ba(OH)₂; B – 1M acetato de sódio em 2 mM Ba(OH)₂ e; C – 500 mM de NaOH em 2 mM de Ba(OH)₂. O programa utilizado foi o seguinte:

- 70% A, 0% B e 30% C (aos 0 min);
- 30% A, 40% B e 30% C (aos 81 min);
- 100% C (limpeza durante 10 min);
- 70% A e 30% C (equilíbrio durante 15 minutos).

O volume de injeção foi 100 µL, o fluxo foi de 1,0 mL/min e a temperatura da coluna foi mantida a 35°C. Os eluentes foram sempre mantidos sob corrente de azoto de modo a reduzir a formação de carbonatos e impedir a contaminação biológica.

O detetor eletroquímico consiste num eléctrodo de trabalho de Au, num eléctrodo de referência Ag/AgCl e num eléctrodo auxiliar de Ti. A *waveform* da célula foi a seguinte: + 0,050 V de 0,00 a 0,20 s, + 0,750 V de 0,41 a 0,60 s, e – 0,150 V de 0,61 a 1,00 s (fim do ciclo). A região de integração foi a de 0,20 a 0,40 s.

A solução-mãe foi preparada, pesando-se 400 mg de glucose, 400 mg de frutose, 400 mg de sacarose e 400 mg de maltose para um balão de 200 mL, perfazendo-se o volume com água ultrapura, ficando com uma solução a 2000 mg/L. A partir desta solução mãe prepararam-se soluções padrão para as curvas de calibração com as seguintes concentrações: 1; 2,5; 5; 10; 25; 50; 100; 200; 250; 500; 750; 1000; 1250; 1500; 2000 mg/L. Os açúcares analisados foram a frutose, maltose, sacarose (fornecidos pela Sigma) e a glucose (adquirido pela Merck).

3.4.6. Viscosidade

A viscosidade do licor de flor de carqueja foi medida por um viscosímetro rotativo (BROOKFIELD AMETEK – DV2T viscometer). Os parâmetros utilizados para a análise, foram selecionados mediante uma série de testes a fim de obter o melhor resultado em termos de nível de torque (>90%). Assim, utilizou-se o spindle RV-1, com uma velocidade de rotação de

150 rpm, um torque médio de 94,2% e uma exatidão de 26,67. A análise foi efetuada à temperatura média de $19,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$.

3.4.7. Nariz Eletrónico e Língua Eletrónica

As aguardentes envelhecidas (6 meses) foram analisadas com recurso ao “nariz eletrónico” e à “língua eletrónica”, que são equipamentos compostos por sistemas multisensores químicos ou eléctrodos, e sistemas eletrónicos associados à inteligência artificial, numa tentativa de diferenciação das aguardentes. Estes equipamentos estão equipados com diversos sensores ou eléctrodos que mimetizam o funcionamento do olfato e da língua humana, sendo assim capazes de detetar odores e sabores através de sinais eletroquímicos. Os sinais são processados por métodos estatísticos multivariados, que se traduzem numa análise qualitativa (classificação e discriminação de amostras) ou quantitativa (determinação da concentração de compostos) (Marx, 2016).

3.4.7.1. Nariz Eletrónico

O equipamento do nariz eletrónico (E-nose) consiste num sistema olfativo multisensor (Teixeira *et al.*, 2021). O sistema é composto por várias unidades, nomeadamente: uma placa de aquecimento, uma unidade com MOS, válvulas e bombas de vácuo e sistemas de aquisição de dados Agilent (modelo 34970A) controlado pelo software Agilent Benchlink Data Logger. O sistema MOS engloba na totalidade 9 sensores específicos. Os gases alvo detetados por cada sensor são os seguintes:

1. Contaminantes gerais do ar;
2. Contaminantes gerais do ar;
3. Butano, gás liquefeito de petróleo;
4. Metano, gás natural;
5. Butano, gás liquefeito de petróleo (com filtro de carbono);
6. Metano, gás natural (com filtro de carbono);
7. Metano, propano, isobutano;
8. Amónia;
9. Vapores de solventes orgânicos.

Os compostos voláteis são adsorvidos à superfície dos sensores, ocorrendo modificações das propriedades eléctricas dos mesmos, estas modificações traduzem-se em sinais eléctricos captados pelo sistema de aquisição de dados que são convertidos em sinais digitais únicos.

Cada tipo de aguardente foi analisado 5 vezes, tendo-se seguido uma ordem aleatória de forma a evitar o enviesamento dos resultados. 125 µL de cada amostra foram pipetados diretamente para um vial próprio, sendo este colocado no compartimento da amostragem, onde é aquecido por 13 minutos a 28°C, de forma a volatizar os compostos aromáticos. Após o aquecimento, cada amostra era corrida por 2 minutos, sendo os sinais elétricos captados de 4 em 4 s pelo detetor que se encontrava a 35°C. Entre cada análise era efetuada uma corrida de limpeza durante 13 min com nitrogénio (UN 1066, Linde 089 cyl 02/15).

Os sinais elétricos correspondem à resistência elétrica, sendo registados 37-38 sinais durante a corrida. Destes sinais os parâmetros avaliados da corrida são:

- a. **Último ponto** – correspondente ao sinal mais estável da corrida.
- b. **Curva de integração** – área abaixo da curva dos sinais calculada pelo método de integração de Simpson.
- c. **Ponto máximo** – sinal com valor máximo registado na corrida.
- d. **Ponto mínimo** – sinal com valor mínimo registado na corrida.
- e. **Soma** – soma de todos os sinais da corrida.
- f. **Média** – soma dos sinais dividido pelo número de sinais da corrida.
- g. **Desvio padrão** – desvio padrão da curva de integração.

Os sinais elétricos foram estatisticamente avaliados por LDA.

3.4.7.2. Língua Eletrónica

O equipamento da língua eletrónica (E-tongue) (Marx *et al.*, 2021), consiste num sistema potenciométrico com dois elétrodos. Cada elétrodo contém 20 membranas sensoriais poliméricas lipídicas com sensibilidade cruzada (40 sensores no total), com uma mistura de compostos aditivos (octadecilamina, álcool oleílico, cloreto de metiltriocetilamónio e ácido oleico), de plastificantes (adipato de bis(1-butilpentilo), sebacato de dibutilo, 2- nitrofeniloctil éter, fosfato de 2-etil-hexilo e fosfonato de dioctilfenilo). A E-tongue está interligada a um sistema de aquisição de dados Agilent (modelo 34970 A), sendo este controlado através do software Agilent Benchlink Data Logger.

Cada tipo de aguardente foi analisado 5 vezes, tendo-se seguido uma ordem aleatória de forma a evitar o enviesamento dos resultados. As amostras foram diluídas com água desionizada antes da análise, com uma proporção de 20 mL de aguardente e 80 mL de água desionizada. Durante a análise os elétrodos foram completamente submersos pela amostra que foi submetida a agitação magnética durante 5 minutos. Entre cada ensaio a LE era lavada com água

desionizada sendo imersa numa solução de HCl 0,01M para limpeza no final das leituras. Os ensaios decorreram à temperatura ambiente.

Os sinais potenciométricos foram estatisticamente avaliados por PCA e LDA.

3.4.8. Provas sensoriais

Decorreram duas sessões de análise sensorial: uma para as aguardentes e outra para o licor.

Realizou-se em primeiro lugar a prova das aguardentes para ter em consideração esses resultados aquando da escolha da aguardente a ser utilizada na produção do licor. Nesta prova foram analisadas 7 amostras: aguardente vínica (sem envelhecimento), aguardentes envelhecidas com fragmentos carvalho, cascas de castanha, cascas de noz, cascas de amêndoa e cascas de avelã e a aguardente comercial DOC da adegua cooperativa da Lourinhã.

Na segunda prova foram avaliadas 3 amostras: aguardente utilizada na produção do licor (com melhor aceitação na prova anterior), licor de flor de carqueja produzido para a presente investigação e o licor de carqueja artesanal da região de Castro Daire.

As provas sensoriais foram efetuadas por painel não treinado, convidando-se a participar o público geral que apreciasse aguardente. Esta opção deveu-se ao facto deste trabalho decorrer durante a pandemia COVID-19, o que limitou a possibilidade de utilização dum painel de provadores treinados ou a treinar e que se pudesse deslocar de forma regular para as provas.

As provas aplicadas foram provas afetivas, com a utilização de uma escala hedónica de 1 a 7 pontos, onde 1- Não gostei e 7- Gostei muito. Os atributos avaliados foram: a cor, o aroma, o sabor, e a apreciação global das amostras. Relativamente ao sabor avaliou-se também a intensidade dos parâmetros doce, amargo e teor alcoólico (2ª prova), numa escala de intensidade de 1- nada intenso a 7- muito intenso. No Anexo I encontra-se a folha de prova da sessão das aguardentes como referência.

Por fim, aproveitou-se o momento da prova sensorial para questionar os provadores sobre a sua intenção de compra face às amostras apresentadas, podendo estes indicar quais as que compraria e as que não compraria.

Na prova sensorial às aguardentes (1ª sessão), o número total de provadores foi de 62, com idades compreendidas entre os 18 e os 67 anos. Na prova sensorial aos licores (2ª sessão) o número de provadores totalizou os 57, com idades compreendidas entre os 18 e os 61 anos.

As provas foram realizadas na sala de análise sensorial da Escola Superior Agrária de Coimbra, devidamente equipada com nove cabines de prova. A cada provador, em cada prova, foram

apresentadas todas as amostras de uma só vez em copos de shot transparentes com um volume de 15 mL que foram tapados para evitar a evaporação e mistura de aromas. Durante as provas cada provador tinha à sua disposição um copo de água para limpar o palato entre cada amostra e um guardanapo. As provas decorreram durante a parte da manhã, pois, segundo a literatura, este horário revela a vantagem de o provador de encontrar num maior estado de saciedade e ter uma maior adaptação do olfato (Cruz, 2016).

3.5. Análise estatística

Todos os resultados da caracterização físico química (TAV, acidez, pH, extrato seco, características cromáticas, compostos fenólicos, flavonoides, taninos e compostos de baixa massa molecular) são apresentados no formato de médias e desvio padrão, calculados em folha de cálculo Excel (Tabelas 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 e 15 e Figuras 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 e 13).

No caso dos resultados obtidos através das técnicas com o nariz e língua eletrónica foi efetuada uma análise de componentes principais (PCA), aplicada como um método sem supervisão de classificação multivariada para assegurar a validação da análise sensorial das aguardentes. Os resultados são apresentados num gráfico 3D em função dos três primeiros componentes principais (PC) (Figura 19). A análise discriminante linear (LDA) foi aplicada como um método supervisionado de classificação multivariada para assegurar a validação da análise sensorial das aguardentes. Os resultados são apresentados em gráficos 2D (Figura 17 e 18). Os conjuntos dos melhores sensores foram selecionados por uma simulação de reconhecimento (SA) meta-heurística e a validação interna foi avaliada pelo procedimento “leave-one-out cross-validation” (LOO-CV), tendo em consideração a sensibilidade (percentagem de amostras corretamente identificadas). A análise estatística foi realizada com recurso aos pacotes Sub-select e MASS disponíveis no programa estatístico open-source R (versão 2.15.1) com um nível de significância de 0,05 (Marx *et al.*, 2021; Teixeira *et al.*, 2021).

Para as provas sensoriais a avaliação dos diversos parâmetros é apresentada no valor das médias calculadas em folha de cálculo Excel e apresentadas em gráficos radar (Figuras 14, 15 e 20), enquanto os resultados da intenção de compra foram apresentados em gráficos de barras correspondentes à soma das respostas (Figuras 16 e 21).

4. Apresentação e Discussão de Resultados

Neste capítulo são apresentados e discutidos todos os resultados da caracterização físico-química e da avaliação sensorial das aguardentes e do licor.

4.1. Caracterização das cascas de frutos secos, fragmentos de madeira de carvalho e da flor de carqueja

A Figura 1 apresenta os resultados do teor de sólidos totais e o teor de humidade das cascas de frutos secos, dos fragmentos de madeira de carvalho e da flor de carqueja. Podemos observar que materiais com menor teor de humidade são as cascas de noz e as de castanha, seguidas das cascas de amêndoa com valores bastante próximos dos fragmentos de madeira. As cascas de avelã foram as que apresentaram valores mais elevados de humidade de entre as cascas. A flor de carqueja foi o material que apresentou maior teor de humidade 7,51% pois é menos denso e mais poroso e com maior capacidade de absorver humidade.

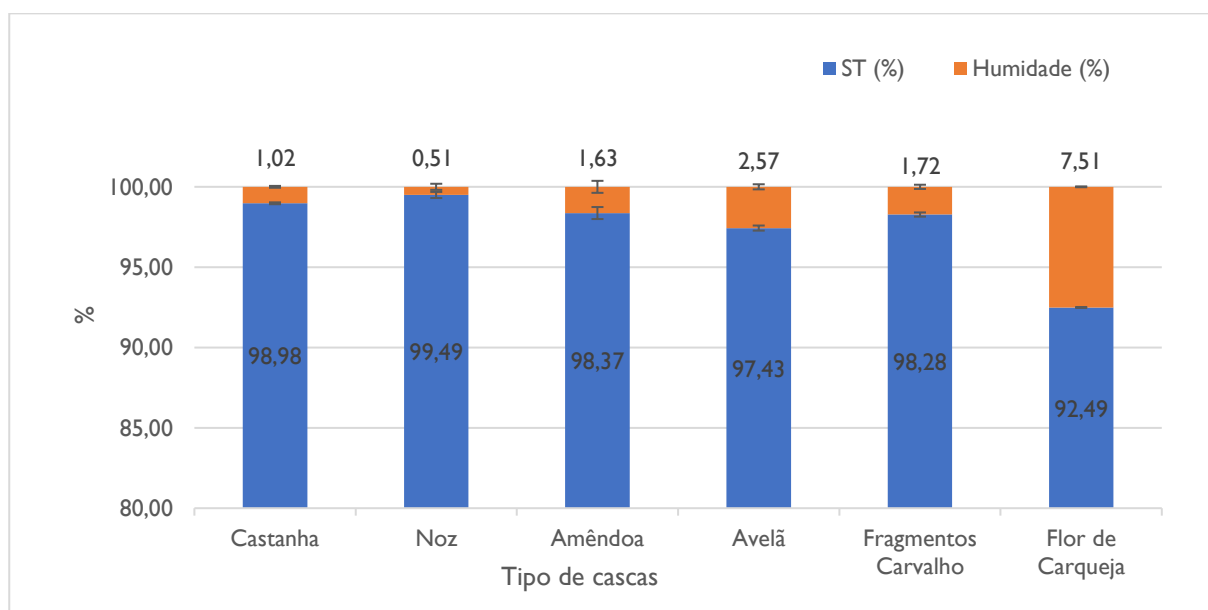


Figura 1 – Sólitos totais (ST) e Humidade dos diferentes tipos de cascas de frutos secos, dos fragmentos de madeira de carvalho e da flor de carqueja.

A Figura 2 mostra os diferentes rendimentos de extração das diferentes matrizes utilizadas para a recuperação dos compostos de interesse segundo as condições de extração mencionadas em 3.3.2 e que mimetizam as condições de produção das aguardentes envelhecidas e do licor. Relativamente ao caso do uso das cascas de frutos secos e dos

fragmentos de madeira, segundo Caldeira (2004) e Lino (2013) estas condições simulam o envelhecimento de aguardentes vínicas em 6 meses.

Pela Figura 2 vemos que as matrizes das cascas de frutos secos e dos fragmentos de madeira de carvalho apresentaram rendimentos semelhantes entre si, tendo-se verificado um maior rendimento de extração para as cascas de castanha (16,49%) e o valor mais baixo para as cascas de avelã (9,33%). Podemos igualmente verificar que a porosidade entre as diversas matrizes afeta no seu rendimento de extração, sendo que matrizes mais porosas apresentam rendimentos mais elevados, como foi o caso da casca de castanha, a casca de amêndoa (12,29%) e os fragmentos de carvalho (12,30%), e matrizes menos porosos mostram um rendimento de extração mais reduzido pela maior dificuldade da penetração do solvente, tal como observado para as cascas de avelã e para as cascas de noz (10,51%). Trabalhos anteriores, demonstram rendimentos de extração para as cascas de castanha, bastante inferiores aos observados, sendo que Fernández-Agulló *et al.* (2014) para o mesmo solvente (etanol 50%) e condições de extração semelhantes (25°C, agitação 90 rpm e 60-120 min) apresentou um rendimento de extração de apenas 4,17%. Vázquez *et al.* (2008), em condições de ebulição do solvente e com um tempo de extração de 2h, obteve um rendimento de extração de 8,28%, qua ainda assim é cerca de metade do obtido neste trabalho para esta matriz (16,49%). Nazzaro *et al.* (2012) reportam igualmente rendimentos de extração baixos com solventes metanólicos e tempos de extração superiores (5 dias) para cascas de castanha (máximo 9,29%) e cascas de avelã (máximo 2,30%).

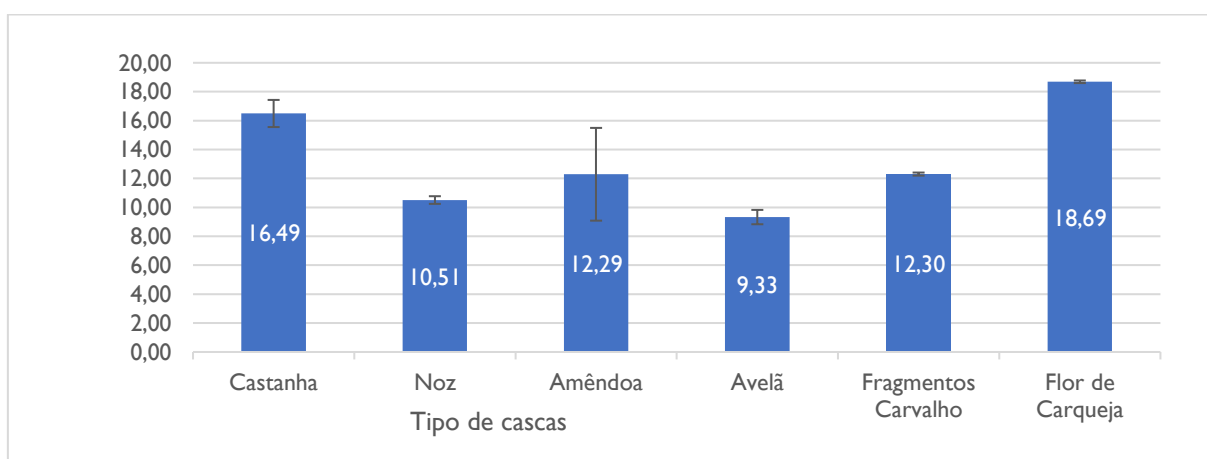


Figura 2 – Rendimento de extração (%) em etanol 53% para cada tipo de cascas de frutos secos (0,05 g/mL), fragmentos de madeira de carvalho (0,05 g/mL) e flor de carqueja (0,2 g/mL).

Queirós *et al.*, (2020), seguiram um método de extração que envolvia o uso de diferentes solventes de forma sucessiva (diclorometano, etanol e água), tendo conseguido um rendimento de extração total de 10,6% para a casca de noz (3,1% da extração com etanol) e 5,7% para a casca de amêndoa (1,6% da extração com etanol). Para o caso da casca da noz o rendimento de extração total foi relativamente semelhante ao obtido neste trabalho (10,51%) no entanto, o mesmo não se verificou para a casca de amêndoa, que apresenta o dobro do rendimento (12,29%) para as condições de extração e solvente, usadas no presente trabalho. Os rendimentos de extração parecem aumentar quando o solvente é alcalino, Vázquez *et al.*, (2009) mostraram rendimentos de extração entre 14,6 e 49,4% para a casca de castanha, e Ebringerová *et al.*, (2008) obtiveram para a casca da amêndoa valores entre os 25 e os 30%.

Já a flor de carqueja apresentou um rendimento de extração de 18,69% e também o mais elevado neste estudo. Este resultado é semelhante ao de trabalhos anteriores feitos com extratos aquosos de flor de carqueja da mesma região (Gardunha, Portugal), com valores de 17,3% e 18,1% (Coelho, 2015), e de 17,20% (Pimenta, 2012). Em contraste, foram reportados rendimentos de extração superiores (28,61%) para extratos alcoólicos de carqueja da região da Serra da Estrela (Portugal), próxima à deste trabalho (Luís *et al.*, 2009).

Para além do rendimento de extração estar intrinsecamente correlacionado com as condições de extração, a subespécie de carqueja usada e a região de crescimento, bem como o seu ambiente e microclima, parecem influenciar o desenvolvimento de certos compostos mais propícios à extração, o que contribui para as diferenças no rendimento de extração.

4.2. Características físico-químicas das aguardentes

4.2.1. Extrato seco

A Figura 3 representa a evolução do extrato seco (g/L) das diferentes aguardentes durante os 6 meses de envelhecimento. Av, apesar das ligeiras oscilações, manteve o seu extrato seco em valores extramente baixos ($\leq 0,67$ g/L) e estáveis ao longo de todo o processo, não se verificando nenhum depósito considerável dos resíduos da destilação. Para as restantes aguardentes verifica-se que o aumento do extrato seco ocorreu praticamente no primeiro mês de envelhecimento, sendo que nos restantes meses este valor manteve-se geralmente estável, verificando-se apenas nalguns casos um pequeno aumento. Nas aguardentes o extrato seco aumentou devido à extração dos compostos das respetivas cascas de frutos secos e fragmentos de carvalho e pela degradação da lenhina, celulose e hemicelulose (Amado, 2014).

Exemplos da literatura relativamente às aguardentes, demonstram que valores típicos de extrato seco mantêm-se nos 0,37 – 0,53 g/L (Cruz, 2016); 1,44 – 3,33 g/L (Canas *et al.*, 2019) e 0,79 – 5,65 g/L (Caldeira, 2004), mesmo em aguardentes com envelhecimento mais prolongado, e que se encontram dentro da gama de valores encontrados neste estudo, com exceção da aguardente envelhecida com cascas de castanha, que neste caso apresenta valores superiores (6,71 g/L).

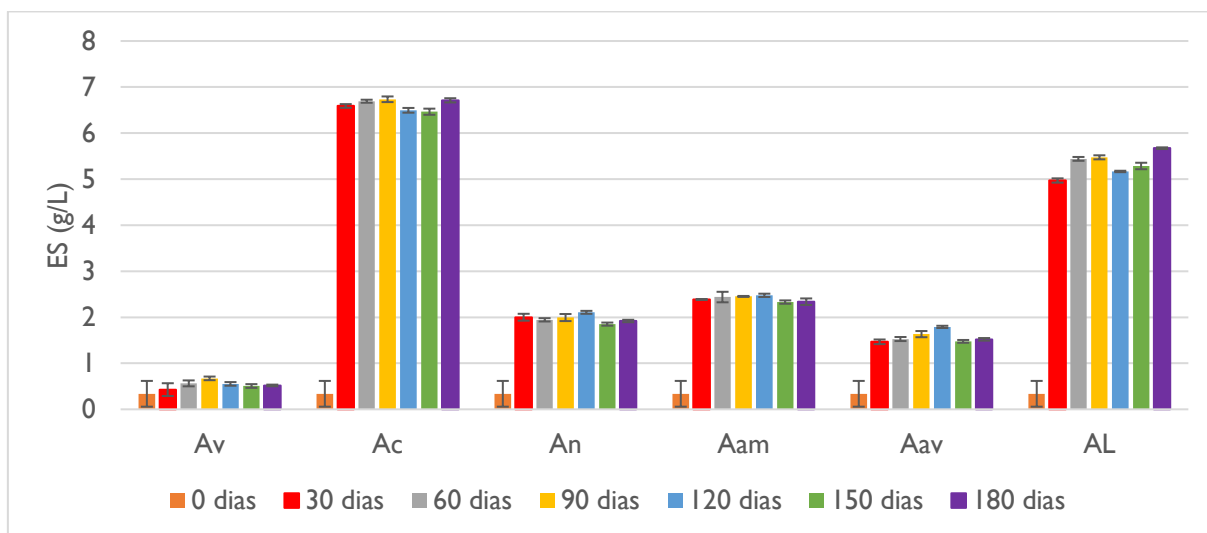


Figura 3 – Extrato seco (ES, g/L) da aguardente vínica (Av) e das aguardentes envelhecidas com cascas de castanha (Ac), noz (An), amêndoa (Aam), avelã (Aav) e fragmentos carvalho (AL) ao longo de 6 meses de envelhecimento.

4.2.2. pH

A Figura 4 representa a evolução do pH das diferentes aguardentes ao longo do envelhecimento. Durante os 6 meses de estudo efetuaram-se análises de controlo à aguardente vínica (Av) para aferir a possibilidade de ocorrência de reações secundárias no envelhecimento das restantes aguardentes, que derivassem exclusivamente da aguardente e não do processo de maturação com as cascas ou fragmentos de madeira.

Na Figura 4 observamos que a amostra Av apresentou uma ligeira subida no pH durante os 6 meses, mantendo-se genericamente sempre abaixo das restantes amostras, com exceção dos resultados para a aguardente envelhecida com fragmentos de madeira no 3º e 4º meses.

Verificou-se igualmente um aumento do pH ao longo do tempo de maturação para as restantes aguardentes Ac, An, Aam, Aav e AL com valores acima dos verificados para a Av ao fim dos 6 meses. A subida de pH ao longo do processo de maturação das aguardentes deve-se à evaporação de ácidos voláteis que acaba por estabilizar o produto e melhorar as suas características organoléticas (Amado, 2014).

Apesar de teoricamente ser esperada uma descida do valor de pH ao invés da subida observada, verifica-se que estes valores se mantêm dentro dos valores tipicamente observados na literatura para as aguardentes (Cruz, 2016).

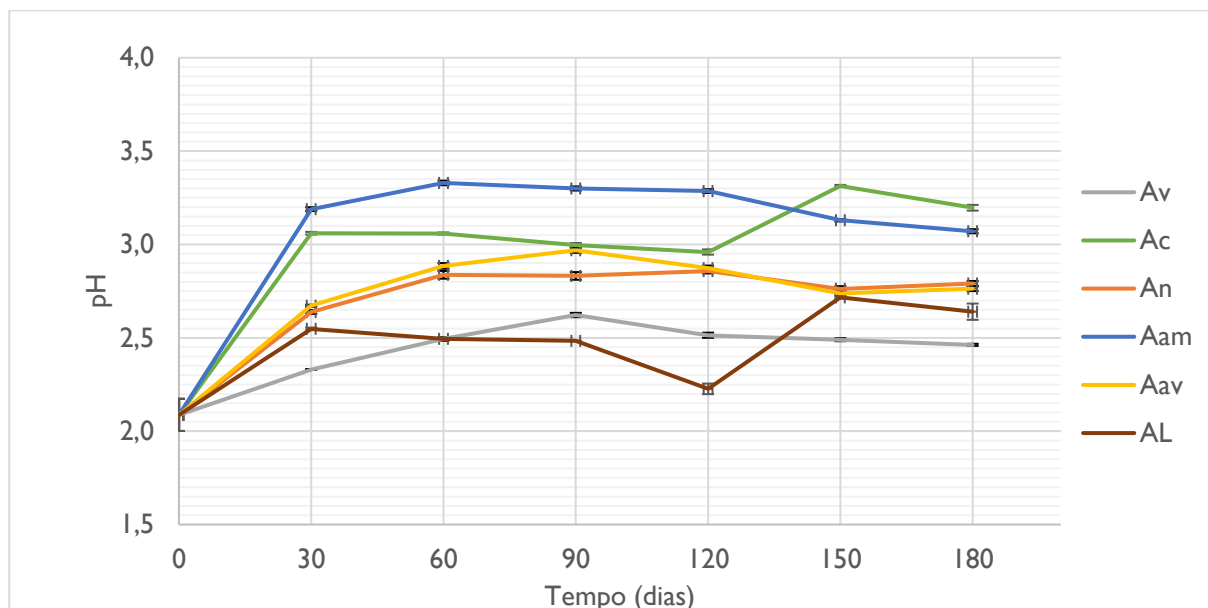


Figura 4 – pH da aguardente vínica (Av) e das aguardentes envelhecidas com cascas de castanha (Ac), noz (An), amêndoa (Aam), avelã (Aav) e fragmentos carvalho (AL) ao longo de 6 meses de envelhecimento.

4.2.3. Título Alcoométrico Volúmico

Na Tabela 3 está representado o TAV a 20°C das aguardentes ao longo dos 6 meses de estudo. Verificaram-se pequenas alterações ao longo do tempo e uma ligeira diminuição do TAV das aguardentes. Estas variações podem ser justificadas pela calibração do aparelho que dependia da temperatura real medida e que variou em cada mês de análise, bem como da possibilidade da ocorrência de alguma evaporação durante a recolha das amostras mensais. Está documentado que nos barris de madeira, a perda de álcool é favorecida em condições de humidade elevada (Miranda *et al.*, 2008). No entanto, neste trabalho apesar da humidade do ar ter sido elevada ao longo do período de estudo, a vasilha onde decorreu o envelhecimento era de plástico, que não sendo um material poroso não favorecia a evaporação considerável do álcool. A redução do TAV não se mostrou significativa tendo ocorrido no máximo uma diminuição de 2°. Portanto, pode-se afirmar que o processo de envelhecimento de aguardentes foi estável e que o ar não contribuiu de forma significativa para a ocorrência de oxidações secundárias.

Tabela 3 – TAV (%) a 20°C para a aguardente vínica (Av) e aguardentes envelhecidas com: cascas de castanha (Ac), noz (An), amêndoa (Aam), avelã (Aav) e fragmentos de madeira de carvalho (AL) ao longo de 6 meses de envelhecimento (média+dp; n=3).

Tempo (dias)	Av	Ac	An	Aam	Aav	AL
0	53,1±3,8E-01	53,1±3,8E-01	53,1±3,8E-01	53,1±3,8E-01	53,1±3,8E-01	53,1±3,8E-01
30	53,3±5,8E-02	52,0±5,8E-02	52,2±8,7E-15	52,2±5,8E-02	52,8±5,8E-02	52,9±1,0E-01
60	53,1±5,8E-02	51,8±8,7E-15	52,3±5,8E-02	52,2±8,7E-15	52,8±5,8E-02	52,8±5,8E-02
90	53,3±8,7E-15	51,2±8,7E-15	51,9±0,0E+00	52,1±0,0E+00	52,9±0,0E+00	51,6±5,8E-02
120	52,6±0,0E+00	51,4±5,8E-02	51,8±5,8E-02	51,6±5,8E-02	52,5±5,8E-02	52,1±5,8E-02
150	53,4±5,8E-02	51,3±5,8E-02	52,1±5,8E-02	51,6±0,0E+00	52,4±5,8E-02	52,1±5,8E-02
180	53,6±5,8E-02	52,1±0,0E+00	51,5±5,8E-02	51,4±5,8E-02	52,5±5,8E-02	52,6±0,0E+00

4.2.4. Características cromáticas

Ao longo do tempo verificou-se que a intensidade da cor ($Abs_{445\text{ nm}}$), a luminosidade (L^*), e os parâmetros a^* e b^* mantiveram-se estáveis para a Av (Tabela 4), o que está de acordo com o facto de não ter ocorrido envelhecimento da amostra, servindo por isso de controlo.

Para as restantes amostras de aguardente, onde ocorreu efetivamente envelhecimento do produto, verificou-se que a intensidade da cor aumentou ao longo do tempo atingindo os seguintes valores nos produtos finais: 1,679 (Ac), 1,637 (AL), 0,532 (An), 0,508 (Aam) e 0,313 (Aav). O aumento da intensidade da cor provocou a diminuição da luminosidade (L^*) das amostras, tendo os produtos finais valores de L^* entre os 81,51 (Ac) e os 98,83 (Aam) sendo respetivamente, a aguardente mais escura (envelhecida com cascas de castanha) e a mais clara (envelhecida com cascas de amêndoa).

Segundo o sistema de cores de CIELAB, os parâmetros a^* e b^* variam numa escala entre o verde ($-a^*$) e o vermelho ($+a^*$), e entre o azul ($-b^*$) e o amarelo ($+b^*$), respetivamente (Anexo II). Também ao longo dos seis meses deste estudo, e para cada amostra, os parâmetros a^* e b^* variaram segundo as características de cada matriz utilizada.

Tabela 4 – Evolução da Intensidade da cor a 445 nm e dos parâmetros L*, a* e b*, para a aguardente vínica (Av) e aguardentes envelhecidas com: cascas de castanha (Ac), noz (An), amêndoa (Aam), avelã (Aav) e fragmentos de madeira de carvalho (AL) ao longo dos 6 meses de envelhecimento (média+dp; n=3).

	Tempo (dias)	Av	Ac	An	Aam	Aav	AL
Intensidade (Abs _{445nm})	0	0,095±0,005	0,095±0,005	0,095±0,005	0,095±0,005	0,095±0,005	0,095±0,005
	30	0,094±0,003	1,659±0,008	0,474±0,007	0,470±0,001	0,301±0,002	1,643±0,039
	60	0,123±0,001	1,650±0,137	0,535±0,009	0,469±0,003	0,292±0,009	1,548±0,047
	90	0,101±0,002	1,403±0,064	0,519±0,001	0,502±0,002	0,305±0,002	1,597±0,038
	120	0,082±0,003	1,685±0,051	0,531±0,003	0,481±0,002	0,343±0,004	1,691±0,055
	150	0,087±0,002	1,751±0,005	0,523±0,002	0,473±0,005	0,307±0,000	1,822±0,022
	180	0,099±0,002	1,679±0,080	0,532±0,004	0,508±0,003	0,313±0,000	1,637±0,062
L*	0	100,01±0,00	100,01±0,00	100,01±0,00	100,01±0,00	100,01±0,00	100,01±0,00
	30	100,00±0,00	85,71±0,02	98,47±0,02	98,65±0,01	99,26±0,01	88,94±0,03
	60	100,00±0,01	84,02±0,03	98,32±0,01	98,63±0,01	99,19±0,01	88,44±0,03
	90	100,00±0,01	83,34±0,03	98,28±0,02	98,50±0,01	99,14±0,01	88,97±0,06
	120	99,99±0,01	82,92±0,00	98,29±0,01	98,57±0,01	99,15±0,01	89,32±0,03
	150	100,00±0,00	82,57±0,03	98,47±0,01	98,73±0,05	99,29±0,03	88,92±0,04
	180	100,00±0,01	81,51±0,04	98,19±0,01	98,27±0,01	98,83±0,00	88,47±0,00
a*	0	-5,25±0,02	-5,25±0,02	-5,25±0,02	-5,25±0,02	-5,25±0,02	-5,25±0,02
	30	-5,20±0,03	0,55±0,01	-5,98±0,03	-6,25±0,01	-5,63±0,02	-4,49±0,02
	60	-5,20±0,03	2,67±0,05	-5,89±0,02	-6,23±0,05	-5,67±0,20	-4,18±0,02
	90	-5,23±0,02	3,54±0,04	-5,83±0,03	-6,20±0,02	-5,48±0,01	-4,64±0,01
	120	-5,21±0,01	4,10±0,01	-5,89±0,03	-6,18±0,01	-5,47±0,04	-5,11±0,01
	150	-5,19±0,01	4,43±0,05	-6,09±0,02	-6,28±0,06	-5,64±0,03	-4,68±0,04
	180	-5,21±0,00	5,85±0,03	-5,83±0,02	-6,02±0,01	-5,43±0,02	-4,47±0,02
b*	0	5,42±0,01	5,42±0,01	5,42±0,01	5,42±0,01	5,42±0,01	5,42±0,01
	30	5,41±0,01	58,51±0,08	12,50±0,06	12,34±0,01	9,12±0,01	41,16±0,06
	60	5,41±0,01	63,88±0,08	13,22±0,02	12,64±0,01	9,43±0,00	43,83±0,06
	90	5,41±0,02	66,09±0,13	13,26±0,02	12,89±0,01	9,37±0,03	43,61±0,04
	120	5,41±0,01	67,74±0,01	13,43±0,02	12,73±0,01	9,38±0,02	43,70±0,04
	150	5,37±0,01	67,55±0,01	13,11±0,06	12,29±0,01	9,22±0,01	45,30±0,12
	180	5,41±0,00	70,37±0,03	13,46±0,02	12,56±0,01	9,13±0,01	47,41±0,04

Para as aguardentes envelhecidas com cascas de noz (An), amêndoa (Aam) e avelã (Aav), em que as próprias cascas já têm um tom bege/dourado natural (noz e amêndoa) ou castanho claro (avelã), o parâmetro a^* apresentou valores negativos para as correspondentes aguardentes. Os valores de a^* foram muitos semelhantes aos da cor amarelo/dourado e ainda ao da aguardente envelhecida com madeira de carvalho (AL) cuja a^* foi o mais negativo.

Ao contrário de todas as outras amostras, a aguardente envelhecida com cascas de castanha apresentou valores positivos do parâmetro a^* , no sentido da escala do vermelho (0,55 – 5,85), e os valores de b^* mais elevados de todas as amostras (58,5 – 70,4), atingindo uma cor equivalente ao laranja/vermelho (CIELAB) muito similar à cor da casca da castanha. Aguardentes envelhecidas com madeira de castanheiro apresentam igualmente tendência para tons mais vermelhos e tonalidades mais intensas do que as aguardentes envelhecidas com madeira de carvalho (Caldeira, 2004; Canas e Caldeira, 2017; Canas *et al.*, 2019).

A aguardente envelhecida com fragmentos de carvalho apresentou um valor de b^* superior ao das amostras An, Aam e Aav, mas inferior ao da Ac, assim esta aguardente apresentou uma cor laranja escuro.

As aguardentes Ac e AL apresentaram tons demasiado escuros e tonalidades mais intensas, o que indicou que a proporção S/L de cascas:aguardente utilizada talvez fosse demasiado elevada para estes dois casos. Por outro lado, a queima dos materiais também se revelou ser demasiado intensa para estes tipos de matrizes. Lino (2013) estudou as características da madeira em forma de aduelas e em vasilhas, com o mesmo nível de queima, para avaliar se a queima foi uniforme para ambos os casos e qual a sua influência nas características das aguardentes envelhecidas. Concluiu que apesar da intensidade e tempo de queima serem iguais, a maior superfície exposta das aduelas relativamente à das vasilhas, origina um aquecimento maior da madeira e uma queima mais penetrante na sua superfície. Ou seja, a degradação da lenhina e o teor de compostos mais predispostos à extração é maior no caso das aduelas. Assim, as aguardentes envelhecidas por processo alternativo terão uma cor mais intensa. Estas conclusões corroboram os resultados deste trabalho que a aguardente (AL) envelhecida com o uso de fragmentos de madeira de carvalho de dimensão ainda mais reduzida originou uma cor altamente intensa no produto final (castanho-escuro, em vez do suposto dourado).

Estes resultados representam o esperado devido à extração de taninos e outros compostos corantes das cascas de frutos secos ou lascas de madeira. Estes compostos fazem a aguardente vínica (Av) incolor ganhar tons característicos de dourado, topázio, castanho ou vermelho

(dependendo do nível de intensidade), denotando-se que a cor é uma característica que torna o produto mais atraente ao consumidor.

4.2.5. Acidez

A Figura 5 apresenta a acidez volátil (AV), a acidez fixa (AF) e a acidez total (AT) das aguardentes ao longo do envelhecimento. Todas as aguardentes mantiveram a AT acima dos 1000 mg de ácido acético/L, exceto no caso da Aav que apresentou o valor de AT mais reduzido aos 30 dias, com 929 mg de ácido acético/L. A amostra AL foi a única aguardente em que se verificou um aumento acentuado de AT, tendo atingido o valor máximo de 1765 mg de ácido acético/L aos 180 dias. À exceção de AL, as aguardentes com maior variação da acidez foram a Ac e a Aam, onde se verificou um aumento acentuado da AF quando comparadas com as restantes amostras (An e Aav). Observou-se uma gama de valores de AF entre 513 – 551 mg de ácido acético/L para a Ac, e 344 – 476 mg de ácido acético/L para a Aam ao longo do envelhecimento, tendo estes valores diferido bastante do valor inicial de 282 mg ácido acético/L. As variações mais acentuadas para acidez volátil (AV) verificaram-se igualmente para a amostra Ac, onde o valor inicial diminuiu de 856 mg de ácido acético/L para 522 – 642 mg de ácido acético/L. No caso da aguardente vínica os valores da acidez total, volátil e fixa mantiveram-se praticamente constantes ao longo dos 6 meses, demonstrando ser um produto estável durante o armazenamento.

O previsível relativamente aos níveis de acidez durante o processo de envelhecimento da aguardente, é que a acidez fixa aumentasse graças à extração de compostos mais estáveis (como por exemplo os fenóis), e que a acidez volátil diminuísse devido à evaporação de ácidos voláteis (Amado, 2014). As aguardentes que respeitaram este comportamento foram a aguardente envelhecida com casca de castanha (Ac) e a envelhecida com casca de amêndoa (Aam).



Figura 5 – Evolução da Acidez Volátil (AV), Acidez Fixa (AF) e Acidez Total (AT=AV+AF) (mg de ácido acético/L) das aguardentes: vínica (Av) e aguardentes envelhecidas com: cascas de castanha (Ac), noz (An), amêndoa (Aam), avelã (Aav) e fragmentos de madeira de carvalho (AL).

Na aguardente envelhecida com fragmentos de carvalho (AL) a AF aumentou, mas curiosamente a AV teve a mesma tendência fazendo com que a AT também aumentasse. Diversos trabalhos demonstram que as aguardentes envelhecidas com madeira, têm a

tendência para o aumento da AT ao longo do processo de maturação (Amado, 2014; Canas e Caldeira, 2017; Miranda *et al.*, 2008). Isto sugere que a madeira contém compostos extraíveis mais voláteis que as cascas de frutos secos, ou que, segundo Miranda *et al.* (2008) e Amado (2014), tal comportamento deve-se a reações de oxidação do etanol (quando ocorre a presença do ar) ou dos ácidos fenólicos, que contribuem para a formação de acetaldeído, que por sua vez leva à formação de ácido acético. Assim, a avaliação dos compostos voláteis é fundamental para aferir que tipo de reações intrínsecas decorrem durante o envelhecimento, e para isso esta hipótese foi avaliada na secção 4.5. A hipótese da presença de oxigénio a partir do ar, como já tínhamos referido, não nos parece ter sido um contaminante neste trabalho, devido à não influência no TAV, assim a oxidação de ácidos voláteis aparenta ser a explicação mais lógica para este fenómeno.

Para a aguardente envelhecida com casca de avelã a acidez total diminuiu, pois, apesar de ocorrer a diminuição esperada da acidez volátil a AF manteve-se constante de forma geral, o que implica que a extração dos compostos na casca de avelã não é tão intensa como para os casos dos restantes tipos de cascas ou porque possivelmente as cascas são pouco porosas o que não facilita a penetração do solvente ou pela menor concentração de compostos extratáveis.

4.3. Características físico-químicas do licor

A Tabela 5 apresenta um resumo das características físico-químicas finais de todas as aguardentes analisadas (Av, Ac, An, Aam, Aav e AL) e já discutidas até agora, e compara-as com as características físico-químicas finais avaliadas no licor de flor de carqueja (LC).

Relativamente ao LC verificamos que as suas características diferem em geral bastante das aguardentes, incluindo da aguardente utilizada na sua produção (Aam). Estas diferenças são devidas à diluição efetuada com a calda de açúcar e às propriedades da flor de carqueja, sendo esta matriz mais propensa à extração devido à sua porosidade elevada e composição.

Na Tabela 5 verifica-se que na preparação de LC o seu valor de pH é significativamente mais elevado quando comparado com o pH das aguardentes, cujo valor final foi de 4,17. Este aumento deveu-se, tal como referido anteriormente à evaporação dos ácidos voláteis durante a maturação o que acaba por contribuir para a estabilização do produto e melhorar as suas características organoléticas (Amado, 2014).

Tabela 5 – Características físico-químicas dos produtos finais: aguardente vínica (Av); aguardentes envelhecidas ao fim de 6 meses com cascas de castanha (Ac), noz (An), amêndoa (Aam), avelã (Aav) e fragmentos de carvalho (AL), e do licor de flor de carqueja (LC) (média±dp; n=3).

	Av	Ac	An	Aam	Aav	AL	LC
pH	2,46±0,01	3,20±0,02	2,79±0,01	3,07±0,01	2,76±0,01	2,64±0,04	4,17±0,01
TAV (% vol)	53,6±0,1	52,1±0,0	51,5±0,1	51,4±0,1	52,5±0,1	52,6±0,0	18,3±0,2
ES (g/100 mL)	0,052±0,002	0,671±0,005	0,192±0,003	0,234±0,007	0,152±0,00	0,567±0,00	55,17±2,83
Cor							
Intensidade (Abs_{445nm})	0,099±0,002	1,679±0,080	0,532±0,004	0,508±0,003	0,313±0,000	1,637±0,062	1,509±0,011
L*	100,00±0,01	81,51±0,04	98,19±0,01	98,27±0,01	98,83±0,00	88,47±0,00	89,54±0,27
a*	-5,21±0,00	5,85±0,03	-5,83±0,02	-6,02±0,01	-5,43±0,02	-4,47±0,02	-6,58±0,07
b*	5,41±0,00	70,37±0,03	13,46±0,02	12,56±0,01	9,13±0,01	47,41±0,04	23,47±0,10
Acidez (mg a.ac/ L)							
Total	1147,00±8,31	1062,4±7,33	1133,60±20,97	1151,20±1,39	997,60±5,54	1765,60±13,22	1111,20±35,52
Fixa	294,40±9,09	512,80±27,82	244,80±12,00	422,40±27,15	273,60±4,80	795,20±3,67	759,20±1,39
Volátil	852,80±7,71	549,60±20,51	888,80±26,98	752,80±46,93	724,00±2,77	970,40±15,98	352,00±36,90
Viscosidade (cP)	-	-	-	-	-	-	2,511±0,002

Verificou-se também que o TAV do licor de flor de carqueja foi 18,3%. Este valor é devido à diluição feita da aguardente pela adição da calda de açúcar durante a produção do licor. A calda de açúcar contribuiu também para o aumento significativo do extrato seco, desde 2,48 g/L (Aam, t=120) para os 551,70 g/L. Obviamente que no licor para além da extração dos compostos da flor da carqueja, a parte mais significativa do aumento do teor de sólidos deve-se ao açúcar que foi adicionado (aproximadamente 500 g/L).

A intensidade da cor em LC atingiu o valor de 1,509 e apresentou um valor de a^* semelhante às aguardentes An, Aam, Aav e AL. Relativamente a b^* o seu valor apresentado foi superior ao observado para An, Aam e Aav, mas inferior (sensivelmente metade) ao de AL. Neste caso, o licor atingiu igualmente um tom laranja tal como a aguardente AL, mas não tão escuro/intenso. Os resultados obtidos para a avaliação da cor pelo sistema CIEL*a*b* está de acordo com o observado o olho nu, tal como se verifica no Anexo II. Luís *et al* (2009), concluíram que para a flor de carqueja, os solventes etanólicos são mais eficazes na extração de carotenoides, pigmentos responsáveis pela cor amarela nos alimentos, tais como os betacarotenos.

Relativamente à acidez do licor, este apresenta uma maior AF e uma menor AV. Durante todo o processo produtivo do licor, desde a aguardente vínica, passando pela aguardente envelhecida com cascas de amêndoa (4 meses), até ao produto final, verificou-se um comportamento inverso entre a acidez fixa que aumentou e a acidez volátil que diminuiu. Trabalhos existentes da literatura que analisam as características físico-químicas de licores avaliam apenas a acidez total da matéria-prima e do licor final (Teixeira *et al.*, 2005; Rodrigues, 2017; Sá, Pombo e Botelho, 2020). Estes trabalhos não passíveis de comparação entre si pois a acidez depende do tipo de licor e da sua base (aguardente). Verifica-se também que a análise exclusiva da AT não fornece informação relevante sobre a composição e as alterações ocorridas nas amostras durante a maturação, devido ao facto de se manter praticamente constante ao longo de todo o processo. Por outro lado, a determinação da AV e da AF revelou-se mais útil.

4.4. Fenólicos, Flavonoides e Taninos Totais das Aguardentes

A Figura 6 apresenta o teor de fenólicos totais, flavonoides totais e taninos totais dos extratos das matérias-primas (cascas, fragmentos de madeira e da flor de carqueja), sendo que para as aguardentes a evolução dos teores de fenólicos totais, flavonoides totais e taninos totais, estão representados nas Figuras 7, 8 e 9, respetivamente. Todas as amostras apresentaram ter

teores fenólicos significativos, sendo a matéria com um valor mais elevado a flor de carqueja (3465,95 mg EAG/ L), e a com teores mais baixos a casca de avelã (163,45 mg EAG/ L).

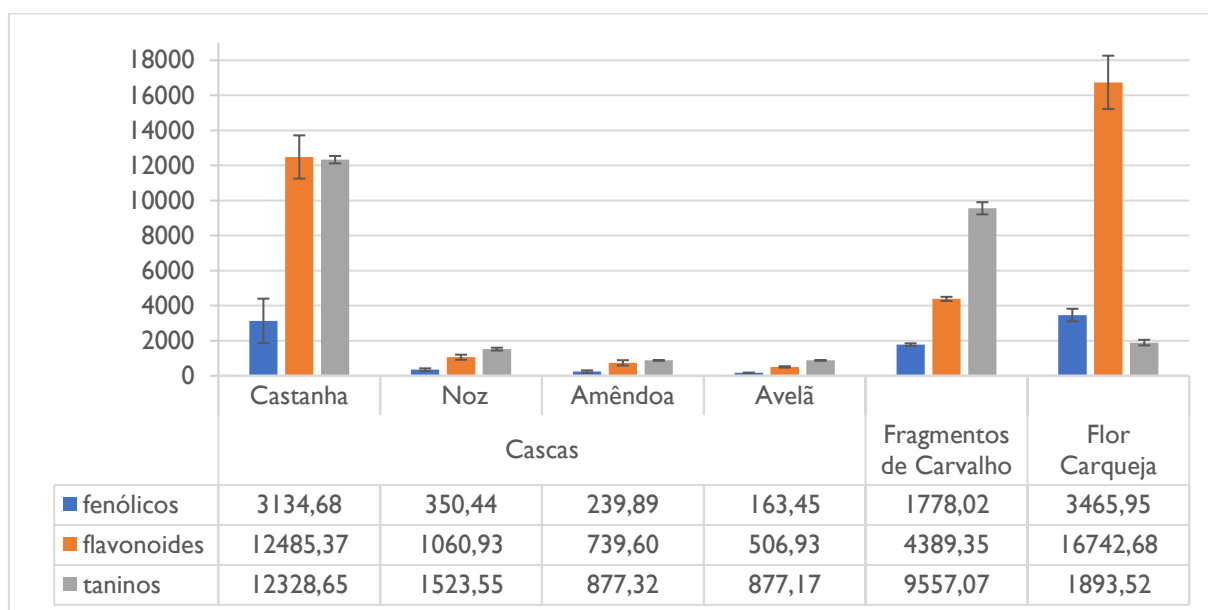


Figura 6 – Fenólicos totais (mg EAG/ L), flavonoides totais (mg ECAT/ L) e taninos totais (mg ET/ 100 g de amostra) dos extratos das cascas de castanha, nozes, amêndoa e avelã, dos fragmentos de carvalho e da flor de carqueja.

A casca de castanha, apresentou em diversos trabalhos teores significativos de fenólicos totais (Vázquez *et al.*, 2009; Nazzaro *et al.*, 2012; Fernández-Agulló *et al.*, 2014; Braga *et al.*, 2015; Cerulli *et al.*, 2020), e taninos totais (Vázquez *et al.*, 2009). O teor de flavonoides não é habitualmente avaliado, sendo que o nosso trabalho revela que de entre as amostras das cascas e dos fragmentos é o material com a concentração em flavonoides totais mais abundante, atingindo teores quase tão elevados como a flor da carqueja. Estes resultados revelam que a casca da castanha tem um poder aromatizante muito elevado. A sua composição em taninos é igualmente alta (a maior de entre todas as amostras), o que demonstra a capacidade da casca da castanha para o envelhecimento de aguardentes.

Em trabalhos anteriores, a casca de noz mostra teores significativos de fenólicos (Han *et al.*, 2018; Rusu *et al.*, 2018; Queirós *et al.*, 2020), flavonoides e taninos (Rusu *et al.*, 2018; Queirós *et al.*, 2020). À semelhança, a casca de amêndoa também apresenta teores significativos de fenólicos (Ebringerová *et al.*, 2008; Thebo *et al.*, 2014; Prgomet *et al.*, 2019; Queirós *et al.*, 2020), flavonoides (Prgomet *et al.*, 2019; Queirós *et al.*, 2020) e taninos (Queirós *et al.*, 2020). Trabalhos que analisam diferentes subprodutos da amêndoa, mostram que a casca exterior

(endocárpio) contém teores de fenólicos semelhantes ao da casca interior (a analisada neste trabalho), no entanto as peles e o fruto possuem teores muito superiores (Milbury *et al.*, 2006; Prgomet *et al.*, 2019). A casca de avelã contém igualmente teores consideráveis de fenólicos (Contini *et al.*, 2008; Nazzaro *et al.*, 2012; Pérez-Armada *et al.*, 2019), flavonoides e taninos (Contini *et al.*, 2008).

Estes três subprodutos (cascas de noz, amêndoa e avelã) apresentam neste trabalho, os teores mais baixos de fenólicos, flavonoides e taninos, quer nos extratos de caracterização quer nas respetivas amostras de aguardente envelhecida ao longo do tempo (Figuras 7, 8 e 9). No entanto, estes valores sendo igualmente significativos, demonstram que as aguardentes produzidas estão ao mesmo nível, ou ligeiramente acima das aguardentes envelhecidas pelos métodos convencionais em que o envelhecimento é realizado em barril de madeira de carvalho ou de castanheiro (Canas *et al.*, 2019). A aguardente Aav foi a que apresentou os teores mais reduzidos destes compostos (Figura 6), o que por sua vez implicou que a extração para a aguardente também não fosse tão intensa, em comparação com os restantes tipos de cascas. Estes resultados corroboram também os obtidos para: o extrato seco das aguardentes (Figura 3) onde a aguardente envelhecida com casca de avelã apresentou, de entre todas as amostras o valor mais baixo; e para a acidez (Figura 5), onde AF se manteve estável ao longo do envelhecimento.

Constatou-se também que as aguardente Ac e AL mostraram teores muito superiores de fenólicos, flavonoides e taninos, relativamente aos observados na literatura (Canas *et al.*, 2019), concluindo-se que a proporção S/L de cascas/fragmentos de madeira:aguardente para estas duas aguardentes possa ter sido demasiado elevada. Outra explicação é que a extração de compostos fenólicos depende da penetração da aguardente no material sólido, e não da sua difusão. Assim materiais mais porosos são por resultado mais extraíveis (como é o caso da casca de castanha) (Amado, 2014). É importante referir, que a concentração S/L utilizada nas extrações dos fenólicos e dos flavonoides, foi a sugerida nos trabalhos de Caldeira (2004) e Lino (2013), que segundo estes autores é a proporção ideal para a simulação do envelhecimento tradicional. No entanto, verificou-se que as condições deste trabalho favorecem a extração para as aguardentes quando em comparação com os extratos, pois constatou-se que houve aguardentes que superaram os teores dos compostos ativos dos extratos antes dos 6 meses de envelhecimento, tal como foi o caso Aam e AL aos 180 dias para os compostos fenólicos totais e nos flavonoides para os casos Ac e AL desde os primeiros 30 dias.

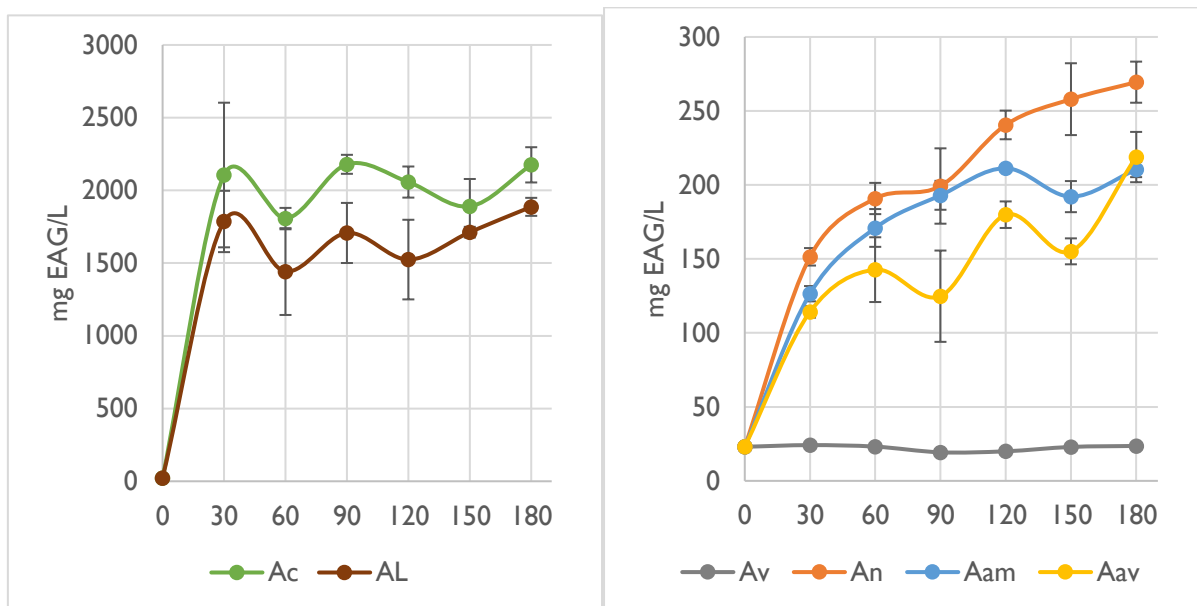


Figura 7 – Fenólicos totais (mg EAG/ L) da aguardente vínica (Av) e das aguardentes envelhecidas com cascas de castanha (Ac), noz (An), amêndoa (Aam), avelã (Aav) e fragmentos carvalho (AL) ao longo do tempo de envelhecimento.

A aguardente vínica (Av) apresenta segundo as Figuras 7, 8 e 9, teores residuais de fenólicos, flavonoides e taninos totais, que por sua vez se mantêm constantes ao longo do período analisado (6 meses). Estes teores residuais derivam muito provavelmente do vinho utilizado para a destilação da aguardente (Amado, 2014).

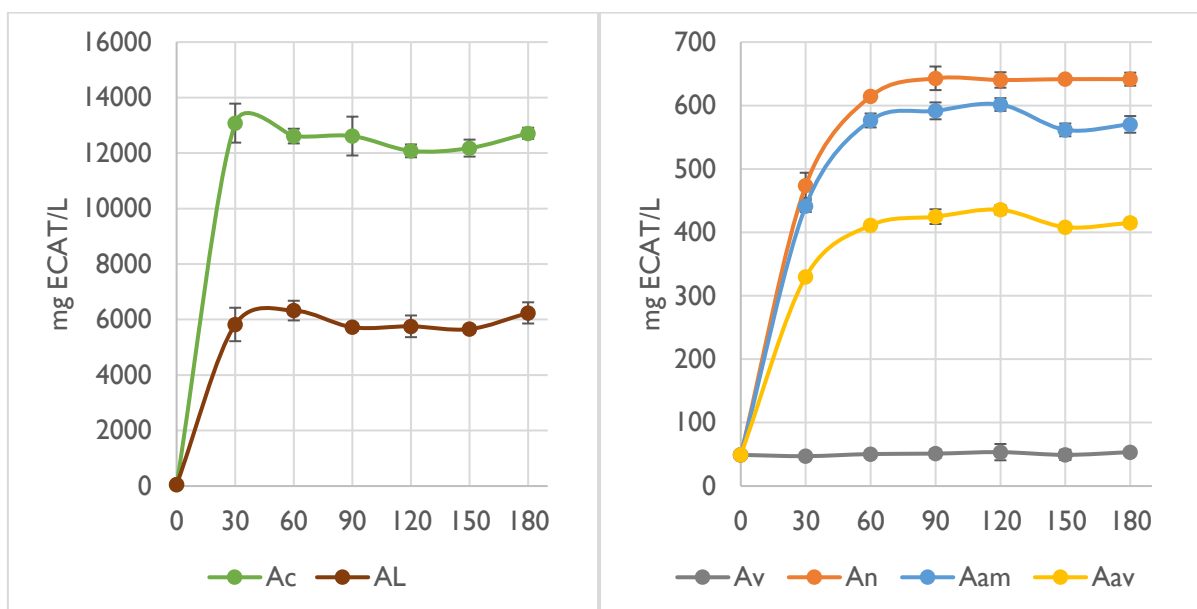


Figura 8 – Flavonoides totais (mg ECAT/ L) da aguardente vínica (Av) e das aguardentes envelhecidas com cascas de castanha (Ac), noz (An), amêndoa (Aam), avelã (Aav) e fragmentos carvalho (AL) ao longo do tempo de envelhecimento.

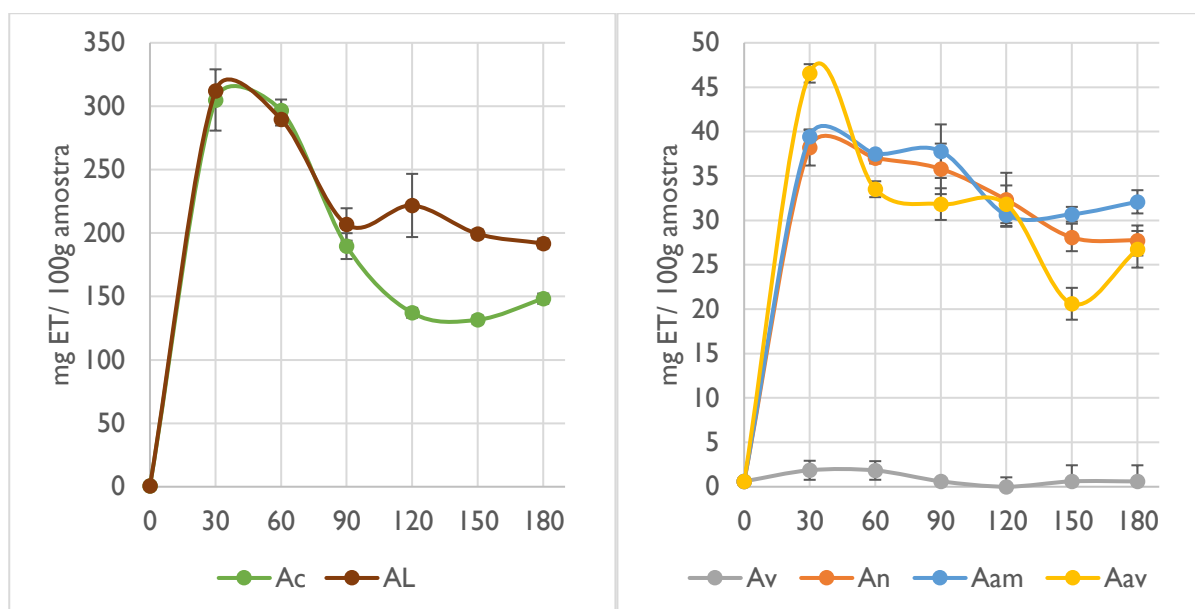


Figura 9 – Taninos (mg ET/ 100 g de amostra) da aguardente vínica (Av) e das aguardentes envelhecidas com cascas de castanha (Ac), noz (An), amêndoa (Aam), avelã (Aav) e fragmentos carvalho (AL) ao longo do tempo de envelhecimento.

Na Figura 7 e 9, verificamos também algumas variações de fenólicos e taninos ao longo do tempo de envelhecimento, sendo que para os taninos o maior incremento deu-se durante o primeiro mês e nos meses seguintes seguiu-se uma tendência para a sua diminuição.

O reagente de Folin-Ciocalteu utilizado na quantificação dos fenólicos tem a limitação de não reagir de forma exclusiva com os compostos fenólicos, podendo reagir com qualquer agente redutor que esteja presente na amostra, como poderá ser o caso das amins aromáticas, o ácido ascórbico, o ferro e o cobre (Coelho, 2015).

Os taninos dividem-se em taninos hidrolisáveis e taninos condensados, sabendo-se igualmente que a concentração de taninos em aguardentes velhas é reduzida e tem tendência a diminuir, pois os taninos hidrolisáveis podem ao longo do tempo hidrolisar-se ou formar complexos com outras macromoléculas, como é o caso do cobre ou dos furfurais. Já os taninos condensados que permanecem para quantificação, caracterizam-se por se apresentarem em teores residuais (Miranda *et al.*, 2008; Cruz, 2016). Assim, o teor inicial de fenólicos quantificado pode corresponder a um teor superior ao real, pela quantificação e interferência com o cobre ou de outros agentes redutores, e a diminuição do teor de fenóis e do teor de taninos, nos meses seguintes de envelhecimento, pode-se justificar pela formação de complexos do cobre, ou outros agentes redutores com os taninos e pela própria hidrolisação dos taninos.

Os compostos fenólicos, flavonoides e taninos são marcadores do envelhecimento de aguardentes, pelo que a sua deteção nas aguardentes revela a aptidão para envelhecer as mesmas. Assim, o envelhecimento das aguardentes verifica-se pela análise das Figuras 7 (fenólicos), 8 (flavonoides) e 9 (taninos), em que se observa um aumento acentuado do teor destes compostos logo ao fim de 30 dias, e o aumento gradual nos restantes meses, remarcando que estes compostos são provenientes das cascas de frutos secos.

Visto o equilíbrio de extração aparentar ser atingindo, de forma geral, entre o terceiro e o quarto mês de envelhecimento, os teores destes compostos nas aguardentes produzidas atingiram valores superiores aos da literatura, com a vantagem de se poder controlar a proporção S/L cascas/fragmentos:aguardente (aumentando ou diminuindo a superfície de contacto entre a fase sólida e líquida, e conseqüentemente o tempo de extração consoante o produto final pretendido). Verificou-se que o uso das cascas em alternativa à madeira, demonstrou promover condições mais eficientes para o envelhecimento das aguardentes do que os métodos já existentes. Convém também referir que, como se tratam de subprodutos atualmente desperdiçados da indústria alimentar, a sua utilização contribui igualmente para a ecologia do processo, reduzindo a necessidade do abate propositado de árvores.

4.5. Fenólicos, Flavonoides e Taninos Totais do Licor de Flor de Carqueja

A Tabela 6 apresenta um resumo dos fenólicos totais, flavonoides totais e taninos totais das aguardentes finais (6 meses de envelhecimento) comparando-as com o LC.

O maior incremento de fenólicos, flavonoides e taninos ocorreu durante a maturação de LC. O uso da flor de carqueja em LC foi responsável pelo aumento relevante destes compostos face à aguardente Aav e tendo em consideração a diluição efetuada pela adição da calda, verificamos que os teores de LC conseguem de igual modo atingir teores semelhantes e até superiores (para os flavonoides) aos da aguardente envelhecida com fragmentos de carvalho (AL). Diversos trabalhos já comprovaram que a flor de carqueja possui teores elevados de fenólicos e flavonoides (Luís *et al.*, 2009; Ferreira *et al.*, 2012; Pimenta, 2012; Coelho, 2015).

Luís *et al.* (2009), demonstraram que os solventes etanólicos favorecem a extração dos flavonoides da flor de carqueja, o que também é comprovado neste trabalho quer no extrato de flor de carqueja (16742,7 mg ECAT/ L), quer no licor de carqueja (8642,7 mg ECAT/L).

Os flavonoides caracterizam-se pelo seu poder aromatizante nos alimentos. Assim o elevado teor destes compostos no licor, demonstra que a flor de carqueja é um agente aromatizante adequado na produção de bebidas espirituosas. Diversos trabalhos comprovam igualmente a

elevada capacidade antioxidante da flor de carqueja (Vitor *et al.*, 2004; Luís *et al.*, 2009; Ferreira *et al.*, 2012; Pimenta, 2012; Roriz *et al.*, 2014;), sendo que Luís *et al.* (2009), comprovaram que o etanol é o solvente capaz de extrair compostos fenólicos com um maior poder antioxidante.

No que toca ao teor de taninos, observou-se que a aguardente utilizada para a produção do licor, não foi capaz de atingir os teores dos compostos quantificados nos extratos, mesmo quando se tem em consideração a diluição feita com a mistura com a calda, pelo que as condições de extração dos extratos EC revelaram ser mais favoráveis às da aguardente no caso dos taninos. A matriz da aguardente é bastante mais complexa do que a mistura de etanol e água utilizada como solvente para a obtenção do extrato. O facto de a aguardente utilizada para a produção do licor já ter sido previamente envelhecida com casca de amêndoa, apresentando adicionalmente um teor já significativo de fenólicos, flavonoides e taninos, pode por sua vez tornar a bebida mais saturada diminuindo a sua capacidade de extração de taninos. Outro aspeto a notar, é que os taninos são compostos bastante estáveis e muitas vezes condensados, podendo desta forma não serem tão extraíveis. Pela análise da literatura, evidenciou-se a existência de apenas um trabalho que quantificou os taninos totais (Luís, Domingues e Duarte, 2011) em extratos de carqueja. Verifica-se, por isso, a necessidade de mais investigação que permita isolar e quantificar estes compostos, visto que os taninos são dos compostos fenólicos com maior importância em alguns alimentos.

Tabela 6 – Fenólicos totais (mg EAG/L), flavonoides totais (mg ECAT/L) e taninos totais (mg ET/100g amostra) das aguardentes ao fim de 6 meses: aguardente vínica (Av), aguardentes envelhecidas com cascas de castanha (Ac), noz (An), amêndoa (Aam), avelã (Aav) e fragmentos carvalho (AL), e do licor de carqueja (LC) (média+dp).

	Fenólicos (mg GAE/L)	Flavonoides (mg EACT/L)	Taninos (mg ET/100g amostra)
Av	23,61±1,07	53,47±3,21	0,60±1,82
Ac	2175,68±121,14	12713,42±200,00	148,28±4,03
An	269,43±13,90	641,60±10,26	27,73±1,69
Aam	210,39±5,14	570,27±13,11	32,09±1,31
Aav	218,82±16,99	414,93±6,43	26,74±2,06
AL	1886,77±61,93	6240,04±381,88	191,79±3,88
LC	1640,92±3,36	8642,68±69,28	116,66±2,33

4.6. Compostos de baixa massa molecular

4.6.1. Compostos fenólicos dos extratos das cascas/fragmentos e das aguardentes

Os teores dos compostos fenólicos detetados para os extratos das cascas e dos fragmentos de madeira, e para as respectivas aguardentes ao longo do envelhecimento encontram-se apresentados nas Tabelas 7 a 11. Sendo a Tabela 7 os extratos e aguardentes de cascas de castanha, a Tabela 8 os extratos e aguardentes de cascas de noz, a Tabela 9 os extratos e aguardentes de cascas de amêndoa, a Tabela 10 os extratos e aguardentes de cascas de avelã e Tabela 11 os extratos e aguardentes de fragmentos de madeira carvalho. Na Tabela 12 está também apresentada a composição da aguardente DOC comercial (AP) para comparação com as anteriormente produzidas. Os cromatogramas das amostras analisadas encontram-se representados no Anexo III.

Os compostos fenólicos, ácido gálico, ácido elágico, ácido vanílico, ácido siríngico, e a vanilina são marcadores de envelhecimento das aguardentes, sendo que as aguardentes sem envelhecimento se caracterizam pela sua ausência (CE, 2000; Canas e Caldeira, 2017; Canas *et al.*, 2019). Pela análise das Tabelas 7, 8, 9 e 10, verifica-se que foram identificados os compostos fenólicos acima referidos, e que estão de acordo com o observado em trabalhos anteriores para a análise da composição das cascas de frutos secos, sendo que não houve nenhum composto que fosse detetado pela primeira vez neste trabalho, e nenhum que tenha sido detetado num trabalho prévio e não tenha sido possível detetar neste (Liu *et al.*, 2006; Milbury *et al.*, 2006; Nazzaro *et al.*, 2012; Vázquez *et al.*, 2013; Bujdosó *et al.*, 2014; Fernández-Agulló *et al.*, 2014; Bolling, 2017; Esposito *et al.*, 2017; Jahanban-Esfahlan e Amarowicz, 2018; Oyeleye *et al.*, 2018; Persic *et al.*, 2018; Rusu *et al.*, 2018; Yuan *et al.*, 2018; Pérez-Armada *et al.*, 2019; Cerulli *et al.*, 2020; Shataer *et al.*, 2020).

Segundo Amado (2014), a vanilina costuma ser dos compostos fenólicos com maior concentração nas aguardentes envelhecidas com teor alcoólico entre 30 e 50% (v/v). No entanto, tal não se verificou neste trabalho nas aguardentes envelhecidas com madeira (Tabela 11 e 12). Contudo verificou-se a presença de vanilina nas aguardentes envelhecidas com cascas de nozes (Tabela 8), cascas de amêndoa (Tabela 9) e cascas de avelã (Tabela 10). A exceção diz respeito à aguardente com cascas de castanha (Tabela 7), onde o composto não foi detetado.

Tabela 7 – Compostos fenólicos das amostras com casca de castanha (média±dp).

Composto	Extrato (mg /g)	Aguardente ao longo do envelhecimento (mg / L)					
		30	60	90	120	150	180
Ácido gálico	5,80 ± 0,86	2,71 ± 0,02	3,01 ± 0,52	3,45 ± 0,01	3,13 ± 0,17	3,14 ± 0,66	3,29 ± 0,47
HMF	0,07 ± 0,02	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Furfural	0,03 ± 0,01	3,37 ± 0,37	1,61 ± 0,45	1,09 ± 0,40	0,69 ± 0,27	0,48 ± 0,17	0,35 ± 0,11
Catequina	2,07 ± 0,37	3,88 ± 1,15	3,67 ± 1,85	3,55 ± 2,07	3,45 ± 2,54	3,46 ± 2,59	3,23 ± 2,40
Ácido Vanílico	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Ácido siringico	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Vanilina	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Ácido Elágico	2,94 ± 0,05	15,05 ± 0,51	16,06 ± 1,36	14,92 ± 1,93	14,87 ± 1,27	15,94 ± 2,07	17,77 ± 3,90
Ácido Cafetárico	0,02 ± 0,00	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Ácido p-cumárico	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Ácido ferúlico	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

n.d. – Não detetado. HMF – Hidroximetilfurfural.

Tabela 8 – Compostos fenólicos das amostras com casca de noz (média±dp).

Composto	Extrato (mg /g)	Aguardente por tempo de envelhecimento (mg / L)					
		30	60	90	120	150	180
Ácido gálico	0,91 ± 0,04	0,11 ± 0,04	0,12 ± 0,04	0,12 ± 0,05	0,13 ± 0,04	0,12 ± 0,04	0,13 ± 0,05
HMF	2,36 ± 0,34	5,97 ± 0,25	5,95 ± 0,09	6,04 ± 0,36	5,89 ± 0,08	5,63 ± 0,35	5,89 ± 0,21
Furfural	0,15 ± 0,01	4,56 ± 0,20	4,29 ± 0,40	4,25 ± 0,34	4,22 ± 0,31	4,11 ± 0,35	4,00 ± 0,40
Catequina	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Ácido Vanílico	0,20 ± 0,03	1,27 ± 0,23	1,32 ± 0,23	1,32 ± 0,44	1,33 ± 0,29	1,27 ± 0,29	1,34 ± 0,29
Ácido siringico	0,18 ± 0,01	2,30 ± 0,11	2,46 ± 0,12	2,47 ± 0,10	2,48 ± 0,17	2,46 ± 0,11	2,51 ± 0,19
Vanilina	0,16 ± 0,03	3,32 ± 0,24	3,55 ± 0,26	3,70 ± 0,15	3,69 ± 0,20	3,67 ± 0,23	3,80 ± 0,23
Ácido Elágico	0,87 ± 0,03	0,92 ± 0,06	0,93 ± 0,05	0,92 ± 0,03	0,89 ± 0,06	0,83 ± 0,04	0,86 ± 0,03
Ácido Cafetárico	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Ácido p-cumárico	0,13 ± 0,01	1,16 ± 0,02	1,28 ± 0,04	1,37 ± 0,01	1,34 ± 0,01	1,36 ± 0,01	1,42 ± 0,00
Ácido ferúlico	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

n.d. – Não detetado. HMF – Hidroximetilfurfural.

Tabela 9 – Compostos fenólicos das amostras com casca de amêndoa (média±dp).

Composto	Extrato (mg/g)	Aguardente por tempo de envelhecimento (mg/L)						
		30	60	90	120	150	180	
Casca amêndoa	Ácido gálico	0,05 ± 0,00	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	HMF	1,13 ± 0,11	3,44 ± 0,16	3,35 ± 0,10	3,33 ± 0,20	3,33 ± 0,13	3,33 ± 0,09	
	Furfural	0,09 ± 0,01	3,39 ± 0,34	3,40 ± 0,29	3,33 ± 0,32	3,15 ± 0,34	3,24 ± 0,28	
	Catequina	0,38 ± 0,03	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
	Ácido Vanílico	0,67 ± 0,30	2,40 ± 0,02	2,36 ± 0,01	2,40 ± 0,00	2,45 ± 0,01	2,43 ± 0,02	
	Ácido siringico	1,28 ± 0,65	1,32 ± 0,06	1,34 ± 0,08	1,37 ± 0,05	1,45 ± 0,04	1,39 ± 0,03	
	Vanilina	0,04 ± 0,06	5,43 ± 0,07	6,17 ± 0,10	6,20 ± 0,19	6,19 ± 0,08	6,39 ± 0,15	
	Ácido Elágico	0,08 ± 0,01	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
	Ácido Caféico	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
	Ácido p-cumárico	0,26 ± 0,03	0,95 ± 0,02	1,12 ± 0,01	1,15 ± 0,02	1,22 ± 0,08	1,24 ± 0,06	
Ácido ferúlico	0,03 ± 0,00	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.		

n.d. – Não detetado. HMF – Hidroximetilfurfural.

Tabela 10 – Compostos fenólicos das amostras com casca de avelã (média±dp).

Composto	Extrato (mg/g)	Aguardente por tempo de envelhecimento (mg/L)					
		30	60	90	120	150	180
Casca avelã	Ácido gálico	5,33 ± 1,19	0,64 ± 0,13	0,66 ± 0,19	0,75 ± 0,05	0,79 ± 0,06	0,80 ± 0,10
	HMF	0,27 ± 0,15	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	Furfural	0,18 ± 0,04	1,97 ± 0,00	1,82 ± 0,02	1,82 ± 0,08	1,51 ± 0,18	1,49 ± 0,17
	Catequina	0,43 ± 0,04	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	Ácido Vanílico	1,87 ± 0,11	4,00 ± 0,02	4,04 ± 0,04	4,25 ± 0,26	4,30 ± 0,29	4,06 ± 0,01
	Ácido siringico	0,12 ± 0,02	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	Vanilina	0,19 ± 0,05	7,05 ± 0,10	7,87 ± 0,17	8,03 ± 0,26	8,09 ± 0,13	8,34 ± 0,16
	Ácido Elágico	0,37 ± 0,10	0,32 ± 0,09	0,34 ± 0,04	0,33 ± 0,03	0,32 ± 0,02	0,35 ± 0,03
	Ácido Caféico	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	Ácido p-cumárico	0,06 ± 0,02	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Ácido ferúlico	0,06 ± 0,02	0,18 ± 0,01	0,21 ± 0,00	0,21 ± 0,00	0,21 ± 0,00	0,22 ± 0,01	

n.d. – Não detetado. HMF – Hidroximetilfurfural.

Tabela 11 – Compostos fenólicos (mg/L) do extrato e da aguardente envelhecida com fragmentos de madeira de carvalho ao longo do tempo (média±dp).

Composto	Extrato	Aguardente ao longo do envelhecimento (dias)					
		30	60	90	120	150	180
Ácido Gálico	0,67 ± 0,24	0,66 ± 0,25	0,61 ± 0,24	0,62 ± 0,22	0,70 ± 0,28	0,66 ± 0,27	0,68 ± 0,30
HMF	1,51 ± 0,49	1,69 ± 0,17	1,75 ± 0,27	1,68 ± 0,35	1,70 ± 0,41	1,61 ± 0,31	1,74 ± 0,29
Furfural	13,19 ± 0,54	17,44 ± 1,02	17,65 ± 0,86	17,29 ± 0,79	17,14 ± 0,68	17,57 ± 0,72	17,79 ± 0,91
Catequina	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Ácido Vanílico	2,23 ± 0,06	2,11 ± 0,05	2,27 ± 0,05	2,21 ± 0,06	2,61 ± 0,18	2,48 ± 0,30	2,51 ± 0,27
Ácido Siringico	5,98 ± 0,42	5,67 ± 0,26	5,47 ± 0,59	5,68 ± 0,18	6,02 ± 0,40	5,92 ± 0,33	5,99 ± 0,49
Vanilina	8,93 ± 0,95	9,41 ± 0,98	9,72 ± 1,07	9,94 ± 1,02	11,51 ± 0,99	12,45 ± 1,09	13,43 ± 1,22
Ácido Elágico	75,27 ± 1,42	58,20 ± 1,28	62,98 ± 1,61	60,90 ± 1,77	58,65 ± 0,82	60,95 ± 1,5	63,21 ± 1,40
Ácido Cafetárico	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Ácido p-cumárico	12,24 ± 0,49	13,33 ± 0,49	14,19 ± 0,30	15,25 ± 0,42	16,84 ± 0,37	17,28 ± 0,65	18,04 ± 0,89
Ácido Ferúlico	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

n.d. – Não detetado. HMF – Hidroximetilfurfural.

Tabela 12 – Compostos fenólicos da aguardente comercial (mg/L) (média±dp).

Composto	Aguardente comercial (mg/L)
Ácido gálico	2,50 ± 0,04
HMF	3,16 ± 0,06
Furfural	11,21 ± 0,83
Catequina	n.d.
Ácido Vanílico	2,14 ± 0,19
Ácido siringico	3,69 ± 0,15
Vanilina	2,12 ± 0,05
Ácido Elágico	14,09 ± 0,39
Ácido Cafetárico	n.d.
Ácido p-cumárico	3,77 ± 0,14
Ácido ferúlico	n.d.

n.d. – Não detetado. HMF – Hidroximetilfurfural.

O ácido gálico é um composto fenólico termossensível, cuja degradação ocorre a partir dos 249,9°C (Cruz, 2016). Deste modo os baixos teores deste composto em todas as amostras de aguardente (à exceção da casca de amêndoa onde não foi detetado), poderá ser justificado pela sua aparente degradação durante a queima das cascas e fragmentos de madeira. Apesar da temperatura definida para a queima ter sido apenas 200°C, admite-se que poderá ter ocorrido uma temperatura real superior, e ao mesmo tempo entende-se que o material terá sido mais propenso à queima pela maior área disponível.

Nas aguardentes envelhecidas com madeira (Tabelas 11 e 12) e casca de castanha (Tabela 7), o composto mais abundante foi o ácido elágico, que apresentou concentrações bastante superiores aos restantes compostos detetados. Na Tabela 9, verifica-se que para as amostras com casca de amêndoa, o ácido elágico foi apenas detetado no extrato de casca de amêndoa e numa quantidade bastante reduzida. Sendo assim, pressupõe-se que ou as condições de envelhecimento da aguardente não proporcionaram a extração deste composto, ou o método de quantificação utilizado não demonstra ser sensível o suficiente para a identificação e quantificação do ácido elágico nas aguardentes.

Segundo Cruz (2016), o ácido elágico é um dos compostos fenólicos mais importantes no envelhecimento das aguardentes. No entanto, neste trabalho, este composto apresentou teores em aguardentes envelhecidas em sistema tradicional de apenas 3,09 mg/L, e para aguardentes envelhecidas em sistema alternativo de 3,97 mg/L. Todavia, no nosso trabalho, a aguardente comercial analisada apresenta teores de ácido elágico de 14,09 mg/L, superiores aos de Cruz (2016). A aguardente de casca de castanha, com valores da mesma ordem de grandeza da amostra comercial, apresenta um valor de 17,77 mg/L, e a aguardente de fragmentos de madeira de carvalho possui o teor mais elevado de todos (63,21 mg/L). Assim pode-se concluir que não existe uma gama de valores padrão, sendo que estes variam com o tipo de agente envelhecedor, a sua forma e o processo de queima.

A catequina é um composto fenólico normalmente utilizado na quantificação de flavonoides. Este composto foi identificado nos extratos de casca de castanha, amêndoa e avelã, mas para as aguardentes, foi apenas detetado na amostra Ac, pelo que a aguardente não provou ser capaz de extrair este composto nas amostras com casca de amêndoa e avelã, ou pelo menos em concentrações detetáveis por esta técnica.

Na aguardente vínica (Av) apenas foi detetado o composto furfural numa concentração de $3,0 \pm 1,3$ mg/L, sendo que esta amostra não exibiu nenhum perfil fenólico. A presença deste composto em aguardentes vínicas provém do respetivo vinho que lhe deu origem e do

processo de destilação devido às elevadas temperaturas atingidas. Nas aguardentes envelhecidas, o furfural e o HMF tendem a aumentar, pois provêm da madeira através da degradação da hemicelulose durante o processo de queima (Azevêdo *et al.*, 2007; Amado, 2014; Cruz, 2016; Shevchuk, 2019). Para estes dois compostos, e no caso das aguardentes, não existem limites legais estabelecidos na legislação portuguesa, sendo que a sua presença está associada à aromatização do produto, devido ao seu aroma característico a amêndoas tostadas (Shevchuk, 2019). No entanto, é importante ter consciência que os efeitos do HMF na saúde ainda não são bem conhecidos e que para o caso do furfural já foi definido um valor de 100ppm de IDLH pelo Instituto Nacional de Segurança e Saúde Ocupacional dos EUA (NIOSH, 1994). Neste estudo verificou-se que o HMF apresentou teores significativos nas amostras de casca de noz e de casca de amêndoa, sendo que derivaram tal como nas amostras da madeira, do processo da queima. Apesar do nível da queima ter sido médio, verificou-se que nas amostras de casca de castanha e de casca de avelã, os teores de HMF foram bastantes reduzidos, tendo sido apenas detetados nos extratos e não nas aguardentes. O furfural foi detetado em todas as amostras, atingindo os teores mais elevados nas amostras com fragmentos de madeira de carvalho. Em todas as restantes amostras com cascas de frutos secos, a concentração deste composto foi bastante mais reduzida e demonstrou até uma tendência para diminuir ao longo do envelhecimento. Estes resultados demonstram que o envelhecimento alternativo com as cascas de frutos secos pode ser mais vantajoso do que a utilização de madeira. O furfural pode reagir com os taninos e condensá-los.

Neste trabalho, verificou-se que as amostras que demonstraram um declínio mais acentuado do teor de taninos (Figura 9) foram as aguardentes envelhecidas com casca de castanha e de avelã, e que são igualmente as amostras que apresentaram uma redução mais revelante do teor de furfural. Consequentemente todas as aguardentes envelhecidas com cascas de frutos secos apresentaram teores de furfural + HMF inferiores à aguardente comercial, e inclusive a aguardentes envelhecidas com madeira (Caldeira, 2004; Macedo, 2015; Cruz, 2016).

Os ácidos hidroxicinâmicos correspondem a um grupo de compostos fenólicos que podem estar presentes nas aguardentes envelhecidas, derivados da degradação da lenhina. Neste grupo estão incluídos o ácido cafeico, o ácido p-cumárico, o ácido ferúlico e o ácido caftárico (Penna, Daudt e Henriques, 2001; Freitas, 2016).

O ácido caftárico é originário da reação entre o ácido tartárico e o ácido cafeico. Este composto foi encontrado em teores bastante reduzidos (0,02mg/g) no extrato da casca de castanha. A sua presença em extratos puros de casca de castanha é inédito, visto ser característico do processo de vinificação, estando habitualmente presente nas cascas das uvas

(Penna, Daudt e Henriques, 2001). No entanto, já foi observada a presença dos seus percussores nas cascas de castanha: ácido tartárico (Pinto *et al.*, 2021) e ácido cafeico (Pinto *et al.*, 2020), pelo que se deduz a possibilidade de terem ocorrido reações de esterificação entre estes dois compostos. Na aguardente envelhecida não se verificou a presença do ácido caftárico, tal poderá dever-se ao facto de durante o processo de envelhecimento este composto tender a diminuir por participar nas reações de escurecimento (Penna, Daudt e Henriques, 2001). Tal facto explica igualmente a razão da aguardente de casca de castanha ter sido a que revelou uma tonalidade mais escura e intensa (Tabela 4).

Com exceção do extrato e das aguardentes de casca de castanha e de casca de avelã, o ácido p-cumárico foi identificado em todas as restantes amostras, quer de extratos, quer de aguardentes. Este fenol tem uma elevada solubilidade em etanol (NCBI, 2021), sendo possivelmente esta a razão para ter sido tão facilmente extraído em quase todas as amostras. O ácido p-cumárico e as cumarinas são igualmente um marcador fenólico já conhecido das madeiras (Caldeira, 2004; Lino, 2013; Amado, 2014; Cruz, 2016), pelo que as amostras contendo fragmentos de carvalho e a aguardente comercial revelaram ser as amostras com teores mais predominantes deste fenol. Alguns trabalhos, revelaram também a presença deste ácido em teores mais reduzidos, nas cascas ou outros produtos derivados, tais como as peles ou o fruto de nozes (Rusu *et al.*, 2018), amêndoa (Bolling, 2017; Ramalhosa, Magalhães e Pereira, 2017) e avelã (Contini *et al.*, 2008; Nazzaro *et al.*, 2012; Amaral e Oliveira, 2016; Pérez-Armada *et al.*, 2019).

O ácido ferúlico é caracterizado por ser um potente antioxidante capaz de intensificar uma ação anti-inflamatória, agir como um protetor cardíaco e ser igualmente um agente aromático. É um composto comum em licores, sendo solúvel em soluções etanólicas superiores a 30% (Freitas, 2016). Estas características fazem deste fenol um composto interessante neste trabalho, pois para além de a sua extração ser favorável nas aguardentes, essas mesmas aguardentes são utilizadas para a produção do licor de flor de carqueja, contribuindo para uma ação antioxidante deste produto, e um possível efeito tónico do licor. O ácido ferúlico foi identificado nos extratos de casca de amêndoa e de avelã e na aguardente de casca de avelã. Tais resultados corroboram trabalhos anteriores onde já se havia verificado a presença deste composto, quer nas cascas de amêndoa (Bolling, 2017; Ramalhosa, Magalhães e Pereira, 2017; Queirós *et al.*, 2020), quer nas cascas de avelã (Contini *et al.*, 2008; Nazzaro *et al.*, 2012; Amaral e Oliveira, 2016).

4.6.2. Análise dos compostos voláteis

A análise dos compostos voláteis foi realizada com o intuito de entender a influência da utilização das cascas dos frutos secos nas alterações destes compostos durante o envelhecimento das aguardentes.

Durante o envelhecimento tradicional da aguardente com madeira de carvalho ocorre a diminuição dos compostos voláteis (Amado, 2014). Estes compostos dividem-se em 6 categorias: ácidos voláteis, aldeídos, acetato de etilo, etanol, álcoois superiores e metanol. Neste trabalho foram analisados e monitorizados, 2 aldeídos (o acetaldeído e o acetal) (Figura 10), o acetato de etilo e o etanol (Figura 11), 4 álcoois superiores (1-propanol, 1-butanol, 2-butanol e o 2-metil-1-propanol) (Figura 12) o metanol (Figura 13). Os cromatogramas destas amostras encontram-se representados no Anexo IV.

Como já foi previamente mencionado a oxidação do etanol origina acetaldeído e, por sua vez redução do acetal. Posteriormente o acetaldeído, quando oxida e origina ácido acético, pode reagir posteriormente com o etanol para originar o acetato de etilo (Caldeira, 2004; Amado, 2014). Os resultados obtidos neste trabalho evidenciam o aumento do acetato de etilo durante o envelhecimento das aguardentes para 3 amostras: An, Aam e Aav. Estas aguardentes foram igualmente as amostras que revelaram uma maior perda de etanol e acetal ao longo do envelhecimento, tendo esta perda sido superior à média de 12,7% descrita por Caldeira (2004).

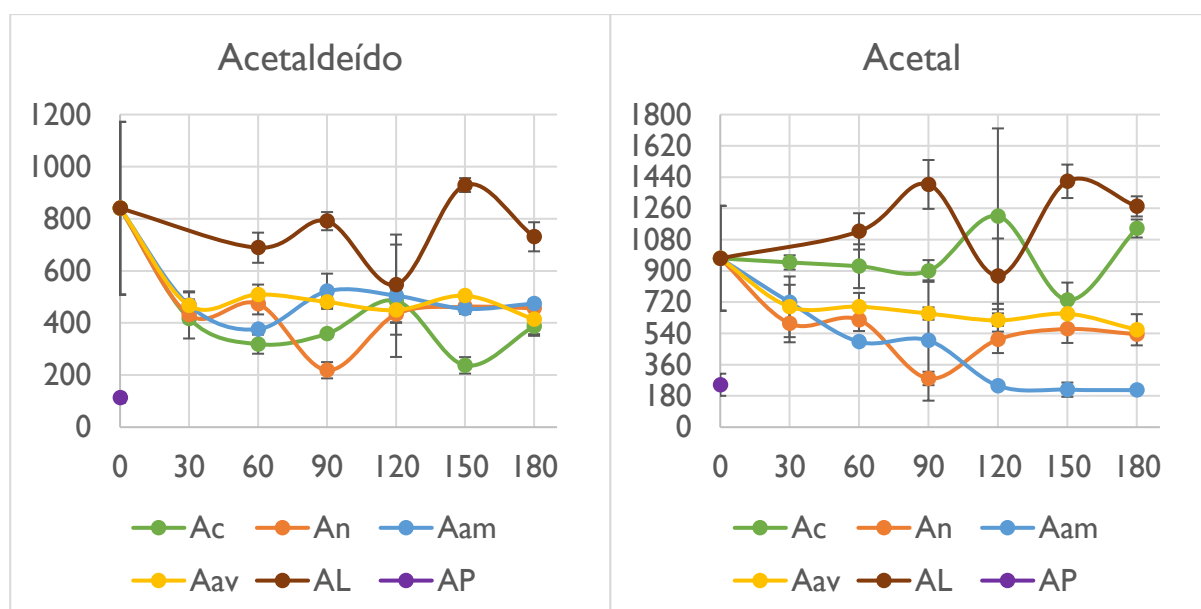


Figura 10 – Aldeídos voláteis (µg/g): acetaldeído e acetal das aguardentes envelhecidas com cascas de castanha (Ac), noz (An), amêndoa (Aam), avelã (Aav) e fragmentos de madeira de carvalho (AL) ao longo do envelhecimento, e da aguardente comercial (AP).

Ao longo do tempo, verificou-se também uma diminuição do acetaldeído superior à média de 32% (Caldeira, 2004). Para as amostras Ac e AL, onde não foram identificados o acetato de etilo (Figura 11), verifica-se que apesar de ocorrer uma diminuição do acetaldeído, não ocorreram perdas significativas de etanol (Figura 11) ou acetal (Figura 10) ao longo do tempo, pelo que a formação de acetato de etilo não foi favorável. Ao invés, neste caso, provavelmente foi beneficiada a formação de ácido acético, o que de alguma forma é corroborado pelos resultados obtidos para a amostra AL aos 120 dias de envelhecimento, onde ocorreu um aumento considerável da acidez volátil (AV), sugerindo a conversão do acetaldeído em ácido acético.

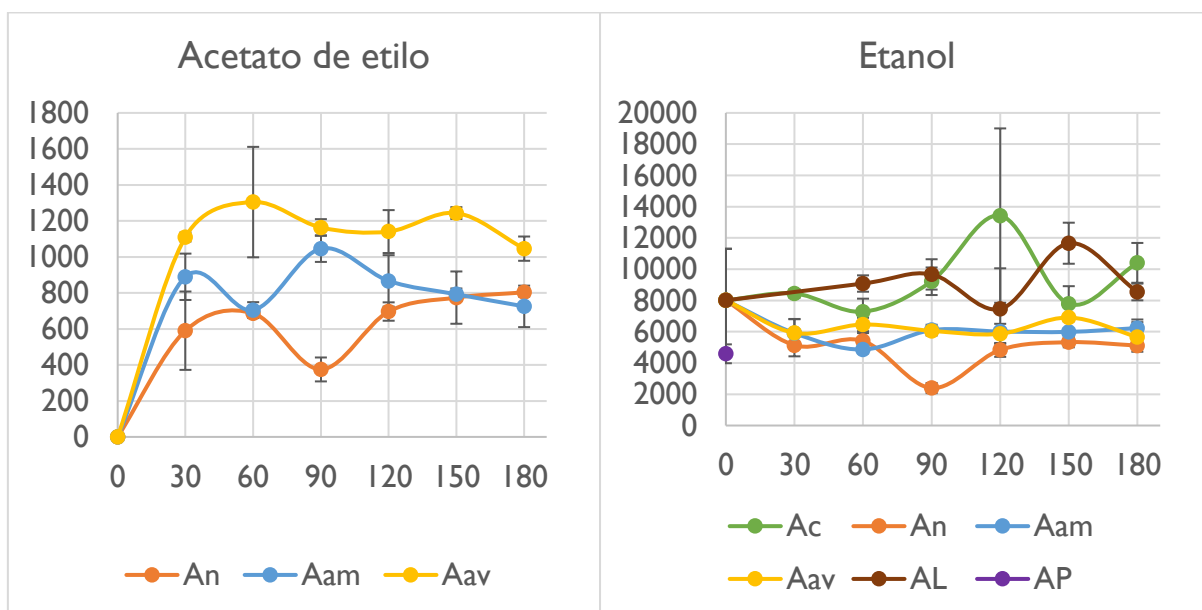


Figura 11 – Acetato de etilo e etanol ($\mu\text{g/g}$) das aguardentes envelhecidas com cascas de noz (An), amêndoa (Aam) e avelã (Aav) ao longo do tempo de envelhecimento, e da aguardente comercial (AP).

Os álcoois superiores provêm do vinho, e a sua presença nas aguardentes víquicas costuma ser já elevada. Estes álcoois aumentam durante a fermentação do vinho, consoante o metabolismo de leveduras, à exceção do 2-butanol que varia de acordo com a atividade bacteriana (Caldeira, 2004). Neste trabalho, a aguardente vínica (Av) utilizada para o envelhecimento de aguardentes não apresentou nenhum dos 4 álcoois superiores estudados. Seria assim esperado que não fossem igualmente detetados nas aguardentes envelhecidas. No entanto, verificou-se o aumento destes álcoois ao longo do envelhecimento para algumas aguardentes (Figura 12). O 1-propanol e o 2-metil-1-propanol aumentaram para as amostras An, Aam e Aav, e o 1-butanol aumentou só para as amostras de An e Aam, mas foi erradicado por completo até aos 150 dias para An, e aos 90 dias para Aam. Este comportamento sugere, ou a sua evaporação ou participação em reações secundárias. Quanto ao 2-butanol, foi identificado igualmente nas

amostras de An, Aam e Aav, e foi também identificado na aguardente envelhecida com fragmentos de madeira (AL). Estes resultados potenciam a conclusão de uma possível contaminação microbiológica destas amostras apesar do ambiente desfavorável para o crescimento das mesmas (elevado TAV e baixo pH). A análise microbiológica não é uma prática regular do controlo de bebidas espirituosas em Portugal, muito menos para aguardentes, que como já foi referido apresentam um ambiente de proliferação desfavorável. No entanto, estes resultados revelam a necessidade desta análise para garantir a segurança destes produtos e a qualidade dos mesmos, visto estes compostos interferirem com o sabor e aroma do produto (Amado, 2014). Ac foi a única aguardente que não apresentou desenvolvimentos destes álcoois, o que por sua vez pode indicar que a casca de castanha seja detentora de compostos inibidores de crescimento de microrganismos.

Por fim, observa-se que para todos os compostos voláteis analisados, as aguardentes deste trabalho mostraram-se superiores à aguardente DOC comercial (AP), o que é importante, pois na impossibilidade de converter estes resultados de $\mu\text{g/g}$ para $\text{g}/100\text{ L}$ de álcool absoluto (por não ter sido avaliada as densidades das amostras), que são as unidades definidas para os limites legais relativos ao teor de substâncias voláteis e ao metanol (CE, 2019), pode-se formar uma perceção da conformidade destas aguardentes. Assim, visto considerarmos que a AP estará conforme os limites legais definidos, pois é uma aguardente DOC, percebemos que todas as aguardentes deste trabalho deverão atingir o teor mínimo de substâncias voláteis de 125 g/hL de álcool absoluto (CE, 2019).

No entanto, no que diz respeito ao metanol (Figura 13) já não podemos afirmar que as aguardentes se mantêm dentro do limite máximo legal de 200 g/hL de álcool absoluto (CE, 2019). Todas as amostras (Ac, An, Aam, Aav e AL) apresentaram teores superiores ao da AP, principalmente a Aam, que revelou uma tendência anormal de aumento do teor de metanol ao longo do tempo de envelhecimento. De qualquer forma, para as amostras de Ac, An, Aav e AL, os teores de metanol mantiveram-se estáveis ao longo do tempo, pelo que se deduz que a origem deste teor elevado tenha partido da destilação deficiente da aguardente vínica antes do envelhecimento, e que o envelhecimento em si, pouco tenha influenciado o teor de metanol. Contudo, no caso da Aam, pressupõe-se que as cascas de amêndoa poderão de alguma forma ter contribuído para o aumento drástico de metanol nesta amostra, sendo por já conterem metanol na sua matriz, ou por alguma possível fermentação das cascas, tal como acontece no caso da formação de metanol nos vinhos, que resulta da fermentação das pectinas das uvas (Mota *et al.*, 2008).

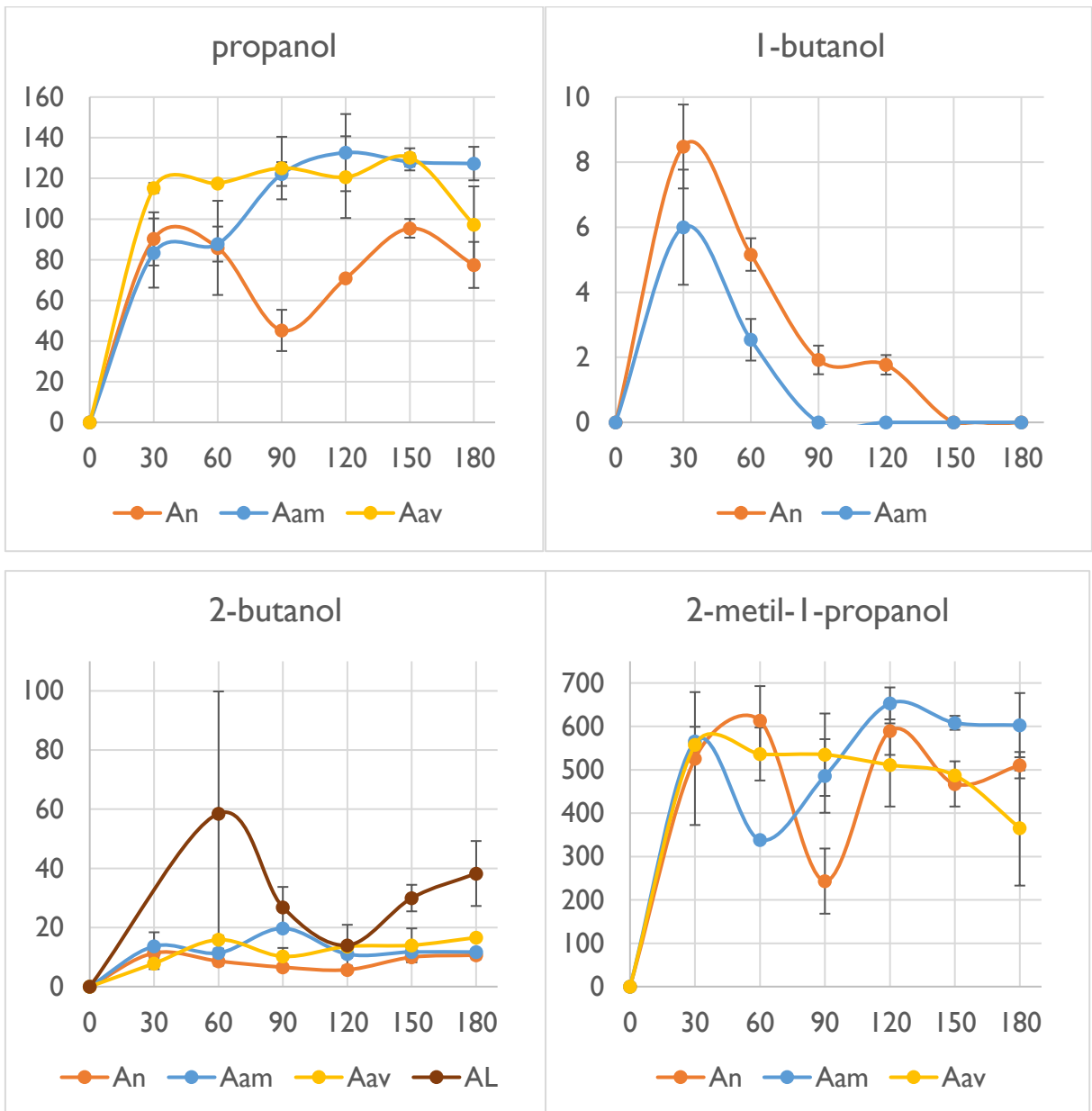


Figura 12 – Álcoois superiores ($\mu\text{g/g}$): propanol, 1-butanol, 2-butanol e 2-metil-1-propanol das aguardentes envelhecidas com cascas noz (An), amêndoa (Aam), avelã (Aav) e fragmentos de madeira de carvalho (AL) ao longo do tempo de envelhecimento.

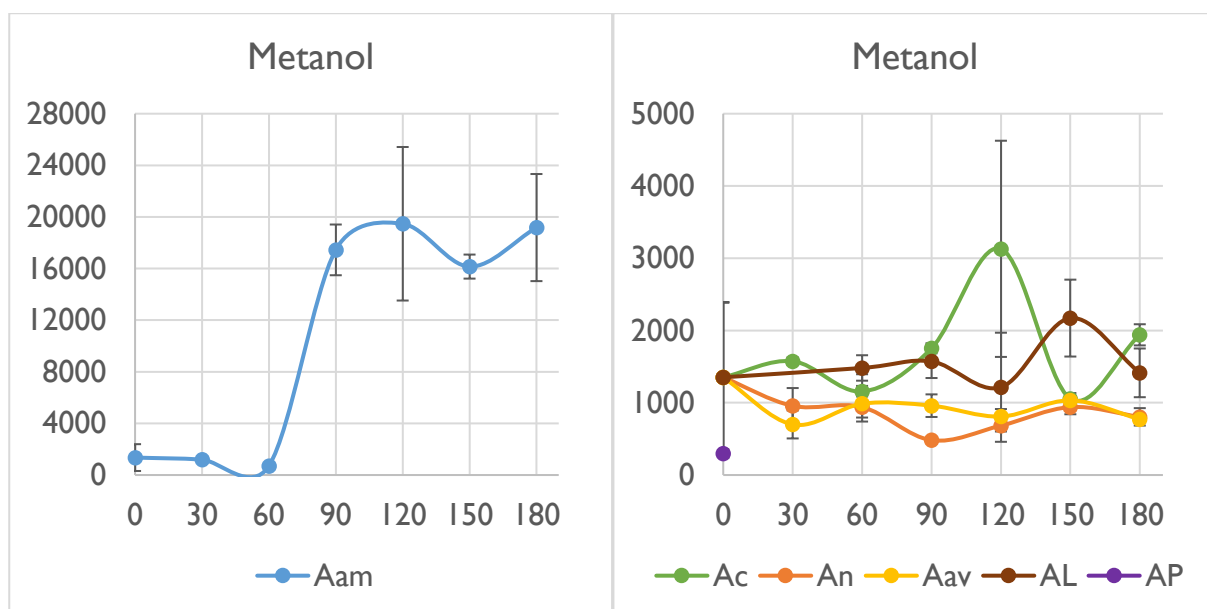


Figura 13 – Metanol ($\mu\text{g/g}$) das aguardentes envelhecidas com cascas de castanha (Ac), noz (An), amêndoa (Aam), avelã (Aav) e fragmentos de madeira carvalho (AL) ao longo do tempo de envelhecimento, e da aguardente comercial (AP).

4.6.3. Análise dos açúcares totais

Realizou-se a análise aos açúcares totais para as amostras da aguardente vínica (Av), aguardente envelhecida por 4 meses com casca de amêndoa (Aam4), ao extrato da flor de carqueja (EC), e ao licor de carqueja (LC). Sendo o licor uma bebida espirituosa que possui um elevado teor de sacarose adicionado na sua produção, houve a necessidade de se compreender a origem dos restantes açúcares presentes no produto. O Regulamento (EU) 2019/787, define que um licor deverá conter um teor mínimo de açúcares de 100 g/L, não sendo definido um limite máximo legal. No entanto, é preciso considerar que o excesso de açúcar é prejudicial à saúde (Graça *et al.*, 2016), pelo que é essencial manter uma formulação equilibrada na produção de licores. Os resultados desta análise estão apresentados na Tabela 13 e os respetivos cromatogramas encontram-se no Anexo V.

A análise realizada concluiu que para Av não foram detetados quaisquer açúcares. Este resultado está de acordo com o esperado, pois os açúcares perdem-se durante o processo de destilação, sendo o amargor uma das características sensoriais das aguardentes vínicas (Amado, 2014; Cruz, 2016). Admite-se, porém que poderão, no entanto, haver teores residuais de açúcares na aguardente provenientes do vinho que foi destilado. Deste modo, perspectiva-se que Av (como matéria-prima do LC), não contribuiu para o teor de açúcares totais do mesmo.

A amostra de aguardente Aam4 (Tabela 13), apresentou um teor bastante reduzido de açúcares totais (0,10 g/L), sendo que a sacarose e a maltose não foram identificadas. O teor de açúcares nesta amostra deriva inteiramente das cascas de amêndoa, uma vez que a aguardente vínica não apresenta açúcares identificáveis nestas condições. Queirós *et al.*, (2020), analisaram a composição polissacarídea das cascas de amêndoa, e identificaram a glucose e a xilose como os açúcares predominantes. No presente trabalho também foi identificada a glucose, mas a sua concentração não foi muito considerável (0,01 g/L). A fração dos outros açúcares foi a mais elevada, onde podemos deduzir que a maior parte desta fração corresponda à xilose, apesar de não a termos identificado e quantificado. Em contrapartida identificámos uma porção de frutose igual à da glucose, e que não foi identificada no trabalho referido. Sequeiros *et al.*, (2014), analisaram a composição polissacarídea das cascas de amêndoa por diferentes métodos de extração e solventes. Este trabalho revelou que para solventes etanólicos (como no nosso trabalho) a percentagem de açúcares totais das cascas de amêndoa aparenta ser bastante reduzida (3,40%) e que nestas condições a xilose é um dos açúcares mais predominantes, sendo a glucose dos mais reduzido, comprovando mais uma vez os resultados do nosso trabalho.

Tabela 13 – Açúcares totais (g/L) da aguardente de casca de amêndoa com 4 meses de envelhecimento (Aam4) e do extrato de flor de carqueja (EC) e do licor de carqueja (LC), (média±dp).

Concentração (g / L)	Amostras		
	Aam4	EC	LC
Glucose	0,01 ± 0,00	0,17 ± 0,01	2,17 ± 0,01
Frutose	0,01 ± 0,00	0,24 ± 0,01	0,34 ± 0,01
Maltose	-	-	0,54 ± 0,03
Sacarose	-	0,06 ± 0,02	616,13 ± 30,60
Outros Açúcares	0,08 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,28 ± 0,01
Açúcares Totais	0,10 ± 0,00	0,49± 0,02	619,46 ± 30,66

O EC, apresentou um teor de açúcares totais mais considerável que a aguardente Aam4, mas igualmente bastante baixo (0,49 g/L). Os açúcares mais predominantes foram a glucose e a frutose, tendo sido também quantificada uma pequena concentração de sacarose e de outros açúcares.

No licor de carqueja (LC), é preciso ter em conta que aproximadamente 500 g/ L dos açúcares é devida à sacarose adicionada durante a sua produção. Admite-se igualmente que este valor

possa ser ligeiramente mais elevado, pois a sacarose antes de ser adicionada ao licor foi convertida em calda, e a diferença das densidades da solução da calda e da aguardente pode ter sido responsável por um licor mais concentrado em açúcares totais. Não obstante, alguma da sacarose, ainda que em concentração muito reduzida, tem origem na flor de carqueja, visto este açúcar não estar presente na aguardente envelhecida (Aam4).

Pode-se inferir que as condições de extração dos açúcares da flor de carqueja na produção do licor (LC) foram mais favoráveis do que as aplicadas na produção do extrato de flor de carqueja (EC). Deste modo podemos postular que uma extração mais lenta favoreceu a extração dos açúcares da carqueja, inclusive no que toca à maltose, que está presente em LC e não em EC. Roriz *et al.*, (2014) apresentaram no seu trabalho que, a maior percentagem de açúcares na carqueja foi a frutose, seguido da glucose e por último a sacarose. Neste trabalho, a concentração mais elevada correspondeu à glucose. No entanto, também é sobejamente conhecido que a proporção dos açúcares nas plantas pode variar de acordo com as diferentes subespécies, as condições de crescimento e a sua localização geográfica. A este respeito, enquanto que a flor de carqueja do trabalho de Roriz *et al.*, (2014) é proveniente de Castro Daire, a utilizada neste trabalho é originária da serra da Gardunha.

De qualquer forma, compreende-se que a extração reduzida dos açúcares provenientes da flor de carqueja e da casca da amêndoa, não contribuem de forma significativa para o aumento do teor de açúcares totais do licor.

4.6.4. Análise do perfil fenólico da flor de carqueja

Neste estudo efetuou-se a análise e quantificação do perfil fenólico da flor de carqueja, tendo-se recorrido a HPLC-DAD-ESI/MSn. Os compostos detetados estão apresentados na Tabela 14, e a Tabela 15 apresenta de forma sumária o teor de cada composto detetado em cada amostra respetiva.

Para a aguardente vínica (Av) não foi detetado nenhum composto fenólico, tal como na análise feita anteriormente na secção 4.6.1. Este resultado era esperado, pois este tipo de bebida é conhecido pela ausência de compostos fenólicos quando não é envelhecida. Assim, o teor residual de fenólicos totais apresentado na Figura 7 poderá dever-se a erros de quantificação, pois o método espectrofotométrico utilizado neste trabalho é conhecido por poder quantificar de forma errada o cobre como se de um fenol se tratasse (Miranda *et al.*, 2008).

Tabela 14 – Tempo de retenção (TR), absorção máxima na região do visível (λ_{max}), íon pseudomolecular ($[M-H]^-$), fragmentação de massa (MS²), e tentativa de identificação dos compostos fenólicos das amostras de: aguardente vinica, aguardente envelhecida com casca de amêndoa, licor flor de carqueja e extratos de carqueja).

Pico	TR (min)	λ_{max} (nm)	[M-H] ⁻ (m/z)	MS ² (m/z)	Tentativa de identificação	Referência
1	4.82	291,sh339	465	447(9),375(12),357(5),345(100), 327(11),317(5),167(7)	Dihidroquercetina-C-hexóxido	(Roriz, Barros, Carvalho, Santos-Buelga et al., 2014)
2	5.84	284,sh340	479	359(100),341(5),221(5),167(5)	Miricetina-C-hexóxido	(Roriz et al., 2014)
3	6.68	292,sh338			Composto desconhecido	
4	8.29	258/301	465	447(9),375(13),357(5),345(100), 327(15),317(5),167(7)	Dihidroquercetina-C-hexóxido	(Roriz et al., 2014)
5	11.54	367	413	311(100),269(25)	Derivado genisteína	DAD/MS
6	12.41	255/320	491	445(10),283(100),269(60)	3'-Metoxi daidzeína	(Qiao et al., 2014)
7	13.36	261/320	431	311(100),283(10)	Genisteína-C-hexóxido	DAD/MS
8	13.84	261/320	431	311(100),283(12)	Genisteína-C-hexóxido	DAD/MS
9	16.4	352	609	301(100)	Quercetina-O-desoxihexosil-hexóxido	DAD/MS
10	16.55	357	609	301(100)	Quercetina-O-desoxihexosil-hexóxido	DAD/MS
11	17.25	354	463	301(100)	Quercetina-O-hexóxido	DAD/MS
12	17.56	353	463	301(100)	Quercetina-O-hexóxido	DAD/MS
13	18.33	260/329	463	301(100)	Ácido elágico hexóxido	DAD/MS
14	19.85	261/321	433	301(100)	Ácido elágico pentóxido	DAD/MS
15	21.5	260/322	431	311(10),269(100)	Genisteína 7-O-glucosídeo (Genistina)	Composto Padrão
16	22.92	256/320	505	459(5),297(100),282(76)	Metil-biochanina A/metil-prunetina O-hexóxido	(Roriz et al., 2014)
17	30.33	368	301	179(100),151(78)	Quercetina	DAD/MS
18	31.82	260/320	491	445(3),283(100)	Biochanina A O-hexóxido	(Roriz et al., 2014)
19	34.53	260/320	269	241(4),225(6),201(5),181(2),133(7)	Genisteína	DAD/MS
20	35.26	260/320	283	268(100),239(7),224(5),195(2),135(2)	4'-O-Metilgenisteína (biochanina A)	(Roriz et al., 2014)
21	36.72	260/320	297	282(100)	Metil-biochanina A/ metil-prunetina	(Roriz et al., 2014)
22	44.33	260/320	283	268(100)	7-O-Metil-genisteína (prunetina)	(Roriz et al., 2014)

Tabela 15 – Compostos fenólicos (mg composto /L) das amostras estudadas: aguardente vínica (Av), aguardente envelhecida com casca de amêndoa com 4 meses (Aam), licor de carqueja (LC) e extratos de flor de carqueja (EC) (média±dp).

Pico	Av	Aam	LC	EC
1	nd	18,3±0,2	28,9±0,5	68,4±6,6
2	nd	nd	67,9±4,5	138,4±11,0
3	nq	nq	nd	nd
4	nd	7,0±0,3	16,3±0,3	57,6±14,3
5	nd	nd	2,5±0,1	11,1±0,5
6	nd	9,8±0,1	nd	134,9±8,4
7	nd	tr	9,4±0,2	23,8±2,6
8	nd	nd	nd	22,2±0,8
9	nd	nd	6,2±0,1	13,4±1,3
10	nd	nd	6,2±0,2	24,7±3,0
11	nd	nd	13,6±0,2	214,4±14,3
12	nd	nd	9,1±0,1	109,3±18,3
13	nd	nd	nd	151,8±8,6
14	nd	21,7±0,04	14,5±0,1	36,9±1,9
15	nd	nd	nd	19,5±1,0
16	nd	nd	nd	257,6±33,6
17	nd	6,3±0,05	6,6±0,3	47,3±3,9
18	nd	nd	nd	201,4±13,9
19	nd	nd	0,1±0,01	95,1±6,6
20	nd	nd	tr	180,5±58,5
21	nd	nd	tr	137,8±26,1
22	nd	nd	nd	146,3±6,5
Total isoflavonas	nd	tr	12,0±0,3	1230,2±139,2
Total derivados de ácido elágico	nd	33,6±0,04	14,5±0,10	188,7±7,0
Total flavonoides	nd	54,5±0,10	154,7±4,2	673,6±42,7
Total compostos fenólicos	nd	43,4±0,04	181,2±3,8	2092,4±176,5

nd – não detetado; nq – não quantificado; tr – traços

A aguardente envelhecida durante 4 meses com casca de amêndoa, foi novamente analisada para a avaliação do seu perfil fenólico. Esta análise permitiria a quantificação dos fenóis que passassem posteriormente para o licor, de forma a perceber a origem desses mesmos compostos, se das cascas, se da carqueja ou de ambos.

Foi apenas identificado um trabalho que tenha realizado uma análise do perfil fenólico das cascas de amêndoa (Prgomet *et al.*, 2019), onde o cromatograma da análise das cascas é

apresentado como o mais rico e complexo das matérias estudadas (peles e endocárpio de amêndoa), mas nenhum composto deste perfil é identificado ou quantificado. Deste modo, foi possível detetar e quantificar, pela primeira vez, 6 compostos fenólicos adicionais que não tinham sido detetados na análise por HPLC-DAD da mesma amostra na secção 4.6.1.. Estes 6 compostos, correspondem à taxifolina (pico 1 e 4), à isoflavona daidzeína (pico 6) e a derivados de genisteína (pico 7), ácido elágico (14) e quercetina (pico 17), sendo que todos estes compostos já foram previamente identificados noutros trabalhos que analisaram outros componentes da amendoeira, como os caules, as folhas e o fruto (amêndoa) (Milbury *et al.*, 2006; Bolling, 2017; Oyeleye *et al.*, 2018).

O ácido elágico é o único composto que já tinha sido previamente identificado por HPLC-DAD na secção 4.6.1. na amostra do extrato de casca de amêndoa, mas curiosamente, não foi possível a identificação nem na amostra da aguardente respetiva, nem nas restantes. Contudo pela análise da Tabela 15, verifica-se que foi possível a deteção e quantificação do ácido elágico na aguardente de casca de amêndoa com 4 meses de envelhecimento, na forma pentósica, em teores significativos, o que indica que o uso de espectrómetros de massa é um ponto-chave para a deteção de marcadores fenólicos que possam encontrar-se em formas derivativas. Aliás, pela Tabela 15 comprovamos que na aguardente envelhecida com casca de amêndoa (4 meses) as concentrações do ácido elágico é de 21,7 mg/L, enquanto que no trabalho de Cruz (2016), ao fim de 6 meses, o teor de ácido elágico é apenas de 3,09 mg/L (envelhecimento em barris) e 3,97 mg/L (envelhecimento com aduelas). Assim, na extração deste composto, as cascas de amêndoa demonstram ser entre 5,5 a 7 vezes mais eficazes.

Nas amostras de Av e Aam, observou-se a ocorrência de um pico (3) que não foi possível identificar. Como este composto só foi detetado nestas duas amostras e não foi posteriormente detetado no LC, considerou-se que, muito possivelmente, correspondia a um composto volátil da aguardente, pelo que não foi quantificado por não apresentar relevância para o perfil fenólico.

O extrato da flor de carqueja (EC) demonstrou o perfil fenólico mais complexo de todas as amostras, sendo responsável por 21 dos 22 picos observados. O único pico não observado nesta amostra foi o pico 3, que foi determinado anteriormente como um composto volátil da aguardente. No licor (LC), detetaram-se apenas 14 dos 21 compostos identificados em EC, isto demonstra que a matriz complexa da bebida espirituosa (Aam), não foi capaz de efetuar a extração total do perfil fenólico da flor de carqueja. De qualquer forma, este solvente

apresentou-se capaz de extrair fenólicos em teores significativos, reconhecidos pelo seu elevado poder antioxidante, como a genisteína, a prunetina e as quercetinas (Vitor *et al.*, 2004).

Na tentativa de identificação destes 21 compostos da flor de carqueja, pode-se resumir que 20 deles já foram previamente identificados noutros trabalhos, na mesma forma ou por derivados: o **pico 1 e 4**, foi identificado como sendo um derivado da taxifolina (pela presença da dihidroquercetina na sua composição) (Coelho, 2015; Roriz *et al.*, 2014; Aires *et al.*, 2016); o **pico 2** representa um derivado da miricetina (Paulo *et al.*, 2008; Roriz *et al.*, 2014; Coelho, 2015); os **picos 5, 7 e 8** correspondem a derivados de genisteína, e o **pico 19** à forma normal de genisteína (Paulo *et al.*, 2008; Roriz *et al.*, 2014; Coelho, 2015; Aires *et al.*, 2016); o **pico 15** foi por sua vez identificado como sendo a genistina (Vitor *et al.*, 2004; Paulo *et al.*, 2008; Roriz *et al.*, 2014; Coelho, 2015; Aires *et al.*, 2016); o **pico 17** representa a quercetina; e os **picos 9, 10, 11 e 12** correspondem a derivados da mesma (Vitor *et al.*, 2004; Paulo *et al.*, 2008; Luís, Domingues e Duarte, 2011; Roriz *et al.*, 2014; Coelho, 2015; Aires *et al.*, 2016); a isoflavona biochanina A foi identificada no **pico 18**; e um derivado seu no **pico 20** (Roriz *et al.*, 2014; Aires *et al.*, 2016); o ácido elágico foi detetado no **pico 13**, na forma hexósida e no **pico 14** na forma pentósida (Luís, Domingues e Duarte, 2011); no **pico 22** identificou-se a prunetina (Vitor *et al.*, 2004; Paulo *et al.*, 2008; Roriz *et al.*, 2014); e no **pico 16 e 21** detetou-se possivelmente a metil-biochanina A ou a metil-prunetina (Roriz *et al.*, 2014). O **pico 6** foi determinado como sendo um derivado da daidzeína que é uma isoflavona conhecida por estar presente em outras plantas medicinais (Qiao *et al.*, 2014) e nas raízes do arbusto da carqueja (Simões *et al.*, 2020). No entanto, é a primeira vez que é identificado na flor de carqueja. Este trabalho, também se destaca como sendo o primeiro a detetar e quantificar a prunetina, a daidzeína, a biochanina A e o ácido elágico na subespécie de carqueja da região da Gardunha (Portugal) (Coelho, 2015).

A isoquercitina é conhecida pela sua capacidade de combate dos diabetes devido à sua ação anti-hiperglicémica no retardamento da absorção de açúcar no sangue (Paulo *et al.*, 2008). No entanto, algumas subespécies de carqueja podem igualmente conter teores de sissotrina, dependendo da sua região, sendo este composto capaz de produzir um efeito contrário ao observado pela isoquercitina (Paulo *et al.*, 2008). A sissotrina, por sua vez, não foi identificada nas amostra de licor nem de extrato de flor de carqueja produzidos, mas é importante remarcar que este composto já foi previamente identificado num trabalho com extratos aquosos de flor de carqueja da mesma região (Gardunha, Portugal) (Coelho, 2015).

4.7. Características organoléticas

A análise sensorial é essencial para avaliar a qualidade e a aceitação dos produtos alimentares por parte do consumidor, assim como a definição do perfil organolético do mesmo (Amado, 2014).

Neste trabalho foram realizadas duas provas sensoriais: uma às aguardentes e outra ao licor, cujo objetivo foi definir o grau de aceitação dos novos produtos e enquadrar o seu nível de qualidade quando em comparação com bebidas espirituosas já no mercado.

Os atributos avaliados foram a cor, o aroma, o sabor, a apreciação global, a intensidade da doçura, do amargor, e do teor alcoólico (este último, só nos licores). Os resultados das duas provas estão representados na Figura 15 e 16 para o caso das aguardentes, e na Figura 21 para os licores. Em ambas as provas, foi igualmente avaliada a intenção de compra do consumidor, sendo os resultados apresentados na Figura 17 (aguardentes) e na Figura 22 (licores).

Devido ao facto das provas terem sido realizadas com um painel não treinado, procurou-se, para as aguardentes, complementar a análise sensorial com uma avaliação discriminatória das amostras utilizando o nariz e a língua eletrónica, de forma a perceber se seria possível distinguir as amostras entre si. Os resultados destas análises estão apresentados na Figura 18 (nariz eletrónico) e nas Figuras 19 e 20 (língua eletrónica).

4.7.1. Análise Sensorial às Aguardentes

Canas e Caldeira (2017) referem que as aguardente envelhecidas com as madeiras de carvalho apresentam perfis mais dourados, enquanto a utilização da madeira de castanheiro apresenta um perfil topázio avermelhado. Estes resultados estão de acordo com os observados no nosso trabalho em que a aguardente envelhecida com fragmentos de madeira de carvalho (AL) apresentou tons acastanhados (mais intensos) e a aguardente envelhecida com casca de castanha (Ac) apresentou tons avermelhados.

No que diz respeito à cor, a aguardente que apresentou uma apreciação mais elevada foi amostra comercial AP (5,23) com tons mais dourados. Apesar de Aav (4,57), Aam (4,82) e An (4,79) terem apresentado a mesma gama de tonalidade, a intensidade da cor foi mais fraca. Tal facto pode derivar do envelhecimento de AP ser superior a 5 anos, enquanto o envelhecimento das restantes amostras no momento da prova era de apenas 4 meses. A menor intensidade da cor das 3 amostras mencionadas anteriormente, revelou-se crucial na apreciação pelos provadores já que estes demonstraram preferência por aguardentes com tons mais intensos e complexos como foi o caso de AL (4,94) e Ac (5,00). No Anexo VI

encontram-se fotografias das amostras para compreensão das diferenças de cor entre as mesmas.

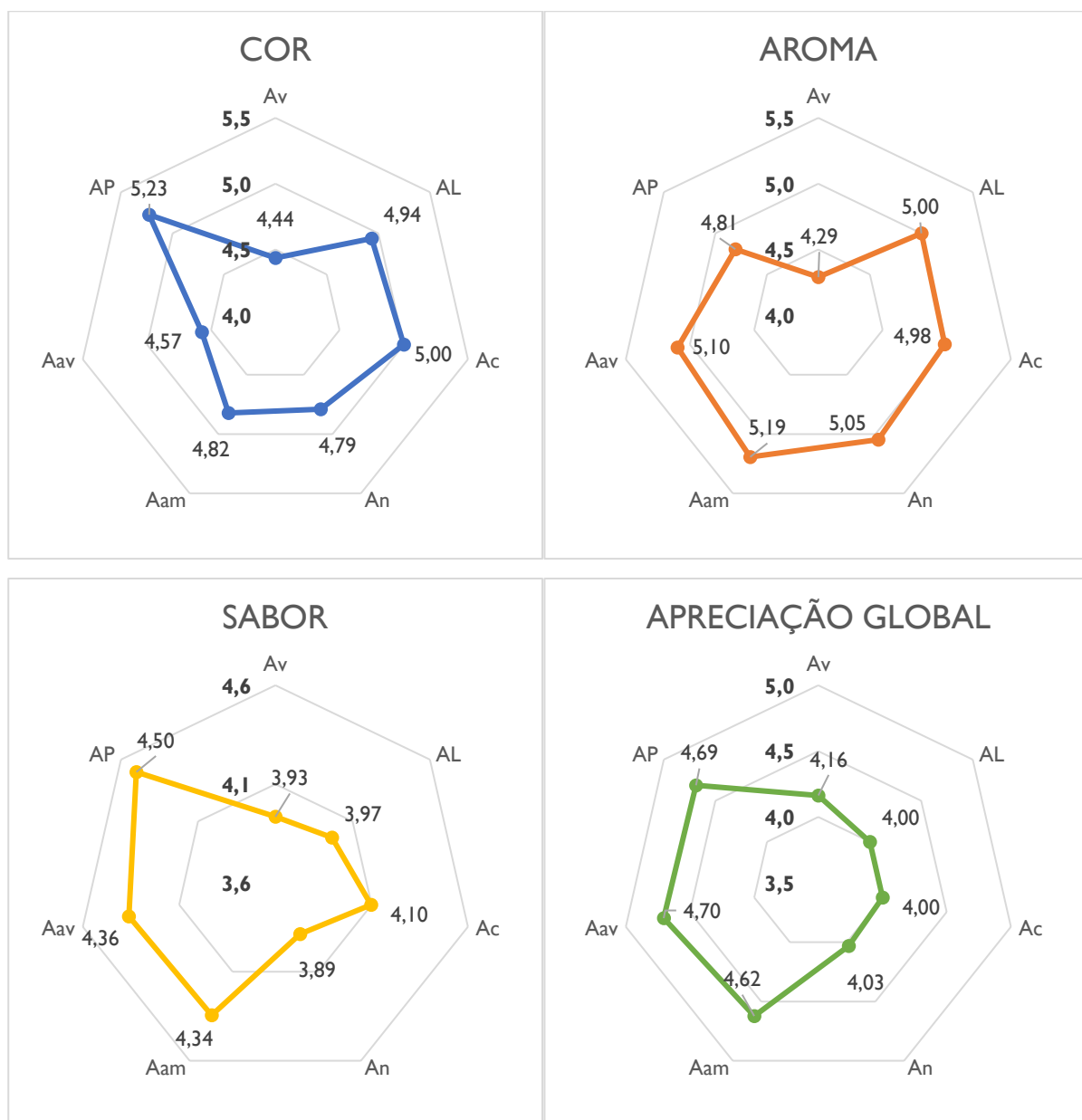


Figura 14 – Análise sensorial à aguardente vínica (Av), aguardentes envelhecidas com cascas de castanha (Ac), noz (An), amêndoa (Aam), avelã (Aav) e fragmentos carvalho (AL) e á aguardente comercial (AP). Escala hedónica de 1 a 7, em que 1 equivale a “Não gostei” e 7 a “Gostei muito”.

Em relação ao aroma as aguardentes envelhecidas com cascas de frutos secos revelaram ser mais apreciadas do que AP, e em geral a AL. Sendo assim, as cascas de frutos secos possuem perfis aromáticos únicos e mais apreciados que a madeira, sendo que estes aromas são mais facilmente reconhecidos pelo olfato humano porque os frutos estão mais presentes na

alimentação humana que os aromas da madeira. Cruz (2016), analisou sensorialmente aguardentes do mesmo produtor de AP (aguardente DOC comercial), e apesar de utilizar um painel de provadores treinado, a apreciação das aguardentes desenvolvidas no nosso trabalho foi superior à apreciação aromática das amostras que analisou.

Em termos de sabor, a aguardente comercial AP apresentou melhor classificação (4,50). No entanto, é possível que este resultado não derive exclusivamente do agente de envelhecimento utilizado (madeira carvalho), mas também do tempo de envelhecimento que no primeiro caso foi superior a 5 anos, e que na amostra (AL), apesar de utilizar igualmente madeira de carvalho o tempo de maturação foi de apenas 4 meses, tal como as restantes amostras envelhecidas com cascas de frutos secos. Realça-se o facto da pontuação de AL ter sido a mais baixa (3,97), enquanto as restantes amostras apresentaram pontuações semelhantes a AP, sendo Ac (4,10), Aam (4,34) e Aav (4,36). An foi a amostra envelhecida de cascas de frutos secos que obteve a pontuação mais baixa em termos de sabor (3,89), inclusive mais baixa que a da aguardente sem envelhecimento, Av (3,93). No caso de An denotou-se um perfil sensorial mais adstringente, que se correlaciona às características da noz e cuja casca apresenta atributos semelhantes.

A intensidade do doce e do amargor (Figura 15) foram dois descritores igualmente analisados que pretenderam complementar a análise do sabor. Denotou-se previamente, que certas aguardentes apresentavam um perfil mais doce e por isso pretendeu-se avaliar até que ponto estas diferenças seriam perceptíveis pelos provadores não treinados. Efetivamente, as aguardentes que foram classificadas como mais doces foram a Aam e a Aav. No entanto, relativamente ao amargor não se diferenciaram das restantes aguardentes menos doces (An, Ac e AL). Podemos concluir que se verificou um melhor equilíbrio entre o doce e o amargo para as amostras Aam e Aav face às restantes amostras. A maior intensidade do doce para as aguardentes Aam e Aav está inteiramente ligada com as características das próprias cascas, já que frutos como a amêndoa e a avelã são conhecidos por um sabor mais doce e suave.

Av serviu apenas de termo de comparação do envelhecimento, sendo possível ver que em geral apresentou os níveis mais baixos de entre todos os parâmetros, e que o envelhecimento com qualquer tipo de agente, permitiu o aumento da apreciação de todas as características por parte dos provadores. Assim, o envelhecimento com as cascas demonstra ser capaz de aumentar a qualidade sensorial das aguardentes.

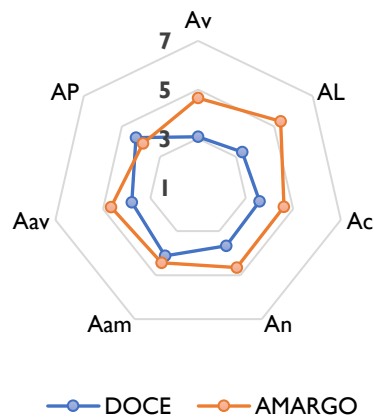


Figura 15 – Intensidade do doce e amargo à aguardente vínica (Av), aguardentes envelhecidas com cascas de castanha (Ac), noz (An), amêndoa (Aam), avelã (Aav) e fragmentos carvalho (AL) e á aguardente comercial (AP). Escala hedónica de 1 a 7, em que 1 equivale a “Nada intenso” e o 7 a “Muito intenso”.

A apreciação global foi maioritariamente influenciada pelo sabor, tal como esperado (Amado, 2014). As aguardentes que apresentavam pontuações elevadas na cor e no aroma, acabaram por obter uma pontuação geral mais reduzida devido à pontuação baixa do sabor (Ac, AL e An). Assim, as aguardentes preferidas foram a Aam e a Aav, que conseguiram atingir o mesmo nível de AP, mesmo com apenas 4 meses de envelhecimento.

Em geral, Aav e Aam foram as aguardentes mais apreciadas pelos provedores pelo seu aroma, sabor e apreciação global, mas foram das menos apreciadas em termos da cor. AL e Ac, apresentaram uma maior apreciação em termos da cor e aroma, mas revelaram um sabor mais forte e a intensidade a queimado não foi tão apreciado e que acabou por afetar a sua apreciação global. An revelou ser a menos apreciada, pois apresentou um sabor mais adstringente e amargo, característico das nozes. Para as aguardentes preferidas pelo painel (Aav e Aam), possíveis soluções para a melhoria da cor seria o aumento da proporção de cascas, a adição de caramelo, tal como é permitido pela legislação (CE, 2019), ou a realização do envelhecimento com uma mistura destes tipos de cascas, com a casca de castanha. Também se poderia, tal como proposto por Canas e Caldeira (2017), a complementação com a madeira (envelhecimento tradicional), à semelhança do ensaio que efetuaram com a mistura de madeira de carvalho e castanheiro no envelhecimento. O uso de diversas matérias em simultâneo no envelhecimento pode revelar um efeito sinérgico que aumenta a velocidade de maturação e o enriquecimento da bebida. Canas e Caldeira (2017), revelaram que o uso de madeira de castanheiro apresenta um perfil sensorial mais complexo. Apesar de o mesmo se verificar com o uso de cascas de castanha (Ac), este perfil não pareceu ser o mais apreciado pelo público,

sendo que, de forma geral, os provadores preferiram as aguardentes com um sabor e aroma mais doce e suave (Aam e Av). Pode-se concluir que o uso de cascas de frutos secos permite a obtenção de aguardentes velhas de elevada qualidade, sendo esta uma boa alternativa à madeira.

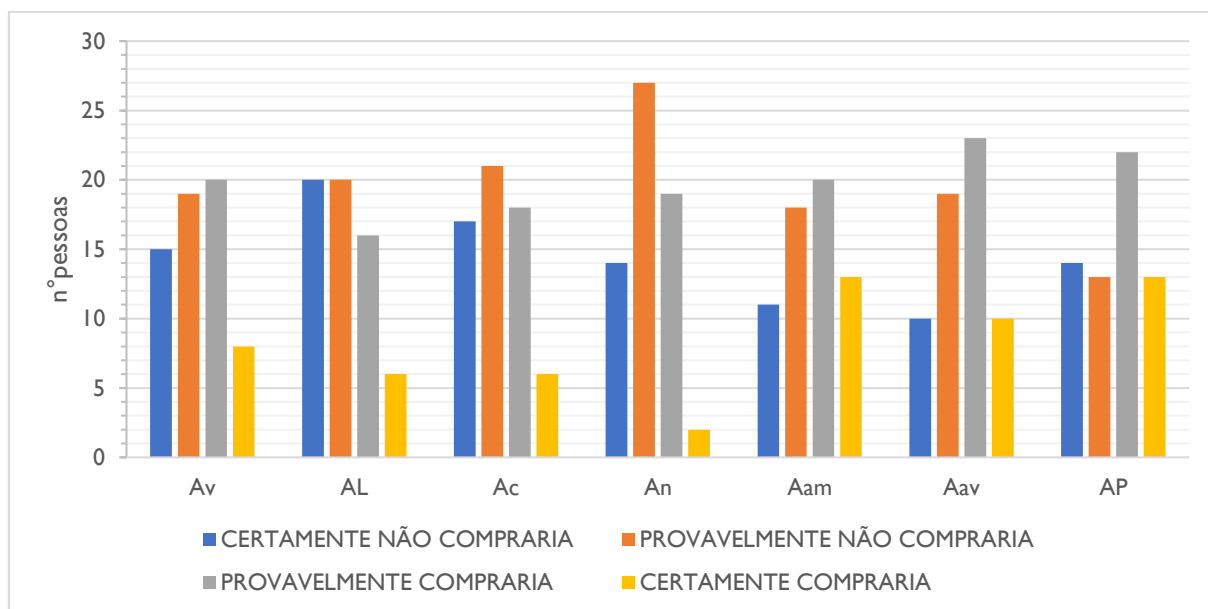


Figura 16 – Intenção de compra. Aguardente vínica (Av), aguardentes envelhecidas com cascas de castanha (Ac), noz (An), amêndoa (Aam), avelã (Aav) e fragmentos carvalho (AL) e á aguardente comercial (AP).

Em geral, as aguardentes envelhecidas com cascas de frutos secos (Ac, An, Aam e Aav) estiveram ao mesmo nível ou conseguiram superar as aguardentes envelhecidas com madeira (AP e AL), e às já referidas na literatura (Caldeira, 2004; Cruz, 2016).

Algumas notas e comentários dos provadores a ter em consideração, foram que o número de amostras era muito elevado numa só prova, pelo que se tornava difícil distinguir os aromas e sabores, bem como degustar as amostras em elevadas quantidades de álcool. Apesar destas limitações considera-se que se obteve uma panóplia diversificada de resultados, que permitiu de igual modo diferenciar as aguardentes.

A análise pelos aparelhos do nariz eletrónico (E-nose) e língua eletrónica (E-tongue) foi efetuada de modo a tentar discriminar as amostras entre si, como uma forma complementar de validação dos resultados da análise sensorial. Através da análise pelo E-nose (Figura 17) verifica-se que em geral o aparelho foi capaz de distinguir a maioria das amostras, tendo ocorrido apenas uma classificação errada da Aav como sendo Ac. É importante referir que o

aparelho de E-nose é bastante sensível e tende a saturar ao longo das análises, pelo que a limpeza efetuada entre cada análise é fundamental, mas só é eficaz até um certo tempo de utilização. Como o número de amostras em análise foi elevado e a distinção das mesmas ao longo do tempo tornou-se mais problemático uma avaliação mais detalhada, explicando a dificuldade do aparelho em discriminar as duas últimas amostras analisadas (Aav e Ac).

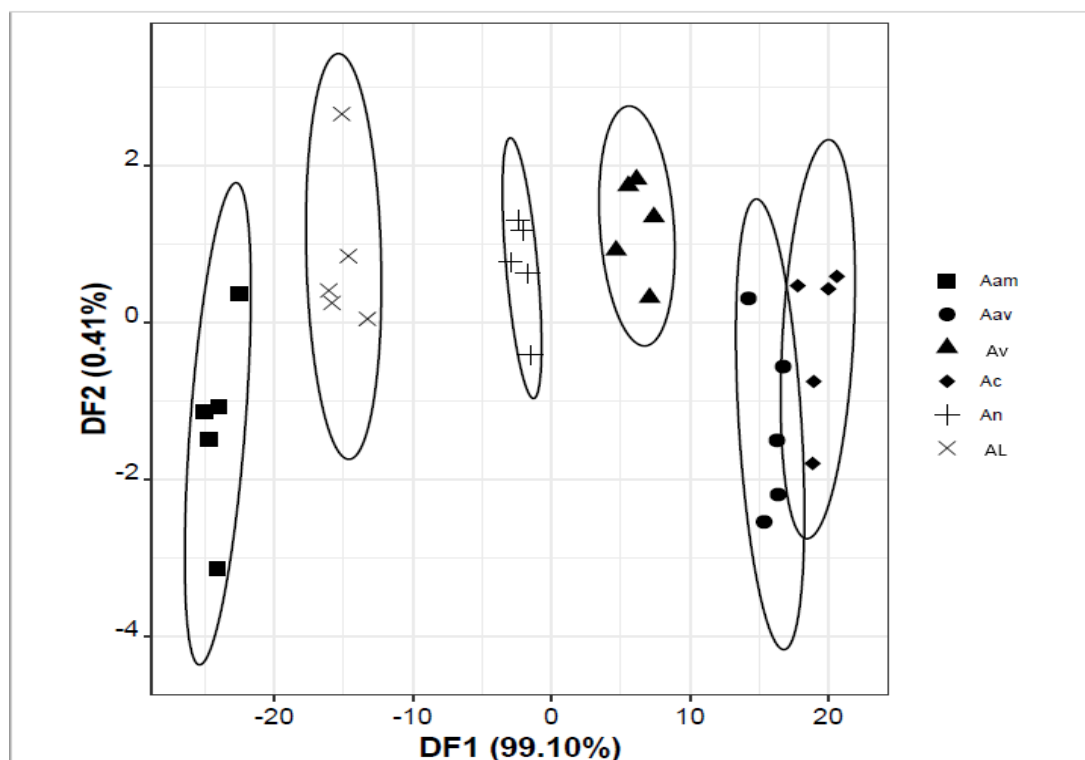


Figura 17 – Análise discriminante linear (LDA) realizada pelo nariz eletrónico (E-nose).

Em relação ao E-tongue, o sistema foi capaz de distinguir todas as aguardentes entre si (Figura 18 e Figura 19), principalmente entre as amostras de Av e AL. Denota-se que as amostras de Aam, Aav e Ac aparecem mais próximas entre si. A limpeza com HCl verificou desvios para alguns sensores, mas globalmente não afetou o desempenho do sistema. De futuro seria importante realizar análises sensoriais com painéis treinados para se poder conjugar esses resultados com estas metodologias, pois além destes métodos permitirem a discriminação das amostras entre si, podem igualmente permitir uma discriminação das características sensoriais das amostras (Marx, 2016; Marx *et al.*, 2021; Teixeira *et al.*, 2021). Assim, estas metodologias mostraram ser ferramentas eficazes de controlo e identificação de aguardentes, tendo no presente trabalho sido capazes de, em geral, discriminar as amostras entre si, mesmo

considerando os elevados teores de etanol das amostras que tornam a saturação das membranas dos sensores mais propensa.

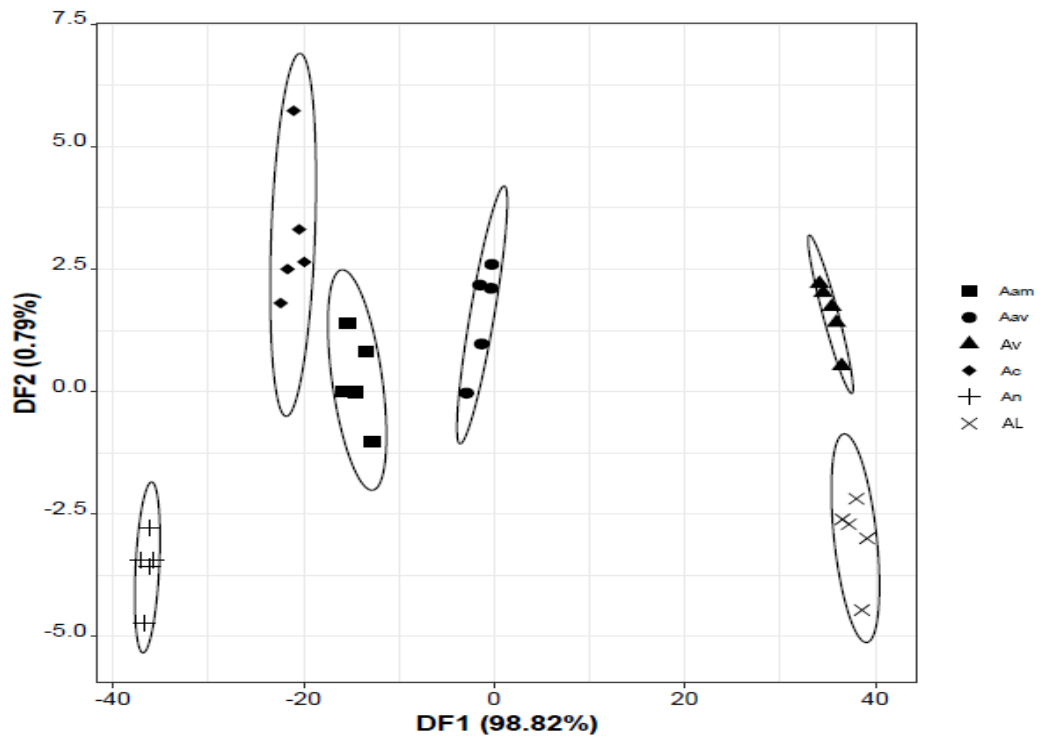


Figura 18 – Análise discriminante linear (LDA) realizada pela língua eletrônica (E-tongue).

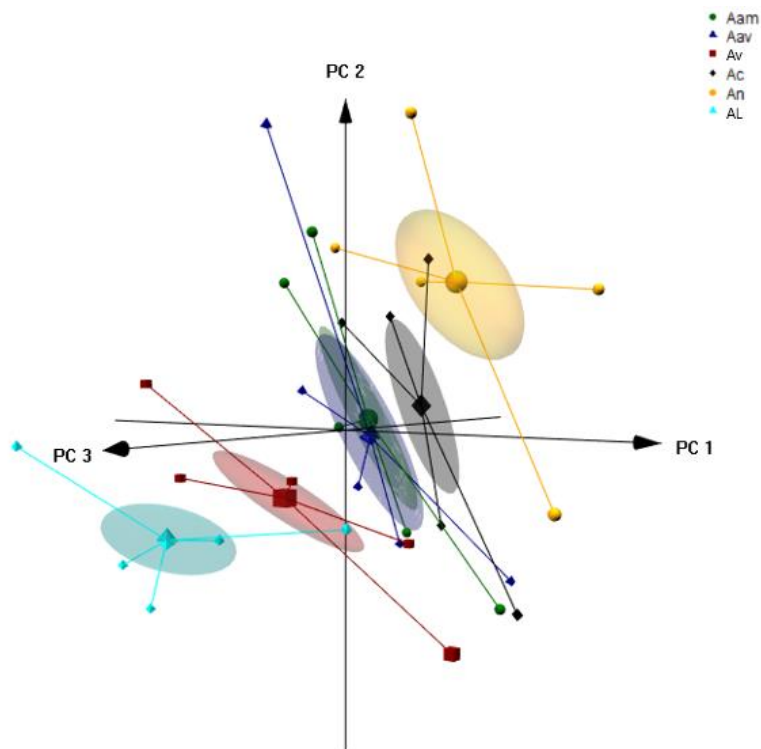


Figura 19 – Análise dos componentes principais (PCA) através da língua eletrônica (E-tongue).

Pela análise da intenção de compra, consta-se que os provadores, em geral, comprariam as aguardentes Aam e Aav da mesma forma que a aguardente DOC comercial (AP), já reconhecida no mercado português pela sua excelência (Amado, 2014; Cruz, 2016). As restantes aguardentes (Ac e An), apesar de não se revelarem tão propícias à compra pela maioria dos provadores, apresentaram uma percentagem de aprovação (“Provavelmente compraria” ou “Certamente compraria) bastante significativa (39% para Ac e 34% para An), pelo que não se deve descartar já o uso destas matérias no envelhecimento, sendo que seria importante avaliar o seu uso de forma complementar com outros agentes tais como a madeira ou cascas de outros frutos secos.

4.7.2. Análise Sensorial ao Licor

Na prova sensorial dos licores achou-se conveniente avaliar a perceção do teor alcoólico (Figura 21) por parte dos provadores, pois a aguardente envelhecida com cascas de amêndoa (Aam) e utilizada na produção de LC, foi avaliada em conjunto com os licores. Isto permitiu aos provadores a perceção das características organolépticas entre estes dois produtos. Deste modo, e tal como seria de esperar, a amostra Aam revelou-se de entre as três, a com maior nível alcoólico, tendo os licores LC (3,98) e LA (4,31) apresentado valores de intensidade de álcool semelhantes. É importante referir que LC detinha um teor alcoólico superior (18,3%) a LA (15%) mas que esta discriminação deixa de ser possível em termos sensoriais podendo ser explicada pelo equilíbrio entre o doce e o amargo dos licores. As bebidas mais doces estão geralmente mais associadas a uma perceção sensorial de teor alcoólico mais reduzido, mesmo que tal não seja o caso. Pelo contrário, a perceção da intensidade do teor alcoólico está facilmente mais associada com o sabor amargo. Assim, verifica-se que nos parâmetros do amargor a amostra com maior intensidade foi a Aam, seguida de LA e por fim LC, sendo que ao doce verificou-se exatamente o contrário.

A cor das três amostras manteve-se dentro da mesma tonalidade dourado/topázio, sendo que as maiores variações foram observadas na intensidade. De entre as amostras, a menos apreciada foi o licor comercial artesanal (LA) com uma cor menos intensa, e a com maior apreciação no parâmetro cor foi a aguardente envelhecida (Aam). O licor de flor de carqueja (LC) apresentou uma tonalidade bastante intensa e alguma opacidade. A cor dourada intensa desta amostra deveu-se à extração de carotenoides da flor de carqueja que foi facilitada pelo etanol (Luís *et al.*, 2009). No entanto, a opacidade revelou-se como um obstáculo para a

amostra não ter sido melhor classificada. Eventualmente uma etapa de filtração melhorava a limpidez da amostra assim como a sua apreciação.

Em relação ao aroma, sabor e apreciação global, o licor de flor de carqueja (LC) apresentou a melhor classificação com valores próximos ou superiores a 6. Tal, deve-se à flor de carqueja que é uma flor extremamente aromática, cujo aroma e sabor são bastante apreciados, e como tal favoreceu as características organoléticas do licor. A aguardante (Aam), tal como esperado, apresenta maior adstringência e não possui nem açúcar nem flor de carqueja na sua formulação. No caso do licor artesanal (LA), apesar de ter na sua formulação igualmente a flor de carqueja, não foi tão bem apreciado como o LC. Eventualmente alguns motivos podem estar relacionados com o facto ser mais fluido, pela sua produção consistir na mistura de aguardente virgem com infusão de carqueja, e por apresentar fraca intensidade de cor e de sabor. A infusão de flor de carqueja não permitirá aromatizar o licor de forma tão intensa, como no caso da extração direta e mais lenta dos compostos da flor de carqueja pela aguardente (álcool e água). Acresce ainda que, a própria aguardente vínica é uma bebida menos apreciada sensorialmente do que a aguardente envelhecida (neste caso a Aam). Assim, o licor mais apreciado foi o licor de flor de carqueja desenvolvido neste trabalho (LC) com uma classificação (6,12) contra (5,05) do licor artesanal comercial (LA).

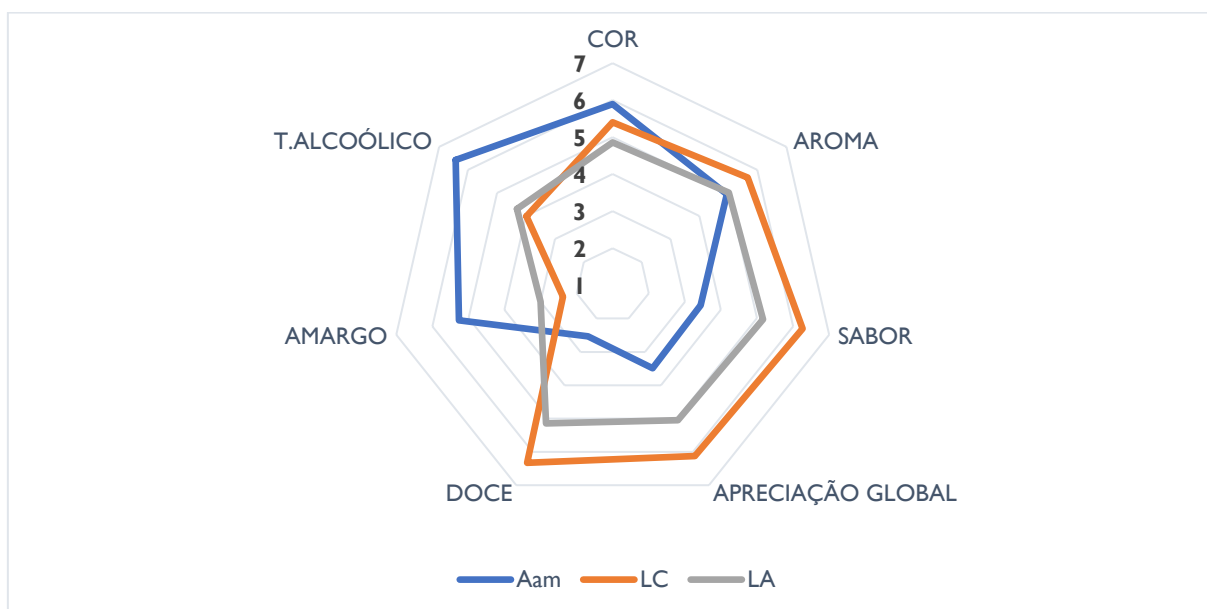


Figura 20 – Análise sensorial à aguardente envelhecida com cascas de amêndoa (Aam) utilizada na produção do licor de flor de carqueja (LC) e ao licor de carqueja artesanal (LA). Escala hedónica de 1 a 7, em que 1 “Não gostei” e 7 “Gostei muito”.

Pela análise da intenção de compra (Figura 21), verifica-se que os provadores priorizaram a compra de LC face ao LA. 94,7% dos provadores afirmaram que “certamente comprariam” ou “provavelmente comprariam” a amostra LC, e apenas 71,9% fariam o mesmo por LA. É importante destacar que o licor de carqueja desenvolvido (LC) foi a única amostra que apresentou uma taxa de 0% para a opção “certamente não compraria”.

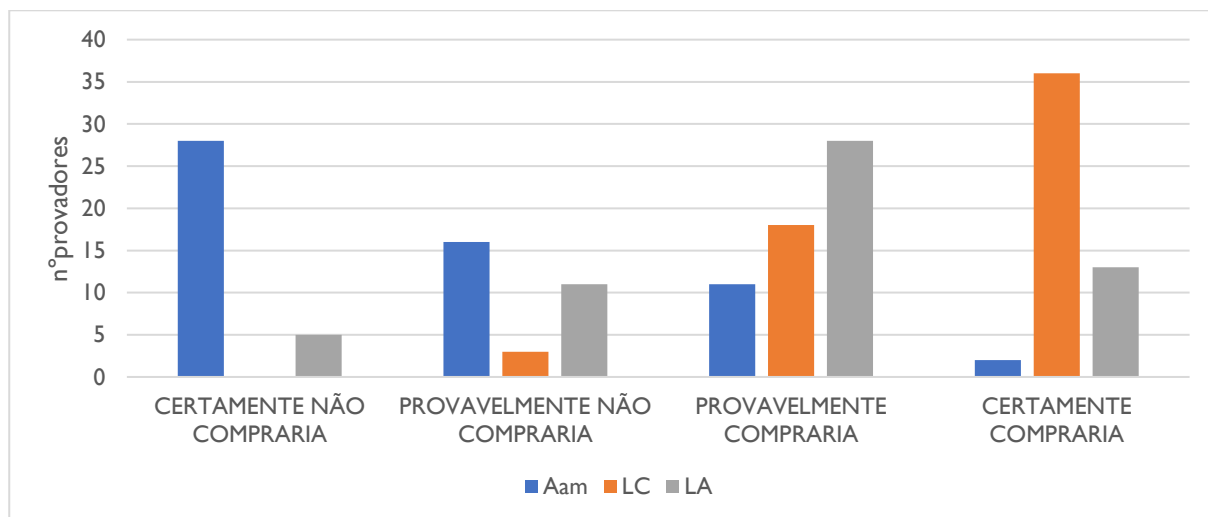


Figura 21 – Intenção de compra da aguardente envelhecida com cascas de amêndoa (Aam) utilizada na produção do licor de flor de carqueja (LC) e do licor de carqueja artesanal (LA).

De forma geral os licores (LC e LA) apresentaram uma maior apreciação e intenção de compra que a aguardente (Aam), pelo que se verifica que bebidas mais doces e com sabores mais suaves são mais apreciadas. A carqueja é uma planta bastante aromática capaz de intensificar e aumentar o perfil sensorial dos alimentos, esta planta já era previamente apreciada em outros usos culinários como no caso de chás, arroz e carnes (Ferreira *et al.*, 2012; Pimenta, 2012). Neste trabalho conclui-se que o seu uso em licores também é bastante apreciado, especialmente se for utilizada em proporções adequadas. Deste modo, conclui-se que o licor produzido neste trabalho (LC) é um licor com um perfil sensorial complexo, intenso, único e bem apreciado. A introdução deste produto no mercado seria uma mais-valia para a diversificação dos produtos das empresas de bebidas espirituosas. Visto que a carqueja é um arbusto que se propaga facilmente em regiões montanhosas (Martins, 2011; Ferreira *et al.*, 2012), a valorização da sua flor será igualmente importante para o enriquecimento de regiões em que o seu crescimento é mais popular, como é o caso da Beira Interior e Trás-os-Montes.

5. Conclusão

Com o envelhecimento das aguardentes cresce a sua qualidade e conseqüentemente o seu valor económico. Tradicionalmente, o envelhecimento da aguardente é realizado com madeira de carvalho, quer em barris, quer com a utilização de fragmentos de madeira (método alternativo). Os principais compostos envolvidos neste processo são os compostos fenólicos, os flavonoides e os taninos. No entanto, o uso de madeira tem a desvantagem de ser um processo moroso e dispendioso. Como tal, a procura de alternativas para o envelhecimento de aguardentes é fundamental na garantia da sustentabilidade do processo, e por forma a que se obtenham aguardentes com características diferenciadoras que sejam capazes de satisfazer todos os consumidores (Canas e Caldeira, 2017).

Neste trabalho testou-se pela primeira vez o uso de cascas de frutos secos na maturação de aguardentes e procurou-se identificar os principais compostos característicos extraídos durante o envelhecimento.

As cascas de frutos secos utilizadas foram as de castanha, noz, amêndoa e avelã. Estes subprodutos da indústria alimentar são característicos pelos seus teores relevantes de compostos fenólicos, taninos e flavonoides. Na verdade, os teores destes compostos nas cascas apresentaram níveis semelhantes ou superiores aos da madeira de carvalho. Sendo que quando avaliado o seu uso nas aguardentes, verificou-se uma extração muito favorável dos mesmos logo no primeiro mês de envelhecimento, atingindo um equilíbrio ao fim de 4 meses para todas as aguardentes, atingindo teores equiparados aos referidos na literatura (Canas et al., 2019). O uso de cascas de frutos secos no envelhecimento da aguardente proporcionou características físico-químicas iguais às das aguardentes tradicionais, no que respeita ao pH, extrato seco e características cromáticas. A metodologia aplicada demonstrou vantagem em relação ao método tradicional por proporcionar menor perda do álcool e contribuir para um menor aumento da acidez volátil. Outra vantagem foi ao nível dos perfis sensoriais únicos e inovadores que cada aguardente adquiriu, tendo algumas destas aguardentes atingindo apreciações tão elevadas como a única aguardente DOC de Portugal, sendo esta da região da Lourinhã. Deste modo, este trabalho destaca-se por ser o primeiro a comprovar o uso de cascas de frutos secos para o envelhecimento de aguardentes, sendo que estas adquirem características distintas entre si, obtendo-se para cada tipo de aguardente um produto único que pode adaptar-se aos gostos de cada consumidor.

Neste trabalho, verificou-se que a flor de carqueja apresenta um perfil fenólico diversificado com teores elevados que a tornam num agente altamente aromatizante. Assim, testou-se o

seu uso na produção de um licor e verificou-se que o álcool foi capaz de extrair teores significativos de compostos fenólicos e flavonoides, tendo sido capaz de extrair 14 dos 21 compostos identificados pela análise de HPLC-DAD-ESI/MSn.

A ingestão de álcool é dualmente considerada um tónico e um veneno dependendo da moderação de consumo. Nesta linha de pensamento denota-se que o licor deste trabalho, se consumido em moderação, poderia apresentar benefícios para a saúde do consumidor, por se tratar de um produto rico em fenóis, flavonoides e taninos, que tal como no caso do vinho possui um elevado poder antioxidante capaz de combater o *stress* oxidativo (Vitor *et al.*, 2004; Luís *et al.*, 2009). Alguns compostos fenólicos identificados neste trabalho, como a genisteína são responsáveis por induzirem uma resposta anti-inflamatória em processos de cicatrização, e as quercetinas por perturbarem o crescimento e o metabolismo energético das bactérias (Aires *et al.*, 2016). É importante referir que a concentração de flor de carqueja utilizada para a produção do licor neste trabalho (0,2 mg/ mL) encontra-se abaixo da concentração mínima capaz de provocar efeitos cito-toxicológicos adversos na saúde humana (0,375 mg/mL) (Ferreira *et al.*, 2012). Apesar do licor de flor de carqueja (LC) conter um elevado teor de fenóis capazes de combater o *stress* oxidativo e de possuir certos compostos como a isoquercitina conhecidos pela sua capacidade de combate dos diabetes devido à sua ação anti-hiperglicémica no retardamento da absorção de açúcar no sangue (Paulo *et al.*, 2008), a flor de carqueja é igualmente caracterizada pelo seu elevado teor de açúcares naturais (Roriz *et al.*, 2014) e os licores são produtos com elevadas concentrações de açúcares adicionados no seu fabrico, pelo que o seu consumo deve ser moderado. No entanto, é de realçar que os açúcares naturais da flor de carqueja não foram significativos no licor.

É importante referir que tanto as cascas dos frutos secos, como a flor de carqueja, são produtos com elevada taxa de crescimento na região Transmontana e da Beira Interior. Assim, a sua valorização é importante para o enriquecimento e desenvolvimento destas regiões. O uso de cascas de frutos secos para o envelhecimento de aguardentes revelou-se mais rápido, económico e inovador. Com o uso destes subprodutos conseguiu-se promover a sustentabilidade e a circularidade pois são materiais mais baratos que a madeira de carvalho ou de castanheiro, e as aguardentes obtidas por esta tecnologia revelaram perfis sensoriais diferentes e únicos capazes de satisfazer os diversos públicos. Por último, o licor de carqueja em Portugal sendo tipicamente produzido de forma artesanal, ainda não é produzido ao nível industrial. Foi diferenciador a aplicação desta flor de carqueja em outros usos alimentares como a aromatização de licores, pois possui um elevado poder antioxidante e um perfil sensorial complexo capaz de elevar a qualidade destes produtos.

De futuro, é necessário intensificar a investigação com a realização de uma prova de conceito à escala semi-industrial e com o objetivo de validar a tecnologia usada.

Finalmente, será igualmente interessante avaliar diferentes misturas dos vários tipos de cascas durante o envelhecimento da aguardente, assim como da flor de carqueja, tanto para as aguardentes, como para o licor, de forma a verificar a qualidade e os perfis sensoriais dos produtos resultantes tendo em vista otimizar certos parâmetros menos classificados neste trabalho.

Referências Bibliográficas

- AIRES, Alfredo *et al.* - Phytochemical composition and antibacterial activity of hydroalcoholic extracts of *pterospartum tridentatum* and *mentha pulegium* against *staphylococcus aureus* isolates. **BioMed Research International**. ISSN 23146141. (2016). doi: 10.1155/2016/5201879.
- AMADO, Sandra Iloisa Pina - **Efeitos de diferentes tecnologias de envelhecimento no perfil sensorial de aguardentes víquicas**. [S.l.] : Instituto Politécnico de Castelo Branco, (2014).
- AMARAL, Joana S.; OLIVEIRA, M. Beatriz P. P. - Avelã: composição química e efeitos benéficos associados ao seu consumo. **Riscos e Alimentos**. 11 (2016) 17–21.
- ANDERSEN, Carl - Daytime Color Appearance of Retroreflective Traffic Control Sign Materials. **U.S Department of Transportation**. April 2013 (2013) 1–65.
- ARENAS, Inma *et al.* - Effect of Pre-Fermentative Maceration and Fining Agents on Protein Stability, Macromolecular, and Phenolic Composition of Albariño White Wines: Comparative Efficiency of Chitosan, k-Carrageenan and Bentonite as Heat Stabilisers. **Foods**. 10:608 (2021).
- AZEVEDO, Luciana C. De *et al.* - Efeito da presença e concentração de compostos carbonílicos na qualidade de vinhos. **Quim. Nova**. 30:8 (2007) 1968–1975.
- BOLLING, Bradley W. - Almond Polyphenols: Methods of Analysis, Contribution to Food Quality, and Health Promotion. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. . ISSN 15414337. 16:3 (2017) 346–368. doi: 10.1111/1541-4337.12260.
- BRAGA, Nair *et al.* - *Castanea sativa* by-products: A review on added value and sustainable application. **Natural Product Research**. . ISSN 14786427. 29:1 (2015) 1–18. doi: 10.1080/14786419.2014.955488.
- BUJDOSÓ, Géza *et al.* - Phenolic profile of the kernel of selected persian walnut (*Juglans regia* L.) cultivars. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**. . ISSN 18424309. 42:1 (2014) 24–29. doi: 10.15835/nbha4219400.
- CALDEIRA, Ilda - **O aroma de aguardentes víquicas envelhecidas em madeira. Importância da tecnologia de tanoaria**. [S.l.] : Universidade Técnica de Lisboa, (2004). Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/299387366>
- CAMPOS, Lara *et al.* - Valorização das cascas e películas de frutos secos: Extração dos seus compostos bioativos. **Revista da Associação Portuguesa de Horticultura**. 139 (2020)

46–47.

CANAS, Sara *et al.* - Madeiras utilizadas no envelhecimento de aguardente vínica. **VIDA RURAL**. (2019) 28–31.

CANAS, Sara; CALDEIRA, Ilda - Envelhecimento da aguardente vínica: tradição e inovação. **Enovitis**. 2 (2017) 22–27.

Regulamento (Ce) N. 2870/2000 que estabelece métodos de análise comunitários de referência aplicáveis no setor das bebidas espirituosas.

Regulamento (UE) 2019/787 relativo à definição, designação, apresentação e rotulagem das bebidas espirituosas, à utilização das denominações das bebidas espirituosas na apresentação e rotulagem de outros géneros alimentícios e à proteção das indicações geográficas das bebidas alcoólicas, e que revoga o Regulamento (CE) nº 110/2008.

CERULLI, Antonietta *et al.* - Chestnut shells (Italian cultivar “Marrone di Roccadaspide” PGI): Antioxidant activity and chemical investigation with in depth LC-HRMS/MSn rationalization of tannins. **Food Research International**. ISSN 18737145. 129 (2020). doi: 10.1016/j.foodres.2019.108787.

COELHO, Maria - **Estudos de propagação in vitro, caracterização e valorização de carqueja (*Pterospartum tridentatum* (L.) Willk.)**. [S.l.] : Universidade Lisboa, (2015).

CONTINI, Marina *et al.* - Extraction of natural antioxidants from hazelnut (*Corylus avellana* L.) shell and skin wastes by long maceration at room temperature. **Food Chemistry**. . ISSN 03088146. 110:3 (2008) 659–669. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.02.060.

CRUZ, Sara Isabel De Almeida - **Evolução da composição físico-química da aguardente vínica Lourinhã nos primeiros seis meses de envelhecimento em sistema tradicional e em sistema alternativo**. [S.l.] : Universidade Lisboa, (2016).

EBRINGEROVÁ, Anna *et al.* - Chemical valorization of agricultural by-products: isolation and characterization of xylan-based antioxidants from almond shell biomass. **BioResources**. 3:1 (2008) 60–70.

ESPOSITO, Tiziana *et al.* - Hazelnut (*Corylus avellana* L.) shells extract: Phenolic composition, antioxidant effect and cytotoxic activity on human cancer cell lines. **International Journal of Molecular Sciences**. . ISSN 14220067. 18:2 (2017). doi: 10.3390/ijms18020392.

FERNÁNDEZ-AGULLÓ, Adela *et al.* - Effect of the Extraction Technique and Operational Conditions on the Recovery of Bioactive Compounds from Chestnut (*Castanea sativa*) Bur

and Shell. **Separation Science and Technology (Philadelphia)**. . ISSN 15205754. 49:2 (2014) 267–277. doi: 10.1080/01496395.2013.838264.

FERREIRA, Fernanda M. *et al.* - Antioxidant capacity and toxicological evaluation of *Pterospartum tridentatum* flower extracts. **CYTA - Journal of Food**. . ISSN 19476337. 10:2 (2012) 92–102. doi: 10.1080/19476337.2011.590233.

FREITAS, Pedro - **Resíduos da Indústria Agro-Alimentar Como Possíveis Fontes de Ácido Ferúlico**. [S.l.] : Universidade da Madeira, (2016).

GRAÇA, Pedro *et al.* - **Redução do consumo de açúcares em Portugal: Evidência que justifica ação**. Lisboa : DGS, (2016). ISBN 9789726752509.

Flavor infused alcoholic beverage and method of making the same. HALL, Douglas B. *et al.* patente CA3001502A12016, 20 p.

HAN, Hannah *et al.* - Effect of Ultrasound-Assisted Extraction of Phenolic Compounds on the Characteristics of Walnut Shells. **Food and Nutrition Sciences**. . ISSN 2157-944X. 09:08 (2018) 1034–1045. doi: 10.4236/fns.2018.98076.

JAHANBAN-ESFAHLAN, Ali; AMAROWICZ, Ryszard - Walnut (*Juglans regia* L.) shell pyrolytic acid: Chemical constituents and functional applications. **RSC Advances**. . ISSN 20462069. 8:40 (2018) 22376–22391. doi: 10.1039/c8ra03684e.

LI, Xuemin *et al.* - Study of Almond Shell Characteristics. **Materials**. 11:1782 (2018). doi: 10.3390/ma11091782.

LINO, João Da Silva Fonseca Correia - **Composição fenólica e características cromáticas de madeiras de carvalho Limousin e de castanheiro (utilizadas em vasilhas e sob a forma de aduelas) destinadas ao envelhecimento de aguardente vínica**. [S.l.] : Universidade de Évora, (2013).

LIU, Aiguo *et al.* - Product identification and distribution from hydrothermal conversion of walnut shells. **Energy and Fuels**. ISSN 08870624. 20:2 (2006) 446–454. doi: 10.1021/ef050192p.

LUÍS, Ângelo *et al.* - Antioxidant activity of extracts of Portuguese shrubs: *Pterospartum tridentatum*, *Cytisus scoparius* and *Erica* spp. **Journal of Medicinal Plants Research**. . ISSN 19960875. 3:11 (2009) 886–893.

LUÍS, Ângelo; DOMINGUES, Fernanda; DUARTE, Ana Paula - Bioactive compounds, RP-HPLC analysis of phenolics, and antioxidant activity of some Portuguese shrub species extracts.

Natural Product Communications. ISSN 15559475. 6:12 (2011) 1863–1872. doi: 10.1177/1934578x1100601219.

MACEDO, Carolina - **Desenvolvimento e validação de um método para a caracterização de vinhos por HPLC-DAD**. [S.l.] : Universidade do Minho, (2015).

MARTINS, Joana - **Erva Carqueja - Um chá para todos os males**. [S.l.] : Universidade Fernando Pessoa, (2011).

MARX, Ítala - **Língua Eletrónica : uma ferramenta prática na análise sensorial de azeitonas de mesa**. [S.l.] : Instituto Politécnico de Bragança, (2016).

MARX, Ítala M. G. *et al.* - Effect of malaxation temperature on the physicochemical and sensory quality of cv. Cobrançosa olive oil and its evaluation using an electronic tongue. **LWT - Food Science and Technology**. . ISSN 00236438. 137:March 2020 (2021). doi: 10.1016/j.lwt.2020.110426.

MILBURY, Paul E. *et al.* - Determination of flavonoids and phenolics and their distribution in almonds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. ISSN 00218561. 54:14 (2006) 5027–5033. doi: 10.1021/jf0603937.

MIRANDA, Mariana Branco De *et al.* - Perfil físico-químico de aguardente durante envelhecimento em tonéis de carvalho. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. ISSN 01012061. 28:SUPPL. (2008) 84–89. doi: 10.1590/s0101-20612008000500014.

MOTA, Deolinda *et al.* - Teores de metanol em aguardentes víquicas e bagaceiras portuguesas. **Cernas**. (2008) 1–9. Disponível em: https://repositorio.ipcb.pt/bitstream/10400.11/19111/Alentejo_caldeira2010vfinal1-3-2010.pdf

NAZZARO, Melissa *et al.* - Extraction and characterization of biomolecules from agricultural wastes. **Chemical Engineering Transactions**. . ISSN 22839216. 27 (2012) 331–336. doi: 10.3303/CET1227056.

NCBI - **PubChem Compound Summary for CID 637542, 4-Hydroxycinnamic acid**, atual. 2021. [Consult. 11 set. 2021]. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4-Hydroxycinnamic-acid>

NIOSH - **Table of IDLH Values** [Consult. 13 set. 2021]. Disponível em: <https://www.cdc.gov/niosh/idlh/intridl4.html>

OYELEYE, Sunday I. *et al.* - Phenolic profile and Enzyme Inhibitory activities of Almond (*Terminalia catappa*) leaf and Stem bark. **International Journal of Food Properties**. ISSN

15322386. 20:3 (2018) S2810–S2821. doi: 10.1080/10942912.2017.1375945.

PAULO, Alexandra *et al.* - The Opposing Effects of the Flavonoids Isoquercitrin and Sissotrin, isolated from *Pterospartum tridentatum*, on Oral Glucose Tolerance in Rats. **Phytotherapy Research**. . ISSN 1099-1573. 22:4 (2008) 539–543. doi: 10.1002/ptr.

PENNA, Neidi Garcia; DAUDT, Carlos Eugenio; HENRIQUES, João António Pêgas - Performance of hydroxycinnamic esters during white wine vinification. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**. ISSN 0100204X. 36:7 (2001) 983–989. doi: 10.1590/s0100-204x2001000700008.

PÉREZ-ARMADA, Lorena *et al.* - Extraction of phenolic compounds from hazelnut shells by green processes. **Journal of Food Engineering**. . ISSN 02608774. 255:September 2018 (2019) 1–8. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2019.03.008.

PERSIC, Martina *et al.* - Changes in phenolic profiles of red-colored pellicle walnut and hazelnut kernel during ripening. **Food Chemistry**. . ISSN 18737072. 252:January (2018) 349–355. doi: 10.1016/j.foodchem.2018.01.124.

PIMENTA, Ana Catarina Mendes - **Extratos aquosos de Pterospartum Tridentatum L. Teor de compostos fenólicos totais e actividade antioxidante. Co-orientador: Mestre Maria Teresa Pita Pegado Gonçalves Rodrigues Coelho**. [S.l.] : Universidade Técnica de Lisboa, (2012).

PINTO, Diana *et al.* - Valorisation of underexploited *Castanea sativa* shells bioactive compounds recovered by supercritical fluid extraction with CO₂: A response surface methodology approach. **Journal of CO₂ Utilization**. . ISSN 22129820. 40:February (2020). doi: 10.1016/j.jcou.2020.101194.

PINTO, Diana *et al.* - *Castanea sativa* shells: A review on phytochemical composition, bioactivity and waste management approaches for industrial valorization. **Food Research International**. ISSN 18737145. 144:December 2020 (2021). doi: 10.1016/j.foodres.2021.110364.

PRGOMET, Iva *et al.* - A Box-Behnken Design for Optimal Extraction of Phenolics from Almond By-products. **Food Analytical Methods**. . ISSN 1936976X. 12:9 (2019) 2009–2024. doi: 10.1007/s12161-019-01540-5.

QIAO, Xue *et al.* - Separation and detection of minor constituents in herbal medicines using a combination of heart-cutting and comprehensive two-dimensional liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**. 1362 (2014) 157–167.

QUEIRÓS, Carla S. G. P. *et al.* - Characterization of walnut, almond, and pine nut shells regarding chemical composition and extract composition. **Biomass Conversion and Biorefinery**. . ISSN 21906823. 10:1 (2020) 175–188. doi: 10.1007/s13399-019-00424-2.

RAMALHOSA, E. C. D.; MAGALHÃES, A.; PEREIRA, J. A. - **Manual Técnico Amendoeira :Estado Da Transformação**. (2017). ISBN 9789899985780.

RORIZ, Custódio Lobo *et al.* - *Pterospartum tridentatum*, *Gomphrena globosa* and *Cymbopogon citratus*: A phytochemical study focused on antioxidant compounds. **Food Research International**. ISSN 09639969. 62 (2014) 684–693. doi: 10.1016/j.foodres.2014.04.036.

RORIZ, Custódio Lobo *et al.* - HPLC-profiles of tocopherols, sugars, and organic acids in three medicinal plants consumed as infusions. **International Journal of Food Science**. ISSN 23145765. 2014 (2014). doi: 10.1155/2014/241481.

RUSU, Marius Emil *et al.* - Process optimization for improved phenolic compounds recovery from walnut (*Juglans regia* L.) Septum: Phytochemical profile and biological activities. **Molecules**. . ISSN 14203049. 23:11 (2018). doi: 10.3390/molecules23112814.

SEQUEIROS, Ane *et al.* - Different extraction methods to obtain lignin from almond shell. **Journal of Biobased Materials and Bioenergy**. ISSN 15566579. 8:3 (2014) 370–376. doi: 10.1166/jbmb.2014.1443.

SHATAER, D. *et al.* - Chemical Composition of Extract of *Corylus avellana* Shells. **Chemistry of Natural Compounds**. ISSN 15738388. 56:2 (2020) 338–340. doi: 10.1007/s10600-020-03024-z.

SHEVCHUK, Olena - **Caracterização e controlo de qualidade em vinhos , bebidas destilados e vinagres por técnicas de HPLC e Eletroforese Capilar**. [S.l.] : Universidade do Porto, (2019).

SIMÕES, Mark A. M. *et al.* - Flavonoid Profile of the *Genista tridentata* L., a Species Used Traditionally to Treat Inflammatory Processes. **Molecules**. ISSN 14203049. 25:4 (2020). doi: 10.3390/molecules25040812.

TEIXEIRA, Guilherme G. *et al.* - Application of a lab-made electronic nose for extra virgin olive oils commercial classification according to the perceived fruitiness intensity. **Talanta**. ISSN 00399140. 226:January (2021). doi: 10.1016/j.talanta.2021.122122.

THEBO, Nasreen *et al.* - Clinical Study of the *Prunus dulcis* (Almond) Shell Extract on *Tinea capitis* Infection. **Natural Products Chemistry & Research**. 2:3 (2014). doi: 10.4172/2329-

6836.1000131.

VÁZQUEZ, G. *et al.* - Antioxidant activity and phenolic content of chestnut (*Castanea sativa*) shell and eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) bark extracts. **Industrial Crops and Products**. ISSN 09266690. 28:3 (2008) 279–285. doi: 10.1016/j.indcrop.2008.03.003.

VÁZQUEZ, G. *et al.* - Evaluation of potential applications for chestnut (*Castanea sativa*) shell and eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) bark extracts. **Industrial Crops and Products**. ISSN 09266690. 29:2–3 (2009) 364–370. doi: 10.1016/j.indcrop.2008.07.004.

VÁZQUEZ, Gonzalo *et al.* - MALDI-TOF, HPLC-ESI-TOF and ¹³C-NMR characterization of chestnut (*Castanea sativa*) shell tannins for wood adhesives. **Wood Science and Technology**. . ISSN 00437719. 47:3 (2013) 523–535. doi: 10.1007/s00226-012-0513-8.

VITOR, Rute F. *et al.* - Flavonoids of an extract of *Pterospartum tridentatum* showing endothelial protection against oxidative injury. **Journal of Ethnopharmacology**. ISSN 03788741. 93:2–3 (2004) 363–370. doi: 10.1016/j.jep.2004.04.003.

Ultrafast method for creating aged wood flavored alcoholic beverages. WATSON, Daniel Martin; WATSON, Billie Sunday. CA; WO; GB patente CA2740069A12009, 18 p.

YUAN, Bo *et al.* - Valorization of hazelnut shells into natural antioxidants by ultrasound-assisted extraction: Process optimization and phenolic composition identification. **Journal of Food Process Engineering**. . ISSN 17454530. 41:5 (2018). doi: 10.1111/jfpe.12692.

ANEXOS

Anexo I – Ficha utilizada na análise sensorial

PROVA DE ANÁLISE SENSORIAL - PROVA DE PREFERÊNCIA

Esta prova enquadra-se no âmbito da tese de Mestrado em Segurança Alimentar, que tem como objetivo avaliar o envelhecimento alternativo de aguardentes com subprodutos de frutos secos e lascas de madeira, em comparação com uma aguardente convencional.

Consentimento livre e esclarecido

Por se tratar duma prova com bebidas alcoólicas afirma ter mais de 18 anos de idade? SIM NÃO

Os resultados desta prova destinam-se apenas para fins de investigação e poderão ser divulgados em palestras, artigos científicos e na dissertação de mestrado. Qualquer dado que possa identificá-lo será omitido na divulgação dos resultados, e o material será armazenado em local seguro.

Declaro que entendi os objetivos e condições de minha participação neste estudo e concordo em participar.

Data: _____ NOME: _____ IDADE: _____

Utilizando a escala hedónica de 1 a 7:

1 -Não gostei; 2 -Desgostei bastante; 3 -Desgostei ligeiramente; 4 -Nem gostei, nem desgostei; 5 -Gostei ligeiramente; 6 -Gostei bastante; 7 -Gostei muito

A- Observe cada uma das 6 amostras de aguardente envelhecida que lhe foram fornecidas e classifique-as de acordo com a sua preferência no que diz respeito à Cor.

Amostras	529	568	483	279	185	412
COR						

B- Cheire cada uma das amostras e classifique de acordo com a sua preferência no que diz respeito ao Aroma.

Amostras	529	568	483	279	185	412
AROMA						

C- Prove cada uma das amostras e classifique de acordo com a sua preferência no que diz respeito ao sabor.

Amostras	529	568	483	279	185	412
Sabor						

Ainda relativamente ao **SABOR** classifique cada amostra numa escala de **(1- nada intenso a 7- muito intenso)** os seguintes atributos:

Parâmetro	529	568	483	279	185	412
Doce						
Amargo						

D- Como classifica as amostras em termos de avaliação global de acordo com a sua preferência.

Amostras	529	568	483	279	185	412
Apreciação Global						

Relativamente à sua decisão de compra como classifica as amostras.

Amostras	529	568	483	279	185	412
Certamente não compraria						
Provavelmente não compraria						
Provavelmente compraria						
Certamente compraria						

Obrigada por participar!

Anexo II – Representação gráfica do sistema de cores CIELAB

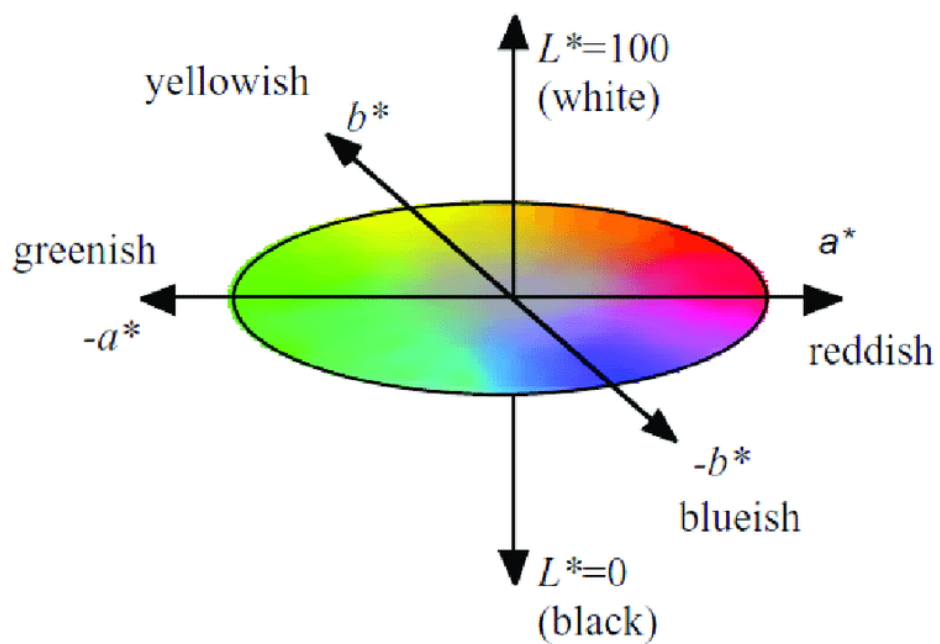


Figura 22 – Representação gráfica do sistema de cores CIELAB (Andersen, 2013)

Anexo III – Cromatogramas representativos dos perfis fenólicos das amostras

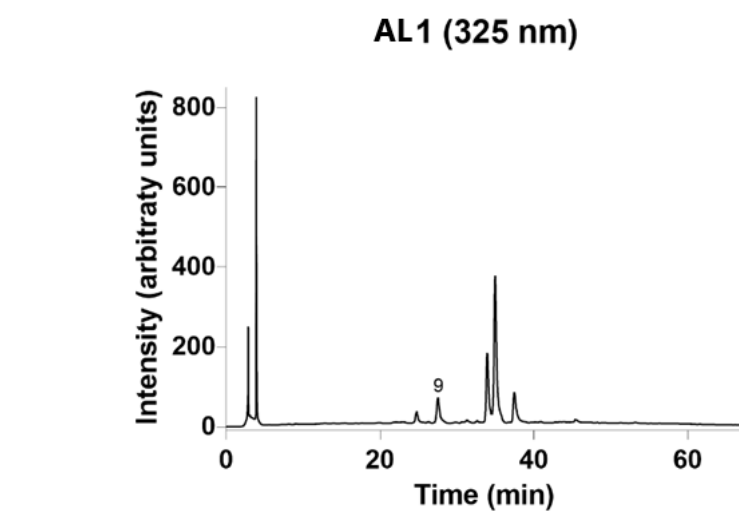
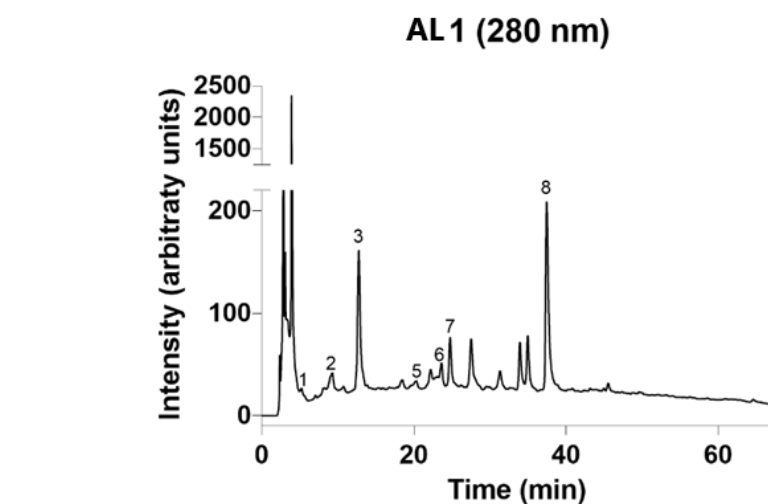


Figura 23 – Cromatogramas representativos do perfil de compostos fenólicos presentes da amostra AL1 (fragmentos carvalho), obtido por HPLC-DAD, a comprimento de onda de 280 nm (1) e 325 nm (2).

Legenda: 1 – Ácido Gálico; 2 – HMF; 3 – Furfural; 4 – Catequina; 5 – Ácido Vanílico; 6 – Ácido Siringico; 7 – Vanilina; 8 – Ácido Elágico; 9 – Ácido p-coumárico; 10 – Ácido Ferúlico.

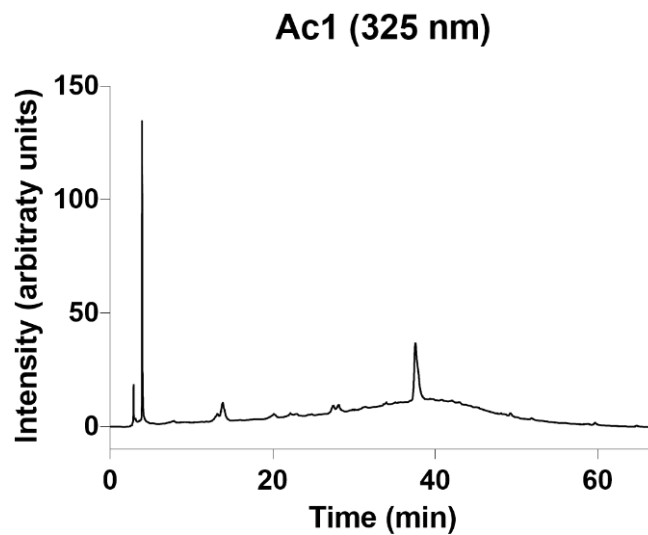
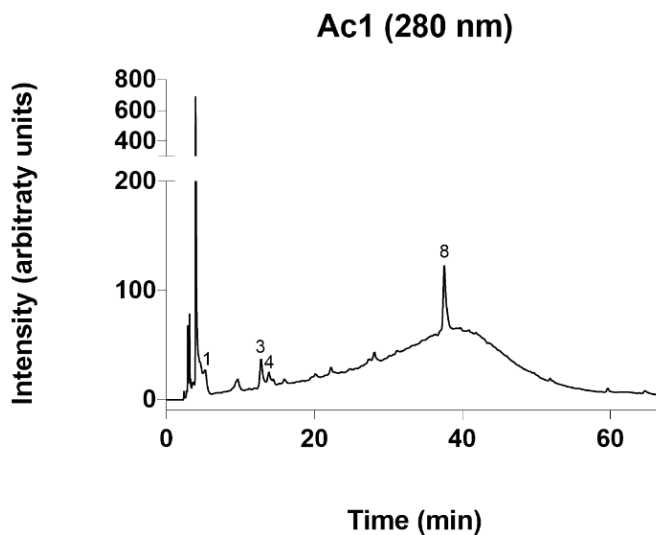


Figura 24 – Cromatogramas representativos do perfil de compostos fenólicos presentes nas amostras Ac I (casca castanha), obtido por HPLC-DAD, a comprimento de onda de 280 nm (1) e 325 nm (2).

Legenda: 1 – Ácido Gálico; 2 – HMF; 3 – Furfural; 4 – Catequina; 5 – Ácido Vanílico; 6 – Ácido Siríngico; 7 – Vanilina; 8 – Ácido Elágico; 9 – Ácido p-coumárico; 10 – Ácido Ferúlico.

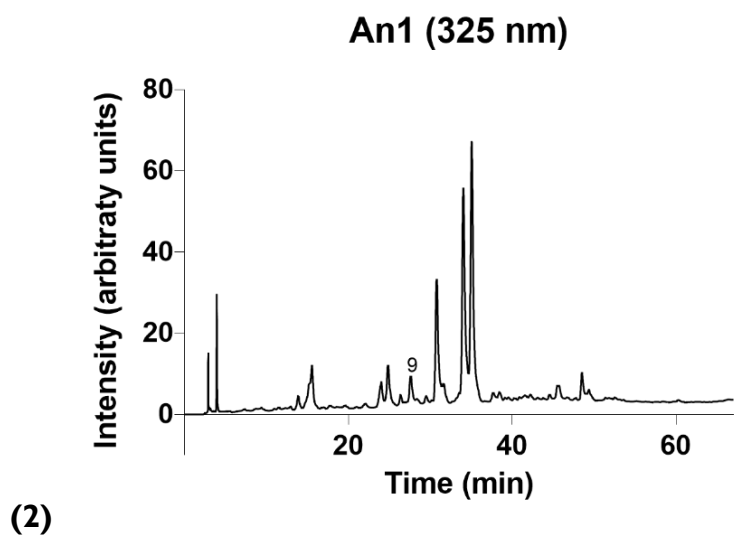
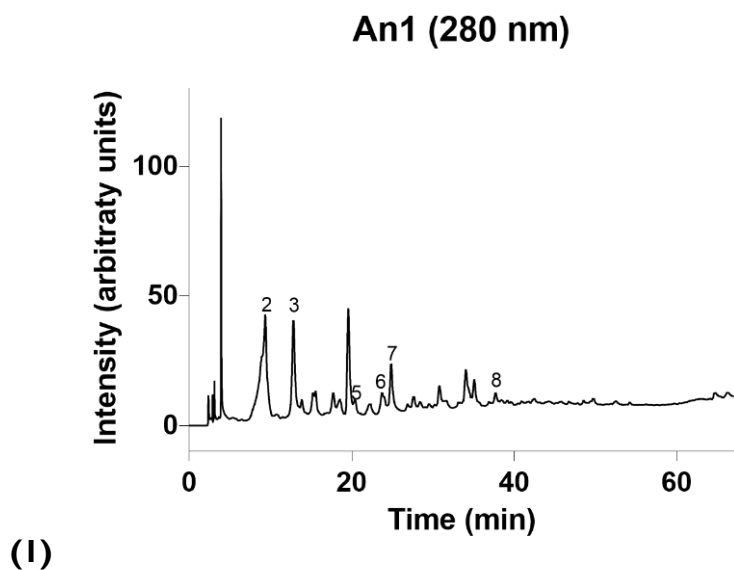


Figura 25 – Cromatogramas representativos do perfil de compostos fenólicos presentes nas amostras An I (casca de noz), obtido por HPLC-DAD, a comprimento de onda de 280 nm (1) e 325 nm (2).

Legenda: 1 – Ácido Gálico; 2 – HMF; 3 – Furfural; 4 – Catequina; 5 – Ácido Vanílico; 6 – Ácido Siringico; 7 – Vanilina; 8 – Ácido Elágico; 9 – Ácido p-coumárico; 10 – Ácido Ferúlico.

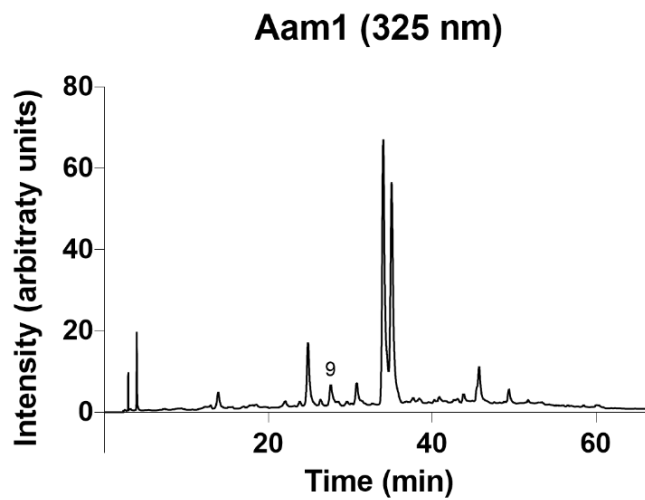
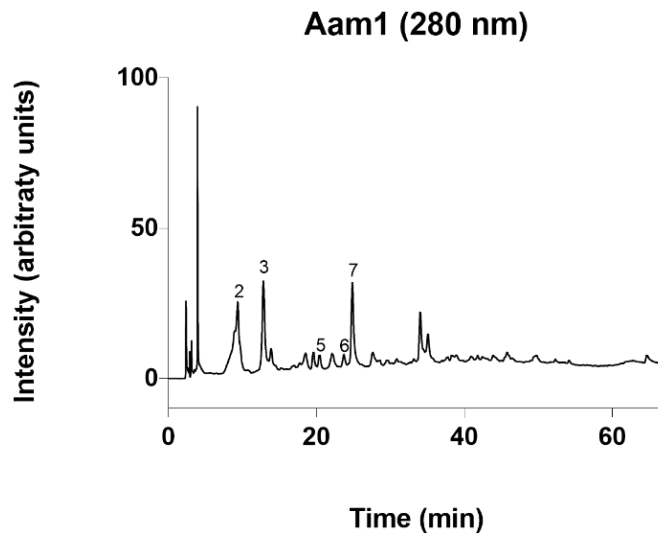
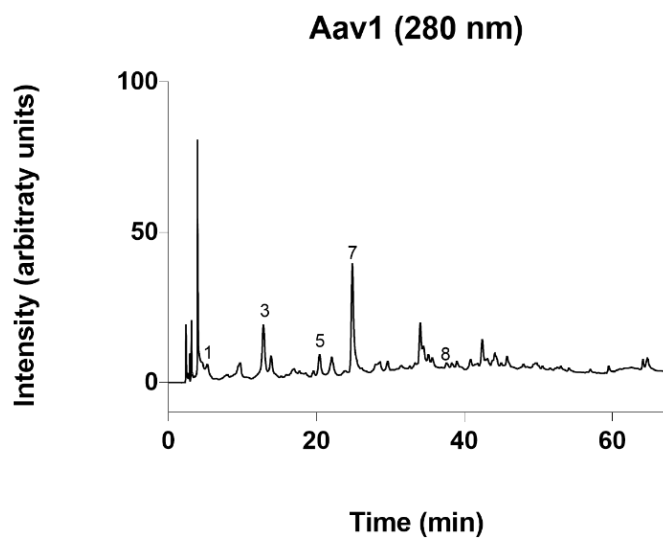
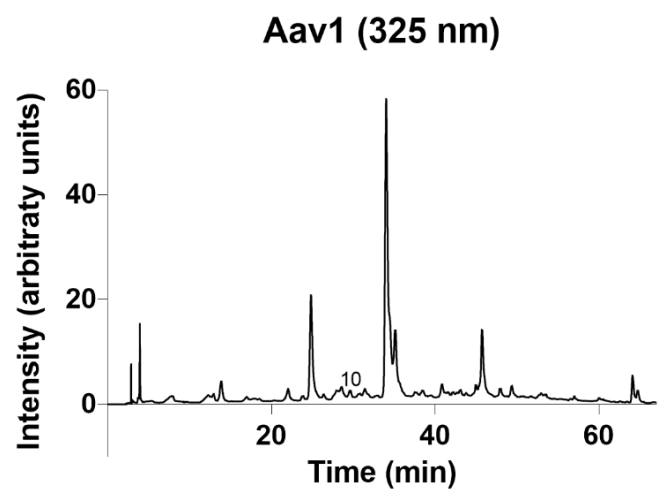


Figura 26 – Cromatogramas representativos do perfil de compostos fenólicos presentes nas amostras Aam1 (casca de amêndoa), obtido por HPLC-DAD, a comprimento de onda de 280 nm (1) e 325 nm (2).

Legenda: 1 – Ácido Gálico; 2 – HMF; 3 – Furfural; 4 – Catequina; 5 – Ácido Vanílico; 6 – Ácido Siríngico; 7 – Vanilina; 8 – Ácido Elágico; 9 – Ácido p-coumárico; 10 – Ácido Ferúlico.



(1)



(2)

Figura 27 – Cromatogramas representativos do perfil de compostos fenólicos presentes nas amostras Aav1 (casca de avelã), obtido por HPLC-DAD, a comprimento de onda de 280 nm (1) e 325 nm (2).

Legenda: 1 – Ácido Gálico; 2 – HMF; 3 – Furfural; 4 – Catequina; 5 – Ácido Vanílico; 6 – Ácido Siringico; 7 – Vanilina; 8 – Ácido Elágico; 9 – Ácido p-coumárico; 10 – Ácido Ferúlico.

Anexo IV – Cromatograma representativo dos compostos voláteis das amostras

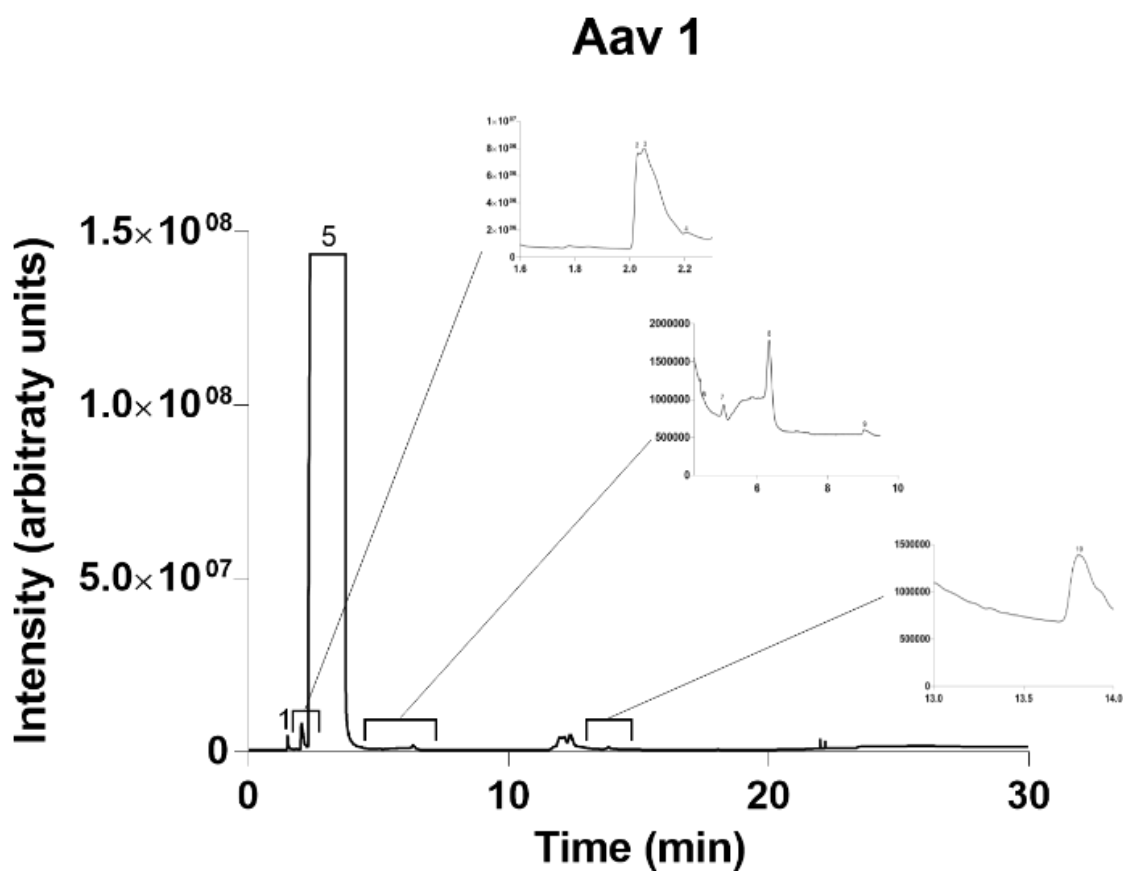


Figura 28 – Cromatograma representativo dos compostos voláteis presentes na amostra Aav 1, obtido por GC-FID.

Legenda: 1 – Acetaldeído; 2 – Acetato de etilo; 3 – Acetal; 4 – Metanol; 5 – Etanol; 6 – 2-Butanol; 7 – 1-Propanol; 8 – 2-Metil-1-propanol; 9 – 1-Butanol; 10 – 1-Pentanol (padrão interno).

Anexo V – Cromatograma representativo do perfil de açúcares das amostras

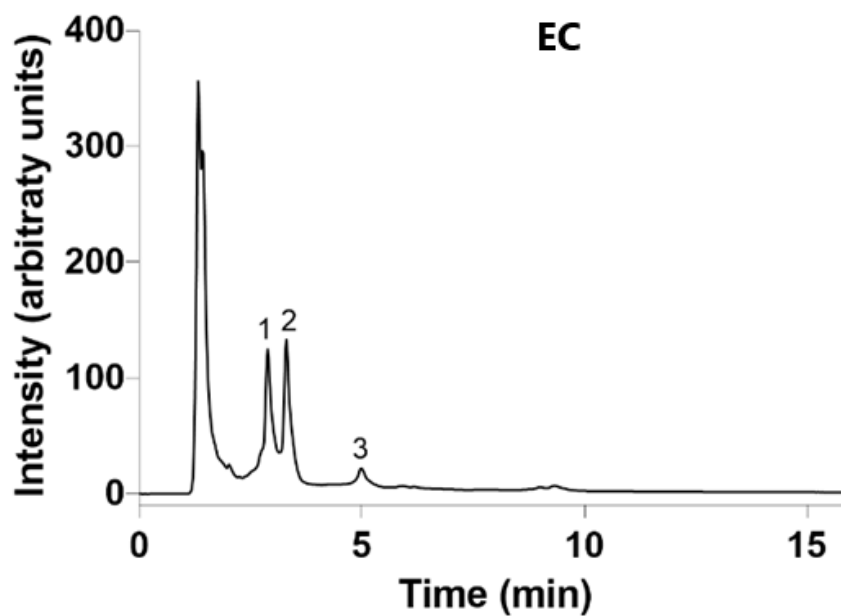


Figura 29 – Cromatograma representativo do perfil de açúcares da amostra EC (extrato carqueja), obtido por HPAEC.

Legenda: 1 – Glucose; 2 – Frutose; 3 – Sacarose.

Anexo VI – Fotografias das amostras



Figura 30 – Imagens representativas do sistema de envelhecimento.

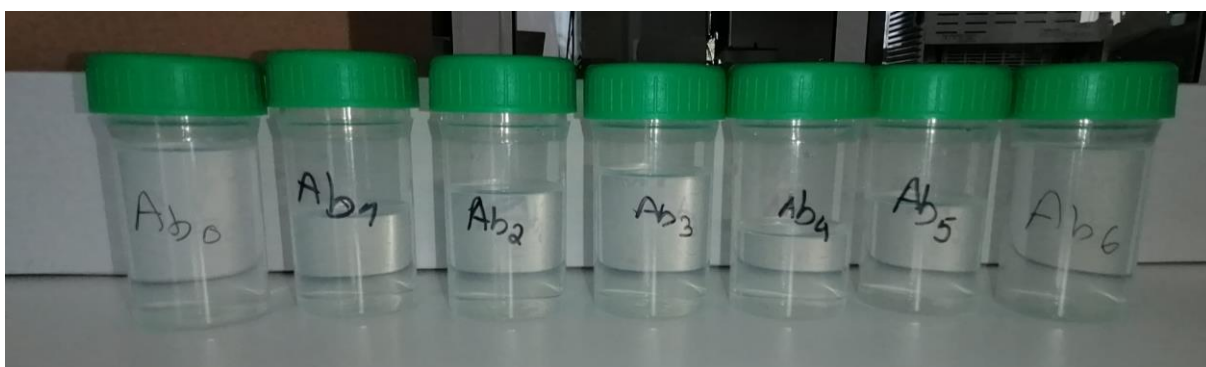


Figura 31 – Imagem das amostras de aguardente vínica (Av) ao longo do tempo de estudo (6 meses).



Figura 32 – Imagem das amostras envelhecidas com casca de castanha (Ac) ao longo do tempo de estudo.



Figura 33 – Imagem das amostras envelhecidas com casca de noz (An) ao longo do tempo de estudo.



Figura 34 – Imagem das amostras envelhecidas com casca de amêndoa (Aam) ao longo do tempo de estudo.



Figura 35 – Imagem das amostras envelhecidas com casca de avelã (Aav) ao longo do tempo de estudo.

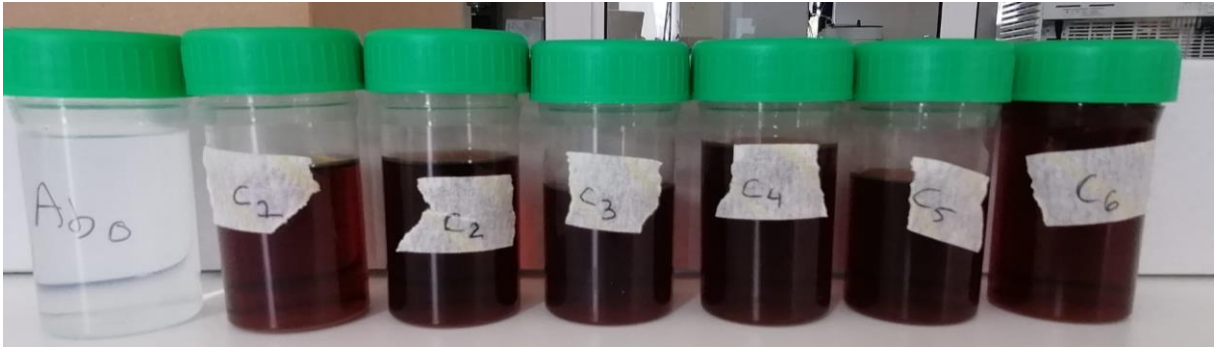


Figura 36 – Imagem das amostras envelhecidas com fragmentos de carvalho (AL) ao longo do tempo de estudo.



Figura 37 – Evolução da cor na produção do licor, desde a aguardente vínica, à aguardente de casca de amêndoa, até ao licor final.



Figura 38 – Imagem das amostras finais de aguardentes (Av, AL, Ac, An, Aam, Aav) e do licor (LC).