

# 1 - Introdução

A vinha e o vinho têm marcado a história da Humanidade desde os tempos mais remotos. Nenhum outro produto da agricultura os excedem em universalismo. Alguns indícios permitem pensar que, na Era Terciária, a vinha já existia na Ásia Menor, na Europa Oriental e, até mesmo, na América. A estes vestígios encontram-se associados, desde a Idade do Bronze, marcas do vinho sob a forma de diversos recipientes (tonéis, vasos de terracota, ânforas, garrafas, taças e cálices), lagares e adegas (Andrade e Guilherme, 2006).

Em particular na Europa mediterrânica, a marca milenária da vinha e do vinho transparece na mitologia e nas religiões, nas artes (pintura, escultura, poesia), nos costumes, nos hábitos alimentares, no comércio e na medicina dos povos (Andrade e Guilherme, 2006).

Repleto de simbologia, de religiosidade e de misticismo, o vinho surge muito cedo na literatura, é fonte de lendas e inspiração de mitos. Expressões como "dádiva de deuses", "sangue de Cristo", e "essência da própria vida" corroboram bem o papel do vinho na vertente cultural e a sua importância na nossa civilização (McGovern *et al.*, 1996).

A origem do envelhecimento dos vinhos coincide com a necessidade de transportá-lo desde as zonas de produção até aos pontos de consumo. O primeiro testemunho neste sentido encontra-se no terceiro milénio a.C. na Mesopotâmia onde não existiam vinhas, e o vinho como produto de luxo se importava desde as "montanhas", isto é, da zona norte-noroeste, actual Síria e Arménia, onde sem dúvida se produzia vinho desde há muito tempo atrás, e que para além disso coincide com a área de origem da videira (Togores, 2003).

Ao longo do tempo verificou-se uma clara evolução nos recipientes usados no transporte do vinho. Primeiramente começou por ser transportado em ânforas de barro, no entanto, devido á sua fragilidade, este tipo de recipientes foi sendo substituído por outros de maior durabilidade e resistência, até se chegar à utilização de recipientes construídos em madeira, que para além de permitirem o transporte também provocam uma série de alterações nas características sensoriais do vinho (Togores, 2003).

Pensa-se que as técnicas de tanoaria foram introduzidas na Península Ibérica pelos celtas no século VI a.C.. Existem referências ao transporte de vinho em vasilhas de madeira no ano de 41 a.C., altura em que se julga ter havido um considerável desenvolvimento da tanoaria, que adquiriu um carácter semi-industrial, mas sem perda da sua vocação artesanal, aspecto que permaneceu ao longo do tempo (Canas e Caldeira, 2009).

Os primeiros recipientes em madeira destinados à elaboração e conservação de vinho foram construídos a partir de madeira de carvalho, por ser um material abundante na zona de produção dos vinhos, muito pouco permeável e além disso, de grande dureza e resistência (Togores, 2003). Ao longo do tempo tem-se verificado uma utilização quase exclusiva deste tipo de madeira para fins enológicos. Taransaud (1976) referia mesmo que a madeira de carvalho era a única apropriada para a vinificação e conservação de vinhos considerados finos.

Recentemente têm sido desenvolvidos alguns ensaios onde são estudadas e analisadas outras madeiras, não apenas no sentido de substituir a madeira de carvalho, que actualmente apresenta um preço elevado devido à grande procura observada, mas como uma forma de poder complementar ou melhorar as características dos vinhos submetidos ao processo de envelhecimento.

É neste sentido que surge este trabalho, no qual é analisada a composição fenólica de quatro madeiras, carvalho, cerejeira, acácia e castanheiro, sujeitas a quatro tratamentos térmicos distintos.

## **2 – Revisão bibliográfica**

### **2.1. Origem do envelhecimento em madeira**

A origem do envelhecimento do vinho coincide com a necessidade de transportá-lo desde as zonas de produção até aos pontos de consumo. O primeiro testemunho que comprova este facto data o terceiro milénio a.C., na Mesopotâmia, onde não existiam vinhas, e o vinho como um produto de luxo se importava das “montanhas”, isto é, da zona norte-noroeste, actual Síria e Arménia, onde sem dúvida o vinho se produzia desde há muito tempo antes e que, para além disso, coincide com a área de origem da videira. O vinho viajava desde esta zona de produção até ao sul, em ânforas de barro cozido, sendo transportado mediante caravanas ou por via fluvial (Togores, 2003).

Posteriormente, os mercadores fenícios que comercializavam o vinho por toda a bacia do Mediterrâneo, evoluíram os recipientes vinários para volumes mais pequenos, não superiores a 200-300 kg de peso, para que fossem manejados por uma ou duas pessoas perante a ausência de meios mecânicos, e construídos com materiais resistentes aos frequentes golpes e quedas que estes sofriam durante a sua manipulação (McGovern *et al.*, 1996).

A evolução dos recipientes de transporte nas terras do sul do Mediterrâneo, pela lógica consequência do comércio, foram desde a estática jarra de barro, até à leve e esbelta ânfora fenícia, grega e inclusivamente romana. A fragilidade destes recipientes solucionou-se com a utilização de couros, fabricados a partir de peles curtidas e impermeabilizadas com resinas, de grande ductilidade e resistência ao transporte mas que, inevitavelmente, prejudicavam a qualidade dos vinhos uma vez que lhes conferiam odores e sabores estranhos, provenientes do couro e da sua preparação e impermeabilização (Togores, 2003).

Contudo, nos países do norte, os depósitos de grande volume onde se elaboravam e armazenavam os vinhos, estavam construídos em madeira, material relativamente abundante no meio circundante e que podia ser trabalhado com grande facilidade. No entanto, estes depósitos evoluíram para recipientes de transporte de

pequeno volume, construídos com a mesma madeira, surgindo então um grande número de recipientes como: barricas, barris, pipas, tonéis e outros similares, todos eles com capacidades compreendidas entre os 200 e 500 litros. Possivelmente, este tipo de recipiente já se utilizava no tempo dos romanos, como reservatório de transporte terrestre em carroças, arrastadas por bois ou cavalos, a partir das mesmas regiões vitícolas da Península Itálica, ou zonas produtoras do centro e norte da Gália, assim como da zona romana da vizinha Germânia (McGovern *et al.*, 1996).

Após a queda do Império Romano e, passados muitos anos, até que de novo aparecesse o bom gosto pelo vinho, o seu transporte continuou a realizar-se em recipientes de madeira, utilizando-se sobretudo o carvalho, por ser um material abundante na zona de produção dos vinhos, muito pouco permeável e de grande dureza e resistência (Togores, 2003).

## **2.2. Processo de envelhecimento**

Durante o processo de envelhecimento, os vinhos sofrem uma série de transformações profundas que ocasionam importantes modificações na vivacidade e intensidade da cor, na sua estrutura e adstringência, e na sua composição aromática. Para além destas alterações ao nível das características sensoriais, o envelhecimento confere limpidez e estabilidade ao vinho (Margalit, 2004).

De um modo geral, os vinhos passam primeiramente por um período de maturação em madeira, podendo optar-se pelo uso de barricas, aparas ou outros materiais, estando em contacto mais ou menos intermitente com o ar. Durante esta fase, o vinho começa a desenvolver as suas qualidades gustativas, adquire estabilidade e limpidez e têm lugar importantes fenómenos de oxidação que ocasionam perdas e transformações de antocianinas e taninos, condensações e polimerizações, oxidação do etanol a acetaldeído, modificações aromáticas através do aparecimento dos aromas terciários, entre outros. Posteriormente, o processo de envelhecimento poderá decorrer na garrafa, onde a entrada de ar é praticamente nula e o vinho envelhece num meio completamente redutor (Benavent e Cano, 2003).

Durante o período no qual o vinho se encontra em contacto com a madeira, a presença de oxigénio é um factor de extrema importância. No caso das barricas, a entrada de oxigénio ocorre de uma forma natural através dos poros existentes, dependendo da natureza da madeira, espessura, idade e volume das barricas. Caso se opte pelo uso de outras alternativas, como por exemplo as aparas, é necessário recorrer á microoxigenação, por forma a que este procedimento traga o efeito desejado (Togores, 2003).

Assim, durante o envelhecimento de vinhos em barrica ocorrem uma série de fenómenos e transformações de carácter físico, químico e inclusivamente biológico, que levam à estabilização natural dos vinhos, e a uma série de transformações e melhorias das suas características sensoriais. Genericamente, estes fenómenos podem resumir-se à entrada de ar ou oxigénio e perda de vinho através dos poros da madeira, precipitação de diversas substâncias do vinho, formação de ésteres, transformação de polifenóis e libertação de substâncias constituintes da madeira (Benavent e Cano, 2003).

As madeiras usadas em enologia libertam para o vinho uma série de compostos que vão intervir nas reacções que têm lugar durante o envelhecimento e vão contribuir para o bouquet dos vinhos. Neste contexto são de salientar os taninos, os compostos aromáticos e fenólicos e os polissacáridos solúveis.

A quantidade de taninos libertada pela madeira depende da sua origem, secagem, tosta e idade. Estes contribuem moderadamente para a polimerização e condensação de antocianinas e taninos, e portanto, para a estabilidade polifenólica dos vinhos. Os polissacáridos libertados pela madeira suavizam o sabor áspero e adstringente característico dos taninos, sendo o processo da queima responsável por favorecer a sua libertação a partir da celulose e hemicelulose (Togores, 2003).

Também são libertados pela madeira alguns aldeídos como a vanilina e o siringaldeído, fenóis voláteis, como o guaiacol e o eugenol, fenilcetonas, lactonas, pirazinas, piridinas, entre muitos outros. O processo de tosta pode ainda levar ao aparecimento de outros aldeídos, os aldeídos furânicos, como o furfural, por exemplo (Benavent e Cano, 2003).

Pelas razões expostas anteriormente, o envelhecimento de vinhos em madeiras é cada vez mais uma prática comum e obrigatória no mundo enológico actual. No entanto, para se conseguir atingir os melhores resultados deve realizar-se sob condições apropriadas de temperatura, humidade, tempo e manipulação. O elevado valor, em qualidade e preço, associado aos vinhos envelhecidos em madeiras leva à necessidade de um exaustivo controlo da sua evolução e a realizar um seguimento detalhado das transformações que vão sucedendo, para decidir com exactidão o tempo ideal de envelhecimento e as condições adequadas para cada vinho, que pode ser necessário modificar à medida que o vinho evolui.

## **2.3. Características das madeiras**

### **2.3.1. Anatomia e morfologia**

Actualmente, a grande maioria das tanoarias utilizam madeiras oriundas de explorações agrícolas controladas, onde se pratica a silvicultura com um cuidadoso processo de cultivo e selecção de árvores.

A madeira utilizada para fins enológicos corresponde à parte inferior dos troncos (40%), sendo o restante aproveitado para outros fins, como a marcenaria (20%), a carpintaria (10%), a produção de parquet (10%), contraplacados e outros materiais (20%), utilizando-se apenas a fracção central do tronco conhecido como cerne (Togores, 2003).

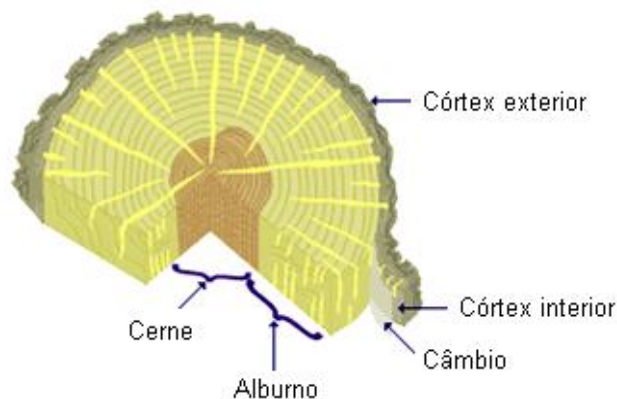
A madeira é um material heterogénio, anisótropo e higroscópico. Um corte transversal de um tronco ou de um ramo apresenta de fora para dentro uma série de zonas perfeitamente diferenciadas, como ilustrado na figura 1, onde se destacam as seguintes estruturas (Togores, 2003):

- **Córtex morto ou exterior**, que protege a madeira das adversidades do clima, assim como das agressões mecânicas.

- **Córtex interior ou vivo**, que realiza funções condutoras da seiva elaborada desde as folhas até ao resto da planta.

- **Câmbio**, que é responsável pelo crescimento em espessura da madeira, produzindo o córtex até ao exterior e a madeira até ao interior do tronco, estando activo unicamente quando as condições climáticas o permitem, o que ocorre na Primavera e no Verão, nas regiões com clima temperado.

- **Alburno**, que é a porção viva do xilema ao longo da qual se processa a circulação de água e de nutrientes entre a raiz e os tecidos activos da planta. Sendo células vivas e com funções essencialmente de condução, quase sempre o exame do corte de um tronco revela o alburno como uma zona de coloração mais clara rodeando a porção interior de cor mais escura (o cerne). Desempenha também funções de armazenamento de substâncias de reserva. A espessura desta zona é muito variável.



**Fig. 1** - Corte transversal de um caule lenhoso. (Adaptado de Biologia-Art, 2001).

- **Cerne**, que é uma zona de maior espessura e de cor mais escura, é formado por células mortas de xilema mediante um processo conhecido como duramização, no qual os vasos condutores são obstruídos por umas expansões vesiculares chamadas tilos, provenientes de células adjacentes de parênquima, penetrando nos mesmos através das pontuações, sendo todo este processo acompanhado por uma acumulação de substâncias orgânicas. Não participa activamente na condução de água, assumindo uma função essencialmente de suporte mecânico da estrutura da planta. Esta zona é a que se utiliza na produção das barricas e dos alternativos (Keller, 1987).

- **Medula**, que é o vestígio deixado no centro do tronco pela estrutura apical a partir da qual se desenvolveu o tronco da planta. É em geral uma estrutura fina (de alguns milímetros de diâmetro), sem qualquer importância para a determinação da qualidade ou usos da madeira (Canas e Caldeira, 2009). Forma-se a partir das células que constituíram a zona de crescimento inicial do rebento que deu origem ao tronco e em torno das quais se formaram as camadas de células que constituem a madeira. A sua posição marca o centro de crescimento a partir do qual se gerou o engrossamento da árvore. Como seria de esperar, as células que constituíram a medula são progressivamente mais jovens à medida que se sobe ao longo do tronco. Nas árvores em crescimento, a medula desemboca na estrutura meristemática activa do meristema apical, a partir da qual o crescimento do tronco produz o seu alongamento em altura (Togores, 2003).

Outros elementos anatómicos que se observam através da simples observação do tronco, são os anéis de crescimento situados de forma concêntrica, os raios lenhosos dispostos em sentido radial e os possíveis nós da madeira (Citron, 2005).

Os anéis de crescimento formam-se a partir do câmbio, responsável pelo crescimento da árvore em espessura, formando madeira nova até ao interior e córtex novo até ao exterior. A actividade do câmbio ocorre quando as condições climáticas são favoráveis: Primavera e Verão, correspondendo cada anel de crescimento a um ano de vida da árvore. Dentro de cada anel de crescimento distinguem-se duas zonas diferenciadas: a de Primavera, com vasos de maior tamanho, paredes celulares mais delgadas e uma coloração mais clara, e em continuação a de Verão, com vasos de menor tamanho, mas de maior densidade (Fengel e Wegener, 1989).

A madeira de Verão é mais resistente mas menos permeável que a de Primavera, sendo como consequência a madeira mais pesada, resistente e menos porosa quando o anel de crescimento é largo, já que a percentagem de madeira de Verão é maior. Em consequência, a madeira também será menos aromática e com maior riqueza em extracto e polifenóis. As madeiras produzidas em clima continental apresentam um anel de crescimento estreito onde predomina a madeira de Primavera, no entanto, quando se encontram em clima marítimo, verifica-se exactamente o contrário. A relação existente entre a madeira de Verão e a largura total do anel de crescimento, denomina-se textura da madeira, variando em função da espécie e das condições de cultivo (Citron, 2005).



Em tanoaria, a largura dos anéis de crescimento define-se como grão da madeira, embora a definição real de grão seja dada pelo diâmetro dos vasos condutores, o que pode gerar alguma controvérsia, pois quanto mais fino for o anel de crescimento, maior proporção de madeira de Primavera apresenta e conseqüentemente o grão real é mais grosso. A madeira pode ser homogénea, se todos os seus anéis de crescimento são iguais, ou bastante heterogénea, quando os seus anéis apresentam espessuras distintas, o que pode ser devido às diferentes condições de cultivo verificadas entre um e outro ano (Togores, 2003).

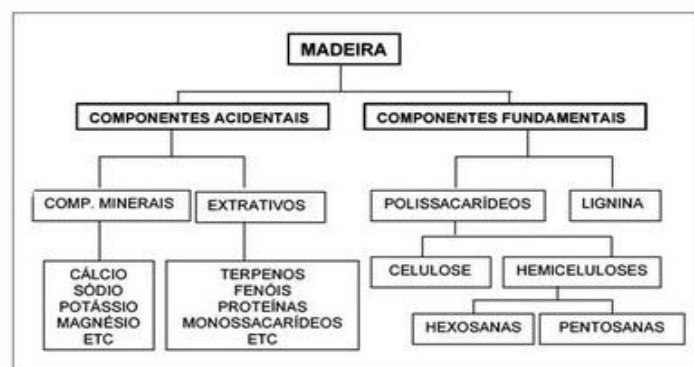
Os raios lenhosos são umas estruturas visíveis, que se situam em forma de estrela, partindo desde o centro do tronco em sentido radial, e cuja presença tem uma grande incidência nas propriedades físicas e mecânicas da madeira, especialmente no que diz respeito à sua permeabilidade. Estes elementos são formados por vasos condutores, que unem lateralmente os vasos principais longitudinais do tronco, sendo a sua resistência radial inferior à tangencial (Togores, 2003).

Os nós são as estruturas resíduais da base dos ramos, que ficaram incrustadas dentro da madeira do tronco. Os nós são uma causa de deformação das peças de madeira, para além de constituírem um risco de rotura das mesmas na zona ocupada pelos nós, podendo ainda permitir a saída de líquidos através das aduelas (Citron, 2005).

### **2.3.2. Composição química**

A composição química da madeira não pode ser definida com precisão para uma determinada espécie de árvore ou até mesmo para uma dada árvore. A composição química varia em função da zona da planta (raíz, caule ou ramos), tipo de madeira (normal, tensão, ou compressão), localização geográfica, clima e condições do solo.

Na madeira existem dois componentes químicos principais: a lenhina (18 - 35%) e os hidratos de carbono (65-75%), como ilustrado na figura 2, sendo ambos materiais poliméricos e complexos. Também se encontram presentes na madeira pequenas quantidades de componentes acidentais (geralmente 4-10%), principalmente na forma de compostos orgânicos extraíveis e minerais inorgânicos (cinzas) (Pettersen, 1984).



**Fig. 2** - Esquema representativo da composição química da madeira. Fonte:Portal da madeira, 2009.

No geral, a madeira tem uma composição elementar de cerca de 50% de carbono, 6% de hidrogénio, 44% de oxigénio, e pequenas quantidades de iões metálicos diversos (Pettersen, 1984).

A fracção dos hidratos de carbono na madeira compreende a celulose e a hemicelulose. O teor em celulose varia entre 40 a 50% do peso seco da madeira, ao passo que o conteúdo em hemicelulose oscila entre 25 e 35% (Pettersen, 1984).

A celulose  $(C_6H_{10}O_5)_n$  é um polímero de cadeia longa de peso molecular variável, resultante da união de moléculas de  $\beta$ -glicose através de ligações  $\beta$ -1,4-glicosídicas. Apresenta uma estrutura linear, fibrosa e húmida, na qual se estabelecem múltiplas ligações de hidrogénio entre os grupos hidroxilo das distintas cadeias juntapostas de glicose, tornando-as impenetráveis à água e, portanto, insolúveis, originando fibras compactas que constituem a parede celular dos tecidos vegetais (Haluk e Irmouli, 1997).

A hemicelulose é formada por uma mistura de polissacarídeos sintetizados na madeira, sendo constituída quase que inteiramente a partir da glicose, manose, galactose, xilose, arabinose, ácido 4-O metilglucurónico e vestígios de ácido galacturónico. Em algumas folhosas pode ainda observar-se a presença de pequenas quantidades de ramnose. As hemiceluloses apresentam muito menor peso molecular quando comparadas com a celulose, e podem apresentar-se numa forma linear ou ramificada. Estão intimamente associadas com a celulose e parecem contribuir como um componente estrutural, conferindo elasticidade à planta. Algumas hemiceluloses estão presentes em quantidades anormalmente elevadas quando a planta está sob condições de

stress, por exemplo, a madeira de compressão tem um teor de galactose superior ao normal, assim como, um maior teor de lenhina (Pettersen, 1984).

A lenhina é uma substância fenólica constituída por um conjunto de diversas ligações hidroxi e metoxi substituído por unidades fenilpropano (Pettersen, 1984). Estas unidades C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub> formam uma rede que interpenetra a matriz glucídica e glicoproteíca existente, modificando as suas propriedades, em particular aumentando a sua resistência e a sua hidrofobia (Carrapiço, 2001).

A lenhina intervém e, é indispensável, em diversos processos biológicos dos quais se destacam os seguintes (Carrapiço, 2001):

- assegurar a existência de vias rápidas de circulação da água e dos sais minerais.
- conferir a rigidez necessária à construção de eixos erectos superiores a vários centímetros de altura.

Os precursores da biossíntese da lenhina são o álcool cumarílico (ciclo H), existente em baixa percentagem (5 a 10%), apesar de ser um importante componente nas monocotiledóneas; o álcool coniferílico (ciclo G) , existente em percentagem elevada (80 a 90 %) nas plantas vasculares relativamente primitivas (pteridófitos e gimnospérmicas); e o álcool sinapílico (ciclo S), que se encontra presente sobretudo nas angiospérmicas (cerca de 50%). Estes álcoois encontram-se unidos por intermédio de ligações éter e carbono-carbono (Carrapiço, 2001).

As lenhinas do tipo G estão presentes em todos os vegetais e são consideradas as mais primitivas. Nas angiospérmicas são as que se depositam primeiro e constituem a quase totalidade dos polifenóis parietais dos vasos xilémicos, sendo mais abundantes no xilema primário que no secundário. As lenhinas do tipo S estão presentes em maior quantidade nas paredes das fibras e do parênquima, enquanto que as lenhinas do tipo H parecem ter surgido secundariamente apenas nas monocotiledóneas. A diversificação anatômica do xilema corresponde, assim, a uma diversificação química das unidades monoméricas das lenhinas (Carrapiço, 2001).

Os componentes acidentais (compostos extraíveis e cinzas) em madeira são as substâncias que não sejam celulose, hemicelulose, e lenhina. Não contribuem para a

estrutura da parede celular, e a sua maioria são solúveis em solventes neutros (Pettersen, 1984).

A fracção solúvel em solventes neutros constitui o conjunto de substâncias extraíveis da madeira, e representa 4-10% do peso seco da madeira normal nas espécies que crescem em climas temperados, ao passo que nas espécies tropicais pode chegar aos 20% (Pettersen, 1984).

A porção extraível inclui variadíssimos compostos orgânicos como gorduras, ceras, alcalóides, proteínas, compostos fenólicos simples e complexos, açúcares simples, pectinas, mucilagens, resinas, gomas, terpenos, amidos, glicosídeos, saponinas e óleos essenciais (Masson *et al.*, 1996).

Muitas destas substâncias actuam como intermediários no metabolismo da planta e funcionam como reservas de energia, ou como parte do mecanismo de defesa da árvore contra o ataque de agentes microbianos. Desempenham um papel importante nas propriedades da madeira, influenciando o odor, a cor e a resistência ao declínio da planta (Masson *et al.*, 1996).

As cinzas são o resíduo inorgânico remanescente após ignição em alta temperatura. Representam geralmente menos de 1% da madeira proveniente de zonas temperadas, sendo ligeiramente superior nas madeiras oriundas de climas tropicais (Pettersen, 1984).

### **2.3.2.1. Composição fenólica**

Os compostos fenólicos da madeira assumem grande importância em virtude do seu envolvimento: nalgumas das propriedades mais importantes da madeira, condicionando a sua aptidão para tanoaria; nas características físico-químicas e organolépticas de vinhos e aguardentes que contactem com a madeira, contribuindo por isso para a sua diferenciação; e nos potenciais efeitos benéficos para a saúde humana, com especial incidência em doenças cardiovasculares, doenças neurodegenerativas, tumores e distúrbios gastro-intestinais (Canas e Caldeira, 2009).

Os compostos fenólicos são caracterizados pela presença de um sistema benzénico com um ou mais grupos hidroxilo, que por sua vez se podem encontrar metilados ou glicosilados. Podem ser classificados em dois grandes grupos, os flavonóides, dos quais fazem parte os flavanóis, os flavonóis, os flavanonóis, as flavonas e as antocianinas e em não-flavonóides que incluem os ácidos fenólicos (benzóicos e cinâmicos) e outros derivados fenólicos como os estilbenos (por exemplo, resveratrol) (Fernandes, 2007).

Os flavonóides ( $C_6-C_3-C_6$ ) são compostos fenólicos cuja estrutura fundamental é formada por dois anéis aromáticos ligados por um anel pirânico (Zoecklein *et al.*, 1995). Esta classe de compostos fenólicos pode dividir-se em várias famílias que se distinguem pelo grau de oxidação (grau de insaturação) do anel pirânico. No contexto dos compostos fenólicos, os flavonóides são os principais responsáveis pelas sensações gustativas (flavan-3-óis) e pela cor dos vinhos (antocianinas), assumindo ainda um importante papel no envelhecimento dos mesmos (Jordão, 1999).

Os não-flavonóides são um grupo vasto de compostos como ácidos benzóicos, ácidos cinâmicos e estilbenos. Os ácidos benzóicos e cinâmicos, frequentemente denominados ácidos fenólicos, encontram-se em frutos na forma livre em baixas concentrações quando comparados com as suas formas conjugadas (Clifford, 1997). Estes ácidos aparecem numa variedade de produtos vegetais desde películas de uvas a cereais sobretudo sobre a forma de ésteres com ácido tartárico ou ligados a açúcares (Michael, 1999).

Nas madeiras utilizadas para fins enológicos, as famílias de compostos fenólicos mais importantes são os ácidos fenólicos, os aldeídos fenólicos e os aldeídos furânicos. Os ácidos fenólicos presentes na madeira dividem-se em ácidos benzóicos, com estruturas em  $C_7$  (ácidos vanílico, sirínico e gálico), e ácidos cinâmicos, com estruturas em  $C_9$  (ácidos ferúlico, caféico e p-cumárico), os quais podem encontrar-se na forma livre ou, sobretudo, esterificados com a glucose (Pearl *et al.*, 1957; Ribéreau-Gayon, 1968; Monties, 1987; Seikel *et al.*, 1971).

Os aldeídos fenólicos presentes nas madeiras podem ser classificados segundo dois critérios: i) pelo número de átomos de carbono, em benzóicos, com estruturas em  $C_7$  (vanilina e siringaldeído) e em cinâmicos, com estruturas em  $C_9$  (coniferaldeído e

sinapaldeído); ii) pelo número de grupos metoxilo, em guaiacilo (monometoxilados) – vanilina e coniferaldeído, e em siringilo (bimetoxilados) – siringaldeído e sinapaldeído (Canas e Caldeira, 2009).

Por sua vez, os aldeídos furânicos são compostos heterocíclicos, que contêm um anel furânico (Campos, 1987). Existem em muito baixa concentração na madeira não tostada (Boindron *et al.*, 1988; Chatonnet *et al.*, 1989; Marco *et al.*, 1994), sendo produzidos em quantidades apreciáveis durante o tratamento térmico (Barbe *et al.*, 1998).

## **2.4. Principais factores que afectam as características da madeira**

### **2.4.1. Influência da espécie botânica**

A utilização de madeira em enologia é hoje uma prática corrente, embora em alguns casos, o seu emprego seja polémico. Actualmente, as referências à fermentação ou estágio em barricas de carvalho novo são bastante frequentes nos contra-rótulos dos vinhos de maior qualidade e preço, verificando-se um recurso crescente à utilização desta tecnologia. É uma técnica relativamente recente e dispendiosa, mas é inquestionável o seu contributo no enobrecimento dos vinhos.

A madeira de carvalho é, sem dúvida, a preferida para o fabrico de vasilhas, pelas suas propriedades mecânicas (dureza, flexibilidade), físicas (porosidade) e pela sua composição química (Puech e Moutounet, 1988). Os carvalhos tradicionalmente utilizados no fabrico de barricas, são os franceses, das espécies *Quercus robur* (sobretudo da floresta de Limousin), *Quercus petraea*, (mais abundante na floresta de Allier) e os americanos, principalmente da espécie *Quercus alba* (em cuja distribuição geográfica se incluem os Estados da Virgínia, Missouri e Kentucky) (Artajona, 1991).

Nos últimos anos tem-se assistido a um aumento considerável da procura de carvalho americano, tanto nos países tradicionalmente vitícolas como nos novos países vitícolas (Austrália, Chile, Argentina, entre outros), motivado pelo menor preço e pela

mais rápida disponibilização (Schahinger, 1992; Mosedale, 1995), assim como pelo conhecimento das suas aptidões. A utilização de madeira de carvalho proveniente do leste da Europa (Roménia, Bulgária, Rússia) tem sido também alvo de uma expansão assinalável, sobretudo em França (Chatonnet, 1995), em virtude do seu preço e disponibilidade.

No contexto nacional, actualmente existem apenas quatro espécies de carvalho com interesse para tanoaria, que obedecem à seguinte distribuição (Carvalho, 1997): a noroeste predomina o carvalho roble ou alvarinho (*Q. robur* L.), de folhagem caduca; a nordeste, em zonas mais continentais, domina o carvalho negral ou pardo (*Q. pyrenaica* Willd.), de folhagem caduca; no centro - Beiras e Trás-os-Montes – predomina o pedamarro (*Q. faginea* Lam. Subsp. *faginea*), espécie endémica da Península Ibérica, de folhagem marcescente; da Beira Litoral ao Algarve sobressai o carvalho cerquinho ou português (*Q. faginea* Lam. Subsp. *broteroi* (Cout.) Samp.), de folhagem marcescente.

Existe referência a que, para além do carvalho, diversas outras espécies florestais, como o pinheiro bravo, o eucalipto, o mogno, a macacaúba (Nobre da Veiga, 1954 citado por Canas e Caldeira, 2009) e a acácia (Chatonnet *et al.*, 1997; Parodi, 2000) eram utilizadas no fabrico de vasilhas para o transporte e a conservação de vinhos. No entanto, a constatação de que algumas madeiras não apresentavam as características físico-químicas mais adequadas para o fim em vista conduziu ao seu progressivo abandono, como por exemplo, a transmissão de aromas e sabores estranhos aos vinhos e seus derivados pelas madeiras de pinheiro bravo e de eucalipto (Nobre da Veiga, 1954 citado por Canas e Caldeira, 2009).

Uma outra espécie botânica, outrora utilizada para conservação e transporte de vinhos, mas hoje em dia quase em desuso, é a madeira de castanheiro (*Castanea sativa*). Um estudo recente, evidenciou o interesse do castanheiro, como madeira a utilizar no envelhecimento, realçando a aceleração que induz neste processo, devido fundamentalmente às suas características químicas (Belchior, 1999), cedendo ao vinho grande quantidade de polifenóis, e apresentando maior porosidade comparativamente ao carvalho (Citron, 2005) Assim, a madeira de castanheiro poderá ser de máximo interesse quando se pretenda diversificar tipos, a que se juntarão razões económicas, visto ser hoje uma madeira relativamente abundante e bem mais barata que o carvalho (Belchior, 1999).

Actualmente, alguns ensaios têm sido desenvolvidos no sentido de avaliar o desempenho de outras madeiras no envelhecimento de vinhos, algumas até outrora já utilizadas, não apenas no sentido de poderem substituir o carvalho, mas sim como uma forma de complementar e melhorar as características dos vinhos submetidos a este processo. Nesse sentido, as madeiras de cerejeira, acácia, amoreira e até de freixo têm sido objecto de estudo.

A madeira de cerejeira é caracterizada por apresentar alta porosidade e permeabilidade ao oxigénio (Citron, 2005), e pela libertação de metoxifenóis, sendo geralmente usada para tempos curtos de envelhecimento (De Rosso *et al.*, 2009). Por sua vez, a madeira de acácia é dura, apresenta baixa porosidade e baixa libertação de taninos para o vinho (Citron, 2005) e é caracterizada por possuir teores significativos de aldeídos benzóicos (De Rosso *et al.*, 2009). A madeira de amoreira (*Morus alba* e *Morus nigra*) é macia e elástica, com média porosidade, e é caracterizada pela baixa libertação de compostos (Citron, 2005).

Os ensaios levados a cabo por De Simón *et al.* (2009), onde foram estudadas cinco madeiras distintas, mostraram que, no que diz respeito a amostras não tostadas, a madeira de acácia é a mais pobre, tanto em derivados da lenhina como em derivados de lípidos e hidratos de carbono. Pelo contrário, a madeira de castanheiro foi a mais rica, especialmente no que diz respeito aos compostos derivados de lenhina. Por outro lado, quando se trata de madeiras sujeitas ao processo de tosta, a acácia mostra-se bastante rica em derivados da lenhina, especialmente em relação ao carvalho, ao passo que a madeira de castanheiro é novamente a mais rica.

#### **2.4.2. Influência do processo de secagem**

O processamento da madeira para tanoaria inclui uma série de etapas que influenciam a sua qualidade enológica, especialmente a secagem e a tosta. Ambos os processos afetam a estrutura e composição química final da madeira que irá estar em contacto com o vinho durante o seu processo de envelhecimento.



A madeira verde não pode ser usada na tanoaria, uma vez que contém uma grande quantidade de água (até 70%) e os seus compostos extraíveis não são compatíveis com o objetivo de melhorar a qualidade dos vinhos, já que contém muitos compostos fenólicos amargos (excesso de elagitaninos, cumarinas, etc.) e muito poucos compostos aromáticos (De Simón *et al.*, 2010).

Em tanoaria, o processo de secagem da madeira ocorre geralmente sob condições naturais, realizando-se ao ar livre durante um período de tempo variável entre 18 e 36 meses (De Simón *et al.*, 2010), como evidenciado na figura 3.



**Fig. 3** - Secagem natural sob condições controladas. Fonte: Tacopal, 2007.

A secagem permite reduzir a elevada percentagem de humidade existente na madeira até que esteja em equilíbrio com a humidade ambiente, e simultaneamente, reduzir a contração da fibra.

A secagem natural produz a maturação da madeira, diminuindo a amargura e a adstringência, e alterando a composição química desta. Daí resulta, fundamentalmente, a perda de compostos fenólicos hidrosolúveis, como os elagitaninos, que pode ser devido a vários mecanismos físicos- químicos, incluindo a lixiviação das aduelas pela

chuva (Vivas e Glories, 1996) e a degradação hidrolítica oxidativa (Chatonnet *et al.*, 1994), associada à actividade enzimática de fungos (fenol heterosidase, etherase e depsidase) (Vivas *et al.*, 1997). Além disso, a secagem natural tem influência sobre o perfil aromático de madeira. Durante este processo, muitos compostos voláteis, como os aldeídos fenólicos ou os fenóis voláteis, mostram comportamentos diferentes, aumentando alguns deles a sua concentração, ao passo que outros diminuem ou não mostram variações significativas (De Simón *et al.*, 2010). De modo geral, a secagem natural tem predominantemente um efeito positivo sobre as características sensoriais da madeira (Chatonnet *et al.*, 1994).

A secagem artificial em forno ou estufa ou um método misto que combina secagem ao ar livre com secagem em estufa produz uma evolução diferente da composição química da madeira, e como tal, o processo de secagem natural é considerado actualmente como um método superior de secagem (Martínez *et al.*, 2008).

A mesma reflexão pode ser válida para as madeiras destinadas à elaboração de produtos alternativos (aparas, cubos, etc.) de boa qualidade, tendo em consideração o tempo de secagem (mais de 12 meses), e a forma de empilhamento da madeira, por forma a otimizar as trocas entre a madeira e a atmosfera (De Simón *et al.*, 2010).

### **2.4.3. Influência do processo de tosta**

Uma prática comum usada em tanoaria e considerada como sendo o passo tecnológico mais importante em todo processo de preparação das madeiras é a tosta.

Genericamente consideram-se quatro níveis de tosta: sem tosta, tosta leve, média e forte, havendo ainda variações dentro de cada um destes níveis, por exemplo média mais e muito forte, entre outros. O nível de tosta depende da duração e da temperatura a que as madeiras são sujeitas durante o processo de queima, o qual é variável de tanoaria para tanoaria.

Ao longo de todo este processo, o aumento da temperatura provoca uma alteração na estrutura física, o que é crucial por forma a facilitar a formação das aduelas, como ilustrado na figura 4. No entanto, o facto mais importante verificado em todo este

processo é a grande alteração da composição química devido à degradação térmica dos polímeros da madeira (Alañón *et al.*, 2009).

A madeira é composta principalmente por três grandes polímeros: celulose, que é um polímero linear composto por uma cadeia longa de monómeros de D-glucose; hemicelulose, que é uma mistura de polissacarídeos derivados de glucose, manose, galactose, xilose, arabinose, ácido 4-O-metilglucurônico e ácido galacturônico, e lenhina, que é um polímero tridimensional reticulado de fenilpropano com unidades de guaiacil (2-metoxifenol) e siringil (2,6-dimetoxifenol) que formam ligações cruzadas por oxidação (Alañón *et al.*, 2009).



**Fig. 4** - Processo de tosta como forma de moldar fisicamente a madeira. Fonte: MauOscar, 2010.

Devido à alta temperatura atingida durante o processo de queima, as ligações químicas entre polímeros são quebradas e a hemicelulose e a lenhina em particular, são

degradadas uma vez que são menos estruturadas que a celulose. Da sua degradação resulta um grande número de novos compostos que desempenham um papel importante no desenvolvimento de sabores no vinho (Singleton, 1995).

Deste modo, a tosta tem uma influência significativa sobre os compostos químicos da madeira, modificando tanto a quantidade como a qualidade das substâncias extraíveis.

Durante este processo, os biopolímeros da madeira como a lenhina, os poliósidos e os lipídios são degradados por reações de pirólise e termólise, induzindo uma notável alteração da composição química da madeira. Principalmente, os fenóis voláteis, os aldeídos fenólicos, as fenilcetonas e alguns álcoois fenólicos são formados a partir da termodegradação da lenhina. Regra geral, elevados níveis de fenóis mono e dimetoxilados, aldeídos benzóicos e cinâmicos são identificados em madeiras tostadas. A degradação pelo calor dos poliósidos leva à produção de aldeídos furânicos e cetonas penta e hexacíclicas, ao passo que as lactonas são formadas a partir dos lipídios da madeira, as quais aumentam a sua concentração no início da queima, embora possam ser destruídas por um longo processo de tosta (Cadahía *et al.*, 2003; Chatonnet *et al.*, 1999).

Assim, é extremamente importante controlar e verificar o grau de tosta aplicado às madeiras, uma vez que isso irá afectar fortemente o sabor, corpo e aroma de bebidas envelhecidas. Portanto, a intensidade da tosta exerce uma influência considerável sobre a qualidade das bebidas envelhecidas.

A determinação do grau de tosta a aplicar às madeiras é um aspecto de grande importância, gerando contudo alguma discussão, uma vez que a sua abordagem é um pouco problemática. Por vezes, de forma a determinar e controlar o grau de tosta a utilizar opta-se pela monitoração da alteração das concentrações de certos compostos, tais como o furfural ou a vanilina (Chatonnet *et al.*, 1999). O problema da utilização desta metodologia é que a queima da madeira aumenta as concentrações de alguns compostos até um certo nível de tosta, no entanto, se a tosta continua, as concentrações tendem a diminuir devido ao efeito pirolítico (Pérez-Coello *et al.*, 1997). Além disso, a variabilidade destes compostos em amostras de madeira é outro factor a ter em conta no momento de determinar e controlar o grau de torrefação a aplicar. Portanto, os novos

compostos formados exclusivamente no processo de queima são melhores marcadores para a determinação da intensidade da tosta (Alañón *et al.*, 2009).

## **3 - Material e métodos**

### **3.1. Amostras**

As quatro espécies de madeira estudadas neste ensaio foram fornecidas pela tanoaria J.M. Gonçalves, Lda. As amostras de cerejeira (*Prunus cerasus*) e de acácia (origem botânica desconhecida) são provenientes da região centro da França, ao passo que, as madeiras de castanheiro (*Castanea sativa*) e carvalho (*Quercus robur*) são de origem nacional, sendo a primeira proveniente da zona de Carrazeda de Ansiães, e a segunda da região das Beiras. Cada uma destas espécies foi submetida a um processo de secagem natural, embora com tempos distintos: cerejeira e acácia - 25 meses, castanheiro - 22 meses, carvalho português - 32 meses. A tosta foi idêntica para as quatro madeiras e teve a duração de 2 horas, com as seguintes temperaturas: sem tosta = não sujeita a temperatura, tosta ligeira = 160°C, tosta média = 200°C, tosta forte = 240°C. Todas as amostras foram fornecidas na forma de aparas.

### **3.2. Extração**

Foi preparada uma solução hidroalcoólica com 12 % etanol e pH = 3.2 (ácido tartárico) que serviu como meio de extração, simulando uma amostra de vinho. Foram colocados 12 gramas de aparas em 200 mL dessa solução durante um período de 35 dias, à temperatura ambiente e na ausência de luz. Para o efeito utilizaram-se frascos de 250 mL de volume, os quais foram agitados regularmente por forma a maximizar a extração de compostos a partir da madeira. Após esse período de tempo, as soluções foram filtradas, por forma a cessar o processo de extração, sendo armazenadas sob as mesmas condições descritas anteriormente. Todas as extrações foram repetidas duas vezes, o que faz um total de 32 amostras (4 madeiras \* 4 níveis de tosta \* 2 repetições).

### **3.3. Preparação das amostras**

As amostras analisadas espectrofotometricamente foram diluídas de 1/20 e filtradas, utilizando-se para tal, filtros de seringa (Cronus Syringe Filter PTFE 13mm) com um diâmetro de poro de 0,45 µm. Por sua vez, as amostras analisadas em HPLC-DAD não foram sujeitas a qualquer tipo de diluição, tendo sido apenas filtradas com os filtros já mencionados anteriormente.

### **3.4. Análises**

#### **3.4.1. Análises espectrofotométricas**

O teor de polifenóis totais foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu (Singleton e Rossi, 1965) aplicado a vinhos. A determinação dos espectros de absorvância, com um intervalo de comprimentos de onda entre 250 e 450 nm, das várias soluções obtidas, foi realizada com o espectrofotômetro Dr Lange Cadas 100, utilizando uma célula de quartzo com percurso óptico de 1 cm. As leituras foram realizadas em duplicado.

#### **3.4.2. Análises cromatográficas**

Para a determinação do teor em compostos fenólicos de baixo peso molecular utilizou-se o HPLC Ultimate 3000 da marca Dionex equipado com um detector DAD. O software Chromeleon 7.0 foi usado para aquisição e tratamento dos dados. As condições cromatográficas utilizadas foram as seguintes: coluna Lichrospher 100 RP18 (5 µm) 250 mm x 4 mm (Merck, Darmstadt, Germany), temperatura do forno 40°C, fluxo 1 mL/min e volume de injeção 25 µL. O método cromatográfico compreende a utilização de dois solventes (A e B), sendo o solvente A uma solução de ácido fórmico a 2% e o solvente B uma mistura de metanol, água e ácido fórmico (70:28:2 (v/v/v)). O método cromatográfico inicia-se com 100% do solvente A, seguido de um gradiente linear até 60% do solvente A durante 45 min, verificando-se depois um outro gradiente linear até

atingir 40% do solvente A, aos 70 minutos. A detecção simultânea foi efectuada aos comprimentos de onda 254 nm, 280 nm e 320 nm para todos os picos.

### **3.4.2.1. Identificação e quantificação dos compostos**

A identificação dos vários compostos realizou-se através da comparação dos tempos de retenção, bem como dos espectros UV-Vis. Para tal, usou-se como referência os espectros obtidos nas várias soluções padrão injectadas e os valores mencionados por outros autores. Para a quantificação foram traçadas rectas de calibração para cada um dos compostos em estudo. Preparou-se uma solução mãe contendo todos os compostos em concentração conhecida, e a partir desta prepararam-se soluções diluídas, que foram injectadas em duplicado. Os padrões foram preparados em água, excepto a solução de ácido elágico que foi preparado em etanol absoluto, e por isso foi injectado em separado. Utilizou-se o comprimento de onda de 280 nm para todos os compostos, excepto para o siringaldeído, coniferaldeído e sinapaldeído, para os quais se usou o comprimento de onda de 320 nm.

### **3.4.3. Análise estatística**

Os dados obtidos foram submetidos a uma análise de variância (ANOVA), considerando apenas como factor de variação o nível de tosta. O teste de comparação de médias utilizado foi o Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test, para um nível de confiança de 95%. A análise foi efectuada com o programa NCSS 6.0 (Statistical & Power Analysis Software, Kaysville, UT, USA).



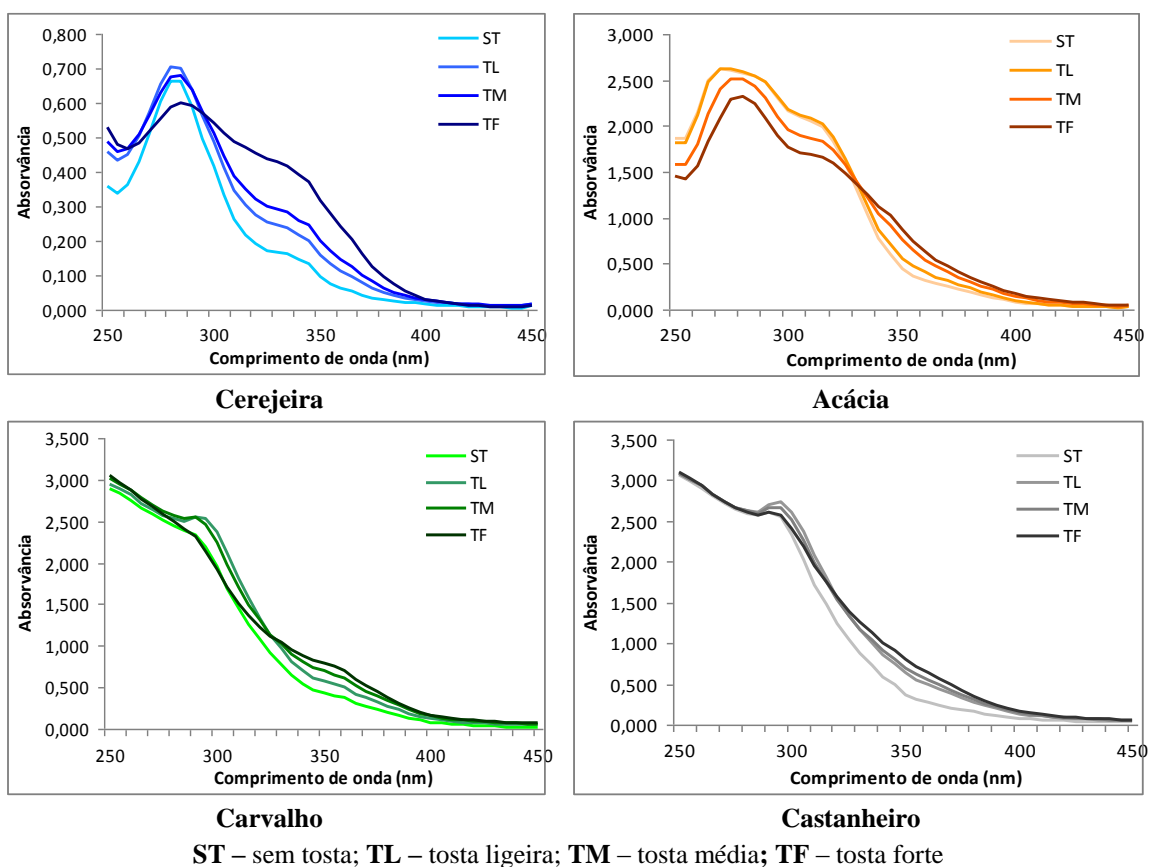
## 4 - Apresentação e discussão de resultados

### 4.1. Análises espectrofotométricas

#### 4.1.1. Espectros de absorvância das soluções hidroalcoólicas analisadas

A figura 5 mostra os espectros de absorvância obtidos a partir dos extractos hidroalcoólicos das quatro madeiras analisadas, sujeitas aos diferentes níveis de tosta.

Pode observar-se que nas madeiras de acácia, carvalho e castanheiro a tendência da linha de absorvância não varia em função do nível de tosta. Tal facto não se verifica na madeira de cerejeira, observando-se um comportamento diferente da tosta forte em relação aos restantes níveis de tosta, apresentando uma diminuição da absorvância aos 280 nm e um ligeiro aumento entre os 310 e os 390 nm.



**Fig. 5.** Espectros de absorvância ( $\lambda$ :250-450nm) dos extractos hidroalcoólicos dos quatro tipos de madeira sujeitos aos diferentes níveis de tosta.

A figura mostra ainda um evidente máximo de absorção aos 280 nm nas madeiras de cerejeira e acácia, por sua vez, nas madeiras de castanheiro e carvalho é possível observar um ligeiro aumento da absorvância por volta dos 300 nm.

Em termos quantitativos, as madeiras de carvalho e castanheiro apresentam as leituras mais elevadas, seguindo-se a acácia e por fim a cerejeira, que sem dúvida é a madeira que menor teor de compostos cedeu ao extracto analisado.

No estudo levado a cabo por De Rosso *et al.*, (2008), para além da análise de outros parâmetros, foram determinados os espectros de absorvância de cinco soluções hidroalcoólicas (50% etanol) obtidas a partir de cinco espécies de madeira distintas (acácia, amoreira, cerejeira, carvalho e castanheiro), não submetidas a qualquer tratamento térmico. Comparando os espectros obtidos pelos autores com os do presente ensaio é possível detectar algumas semelhanças nas madeiras de cerejeira e carvalho, ao passo que nas madeiras de acácia e castanheiro os espectros de absorvância mostram comportamentos diferentes. Apesar de haver maior extração quando se utiliza uma solução com 50% de etanol do que com apenas 12%, estas diferenças podem estar associadas à grande variabilidade existente entre madeiras, ou até mesmo intraespécie.

#### **4.1.2. Polifenóis totais e absorvância a 280 nm das soluções hidroalcoólicas analisadas**

De acordo com os dados da tabela 1, que reflecte a concentração de polifenóis totais presentes nos extractos analisados, observa-se uma tendência para as concentrações aumentarem quando se passa das amostras não tostadas para a tosta ligeira, seguindo-se um progressivo decréscimo, sendo a madeira com tosta forte aquela que apresenta os teores mais reduzidos. A madeira de cerejeira aparece como sendo a única excepção, uma vez que o seu teor em polifenóis totais é mais elevado na amostra sem tosta, diminuindo significativamente com a queima.

**Tabela 1** – Polifenóis totais dos extractos hidroalcoólicos das quatro espécies de madeira sujeitas aos diferentes níveis de tosta (mg/L (+)-catequina).

	Sem tosta	Tosta ligeira	Tosta média	Tosta forte	p-value
<b>Acácia</b>	1431,39 <sup>b</sup> ± 175,44	1497,60 <sup>b</sup> ± 130,30	1353,06 <sup>b</sup> ± 37,47	953,02 <sup>a</sup> ± 45,63	0,0001
<b>Cerejeira</b>	428,02 <sup>d</sup> ± 1,86	398,18 <sup>c</sup> ± 22,87	345,96 <sup>b</sup> ± 8,27	267,63 <sup>a</sup> ± 7,06	0,0000
<b>Castanheiro</b>	2694,93 <sup>b</sup> ± 06,92	2889,82 <sup>c</sup> ± 27,47	2648,30 <sup>b</sup> ± 27,08	2326,59 <sup>a</sup> ± 31,41	0,0000
<b>Carvalho</b>	2293,95 <sup>b</sup> ± 109,93	2806,83 <sup>c</sup> ± 109,24	2265,98 <sup>b</sup> ± 64,50	1662,65 <sup>a</sup> ± 107,04	0,0000

Letras diferentes numa linha denotam uma diferença significativa com nível de confiança de 95% no teste Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test.

Em termos quantitativos, os extractos das madeiras de carvalho e de castanheiro apresentam os teores de polifenóis totais mais elevados, com valores relativamente próximos, ao passo que os da madeira de cerejeira apresentaram os teores mais baixos, estando os extractos da madeira de acácia situados num nível intermédio.

A tabela 2 exprime os valores das absorvâncias a 280 nm dos extractos analisados e, após a sua observação, pode-se verificar que a cerejeira é a madeira cujos extractos apresentam menores leituras, ao passo que os extractos das restantes madeiras mostram valores muito próximos entre si.

**Tabela 2** – Absorvância a 280 nm dos extractos hidroalcoólicos das quatro espécies de madeira sujeitas aos diferentes níveis de tosta.

	Sem tosta	Tosta ligeira	Tosta média	Tosta forte	p-value
<b>Acácia</b>	51,59 <sup>b</sup> ± 0,01	51,66 <sup>b</sup> ± 0,65	50,08 <sup>b</sup> ± 0,08	46,49 <sup>a</sup> ± 1,29	0,0058
<b>Cerejeira</b>	13,29 <sup>ab</sup> ± 0,35	14,08 <sup>b</sup> ± 0,71	13,53 <sup>b</sup> ± 0,13	11,78 <sup>a</sup> ± 0,14	0,0189
<b>Castanheiro</b>	51,85 <sup>a</sup> ± 0,04	52,46 <sup>a</sup> ± 0,28	52,39 <sup>a</sup> ± 0,18	52,16 <sup>a</sup> ± 0,25	0,3634
<b>Carvalho</b>	48,94 <sup>a</sup> ± 0,42	50,55 <sup>ab</sup> ± 0,66	51,43 <sup>b</sup> ± 0,03	49,93 <sup>ab</sup> ± 0,66	0,0393

Letras diferentes numa linha denotam uma diferença significativa com nível de confiança de 95% no teste Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test.

Ao comparar os dados apresentados pelas duas tabelas em relação à madeira de acácia pode observar-se que esta apresenta leituras de absorvância muito idênticas ao carvalho e castanheiro, no entanto, o teor em polifénóis totais é muito menor, quando comparado com estas duas madeiras, o que significa que estão presentes na solução hidroalcoólica compostos que absorvem a 280 nm mas que não são quantificados em termos de polifenóis totais.

Nos ensaios desenvolvidos por De Rosso *et al.*, (2008), autores já referidos anteriormente, foram estudadas cinco madeiras de diferentes espécies botânicas (castanheiro, cerejeira, acácia, amoreira e carvalho) sem qualquer tipo de tratamento

térmico. Entre outras avaliações foram determinados a concentração de polifenóis totais e a absorvância a 280 nm das várias soluções hidroalcoólicas obtidas, soluções essas que tentavam simular um modelo de vinho, apresentando características idênticas às usadas neste estudo. Os valores encontrados por estes autores em relação aos dois parâmetros citados anteriormente foram mais baixos nas madeiras de acácia e de carvalho e mais elevados nas madeiras de castanheiro e cerejeira, quando comparados com os resultados deste ensaio.

## 4.2. Análises cromatográficas

### 4.2.1. Parâmetros de calibração

Na tabela 3 encontram-se os parâmetros de calibração usados para a quantificação dos compostos fenólicos de baixo peso molecular identificados nas amostras em estudo.

**Tabela 3** – Parâmetros de calibração dos compostos fenólicos de baixo peso molecular.

Composto	TR ± DP (min)	λ (nm) leitura	Equação	r <sup>2</sup>	λ (nm) característico	Intervalo (mgL <sup>-1</sup> )
Ácido gálico	6,57±0,02	280	y=1,1024x+1,7628	0,9993	271	0,46-364,0
Furfural	15,81±0,17	280	y=3,5395x+0,1101	1,0000	233 276	0,35-35,3
Aldeído proto.	16,26±0,02	280	y=0,9062x+0,082	0,9999	237 280-310	0,60-38,25
Ácido vanílico	24,96±0,08	280	y=0,8375x-0,1428	0,9994	262 295	0,36-35,5
5-Metilfurfural	27,88±0,26	280	y=3,2375x-0,4833	0,9995	295	0,37-37,0
Ácido siríngico	30,36±0,17	280	y=1,2512x-0,1545	0,9999	276	0,37-37,0
Vanilina	31,07±0,15	280	y=1,9245x-0,2909	0,9994	238 280-309	0,49-48,8
Siringaldeído	36,28±0,21	320	y=1,3648x+1,4989	0,9996	238 309	0,39-310,0
Coniferaldeído	44,26±0,22	320	y=2,4241x+2,4977	0,9996	243 306-342	0,37-296,0
Sinapaldeído	46,83±0,26	320	y=2,0997x-0,5770	0,9995	246 347	0,37-74,0
Ácido elágico	53,43±0,29	280	y=0,5184x-1,4462	0,9997	252 365	4,71-151,0

TR – tempo de retenção; DP – desvio padrão; λ -comprimento de onda

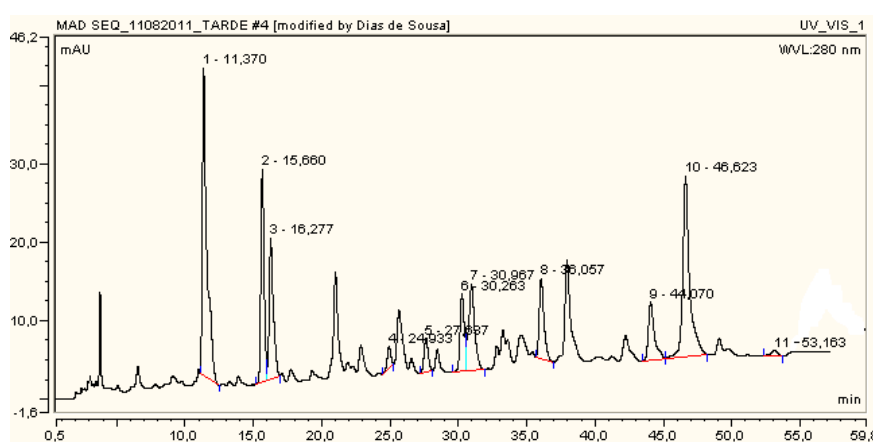
Para todas as rectas de calibração obtiveram-se coeficientes de correlação superiores a 0,9993, para a gama de concentrações indicada.

Na tabela 3 indicam-se ainda os comprimentos de onda característicos do espectro de absorção UV-Vis de cada composto, que foram utilizados para a sua

identificação, assim como o comprimento de onda usado para a quantificação dessas substâncias.

#### 4.2.2. Compostos fenólicos de baixo peso molecular nas soluções hidroalcoólicas analisadas

A título de exemplo, a figura 6 mostra um cromatograma de um dos extractos analisados, no caso, de madeira de cerejeira com tosta média.



**Fig. 6** – Cromatograma de um extracto de cerejeira com tosta média.

**Legenda:** 1) 5-Hidroximetilfurfural; 2) Furfural; 3) Áldeído protocatéquico; 4) Ácido vanílico; 5) 5-Metilfurfural; 6) Ácido siríngico; 7) Vanilina; 8) Siringaldeído; 9) Coniferaldeído; 10) Sinpaldeído; 11) Ácido elágico.

Observando o cromatograma apresentado, verifica-se que o método cromatográfico utilizado permitiu uma boa separação dos vários compostos presentes na amostra, apenas se verificando uma pior resolução para os picos 6 e 7. Neste cromatograma não foi encontrado o ácido gálico. Observa-se também, que para além dos compostos identificados, existem outros compostos fenólicos de baixo peso molecular que não foram identificados.

As tabelas 4, 5, 6 e 7 mostram os compostos fenólicos identificados e quantificados, presentes nas soluções hidroalcoólicas obtidas com aparas de acácia, castanheiro, cerejeira e carvalho, respectivamente.

**Tabela 4** – Compostos fenólicos na solução hidroalcoólica com aparas de acácia.

Composto (mg L <sup>-1</sup> )	Sem tosta	Tosta ligeira	Tosta média	Tosta forte	p-value
Ácido gálico	13,97 <sup>a</sup> ±5,26	6,05 <sup>a</sup> ±0,67	9,61 <sup>a</sup> ±0,38	7,13 <sup>a</sup> ±0,19	0,1287
Ácido vanílico	nd	nd	nd	nd	
Ácido siríntrico	1,37 <sup>b</sup> ±0,01	nd	0,82 <sup>a</sup> ±0,06	1,35 <sup>b</sup> ±0,01	0,0010
Ácido elágico	4,24 ±0,29	nd	nd	nd	
5-Hidroximetilfurfural	nd	nd	0,35 <sup>a</sup> ±0,00	0,69 <sup>b</sup> ±0,02	0,0011
5-Metilfurfural	nd	nd	nd	nd	
Furfural	nd	0,13 <sup>a</sup> ±0,05	1,12 <sup>b</sup> ±0,05	2,40 <sup>b</sup> ±0,02	0,0000
Aldeído protocatéquico	1,27 <sup>b</sup> ±0,10	1,15 <sup>b</sup> ±0,04	0,19 <sup>a</sup> ±0,03	0,11 <sup>a</sup> ±0,01	0,0000
Vanilina	nd	nd	0,41 <sup>a</sup> ±0,12	0,68 <sup>b</sup> ±0,03	0,0937
Siringaldeído	nd	nd	nd	nd	
Coniferaldeído	nd	nd	5,77 <sup>a</sup> ±0,13	10,23 <sup>b</sup> ±0,21	0,0015
Sinapaldeído	nd	1,17 <sup>a</sup> ±0,06	5,22 <sup>b</sup> ±0,11	10,88 <sup>c</sup> ±0,27	0,0000
<b>Total</b>	<b>20,85</b>	<b>8,50</b>	<b>23,49</b>	<b>33,47</b>	

Letras diferentes numa linha denotam uma diferença significativa com nível de confiança de 95% no teste Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test. nd – não detectado

**Tabela 5** – Compostos fenólicos na solução hidroalcoólica com aparas de castanheiro.

Composto (mg L <sup>-1</sup> )	Sem tosta	Tosta ligeira	Tosta média	Tosta forte	p-value
Ácido gálico	374,49 <sup>b</sup> ±27,57	144,84 <sup>a</sup> ±27,55	143,87 <sup>a</sup> ±11,10	118,52 <sup>a</sup> ±14,23	0,0008
Ácido vanílico	nd	1,78 <sup>a</sup> ±0,05	3,70 <sup>b</sup> ±0,37	6,59 <sup>c</sup> ±0,16	0,0006
Ácido siríntrico	0,46 <sup>a</sup> ±0,01	2,87 <sup>b</sup> ±0,01	6,06 <sup>c</sup> ±0,22	14,69 <sup>d</sup> ±0,18	0,0000
Ácido elágico	10,02 <sup>a</sup> ±0,37	15,14 <sup>ab</sup> ±0,35	17,75 <sup>bc</sup> ±2,35	21,62 <sup>c</sup> ±0,92	0,0037
5-Hidroximetilfurfural	nd	nd	nd	nd	
5-Metilfurfural	0,51 <sup>a</sup> ±0,00	0,90 <sup>bc</sup> ±0,00	0,82 <sup>b</sup> ±0,02	0,99 <sup>c</sup> ±0,05	0,0003
Furfural	nd	15,32 <sup>ab</sup> ±0,06	13,55 <sup>a</sup> ±0,69	16,29 <sup>b</sup> ±0,48	0,0243
Aldeído protocatéquico	nd	nd	nd	nd	
Vanilina	0,54 <sup>a</sup> ±0,03	6,07 <sup>b</sup> ±0,15	9,63 <sup>c</sup> ±0,38	14,65 <sup>d</sup> ±0,20	0,0000
Siringaldeído	nd	10,96 <sup>a</sup> ±0,37	19,05 <sup>b</sup> ±1,02	37,14 <sup>c</sup> ±1,59	0,0004
Coniferaldeído	nd	7,76 <sup>a</sup> ±0,17	9,52 <sup>b</sup> ±0,10	10,36 <sup>c</sup> ±0,22	0,014
Sinapaldeído	nd	15,63 <sup>a</sup> ±0,62	22,98 <sup>b</sup> ±0,09	35,35 <sup>c</sup> ±0,44	0,0000
<b>Total</b>	<b>386,02</b>	<b>221,27</b>	<b>246,93</b>	<b>276,20</b>	

Letras diferentes numa linha denotam uma diferença significativa com nível de confiança de 95% no teste Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test. nd – não detectado

**Tabela 6** – Compostos fenólicos na solução hidroalcoólica com aparas de cerejeira.

Composto (mg L <sup>-1</sup> )	Sem tosta	Tosta ligeira	Tosta média	Tosta forte	p-value
Ácido gálico	nd	nd	nd	nd	
Ácido vanílico	0,65 <sup>a</sup> ±0,06	1,29 <sup>b</sup> ±0,04	1,86 <sup>c</sup> ±0,07	3,37 <sup>d</sup> ±0,17	0,0000
Ácido siríngico	1,01 <sup>a</sup> ±0,09	1,80 <sup>ab</sup> ±0,06	3,05 <sup>b</sup> ±0,08	9,35 <sup>c</sup> ±0,69	0,0000
Ácido elágico	5,95 <sup>a</sup> ±0,06	4,27 <sup>b</sup> ±0,10	nd	nd	0,0026
5-Hidroximetilfurfural	nd	3,46 <sup>a</sup> ±0,38	4,45 <sup>b</sup> ±0,09	5,22 <sup>b</sup> ±0,06	0,0105
5-Metilfurfural	nd	0,59 <sup>a</sup> ±0,06	0,72 <sup>ab</sup> ±0,08	0,95 <sup>b</sup> ±0,10	0,0484
Furfural	nd	1,84 <sup>a</sup> ±0,03	2,28 <sup>a</sup> ±0,21	3,91 <sup>b</sup> ±0,62	0,0235
Aldeído protocatéquico	nd	5,29 <sup>a</sup> ±0,31	7,90 <sup>b</sup> ±0,62	12,03 <sup>c</sup> ±0,50	0,0000
Vanilina	nd	2,72 <sup>a</sup> ±0,13	3,10 <sup>a</sup> ±0,04	5,65 <sup>b</sup> ±0,09	0,0001
Siringaldeído	nd	1,85 <sup>a</sup> ±0,02	4,57 <sup>b</sup> ±0,25	22,08 <sup>c</sup> ±0,98	0,0000
Coniferaldeído	nd	1,98 <sup>a</sup> ±0,28	3,71 <sup>b</sup> ±0,15	5,52 <sup>c</sup> ±0,07	0,0007
Sinapaldeído	nd	7,47 <sup>a</sup> ±0,11	11,48 <sup>b</sup> ±0,14	29,75 <sup>c</sup> ±0,02	0,0000
<b>Total</b>	<b>7,61</b>	<b>32,56</b>	<b>43,12</b>	<b>97,83</b>	

Letras diferentes numa linha denotam uma diferença significativa com nível de confiança de 95% no teste Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test. nd – não detectado

**Tabela 7** – Compostos fenólicos na solução hidroalcoólica com aparas de carvalho.

Composto (mg L <sup>-1</sup> )	Sem tosta	Tosta ligeira	Tosta média	Tosta forte	p-value
Ácido gálico	180,80 <sup>c</sup> ±3,21	86,60 <sup>b</sup> ±2,68	70,75 <sup>ab</sup> ±6,41	57,58 <sup>a</sup> ±2,69	0,0000
Ácido vanílico	1,92 <sup>a</sup> ±0,00	1,83 <sup>a</sup> ±0,05	2,34 <sup>a</sup> ±0,20	4,51 <sup>b</sup> ±0,45	0,0012
Ácido siríngico	1,23 <sup>a</sup> ±0,14	1,60 <sup>a</sup> ±0,14	3,78 <sup>b</sup> ±0,23	8,25 <sup>c</sup> ±0,20	0,0000
Ácido elágico	16,02 <sup>a</sup> ±0,89	35,64 <sup>b</sup> ±0,57	32,68 <sup>b</sup> ±1,70	36,12 <sup>b</sup> ±0,31	0,0001
5-Hidroximetilfurfural	0,58 <sup>a</sup> ±0,00	5,96 <sup>b</sup> ±0,09	10,26 <sup>c</sup> ±0,59	7,78 <sup>d</sup> ±0,21	0,0000
5-Metilfurfural	nd	1,05 <sup>a</sup> ±0,02	1,91 <sup>b</sup> ±0,00	2,31 <sup>b</sup> ±0,17	0,0023
Furfural	0,39 <sup>a</sup> ±0,05	9,04 <sup>b</sup> ±1,27	18,78 <sup>c</sup> ±0,23	23,85 <sup>d</sup> ±1,10	0,0000
Aldeído protocatéquico	nd	nd	nd	nd	
Vanilina	nd	0,92 <sup>a</sup> ±0,00	3,30 <sup>b</sup> ±0,40	6,15 <sup>c</sup> ±0,17	0,0005
Siringaldeído	nd	0,89 <sup>a</sup> ±0,27	4,62 <sup>b</sup> ±0,57	11,94 <sup>c</sup> ±0,69	0,0006
Coniferaldeído	nd	0,92 <sup>a</sup> ±0,05	8,35 <sup>b</sup> ±0,15	12,71 <sup>c</sup> ±0,18	0,0000
Sinapaldeído	nd	2,41 <sup>a</sup> ±0,03	12,46 <sup>b</sup> ±0,51	26,86 <sup>c</sup> ±0,04	0,0000
<b>Total</b>	<b>200,94</b>	<b>146,86</b>	<b>169,23</b>	<b>198,06</b>	

Letras diferentes numa linha denotam uma diferença significativa com nível de confiança de 95% no teste Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test. nd – não detectado

Durante a queima da madeira, ocorre a despolimerização da lenhina que leva à formação de aldeídos fenólicos, sendo os alcoóis originados durante este processo despolimerizados e termo-oxidados nos correspondentes aldeídos (Sefton *et al.*, 1993; Canas *et al.*, 1999; Chatonnet *et al.*, 1999; Spillman *et al.*, 2004; Sarni *et al.*, 1990; Cadahía *et al.*, 2003). De um modo geral, os aldeídos fenólicos, aumentaram significativamente com a tosta, nos quatro tipos de madeira analisados. Uma vez conhecida a origem deste tipo de compostos, já seria de esperar uma variação com o nível de tosta, o que acabou por se confirmar através dos resultados deste ensaio.

Como já foi referido anteriormente, os vários níveis de tosta são diferentes entre tanoarias, o que significa que madeiras com um determinado nível de tosta provenientes de uma dada tanoaria podem não ser iguais a outras madeiras, com o mesmo nível de tosta, mas de outra tanoaria. A intensidade de tosta a aplicar é um ponto chave no processo de preparação das madeiras e a sua abordagem é um pouco problemática. Pode ocorrer que níveis de tosta elevados provoquem a degradação deste tipo de compostos, devido ao efeito pirolítico (Pérez-Coello *et al.*, 1997), levando por vezes à formação de outros compostos, como ácidos (benzóicos e cinâmicos). Neste ensaio não se verificou a existência deste tipo de fenómenos, o que poderá ser devido aos níveis de tosta não muito elevados aplicados às madeiras em estudo. Nos ensaios realizados não foram identificados qualquer tipo de aldeídos fenólicos nas madeiras não sujeitas a tosta, sendo a única excepção o castanheiro, no qual foi detectada a presença de vanilina na amostra não tostada.

Os aldeídos fenólicos podem ser classificados em benzóicos, com estruturas em C<sub>7</sub> (vanilina e siringaldeído) e em cinâmicos, com estruturas em C<sub>9</sub> (coniferaldeído e sinapaldeído) (Canas e Caldeira, 2009). Em relação à vanilina, a madeira de castanheiro foi a que apresentou teores mais elevados, seguindo-se o carvalho e a cerejeira, que apresentam teores bastante similares em relação a este composto. Por outro lado, na madeira de acácia apenas foi detectada vanilina nas tostas média e forte, embora com teores relativamente baixos. Por sua vez, o siringaldeído também evidenciou teores mais elevados na madeira de castanheiro, mostrando as madeiras de cerejeira e carvalho teores relativamente próximos, com excepção na tosta forte, onde a cerejeira apresentou um teor relativamente maior. Na madeira de acácia não foi detectada a presença deste composto.



No que diz respeito aos aldeídos cinâmicos, o coniferaldeído também mostrou teores mais altos na madeira de castanheiro, surgindo em seguida as madeiras de carvalho, acácia e cerejeira, com teores respectivamente mais reduzidos. Por outro lado, a madeira de castanheiro também é a mais rica em relação ao sinapaldeído, seguindo-se as madeiras de cerejeira e de carvalho, que apresentam resultados praticamente idênticos, distinguindo-se apenas nas amostras sem tosta onde a cerejeira apresenta de facto um teor mais alto. Neste seguimento surge a acácia como sendo a espécie botânica mais pobre em relação a este composto.

Dos vários aldeídos fenólicos identificados e quantificados neste estudo, o sinapaldeído é sem dúvida aquele que mostrou teores mais elevados, variando em função da espécie botânica e aumentando significativamente com a intensidade da tosta, para além disso encontra-se presente em todas as madeiras estudadas.

De um modo geral, os resultados demonstram diferenças no teor em aldeídos fenólicos em relação ao nível de tosta e à espécie botânica.

Os aldeídos furânicos são compostos heterocíclicos, que contêm um anel furânico (Campos, 1987). Existem em muito baixa concentração na madeira não queimada (Boindron *et al.*, 1988; Chatonnet *et al.*, 1989; Marco *et al.*, 1994), sendo produzidos em quantidades apreciáveis durante o tratamento térmico (Barbe *et al.*, 1998), como resultado da degradação térmica dos poliósidos da madeira (Chatonnet *et al.*, 1999; Cadahía *et al.*, 2003).

Em relação a este tipo de compostos, a madeira de acácia é sem dúvida a mais pobre, não tendo mesmo sido detectado a presença do 5-metilfurfural nas soluções hidroalcoólicas analisadas. Relativamente ao furfural, é possível observar um aumento significativo com a tosta na madeira de carvalho, apresentando também os teores mais elevados. Nas madeiras das restantes espécies não é tão evidente o aumento deste composto com a queima, surgindo nas madeiras de cerejeira e acácia com teores relativamente baixos.

Nas soluções hidroalcoólicas obtidas a partir da madeira de carvalho o 5HMF apresenta um aumento significativo até à tosta média, diminuindo na tosta forte. Este decréscimo de concentração pode ser devido ao efeito pirolítico provocado pelo

aumento da tosta, que leva à degradação de alguns constituintes (Pérez-Coello *et al.*, 1997). No caso da cerejeira, este composto não se encontra presente na madeira não tostada, e não é possível definir um comportamento em função do nível de tosta, ao passo que na acácia, surge em concentrações muito pequenas, apenas nas tosta média e forte. No castanheiro não foi possível detectar a presença deste composto nas amostras analisadas.

Em relação ao 5-metilfurfural, este não se encontra presente nas soluções hidroalcoólicas com madeira de acácia. Embora nas restantes madeiras não seja possível definir um comportamento em relação à intensidade da tosta, os teores mais elevados surgem na madeira de carvalho.

O 5HMF resulta da degradação da celulose durante a tosta da madeira. No entanto, as hemiceluloses são preferencialmente degradadas durante este processo, originando furfural, que usualmente é o derivado furânico mais abundante em madeiras tostadas (Biermann *et al.*, 1987). Neste caso, o furfural é de facto o derivado furânico presente em maior concentração nas soluções analisadas, sendo a madeira de cerejeira a única excepção, na qual o 5HMF é o derivado furânico que apresenta os teores mais elevados.

A formação do ácido e aldeído protocatéquicos durante o processo de tosta pode ser explicada pela degradação da quercetina através do calor, a qual produz o ácido como o produto da reacção de clivagem, podendo, a posterior redução da temperatura resultar na produção do aldeído (Buchner *et al.*, 2006). Neste caso, apenas o aldeído protocatequico foi detectado nas soluções hidroalcoólicas sujeitas a análise, não se tendo verificado a presença de ácido protocatéquico. Este aldeído não foi encontrado nas madeiras de castanheiro e carvalho, estando apenas presente nas restantes duas madeiras. No caso da cerejeira, este composto aumentou significativamente com a tosta, não estando presente na amostra sem tosta e apresentando o teor mais elevado na amostra submetida a tosta forte. Estes resultados estão de acordo com Sanz *et al.*, (2010). Por sua vez, na acácia, embora os teores apresentados sejam relativamente baixos, verifica-se uma tendência contrária, ou seja, diminui à medida que a intensidade da tosta aumenta.

Em relação aos ácidos fenólicos, a madeira contém ácidos benzóicos, com estruturas em C<sub>7</sub> (ácidos vanílico, sirínico e gálico), e ácidos cinâmicos, com estruturas em C<sub>9</sub> (ácidos ferúlico, cafeíco e p-cumárico), que podem encontrar-se na forma livre e, sobretudo, esterificados com a glucose (Pearl *et al.*, 1957; Ribéreau-Gayon, 1968; Monties, 1987; Seikel *et al.*, 1971).

O ácido gálico resulta possivelmente da hidrólise dos galotaninos e do ácido digálico durante a tosta da madeira (Vivas *et al.*, 1996). Neste estudo, foi detectada a presença deste composto na madeira de acácia, embora os teores não tenham apresentado qualquer tipo de variação em função da tosta. Por outro lado, nas madeiras de castanheiro e carvalho verifica-se uma diminuição da concentração à medida que a intensidade da tosta aumenta, facto também reportado por Matricardi e Waterhouse (1999) e Giménez Martínez *et al.*, (2001) para o caso da madeira de carvalho, o que indica que o ácido gálico sofre degradação com o aumento da intensidade da tosta. Na outra madeira estudada, a de cerejeira, não foi detectada a presença deste composto.

O ácido vanílico é produzido pela oxidação da vanilina e de unidades guaiacilpropano, enquanto que o ácido sirínico é principalmente originado pela oxidação do siringaldeído durante o processo de queima (Sarni *et al.*, 1990). Embora não tenha sido detectada a presença do ácido vanílico na solução hidroalcoólica com madeira de acácia, nas restantes três madeiras estudadas observa-se um aumento da sua concentração com o aumento da intensidade da tosta, de acordo com o verificado por outros autores para o carvalho (Matricardi e Waterhouse, 1999) e para o castanheiro (Canas *et al.*, 1999). Nos casos da cerejeira e do castanheiro este aumento é significativo para cada nível de tosta, sendo conseqüentemente a amostra com tosta forte a que evidencia os teores mais elevados. Em relação ao ácido sirínico, os resultados não mostram qualquer tipo de variação com a tosta na madeira da acácia, não tendo inclusivamente sido detectado na amostra com tosta ligeira. Por sua vez, nas soluções com madeiras de carvalho, cerejeira e castanheiro verifica-se um aumento significativo no teor deste composto em função do nível de tosta aplicado. Canas *et al.*, (1999) também verificaram um aumento do ácido sirínico em madeiras de castanheiro e carvalho. Os teores mais elevados são obtidos com a madeira de castanheiro, resultado também encontrado por Canas *et al.*, (2011).

O ácido elágico deriva da degradação de elagitaninos pelo processo de queima e a sua acumulação pode ser também uma consequência do seu ponto de fusão elevado (> 450° C) (Rabier e Moutounet, 1990). Neste estudo, o comportamento do ácido elágico em relação à intensidade da tosta foi muito diferente de madeira para madeira. Nas madeiras de acácia e cerejeira verifica-se uma degradação deste composto com a tosta, estando apenas presente na amostra sem tosta, no caso da acácia, e nas amostras sem tosta e com tosta ligeira, no caso da cerejeira, tendo mesmo assim diminuído. Por outro lado, nas soluções com madeiras de carvalho e castanheiro verificou-se o oposto, ou seja, um aumento da concentração em função da intensidade da tosta, de acordo com os resultados obtidos por Matricardi e Waterhouse (1999).

Nos ensaios levados a cabo por Van Jaarsveld *et al.*, (2009) foi estudado o efeito da tosta, em madeiras de carvalho, no envelhecimento de brandy. Os resultados alcançados por estes autores comprovam os resultados obtidos neste ensaio, verificando-se em ambas as situações um aumento do teor em ácido vanílico, ácido siríngico e ácido elágico, e uma redução no teor em ácido gálico.

Num contexto geral, é possível distinguir as diferentes madeiras através do teor total de compostos fenólicos quantificados. Tendo como base este parâmetro de análise verifica-se que o castanheiro é a espécie botânica mais rica, seguindo-se o carvalho, a cerejeira e, por último, a acácia. Analisando este parâmetro em relação à intensidade de tosta, observa-se que na madeira de cerejeira o teor total em compostos fenólicos aumentou com a tosta. Por outro lado, nas restantes madeiras verifica-se apenas um aumento deste teor a partir da tosta ligeira, uma vez que a amostra sem tosta apresenta teores muito elevados, devido à elevada concentração de ácido gálico nas soluções hidroalcoólicas analisadas.

## 5 - Conclusão

Este ensaio pretende contribuir para o estudo de diferentes espécies de madeiras, sujeitas a diferentes níveis de tosta, para o seu uso no envelhecimento de vinhos. Para tal, promoveu-se a extração de compostos fenólicos das aparas em estudo para soluções hidroalcoólicas, simulando vinho. Como é do conhecimento geral, o processo de maturação de vinhos passa pela utilização quase exclusiva de madeiras de carvalho, sobretudo francês e americano. Este estudo centrou-se no carvalho e no castanheiro nacionais, na acácia e na cerejeira.

Os resultados mostram que a madeira de castanheiro estudada tem grande aptidão para fins enológicos, apresentando os teores mais elevados em praticamente todos os compostos fenólicos quantificados. Juntando a isso, o facto de apresentar uma porosidade superior à madeira de carvalho (Citron, 2005), é fácil perceber que se trata de uma madeira com bastante interesse. Para além disso, é relativamente fácil de encontrar no espaço mediterrânico e possui um preço mais baixo, quando comparada com a madeira de carvalho.

Por outro lado, em relação aos compostos fenólicos estudados, a madeira de acácia foi a que menor teor de compostos fenólicos transferiu para a solução hidroalcoólica, não tendo mesmo sido detectado a presença de alguns deles. No entanto, os valores das leituras da absorvância a 280 nm, são muito idênticos aos obtidos para as madeiras de carvalho e castanheiro, o que pode levantar algumas dúvidas acerca da aptidão desta madeira, que necessita de estudos mais aprofundados.

Apesar de não ter mostrado ser uma madeira rica em termos fenólicos, a madeira de cerejeira parece ser equilibrada do ponto de vista químico. O inconveniente de apresentar elevada porosidade e permeabilidade ao oxigénio (Citron, 2005) pode, em certa medida, ser ultrapassado pela utilização de aparas, ou outras formas de alternativos. Não sendo uma madeira de qualidade extra poderá ser utilizada em consociação com outras madeiras, por forma a complementar o perfil sensorial dos vinhos envelhecidos.

Em relação à madeira de carvalho, as amostras analisadas eram de origem nacional, não se tratando de madeiras francesas ou americanas, já bastante estudadas e

analisadas do ponto de vista químico. Embora os teores encontrados sejam inferiores, quando comparado com o castanheiro, a madeira de carvalho analisada apresentou teores elevados para os vários compostos fenólicos identificados.

O efeito da intensidade da tosta foi outro parâmetro analisado neste estudo, e verifica-se que de facto, a tosta provoca alterações significativas na composição química das madeiras, provocando a degradação de alguns constituintes e o aparecimento ou aumento do teor de outros. De facto verificou-se um aumento no teor dos vários compostos analisados, com excepção do ácido gálico.

No domínio das madeiras, existem uma série de variáveis com influência directa na composição das mesmas, cabendo portanto ao enólogo, pensar ou escolher a combinação em termos de espécie, nível de tosta e secagem, entre outros, que melhor enalteça a qualidade do produto final, o vinho.

## 6 - Bibliografia

- Alañón M. E., Rubio H., Díaz-Maroto M. C., Pérez-Coello M. S. (2009). Monosaccharide anhydrides, new markers of toasted oak wood used for ageing wines and distillates. *Food Chemistry*, **119**, 505–512.
- Andrade I., Guilherme R. (2006). A vinha e o vinho em Portugal. Viticultura geral. Editorial verbo, S.A..
- Artajona J. S. (1991). Caracterización del roble según origen y grado de tostado, mediante la utilización de GC y HPLC, *Viticultura Y Enología*, **14**, 60-72.
- Barbe J. C., Ferreira A. C. S., Bertrand A. (1998). Dosage de dérivés furaniques et pyraniques issus du bois de chêne. *J. Sci. Tech. Tonnellerie*, **4**, 99-105.
- Belchior A. P. (1999). Madeiras portuguesas no envelhecimento de aguardentes e vinhos, *Revista de Vinhos*, **118**, 74-82.
- Benavent J. L. A., Cano M. I. A. (2003). Tecnología enológica. Editorial Sintesis. Manuales científico-técnicos. Espanha.
- Biermann C. J., McGinnis G. D., Schultz T. P. (1987). Scanning Electron Microscopy of Mixed Hardwoods Subjected to Various Pretreatment Processes. *American Chemical Society*, Vol. 35, pp. 713-716.
- Boindron J. N., Chatonnet P., Pons M. (1988). Influence du bois sur certaines substances odorantes des vins. *Conn. Vigne Vin*, **22**, 275-294.
- Buchner N., Krumbein A., Rohn S., Kroh L. (2006). H. Effect of thermal processing on the flavonols rutin and quercetin. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **20**, 3229–3235.
- Cadahía E., Fernández de Simón B., Jalocha J. (2003). Volatile compounds in Spanish, French, and American oak woods alter natural seasoning and toasting. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, **51**, 5923–5932.
- Campos L. S. (1987). Guia dos compostos orgânicos e bioquímicos. Coleção Universidades. 507 pp. Europress, Editores e Distribuidores de Publicações, Lda., Odivelas.
- Canas S., Belchior A. P., Spranger M. I., Bruno-de-Sousa R. (2011). HPLC method for the quantification of phenolic acids, phenolic aldehydes, coumarins and furanic derivatives in different kinds of toasted wood used for the ageing of brandies. *Anal. Methods*, **3**, 186–191.
- Canas S., Caldeira I. (2009). O envelhecimento de aguardentes vónicas. A madeira. Instituto nacional de recursos biológicos. I.P., L-INIA/Dois Portos.
- Canas S., Leandro M. C., Spranger M. I., Belchior A.P. (1999). Low molecular weight organic compounds of chestnut wood (*Castanea sativa* L.) and corresponding aged brandies. *J. Agric. Food Chem.* **47**, 5023-5030.
- Carrapiço F. (2001). A estratégia evolutiva de ocupação do meio aéreo e o aparecimento de novas vias bioquímicas. Departamento de Biologia Vegetal. Secção de Biologia Celular e Biotecnologia Vegetal.
- Carvalho A. (1997). Madeiras Portuguesas. Estrutura anatómica. Propriedades. Utilizações. Vol II, 415 pp. Instituto Florestal, Lisboa.
- Chatonnet, P. (1995). Influence des procédés de tonnellerie et des conditions d'élevage sur la composition et la qualité des vins élevés en fûts de chêne. 268 pp. *Thèse doctorat de l'Université de Bordeaux II*. Institut d'oenologie.

- Chatonnet P., Boidron J. N., Dubourdiou D., Pons M. (1994). Evolution of oakwood volatile compounds during seasoning. First results, *J. Int. Sci. Vigne Vin.*, **28** 359–380.
- Chatonnet P., Boidron J. N., Pons, M. (1989). Incidence du traitement thermique du bois de chêne sur sa composition chimique. 2e partie: Évolution de certains composés en fonction de l'intensité de brûlage. Définition des paramètres thermiques de la chauffe des fûts en tonnellerie. *Conn. Vigne Vin.*, **23**, 223-250.
- Chatonnet P., Cutzach I., Pons M., Dubourdiou, D. (1999). Monitoring toasting intensity of barrels by chromatographic analysis of volatile compounds from toasted oak wood. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **47**, 4310–4318.
- Chatonnet P., Ricardo-Da-Silva J. M., Dubourdiou D. (1997). Influence de l'utilisation de barriques en chêne sessile européen (*Quercus petraea*) ou en chêne blanc américain (*Quercus alba*) sur la composition et la qualité des vins rouges. *R. F. Oenol.*, **165**, 44-48.
- Citron G. (2005). Uso del legno in enologia: specie botaniche utilizzate, anatomia e classificazione. *L'Informatore Agrario*. Vol. 59(50), pp. 69–72.
- Clifford M. N. (1997). Astringency: Phytochemistry of fruits and vegetables: proceedings of the Phytochemical Society of Europe. T.-B. F.A., and R. J. Robins. Oxford, Clarendon Press: 87-107.
- De Rosso M., Cancian D., Panighel A., Vedova A. D., Flamini R. (2008). Chemical compounds released from five different woods used to make barrels for aging wines and spirits: volatiles compounds and polyphenols. *Wood Sci. Technol.*, **43**, 375–385.
- De Rosso M., Panighel A., Vedova A. D., Stella L., Flamini R. (2009). Changes in chemical composition of a red wine aged in acacia, cherry, chestnut, mulberry, and oak wood barrels. *J. Agric. Food Chem.*, **57**, 1915-1920.
- De Simón B.F., Cadahía E., Del Alamo M., Nevares I. (2010). Effect of size, seasoning and toasting in the volatile composition in toasted oak wood and in a red wine treated with them. *Anal. Chim. Acta*, **660**, 211–220.
- De Simón B. F., Esteruelas E., Muñoz A. M., Cadahía E., Sanz M. (2009). Volatile compounds in acacia, chestnut, cherry, ash, and oak woods, with a view to their use in cooperage. *J. Agric. Food Chem.*, **57**, 3217-3227.
- Fengel D., Wegner G. (1989). *Wood. Chemistry, Ultrastructure, Reactions*. 612 pp. Walter de Gruyter (Ed.), Berlin.
- Fernandes A. L. M. P. (2007). Impacto da rolha de cortiça na composição polifenólica de vinhos tintos engarrafados. Tese de mestrado. Faculdade de Ciências da Universidade do Porto. Departamento de Química.
- Giménez Martínez R., De La Serrana H. L. G., Villalón M., Alarcón M. N., Herrera M. O., Vique C. C., Martínez M. C. L. (2001). Study of vanillin, syringaldehyde and gallic acid content in oak wood and wine spirits mixtures: Influence of heat treatment and chip size. *J. Wine Res.* **12**, 175-182.
- Haluk J. P., Irmouli M., (1997). The fixed polymer constituents in cooperage oak: cellulose, hemicelluloses and lignin. *J.Sci. Tech. Tonnellerie*, Vol. 4, pp. 43-82.
- Jordão A. M. (1999). Estrutura e composição das proantocinidinas da uva. Evolução ao longo da maturação.
- Keller R. (1987). Différentes variétés de chênes et leur répartition dans le monde. *Conn. Vigne Vin*, **21**, 191-229.
- Marco J., Artajona J., Larremi M. S., Rius F. X. (1994). Relationship between geographical origin and chemical composition of wood for oak barrels. *Am. J. Enol. Vit.*, **45**, 192-200.



- Margalit Y. (2004). Concepts in wine technology. The wine appreciation guild. USA. San Francisco.
- Martínez J., Cadahía E., Fernández de Simón B., Ojeda S., Rubio P. (2008). Effect of seasoning method on the chemical composition of oak heartwood to cooperage, *J. Agric. Food Chem.* **56** 3089–3096.
- Masson G., Puech J. L., Moutounet M. (1996). Composition chimique du bois de chêne de tonnellerie. *Bull. OIV*, 785-786, 634-657.
- Matricardi L., Waterhouse A. L. (1999). Influence of toasting technique on color and ellagitannins of oak wood in barrel making. *American Journal of Enology and Viticulture*, **50**, 519–526.
- McGoover P. E., Fleming S. J., Katz S. H. (1996). The origins and ancient history of wine. Gordon and Breach publishers. The university of Pennsylvania museum of archaeology and anthropology. USA. Philadelphia.
- Michael N. C. (1999). Chlorogenic acids and other cinnamates - nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **79**(3), 362-372.
- Monties B. (1987). Composition chimique des bois de chêne: composés phénoliques, relations avec quelques propriétés physiques et chimiques susceptibles d'influencer la qualité des vins et des eaux-de-vie. *Conn. Vigne Vin*, **22**, 169-190.
- Mosedale J. R. (1995). Effects of oak wood on the maturation of alcoholic beverages with particular reference to whisky. *Forestry*, **68**, 203-230.
- Parodi G. (2000). A proposito di barriquis. *Vignevini*, **3**, 77-83.
- Pearl I. A., Beyer D. L., Johnson B., Wilkison S. (1957). Alkaline hydrolysis of representative hardwoods. *TAPPI*, **40**, 374-378.
- Pérez-Coello M. S., Sanz J., Cabezudo M. D. (1997). Analysis of volatile components of oak wood by solvent extraction and direct thermal desorption–gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography*. **778**, 427–434.
- Pettersen R. C., (1984). The chemistry of solid Wood. The Chemical Composition of Wood. *American Chemical Society*.
- Peynaud E. (1993). Conhecer e trabalhar o Vinho. Biblioteca agrícola litexta. Litexa Editora. Lisboa. Porto
- Puech J. L., Moutounet M. (1988). Liquid chromatographic determination of scopoletin in hydroalcoholic extract of oak wood and in matured distilled alcoholic beverages. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **71**, 512-514.
- Rabier P., Moutounet M. (1990). Evolution d'extractibles de bois de chêne dans une eau-de-vie de vin. Incidence du thermotraitement des barriques. In: *Les eaux-de-vie traditionnelles d'origine viticole*, ed. A. Bertrand, Lavoisier-Tec & Doc, Paris. France. pp 220-230.
- Ribéreau-Gayon P. (1968). Les composés phénoliques totaux des végétaux. 254 pp. Dunod, Paris.
- Sanz M., Cadahía E., Esteruelas E., Muñoz A. M., De Simón B. F., Hernández T., Estrella I. (2010). Phenolic Compounds in Cherry (*Prunus avium*) Heartwood with a View to Their Use in Cooperage. *J. Agric. Food Chem.*, **58**, 4907–4914.
- Sarni F., Moutounet M., Puech J. L., Rabier P. (1990). Effect of heat treatment of oak wood extractable compounds. *Holzforschung*, **44**, 461–466.
- Schahinger G. (1992). Oak - the worldwide situation. *Aust. Grap. Winemaker*, **343**, 19-20.

- Sefton M. A., Spillman P. J., Pocock K. F., Francis L. L., Williams P. J. (1993). The influence of oak origin, seasoning, and other industry practices on the sensory characteristics and composition of oak extracts and barrel-aged white wines. *Aust. Grapegrow.* Winemaker No. 355, July, 17-25.
- Seikel M. K., Hostettler F. D., Niemann G. J. (1971). Phenolics from *Quercus rubra* wood. *Phytochem.*, **10**, 2249-2251.
- Singleton V. L. (1995). Maturation of wines and spirits: comparisons, facts and hypotheses. *Am. J. Enol. Vit.*, **46**, 98-115.
- Singleton V. L., Rossi J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* **16**, 144–158.
- Spillman P. J., Sefton M. A., Gawel R. (2004). The effect of oak wood source, location of seasoning and cooperage on the composition of volatile compounds in oak-matured wines. *Aust. J. Grape Wine Res.* **10**, 216-226.
- Taransaud J. (1976). *Le livre de la tonnellerie. La roue à livres diffusion*, Paris.
- Togores J. H. (2003). *Tratado de enologia (2º vol). 1ª edição. S.a. Mundi-prensa libros*. Madrid.
- Van Jaarsveld F.P., Hattingh S., Minnaar P. (2009). Rapid induction of ageing character in brandy products – Part III. Influence of toasting. *S. Afr. J. Enol. Vitic.*, Vol. 30, No. 1.
- Vivas N., Amrani-Joutei K., Glories Y., Doneche B., Brechenmacher C. (1997). Development of microorganisms in oak heartwood (*Quercus petraea* Liebl.) during natural drying in open air conditions, *Ann. Sci. For.* **54** 563–571.
- Vivas N., Glories Y. (1996). Study and optimization of phenomena involved in natural seasoning of oak wood, *Rev. Fr. Oenol.* **158** 28–35.
- Vivas N., Lagune L., Glories Y. (1996). Proceedings of the XVIIIth International Conference of the Groupe Polyph\_enols, Bordeaux, pp. 253–254.
- Zoecklein B., Fugelsang C., Gump B., Nury S. (1995). Wine analysis and production. *The Chapman & Hall Enology Library*. International Thompson Publishing.

## **Cibergrafia:**

Biologia-Art (2001), acedido em 25/09/2011, no site:

<http://pt.scribd.com/doc/11603969/Biologia-Art>

MauOscar (2010), acedido em 01/10/2011, no site:

<http://mauoscar.com/2010/10/27/tanoaria-como-os-barris-de-carvalho-sao-produzidos/>

Portal da madeira (2009), acedido em 29/09/2011, no site:

[http://portaldamadeira.blogspot.com/2009\\_10\\_01\\_archive.html](http://portaldamadeira.blogspot.com/2009_10_01_archive.html)

Tacopal (2007), acedido em 03/10/2011, no site:

<http://tacopal.com/secagem.htm>