

Índice

Resumo.....	VII
Abstract.....	VIII
1. Introdução.....	1
2. Revisão bibliográfica.....	3
2.1. A madeira em enologia.....	3
2.1.1. A origem da sua utilização.....	3
2.1.2. Maturação e envelhecimento de vinhos.....	4
2.2. Estrutura e propriedades físicas da madeira.....	5
2.3. Composição química da madeira.....	7
2.3.1. Factores que influenciam a composição química das madeiras.....	11
2.3.1.1. A Queima.....	12
2.3.1.2. Espécies botânicas.....	15
2.4. Interesse da madeira em enologia.....	19
3. Material e métodos.....	21
3.1. Amostras, reagentes e padrões.....	21
3.2. Pré-preparação das amostras sólidas.....	22
3.3. Extracção dos compostos da madeira.....	22
3.4. Análise GC-MS.....	23
3.5. Identificação dos compostos voláteis.....	25
3.6. Quantificação dos compostos detectados.....	26
3.7. Análise estatística.....	26
4. Resultados e discussão.....	27
4.1. Caracterização das aparas de madeira.....	27
4.1.1. Identificação dos compostos voláteis.....	27
4.1.2. Quantificação dos compostos voláteis.....	34
4.1.2.1. Derivados dos polissacáridos.....	39
4.1.2.2. Derivados da lenhina e polifenóis.....	41
4.1.2.3. Derivados dos lípidos.....	44
4.1.2.4. Outros.....	45
5. Conclusão.....	48
6. Referências bibliográficas.....	50

Resumo

Actualmente, a legislação apenas permite utilizar a madeira de carvalho e de castanheiro, pelo que é imperativo estudar outras espécies, que foram abandonadas pela sua falta de características para a tanoaria, mas que com o aparecimento de alternativas poderão despertar algum interesse. Neste sentido, esta pesquisa visa estudar a composição volátil das madeiras de carvalho, castanheiro, cerejeira e acácia, e verificar o efeito da tosta nas mesmas.

Os compostos voláteis das madeiras foram extraídos por PLE utilizando o ASE e os extractos foram analisados por cromatografia gasosa (GC-MS). Foram detectados e quantificados 54 compostos, 45 dos quais foram identificados. Verificou-se que os extractos de castanheiro seguido dos de carvalho foram os mais ricos em compostos voláteis, e os de acácia apresentaram os menores teores destes compostos. Por ultimo, verificou-se que a tosta afecta a composição volátil das madeiras, tanto quantitativamente como qualitativamente. No geral esta aumenta os teores totais dos compostos voláteis potencialmente extraíveis.

“Volatile composition of wood chips for enological use”

Abstract

Current legislation only allows the use of oak and chestnut woods, so it is imperative to study other species, that in past were not used because of their lack of characteristics for cooperage. Nowadays, used as alternatives, the interest of these woods is becoming more relevant. Thus, this research aims to study volatile composition of oak, chestnut, cherry and acacia woods, and the effect of toasting process on these compounds.

The volatile compounds of wood were extracted by PLE using ASE and the extracts were analyzed by gas chromatography coupled with mass-spectrometry (GC-MS). We detected and quantified 54 compounds, 45 of which have been identified. It was found that the chestnut and oak extracts were the richer in volatile compounds, and the acacia had the lowest levels of these compounds. Finally, it was verified that the toasting level affect the volatile composition of woods, both quantitatively and qualitatively. In general, increasing toasting level led to an increase of total volatile compounds potentially extractable.

1. Introdução

Na Bíblia menciona-se pela primeira vez a videira: “Noé que era agricultor, começou a lavrar a terra e plantou a primeira vinha. Tendo bebido do seu vinho, embriagou-se”. As alusões que a ele se fazem, tanto no Antigo como no Novo Testamento, são numerosas (Génes (Gn 9)).

O vinho acompanhou o Homem na sua caminhada. Perde-se nos tempos a origem desta bebida tão apreciada na nossa época. A sua produção é mesmo anterior à própria escrita. Ninguém sabe exactamente como é que surgiu. No entanto existem vestígios arqueológicos de sementes de uva, de variedades usadas para a vinificação, que datam do período de transição entre a passagem de uma cultura nómada para uma cultura sedentária (Dominé, 2006).

Há pelo menos 2000 anos (Jackson, 2000 citado por Kozlovic *et al.*, 2010) que as vasilhas de madeira são usadas para o transporte e conservação de vinhos (Jordão *et al.*, 2006). Existem alusões 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 actividade de fabrico de vasilhas. Pensa-se que as técnicas de tanoaria foram introduzidas na Península Ibérica pelos celtas no século VI a.c. (Canas e Caldeira, 2009).

No domínio da vitivinicultura, cedo se reconheceu a influência da madeira na qualidade dos vinhos (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1976; Monties, 1987; Dubois, 1989; Moutounet *et al.*, 1999), e este aspecto foi decisivo para a reconquista da importância e para a evolução da actividade de tanoaria no fabrico de vasilhas destinadas inicialmente ao transporte, e mais tarde à conservação e ao envelhecimento de vinhos (Togores, 2003).

Com o passar do tempo, e paralelamente a todo o desenvolvimento e progresso da nossa cultura, o aparecimento e aperfeiçoamento de novas tecnologias enológicas, fez com que a qualidade final do produto fosse cada vez mais enaltecida pelos consumidores. É notável o crescente interesse pelo uso de madeiras, quer na sua utilização em tonéis de fermentação e envelhecimento, quer na forma de alternativos como as aparas, aduelas e dominós.

No que respeita ao envelhecimento de vinhos, os trabalhos realizados nas últimas décadas têm confirmado o papel determinante da madeira utilizada nas características sensoriais das bebidas envelhecidas (Jaarsveld *et al.*, 2008 a e b). Os mesmos estudos têm evidenciado, para além da enorme variabilidade anatómico-estrutural e química das madeiras, uma importante influência de outros factores tais como a espécie botânica e a origem geográfica, assim como das operações de tanoaria (secagem e tratamentos térmicos) nas características físico-químicas da madeira, o que tem revelado importantes repercussões na qualidade das bebidas alcoólicas envelhecidas (Natali *et al.*, 2006).

A investigação científica tem sido centrada, fundamentalmente, nas espécies de carvalho provenientes de França (*Q. robur* e *Q. sessiliflora*) e dos Estados-Unidos (*Q. alba*), existindo um menor conhecimento relativo às madeiras de outras proveniências ou a madeiras de outras espécies. Embora existam indicações antigas sobre a utilização de outras madeiras, como é o caso da acácia, da cerejeira e do castanheiro, os estudos sobre estas têm sido bastante limitados ou mesmo inexistentes. Contudo, ultimamente têm surgido alguns estudos que procuram avaliar a composição e propriedades enológicas das madeiras de castanheiro, tendo mesmo alguns ensaios mostrado que esta pode ser uma boa alternativa às madeiras de carvalho (Belchior *et al.*, 2001; Caldeira *et al.*, 2005; Caldeira *et al.*, 2006; Flamini *et al.*, 2007; De Rosso *et al.*, 2008; De Rosso *et al.*, 2009; De Simóm *et al.*, 2009b).

Actualmente, a utilização de fragmentos de madeira de carvalho e de castanheiro na elaboração de vinhos foi regulamentada em 2005 pela Organisation Internationale de la Vinge et du Vin (OIV) através da Resolution Oeno 3/2005, a qual foi posteriormente transposta para a regulamentação comunitária pelo regulamento (CE) nº1507/2006. Assim, torna-se imperativo, estudar outras espécies botânicas que apenas foram abandonadas pela sua falta de características adequadas para a tanoaria, mas que na forma de alternativos poderão vir a tornar-se importantes no envelhecimento de vinhos uma vez que possibilitariam a obtenção de vinhos com características diferenciadas.

Assim, o objectivo principal deste trabalho é a determinação da composição volátil de diversas espécies botânicas, tais como o Carvalho Nacional, a Cerejeira, a Acácia e o Castanheiro Nacional, sob a forma de aparas sujeitas a um grau de tosta médio e sem tosta, com o intuito de avaliar o seu potencial interesse para fins

enológicos. É de salientar que, embora a madeira de carvalho tenha sido extensivamente estudada, este trabalho contemplará o estudo da sua composição volátil uma vez que se pretende efectuar neste trabalho um estudo comparativo da constituição volátil de diversas espécies botânicas.

2. Revisão Bibliográfica

2.1. A Madeira em Enologia

2.1.1. A origem da sua utilização

A origem do envelhecimento dos vinhos coincide com a necessidade do seu transporte desde as zonas de produção até aos pontos de consumo. O primeiro testemunho que corrobora este facto encontra-se no III milénio a.c., na Mesopotâmia onde não existiam vinhas, e o vinho como produto de luxo importava-se das “montanhas”, isto é da zona norte-noroeste: Síria e Arménia (Togores, 2003).

O vinho viajava das zonas de produção até ao sul em ânforas de barro cozido de aproximadamente 10 litros de capacidade sendo transportado mediante caravanas ou por via fluvial. Ao longo de toda a história houve uma notável evolução destes recipientes, contudo eram bastante frágeis, uma vez que estavam sujeitos a grandes e atribuladas viagens ao longo do seu transporte, pelo que, foram introduzidos recipientes fabricados em couro curtido e impermeabilizado com resinas de grande ductilidade e resistência ao transporte. Contudo, estas matérias conferiam ao vinho aromas e sabores desagradáveis que empobreciam as suas características organolépticas (Johnson e Piereck, 2009).

Nos países do norte, os depósitos de grande volume onde se elaboravam e armazenavam os vinhos, eram construídos em madeira, visto tratar-se de um material abundante na região e que podia ser trabalhado com relativa facilidade (McGovern *et al.*, 1996).

Após a queda do Império Romano e, passados muitos anos, surge novamente o apreço e gosto pelo vinho. O seu transporte continuou a ser feito em recipientes de madeira, sobretudo em vasilhas de carvalho, devido à disponibilidade desta espécie botânica nas regiões produtoras de vinho, aliada ao facto de apresentar uma baixa

permeabilidade, elevada dureza e resistência. Para além do carvalho eram também utilizadas madeiras de cerejeira e castanheiro no fabrico dos recipientes (Togores, 2003). Assim, inevitavelmente, durante o transporte/armazenamento os vinhos permaneciam em contacto com a madeira durante períodos de tempo relativamente longos estando sujeitos a processos de oxidação (Johnson e Piereck, 2009). Com o passar do tempo, os consumidores foram-se acostumando aos vinhos transportados nestas condições uma vez que estes adquiriam propriedades organolépticas diferenciadas.

Actualmente os vinhos que são sujeitos ao contacto mais ou menos prolongado com madeira, nas diversas técnicas enológicas, são cotados de uma qualidade superior, ao aportarem características únicas, tanto ao nível do aroma como do sabor. Hoje em dia, a madeira é quase vista como mais um “ingrediente” a adicionar durante o processo de produção do vinho. A madeira poderá, então, ter-se tornado uma “*moda*” (Belchior *et al.*, 2001), que já mudou o perfil dos vinhos e até o gosto dos consumidores.

2.1.2. Maturação e envelhecimento de vinhos

Durante o processo de envelhecimento em madeira, o vinho sofre uma série de transformações profundas que originam importantes modificações na vivacidade e intensidade da cor, na sua estrutura e adstringência, e ainda na sua composição volátil. Para além das modificações ao nível das características sensoriais, o envelhecimento confere limpidez e estabilidade ao vinho (Garde-Cerdám e Ancín-Azpilicueta, 2006).

Ao envelhecerem, os vinhos tintos sofrem primeiramente alterações na sua cor, esta perde intensidade e vivacidade, a coloração púrpura ou violácea passa progressivamente para um vermelho menos profundo, cada vez mais alaranjado, diz-se portanto que o vinho adquire cor de vermelho tijolo ou telha. Durante este processo, o bouquet intensifica-se e o gosto modifica-se, aumentando a sensação de volume e diminuindo a adstringência. O aroma do vinho novo altera-se e o bouquet torna-se mais intenso, fino e agradável (Peynaud, 1993).

O desenvolvimento do bouquet depende da presença de substâncias particularmente volátil, da diminuição do potencial redox, que se prolonga depois do desaparecimento do oxigénio. O potencial limite de oxidação-redução alcançado deriva

da natureza do vinho e da estanquicidade do recipiente de conservação, assim como da sua temperatura (Benavent e Cano, 2003).

Nos vinhos brancos, a coloração escurece, passando de amarelo pálido para tons dourados. Os aromas primários, isto é, varietais e frescos perdem-se e as características organolépticas modificam-se consideravelmente (Peynaud, 1993).

De um modo geral, as transformações globais que se produzem durante a maturação e envelhecimento do vinho podem ser decompostas num certo número de fenómenos, tais como: entrada de oxigénio pelos poros da madeira (Mosedale e Puech, 1998); modificações nos compostos polifenólicos, nomeadamente, reacções de polimerização de antocianas e taninos, degradação de antocianas, desaparecimento de taninos pouco condensados e formação de outros de elevado peso molecular; melhoria organoléptica devido a modificações do aroma por evolução dos aromas primários e secundários, e aporte de compostos voláteis e polissacáridos provenientes da madeira; possível aumento da acidez volátil pelo ácido acético existente na madeira; e ainda a estabilização do vinho por precipitação de matéria coloidal, proteínas, sais tartáricos e matéria corante entre outros (Benavent e Cano, 2003).

Durante a maturação em madeira é notório o aporte de compostos fenólicos, aromáticos e polissacáridos provenientes da madeira. A extracção destes compostos é superior quanto mais nova é a barrica (madeira) e maioritariamente durante os primeiros meses de contacto desta com o vinho. Estes compostos contribuem para a estabilidade e complexidade do aroma (Benavent e Cano, 2003; Jordão *et al.*, 2006).

2.2. Estrutura e propriedades físicas da madeira

Genericamente, a madeira é um material heterogéneo, anisótropo e higroscópico proveniente do tronco, ramos e raízes das árvores. Uma secção transversal de um tronco ou dos ramos, ilustrada na figura 1, apresenta da periferia para o interior uma série de zonas perfeitamente diferenciadas, das quais se destacam as seguintes estruturas: a casca exterior ou suber (E) que constitui a casca morta ou ritidoma e protege a madeira das condições adversas do clima, assim como das agressões mecânicas (Togores, 2003); a casca interior ou tecido vivo (D), que realiza funções condutoras da seiva elaborada desde as folhas até às restantes partes da planta, também conhecida como liber ou

floema (Citron, 2005); o lenho ou xilema (C), tecido secundário, constituinte fundamental das árvores, formado por células arquitectonicamente organizadas e harmonizadas, de modo a desempenharem as funções vitais de transporte, suporte e reserva (Citron, 2005); e ainda a medula (A), que se localiza no centro e é formada por

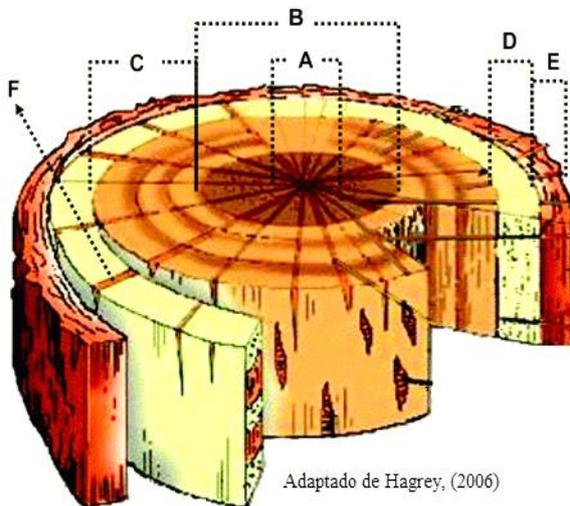


Figura 1: Secção de um tronco de Carvalho; Legenda: A- Medula; B- Cerne; C- Alburno; D- Floema(tecido vivo); E- Casca ou suber (tecido morto); F- Raios lenhosos;

tecido parenquimatoso primário, originário do primeiro ano de crescimento da árvore (Togores, 2003).

Entre as camadas E e D, encontra-se o câmbio suberoso ou felogene, que ocasiona o crescimento em espessura da madeira, produzindo a casca para o exterior e a madeira para o interior do tronco, sendo unicamente activa quando as condições climáticas são favoráveis, o

que acontece na primavera e no verão nas zonas temperadas. O câmbio libero-lenhoso ou câmbio vascular, isto é, o meristema secundário que garante o engrossamento do tronco, diferenciando xilema para o interior e floema para o exterior, localiza-se entre as camadas D e C (Togores, 2003).

Para além das estruturas acima enumeradas, existem outros elementos anatómicos numa secção de tronco, nomeadamente os anéis de crescimento situados de forma concêntrica, os raios lenhosos dispostos no sentido radial e os possíveis módulos de madeira (Togores, 2003).

O lenho é constituído por anéis de crescimento, que resultam da actividade sazonal do câmbio, e cujo número é indicador da idade da madeira. Sendo as espécies usadas em tanoaria cultivadas em zonas temperadas, em cada anel de crescimento é possível distinguir duas camadas: uma correspondente à formação de Primavera e outra à de final de Verão ou Outono (Citron, 2005). A madeira de verão é mais resistente, pelo que é menos permeável que a da primavera, sendo portanto a madeira mais pesada e menos porosa quando o ano de crescimento é longo. Contudo, a madeira também será menos aromática e com maior riqueza de extractos e polifenóis (Togores, 2003).

Nas árvores adultas, a zona mais periférica do lenho é constituída por vários anéis de crescimento, fisiologicamente activos, conduzindo a seiva bruta ascendente, e é designada por borne ou alburno (C). A partir de certa idade começa a ser possível distinguir o cerne, durame ou coração (B), localizado mais interiormente e, que corresponde, ao cilindro de xilema fisiologicamente inactivo (Citron, 2005).

A formação do durame resulta do fenómeno de duramização que se traduz num conjunto de lentas e progressivas modificações anatómicas, físicas e químicas ocorridas nas camadas mais antigas, as mais interiores, do borne (Togores, 2003).

Do ponto de vista tecnológico, as alterações associadas à duramização são de importância capital, visto que se encontram na origem das propriedades físicas e mecânicas, e ainda de características químicas directamente envolvidas na aptidão da madeira para tanoaria, nomeadamente, bom isolamento térmico, fácil fendimento, suficiente dureza e durabilidade, boa flexibilidade, porosidade ligeira e composição química adequada (Keller, 1987; Feuillat e Keller, 1997). Deste modo pode afirmar-se que o durame ou cerne é por excelência a madeira mais indicada para o uso em tanoaria.

Quanto aos aspectos estruturais, as madeiras costumam classificar-se quanto ao grão, em madeiras de grão grosseiro, médio e fino. Isto é, a madeira considera-se como tendo grão fino quanto menor for o diâmetro dos vasos, no caso das folhosas (Citron, 2005).

Face ao exposto, é necessário ter presente que existe uma grande variabilidade associada à madeira. Para além da variabilidade entre espécies diferentes, existe ainda uma grande variabilidade entre os indivíduos da mesma espécie, o que se reflecte significativamente ao nível da composição química da madeira pelo que, este aspecto, será abordado em seguida neste trabalho.

2.3. Composição química da madeira

A composição química da madeira não pode ser definida com precisão para uma determinada espécie de árvore ou, até mesmo, para uma mesma árvore. Esta varia com a parte da árvore (raiz, caule, ou ramo), tipo de madeira, localização geográfica, clima, e condições do solo (Sarni *et al.*, 1990). A compilação de vários dados analíticos obtidos,

ao longo dos anos, por diversos laboratórios que se dedicam a esta área de investigação têm permitido estabelecer valores médios para a composição química de diversos tipos de madeira.

Na figura 2 apresenta-se um esquema da composição química da madeira que é usada em tanoaria.

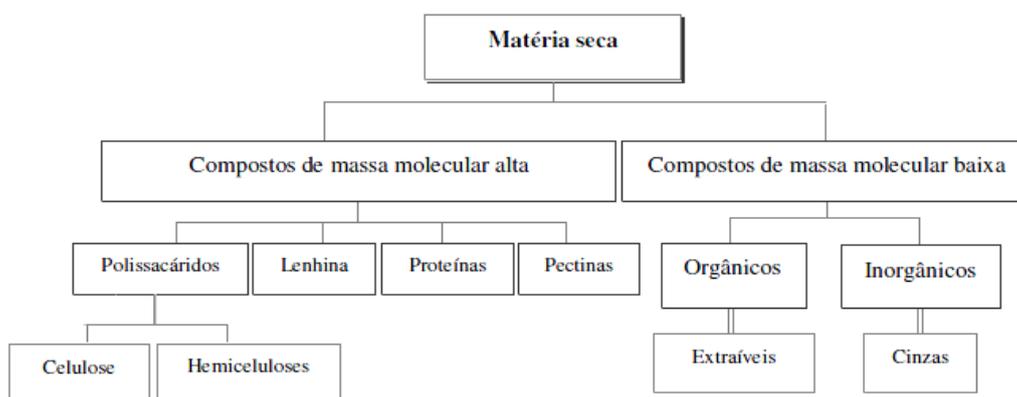


Figura 2 - Composição química da madeira, adaptado de Mosedale *et al.*, (1998).

As madeiras possuem dois principais componentes químicos: a lenhina (18-35%) e os hidratos de carbono (65-75%), ambos são materiais poliméricos complexos. Também se encontram presentes na madeira (geralmente 4-10%), pequenas quantidades de outros materiais, principalmente na forma de extraíveis orgânicos e minerais inorgânicos (cinzas) (Jaarsveld *et al.*, 2008a; Alañón *et al.*, 2010). No geral, a madeira tem uma composição elementar de cerca de 50% de carbono, 6% de hidrogénio, 44% de oxigénio, e vestígios de diversos iões metálicos (Pettersen, 1984).

Os compostos de massa molecular elevada são fundamentalmente constituídos por polissacarídeos (são hidratos de carbono que, por hidrólise, originam uma grande quantidade de monossacarídeos), tais como a celulose e as hemiceluloses, a lenhina (Jaarsveld *et al.*, 2008a) e ainda por outros polímeros quantitativamente pouco importantes, como é o caso das proteínas (Pettersen, 1984).

A celulose representa cerca de 45% do peso seco da madeira e é o principal componente da parede celular das madeiras. Em termos químicos, a celulose é um polímero homogéneo e linear, cuja unidade base é um dímero de glucose (Pettersen, 1984; Haluk e Irmouli, 1997). A celulose apresenta uma estrutura com zonas cristalinas e zonas amorfas, formando microfibras rígidas, em virtude de se formarem ligações, por

pontes de hidrogénio, dentro da mesma cadeia ou entre cadeias diferentes (Biermann, 1987). O número de unidades de açúcar existentes numa cadeia molecular é referido como o grau de polimerização, o qual pode ser muito variável (Garde-Cerdán e Ancín-Azpilicueta, 2006).

As hemiceluloses representam cerca de 20-30% da matéria seca, são misturas de polissacarídeos de composição heterogénea, e de estruturas mais ou menos ramificadas, que fazem parte da estrutura das paredes celulares da madeira (Pettersen, 1984; Haluk e Irmouli, 1997). Estes compostos são sintetizados na madeira quase que inteiramente a partir da glucose, manose, galactose, xilose, arabinose, e resíduos de ácido galacturónico (Mosedale e Puech, 1998). Geralmente, as hemiceluloses apresentam um peso molecular muito menor que a celulose, estão intimamente associadas com esta, e parecem contribuir para a componente estrutural da planta (Jaarsveld *et al.*, 2008a). Por vezes as hemiceluloses estão presentes de forma anormal, em grandes quantidades quando a planta está sob stress, por exemplo, a madeira de compressão tem um teor de galactose superior ao normal, assim como um maior teor de lenhina (Pettersen, 1984).

Os resíduos de xilose contêm frequentemente o grupo acetilo, o qual é facilmente hidrolisado, originando ácido acético, o que explica a natureza ligeiramente ácida da madeira do cerne (Fengel e Wegener, 1989). Uma percentagem mais pequena das hemiceluloses é constituída por glucomanas (Fengel e Wegener, 1989; Haluk e Irmouli, 1997).

A lenhina é uma substância fenólica constituída por uma série irregular de diversas ligações hidroxi- e metoxi- substituídos por unidades fenilpropano. O tipo de lenhinas é variável entre os vários tipos de plantas, sendo a lenhina de carvalho, tal como as de outras angiospérmicas, constituída principalmente por unidades siringilo e guaiacilo e, em menor proporção, por unidades fenilo, unidades estas derivadas dos álcoois *p*-cumarílico, coniferílico, e sinapílico, considerados os precursores da biossíntese das lenhinas nas plantas (Pettersen, 1984). Morfologicamente, trata-se de uma substância termoplástica, amorfa e isotrópica, que interpenetra as fibras de celulose. Trabalhos realizados nas duas últimas décadas (Monties, 1987; Haluk e Irmouli, 1997), apontam para a existência de diversos tipos de lenhina na madeira de carvalho, em função da solubilidade específica: lenhinas extraíveis e lenhinas insolúveis ou lenhinas de Klason (Canas e Caldeira, 2009).

Os compostos extraíveis representam cerca de 10 % da composição da matéria seca e apresentam uma grande influência nas propriedades e qualidades tecnológicas da madeira. Estes compostos podem ser derivados dos biopolímeros de massa molecular elevada ou ser depositos pela seiva, sem participar na estrutura da parede celular (Pettersen, 1984).

As três principais classes de polímeros (celulose, hemicelulose e lignina) são insolúveis e não afectam directamente o sabor transmitido aos vinhos. A sua degradação e as mudanças de composição resultantes da aplicação de calor durante os tratamentos térmicos a que a madeira é sujeita, originam a degradação destes polímeros e a formação de diferentes compostos de baixo peso molecular (Litchev, 1989; Pocock *et al.*, 1994; Conner *et al.*, 1999; Pérez-Coello *et al.*, 1999; Puech *et al.*, 1999 citados por Jaarsveld *et al.*, 2008a), que podem passar para os vinhos conferindo-lhes sabores e aromas característicos.

O extenso conjunto de compostos orgânicos da madeira integra ainda ácidos gordos, álcoois, glúcidos, compostos terpénicos, norisoprenóides, carotenóides, esteróides e lactonas (Benavent e Cano, 2003). Para além destes, os compostos fenólicos representam uma importante classe de compostos pois influenciam, de forma muito significativa, algumas das propriedades mais importantes da madeira que condicionam a sua apetência para a tanoaria, bem como as características organolépticas e físico-químicas dos produtos que contactam com a madeira. Alguns investigadores relataram que a fracção fenólica pode afectar a composição e a volatilidade de alguns compostos aromáticos (Dufour e Bayonove, 1999; Escalona *et al.*, 2002 citados por Jordão *et al.*, 2008).

De um modo geral é possível afirmar que os compostos voláteis encontrados em madeiras de carvalho por diferentes autores variam de acordo com o método de extracção, o solvente utilizado e o método analítico.

Na bibliografia encontram-se descritos, como os principais constituintes das madeiras, as seguintes classes de compostos voláteis: fenóis voláteis, tais como o guaiacol e o eugenol (Pérez-Coelho *et al.*, 1998; Cadahía *et al.*, 2003; Jordão *et al.*, 2006; Jaarsveld *et al.*, 2008a; De Rosso *et al.*, 2009; Kozlovic *et al.*, 2010); aldeídos fenólicos, nomeadamente, a vanilina e o siringaldeído (Pérez-Coelho *et al.*, 1998;

Jordão *et al.*, 2006; Jaarsveld *et al.*, 2008a; De Rosso *et al.*, 2009; Kozlovic *et al.*, 2010); wiskhy lactonas, fundamentalmente os isómeros *cis* e *trans* de β -metil- γ -octalactona (Jaarsveld *et al.*, 2008a; De Simóm *et al.*, 2009a) assim como os aldeídos furânicos (furfural e seus derivados) (Jordão *et al.*, 2006; Natali *et al.*, 2006; Jaarsveld *et al.*, 2008a; De Simóm *et al.*, 2009a).

Dos compostos acima enumerados, apenas alguns deles estão originalmente presentes na madeira em quantidades significativas, nomeadamente o eugenol (Cadahía *et al.*, 2007 citado por De Simóm *et al.*, 2009b), e alguns aldeídos fenólicos, tais como a vanilina (Pérez-Coelho *et al.*, 1998; Jordão *et al.*, 2006; Jaarsveld *et al.*, 2008a), a maioria destes compostos são intensificados durante o processamento da madeira, especialmente no processo de queima (Masson *et al.*, 1995; De Simón *et al.*, 1996; Mosedal e Puech, 1998; Doussot *et al.*, 2002; Jordão *et al.*, 2006; Jaarsveld *et al.*, 2008a).

2.3.1. Factores que influenciam a composição química das madeiras

A madeira apresenta uma composição muito variável, do ponto de vista quantitativo e qualitativo, dependendo esta da origem geográfica, da espécie botânica (variabilidade interespecífica), da árvore, da idade da madeira, clima e solo (variabilidade intraespecífica) (Garde-Cerdán *et al.*, 2006; Prida e Puech, 2006; De Rosso *et al.*, 2009; Koussissi *et al.*, 2009). O conhecimento dos factores que controlam a expressão de tal variabilidade é fundamental para os técnicos de tanoaria, enologia, entre outros, por forma, a otimizar a exploração da madeira e tornar possível a previsão dos seus efeitos no envelhecimento dos vinhos (Pérez-Coelho *et al.*, 1998; Jordão *et al.*, 2006; Natali *et al.*, 2006; Vichi *et al.*, 2007; Koussissi *et al.*, 2009).

Para além dos factores anteriormente citados, a composição da madeira é bastante volúvel, variando de acordo com as técnicas de tanoaria, particularmente pelo tipo de secagem (natural ou artificial) (Jaarsveld *et al.*, 2008c; e Sefton, Francis, Pocock, e Williams, 1993 citados por Kozlovic *et al.*, 2010) e do grau de tosta (Jaarsveld *et al.*, 2008c, e Chatonnet, Boidron, e Pons, 1989, Hale *et al.*, 1999 citados por Kozlovic *et al.*, 2010).

No caso específico da tecnologia de fabrico de barricas, após a obtenção das aduelas, estas estão fortemente hidratadas (40-60% de humidade relativa), pelo que é necessário proceder à sua secagem (Taransaud, 1976). Durante a secagem, a madeira sofre enormes variações nas características químicas, físicas e mecânicas, onde também poderão ainda intervir aspectos biológicos, tratando-se portanto de um processo complexo de maturação (Garde-Cerdán *et al.*, 2006).

O tratamento térmico, para além da simples necessidade da vergatura das aduelas, provoca alterações da estrutura e da composição química das madeiras, e por consequência da composição química dos vinhos (Pérez-Coelho *et al.*, 1998; Vichi *et al.*, 2007; Canas e Caldeira, 2009).

Estas modificações, qualitativas e quantitativas, dependem da intensidade e da duração da “queima” realizada. O tratamento térmico tradicional é constituído por um período inicial de vergatura, recorrendo-se a uma fogueira de lenha de carvalho, com humedecimentos superficiais no interior e no exterior, seguido de um segundo período, a queima, com tempo e temperatura variável em função do nível ou grau desejado (Garde-Cerdán *et al.*, 2006).

Neste trabalho, as aparas de madeira em estudo, pertencem a quatro espécies botânicas diferentes e apresentam dois níveis de tosta (não tostado e tosta média). Sendo a espécie botânica e o nível de queima, dois dos mais importantes factores que condicionam a composição química das madeiras dedicar-lhes-ei particular atenção neste trabalho.

2.3.1.1. Queima

Uma prática comum usada em tanoaria e, considerada como o passo tecnológico mais importante, é o processo de queima da madeira, como ilustrado na figura 3. No caso das aparas, a queima é efectuada em “torradores” mas o efeito da temperatura é considerado idêntico.

Em todo este procedimento, o aumento da temperatura provoca uma alteração na estrutura física, que é crucial para facilitar a criação das aduelas (Alañón *et al.*, 2010). No entanto, o aspecto mais marcante é a modificação da composição química da

madeira, originada pela degradação térmica dos polímeros que a constituem. (Kozlovic *et al.*, 2010).

Devido à alta temperatura atingida durante o processo de tosta, as ligações químicas entre os polímeros são quebradas e a hemicelulose e a lenhina, em particular, são degradadas uma vez que são menos estruturadas do que a celulose (Jordão *et al.*, 2006). A sua degradação dá origem a um grande número de novos compostos que desempenham um papel importantíssimo no desenvolvimento do aroma do vinho (Koussissi *et al.*, 2009).



Figura 3 - Processo de queima da madeira (Fonte: trefethenfamilyvineyards).

A variabilidade de temperatura durante a tosta é alta, devido à variação na intensidade do fogo e do movimento de convecção do ar. A consequência é que, apesar de as madeiras serem descritas como tendo o mesmo nível de tosta, isso não é totalmente correcto uma vez que pode haver variações consideravelmente elevadas. Consequentemente, não existe uma definição universal de níveis de tosta, quer sejam físicos ou químicos (Matricardi e Waterhouse, 1999 citados por Jaarsveld *et al.*, 2008c).

Na bibliografia não se encontram referidos valores de temperaturas e tempos de queima específicos para cada nível de tosta. Este binómio tempo-temperatura, a que as madeiras são sujeitas, é bastante variável originando, portanto, variações significativas na quantidade de compostos extraíveis das madeiras.

O grau de tosta aplicado nas madeiras afecta fortemente o corpo, sabor e aroma das bebidas envelhecidas. Concretamente, uma forte intensidade de tosta pode conduzir ao aparecimento de notas “queimadas”, as quais são consideradas como desagradáveis para os consumidores (Vichi *et al.*, 2007). Deste modo, a monitorização das variações (incremento/diminuição) na concentração de certos compostos voláteis, tais como o furfural, a vanilina e o guaiacol, tem sido utilizada para determinar e controlar o grau de tosta das madeiras (Chatonnet, 1999).

De um modo geral, o aumento do grau de tosta provoca uma diminuição dos aromas de coco, sendo ainda notório o incremento das notas de “torrado”, de especiarias e de fumo. As notas de baunilha também se intensificam com o incremento do grau de tosta, mas diminuem quando se atinge um grau de tosta demasiado elevado (Marín, 2005).

A queima afecta profundamente a quantidade e a qualidade dos compostos voláteis potencialmente extraíveis da madeira (Natali *et al.*, 2006). Em particular, a degradação dos lipídios gera *cis* e *trans* whisky lactonas, os quais são caracterizados por possuírem um carácter lenhoso e de coco (McCafferty *et al.*, 1999 citados por Natali *et al.*, 2006). No entanto, as suas concentrações aumentam consideravelmente durante a secagem da madeira e a sua formação também pode ocorrer durante o processo de queima através da desidratação dos lipídios precursores de 2-metil-3-(3,4-dihidroxi-5-metoxibenzo)-ácido octanóico presente na madeira de carvalho (Cerdán *et al.*, 2002 citados por Jaarsveld *et al.*, 2008a). O precursor de whisky lactonas não é estável e a hidrólise destes compostos durante a secagem natural da madeira origina o isómero *cis*, que é quatro vezes mais odorífero que a forma *trans* (Chatonnet, 1999).

Segundo Alañon *et al.*, (2010), durante o processo de tosta, a degradação térmica dos hidratos de carbono, da celulose e da hemicelulose produz hexoses, pentoses e polissacarídeos de cadeia curta. Trabalhos anteriores estudaram os compostos voláteis derivados de hidratos de carbono tais como o furfural, o 5-metilfurfural, o 5-hidroximetilfurfural (5-HMF) e o álcool furfurílico (Nishimura *et al.*, 1983; Chatonnet e Dubourdieu, 1998).

Durante o processo de queima, outras substâncias voláteis, também são formadas como resultado da interacção entre os açúcares e aminoácidos, conhecida

como reacção de Maillard. Estes incluem, 2-hidroxi-3-metil-2-ciclopenteno-1-ona (cicloteno), 3-hidroxi-2-metil-4H-pirano-4-ona (maltol), 2,3-dihidro-3, 5-diidroxi -6-metil-4H-pirano-4-ona (DDMP), 4-hidroxi-2,5-dimetil-3(2H)-furanona (furaneol) e 2,3-dihidro-5-hidroxi-6-metil-4H-pirano-4-ona (dihidromaltol) (Cutzach *et al.*, 1997 e Chatonnet e Henry, 1997 citados por Alañon *et al.*, 2010). Além destes compostos, o 2-furaldeído e os seus derivados (5-metoxi-2-furaldeído e 5-metil-2-furaldeído), também têm sido descritos como produtos da degradação de açúcares durante o processo de queima das madeiras (Alañon *et al.*, 2010).

A termodegradação das lenhinas conduz ao aparecimento de vários fenóis voláteis, que derivam das unidades guaiacilo e siringilo. Para além destes, a degradação térmica da lenhina origina fenilcetonas, aldeídos e ácidos fenólicos que contribuem para o aroma com notas de fumo e baunilha, respectivamente (Natali *et al.*, 2006; Vichi *et al.*, 2007). Acompanhando a evolução da temperatura, observam-se diferentes evoluções destes compostos. Assim, numa primeira fase, até aos 120°C, verifica-se a formação de aldeídos, enquanto que, a presença de ácidos foi observada a temperaturas superiores a 160°C. Numa segunda fase, em função da temperatura e do tempo, observa-se uma descida progressiva destes compostos. Estes dados traduzem o fenómeno de formação e posterior termólise dos aldeídos e dos ácidos (Maga, 1985).

2.3.1.2. Espécies botânicas

As árvores produtoras de madeira com interesse para a tanoaria pertencem à Divisão *Angiospermae*, Classe *Dicotyledones*, Ordem *Fagales* e Família *Fagaceae*, sendo vulgarmente designadas por folhosas (Canas e Caldeira, 2009).

A madeira tem sido usada desde longa data para o envelhecimento de várias bebidas alcoólicas, sendo a madeira de carvalho a mais utilizada no envelhecimento de aguardentes e vinhos.

Os carvalhos enquadram-se no Género *Quercus*, representado por mais de 250 espécies de árvores que crescem na sua maioria nas regiões temperadas, tropicais e subtropicais do hemisfério Norte (Benavente e cano, 2003). As espécies de carvalho distribuem-se por quatro subgéneros: *Sclerophyllodrys*, *Cerris*, *Quercus* e *Erytrobalanus*, contudo as espécies utilizadas em tanoaria pertencem apenas ao

Subgénero *Quercus*: *Q. robur* L., *Q. pyrenaica* Willd., *Q. faginea* Lam., *Q. sessiliflora* Salisb., *Q. bicolor* Willd., *Q. stellata* Wangenh., *Q. lyrata* Walt., e *Q. alba* L (Hidalgo, 2003).

De todas as espécies, as mais utilizadas para o fabrico de barricas e tonéis surgem na Europa, nomeadamente as espécies *Q. sessiliflora* e, sobretudo, *Q. robur*, que ocupam a maior área e constituem a mais importante fonte de madeira para tanoaria (Canas *et al.*, 1998; Benavent e Cano, 2003; Garde-Cerdán *et al.*, 2006; Clímaco, 2008).

Actualmente, em Portugal existem apenas quatro espécies de carvalho com interesse para tanoaria, que obedecem à seguinte distribuição (Carvalho, 1997, Paiva, 2001 citados por Jordão *et al.*, 2006): a noroeste predomina o carvalho roble ou alvarinho (*Q. robur* L.); a nordeste, em zonas mais continentais, domina o carvalho negral ou pardo (*Q. pyrenaica* Willd.) (Jordão *et al.*, 2006); no centro (Beiras e Trás-os-Montes) predomina o pedamarro (*Q. faginea* Lam. Subsp. *faginea*), espécie endémica da Península Ibérica; da Beira Litoral ao Algarve sobressai o carvalho cerquinho ou português (*Q. faginea* Lam. Subsp. *broteroi* (Cout.) Samp.) (Canas e Caldeira, 2009).

A variabilidade entre as espécies de carvalho, e inclusivamente dentro de cada uma delas, manifesta-se nos aspectos anatómicos, mecânicos, físicos e químicos, e aporta efeitos diferentes durante o envelhecimento dos vinhos, de acordo com as distintas propriedades da madeira utilizada.

A madeira de carvalho tem uma série de características que a torna ideal para o uso enológico, são de destacar as suas boas propriedades mecânicas, indispensáveis para a resistência das barricas e tonéis (Canas *et al.*, 1999). A facilidade de corte por fendilhamento e a aptidão que possuem para ser moldadas e dobradas de modo a dar forma às barricas, constituem algumas das características mais relevantes. O facto de serem bons isolantes térmicos permite que as temperaturas se mantenham baixas no interior das barricas. Esta espécie possui uma ligeira porosidade favorável às microoxidações e fenómenos físico-químicos que intervêm no envelhecimento dos vinhos, embora insuficiente para permitir perdas de líquido (Togores, 2003). Por último, confere aos líquidos com que está em contacto uma coloração e aromas particulares devido às substâncias extraídas, fundamentalmente, os aldeídos fenólicos do tipo

benzóico (vanilina e siringaldeído) e, em pequenas quantidades, do tipo cinâmico (coniferaldeído) (Togores, 2003; De Simón *et al.*, 2009b).

Segundo vários autores, a madeira de carvalho é o material utilizado por excelência para o fabrico de recipientes de madeira capazes de conter líquidos, neste caso particular o vinho. No entanto, para além do carvalho, na bibliografia encontra-se descrita a utilização de madeiras provenientes de variadas espécies, tais como: a acácia (De Simón *et al.*, 2009b; De Rosso *et al.*, 2009; Kozlovic *et al.*, 2010), o castanheiro, a cerejeira (De Simón *et al.*, 2009b; De Rosso *et al.*, 2009), amoreira (De Simón *et al.*, 2009b) a faia, o freixo, a bétula, o álamo, o pinheiro e o abeto (Togores, 2003), entre outras.

No passado, o castanheiro (*Castanea sativa*) foi amplamente utilizado na região do Mediterrâneo devido à elevada disponibilidade e baixo custo. Esta madeira é caracterizada por maior porosidade do que o carvalho (De Rosso *et al.*, 2009), hoje em dia caiu quase em desuso (Canas *et al.*, 1999). O castanheiro pertence ao Género *Castanea* e à espécie *Castanea sativa* Mill., que se desenvolve nas regiões temperadas do hemisfério norte e que é única na Europa (Berrocal del Brio *et al.*, 1998 citados por Canas e Caldeira, 2009).

Um estudo recente, realizado na Estação Vitivinícola Nacional, por Canas *et al.*, (2009), evidenciou o interesse do castanheiro, como madeira a utilizar no envelhecimento, realçando a aceleração que induz no envelhecimento, devido fundamentalmente às suas características químicas.

A β -metil- γ -octolactonas é frequentemente citada na literatura científica como sendo um composto marcador do envelhecimento em madeira de carvalho pelo aroma a coco (Günther e Mosandl, 1986). Em contrapartida, a presença deste composto na madeira de castanheiro é praticamente nula (Clímaco, 1987). Assim, a utilização do castanheiro para o envelhecimento de vinhos pode ser interessante do ponto de vista enológico pois permitiria a obtenção de vinhos com características organolépticas diferenciadas envolvendo custos mais reduzidos, uma vez que este tipo de madeira apresenta um custo inferior ao do carvalho.

Segundo Canas *et al.*, (1999), os compostos de baixo peso molecular extraíveis, tais como os ácidos vanílico e siríngico, presentes na madeira de carvalho, foram também identificados em madeira de castanheiro (De Simon *et al.*, 1996). Os aldeídos fenólicos, vanilina, siringaldeído, e sinapaldeído à exceção do coniferaldeído, presentes na madeira de carvalho, também foram identificados nas madeiras de castanheiro.

A cerejeira (*Prunus avium*) é o nome dado a várias espécies de árvores originárias da Ásia, algumas frutíferas, outras produtoras de madeira nobre. Estas árvores classificam-se no sub-gênero *Cerasus* incluído no gênero *Prunus* (*Rosaceae*). Esta é caracterizada pela alta porosidade e permeabilidade ao oxigénio e é normalmente usada para tempos curtos de envelhecimento (De Rosso *et al.*, 2009).

Vários compostos aromáticos foram encontrados nos extractos de madeira de cerejeira, embora em baixa abundância. No entanto, foi observada uma quantidade elevada de trimetoxifenol. Estes extractos foram também caracterizados por possuírem valores muito baixos de eugenol e de metoxieugenol (De Rosso *et al.*, 2009).

O ensaio conduzido por De Simón *et al.*, (2009), que analisou várias espécies de madeiras (carvalho, castanheiro, cerejeira, acácia, freixo), permitiu concluir que na madeira de cerejeira, os compostos mais abundantes foram o siringato de metil, o 3,4,5-trimetoxifenol e o ácido benzóico, com uma abundância de salicilato de benzil e vanilato de metilo, bem como de propiosiringona. Esta madeira apresenta ainda concentrações muito baixas de aldeídos e fenilcetonas, vanilina e siringaldeído.

A acácia (*Robinia pseudoacacia*) é nativa do sudeste dos Estados Unidos, mas tem sido amplamente plantada e naturalizada noutras regiões temperadas da América do Norte, Europa, África do Sul e na Ásia, sendo também considerada uma espécie invasora em algumas áreas. A sua madeira caracteriza-se pela dificuldade em moldar as aduelas para o fabrico de barricas e pela baixa porosidade (Citron, 2005, De Rosso *et al.*, 2009).

Segundo o ensaio conduzido por Kozlovic *et al.*, (2010) os barris de acácia são menos "agressivos" do que os de carvalho, e os vinhos aportam características menos marcadas a madeira. De acordo com este autor, o envelhecimento em barris de acácia

torna os vinhos mais suaves, de textura fina, realçando a doçura natural da fruta com um carácter mais pronunciado a baunilha e picante. Os resultados deste estudo indicam que o envelhecimento em barris de acácia influencia positivamente a qualidade dos vinhos, e apontaram para um significativo aumento da concentração de furfural, 5-metilfurfural, guaiacol e *trans*-isoeugenol (De Rosso *et al.*, 2009).

Noutro estudo dirigido por De Simón *et al.*, (2009), que analisou várias espécies de madeiras (carvalho, castanheiro, cerejeira, acácia, freixo), observou-se que a madeira de acácia não queimada era a mais pobre em compostos derivados da lenhina, dos lipídios e dos hidratos de carbono, sendo o sinapaldeído o composto mais abundante, seguido do álcool coníferílico, 2,4-dihidroxibenzaldeído, siringaldeído, coniferaldeído, e, por fim, o 3,4,5-trimetoxifenol.

A amoreira (*Morus alba* e *Morus nigra*) é originária do sudoeste Asiático, a sua madeira é macia e elástica, apresenta uma porosidade média, e é caracterizada por possuir uma baixa libertação de compostos voláteis (Citron, 2005).

2.4. Interesse da madeira em Enologia

O uso de madeira durante os processos de fermentação e / ou envelhecimento de vinhos é uma prática comum a todas as regiões produtoras de vinho. Como descrito anteriormente, neste processo, o vinho sofre importantes mudanças no seu aroma, cor, sabor e adstringência. A complexidade do aroma é realçada devido à extracção de diversos compostos presentes na madeira, que são transferidos para o vinho durante o processo de contacto entre este e a madeira.

Numa adega, a madeira surge de variadíssimas formas nos diferentes processos de produção de vinho: a partir de balseiros de grandes dimensões, barricas e, nos últimos anos, surgiram como alternativa as aparas, mais conhecidas por “chips”, que aparecem no mercado sob variadas formas (pó, aparas, cubos, dominós, aduelas, segmentos e bastões), pois as barricas são caras, têm uma vida útil reduzida e possuem uma difícil higienização e são de difícil manuseamento, ocupando muito espaço na adega (Natali *et al.*, 2006; Jaarsveld *et al.*, 2008a; De Simón *et al.*, 2009). As desvantagens associadas à utilização de barricas levaram ao desenvolvimento de técnicas alternativas de envelhecimento de modo a tornar este processo menos

dispendioso, assegurando que a madeira liberte os seus compostos para o vinho (Jaarsveld *et al.*, 2008a; Rodríguez-Bencomo *et al.*, 2008b; De Simón *et al.*, 2009) e acelerando o processo de maturação dos vinhos.

Para além do carvalho e das restantes espécies em cima descritas, existem referências de diversas espécies florestais, como o Pinheiro bravo, o Eucalipto, o Mogno e a Macacaúba (Nobre da Veiga, 1954 citado por Canas e Caldeira, 2009) que eram utilizadas no fabrico de vasilhas para o transporte e a conservação de vinhos. Ao longo do tempo, verificou-se que algumas madeiras não apresentavam as características mais adequadas para os fins enológicos, o que conduziu ao seu gradual abandono. Por exemplo, a reduzida porosidade da madeira de Acácia e a transmissão de aromas e sabores estranhos aos vinhos pelas madeiras de Eucalipto e de Pinheiro bravo, são apontadas como as principais razões para o fim da sua utilização.

Por sua vez, razões de ordem económica e a “moda” também contribuíram para a alteração das espécies florestais usadas em tanoaria, provocando a exclusão quase completa do castanheiro e o destaque da madeira de carvalho. (Flamini *et al.*, 2007). Actualmente, muitos autores consideram que apenas a madeira de carvalho apresenta aptidões para a obtenção de vinhos de qualidade (Puech *et al.*, 1990, Haluk e Irmouli, 1997). Alguns mencionam, inclusivamente, que as madeiras de *Q. robur* e de *Q. sessiliflora* são particularmente aptas ou preferidas para este fim (Keller, 1987, Haluk e Irmouli, 1997, Moutounet *et al.*, 1989), devido às suas propriedades mecânicas e características anatómicas e químicas apresentadas.

Nos últimos anos tem-se verificado um aumento considerável da procura de carvalho americano, tanto nos países tradicionalmente vitícolas como nos novos países, motivado pelo menor preço e pela mais rápida disponibilização, assim como pelo amplo conhecimento das suas aptidões (Clímaco, 2008).

As madeiras de carvalho de origem francesa e americana foram, nas últimas décadas, objecto de aprofundado estudo com vista à sua utilização em tanoaria, o que conduziu ao reconhecimento das suas potencialidades para o envelhecimento de vinhos. Já em relação às espécies de castanheiro e de carvalho, bem como de outras espécies botânicas cultivadas em Portugal, assiste-se ainda a um sensível desconhecimento das

suas características químicas, bem como das suas potencialidades para o envelhecimento.

Recentemente a OIV (Organisation Internationale de la Vigne et du Vin) aprovou o uso de chips (Resolução Oeno 3 / 2005) e aduelas como alternativa para as barricas, este facto abre uma enorme janela para o uso de outras espécies para além do carvalho, que possuam propriedades pouco desejadas em tanoaria, neste sentido o objectivo principal deste trabalho foi caracterizar as madeiras de carvalho, castanheiro, cerejeira e acácia com base na sua composição volátil. Pretendeu-se também avaliar as modificações na composição das madeiras provocadas pelos processos de queima, realizados em tanoaria, com o intuito de avaliar o interesse e viabilidade enológica destas espécies.

3. Material e métodos

3.1. Amostras, reagentes e padrões

As madeiras usadas neste ensaio foram amostras comerciais fornecidas pela empresa Tonnellerie J.M.Gonçalves em sacos de aproximadamente 500g cada, de Carvalho Nacional (*Quercus robur*), de origem portuguesa-Beiras (lote:P0331/11), Castanheiro Nacional (*Castanea sativa*), de origem portuguesa-zona de Carrazeda de Ansiães (lote:CASp03222/11), Cerejeira (*Prunus cerasus*), com origem no centro de França (lote:CE0312/11) e Acácia (espécie desconhecida), também originária do centro de França (lote:AC0300/11). Cada espécie foi estudada para diferentes níveis de tosta, isto é, foram analisadas madeiras sem tosta e sujeitas a um nível de tosta médio.

Todas as madeiras estudadas sofreram o processo de secagem natural com tempos de secagem de 25 meses para a cerejeira e acácia, 22 meses para o castanheiro e 32 meses para o carvalho. Relativamente às madeiras queimadas, no caso da tosta média todas as espécies foram sujeitas a um processo de tosta de 2 horas a uma temperatura de sensivelmente 200°C.

No processo de extracção, foi utilizado o diclorometano para cromatografia, como solvente de extracção, o qual foi fornecido pela Panreac (Montcado i Reixac (Barcelona) Espanha) e o sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4 (Chenische Fabrik Lehrte),

como agente exsiccante. Neste processo foi ainda utilizada terra de diatomáceas (DIONEX, ASE prep de Diatomaceous Earth), uma célula de inox de 10 mL e filtros de celulose. O padrão interno utilizado foi o 3-octanol, fornecido por Extrasyntese (GENAY France).

As amostras analisadas por GC-MS foram previamente filtradas utilizando filtros de membranas (Pall Corporation, Nyloflo, Nylon Membrane Filter, 0,45µm, 13 mm; Máxico).

Na determinação dos índices de Kovat utilizou-se uma mistura de padrões de alcanos (C7-C30), fornecida pela SUPELCO Analytical (Bellefonte USA).

3.2. Pré-preparação das amostras sólidas

Dado que as madeiras adquiridas encontravam-se na forma de “chips”, aparas, houve a necessidade de as triturar com o intuito de reduzir ao máximo o seu tamanho em pequenos fragmentes (pó), por forma, a aumentar a superfície de contacto com o solvente de extracção e, assim, maximizar posteriormente o processo de extracção. Para este fim as madeiras foram trituradas com o auxílio de um “moinho”, ficando com o aspecto que mostra a figura 4.



Figura 4 - Aspecto das madeiras antes e após a sua fragmentação.

3.3. Extracção dos compostos da madeira

A extracção sólido-líquido dos compostos voláteis das diferentes espécies botânicas de madeiras (sem tosta e tosta média) foi realizada por PLE (Extracção com Líquido Pressurizado- Pressurized Liquid Extraction) vulgarmente conhecido como ASE (Accelerated Solvent Extraction), marca registada da Dionex que comercializou o sistema denominado ASE 100.

Ao longo da bibliografia encontrada, o ASE tem sido proposto como um método de extracção exaustivo bastante eficiente uma vez que permite extracções mais rápidas e completas (Giergielewicz-Mozajska *et al.*, 2001), e demonstra também ser um método preciso, que possibilita a redução do volume de solvente e dos tempos de extracção, sem degradação térmica dos compostos voláteis (Richter *et al.*, 1996; Giergielewicz-Mozajska *et al.*, 2001).

Para cada espécie e tipo de tosta (tosta média e sem tosta) foram efectuadas 3 repetições o que fez um total de 24 amostras.

De cada uma das amostras foram pesadas aproximadamente 3 g de madeira previamente triturada, seguida de homogeneização com 1.5 g de terras de diatomáceas e, a mistura resultante, foi colocada na célula de extracção (devidamente acondicionada com filtros de celulose nas extremidades).

Após a preparação da célula, esta foi colocada no forno do equipamento iniciando-se o processo de extracção, atendendo às seguintes condições: temperatura de 150 ° C, pressão máxima de 1700 psi, utilizando diclorometano como solvente de extracção. Após alguns ensaios, com vista à optimização do processo de extracção, foi considerado que 3 ciclos estáticos de extracção com 7 minutos de duração cada, seriam suficientes para extrair o maior número e quantidade de compostos, tendo sido estas as condições de extracção utilizadas para cada amostra.

Após a extracção no ASE, o extracto (aproximadamente 30 mL) foi seco com Na₂SO₄, adicionado 1 mL de uma solução de 3-octanol em diclorometano de concentração 0,08mg/mL e, em seguida, a mistura resultante foi filtrada. Posteriormente, procedeu-se à sua concentração no rotavapor (BUCHI Rotavapor R-114) até se obter um volume de aproximadamente 2mL. A amostra obtida antes de ser injectada no GS-MS foi previamente filtrada.

3.4. Análise GC-MS

Na cromatografia gasosa a amostra é vaporizada e injectada numa coluna cromatografica e a amostra é transportada através da coluna com o auxílio de um gás inerte (a fase móvel). Existem vários tipos de colunas que podem ser usadas em

cromatografia gasosa mas as mais usadas actualmente são as colunas capilares que usam uma fase estacionária líquida que se encontra adsorvida a um sólido inerte.

A separação dos compostos é conseguida com a escolha correcta da temperatura a que a coluna é submetida, existem separações que são conseguidas a temperatura constante (isotérmicas), nestas separações as interacções entre a fase estacionária e o analito é o factor mais importante para a separação. Geralmente este modo de separação funciona para misturas de compostos com pontos de ebulição semelhantes mas com características químicas ligeiramente diferentes que vão interagir de forma diferente com a fase estacionária.

Por vezes o método isotérmico não funciona, pois os componentes mais voláteis são separados, os componentes menos voláteis demoram a eluir, saindo como picos mal definidos, os componentes mais voláteis não são separados e os menos voláteis eluem mais rapidamente. Assim, surge como alternativa o gradiente de temperaturas, visto conseguir uma boa separação de compostos de amostras em menor tempo.

Os extractos foram analisados por cromatografia gasosa, utilizando um cromatógrafo gasoso (Thermo Finnigan-Trace GC) equipado com um detector selectivo de massas (Thermo Finnigan Polaris Q) e um injector automático. Para a análise dos compostos assim como para a determinação dos índices de Kovat foram usadas duas colunas capilares de diferentes polaridades: ZB-Wax 30 m, 0,25 mm de diâmetro e 0,25 µm de espessura de filme (Zebron Capillary GC column; Phenomenex USA) e Rtx-5 (Crossbond 5% diphenil – 95% dimetil polysiloxane) 30 m, 0,25 mm de diâmetro e 0,25 µm de espessura de filme (RESTEK, USA). Com base em trabalhos anteriores, a coluna ZB-Wax foi usada neste trabalho para a quantificação dos compostos voláteis devido à sua melhor selectividade para compostos polares (Mehran *et al.*, 1991; Bartle e Myers, 2002).

As condições cromatográficas utilizadas foram as seguintes: o gás de arraste foi o hélio com fluxo constante de 1,0 mL/min; o programa de gradiente térmico consistiu nas seguintes etapas: a coluna foi mantida inicialmente a 40° C por um minuto e depois foi aquecida a 4 °C/min até atingir 100 °C, em seguida, prosseguiu-se com um novo aquecimento de 8 °C/min até aos 250 °C, onde se manteve 10 minutos; o volume de amostra injectado foi 1,0 µL a uma temperatura de 250 °C, no modo splitless.

A detecção por espectrometria de massa foi feita por impacto electrónico (EI) no modo de varredura completa, utilizando uma energia de ionização de 70 eV, avaliando uma gama m/z de 40-450 em ciclos de s^{-1} e a temperatura da linha de transferência foi de 230°C.

3.5. Identificação dos compostos voláteis

Os compostos foram identificados por comparação dos seus tempos de retenção e dos espectros de massa com os existentes na literatura e na biblioteca de espectros de massa (NIST e Wiley), como mostra a figura 5.

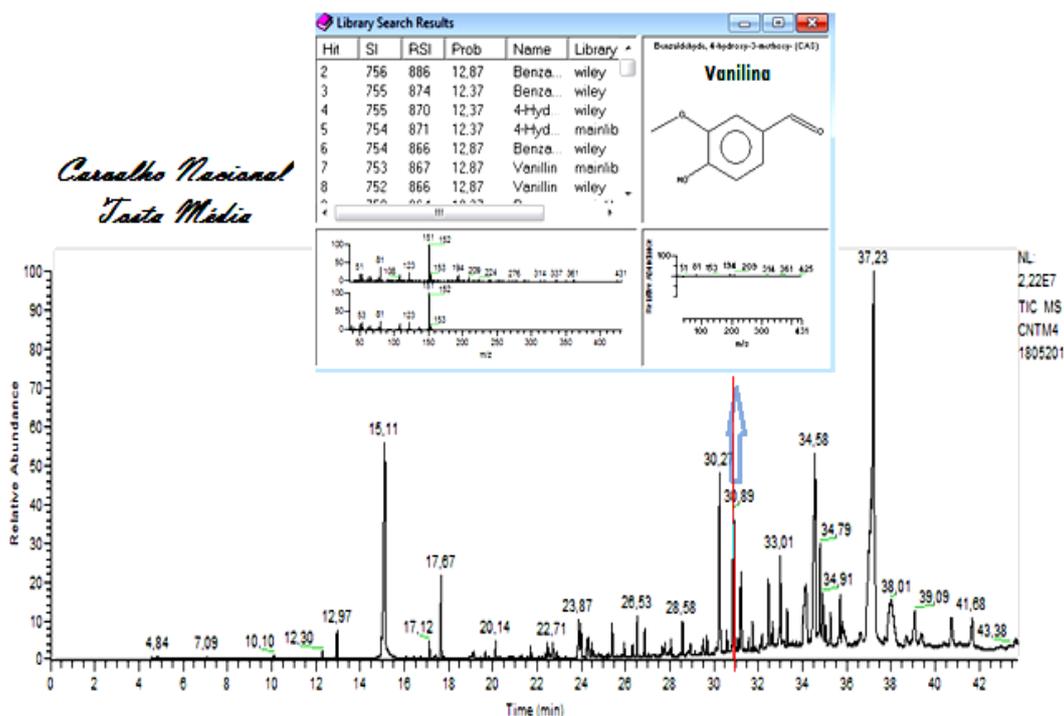


Figura 5 - Representação esquemática que ilustra a identificação de um composto através da biblioteca de espectros de massa.

Finalmente, para todos os compostos detectados foram calculados os respectivos índices de retenção lineares (Kovat), utilizando duas colunas capilares distintas (coluna apolar Rtx-5 e polar ZB-Wax).

Em 1958, Kováts introduz o sistema de índices de retenção, que ficaria conhecido pelo seu nome, e que se baseava também em séries de *n*-alcanos. Com este sistema, Kováts elimina a extrapolação ao recorrer aos *n*-alcanos que eluem imediatamente antes e depois do composto a ser investigado. Desta forma os pontos de

referência seriam fixos ao se atribuir a cada *n-alcano* um índice de retenção I ($I=100n$), em que n corresponde ao número de carbonos do *n-alcano* (Barata, 2008).

Os índices de Kovat foram então utilizados como forma de auxílio na identificação dos compostos presentes nas nossas amostras, recorrendo-se para esta determinação a uma mistura de padrões de alcanos (C7-C30). Por não variarem de acordo com as condições cromatográficas, podem ser comparados com valores tabelados e citados na literatura. Os índices de Kovat foram determinados para cada composto através da expressão abaixo apresentada, encontrando-se na tabela 1 os valores determinados neste trabalho.

$$I.K = 100 * [(n + (tr - tr_{n-1})) / (tr_{n+1} - tr_{n-1})]$$

Onde:

n -- Nº de carbonos do *n-alcano*;

tr -- Tempo de retenção do composto em estudo;

tr_{n-1} -- Tempo de retenção do carbono n-1;

tr_{n+1} -- Tempo de retenção do carbono n+1;

3.6. Quantificação dos compostos detectados

As determinações quantitativas de todos os compostos identificados foram realizadas pelo método do padrão interno, utilizando as áreas dos picos obtidos.

3.7. Análise estatística

Os teores totais em compostos do aroma das madeiras em estudo foram submetidos a uma análise de variância (ANOVA), considerando dois factores de variação: a espécie botânica e 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. Resultados e Discussão

4.1. Caracterização das aparas de madeira

Os trabalhos desenvolvidos por diversos grupos de investigação que se dedicam ao estudo desta área do conhecimento, e sobre os quais incidiu a revisão bibliográfica apresentada neste trabalho, contribuíram de forma significativa para um conhecimento mais aprofundado da composição físico-química da madeira de carvalho, com particular incidência nos carvalhos francês e americano. No que diz respeito a carvalhos de outras proveniências, o número de trabalhos é mais restrito e no caso concreto dos carvalhos portugueses a informação existente é igualmente limitada. No que se refere à incidência da queima na composição de carvalhos portugueses, os primeiros trabalhos foram publicados por Canas *et al.*, (1998), Canas *et al.*, (2000b), Canas, (2003), e Caldeira, (2004).

Relativamente ao uso de outras madeiras no envelhecimento, embora existam indicações antigas sobre a sua utilização, como é o caso da acácia, cerejeira e do castanheiro, os estudos sobre estas madeiras têm sido respectivamente inexistentes ou limitados. No que se refere ao uso do castanheiro o trabalho de Belchior *et al.*, (1998) evidenciou o potencial interesse desta madeira, dada a qualidade sensorial das aguardentes obtidas.

4.1.1. Identificação dos compostos voláteis

Os compostos identificados em pelo menos uma das quatro espécies de madeira em estudo, com níveis de tosta diferentes (sem tosta e tosta média), são apresentados na tabela 1, tendo sido agrupados por classes de compostos. Na tabela são indicados os tempos de retenção (t_r), os índices de retenção linear (LRI) para duas colunas distintas, os fragmentos (m/z) com a respectiva abundância relativa e *ião molecular* (a negrito) e, ainda, as respectivas notas aromáticas para cada composto identificado.

Tabela 1 - Principais compostos voláteis identificados nas quatro madeiras analisadas.

<u>Nome comum</u>	<u>Nome IUPAC</u>	<u>Tr</u> <u>(min)</u>	<u>Fragmentos</u> <u>m/z</u>	<u>LRI</u> <u>Coluna</u> <u>apolar</u>	<u>LRI</u> <u>Coluna</u> <u>polar</u>	<u>Notas</u> <u>Aromáticas</u>
-------------------	-------------------	---------------------------	---------------------------------	--	---	-----------------------------------

DERIVADOS DOS POLISSACÁRIDOS

Aldeídos furânicos						
Furfural	2-Furancarboxaldehyde	15,07	95(100), 96(40)	(-) 834 ^(a)	1458 1444 ^(b)	Pão, amêndoa doce ⁽ⁱ⁾ , ligeiramente tostado, caramelo ^(h)
5-Metilfurfural	5-Methyl-2-furancarboxaldehyde	17,67	109(100), 110(70)	1068 965 ^(a)	1563 1551 ^(b)	Amêndoa, caramelo ⁽ⁱ⁾ , picante, tostado ^(h)
5-Hidroxi-metil-furfural	5-Hydroxymethyl-2-furancarboxaldehyde	30,23	97(100), 69(70), 126(20)	1353 1235 ^(a)	2492 2466 ^(b)	Inodoro ⁽ⁿ⁾
Maltol	3-Hydroxy-2-methyl-4H-pyran-4-one	23,98	126(100), 71(35)	1219 1111 ^(a)	1950 1938 ^(b)	Tostado ⁽ⁿ⁾
Álcoois						
Álcool furfurílico (isômero)	2-Furanmethanol	19,43	97(100), 81(80), 98(70)	(-) 866 ^(u)	1651 1669 ^(t)	Fermento, açúcar torrado ^(v)
Ácidos						
Ácido acético	Ethanoic acid	10,11	43(100), 45(15),	(-) 602 ^(g)	1291 1464 ^(f)	Vinagre ^(f)
Heterociclos azotados						
Piridina	Pyridine	6,84	79(100), 52(95), 51(90)	(-) 753 ^(u)	1171 1193 ^(t)	Cacau, amêndoa torrada, pão fresco ^(s)

DERIVADOS DA LENHINA E POLIFENÓIS

Fenóis voláteis						
Eugenol	2-Methoxy-4-(prop-2-enyl) phenol	28,58	164(100), 77(40), 103(40)	1465 1359 ^(a)	2335 2139 ^(b)	Cravo, mel ⁽ⁱ⁾ picante, canela ^(h)
Guaiacol	2-Methoxyphenol	22,58	81(100), 109(80), 124(95)	1193 1089 ^(a)	1849 1833 ^(b)	Fumo, doce, remédios ⁽ⁱ⁾

4-Propilguaiacol	4-Propyl-2-methoxyphenol	31,23	137 (100), 166(30)	(-) 1461 ^(a)	2589 2083 ^(b)	Couro, animal ^(m)
Alilsiringol (isómero)	2,6-dimetoxi-4-propen-2-il-fenol	30,58	194 (100), 91(70), 119 (50)	1713 1605 ^(a)	2525 2511 ^(b)	Picante, fumo ^(m)
Aldeídos fenólicos						
Vanilina	4-Hydroxy-3-methoxybenzaldehyde	30,80	151 (100), 152(85)	1507 1399 ^(a)	2555 2518 ^(b)	Baunilha ⁽ⁱ⁾
Benzaldeído	Phenylmethanal	16,43	105(100), 77(65), 106 (20)	(-) 962 ^(a)	1507 1493 ^(b)	Amêndoas amargas ^(h)
Coniferaldeído	3-Methoxy-4-hydroxycinnamaldehyde	37,08	178 (100), 77(100)	1670 1747 ^(a)	(-) 3096 ^(b)	Baunilha, madeira ⁽ⁿ⁾
2,4-Dihidroxi - benzaldeído ^(?)	Benzaldehyde, 2,4-dihydroxy	37,11	137, 138	1570 -	(-) -	-
Siringaldeído	4-Hydroxy-3,5-dimethoxybenzaldehyde	34,54	182 (100), 181(75)	1776 1643 ^(a)	2935 2904 ^(b)	Baunilha ⁽ⁱ⁾
Esteres fenólicos						
Homovanilato de metilo ^(?)	4-Hydroxy-3-methoxy benzeacetic acid, methyl ester	39,38	137(100), 196 (30)	(-) 1518 ^(a)	(-) 2565 ^(b)	Caramelo, manteiga, baunilha ⁽ⁱ⁾
Fenilcetonas						
Acetosiringona	2-(4-Hydroxy-3-methoxyphenyl)-acetaldehyde	35,05	181 (100), 196(70)	(-) 1744 ^(a)	2982 2953 ^(b)	Frutado, doce ^(v)
Álcoois						
Álcool Coniferílico	4-(1-trans)-3-Hydroxy-prop-1-enyl-2-methoxyphenol	39,05	137(100), 180 (65), 124(65)	1917 1745 ^(a)	(-) 3213 ^(b)	-
Álcool benzílico	Hydroxy methylbenzene	22,80	79 (100), 77(65), 108(35)	(-) -	1864 1879 ^(p)	Doce, floral ^(m)
Álcool fenil etílico ^(?)	2-Phenylethanol	23,26	91(100), 92(55), 122 (10)	(-) 1110 ^(w)	1897 1931 ^(w)	Doce, floral, picante ^(v)

Ácidos						
Ácido benzóico	Benzenecarboxylic acid	29,72	105(100), 122 (70), 77(65)	(-) 1310 ^(u)	2442 -	Balsâmico ^(v)

DERIVADOS DOS LIPÍDOS

Lactonas						
<i>cis</i> -β-Metil-γ-octalactona	<i>cis</i> -4-Methyl-5-butyldihydro-2(3 <i>H</i>)-furanone	22,91	40(100), 99(50)	(-) 1325 ^(a)	1872 1928 ^(b)	Doce, coco ^(j) madeira ^(k,l)

Ácidos						
Ácido propanóico	Propanoic acid	17,42	73(100), 45(70), 74 (30)	(-) 668 ^(g)	1552 1547 ⁽³⁾	Fruta, floral ^(q)
Ácido butanóico	Butanoic acid	18,86	41(100), 60 (80), 55(60), 73(35),	(-) 827 ^(g)	1620 1627 ^(d)	Suor, queijo desagradável ^(h)
Ácido hexadecanóico	Hexadecanoic acid	36,66	55(100), 43 (90), 73(75), 60(40)	(-) 1984 ^(x)	(-) 2820 ^(d)	Óleo ^(v)

Aldeídos						
2-Nonenal	2-Nonenal	16,77	41(100), 55(75), 140 (5)	(-) 1142 ^(y)	1522 1510 ^(z)	Verde, seboso ^(v)

DERIVADOS DOS CAROTENÓIDES

Outros furânicos						
1-(2-Furanyl)-etanona ^(?)	Ethanone, 1-(2-furanyl)	16,9	95(100), 110 (20)	(-) 912 ^(c)	1493 1483 ^(c)	-

Outros						
Tolueno	Toluene	19,03	91(100), 92 (40), 65(30)	1147 770 ^(c)	1630 -	Caramelo, fruta ^(v)

OUTROS

Acetato de 2-metoxi-4-aliifenilo	Acetate of 2-methoxy-4-allylphenyl	26,53	164(100), 103(60), 165(5)	(-) -	2154 -	-
----------------------------------	------------------------------------	-------	---------------------------------	----------	-----------	---

Vinil benzoato	Benzoic acid, vinyl ester	19,11	41(100), 148 (5), 105(10)	(-) -	1635 -	-
Ácido 2-furóico *	2-Furancarboxylic acid	23,91	112 (50), 95(50)	(-) 1079 ^(e)	1943 -	-
Ácido homovanílico	Benzeneacetic acid, 4-hydroxy-3-methoxy	34,91	137(100), 138(50), 182 (55)	(-) -	2969 3008 ⁽¹⁾	-
Álcool linear C14-C18 ^(?)	-	28,84	208(100), 177(70)	(-) -	2359 -	-
Álcool linear C14-C18 insaturado ^(?)	-	30,97	41(100), 180(60)	(-) -	2564 -	-
Antiarol	3,4,5-trimethoxyphenol	35,84	169(30), 184 (25)	1727 -	(-) 2960 ⁽³⁾	-
Benzilacetona ^(?)	2-Butanone, 4-phenyl	22,51	43(100), 148 (5)	(-) -	1844 -	-
Esqualeno	Hexamethyl-2,6,10,14,18,22-tetracosahexaene	35,73	81(100), 41(50), 123(25), 410 (5)	(-) 2790 ⁽²⁾	(-) -	-
<i>cis</i> ou <i>trans</i> Propenilsiringol	<i>cis</i> or <i>trans</i> -2,6-Dimethoxy-4-(1-propenyl)phenol	32,47	194(100), 91(50)	(-) -	2718 -	-
1,2-di-2-furanil 2-hidroxiacetona *	Ethanone, 1-(2-furanyl)-2-hydroxy	24,56	95(100), 97(25), 126 (10)	1220 -	1994 -	-
Guaiacilacetona	2-Propanone, 1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)	31,75	137(100), 180 (30), 122(30)	1643 -	2643 -	-
16-Heptadeceno-2,5,8-triona	16-Heptadecen-2,5,8-trione	41,63	127(100), 170(100), 155(65), 280	1782 -	(-) -	-
2,4-Nonadienal ou 2,4-octadienal	2,4-Nonadien-1-al ou 2,4-Octadien-1-al	21,79	81(100), 40(70), 43(60), 124 (5)	(-) -	1794 -	-

Metil siringato ^(?)	4-Hydroxy-3,5-dimethoxy-benzoic acid, methyl ether	40,73	168(100), 167(75), 212(80), 194(5)	(-) -	(-) -	-
trans Benzalacetona	trans-4-Phenyl-3-buten-2-one	25,93	43(100), 146(5) , 131(5)	(-) -	2103 -	-

Legenda: Tr expresso em minutos representa o tempo de retenção referente a cada composto; LRI indica os índices de retenção linear (em primeiro os valores calculados experimentalmente através de uma mistura de padrões saturada de alcanos (C7-C30), utilizando uma coluna apolar (Rtx-5) e uma polar (ZB-Wax) e em baixo os valores bibliográficos referenciados pelos diversos autores); m/z indica os fragmentos de massa com a respectiva abundância relativa dentro de parênteses, sendo o ião molecular apresentado a negrito; ^(?) Não existe certeza quanto à identificação; * Coelui com outros compostos; - Não encontrado na bibliografia; (-) Não foi possível calcular através da mistura de padrões saturada de alcanos (C7-C30) utilizada; ^(a)Coluna RTX-5, De Simon *et al.*, 2009a; ^(b)Coluna Carbo-Wax e DB-5, De Simon *et al.*, 2009a; ^(c)De Simón, 2009a; ^(d)Coluna DB-5, Jordan, 2002; ^(e)Coluna DB-5, Vichi *et al.*, 2007; ^(f)Coluna DB-Wax, Caldeira *et al.*, 2008; ^(g)Coluna HP-5, Vichi *et al.*, 2007; ^(h)Coluna SPB-1, Diaz-Maroto *et al.*, 2008; ⁽ⁱ⁾Rodriguez-Bencomo *et al.*, 2008b; ^(j)Mosedale e Puech, 1998; ^(k)Piggott *et al.*, 1995; ^(l)Garde-Cerdán e Ancín-Azpilicueta, 2006; ^(m)Sáenz-Navajas *et al.*, 2010; ⁽ⁿ⁾Togores, 2003; ^(o)Gomes da Silva e Chaves das Neves, 1999; ^(p)Zhao *et al.*, 2011; ^(q)pherobase; ^(r)Barata *et al.*, 2011; ^(s)Maga e Sizer, 1973; ^(t)Coluna ZB-Wax, Yanagimoto *et al.*, 2004; ^(u)Coluna DB-1, Leffingwell e Alford., 2005; ^(v)pherobase; ^(w)Coluna DB-5 e ZB-Wax, Ferreira *et al.*, 2001; ^(x)Coluna DB-5, Priestap *et al.*, 2003; ^(y)Zehentbauer e Reineccius, 2002; ^(z)Coluna ZB-Wax, Valim *et al.*, 2003; ⁽¹⁾Coluna ZB-Wax, Coralia *et al.*, 2001; ⁽²⁾Coluna HP-5, Kilic *et al.*, 2004; ⁽³⁾Coluna Stabil-Wax, Natali *et al.*, 2006.

A análise GC-MS dos extractos das aparas de madeira revelou a presença de compostos já anteriormente identificados em madeiras de carvalho. Além destes foram ainda identificados nas madeiras analisadas outros compostos voláteis que não se encontram mencionados na inúmera bibliografia consultada, tais como o acetato de 2-metoxi-4-alilfenilo (acetate of 2-methoxy-4-alifenilo), vinil benzoato (benzoic acid, vinyl ester), antiarol (3,4,5-trimethoxyphenol) e esqualeno (hexamethyl-2,6,10,14,18,22-tetracosahexane).

Como pode ser observado, na tabela 1 foram identificados 35 compostos por comparação do seu espectro de massa com os de uma biblioteca comercial e ainda com os relatados na literatura. Esta identificação foi posteriormente confirmada através da comparação dos índices de retenção calculados experimentalmente durante o presente ensaio com os referidos na literatura. Face aos resultados obtidos pode concluir-se que se obtiveram óptimos resultados, principalmente nos valores obtidos para a coluna polar, uma vez que eram muito próximos dos existentes na bibliografia (com excepção do composto 4-propilguaiaicol que apresenta valores um pouco dispares, contudo a sua

identificação parece estar correcta). Para além destes foram ainda identificados 10 compostos dos quais não existe certeza da veracidade da sua identificação, uma vez que alguns deles coeluem com outros compostos.

Nas madeiras em estudo, tal como está descrito na tabela 1, foram identificados compostos derivados dos polissacáridos, pertencentes à classe dos aldeídos furânicos, nomeadamente o furfural, 5-metilfurfural, 5-hidroximetilfurfural e o maltol, e que já haviam sido referidos noutros ensaios por Chatonnet *et al.*, (1998), Natali *et al.*, (2006), e Nishimura, Ohnishi, Masuda, Koga e Matsuyama, (1983), Nishimura *et al.*, (1989) citados por Alañon *et al.*, (2010). Quanto à sua importância odorante, Caldeira (2004) refere a existência de correlações positivas significativas entre o teor dos aldeídos furânicos e os descritores caramelo, frutos secos e baunilha, tendo as correlações mais elevadas sido verificadas para o 5-hidroximetilfurfural. Por outro lado, Hidalgo (2003) e Marín (2005) atribuem, ainda, a estes compostos aromas a amêndoa e odores tostados.

O ácido acético, proveniente da hidrólise do grupo acetilo dos resíduos de xilose (Fengel e Wegener, 1989), também foi identificado nas amostras em estudo.

Quanto aos compostos derivados da lenhina e dos polifenóis destacam-se, nas madeiras analisadas, as classes dos fenóis voláteis, aldeídos fenólicos, ésteres fenólicos (homovanilato de metilo), fenilcetonas (acetosiringona), álcoois (ácido coniferílico e benzílico), e ácidos (ácido benzóico). Segundo Aiken e Noble, (1984), estes compostos contribuem fundamentalmente com aromas defumados, picantes e baunilha.

De acordo com Fengel e Wegener (1989), a degradação térmica da lenhina leva ao aparecimento de vários fenóis voláteis, os quais se apresentam, na grande maioria, na forma monometoxilada para os que derivam das unidades guaiacilo e na forma dimetoxilada, para os que derivam das unidades siringilo (Nabeta *et al.*, 1986). Para além desta origem, Chatonnet (1995) refere a possibilidade da formação de fenóis voláteis a partir da degradação oxidativa dos aldeídos fenólicos.

O eugenol, o guaiacol, o 4-propilguaiacol e o isómero de alilsiringol foram os principais fenóis voláteis identificados neste ensaio. Alguns destes compostos foram também anteriormente relatados em madeiras de carvalho (Perez Coello *et al.*, 1998; Nonier *et al.*, 2005; Nonier *et al.*, 2006) e chips de carvalho (Morales *et al.*, 2004;

Guchu *et al.*, 2006; Natali *et al.*, 2006). Estes compostos são caracterizados por possuírem um baixo limiar de percepção (Boidron *et al.*, 1994 citados por Natali *et al.*, 2006).

Na classe dos aldeídos fenólicos foram identificados a vanilina, o benzaldeído, o coniferaldeído, o 2,4-dihidroxibenzaldeído e o siringaldeído. Estes são também termodegradáveis em ácidos fenólicos e em fenóis voláteis, de acordo com Chatonnet, (1995).

Dos compostos derivados dos lipídios, no presente ensaio foi identificado o isómero *cis* da β -metil- γ -octalactona, pertencente à classe das lactonas. A β -metil- γ -octalactona (γ -lactona do ácido 4-hidroxi-3-metil-octanóico) tem sido o composto odorante da madeira mais estudado, este possui dois isômeros *cis* e *trans* a que são atribuídos aromas a coco e a carvalho, sendo o seu potencial odorante resultante dos baixos limiares de detecção, embora o isómero *cis* apresente um limiar de detecção mais baixo que o *trans* (Maga, 1996). Alguns ácidos derivados dos lipídios foram ainda identificados nas madeiras analisadas, nomeadamente os ácidos propanóico (Caldeira *et al.*, 2005), butanóico e hexadecanóico, também presentes em madeiras de carvalho segundo Flamini e Traldi, (2010).

Têm sido ainda identificados em madeira de carvalho, não queimada, alguns aldeídos, aos quais se encontram associados aromas desagradáveis. De acordo com Chatonnet e Dubourdiou, (1998), estes compostos resultam da degradação dos ácidos gordos. Nas madeiras em análise foi fundamentalmente identificado o 2-nonenal.

Os norisoprenóides são compostos odorantes resultantes da degradação dos carotenóides (Kanasawud e Crouzet, 1990), referente a esta classe foi identificado o tolueno nas madeiras estudadas.

4.1.2. Quantificação dos compostos voláteis

Como pode ser observado, na tabela 2 foram detectados 54 compostos que posteriormente foram quantificados, para as diferentes espécies em estudo sujeitas a uma tosta média e na ausência de tosta. Destes apenas 46 foram identificados, encontrando-se descritos na tabela 1.

Tabela 2 - Quantificação dos compostos voláteis detectados (mg /100g de aparas (expresso em 3-octanol)).

Composto	Carvalho Nacional		Castanheiro Nacional		Cerejeira		Acácia	
	Sem Tosta	Tosta Média	Sem Tosta	Tosta Média	Sem Tosta	Tosta Média	Sem Tosta	Tosta Média
Piridina	6,55±1,34	2,13±0,43	0,99±0,07	2,57±2,48	2,07±0,07	0,62±0,24	2,30±0,90	1,14±1,06
Acido acético⁽²⁾	6,71±0,32	17,96±1,41	1,31±0,42	nq	1,63±0,47	10,45±2,04	1,11±0,30	4,24±2,07
Furfural	100,80±0,04	925,93±109,36	60,87±28,29	515,28±53,72	nq	122,74±13,48	6,84±1,85	22,80±0,21
1-(2-Furanil)-etanona⁽²⁾	3,20±0,83	4,61±0,27	8,18±8,36	nq	nq	nq	nq	nq
Benzaldeído	nq	nq	nq	3,20±0,62	18,26±1,86	39,43±2,61	1,05±0,04	nq
2-Nonenal	5,92±0,70	6,85±1,39	1,26±0,50	nq	nq	nq	1,35±0,15	nq
Ácido propanóico	nq	5,81±0,08	nq	nd	nd	nd	nd	nd
5-Metilfurfural	15,55±1,05	183,40±26,91	11,63±3,13	82,08±1,15	nq	49,03±0,78	1,48±0,15	20,10±3,39
Ácido butanóico	nq	nd	nd	nd	nd	6,51±1,73	nq	nd
Tolueno	5,96±0,52	nq	3,55±1,03	1,49±0,43	6,81±6,37	11,11±1,03	6,29±0,77	2,10±0,48
Vinil benzoato	nq	5,75±1,12	nq	nq	20,71±3,87	42,55±2,19	nq	6,41±5,34
Álcool furfurílico (isómero)	6,21±0,48	3,39±1,68	2,81±0,76	nq	1,42±0,15	2,03±0,21	1,75±0,42	5,69±0,88
2,4-Octadienal ou 2,4-nonadienal	4,00±0,41	2,93±0,29	nq	nq	0,73±0,05	1,43±0,20	8,84±1,39	0,66±0,21

Benzilacetona^(?)	nd	6,54±0,39	0,61±0,25	3,99±0,67	7,10±0,95	15,40±3,46	nq	1,10±0,10
Guaiacol	4,49±0,27	7,53±1,91	nq	nq	nq	nq	3,00±1,98	1,82±1,29
n.i.	5,72±1,50	39,90±7,49	nq	33,60±2,49	nq	29,89±2,95	3,63±1,58	10,36±1,42
Álcool benzílico	1,76±0,21	nq	nq	nq	nd	nd	nq	nq
cis-β-Metil-γ-octalactona	18,22±0,58	14,77±3,57	nq	nq	nq	nq	nq	nd
Álcool fenil etílico^(?)	nq	nq	0,95±0,25	0,88±0,24	1,79±0,08	nq	nq	nq
BHT	1,06±0,28	1,81±0,65	0,57±0,27	0,77±0,17	0,77±0,21	nq	2,06±0,83	1,07±1,07
Ácido 2-furóico^(*)	nq	nq	nq	nq	nq	nq	nq	nq
Maltol	6,94±1,06	59,45±12,25	8,45±0,02	18,08±5,19	nq	10,42±1,08	4,12±1,54	4,49±4,27
n.i.	nd	9,57±1,50	nq	26,04±6,57	nq	nq	1,36±0,91	nq
1,2-di-2-furanil 2-hidroxietanona^(*)	nd	20,82±5,74	4,92±1,00	nq	nq	nq	nq	nq
n.i.	47,33±2,37	60,35±5,18	57,33±6,10	99,27±11,11	4,60±0,50	50,84±2,98	108,66±21,76	34,97±1,19
trans Benzalactona	20,57±3,13	1,90±0,39	4,56±0,73	3,27±0,21	42,53±2,91	56,12±7,08	6,22±0,08	5,29±3,20
Acetato de 2 metoxi-4-alilfenilo	74,84±0,81	30,41±3,36	36,96±10,61	20,28±0,10	4,74±0,52	13,05±1,34	18,03±2,27	10,94±6,31
Eugenol	57,04±4,78	81,05±0,93	86,15±8,45	144,28±6,64	46,23±3,29	76,09±0,36	99,39±1,99	90,79±22,83
Álcool linear C14-C18^(?)	13,71±1,62	14,24±5,46	10,62±4,30	nq	5,35±0,31	5,29±0,34	11,44±1,16	4,09±0,54

Ácido benzóico	nd	nd	nd	nd	nq	197,97±29,22	nq	nq
5-Hidroximetilfurfural	112,07±10,63	602,87±40,16	95,44±35,54	nq	nq	165,71±28,56	nq	19,32±6,84
Alilsiringol (isómero)	44,76±4,28	53,99±8,31	59,41±16,49	nq	15,11±0,20	40,78±1,45	37,14±4,96	12,97±6,19
Vanilina	64,54±1,27	591,32±111,09	87,13±18,07	1377,61±64,88	35,14±6,56	347,90±40,37	44,79±6,49	nq
Álcool linear C14-C18^(?) insaturado	12,75±3,72	nq	5,78±5,49	nq	15,63±0,24	64,39±8,16	9,02±1,84	nq
4-Propilguaicol	66,27±12,96	223,41±44,79	nq	419,13±166,73	nq	nq	30,07±10,17	47,34±5,19
Guaiacilacetona	6,63±1,13	65,53±7,74	nq	64,24±4,70	nq	nq	nd	8,65±1,75
cis ou trans Propenilsiringol	86,66±8,58	189,06±43,95	185,90±65,53	394,77±11,10	16,49±1,63	217,76±7,65	190,39±43,80	12,93±11,84
n.i.	22,20±4,74	101,63±15,50	18,17±7,11	248,35±7,35	nq	81,11±14,95	nq	nq
n.i.	607,62±12,20	397,12±59,06	336,29±53,64	204,07±17,94	368,72±2,21	323,62±6,66	263,42±20,26	nq
Siringaldeído	194,10±27,28	972,30±86,70	179,53±35,49	2552,75±240,62	92,25±16,92	860,56±59,07	132,36±18,39	170,38±7,91
n.i.	70,60±6,01	290,54±25,65	79,80±10,99	710,29±19,35	66,46±6,27	139,87±22,35	123,47±16,90	95,57±32,86
Ácido homovanílico	79,65±11,66	141,66±19,23	17,42±3,99	236,78±11,50	nq	nq	62,52±7,06	48,52±32,82
Acetosiringona	nd	55,33±8,62	nq	167,19±28,10	nq	72,21±15,12	nq	nq
n.i.	28,68±0,72	103,55±26,28	18,82±0,78	94,05±13,08	nq	nq	22,20±2,00	23,34±12,12
Esqualeno	249,88±101,17	184,19±19,19	7,71±1,59	nq	64,96±13,24	nq	143,42±27,42	nq
Antiarol	nd	nd	32,06±25,13	nq	379,74±38,87	479,948±41,19	20,84±1,06	nq

Ácido hexadecanóico	109,96±20,91	109,09±79,45	51,79±1,06	nq	118,14±14,49	nd	107,46±24,07	nq
Coniferaldeído	681,73±43,98	1857,65±192,99	518,65±28,89	2876,85±254,23	209,44±9,33	1619,29±118,82	nq	nq
2,4-Dihidroxibenzaldeído^(?)	nd	nd	207,68±218,56	nq	193,68±9,87	1582,22±164,16	nq	1836,70±659,50
n.i.	1161,85±34,72	640,84±152,18	434,24±35,89	nq	240,19±28,70	nd	463,43±96,43	nq
Álcool coniferílico	390,80±100,66	226,49±11,15	276,47±23,30	120,22±40,11	63,44±20,69	nd	438,79±22,25	78,78±44,01
Homovanilato de metilo^(?)	84,42±13,37	108,19±28,15	61,90±5,74	nq	nq	nd	nq	nq
Metil siringato^(?)	71,88±15,87	217,47±47,49	138,29±42,42	369,43±53,61	nq	nd	nd	nd
16-Heptadeceno-2,5,8-triona	68,99±16,32	237,60±32,13	82,68±15,97	547,62±31,38	89,89±3,74	395,07±45,27	69,86±0,21	201,34±36,59
Total	4556,66 ^a	8949,41 ^b	3199,46 ^{ad}	11433,63 ^c	2138,28 ^d	7133,82 ^b	2773,10 ^d	4222,10 ^a

Legenda: ^(?) Não existe certeza quanto à identificação; ^(*) Coelui com outros compostos; n.i. - Composto detectado mas não identificado; nq - Composto identificado mas não quantificado; nd - Composto não detectado; A quantificação de cada composto é apresentada com a média das 3 repetições mais ou menos o seu desvio padrão; Letras diferentes na linha denotam uma diferença significativa com nível de confiança de 95% no teste Tukey-Kramer Multiple Comparison Test.

Os valores elevados do desvio padrão, das várias variáveis, estarão relacionados, por um lado, com alguma variabilidade associada ao método de análise, e fundamentalmente com a elevada variabilidade associada à madeira. Com efeito, estudos de outros autores (Masson *et al.*, 1995; De Simon *et al.*, 1996; Mosedale e Savill, 1996; Canas *et al.*, 2000c; Doussot *et al.*, 2002) apresentaram também elevadas variabilidades relativamente ao teor de vários compostos.

4.1.2.1. Derivados dos polissacáridos

As principais substâncias derivadas dos polissacáridos são os aldeídos furânicos os quais resultam principalmente da termodegradação dos açúcares. De acordo com o mecanismo proposto por Hodge, (1967), as hexoses, constituintes da celulose, originam o 5-hidroximetilfurfural e o 5-metilfurfural, enquanto as pentoses, constituintes principais das hemiceluloses, originam o furfural.

O teor de aldeídos furânicos existentes nas madeiras é extremamente afectado pelo tratamento térmico a que estas se encontram sujeitas. Deste modo, o aumento do teor em aldeídos furânicos por influência da temperatura tem sido verificado em aquecimentos de amostras de carvalho à escala laboratorial (Marsal e Sarre, 1987; Canas, 2003) e, ainda, nas operações de queima realizadas nas condições de tanoaria, em madeira de carvalho (Nomdedeu *et al.*, 1988; Canas, 2003) e em madeira de castanheiro (Canas, 2003).

De um modo geral, os resultados do presente ensaio, mostram que as madeiras de carvalho, castanheiro, cerejeira e acácia não queimadas apresentam quantidades relativamente reduzidas de furfural, 5-metilfurfural, e 5-hidroximetilfurfural. Contudo, com o incremento da tosta, o teor destes compostos aumenta, estando este resultado de acordo com o obtido por Canas *et al.*, (1999), Caldeira *et al.*, (2005), Jordão *et al.*, (2006), Nonier *et al.*, (2006) e De Simón *et al.*, (2009b).

No que diz respeito aos produtos de degradação térmica dos polissacáridos, o furfural é o composto mais abundante, enquanto a produção de 5-metilfurfural e de 5-hidroximetilfurfural é mais limitada (Nabeta *et al.*, 1986; Marsal e Sarre, 1987). Este facto resulta da degradação preferencial das hemiceluloses e da maior estabilidade térmica da celulose, em virtude da sua natureza cristalina (Bourgois e Guyonnet, 1988;

De Simón *et al.*, 2009a). Apesar de esta informação corroborar os resultados do actual ensaio, os valores encontrados para o furfural e 5-hidroximetilfurfural são muito próximos.

Pode ainda afirmar-se, após análise dos teores em aldeídos fenólicos, que o carvalho é a espécie botânica que apresenta uma maior concentração destes compostos, seguido do castanheiro, da cerejeira e, por último, da acácia que apresenta teores mais reduzidos.

Neste ensaio verificou-se também que os teores de maltol aumentavam nas madeiras queimadas, relativamente ao carvalho e ao castanheiro. Relativamente às restantes madeiras não foi possível a sua quantificação para os dois tratamentos térmicos, pelo que não foi exequível a sua comparação. De Simón *et al.*, (2009a) obteve o mesmo resultado quando analisou aparas de carvalho verificando, portanto, o aumento dos seus teores quando se aumentava o grau de tosta. Este composto tem como origem a degradação das hexoses na presença de azoto, o qual apesar do seu baixo teor, está também presente nas madeiras (Bourgois e Guyonnet, 1988). Em todas as espécies analisadas, os teores de maltol são muito reduzidos, contudo, as madeiras de carvalho sujeitas a uma tosta média apresentaram os maiores teores deste composto.

Em particular, a degradação térmica dos polissacáridos leva à formação do álcool furfurílico. Atendendo aos resultados obtidos, pode concluir-se que o incremento no grau de tosta provoca uma diminuição do teor deste composto no carvalho e o seu aumento na cerejeira, embora os níveis deste composto sejam reduzidos nas quatro espécies botânicas analisadas neste trabalho. Segundo Chatonnet, (1995), este composto aumentava com a intensidade da queima.

O ácido acético é um produto secundário da degradação térmica da madeira (Fengel e Weneger, 1989; Bourgois e Guyonnet, 1988), o qual resulta da hidrólise dos grupos acetilo das hemiceluloses. O aumento da intensidade da queima da madeira de carvalho, realizada nas condições de tanoaria, induziu um aumento ligeiro do ácido acético livre, restando a maior parte do ácido acético sob a forma de grupos acetilados (Chatonnet e Boidron, 1989). Este facto foi também verificado no presente estudo, isto é, foi notório o aumento dos teores deste composto para o carvalho, cerejeira e acácia, embora todas as madeiras apresentassem teores muito baixos.

Por último, o aquecimento também conduz ao aparecimento de heterociclos azotados, tais como a piridina (Maga, 1985; Nabeta *et al.*, 1986; Chatonnet, 1995). Esta constatação está de acordo com os resultados obtidos neste trabalho uma vez que a piridina foi identificada em todas as madeiras analisadas embora em quantidades muito pouco significativas. Contudo, observou-se uma diminuição dos teores deste composto com o aumento da intensidade da tosta.

4.1.2.2. Derivados da lenhina e polifenóis

Dos compostos identificados e quantificados neste estudo pertencentes à classe dos fenóis voláteis, derivados da lenhina e dos polifenóis são de destacar o eugenol, o guaiacol, o 4-propilguaiacol e o isómero do alilsiringol. De um modo geral e de acordo com os resultados obtidos noutros ensaios (Maga, 1985; Dubois, 1989; Fengel e Wegener, 1989), a degradação térmica da lenhina conduz ao aparecimento de vários fenóis voláteis, pelo que os teores destes devem aumentar quando a intensidade de tosta aumenta.

O eugenol, como seria de esperar, aumenta ligeiramente a sua concentração quando as madeiras são sujeitas a uma tosta média em relação às madeiras não queimadas, sendo este facto notório para o carvalho, castanheiro e cerejeira. Contudo, na acácia pode considerar-se que existe um ligeiro decréscimo na concentração deste composto, quando estas são queimadas. As madeiras que possuíam maiores teores deste composto eram o castanheiro e a acácia.

O teor em eugenol nas madeiras de carvalho parece ser bastante influenciado pela espécie em estudo (Nabeta *et al.* 1986; Garcia-Romero *et al.*, 1998; Doussot *et al.* 2000). Por outro lado, o teor deste composto tende a variar dentro da própria árvore, Masson *et al.*, (1997) verificaram que o teor de eugenol variava desde a medula da árvore até à parte exterior do tronco. O processo de secagem da madeira também é de extrema importância na variabilidade dos teores deste composto (Masson *et al.*, 2000).

O guaiacol foi identificado nas 4 espécies de madeiras em estudo, contudo, a sua quantificação só foi possível para o carvalho pois nas restantes espécies estudadas neste trabalho, este composto aparece com teores muito reduzidos. Quando as madeiras de carvalho eram tostadas os teores de guaiacol aumentavam ligeiramente. Estes dados

estão de acordo com os resultados obtidos por outros investigadores (Marín, 2005; Diaz-Maroto *et al.*, 2008; De Simón *et al.*, 2009a; De Simón *et al.*, 2010), cujos estudos evidenciaram que os teores em guaiacol aumentavam ligeiramente quando as madeiras foram submetidas a tratamento térmico.

O 4-propilguaiacol foi também identificado nas 4 espécies em estudo, no entanto, apenas foi quantificado no carvalho, na acácia e no castanheiro (tosta média). De acordo com os resultados obtidos neste trabalho, constata-se que a queima origina o aumento do teor deste composto, tal como verificado por Diaz-Maroto *et al.*, (2008). É de salientar que, na classe dos fenóis voláteis, o 4-propilguaiacol surge como o composto mais abundante nas madeiras comparativamente com os restantes compostos quantificados pertencentes a esta família.

Estudos recentes em diferentes espécies de madeiras de carvalho evidenciaram que, quando as madeiras são sujeitas à queima, os teores do isómero do alilsiringol aumentam (Cadahía, 2003; De Simón *et al.*, 2010). No presente ensaio verificou-se que os teores deste composto aumentam quando as madeiras de carvalho e de cerejeira são queimadas, mas que diminuem na acácia. No caso do castanheiro, não foi possível estabelecer uma relação entre o efeito da queima e o teor deste isómero uma vez que o teor deste composto não foi quantificável nas madeiras sujeitas à tosta média

Os aldeídos fenólicos (vanilina, benzaldeído, coniferaldeído e siringaldeído) foram identificados nas madeiras analisadas constituindo um outro grupo de compostos que resultam da degradação térmica das lenhinas. Diversos estudos mostraram que os seus teores são muito reduzidos na madeira não queimada de carvalho (Chatonnet e Boidron., 1989; Nomdedeu *et al.*, 1988; Canas, 2003) e de castanheiro (Canas *et al.*, 2000c). O processo de queima, nas madeiras de carvalho e castanheiro, provoca um aumento significativo no teor destes aldeídos fenólicos (Nomdedeu *et al.*, 1988; Chatonnet e Boidron., 1989; Dubois, 1989; Natali *et al.*, 2006). Este facto vem comprovar os valores obtidos no presente ensaio, isto é, de um modo geral pode afirmar-se que os compostos pertencentes a esta classe aumentam drasticamente, com a queima, nas diferentes espécies botânicas estudadas neste trabalho.

Em particular, o coniferaldeído e o siringaldeído são os aldeídos fenólicos que surgem em maiores quantidades nas madeiras analisadas, sendo que o primeiro

composto é extremamente abundante nas madeiras de carvalho, castanheiro e cerejeira, principalmente quando estas foram submetidas a tratamento térmico. No caso do siringaldeído, embora apresente valores elevados em todas as madeiras, é no castanheiro com tosta média que as suas concentrações são mais elevadas.

A vanilina é o composto que contribui de forma mais significativa para o aroma, devido ao seu baixo limiar de detecção olfativo (Maga, 1985) e provavelmente, por essa razão, tem sido o mais estudado. No presente estudo, os seus teores aumentam bastante quando as madeiras são queimadas, estando estes resultados de acordo com os trabalhos de diversos autores (Caldeira *et al.*, 2005; Díaz-Maroto *et al.*, 2008; De Simón *et al.*, 2009^a; De Simón *et al.*, 2010).

O aquecimento da madeira origina também a libertação de fenilcetonas, no entanto a sua origem não se encontra bem esclarecida (Maga, 1985; Chatonnet e Boidron, 1989). Contudo, Faix *et al.* (1987) num estudo que incidiu na pirólise da lenhina verificaram o aparecimento de diversos compostos, nomeadamente a acetovanilona, a acetosiringona e, ainda, de outras fenilcetonas.

Relativamente às madeiras estudadas neste trabalho apenas foi identificada a acetosiringona, a qual apresenta valores quase vestigiais nas madeiras não queimadas, não sendo possível a sua quantificação. Contudo os resultados obtidos apontam para que os seus teores aumentem quando a madeira é queimada, tendo sido esta tendência também observada por outros autores (De Simón *et al.*, 2009a; De Simón *et al.*, 2010). Segundo Chatonnet e Boidron, (1989), a madeira de carvalho não queimada apresenta apenas quantidades vestigiais de acetovanilona mas, após a queima, estes autores identificaram a acetovanilona, a propiovanilona e a butirovanilona, referindo que só aparecem a partir da queima média. Por sua vez, Nishimura *et al.* (1983) verificaram também o aumento da propiovanilona e da acetosiringona com o incremento no grau de tosta

O tipo de lenhinas é variável entre os vários tipos de plantas, sendo a lenhina de carvalho, tal como as de outras angiospérmicas, constituída principalmente por unidades siringilo e guaiacilo e, em menor proporção, por unidades fenilo, unidades estas derivadas dos álcoois *p*-cumarílico, coníferílico e sinapílico, considerados os precursores da biossíntese das lenhinas nas plantas (Fengel e Wegener, 1989).

Assim, o álcool coníferílico foi também identificado nas 4 espécies de madeiras estudadas. Por observação da tabela 2, o teor deste composto diminui significativamente nas madeiras sujeitas ao processo de queima. Pelo contrário, o carvalho e a acácia, na ausência de tosta, apresentam os teores mais elevados deste álcool.

Quanto aos ácidos derivados das lenhinas e polifenóis apenas foi identificado o ácido benzóico, que foi detectado nas madeiras de cerejeira e acácia.

4.1.2.3. Derivados dos lípidos

A formação de lactonas durante o aquecimento da madeira poderá resultar da oxidação térmica dos ácidos gordos. Com efeito, têm sido identificadas várias lactonas resultantes da degradação térmica dos lípidos (Grosh, 1982). Derivado destes compostos, tem sido identificado as β -metil- γ -octalactonas, que têm sido encontradas por vários autores na madeira de carvalho e castanheiro (Clímaco 1987, Clímaco *et al.* 1990, Clímaco e Borralho 1996). No presente ensaio foi identificado o isómero *cis* de β -metil- γ -octalactona nas 4 espécies, apenas não foi detectado nas madeiras de acácia com tosta média. Contudo, encontrava-se com teores relativamente baixos pelo que a sua quantificação apenas foi possível para o carvalho. Neste caso, os teores de *cis*- β -metil- γ -octalactonas, quase não variaram pela acção da queima, o que também foi verificado por Artajona, (1991) que não encontrou relação entre a queima das quartolas de carvalho e o teor de β -metil- γ -octalactonas. Por outro lado Marin, (2005) e Díaz-Maroto *et al.*, (2008), notaram que este composto diminuiu quando as madeiras eram queimadas. Segundo Hidalgo, (2003) os teores de lactonas diminuem sensivelmente de uma madeira não queimada para a tosta ligeira e, posteriormente, à medida que se aumenta o grau de tosta os seus teores aumentam. No entanto, se o aquecimento for prolongado, pode ocorrer a sua destruição, tal como verificado por Marsal e Sarre, (1987) num estudo de queima realizado com madeira de carvalho. Chatonnet e Boidron, (1989) verificaram que a queima da madeira de carvalho, realizada em condições de tanoaria, originava o aumento do teor de β -metil- γ -octalactonas. Os mesmos autores verificaram ainda que o isómero dominante na madeira de carvalho queimada e não queimada era o isómero *cis*. À semelhança do que foi referido anteriormente para o eugenol existe uma grande variabilidade nos teores de *cis*- β -metil- γ -octalactonas

(Masson *et al.*, 1995; De Simon *et al.*, 1996; Mosedale *et al.*, 1996; Masson *et al.* 1997; Canas *et al.*, 2000c).

Relativamente aos ácidos derivados dos lipídios, foram identificados nas madeiras analisadas os ácidos propanóico, butanóico e hexadecanóico. O ácido propanóico foi apenas identificado nas madeiras de carvalho (sem tosta e tosta média) e castanheiro (sem tosta), contudo não foi possível efectuar a sua quantificação. Quanto aos teores de ácido hexadecanóico, apontam para uma diminuição com o efeito da queima. Segundo Caldeira, (2004) para a maioria dos ácidos não se detectou efeito da queima, com excepção do ácido propanóico, cujo teor aumentou com o nível de queima, atingindo o máximo na queima forte.

4.1.2.4. Outros

Para além dos compostos anteriormente referidos foram ainda identificados outros compostos, tais como o acetato de 2-metoxi-4-alilfenilo, cujos teores diminuíram pela acção da queima nas madeiras de carvalho, castanheiro e acácia, e aumentaram na madeira de cerejeira. No caso do ácido homovanílico verificou-se um aumento dos seus teores com a queima nas madeiras de carvalho, castanheiro e acácia (quanto à cerejeira, não foi possível a sua quantificação). É ainda notório que o castanheiro apresenta os teores mais elevados para este composto, seguido do carvalho. Foi também identificado nas madeiras estudadas, com excepção do carvalho, o antiarol que se apresenta em concentração relativamente elevada na cerejeira comparativamente às restantes espécies estudadas.

O esqualeno foi detectado em todas as espécies em estudo, sendo possível ainda afirmar que os seus teores diminuem quando as madeiras são queimadas. Por sua vez, o *cis* ou *trans*-propenilsiringol também foi detectado e quantificado nas 4 espécies de madeiras e, os valores apresentados na tabela 2, mostram que a queima aumentou os seus teores, excepto na acácia.

O composto 16-heptadeceno-2,5,8-triona foi detectado em todas as madeiras estudadas, sendo de salientar um grande aumento dos seus teores nas madeiras queimadas. Por outro lado, os teores de *trans*-benzalacetona diminuem em todas as

madeiras sujeitas a tosta média. É também possível verificar que a cerejeira é a espécie que apresenta maiores teores deste composto.

Tal como mostra a tabela 2, foram ainda detectados compostos que apresentavam picos e respectivos espectros de massa muito bem definidos, embora não tenha sido possível a sua identificação estes foram quantificados, ao analisar os seus teores é notória uma tendência para que a maioria aumente quando as madeiras eram queimadas.

O composto BHT foi também identificado neste ensaio, contudo não pertencia à composição química das madeiras mas sim dos reagentes, este composto é usado de modo a evitar a oxidação dos mesmos, ao eliminar os radicais livres.

De um modo geral, para cada espécie, sem tosta e com tosta foi calculado o somatório total dos seus compostos e após a análise destes valores verifica-se que nas madeiras queimadas o total de compostos voláteis é significativamente superior ao das madeiras não queimadas. Este facto foi também verificado em inúmeros ensaios descritos na literatura, nos quais as madeiras de carvalho não queimadas possuíam apenas alguns dos compostos em quantidades apreciáveis sendo que, uma grande parte deles, era formada posteriormente durante os processos de tratamento térmico (Sefton *et al.*, 1993; Haluk e Irmouli, 1997; Chatonnet, 1999; Hale *et al.*, 1999; Doussot *et al.*, 2002; Caldeira, 2004; Natali *et al.*, 2006).

Os teores totais referentes aos compostos do aroma quantificados nas madeiras analisadas foram submetidos a uma análise de variância (ANOVA), considerando dois factores de variação: a espécie botânica (A, B, C, D) e o nível de tosta (1 e 2). O teste de comparação de médias foi realizado para um nível de confiança de 95%. Após a análise estatística é possível afirmar que existem diferenças significativas entre as espécies botânicas ($p=0,002210$), entre as madeiras sem tosta e tosta média ($p=0,000002$) e entre a interacção da espécie e respectiva tosta ($p=0,009321$).

Deste modo, foi possível verificar que não houve diferenças significativas entre o carvalho sem tosta, o castanheiro sem tosta e a acácia sujeita a uma tosta média, por sua vez, também não foram encontradas diferenças entre o castanheiro sem tosta, a cerejeira sem tosta e a acácia sem tosta. O mesmo se verificou para o carvalho sujeito à

tosta média e a cerejeira com o mesmo nível de tosta. Por fim o castanheiro (tosta média) possuía diferenças significativas relativamente às restantes espécies com diferentes níveis de tosta.

Cada espécie apresentou um perfil sensivelmente característico, a acácia embora com quantidades relativamente pequenas para os diversos compostos identificados, apresentou teores elevados de eugenol, siringaldeído, ácido homovanílico, ácido coníferílico, 2,4-dihidroxibenzaldeído e 16-heptadeceno-2,5,8-triona. No ensaio dirigido por De Rosso *et al.*, (2008), a acácia apresentou valores significativos de vanilina, siringaldeído e 2,4-dihidroxibenzaldeído, e baixos teores de eugenol.

Neste trabalho, foi ainda notório que, nas madeiras de acácia queimadas, os teores da maioria dos compostos baixaram significativamente.

Quanto aos extractos de castanheiro e carvalho estes caracterizaram-se por possuir uma grande riqueza em compostos voláteis, fundamentalmente aldeídos fenólicos, fenóis voláteis e aldeídos furânicos, tal como também foi verificado por De Rosso *et al.*, (2008).

Nos extractos de madeira de cerejeira, foram identificados vários compostos voláteis, mas na sua maioria com teores reduzidos, contudo alguns compostos fundamentalmente nas madeiras queimadas apresentavam teores significativamente elevados, tais como a vanilina, o *cis* ou *trans*- propenilsiringol, o siringaldeído, o antiarol, o coniferaldeído e o 16-heptadeceno-2,5,8-triona.

Em suma, pode ainda observar-se que a madeira de castanheiro com tosta média foi a que apresentou um valor total de compostos voláteis mais elevado, seguido do carvalho, da cerejeira e, por último, da acácia.

5. Conclusão

No presente trabalho foi estudada a influência de diferentes espécies botânicas (carvalho, castanheiro, cerejeira e acácia) e do grau de tosta na composição química volátil das diversas madeiras.

No que respeita à espécie botânica, os ensaios realizados evidenciaram que, em termos globais, o carvalho e o castanheiro são as espécies mais ricas em compostos voláteis potencialmente extraíveis, sem tosta e com tosta média, respectivamente.

Quando as madeiras são queimadas, neste caso particular sujeitas a uma tosta média, verificou-se um aumento significativo dos teores totais de compostos voláteis existentes nas madeiras. O efeito da tosta foi mais pronunciado nas madeiras de castanheiro e cerejeira. Este facto leva-nos a concluir que as madeiras reagem de maneira diferente às mesmas condições de tosta, o que estará relacionado com as características físico-químicas de cada uma das espécies.

Porém, quando os compostos presentes nas madeiras são analisados individualmente, verifica-se que as diferentes espécies botânicas apresentam perfis diferentes. Por observação da tabela 2 constata-se que existem diferenças nos teores de algumas famílias de compostos em função da espécie botânica, como é o caso dos derivados furânicos (furfural, 5-metilfurfural, 5-hidroximetilfurfural) cujas concentrações apresentam valores mais baixos na cerejeira e na acácia. Na cerejeira foram encontrados teores elevados de antiarol, composto que não encontramos referido na literatura.

Com a queima, verificou-se de um modo geral e para todas as espécies, o aumento, fundamentalmente, dos aldeídos furânicos, fenóis voláteis e aldeídos fenólicos, o que demonstra o indiscutível impacto da tosta na composição química das madeiras, tanto quantitativamente como qualitativamente.

Foram ainda identificados alguns compostos para os quais não encontramos referências na bibliografia, tais como: acetato de 2-metoxi-4-alilfenilo (acetate of 2-methoxy-4-allylphenol), vinil benzoato (benzoic acid, vinyl ester), antiarol (3,4,5-trimethoxyphenol) e esqualeno (hexamethyl-2,6,10,14,18,22-tetracosahexane).

O carvalho tem sido ao longo do tempo citado pelas suas características enológicas como a melhor espécie destinada para este fim. No caso do carvalho nacional aqui estudado, este apresenta um elevado teor em compostos voláteis potencialmente extraíveis, o que lhe confere um bom potencial para o envelhecimento de bebidas alcoólicas.

O castanheiro é caracterizado por possuir uma boa porosidade, no presente ensaio este apresentou uma elevada composição química volátil, superior ao carvalho na grande maioria dos compostos detectados. Este pode ser portanto uma ótima alternativa às madeiras de carvalho, tanto para a construção de barricas como na forma de aparas, ao induzir um envelhecimento mais acelerado quando comparado com o carvalho.

A cerejeira parece ser uma madeira bastante equilibrada relativamente à sua composição química, no entanto a maioria dos compostos voláteis nela presentes encontram-se em pequenas quantidades. Esta é caracterizada por possuir uma grande porosidade o que torna limitada a sua utilização para o fabrico de barricas. Contudo penso que poderá apresentar bons resultados na forma de aparas quando não se pretenda aportar aos vinhos características muito marcadas a madeira e quando se visa acelerar o envelhecimento.

No presente ensaio, a acácia foi a espécie que apresentou os teores mais baixos dos diversos compostos voláteis detectados, no entanto penso que não deveria desde já ser desprezada. A acácia bem como as restantes espécies deveriam ser alvo de mais estudos de modo a comprovar o seu potencial para o envelhecimento de produtos enológicos.

Este estudo foi conduzido nas condições da prática de tanoaria, pelo que não foi possível assegurar o controlo de importantes factores que antecedem a obtenção das aparas, designadamente as condições de exploração florestal e a idade das árvores, por sua vez os diferentes períodos de secagem e o empirismo que envolve a queima das madeiras, originam uma enorme variabilidade na composição química volátil das madeiras. Assim todos estes factores deverão ser ponderados em trabalhos futuros, tendo, no entanto, presente que o seu controlo significa uma grande discrepância das condições tecnológicas actuais usadas nas diversas tanoarias.

6. Referências bibliográficas

- Aiken J. W., Noble A. C. (1984). Comparison of the aroma of oak and glass-aged wines. *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 35, pp. 196-199.
- Alañón M. E., Rubio H., Díaz-Maroto M.C., Pérez-Coello M.S. (2010). Monosaccharide anhydrides, new markers of toasted oak wood used for ageing wines and distillates. *Food Chem.*, Vol. 119, pp. 505-512.
- Artajona J., Barbero E., Llobet M., Marco J., Parente F. (1991). Influence du «bousinage» de la barrique sur les qualités organoleptiques des brandies vieillis en futs de chêne. In: Les eaux de vie traditionnelles d'origine viticole. Lavoisier, pp. 197-205.
- Barata A., Campo E., Malfeito-Ferreira M., Loureiro V., Cacho J., Ferreira V. (2011). Analytical and Sensorial Characterization of the Aroma of Wines Produced with Sour Rotten Grapes Using GC-O and GC-MS: Identification of Key Aroma Compounds. *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 59, pp. 2543-2553.
- Bartle K. D., Myers P. (2002). History of gas chromatography. *Trends Anal. Chem.*, vol. 21, pp. 547-557.
- Belchior A. P., Caldeira I., Tralhão G., Costa S., Lopes C., Carvalho E. (2001). Evolução das características físico-químicas e organolépticas de aguardentes Lourinhã ao longo de cinco anos de envelhecimento em madeiras de carvalho e de castanheiro. *Ciência Téc. Vitiv.*, Vol. 16 (2), pp. 81-94.
- Belchior A. P., Caldeira I., Tralhão G., Costa S., Lopes C., Carvalho E. (1998). Incidência da origem e queima da madeira de carvalho (*Q. pyrenaica*, *Q. robur*, *Q. sessiliflora*, *Q. alba*/*Q. stellata*/*Q. lyrata*/*Q. bicolor*) e de castanho (*C. sativa*) em características físico-químicas e organolépticas de aguardentes Lourinhã em envelhecimento. *Ciência Téc. Vitiv.*, vol. 13, pp. 107-118.
- Benavent J. L. A., Cano M. I. A. (2003). Tecnología enológica. Editorial Sintesis. Manuales científico-técnicos. Espanha.
- Biblia. Génes (Gn 9).
- Biermann C. J., McGinnis G. D., Schultz T. P. (1987). Scanning Electron Microscopy of Mixed Hardwoods Subjected to Various Pretreatment Processes. *American Chem. Soc.*, Vol. 35, pp. 713-716.
- Bourgeois J., Guyonnet R. (1988). Characterization and analysis of torrefied wood. *Wood Sci. Technol.*, Vol. 22, pp. 143-155.
- Cadahía E., De Simón B. F., Jalocho J. (2003). Volatile compounds in Spanish, French, and American oak woods after natural seasoning and toasting. *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 51, pp. 5923-5932.
- Caldeira I., Bruno de Sousa R., Belchior A. P., Clímaco M. C. (2008). Sensory and chemical approach to the aroma of wooden aged Lourinhã wine brandy. *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 23, pp. 97-110.
- Caldeira I., Bruno de Sousa R., Belchior A. P., Clímaco M. C. (2006). Volatile composition of oak and chestnut woods used in brandy ageing: Modification induced by heat treatment. *J. of Food Eng.*, Vol. 76, pp. 202-211.
- Caldeira I., Mateus A. M., Belchior A. P. (2005). Flavour and odour profile modifications during the first five years of Lourinhã brandy maturation on different wooden barrels. *Analytica Chim.*, Acta 563, pp. 264-273.

- Caldeira I. (2004). O aroma de aguardentes v\u00ednicas Envelhecidas em madeira. Import\u00e2ncia da tecnologia de tanoria. Tese de douturamento. Universidade t\u00e9cnica de Lisboa. Instituto superior de agronomia.
- Canas S., Concei\u00e7\u00e3o M. L., Spranger L. I., Belchior A. P. (1999). Low Molecular Weight Organic Compounds of Chestnut Wood (*Castanea sativa* L.) and Corresponding Aged Brandies. *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 47, pp. 5023-5030.
- Canas S., Grazina N., Belchior A. P., Spranger M. I., Bruno de Sousa R. (2000b). Modelisation of heat treatment of portuguese oak wood (*Quercus pyrenaica* L.). Analysis of the behaviour of low molecular weight phenolic compounds. *Ci\u00eanciaT\u00e9c.Vitiv.*, Vol. 15, pp. 75-94.
- Canas S., Leandro M. C., Spranger M. I., Belchior A. P. (2000c). Influence of botanical species and geographical origin on the content of low molecular weight phenolic compounds of woods used in portuguese cooperage. *Holzforschung*, Vol. 54, pp. 255-261.
- Canas S., Leandro M. C., Spranger M. I. (1998). Efeitos do n\u00edvel de queima nos compostos extract\u00edveis de madeiras utilizadas em tanoaria. Compostos fen\u00f3licos e alde\u00eddos fur\u00e2nicos. In: 4\u00b0 Simp\u00f3sio de Vitivinicultura do Alentejo-Actas, Vol. 2, pp. 223-229.
- Canas S., Caldeira I. (2009). O envelhecimento de aguardentes v\u00ednicas. A madeira. Instituto nacional de recursos biol\u00f3gicos. I.P. L-INIA/Dois Portos.
- Canas S. (2003). Estudo dos compostos extra\u00edveis de madeira (Carvalho e Castanheiro) e dos processos de extrac\u00e7\u00e3o na perspectiva do envelhecimento em Enologia. Tese de Doutoramento em Engenharia Agro-Industrial, UTL-ISA, Lisboa.
- Cl\u00edmaco M. C., Belchior A. P., Belchior R. M. (1990). A utiliza\u00e7\u00e3o de aparas de madeira no envelhecimento de vinhos tintos. *Ci\u00eancia T\u00e9c. Vitiv.*, Vol. 9, pp. 53-61.
- Cl\u00edmaco M. C., Borralho A. (1996). Influence des technologies d'\u00e9levage dans les transformations des composants de l'ar\u00f4me des vins rouges. In: Oenologie 95-5e Symposium international d'oenologie. 415-418. Lonvaud-Funel A. (ed.), TEC & DOC-Lavoisier, Paris.
- Cl\u00edmaco M. C., d'Abreu D. C. (2008). Influ\u00eancia da origem da madeira de carvalho no envelhecimento de vinhos tintos. *Ci\u00eancia T\u00e9c. Vitiv.*, Vol. 23 (2), pp. 111-117.
- Cl\u00edmaco M. C. (1987). Efeitos do envelhecimento na composi\u00e7\u00e3o arom\u00e1tica e na qualidade de vinhos tintos. INIAEVN, Dois Portos.
- Chatonnet P., Boidron J. N. (1989). Incidence du traitement thermique du bois de ch\u00eane sur sa composition chimique. D\u00e9finition des param\u00e8tres thermiques de la chauffe des f\u00fats en tonnellerie. *Conn. Vigne Vin*, Vol. 23, pp. 77-87.
- Chatonnet P., Dubourdiou D. (1998). Identification of substances responsible for the "sawdust" aroma in oak wood. *J.Sci. Food Agric.*, Vol. 76, pp. 179-188.
- Chatonnet P. (1999). Discrimination and control of toasting intensity and quality of oak barrels. *Am. J. Enol. Vitic.*, Vol. 50, pp. 479-494.
- Chatonnet P. (1995). Influence des proc\u00e9d\u00e9s de tonnellerie et des conditions d'\u00e9levage sur la composition et la qualit\u00e9 des vins \u00e9lev\u00e9s en f\u00fat de ch\u00eane. 268 p. Th\u00e8se Doctorat. UFR Institut d'Oenologie, Universit\u00e9 de Bordeaux II, Bord\u00e9us.
- Citron G. (2005). Uso del legno in enologia: specie botaniche utilizzate, anatomia e classificazione. *L'Informatore Agrario*, Vol. 59(50), pp. 69-72.

- Coralia V. G., Siew-Young Q., Ralph J. S., Robert A. W. (2001). Characterization of the Bound Volatile Extract from Baby Kiwi. *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 10, pp. 1021-1469c.
- Cutzach I., Chatonnet P., Henry R., Dubourdiou D. (1997). Identification of volatile compounds with a "toasty" aroma in heated oak used in barrelmaking. *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 45, pp. 2217-2224.
- De Simón B. F., Cadahía E., Álamo M., Nevares I. (2009a). Effect of size, seasoning and toasting in the volatile compounds in toasted oak wood and in a red wine treated with them. *Analytica Chim., Acta* 660, pp. 211-220.
- De Simón B. F., Conde E., Cadahia E., Garcia-Vallejo M. C. (1996). Low molecular weight phenolic compounds in woods of Spanish, French and American oak. *J. Sci. Tech. Tonnellerie*, Vol. 2, pp. 13-23.
- De Simón B. F., Esteruelas E., Muñoz A. M., Cadahía E., Sanz M. (2009b). Volatile Compounds in Acacia, Chestnut, Cherry, Ash, and Oak Woods, with a View to Their Use in Cooperage. *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 57, pp. 3217-3227.
- De Simón B. F., Muiño I., Cadahía E. (2010). Characterization of volatile constituents in commercial oak wood chips. *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 58, pp. 9587-9596.
- De Rosso M., Cancian D., Panighe A., Vedova D., Flamini R. (2008). Chemical compounds released from five different woods used to make barrels for aging wines and spirits: volatile compounds and polyphenols. *Wood Sci Technol.*, Vol. 43, pp. 375-385.
- De Rosso M., Panighel A., Vedova A. D., Stella L., Flamini R. (2009). Changes in chemical composition of red wine aged in acácia, cherry, chestnut, mulberry, and oak wood barrels. *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 57, pp. 1915-1920.
- Diaz-Maroto M. C., Castro-Vázquez L., De Torres C., Pérez-Coelho M. S. (2008). Aroma-active compounds of American, French, Hungarian and Russian oak woods, studied by GC-MS and GC-O. *Flavour Frag. J.*, Vol. 23, pp. 93-98.
- Dorminé A. (2006). Vinhos. Kōnemam. Edição em português.
- Doussot F., De Jeso B., Quideau S., Pardon P. (2002). Extractives content in cooperage oak wood during natural seasoning and toasting; influence of tree species, geographic location and single tree effects. *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 50, pp. 5955-5961.
- Doussot F., Pardon P., Dedier J., De Jeso B. (2000). Individual, species and geographic origin influence on cooperage oak extractable content (*Quercus robur L.* and *Quercus petraea Liebl.*). *Analisis*, Vol. 28, pp. 960-965.
- Dubois P., (1989). Apport du fût de chêne neuf à l'arôme des vins. *R. F. Oenol.*, Vol. 120, pp. 19-24.
- Faix O., Meier D., Grobe I. (1987). Studies on isolated lignins and lignins in wood materials by pyrolysis-gas chromatography with flame ionization detection. *J. Anal. App. Pyr.*, Vol. 11, pp. 403-416.
- Fengel D., Wegner G. (1989). Wood. Chemistry, Ultrastructure, Reactions. Walter de Gruyter (Ed.), Berlin.
- Ferreira V., Aznar M., Lopez, R., Cacho J. (2001). Quantitative gas chromatography-olfactometry carried out at different dilutions of an extract. Key differences in the odor profiles of four high-quality Spanish aged red wines. *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 49, pp. 4818-4824.

- Feuillat F., Keller R. (1997). Variability of oak wood (*Quercus robur* L., *Quercus petraea* Liebl.). Anatomy relating to cask properties. *J. Enol. Vit.*, Vol. 48, pp. 502-508.
- Flamini R., Traldi P. (2010). *Mass Spectrometry in Grape and Wine Chemistry*. John Wiley e Sons, Inc.
- Flamini R., Vedova A. D., Cancian D., Pannighel A., De Rosso M. (2007). GS/MS- positive ion chemical ionization and MS/MS study of volatile benzene compounds in five different woods used in barrel making. *J. Mass Spectrometry*, Vol. 42, pp. 641-646.
- Garcia-Romero E., Pérez-Coello M. S., Sanz J., Cabezudo M. S. (1998). Quantitative analysis of the principal volatile compounds in oak wood by direct thermal desorption (DTD) and GC/MS. Analysis. *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 26, pp. 33-35.
- Garde-Cerdán T., Ancín-Azpilicueta C. (2006). Review of quality factors on wine ageing in oak barrels. *Trends in Food Scien. & Technol.*, Vol.17, pp. 438-447.
- Gomes da Silva M. D. R., Chaves das Neves H. J. (1999). Complementary Use of Hyphenated Purge-and-Trap Gas Chromatography Techniques and Sensory Analysis in the Aroma Profiling of Strawberries (*Fragaria ananassa*). *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 47, pp. 4568-4573.
- Giergielewicz-Mozajska H., Dabrowsky L., Namienik. J. (2001). Accelerated solvent extraction (ASE) in the analysis of environmental solid samples some aspects of theory and practice. *Crit.Rev. Anal. Chem.*, Vol. 31, pp. 149-165.
- Grosh W. (1982). Lipid degradation products and flavour. In: *Food Flavours*. Part A. pp. 325-398.
- Guchu E., Díaz-Maroto M. C., Pérez-Coello M. S., González-Viñas M. A., Cabezudo M. D. (2006). Volatile composition and sensory characteristics of Chardonnay wines treated with American and Hungarian oak chips. *Food Chem.*, Vol. 99, pp. 350-359.
- Günther C., Mosande A. (1987). Stereomere Aromastoffe. XV. Chirospzifische Analyse natürlicher Aromastoffe: 3-metil-4-Octanolif -LL Quercus - «Wihisky lacton» *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, Vol. 185, pp. 1-4.
- Hagrey S. A. (2006). Geophysical imaging of root-zone, trunk, and moisture heterogeneity. *J. Exp. Bot.*, Vol. 58 (4), pp. 839-854.
- Hale M. D., McCafferty K., Larmie E., Newton J., Swan J. S. (1999). The influence of oak seasoning and toasting parameters on the composition and quality of wine. *Am. J. Enol. Vitic.*, Vol. 50, pp. 495-502.
- 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.
- Hidalgo J. T. (2003). *Tratado de enologia (2º vol)*. 1ª edição. S.a. Mundi-prensa libros. Madrid.
- Hodge J. E. (1967). Non-enzymatic browning reaction. In: *Symposium on Foods. Chemistry and Physiology of flavours*, pp. 465-491.
- Jaarsveld F. P. V., Hattingh S., Minnaar1 P., Blom M. (2008a). Rapid Induction of Ageing Character in Brandy - Effects of Extraction Media and Preparation Conditions. *S. Afr. J. Enol. Vitic.*, Vol. 30, No. 1.
- Jaarsveld F. P. V., Hattingh S., Minnaar1 P., Blom M. (2008b). Rapid Induction of Ageing Character in Brandy - Products. Influence of Type of Oak. *S. Afr. J. Enol. Vitic.*, Vol. 30, No. 1.

- Jaarsveld F. P. V., Hattingh S., Minnaar P., Blom M. (2008c). Rapid Induction of Ageing Character in Brandy - Influence of toasting. *S. Afr. J. Enol. Vitic.*, Vol. 30, No. 1.
- Johnson H., Pierrick E. (2009). História do vinho. CMS Editora.
- Jordan M. J., Margaria C. A., Shaw P. E., Goodner K. L. (2002). Aroma active components in aqueous Kiwi fruit essence and Kiwi fruit puree by GC-MS and multidimensional GC/GC-O. *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 50, pp. 5386-5390.
- Jordão A. M., Ricardo-da-Silva R. M., Laureano O., Adams A., Demyttenaere J. R. V., De Kimpe V. (2006). Volatile composition analysis by solid-phase microextraction applied to oak wood used in cooperage (*Quercus pyrenaica* and *Quercus petraea*): effect of botanical species and toasting process. *J. Wood Sci.*, Vol. 52, pp. 514-521.
- Jordão A. M., Ricardo-da-silva J. M., Laureano O., Mullen A., Crozier A. (2008). Effect of ellagitannins, ellagic acid and volatile compounds from oak wood on the (+)-catechin, procyanidin B1 and malvidin-3-glucoside content of model wines. *Aust. J. of Grape and Wine Research*, Vol. 14, pp. 260-270.
- Jordão A. M., Ricardo-da-Silva J. M., Laureano O. (2006). Extraction of Some Ellagic Tannins and Ellagic Acid from Oak Wood Chips (*Quercus pyrenaica* L.) in Model Wine Solutions: Effect of Time, pH, Temperature and Alcoholic Content. *S. Afr. J. Enol. Vitic.*, Vol. 26, No. 2.
- Kanasawud P., Crouzet J. C. (1990). Formation of volatile components during thermal degradation of carotenoids in model system. In: *Flavors and off-flavours*, Vol. 89, pp. 795-810.
- Keller R. (1987). Différents variétés de chênes et leur répartition dans le monde. *Conn. Vigne Vin*, Vol. 21, pp. 191-229.
- Kilic A., Hafizoglu H., Kollmannsberger H., Nitz S. (2004). Volatile constituents and key odorants in leaves, buds, flowers, and fruits of *Laurus nobilis* L. *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 52, pp. 1601-1606.
- Koussissi E., Dourtoglou V. G., Ageloussis G., Paraskevopoulos Y., Dourtoglou A., Paterson A., Chatzilazarou A. (2009). Influence of toasting of oak chips on red wine maturation from sensory and gas chromatographic headspace analysis. *Food Chem.*, Vol. 114, pp. 1503-1509.
- Kozlovic G., Jeromel A., Maslov L., Pollnitz A., Orlic A. (2010). Use of acacia barrique barrels- Influence on the quality of Malvazija from Istria wines. *Food Chem.*, Vol. 120, pp. 698-702.
- Leffingwell J. C., Alford E. D. (2005). Volatile constituents of perique tobacco. *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 4, pp. 899-915.
- Maga J.A., Sizer C. E. (1973). Pyrazines in foods: a review. *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 21, pp. 22-30.
- Maga J. A. (1996). Oak lactones in alcoholic beverages. *Food Rev. Int.*, Vol. 12, pp. 105-130.
- Maga J.A. (1985). Flavor contribution of wood in alcoholic beverages. In: *Progress in flavour research*. Vol. 1984, pp. 409-416.
- Mehran M., Cooper W. J., Golkar N., Nickelsen M. G., Mittlefeldt E. R., Guthrie E., Jennings W. (1991). *High Resolut. Chromatogr.*, Vol. 14, pp. 745-750.
- Marín F. Z. (2005). Los aromas que el roble aporta al vino; influencia del grado de tostado de las duelas. Unidad de Enología del Centro de Referencia en Tecnología (CeRTA) Departamento de Bioquímica y Biotecnología Facultad de Enología de Tarragona. Universidad Rovira i Virgili.

- Marsal F., Sarre C. (1987). Étude par chromatographie en phase gazeuse de substances volatiles issues du bois de chêne. *Conn. Vigne Vin*, Vol. 21, pp. 71-80.
- Masson G., Baumes R., Moutounet M., Puech J. L. (2000). The effect of kiln-drying on the levels of ellagitannins and volatile compounds of European oak (*Quercus petraea* Liebl.) stave wood. *Am. J. Enol. Vitic.*, Vol. 51, pp. 201-214.
- Masson G., Guichard E., Fournier N., Puech J. L. (1995). Stereoisomers of β -methyl- γ -octalactone. II- Contents in the wood of French (*Quercus robur* and *Quercus petraea*) and American (*Quercus alba*) oaks. *Am. J. Enol. Vitic.*, Vol. 46, pp. 424-428.
- Masson G., Puech J. L., Baumes R., Moutounet M. (1997). Les extractibles du bois de chêne. Relation entre l'âge et la composition du bois. Impact olfactif de certains composés extraits par le vin. *Rev. des Oenologues*, Vol. 82, pp. 20-23.
- McGovern 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. Philadelphia.
- 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*, Vol. 22, pp. 169-190.
- Morales M. L., Benitez B., Troncoso A. M. (2004). Accelerated aging of wine vinegars with oak chips: evaluation of wood flavour compounds. *Food Chem.*, Vol. 88, pp. 305-315.
- Mosedale J. R., Puech J. -L. (1998). Wood maturation of distilled beverages. *Trends in Food Scienc. e Technl.*, Vol. 9, pp. 95-101.
- Mosedale J. R., Savill P. S. (1996). Variation of heartwood phenolics and oak lactones between the species and phenological types of *Quercus petraea* and *Q. robur*. *Forestry*, Vol. 69, pp. 47-55.
- Moutounet M., Puech J.-L., Keller R., Feuillat F. (1999). Les caractéristiques du bois de chêne en relation avec son utilisation en oenologie. Le phénomène de duramisation et ses conséquences. *R. F. Oenol.*, Vol. 174, pp. 12-17.
- Moutounet M., Rabier P., Puech J. -L., Verette E., Barillère J. M. (1989). Analysis by HPLC of extractable substances in oak wood. Application to a chardonnay wine. *Sci. Aliments*, Vol. 9, pp. 35-52.
- Nabeta K., Yonekubo J., Miyake M. (1986). Analysis of volatile constituents of european and japanese oaks. *Mokuzai Gakkaishi*, Vol. 32, pp. 921-927.
- Natali N., Chinnici F., Riponi C. (2006). Characterization of Volatiles in Extracts from Oak Chips Obtained by Accelerated Solvent Extraction (ASE). *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 54, pp. 8190-8198.
- Nishimura K., Ohnishi M., Masuda M., koga K., Matsuyama R. (1983). Reactions of wood components during maturation: origin and development. In: *Flavour of distilled beverages*, pp. 241-255.
- Nomdedeu L., Leaute R., GrandChamp B., Bonnichon C., Laurichesse D., Trichet P. (1988). Brûlage des barriques de chêne et qualité des vins de Médoc. *Progrés Agric. et Viticole*, Vol. 105, pp. 505-556.
- Nonier M. F., Vivas N., Vivas de Gaulejac N., Absalon C., Souliè Ph., Fouquet E. (2006). Pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry of *Quercus* sp. wood. Application to structural elucidation of

- macromolecules and aromatic profiles of different species. *J. Anal. Appl. Pyrol.*, Vol. 75, pp. 181-193.
- Nonier M. F., Vivas N., Vivas de Gaulejac N., Absalon C., Vitry C., Fouquet E. (2005). Global fractionation of oak heartwood extractable polymers (lignins, polysaccharides and ellagitannins) by selective precipitations. *J. Sc. Food Agric.*, Vol 85, pp. 343-353.
- Perez-Coello M. S., Sanz J., Cabezudo M. D. (1998). Gas chromatographic-mass spectrometric analysis of volatile compounds in oak wood used for ageing of wines and spirits. *Chromatographia*, Vol. 47, pp. 426-432.
- Pettersen R. C. (1984). The chemistry of solid Wood. The Chemical Composition of Wood. *American Chem. Soc.*, Vol. 34, pp. 129-154.
- Peynaud E. (1993). *Conhecer e trabalhar o Vinho*. Biblioteca agrícola litexta. Litexa Editora. Lisboa. Porto.
- Piggott J. R., Conner J. M., Paterson A. (1995). Flavour development in whisky maturation. in *Food Flavors: Generation, Analysis and Process Influence*, G. Charalambous (Ed.), pp. 1731-1751
- Prida A., Puech J. -L. (2006). Influence of Geographical Origin and Botanical Species on the Content of Extractives in American, French, and East European Oak Woods. *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 54, pp. 8115-8126.
- Priestap H. A., Van Baren C. M., Di Leo-Lira P., Coussio J. D., Bandoni A. L. (2003). Volatile constituents of *Aristolochia argentina*. *Phytochem.* Vol. 63, pp. 221-225.
- Puech J. -L., Sarni F., Labidi A., Mouttet B., Robert A. (1990). Delignification of oak wood with an ethanol-water solution in a flow-through reactor. *Holzforschung*, Vol. 44, pp. 367-371.
- Ribéreau-Gayon J., Peynaud E., Ribéreau-Gayon P., Sudraud P. (1976). *Traité d'oenologie. Sciences et techniques du vin*. pp. 719, Dunod, Paris.
- Richter B. E., Jones B. A., Ezzell J. L., Porter N. L., Avdalovic N. (1996). Accelerated solvent extraction: a technique for sample preparation. *Anal. Chem.*, Vol. 68, pp. 1033-1039.
- Rodríguez-Bencomo J. J., Ortega-Heras M., Pérez-Magariño, S., González-Huerta C., González-Sanjosé M. L. (2008a). Volatile compounds of red wines macerated with Spanish, American, and French oak chips. *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 57, pp. 6383-6391.
- Rodríguez-Bencomo J. J., Ortega-Heras M., Pérez-Magariño, S., González-Huerta C., González-Sanjosé M. L. (2008b). Importance of chip selection and elaboration process on the aromatic composition of finished wines. *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 56, pp. 5102-5111.
- Sáenz-Navajas M. P., Campo E., Fernández-Zurbano P., Valentin D., Ferreira V. (2010). An assessment of the effects of wine volatiles on the perception of taste and astringency in wine. *Food Chem.*, Vol. 121, pp. 1139-1149.
- Sarni F., Moutounet M., Puech J. L., Rabier P. (1990). Effect of heat treatment of Oak wood Extractable Compounds. *Laboratoire des Polymères et des techniques physico-chimiques*. I.N.R.A.
- Sefton M. A., Francis I. L., Pocock K. L., Williams P. L. (1993). The influence of natural seasoning on the concentrations of eugenol, vanillin and *cis*- and *trans*- β -methyl- γ -octalactone extracted from French and American oak wood. *Sci. Aliments*, Vol. 13, pp. 629-643.
- Taransaud J., (1976). *Le livre de la tonnellerie. La rove à livres diffusion*. Paris.

- Togores J. H. (2003). Tratado de enologia Tomo 2. Mundiprensa Ed.
- Valim M. F., Rouseff R. L., Lin J. (2003). Gas chromatographic-olfactometric characterization of aroma compounds in two types of cashew apple nectar. *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 51 pp. 1010-1015.
- Vichi S., Santini C., Natali N., Riponi C., Tamames E. L., Buxaderas S. (2007). Volatile and semi-volatile components of oak wood chips analysed by Accelerated Solvent Extraction (ASE) coupled to gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). *Food Chem.*, Vol. 102, pp. 1260-1269.
- Yanagimoto K., Ochi H., Lee K. G., Shibamoto T. (2004). Antioxidative activities of fractions obtained from brewed coffee. *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 52, pp. 92-596.
- Zehentbauer G., Reineccius G. A. (2002). Determination of key aroma components of Cheddar cheese using dynamic headspace dilution assay. *Flavour Fragr.* Vol. 17, pp. 300-305.
- Zhao Y. P., Wang L., Li J. M., Pei G. R., Liu Q. S. (2011). Comparison of Volatile Compounds in Two Brandies Using HS-SPME Coupled with GC-O, GC-MS and Sensory Evaluation. *S. Afric. J. of Enol. and Vitic.*, Vol. 32, pp. 9-20.

Cibergrafia

Trefethenfamilyvineyards, acedido em 18/8/2011 no site: <http://trefethenfamilyvineyards.wordpress.com/>.

Pherobase, acedido em 20/8/2011 no site: <http://www.pherobase.com/>.