

Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia

Mestrado em Viticultura e Enologia

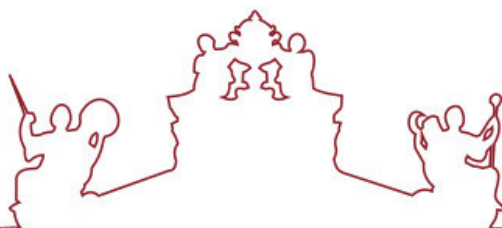
Dissertação

**Efeito fermentação maloláctica e da maturação em barricas
de carvalho nas características de um vinho tinto Alfrocheiro**

Ana Sofia Matias Januário

Orientador(es) | Maria João Cabrita
Raquel Marta Garcia

Évora 2025



Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia

Mestrado em Viticultura e Enologia

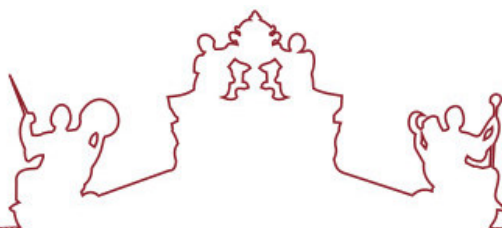
Dissertação

**Efeito fermentação maloláctica e da maturação em barricas
de carvalho nas características de um vinho tinto Alfrocheiro**

Ana Sofia Matias Januário

Orientador(es) | Maria João Cabrita
Raquel Marta Garcia

Évora 2025



A dissertação foi objeto de apreciação e discussão pública pelo seguinte júri nomeado pelo Diretor da Escola de Ciências e Tecnologia:

Presidente | Maria do Rosário Félix (Universidade de Évora)

Vogais | Ilda Maria Justino Caldeira (INIAV - Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária) (Arguente)
Maria João Cabrita (Universidade de Évora) (Orientador)

A persistência é o caminho do êxito.

Charles Chaplin

Agradecimentos

Gostaria de iniciar os meus agradecimentos a todas as pessoas que me acompanharam durante todo o meu percurso académico e que me fizeram acreditar que tudo isto seria possível.

Quero agradecer à minha orientadora, professora Maria João Cabrita por toda a ajuda que me prestou, pelo conhecimento que me transmitiu e por nunca me fazer desistir, acreditou sempre em mim e foi, sem dúvida uma pessoa muito especial. Não poderia deixar de agradecer também à professora Raquel Garcia a ajuda e atenção como minha orientadora.

Não poderia deixar de agradecer também ao Nuno, que me ajudou com as análises dos compostos voláteis e que sempre esteve disponível para me ajudar e tirar todas as minhas dúvidas.

À Herdade do Menir, local onde iniciei a minha vida profissional, agradeço por permitirem que o meu estudo fosse feito com as amostras do vinho Alfrocheiro que produzimos em 2022. Um agradecimento especial ao Fábio Fernandes, por tudo o que me ensinou durante o tempo que trabalhei com ele e por toda a ajuda e atenção prestada.

Agradeço a toda a minha família por terem caminhado sempre lado a lado comigo, principalmente aos meus pais e ao meu irmão que nunca me deixaram desistir e que me incentivaram a realizar o meu sonho, são sem dúvida os meus grandes pilares. Ao meu tio, Joaquim Mariano, que sempre foi e sempre será um segundo pai para mim, por tudo o que me ensinou, por estar sempre presente na minha vida e neste meu percurso.

À minha avó Domingas por estar sempre presente e pela importância que tem tido ao longo da minha vida, que continue ao meu lado por muitos anos.

Ao meu avô Custódio e avô António que, apesar de já não estarem presentes foram duas pessoas muito importantes na minha vida. À minha avó Beatriz, que também já não está presente, mas que conseguiu acompanhar-me até 2024, sempre me incentivou e sempre me deu forças para continuar.

Um agradecimento muito especial ao meu namorado, Ricardo Brás, por tudo o que representa para mim e por me ter ajudado, aconselhado e principalmente por me

fazer acreditar que era possível, pela paciência que teve comigo nos momentos mais difíceis.

Ao meu padrinho Izalindo, um exemplo de força, é sem dúvida uma pessoa muito especial para mim, agradeço por me transmitir que tudo isto seria possível. Ao meu primo António e à minha afilhada Beatriz, por estarem presentes na minha vida e por me fazerem muito feliz por fazer parte da vida deles. À minha madrinha Ana, que mesmo já não estando presente, foi um enorme exemplo para mim.

A todos os meus amigos, os que já me acompanham desde criança e a todos os que entraram na minha vida durante todo o meu percurso académico. Aos que sempre estiveram ao meu lado, que demonstraram companheirismo e preocupação.

Quero agradecer também ao Manuel Ferreira e Ana Ferreira pela oportunidade que me deram ao integrar a sua equipa, pela partilha diária de conhecimento e por toda a compreensão que tiveram comigo durante a realização deste meu projeto. Agradeço também por todos os desafios e por toda a confiança que depositam em mim e no meu trabalho, por me fazerem acreditar nas minhas capacidades e por me deixarem viver esta minha paixão pela Enologia.

O maior agradecimento será para mim, pela minha dedicação, por nunca ter desistido deste meu sonho e por me ter rodeado das melhores pessoas para caminharem ao meu lado, que me fizeram acreditar que estava no caminho certo. Hoje, tenho a certeza de que todas as decisões que tomei foram as mais acertadas e não poderia ser mais feliz naquilo que faço.

Resumo

O objetivo do presente trabalho foi avaliar se, sob condições normais de adega, a composição volátil dos vinhos sofre diferenças significativas quando a fermentação malolática ocorre em barricas de carvalho ou em depósitos de aço inoxidável. Neste ensaio, um lote de vinho da casta Alfrocheiro foi distribuído, após a fermentação alcoólica, por várias barricas de carvalho, onde realizou a fermentação malolática, enquanto outra parte do lote permaneceu num depósito de aço inoxidável. Foram recolhidas amostras após a fermentação malolática terminar, aos 3 meses de estágio, tanto das 10 barricas como do depósito de inox e, novamente aos 6 meses de estágio. A componente volátil dos vinhos foi estudada por HS-SPME-GC-ToFMS (micro-extração em fase sólida no espaço de cabeça acoplada a cromatografia gasosa com detecção por espectrometria de massa em tempo de voo). Os dados obtidos foram submetidos a uma análise estatística. Os resultados mostram que os vinhos em inox e em barrica evoluem de forma diferente na sua composição volátil.

Palavras-chave: Alfrocheiro, fermentação malolática, barricas de carvalho, inox, compostos voláteis

Abstract

Effect of malolactic fermentation and maturation in oak casks on the characteristics of a red Alfrocheiro wine

The main goal of this study was to evaluate whether, under normal cellar conditions the volatile composition of wines experiences significant differences when malolactic fermentation occurs in oak barrels versus stainless steel tanks. In this experiment, a batch of Alfrocheiro wine was distributed, after alcoholic fermentation, into several oak barrels where malolactic fermentation took place, while another portion of the batch remained in a stainless steel tank. Samples were collected after malolactic fermentation was completed, at 3 months of aging, from both the 10 barrels and the stainless steel tank, and again at 6 months of aging. The volatile components of the wines were studied using HS-SPME-GC/ToFMS (Headspace Solid-Phase Microextraction coupled with Gas Chromatography and Time-of-Flight Mass Spectrometry). The data obtained were subjected to statistical analysis. Results show that wines in inox or barrels differ in their volatile composition.

Keywords: Alfrocheiro, malolactic fermentation, oak barrels, stainless steel, volatile compounds

Índice

Índice de Figuras	2
Índice de Tabelas	3
Lista de Abreviaturas, Siglas e Acrónimos	5
1. Introdução	6
2. Revisão Bibliográfica.....	8
2.1. Evolução e Práticas na Produção de Vinho.....	8
2.2. Alfrocheiro	9
2.3. Envelhecimento em barricas	10
2.4. Compostos voláteis	14
2.5. Fermentação Malolática	16
3. Objetivo.....	18
4. Materiais e Métodos.....	19
4.1. Processo de Vinificação do Alfrocheiro	19
4.2. Recolha das Amostras	21
4.3. Análise dos parâmetros físico químicos.....	22
4.4. Preparação das amostras por HS-SPME	22
4.5. Análise GC-ToFMS	23
4.6. Tratamento estatístico dos dados.....	23
5. Resultados.....	24
5.1. Análise dos parâmetros físico químicos.....	24
5.2. Compostos voláteis	24
6. Discussão	37
7. Conclusões	40
8. Referências.....	42
9. Anexos.....	47

Índice de Figuras

Figura 1- Cacho e folha da casta 'Alfrocheiro'	9
Figura 2- Sala de barricas.....	13
Figura 3- Vinho tinto Alfrocheiro com estágio em barrica (esquerda) e Vinho tinto Alfrocheiro com estágio em inox (direita).	20
Figura 4- Processo de vinificação das uvas Alfrocheiro.	21
Figura 5-Teores totais dos ésteres (% de área) nos vinhos em barricas e em inox.....	31
Figura 6-Teores totais dos álcoois (% de área) nos vinhos em barricas e em inox	32
Figura 7-Teores totais dos ácidos (% de área) nos vinhos em barricas e em inox	32
Figura 8-Teores totais dos terpenos (% de área) nos vinhos em barricas e em inox...	33
Figura 9-Teores totais das cetonas (% de área) nos vinhos em barricas e em inox	33
Figura 10-Teores totais dos aldeídos (% de área) nos vinhos em barricas e em inox.	34
Figura 11-Teores totais das lactonas (% de área) nos vinhos em barricas e em inox.	34
Figura 12-Teores totais dos fenois (% de área) nos vinhos em barricas e em inox.....	35
Figura 13-Teores totais dos norisoprenoides (% de área) nos vinhos em barricas e em inox.....	35
Figura 14-Teores totais de outros (% de área) nos vinhos em barricas e em inox	36
Figura 15- Polar heat map	39

Índice de Tabelas

Tabela 1- Análises e metodologias	22
Tabela 2- Resultados dos parâmetros físico químicos da primeira recolha de amostras.	24
Tabela 3- compostos voláteis - Ésteres	24
Tabela 4- compostos voláteis - Álcoois.....	27
Tabela 5-compostos voláteis - Terpenos	28
Tabela 6-compostos voláteis - Cetonas	28
Tabela 7-compostos voláteis - Aldeídos.....	29
Tabela 8-compostos voláteis - Ácidos.....	29
Tabela 9-compostos voláteis - Lactonas	29
Tabela 10-compostos voláteis - Fenóis.....	30
Tabela 11- compostos voláteis - Norisoprenoides.....	30
Tabela 12-compostos voláteis - Outros.....	30
Tabela 13-Semi- quantificação - Ésteres	47
Tabela 14-Semi- quantificação – Álcoois	50
Tabela 15-Semi- quantificação- Terpenos	51
Tabela 16- Semi- quantificação- Cetonas	51
Tabela 17-Semi- quantificação- Aldeídos.....	52
Tabela 18- Semi- quantificação- Ácidos.....	52
Tabela 19-Semi- quantificação- Lactonas	52
Tabela 20-Semi- quantificação- Fenóis.....	53

Tabela 21-Semi- quantificação- Norisoprenoides.....	53
Tabela 22-Semi- quantificação- Outros.....	53

Lista de Abreviaturas, Siglas e Acrónimos

FML- Fermentação malolática

FA- Fermentação alcoólica

SO₂- Dióxido de enxofre

CAR/DVB/PDMS- carboxeno/ divinilbenzeno/ polidimetilsiloxano

1. Introdução

A vinificação é um processo complexo que envolve uma série de etapas enológicas, cada uma com impacto significativo nas características sensoriais e químicas do vinho. Dois processos importantes que influenciam essas características são a fermentação malolática (FML) e o envelhecimento em barricas de carvalho.

A FML, realizada por bactérias lácticas, converte o ácido málico em ácido lático, reduzindo a acidez do vinho e promovendo uma suavização dos seus sabores (Izquierdo-Cañas et al., 2016). Este processo não só altera o sabor e a textura, mas também pode influenciar o perfil aromático do vinho. A FML também contribui para a estabilidade microbiológica do vinho e para a formação de compostos voláteis importantes para o aroma, como o diacetilo, que proporciona notas amanteigadas e de caramelo (Tupajić, 2001). A contribuição da FML para o aroma do vinho pode variar consoante as condições enológicas, incluindo a interação com compostos derivados da barrica de carvalho. Além disso, a presença de outros metabólitos, como ácidos orgânicos e ésteres, pode afetar o equilíbrio do perfil sensorial do vinho (Sumby et al., 2010).

O envelhecimento em barricas de carvalho, por sua vez, permite a troca de compostos entre o vinho e a madeira, resultando num vinho mais complexo, com notas aromáticas provenientes da madeira, como baunilha, especiarias e tostado (Martínez-Gil et al., 2022). Quando a FML é realizada em barricas de carvalho, podem-se intensificar as interações entre os compostos libertados pela madeira e os compostos formados durante a fermentação (Izquierdo-Cañas et al., 2016). Essas interações não só influenciam a percepção aromática, mas também promovem a integração dos taninos, estabilizam a cor do vinho e contribuem para o desenvolvimento de aromas complexos, que enriquecem o perfil sensorial. Esta prática tradicional, amplamente utilizada na produção de vinhos de qualidade superior, proporciona uma micro-oxigenação controlada e transfere compostos voláteis tais como lactonas e vanilina, e não voláteis como os taninos elágicos, para o vinho, aumentando a estrutura, a estabilidade e a complexidade aromática do produto final (Martínez-Gil et al., 2022).

A composição volátil do vinho é um dos fatores determinantes para a sua qualidade sensorial, sendo influenciada por múltiplos fatores enológicos. Compostos como ésteres, álcoois superiores, aldeídos e ácidos voláteis desempenham um papel essencial na construção do perfil aromático do vinho, sendo que suas concentrações podem ser moduladas por processos como a fermentação e o envelhecimento (Sumby

et al., 2010). Portanto, compreender como a FML e o envelhecimento em barricas afetam a composição volátil do vinho tinto Alfrocheiro é essencial para otimizar práticas enológicas e maximizar a qualidade do produto final.

O presente estudo visa investigar o impacto da fermentação malolática e do envelhecimento em barricas de carvalho na composição volátil do vinho tinto Alfrocheiro, utilizando a cromatografia gasosa acoplada a espectrofotometria de massa para separar, identificar e quantificar os compostos voláteis presentes. Através da análise destes compostos, será possível entender melhor como a interação entre estes processos enológicos contribui para a complexidade aromática e a qualidade final do vinho.

Este trabalho foi apresentado em poster no 28th International Symposium on Separation Sciences, em Messina. O abstract e o poster apresentam-se em anexo.

2. Revisão Bibliográfica

2.1. Evolução e Práticas na Produção de Vinho

A videira, e consequentemente o vinho, chegou à Península Ibérica por volta do século VIII a.C., trazida pelos fenícios. No entanto, foi apenas no século I d.C., com a chegada do Império Romano à região, que o comércio de vinho se desenvolveu significativamente, impulsionando uma produção vinícola local mais estruturada e bem-sucedida (Graça, 2007). Desde esses tempos históricos até os dias de hoje, a vitivinicultura portuguesa consolidou-se como um elemento central da sua identidade culturais e económica.

O mercado de uvas e vinhos em Portugal é profundamente associado à sua vasta tradição cultural e histórica. Reconhecido globalmente, o país destaca-se pela diversidade de vinhos que oferece, com ênfase nos vinhos fortificados, como o Porto e Madeira, e nos vinhos tranquilos de excelente qualidade. As regiões vitivinícolas prestigiadas como o Douro, o Alentejo e o Vinho Verde, são pilares do setor, beneficiando-se de certificações de origem que agregam valor e reforçam a sua posição no mercado (Rebelo & Baptista, 2024).

A produção de vinho em Portugal está totalmente ligada a castas autóctones como por exemplo o Alfrocheiro, cujas características químicas e sensoriais são moldadas por práticas de vinificação como a FML. As uvas contêm uma elevada concentração de compostos fenólicos que desempenham um papel essencial no processo de vinificação dos vinhos, influenciando as características sensoriais, como a cor, a estabilidade, o amargor e a adstringência (Silva & Queiroz, 2016).

Outro fator crucial na qualidade do vinho é o envelhecimento em madeira, particularmente em carvalho (*Quercus sp.*). O carvalho francês e americano, destacam-se como as principais opções utilizadas dada a sua capacidade de influenciar a micro-oxigenação e enriquecer o perfil aromático do vinho com notas de baunilha, especiarias e tosta. Além disso, a interação entre os compostos fenólicos do vinho e os componentes da madeira de carvalho pode transformar significativamente o seu perfil, melhorando a estrutura e aumentando a sua complexidade (Santos, 2011).

2.2. Alfrocheiro

‘Alfrocheiro’ é o nome principal desta casta, já tendo sido conhecida como ‘Tinta Francisca de Viseu’, ‘Tinta Bastardeira’ e ‘Tinta Bastardinha do Douro’. A origem da casta Alfrocheiro remonta a 1970, sendo referida como uma casta de uvas tintas cultivada em Lamego e nas suas periferias. A casta conhecida em Portugal como Alfrocheiro, e em Espanha como “Bastardo Negro” teve um papel genético central na diversidade de castas típicas existentes na Península Ibérica, sendo que em estudos anteriores esta casta foi identificada como progenitora de várias castas, mas os progenitores da casta Alfrocheiro continuam a ser desconhecidos (Cunha et al., 2013).

A casta Alfrocheiro está bastante distribuída na região do Dão, estando na base de alguns dos melhores vinhos da região, mas atualmente é plantada em várias regiões de Portugal, com sucesso, como por exemplo na região onde decorreu este estudo, Alentejo (Botelho et al., 2013).

Destaca-se como uma variedade de uva de grande importância, principalmente na região do Dão. Devido à sua elevada qualidade, esta casta também conhecida por Alfrocheiro Preto na zona do Douro, estendeu-se com sucesso nas regiões do Alentejo, Ribatejo e zona de Palmela. É caracterizada pela sua alta fertilidade, o que requer alguma atenção na sua produção para garantir que os bagos mantenham as suas características, incluindo a cor. Apresenta maturação precoce e é muito suscetível a doenças, principalmente a podridão (Infovini, 2024). Na figura 1 pode observar-se um cacho e uma folha que representam a casta ‘Alfrocheiro’.



Figura 1- Cacho e folha da casta 'Alfrocheiro'.

Fonte: (Infovini, 2024)

Apresenta um bago pequeno, uniforme, arredondado, de cor uniforme negro-azul e uma película de espessura média. A polpa, apesar de não apresentar cor, destaca-se pela textura macia e suculenta. É importante evitar a sobrecarga de

produção, especialmente nos primeiros anos, para prevenir deficiências na produtividade ao longo da vida da videira (Vine to Wine Circle, 2024).

Com um teor médio de 11-14% vol. de álcool provável, esta casta revela-se versátil, destacando-se especialmente em lotes com outras variedades como o Bastardo e Tourigas. O seu potencial para a produção de vinhos monovarietais é significativo, com reconhecimento em regiões como o Alentejo, Dão e Ribatejo, onde deixa a sua marca única (Vine to Wine Circle, 2024). Origina vinhos de grande qualidade, conhecidos pela sua cor intensa e pelos aromas distintos que evocam notas de flores silvestres, amoras maduras e especiarias. Este perfil sensorial único contribui para a reputação positiva desta casta e destaca a sua presença marcante na produção (Infovini, 2024).

O alfrocheiro é uma casta bastante sensível a ataques de podridão nobre causados pelo fungo *Botrytis cinerea*, o que pode conduzir a elevadas perdas de rendimento e de qualidade (Botelho et al., 2013).

2.3. Envelhecimento em barricas

Carpena et al. (2020) acreditam que os gregos e romanos foram os pioneiros no desenvolvimento dos primeiros recipientes de transporte de vinho. A fermentação e envelhecimento ocorriam em jarros de barro e ânforas, devido ao fácil acesso por serem baratos e comuns, infelizmente apresentavam algumas desvantagens pois eram frágeis, pesados e difíceis de manusear. Acredita-se que logo desde o início da sua utilização para o transporte e armazenamento, as barricas de madeira demonstraram os seus benefícios na qualidade e nas transformações químicas do vinho (Chira & Teissedre, 2015).

No século XX, houve uma notável diminuição do uso da madeira devido à ascensão de outros materiais, como o cimento e o aço inoxidável. Entretanto, a partir de 1990 voltou a surgir cada vez mais o uso da madeira, tornando-se tendência global e levando este processo a uma mudança no seu padrão de utilização, começaram a investir na utilização de barricas de carvalho novas (Martínez-Gil et al., 2018).

A elaboração de um vinho passa por várias fases, onde cada uma delas tem um papel fundamental no impacto da composição química, na qualidade e no aroma do produto final. O aroma do vinho é uma propriedade complexa que tem essencialmente origem nas uvas, onde todos esses aromas provenientes diretamente das uvas, são

considerados aroma primário. Os aromas secundários surgem durante o processo da fermentação alcoólica e, por fim, durante a maturação e o envelhecimento do vinho surgem os aromas terciários (Pichler et al., 2024).

Atualmente, o recipiente mais amplamente utilizado para a fermentação ou envelhecimento dos vinhos é o depósito de aço inoxidável, dadas as suas características de resistência e de fácil manutenção. O aço inoxidável é quimicamente inerte e não interage com o vinho, preservando assim, o seu sabor e aroma originais. O processo em barricas de madeira é mais complexo, o seu impacto no vinho está sujeito a diversos fatores, como o tipo de madeira, volume da barrica, idade e número de utilizações, nível de tosta, entre outros (Pichler et al., 2024).

Um ensaio conduzido por González-Centeno et al. (2020) utilizou barricas de diferentes volumes, concluindo que a quantidade de aromas amadeirados extraídos para os vinhos depende da relação entre a área superficial e o volume do vinho, ou seja, quanto menor for a barrica, maior será a superfície de interação vinho-madeira por unidade de volume de vinho. As diferenças detetadas entre barricas de 225L e 500L levou González-Centeno et al. (2020) a considerarem os vinhos das barricas mais pequenas como mais amadeirados e os das barricas maiores como vinhos com maior capacidade de preservar a tipicidade da casta Sauvignon Blanc.

O envelhecimento do vinho também mudou com a utilização de barricas de carvalho mais novas, a sua utilização sucessiva durante os anos está associada a uma menor extração dos compostos do carvalho (Martínez-Gil et al., 2018), sendo confirmado por Navarro et al. (2016) que tiveram menos 64% de impacto sensorial dos elagitaninos nas barricas com 1 ano de utilização em comparação com as barricas novas. Existe cada vez mais uma maior utilização de barricas novas por parte dos produtores de vinho, existe atualmente um desequilíbrio entre a quantidade de carvalho disponível e o número de barricas produzidas em França (Martínez-Gil et al., 2018).

As variedades de madeiras como mogno, castanheiro, pinho e acácia falsa são também utilizadas em enologia. Devido às características distintas como a flexibilidade, facilidade de manuseamento, resistência e baixa permeabilidade o carvalho surge como uma das principais escolhas no fabrico de barricas (Jordão & Cosme, 2022). Apenas as madeiras de carvalho e castanheiro são atualmente autorizadas pela Organização Internacional da Vinha e do Vinho (OIV)

O carvalho mais utilizado pertence, predominantemente, ao género *Quercus L.*, o qual se subdivide em dois subgéneros: *Cyclobalanopsis* (madeira vermelha), típico de

regiões tropicais e subtropicais, e *Euquercus* (madeira branca), amplamente distribuído a nível mundial. O subgénero *Euquercus* está dividido em cinco famílias principais: *Cerris* (ex.: *Q. suber* L., *Q. cerris* L.), *Mesobalanus*, *Lepidobalanus* (que inclui espécies como *Q. rubor* L., *Q. sessiliflora* Salisb., e *Q. alba* L.), *Macrobalanus* e *Erytrobalanus* (ex.: *Q. rubra* L., *Q. coccinea* Muenchh.). Dentro da família *Lepidobalanus*, destacam-se as três espécies mais valorizadas para a tanoaria: *Q. rubor*, *Q. sessiliflora* e *Q. alba* (Santos, 2011).

Nos Estados Unidos, as tanoarias utilizam com maior frequência as espécies *Q. alba*, *Q. garryana*, *Q. macrocarpa* e *Q. stellata*, enquanto as variedades de carvalho como *Q. petraea*, *Q. robur*, *Q. cerris* são as mais frequentes na Europa. No contexto vinícola, *Q. alba*, *Q. petraea* e *Q. robur* são as espécies mais utilizadas (Jordão & Cosme, 2022). Segundo (Martínez-Gil et al., 2018) as principais florestas que produzem carvalhos de alta qualidade na Europa estão situadas em França onde cerca de 27% do seu território é ocupado por floresta dos quais 9% são florestas de carvalho.

Em Portugal, as maiores áreas de carvalhos localizam-se na Beira Interior, Trás-os-Montes e Gerês. As espécies de maior relevância para a tanoaria são *Q. pyrenaica* e *Q. faginea*. A espécie *Q. pyrenaica* distingue-se por apresentar concentrações mais elevadas de compostos extraíveis e taninos elágicos em comparação com as espécies francesas, sendo tradicionalmente empregada no envelhecimento de aguardentes (Santos, 2011).

Uma maior densidade e resistência tal como uma menor porosidade e permeabilidade caracterizam os carvalhos americanos em comparação aos carvalhos europeus (Martínez-Gil et al., 2018). O carvalho francês e o carvalho americano diferem entre si logo desde o início do processo de fabrico das barricas de madeira. Inicialmente é necessário tratar os troncos para extrair as tábuas necessárias. Nesta fase, o carvalho americano pode ser serrado, dada a sua estrutura uniforme enquanto o carvalho francês necessita que as tábuas sejam separadas de acordo com o grão natural para que este seja preservado. Durante os seguintes 2 a 3 anos, dá-se o processo de secagem das tábuas para que seja possível eliminar substâncias que possam ser prejudiciais e contribuam para a amargura e adstringência. Por fim, as tábuas são aquecidas para que sejam moldadas, normalmente durante uns 15 minutos, que pode ser prolongado pelas tanoarias para o melhoramento sensorial que a madeira irá conferir ao vinho. Existem três níveis de tosta: leve, média e forte (Navarro et al., 2016).

O teor de elagitaninos sob a influência do tipo de madeira e dos diferentes níveis de tosta foi estudado por Navarro et al. (2016) onde obtiveram resultados conclusivos

de que o impacto sensorial dos elagitaninos é, em média, 3 vezes maior em barricas de tosta leve em comparação com as de tosta média e 4 vezes maior que as de tosta forte.

Ao longo do processo de envelhecimento em barricas, ocorre a extração de compostos voláteis para o vinho, proporcionando-lhe aromas e sabores agradáveis do carvalho, ao mesmo tempo em que a oxidação controlada e a modificação de taninos e antocianinas melhoram a intensidade da cor, estabilidade e estrutura dos vinhos. Consequentemente, vinhos que sejam sujeitos a este processo são geralmente considerados de maior qualidade sendo-lhes atribuídos preços mais elevados (Crump et al., 2015).

No que diz respeito aos vinhos tintos, o processo de envelhecimento é dividido em duas fases: quando o vinho estagia em barrica, ocorre oxidação, pois existem pequenas trocas entre o ar e o vinho, devido à permeabilidade da madeira ao oxigénio, por sua vez quando o vinho envelhece em garrafa, encontra-se em ambiente de redução. No que toca aos vinhos brancos, durante muitos anos acreditou-se que o envelhecimento em barricas não era o mais adequado pela diminuição da sua qualidade. Atualmente, é cada vez mais normal a utilização de barricas para o envelhecimento de vinhos brancos pela procura da produção de vinhos brancos encorpados e com um aroma mais complexo (Carpena et al., 2020). Na figura 2, encontra-se um exemplo de uma sala de barricas de uma adega.



Figura 2- Sala de barricas

2.4. Compostos voláteis

A qualidade geral do vinho é diretamente afetada pelo seu aroma (Qian et al., 2022), sendo este constituído pelo equilíbrio de centenas de compostos voláteis (González-Marco et al., 2008). Os compostos voláteis presentes nos vinhos proveem principalmente dos bagos, do processo de fermentação e do envelhecimento. Os aromas varietais surgem a partir dos compostos voláteis presentes nas uvas que são extraídos durante a fermentação e durante o envelhecimento são produzidos aromas que dão complexidade ao vinho (Qian et al., 2022).

Já foram identificados centenas de compostos voláteis nos vinhos, no entanto, apenas alguns deles funcionam como compostos odoríferos ativos, principalmente quando presentes em concentrações superiores ao seu limiar de percepção sensorial (Pittari et al., 2021).

As principais famílias de compostos voláteis no vinho incluem álcoois superiores, ésteres, cetonas, ácidos, terpenos, norisoprenoides, compostos sulfurados e metoxipirazinas. Durante a fermentação alcoólica do vinho, que é principalmente realizada por leveduras *Saccharomyces cerevisiae*, os compostos voláteis são produzidos ou libertados a partir dos seus precursores. Entre eles, os álcoois superiores e os ésteres são particularmente significativos, contribuindo de maneira substancial para o aroma global do vinho (Ruiz et al., 2019). O acetaldeído, acetato de etilo, propanol, isobutanol e os álcoois 2- e 3- metilbutanol estão presentes em maior quantidade e representam mais de metade dos compostos voláteis que contribuem para o aroma do vinho, sendo a outra metade distribuída entre 600 a 800 compostos voláteis que estão presentes em quantidades muito pequenas (Regodón Mateos et al., 2006).

Os terpenos são compostos varietais que vêm essencialmente das uvas, sendo produzidos enzimaticamente como metabolitos secundários da via dos terpenoides. (Pittari et al., 2021). Estes compostos também estão presentes na forma glicosilada e durante a fermentação são transformados em terpenos voláteis livres por hidrólise quer pelas enzimas glicosidases das leveduras quer pelas condições ácidas da fermentação. (González-Barreiro et al., 2015). Os monoterpenoides mais significativos nos vinhos incluem o linalol, citrionelol, geraniol, nerol e α -terpineol (Ruiz et al., 2019). Estes compostos são essenciais para os perfis aromáticos específicos das variedades de uva utilizadas na produção de vinho, contribuindo com aromas cítricos, florais e balsâmicos que caracterizam distintamente cada tipo de vinho (Pittari et al., 2021).

Os ésteres são essenciais na formação dos aromas voláteis do vinho, desempenhando um papel determinante na definição dos seus perfis aromáticos e na percepção sensorial. Estes compostos são produzidos pelas leveduras durante a fermentação alcoólica (Pittari et al., 2021) e resultam da reação entre um grupo hidroxilo de um fenol ou álcool e um grupo carboxilo de um ácido orgânico (Ruiz et al., 2019).

O comportamento dos ésteres ao longo do envelhecimento varia conforme a sua estrutura química e as condições de maturação do vinho. Enquanto alguns, como o propanoato de etilo e o butanoato de etilo tendem a aumentar com o tempo, atingindo concentrações mais elevadas em vinhos envelhecidos com aduelas, outros, como o isobutanoato de etilo e o dodecanoato de etilo, apresentam um comportamento oposto, atingindo valores máximos nas fases iniciais do envelhecimento e diminuindo significativamente após três meses. Compostos como octanoato de etilo e vanilato de etilo demonstram um aumento progressivo ao longo do envelhecimento, sendo mais concentrados em vinhos maturados com aduelas. Essas variações refletem a complexidade das interações entre os compostos voláteis e os processos químicos que ocorrem durante o envelhecimento do vinho (Dumitriu (Gabur) et al., 2020).

Os álcoois são um grupo de compostos voláteis produzidos principalmente como subprodutos fermentativos do metabolismo de aminoácidos pelas leveduras. A sua produção é influenciada por diversos fatores de fermentação, bem como a temperatura durante o processo, as características da levedura, ou os níveis de azoto assimilável pelas leveduras (Pittari et al., 2021).

Os principais compostos voláteis presentes nos vinhos provenientes da extração das madeiras para o vinho são os isômeros *cis* e *trans* de β -metil- γ -octalactona, o furfural e os seus derivados, aldeídos fenólicos como a vanilina e fenóis voláteis como o eugenol. Os aldeídos fenólicos como a vanilina desempenham um papel fundamental nas características aromáticas do vinho, conferindo-lhe notas de baunilha, café, chocolate negro e fumo (Chira & Teissedre, 2015).

As práticas de cultivo na vinha também têm um impacto significativo no desenvolvimento de compostos aromáticos. A quantidade de luz solar que a videira recebe é um fator influenciado tanto pela localização da vinha como pelas técnicas utilizadas, como o sistema de condução das videiras. Este sistema afeta a área foliar total e a percentagem da área foliar que é bem iluminada, influenciando a eficiência da fotossíntese e outros processos importantes, como a diferenciação dos botões florais, a exposição dos cachos, a transpiração das folhas e o estado hídrico da videira (González-Barreiro et al., 2015)

2.5. Fermentação Malolática

O processo de produção de vinho inclui dois tipos de fermentação: a FA e a FML. A FA é conduzida por leveduras e envolve a transformação do açúcar em etanol e dióxido de carbono, a FML é realizada por bactérias ácido-láticas que convertem o ácido L-málico em ácido L-láctico (Fu et al., 2022). Moreno-Arribas & Polo (2009) afirmam que a espécie *Oenococcus oeni* é a principal bactéria láctica responsável pela FML, é capaz de sobreviver nas condições adversas do vinho, como pH baixo (<3,5), alto teor de etanol (>10% vol.) e altos níveis de SO₂ (50 mg/L).

Este segundo tipo de fermentação é comum na produção da maioria dos vinhos tintos e de alguns vinhos brancos, sendo considerada um processo de fermentação secundária. Além de reduzir a acidez do vinho, a FML pode alterar as suas características químicas e sensoriais, aumentar a estabilidade biológica e diminuir a acidez total (Fu et al., 2022).

A FML espontânea é imprevisível, podendo acontecer a qualquer momento, durante ou meses após a finalização da FA (Bauer & Dicks, 2004) e, se não for controlada pode trazer riscos de formação de compostos que podem gerar sabores e aromas indesejáveis (Moreno-Arribas & Polo, 2009).

A formação de notas lácticas ou amanteigadas é principalmente atribuída à presença de diacetilo. No processo de vinificação do vinho, o diacetilo é maioritariamente formado durante a FML pelas bactérias ácido-láticas, que metabolizam o ácido cítrico. Notas lácticas são mais difíceis de detetar em vinhos muito jovens devido à concentração mais elevada de SO₂, que é mais alta nesses vinhos em comparação com vinhos envelhecidos. Isso ocorre porque as interações entre diacetilo e SO₂ são reversíveis (Antalick et al., 2012).

Existem vários fatores que podem interferir na fermentação malolática, incluindo o pH, a temperatura, a quantidade de SO₂ e o teor ácidos orgânicos. O pH dos vinhos varia entre os 3,0 e 3,8. As bactérias *Oenococcus oeni* são as principais responsáveis pela fermentação malolática em vinhos com pH inferiores a 3,5. As *Lactiplantibacillus plantarum* ou *Pediococcus parvulus* são frequentemente responsáveis pela realização da FML em vinhos com pH superior a 3,5 (Paramithiotis et al., 2022).

A temperatura desempenha um papel fundamental no controle do crescimento microbiano durante a FML, influenciando diretamente o comportamento das bactérias lácticas e a produção de compostos voláteis. Temperaturas mais baixas resultam numa

maior duração da fase de latência, uma redução na taxa de crescimento específico das bactérias e uma menor produção de biomassa. Em contraste, temperaturas mais altas intensificam a toxicidade do etanol, afetando negativamente a atividade microbiana. A temperatura ideal para a FML situa-se entre 15° e 18°C, proporcionando um ambiente controlado que favorece uma fermentação estável e eficaz (Paramithiotis et al., 2022)

As leveduras também desempenham um papel fundamental na FML porque podem interferir direta e indiretamente no crescimento das bactérias lácticas. Compostos como o etanol, SO₂, ácidos orgânicos, ácidos gordos de cadeia média e peptídeos antimicrobianos influenciam o crescimento das bactérias lácticas (Paramithiotis et al., 2022).

O final da FML é uma fase que deve ser controlada, vinhos que não são bem acompanhados podem levar a um aumento repentino da acidez volátil. A melhor forma de evitar que isso aconteça é analisar a quantidade de ácido málico durante algum tempo e quando não houver presença de ácido málico deve adicionar-se sulfuroso ao vinho para que as bactérias lácticas sejam mortas (Hidalgo Togores, 2002).

3. Objetivo

O objetivo deste trabalho foi avaliar o impacto da fermentação malolática e da maturação em barricas de carvalho e em depósitos de aço inoxidável na composição volátil de um vinho tinto da casta Alfrocheiro, sob condições normais de adega. Pretendeu-se ainda verificar eventuais diferenças na evolução da composição volátil durante o estágio em ambos os sistemas.

4. Materiais e Métodos

4.1. Processo de Vinificação do Alfrocheiro

O vinho utilizado para este estudo, pertence à Herdade do Menir. O processo de produção deste vinho começou com a colheita das uvas Alfrocheiro dia 9 de setembro de 2022 por colheita mecânica.

Após a chegada das uvas à adega foi adicionada uma solução sulfurosa a 15% (350 mL / 1000kg) e uma dose de 30 g / 1000Kg de enzima 'Lafase Fruit' na fase de esmagamento, seguindo então para uma cuba de inox com capacidade de 30.000L com temperatura controlada. De acordo com as indicações do fornecedor a enzima utilizada neste estudo é uma enzima específica para macerações curtas, com ou sem maceração pré-fermentativa a frio, para vinhos tintos frutados, com alta intensidade corante e redondos em boca através da extração suave de compostos fenólicos e aromas da película das uvas (LAFFORT, 2022).

Quando a cuba atingiu a sua capacidade máxima, preparou-se 10 g / hL de levedura com 10 g / hL de 'Thiazote' com a utilização de água e mosto. A levedura 'Zymaflore Xpure' usada é caracterizada por ser uma levedura para vinhos de grande pureza aromática, expressando todo o potencial aromático da uva, das notas a frutos negros e a sua frescura aromática. O 'Thiazote' é utilizado na inoculação, é um ativador da FA que tem na sua composição sais de amónio e cloridrato de tiamina, fazendo com que haja a multiplicação da população de leveduras assegurando a sua viabilidade, o que leva a uma aceleração da FA (LAFFORT, 2022).

No primeiro dia de fermentação, adicionou-se 'Tanin VR supra' e quando a densidade atingiu os 1060 foi adicionado 'Tanin VR color' e novamente 'Thiazote', com a dose de 10 g / hL. O 'Tanin VR supra' é uma formulação de taninos proantocianídicos e elágicos de dissolução instantânea, sendo as suas principais funções nesta etapa uma ação antioxidante favorável à proteção de cor, melhorar a estrutura dos vinhos, precipitação das proteínas naturais dos vinhos, inibição das enzimas naturais de oxidação e facilitar a clarificação. O 'Tanin VR color' possui um teor de catequinas naturais ativas que permite uma formação de ligações covalentes com as antocianinas, promovendo assim uma estabilização da matéria corante. Estas adições foram feitas durante as remontagens, sendo que estas são feitas duas vezes por dia (LAFFORT, 2022). Todos os produtos usados eram da Laffort, França, Bordéus.

No dia 14 de setembro de 2022, quando atingiu uma densidade de 1020, foram retirados cerca de 2.250L e divididos por 10 barricas de carvalho francês de 225 litros cada. Nestas barricas, terminou-se o processo de FA, realizou-se a FML e o vinho ficou armazenado durante alguns meses. O fim da FML, o processo de transformação do ácido málico em ácido láctico foi perto do dia 14 de novembro e passado uns dias o vinho das 10 barricas foi retirado para uma cuba de inox, fez-se passagem a limpo e, de seguida, voltaram a encher-se novamente as 10 barricas. Estagiou nas barricas durante 6 meses.

O restante mosto que permaneceu na cuba de inox continuou até ao final da FA. No dia 19 de setembro de 2022 fez-se desencuba e sangrou-se o vinho para uma cuba de inox de 10000 litros onde decorreu a FML e onde também ficou armazenado durante alguns meses. Terminou a FML perto do dia 26 de outubro e passado alguns dias, passou-se o vinho para outra cuba de inox, sendo esta etapa denominada por passagem a limpo. Manteve-se sempre numa cuba de inox durante o seu armazenamento/envelhecimento. Em ambos os processos, no final da FML optou-se por uma correção de 0,5 g/L de ácido tartárico.

O facto do vinho Alfrocheiro ter sido separado perto do final da FA, passando assim a fase da FML e o estágio de 6 meses em contacto com materiais diferentes resultou em dois vinhos com aroma diferenciado entre si. No final, foi decidido um lançamento destes vinhos separadamente (figura 3), um vinho alfrocheiro que estagiou em inox e outro que estagiou em barrica, com o intuito de dar a conhecer a importância das condições de armazenamento dos vinhos no processo de vinificação.



Figura 3- Vinho tinto Alfrocheiro com estágio em barrica (esquerda) e Vinho tinto Alfrocheiro com estágio em inox (direita).

4.2. Recolha das Amostras

As amostras do vinho tinto Alfrocheiro foram recolhidas para frascos de 30 ml logo após o final da FML, etapa 2 da figura 4, sendo imediatamente congeladas. Após 6 meses, correspondente à etapa 4 foram recolhidas novamente amostras de todas as barricas e da cuba de inox com o mesmo procedimento das anteriores. Para este estudo, foram utilizadas duas amostras compósitas das 10 barricas devido à grande semelhança entre todas e duas amostras do vinho em cuba de inox. É importante referir que as barricas utilizadas são Ermitage Tonnellerie 2016 de tosta média, todas com capacidade de 225 L.

A figura 4 ilustra o processo de vinificação das uvas Alfrocheiro utilizadas neste estudo.

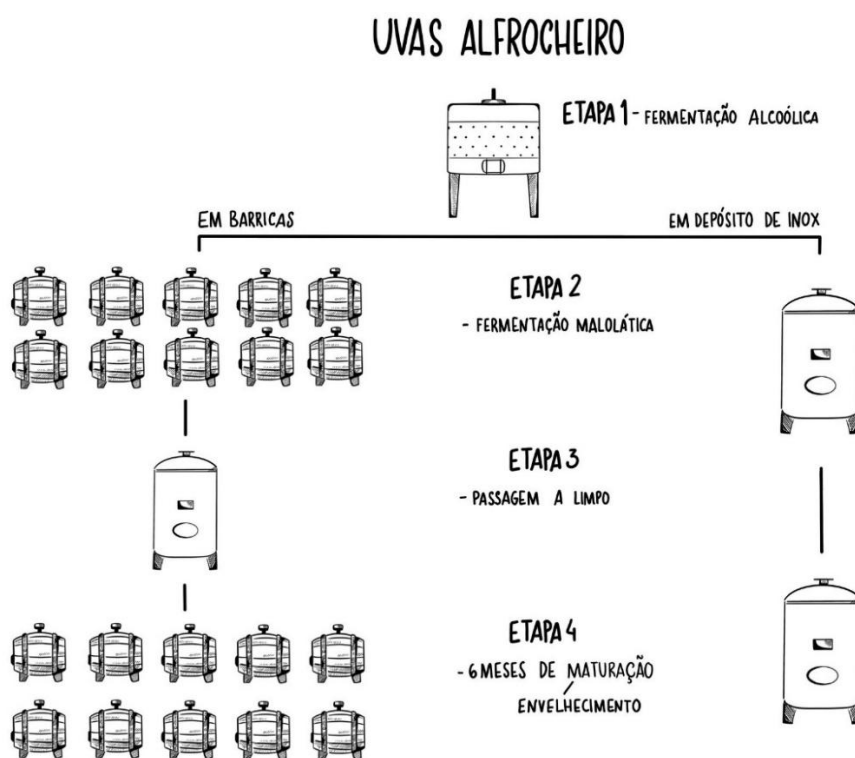


Figura 4- Processo de vinificação das uvas Alfrocheiro.

4.3. Análise dos parâmetros físico químicos

Nas amostras em estudo, foram realizadas as análises dos parâmetros físico químicos recorrendo às metodologias descritas na seguinte tabela.

Tabela 1- Análises e metodologias

Análise	Método
SO ₂ livre	Potenciometria (Sulfilyser)
SO ₂ total	Potenciometria (Sulfilyser)
Álcool	Ebuliometria
Acidez total	Titulação
Acidez volátil	Arrastamento de vapor e titulação
Acidez fixa	OIV-MA-AS313-03
pH	OIV-MA-AS313-15
Pesquisa da FML	Cromatografia em papel

4.4. Preparação das amostras por HS-SPME

Para a análise dos compostos voláteis dos vinhos em análise, as extrações foram feitas por micro extração em fase sólida no espaço de cabeça (HS-SPME), utilizando-se uma fibra de CAR/DVB/PDMS, com 1cm, 50/30 µm de espessura de película, fornecida pela Supelco (Bellefonte, Pennsylvania, USA). Foram efetuados periodicamente ensaios em branco das fibras para garantir a ausência de contaminantes e/ou contaminação. A extração por HS-SPME foi efetuada de acordo com o seguinte procedimento:

1. 5 ml de cada amostra de vinho e 0,6 g de cloreto de sódio foram introduzidos num frasco de vidro de 20,0 ml e selados com um septo de borracha revestido a Teflon/tampa de rosca magnética
2. o frasco foi mantido durante 5 minutos a 50 °C e depois a fibra foi exposta durante 30 minutos à mesma temperatura
3. a dessorção térmica dos analitos foi efetuada colocando a fibra na porta de injeção do GC a 260 °C durante 3 minutos em modo de divisão, com um rácio de 30:1.

4.5. Análise GC-ToFMS

As análises foram efetuadas num Sistema GC-ToFMS constituído por um sistema Agilent 8890GC com um detetor BenchTOF-Select (Markes International). Foi utilizado um injetor automático de amostra: CTC Analysis autosmaples PAL-system (SepSolve Analytical) e os dados foram recolhidos e analisados com o TOF-DS 4-1 da Markes International. A separação cromatográfica foi obtida numa coluna capilar ZB-WAX (60m x 0,25mm i.d. e 0,25 μ m df) fornecida pela Phenomenex, EUA, com fluxo constante de hélio de 1,2 ml/min. O programa de temperatura do forno começou a 40°C e manteve-se durante cinco minutos e aumentou a 4°C min⁻¹ até 240°C e manteve-se durante dez minutos. A temperatura das linhas de transferência e da fonte MS foram fixadas em 250°C. Os espectros de massa e os fragmentos de massa característicos dos analitos foram registados por ionização eletrónica (EI) a 70 eV em varrimento total, de 30 a 400 Da.

Os valores dos índices de retenção linear foram calculados através da análise da mistura comercial de hidrocarbonetos (C7-C30), utilizando as mesmas condições cromatográficas. Os compostos voláteis foram identificados através da correspondência dos espectros de massa com os espectros dos compostos de referência na biblioteca de espectros de massa NIST, tendo também em consideração a estrutura e o peso molecular e, adicionalmente, através da comparação dos índices de retenção linear calculados (LRI) com os LRIs descritos na literatura. A quantidade relativa de cada composto foi calculada como a razão percentual da área do respetivo pico em relação à área total do pico e expressa como percentagem (%).

4.6. Tratamento estatístico dos dados

Os dados foram submetidos a uma análise de variância tendo-se usado como teste de comparação de médias o Fisher LSD, com uma probabilidade de 95%. O programa utilizado foi o IBM SPSS Statistics 26.

5. Resultados

5.1. Análise dos parâmetros físico químicos

Na tabela 2 apresentam-se os resultados da análise completa feita, após a fermentação malolática terminar, à amostra do vinho das barricas e da amostra do vinho que continuou em inox.

Tabela 2- Resultados dos parâmetros físico químicos da primeira recolha de amostras.

	SO ₂ livre (mg/l)	SO ₂ total (mg/l)	Álcool (%V)	Acidez total (g/l)	Acidez volátil (g/l)	Acidez fixa (g/l)	pH
Amostra barrica	24	50	11.4	4.73	0.42	4.31	3.54
Amostra inox	30	55	11.4	5.03	0.54	4.61	3.59

Os resultados mostram que ambas as amostras apresentam o mesmo teor alcoólico, no entanto, em todos os outros parâmetros a amostra das barricas apresenta quantidades inferiores em comparação à amostra do vinho em inox.

5.2. Compostos voláteis

Nas seguintes tabelas, são apresentados os compostos voláteis tentativamente identificados, agrupados por famílias.

Tabela 3- compostos voláteis - Ésteres

Ésteres	tr	LRI calc	LRI lit	Ions m/z	Fórmula
Acetic acid, ethyl ester	5,88	n.c.	888	43/61	C ₄ H ₈ O ₂
Propanoic acid, ethyl ester	7,64	n.c.	953	57/75/102	C ₅ H ₁₀ O ₂
Propanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester	7,88	n.c.	961	43/71/116	C ₆ H ₁₂ O ₂
Acetic acid, propyl ester	8,15	n.c.	973	43/61/73	C ₅ H ₁₀ O ₂
Acetic acid, 2-methylpropyl ester	9,37	n.c.	1012	43/56/73	C ₆ H ₁₂ O ₂
Butanoic acid, ethyl ester	10,18	n.c.	1036	43/71/88	C ₆ H ₁₂ O ₂
Butanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester	10,73	n.c.	1052	102/57/85	C ₇ H ₁₄ O ₂
Acetic acid, butyl ester	11,48	n.c.	1074	43/56/73/94	C ₆ H ₁₂ O ₂
1-Butanol, 3-methyl-, acetate	13,37	n.c.	1123	43/55/70	C ₇ H ₁₄ O ₂
Pentanoic acid, ethyl ester	13,84	n.c.	1134	57/73/85	C ₇ H ₁₄ O ₂
Butanoic acid, 2-methylpropyl ester	14,77	n.c.	1158	43/56/71	C ₈ H ₁₆ O ₂

Tabela 3- compostos voláteis - Ésteres (continuação)

Ésteres	tr	LRI calc	LRI lit	Ions m/z	Fórmula
2-Butenoic acid, ethyl ester	14,94	n.c.	1160	41/69/86/99	C ₆ H ₁₀ O ₂
Hexanoic acid, methyl ester	15,83	n.c.	1184	43/59/74/87	C ₇ H ₁₄ O ₂
Amylpropionate	15,92	n.c.	1185	57/70/101	C ₈ H ₁₆ O ₂
Hexanoic acid, ethyl ester	17,60	n.c.	1233	88/43/99/60	C ₈ H ₁₆ O ₂
Iso Amyl Butyrate	18,77	1263	nf	71/89/60	C ₉ H ₁₈ O ₂
Acetic acid, hexyl ester	19,03	1271	1273	43/56/84	C ₈ H ₁₆ O ₂
Ethyl 3-hexenoate	20,10	1302	1289	41/69/88	C ₈ H ₁₄ O ₂
3-Hexen-1-ol, acetate, (E)-	20,34	1309	1316	43/67/82	C ₈ H ₁₄ O ₂
3-Hexen-1-ol, acetate, (Z)-	20,65	1318	1322	43/67/82	C ₈ H ₁₄ O ₂
Hexanoic acid, propyl ester	20,69	1319	1325	99/117/61/71	C ₉ H ₁₈ O ₂
Heptanoic acid, ethyl ester	21,22	1334	1331	88/43/113	C ₉ H ₁₈ O ₂
Propanoic acid, 2-hydroxy-, ethyl ester	21,56	1344	1347	45/75/56	C ₅ H ₁₀ O ₃
2-Hexenoic acid, ethyl ester	21,63	1346	1350	45/99/55	C ₈ H ₁₄ O ₂
Hexanoic acid, 2-methylpropyl ester	21,89	1354	1354	99/56/43	C ₁₀ H ₂₀ O ₂
Acetic acid, heptyl ester	22,62	1375	1377	43/56/98	C ₉ H ₁₈ O ₂
Octanoic acid, methyl ester	23,17	1390	1385	74/87/43	C ₉ H ₁₈ O ₂
Octanoic acid, ethyl ester	24,72	1437	1435	88/57/43	C ₁₀ H ₂₀ O ₂
Isopentyl hexanoate	25,48	1460	1456	70/43/99	C ₁₁ H ₂₂ O ₂
Acetic acid, octyl ester	26,01	1477	1483	84/56/70	C ₁₀ H ₂₀ O ₂
7-Octenoic acid, ethyl ester	26,36	1487	1485	88/124/55	C ₁₀ H ₁₈ O ₂
Nonanoic acid, methyl ester	26,55	1493	1493	74/87/129	C ₁₀ H ₂₀ O ₂
(Propyl octanoate) Octanoic acid, propyl ester	27,42	1521	1515	145/61/127	C ₁₁ H ₂₂ O ₂
Nonanoic acid, ethyl ester	27,94	1538	1532	88/43/73	C ₁₁ H ₂₂ O ₂
Pentanoic acid, 2-hydroxy-4-methyl-, ethyl ester	28,19	1546	1547	87/69/43	C ₈ H ₁₆ O ₃
Iso Butyl Caprylate	28,45	1554	1550	57/56/127	C ₁₂ H ₂₄ O ₂
Isoamyl lactate	28,99	1572	1570	45/70/55	C ₈ H ₁₆ O ₃
Decanoic acid, methyl ester	29,76	1597	1593	74/87/43	C ₁₁ H ₂₂ O ₂
Butyl caprylate	30,32	1615	1604	57/145/127	C ₁₂ H ₂₄ O ₂
2-Furancarboxylic acid, ethyl ester	30,69	1628	1618	95/112/140	C ₇ H ₈ O ₃
Decanoic acid, ethyl ester	31,08	1641	1639	88/101/155	C ₁₂ H ₂₄ O ₂
Octanoic acid, 3-methylbutyl ester	31,65	1661	1658	70/43/127	C ₁₃ H ₂₆ O ₂
Ethyl cis-4-decenoate	31,81	1666	1665	88/61/84	C ₁₂ H ₂₂ O ₂

Tabela 3- compostos voláteis - Ésteres (continuação)

Ésteres	tr	LRI calc	LRI lit	Ions m/z	Fórmula
Benzoic acid, ethyl ester	32,01	1673	1669	105/122/150	C ₉ H ₁₀ O ₂
Butanedioic acid, diethyl ester	32,18	1679	1675	101/129/55	C ₈ H ₁₄ O ₄
Ethyl Dec-9-Enoate	32,58	1693	1684	88/55/41/69	C ₁₂ H ₂₂ O ₂
Tetradecanoic acid, ethyl ester	33,01	1707	1720	88/101/157	C ₁₆ H ₃₂ O ₂
Decanoic acid, propyl ester	33,50	1725	1724	61/173/155	C ₁₃ H ₂₆ O ₂
Acetic acid, phenylmethyl ester	33,79	1735	1730	108/90/150	C ₉ H ₁₀ O ₂
Undecanoic acid, ethyl ester	33,98	1742	1739	88/101/61	C ₁₃ H ₂₆ O ₂
Iso Butyl Decanoate	34,39	1757	1750	56/155/173	C ₁₄ H ₂₈ O ₂
Pentanedioic acid, diethyl ester	35,09	1782	1774	143/115/47	C ₉ H ₁₆ O ₄
Benzoic acid, 2-hydroxy-, methyl ester	35,17	1785	1780	120/92/152	C ₈ H ₈ O ₃
Methyl salicylate	35,36	1792	1783	91/164/65	C ₁₀ H ₁₂ O ₂
Dodecanoic acid, methyl ester	35,69	1804	1804	74/87/143	C ₁₃ H ₂₆ O ₂
ethyl 4-hydroxybutanoate	35,74	1806	1819	87/42/60	C ₆ H ₁₂ O ₃
Benzoic acid, 2-hydroxy-, ethyl ester	36,10	1819	1820	120/166/57	C ₉ H ₁₀ O ₃
Acetic acid, 2-phenylethyl ester	36,18	1822	1828	104/43/91	C ₁₀ H ₁₂ O ₂
Dodecanoic acid, ethyl ester	36,79	1845	1843	88/101/43	C ₁₄ H ₂₈ O ₂
Iso Amyl Decanoate	37,30	1864	1863	70/43/155	C ₁₅ H ₃₀ O ₂
Ethyl 3-phenylpropionate	38,01	1891	1893	104/107/178	C ₁₁ H ₁₄ O ₂
Butanedioic acid, ethyl 3-methylbutyl ester	38,35	1904	1901	101/129/71	C ₁₁ H ₂₀ O ₄
Ethyl tridecanoate	39,46	1947	1947	88/101/61	C ₁₅ H ₃₀ O ₂
2-heptyl dodecanoate	39,80	1960	1964	56/183/201	C ₁₉ H ₃₈ O ₂
β-Phenylethyl butyrate	40,03	1970	1970	104/71/43	C ₁₂ H ₁₆ O ₂
Diphenyl ether	41,32	2021	2017	170/141/51	C ₁₂ H ₁₀ O
Isopropyl myristate	41,72	2038	2027	43/60/102	C ₁₇ H ₃₄ O ₂
Tetradecanoic acid, ethyl ester	42,02	2050	2050	88/101/43	C ₁₆ H ₃₂ O ₂
3-methylbutyl dodecanoate	42,47	2068	2062	70/57/183	C ₁₇ H ₃₄ O ₂
2-Propenoic acid, 3-phenyl-, ethyl ester	44,14	2139	2128	131/176/57	C ₁₁ H ₁₂ O ₂
Pentadecanoic acid, ethyl ester	44,46	2152	2148	88/101/43	C ₁₇ H ₃₄ O ₂
Hexadecanoic acid, methyl ester	45,97	2218	2209	74/87/43	C ₁₇ H ₃₄ O ₂
Hexadecanoic acid, ethyl ester	46,81	2255	2251	88/101/43	C ₁₈ H ₃₆ O ₂
Ethyl 9-hexadecenoate	47,41	2282	2283	88/236/194	C ₁₈ H ₃₄ O ₂
Octadecanoic acid, ethyl ester	51,22	2461	2451	88/101/312	C ₂₀ H ₄₀ O ₂
Ethyl Oleate	51,65	2482	2471	55/84/69	C ₂₀ H ₃₈ O ₂
Linoleic acid ethyl ester	52,64	2531	2527	81/55/123	C ₂₀ H ₃₆ O ₂
Ethyl Vanillate	54,85	2643	2654	151/196	C ₁₀ H ₁₂ O ₄

Tabela 4- compostos voláteis - Álcoois

Álcoois	tr	LRI calc	LRI lit	Ions m/z	Fórmula
1-Propanol, 2-methyl-	12,13	n.c.	1092	43/55/74	C ₄ H ₁₀ O
1-Butanol	14,12	n.c.	1142	41/56/74	C ₄ H ₁₀ O
Iso Amyl Alcohol	16,52	n.c.	1209	55/42/70	C ₅ H ₁₂ O
4-Methylpentan-1-Ol	20,45	1312	1317	56/41/69	C ₆ H ₁₄ O
1- Pentanol, 3-methyl-	20,90	1325	1326	56/69/84	C ₆ H ₁₄ O
1-Hexanol (CAS)	21,81	1351	1355	56/43/69	C ₆ H ₁₄ O
3-Hexen-1-ol, (E)-	22,20	1362	1367	41/67/82	C ₆ H ₁₂ O
3-Hexen-1-ol, (Z)-	22,92	1383	1382	41/67/82	C ₆ H ₁₂ O
2-Octanol	24,08	1418	1411	45/84/112	C ₈ H ₁₈ O
1-Octen-3-ol	25,13	1450	1445	57/85/72	C ₇ H ₁₄ O
1-Heptanol	25,27	1454	1453	70/43/117	C ₇ H ₁₆ O
5-Hepten-2-ol, 6-methyl-	25,53	1462	1465	95/71/43	C ₈ H ₁₆ O
1-Hexanol, 2-ethyl-	26,41	1489	1491	57/98/70	C ₈ H ₁₆ N ₄
2-Nonanol	27,32	1518	1521	45/98/57	C ₉ H ₂₀ O
1-Octanol	28,53	1557	1557	56/41/70/84	C ₈ H ₁₈ O
Ethanol, 2-(2-ethoxyethoxy)-	30,46	1620	1610	45/59/72	C ₆ H ₁₄ O ₃
1-Decanol	34,52	1762	1760	56/70/43	C ₁₀ H ₂₂ O
Benzenemethanol	37,78	1882	1870	79/108/77	C ₇ H ₈ O
Phenylethyl Alcohol	38,69	1917	1907	91/92/122	C ₈ H ₁₀ O
1-Dodecanol	39,94	1966	1969	56/43/99	C ₁₂ H ₂₆ O
1-Tetradecanol	44,90	2171	2165	55/83/43	C ₁₄ H ₃₀ O
1-Hexadecanol	49,48	2377	2382	149/56/69	C ₁₆ H ₃₄ O

Tabela 5-compostos voláteis - Terpenos

Terpenos	tr	LRI calc	LRI lit	Ions m/z	Fórmula
D-Limonene	16,13	n.c.	1200	68/93/121	C ₁₀ H ₁₆
α-Terpinolene	19,33	nf	1284	121/93	C ₁₀ H ₁₆
L-Menthone	25,64	1465	1468	112/69/139	C ₁₀ H ₁₈ O
α -Terpinene	27,19	1513	nf	93/121/136	C ₁₀ H ₁₆
Linalool	28,25	1548	1549	71/93/41	C ₁₀ H ₁₈ O
4-Terpineol	29,99	1604	1597	71/111/93	C ₁₀ H ₁₈ O
α -Terpineol	32,76	1698	1690	59/121/136	C ₁₀ H ₁₈ O
β-Citronellol	34,64	1766	1765	69/41/82/123	C ₁₀ H ₂₀ O
Nerol	35,62	1801	1797	69/41/93	C ₁₀ H ₁₈ O
Calacorene	38,86	1924	1919	157/142/200	C ₁₃ H ₁₆
Nerolidol	41,79	2040	2034	69/93/41	C ₁₅ H ₂₆ O
Cadalene	46,31	2233	2233	183/198/168	C ₁₅ H ₁₈

Tabela 6-compostos voláteis - Cetonas

Cetonas	tr	LRI calc	LRI lit	Ions m/z	Fórmula
2,3-Butanedione	8,32	n.c.	979	43/86	C ₄ H ₆ O ₂
2-Butanone, 3-hydroxy- (Acetoin)	19,51	1285	1285	45/88	C ₄ H ₈ O ₂
Ethanone, 1-phenyl- (Acetophenone)	31,60	1659	1647	105/77/120	C ₈ H ₈ O

Tabela 7-compostos voláteis - Aldeídos

Aldeídos	tr	LRI calc	LRI lit	Ions m/z	Fórmula
Nonanal	23,33	1395	1391	43/55/82/71	C ₉ H ₁₈ O
Furfural (2-Furancarboxaldehyde)	25,80	1470	1470	96/95	C ₅ H ₄ O ₂
Decanal	26,80	1501	1498	57/71/112	C ₁₀ H ₂₀ O
Benzaldehyde	27,71	1530	1520	106/77/192	C ₁₃ H ₂₀ O
Benzeneacetaldehyde (Phenyl Acetaldehyde)	31,37	1651	1641	91/120/74	C ₈ H ₈ O
Vanillin	53,63	2580	2568	152/150	C ₈ H ₈ O ₃

Tabela 8-compostos voláteis - Ácidos

Ácidos	tr	LRI calc	LRI lit	Ions m/z	Fórmula
Acetic acid	25,80	1470	1480	43/60	C ₂ H ₄ O ₂
Propanoic acid, 2-methyl-	29,30	1581	1573	43/73/88	C ₄ H ₈ O ₂
Butanoic acid, 3-methyl-	32,29	1683	1677	60/74/87	C ₅ H ₁₀ O ₂
Hexanoic acid	37,15	1858	1858	60/73/41	C ₆ H ₁₂ O ₂
Octanoic acid	42,55	2072	2065	60/73/43	C ₈ H ₁₆ O ₂
Nonanoic acid	45,07	2178	2170	60/73/43	C ₉ H ₁₈ O ₂
Decanoic acid	47,46	2284	2291	60/73/43	C ₁₀ H ₂₀ O ₂
Dodecanoic acid	51,96	2497	2496	60/73/43	C ₁₂ H ₂₄ O ₂

Tabela 9-compostos voláteis - Lactonas

Lactonas	tr	LRI calc	LRI lit	Ions m/z	Fórmula
2(3H)-Furanone, dihydro (Butyrolactona)	30,98	1638	1632	42/86/56	C ₄ H ₆ O ₂
2(3H)-Furanone, 5-ethoxydihydro-	33,69	1732	1728	85/58/163	C ₆ H ₁₀ O ₃
Whiskey lactone	38,12	1895	1898	99/71/42	C ₉ H ₁₆ O ₂
2(3H)-Furanone, 5-butyldihydro- (γ-Octalactona)	38,89	1925	1929	85/57/100	C ₉ H ₁₆ O ₂

Tabela 10-compostos voláteis - Fenóis

Fenóis	tr	LRI calc	LRI lit	Ions m/z	Fórmula
Phenol, 2-methoxy- (Guaiacol)	37,38	1867	1865	124/109/115	C ₇ H ₈ O ₂
Phenol	41,14	2014	2015	94/66/173	C ₆ H ₆ O
Eugenol	44,98	2175	2169	164/149/137	C ₁₀ H ₁₂ O ₂
Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-	48,13	2314	2321	191/206/57	C ₁₄ H ₂₂ O
4-vinylphenol	50,02	2402	2390	120/90	C ₈ H ₈ O

Tabela 11- compostos voláteis - Norisoprenoides

Norisoprenoides	tr	LRI calc	LRI lit	Ions m/z	Fórmula
vitispirane 1	27,73	1531	1527	192/43/177	C ₁₃ H ₂₀ O
vitispirane 2	27,81	1534	1527	192/43/177	C ₁₃ H ₂₀ O
Naphthalene, 1,2-dihydro-1,1,6-trimethyl-	34,25	1752	1748	157/142/172	C ₁₃ H ₁₆
β-Damascenone	36,30	1826	1830	69/121/190	C ₁₃ H ₁₈ O

Tabela 12-compostos voláteis - Outros

Outros	tr	LRI calc	LRI lit	Ions m/z	Fórmula
Styrene	18,49	1255	1272	104/78/51	C ₈ H ₈
2-Pyrazoline, 4-ethyl-1-isopropyl-	20,22	1305	nf	125/69/140	C ₈ H ₁₆ N ₂
(s)-3-Ethyl-4-methylpentanol	27,03	1508	1509	69/41/84	C ₈ H ₁₈ O
2-Methyltetrahydrothiophen-3-one	27,83	1534	1529	60/116/45	C ₅ H ₈ OS
Benzonitrile	30,26	1613	1598	103/76/50	C ₇ H ₅ N
1-Propanol, 3-(methylthio)-	33,36	1720	1722	106/61/73	C ₄ H ₁₀ OS
5,9- Undecadien-2-ol, 6,10- dimethyl-	39,65	1955	1954	109/69/153	C ₁₃ H ₂₄ O
Benzene, 1,2,3- trimethoxy-5-(2-propenyl)-	46,27	2231	2229	208/193/177	C ₁₂ H ₁₆ O ₃

Os resultados da semi-quantificação são apresentados nas tabelas 13 a 22 nos anexos.

Os valores da semi-quantificação presentes nas tabelas e agrupados por famílias são apresentados nas seguintes figuras.

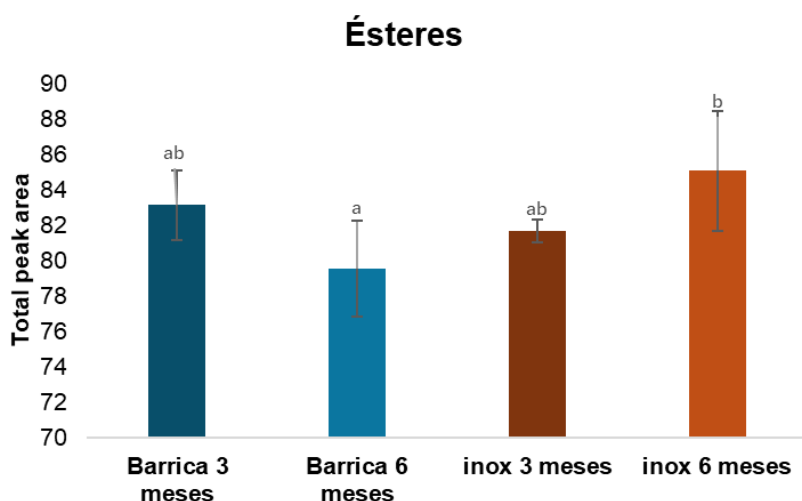


Figura 5-Teores totais dos ésteres (% de área) nos vinhos em barricas e em inox. Letras diferentes entre as colunas significam diferenças significativas para $p < 0,05$.

A família dos Ésteres está presente em grandes quantidades em todas as amostras, podendo-se observar uma diminuição, embora não significativa, no teor em ésteres no vinho em barrica após 6 meses de estágio. Para os vinhos em inox, verifica-se um comportamento contrário, o teor total de ésteres aumenta dos 3 para os 6 meses. Os vinhos com 6 meses de estágio apresentam teores significativamente diferentes de ésteres, sendo o vinho em inox, o que apresenta teores mais elevados.

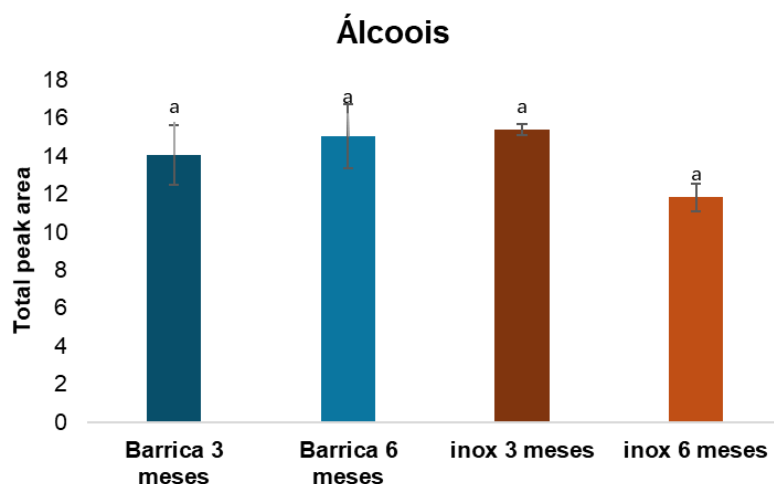


Figura 6-Teores totais dos álcoois (% de área) nos vinhos em barricas e em inox. Letras diferentes entre as colunas significam diferenças significativas para $p < 0,05$.

A família dos Álcoois é a segunda família com maiores concentrações em ambas as amostras, podendo-se observar uma quantidade ligeiramente inferior no vinho em inox após 6 meses de estágio, apesar de as diferenças não serem significativas.

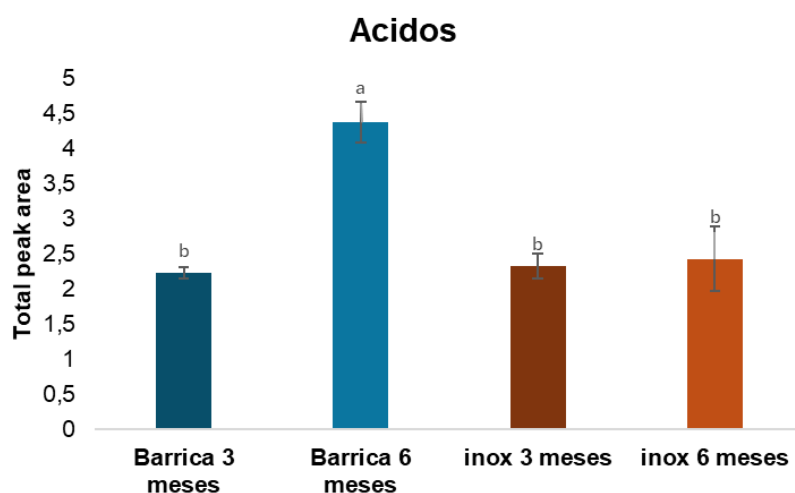


Figura 7-Teores totais dos ácidos (% de área) nos vinhos em barricas e em inox. Letras diferentes entre as colunas significam diferenças significativas para $p < 0,05$.

Para a família dos ácidos destaca-se como significativamente diferente o vinho em barrica após 6 meses de estágio, que é aquele que apresenta os teores mais elevados.

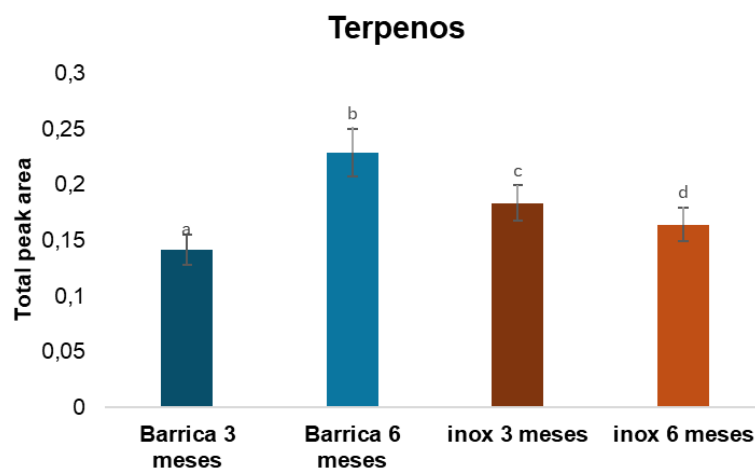


Figura 8-Teores totais dos terpenos (% de área) nos vinhos em barricas e em inox. Letras diferentes entre as colunas significam diferenças significativas para $p < 0,05$.

A família dos terpenos apresenta maior concentração na barrica após 6 meses de estágio em relação às outras amostras. Comparando as amostras das barricas com as do inox, observou-se que o vinho que estagiou em barricas sofreu um aumento de compostos voláteis da família dos terpenos, enquanto no vinho que ficou em inox observa-se uma diminuição.

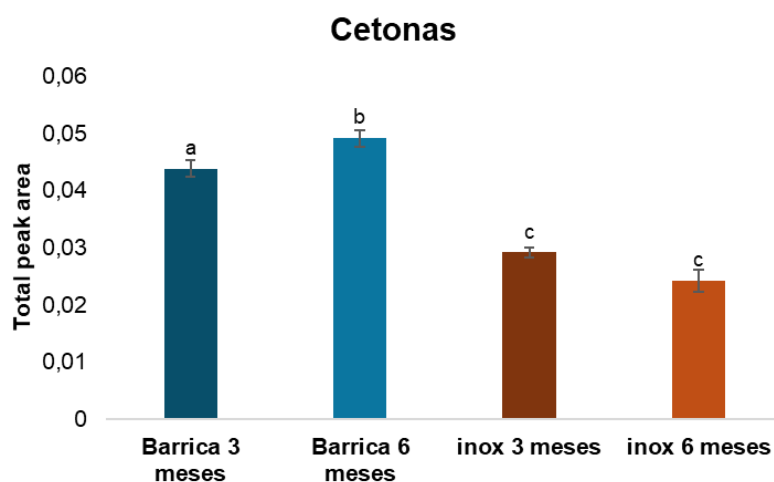


Figura 9-Teores totais das cetonas (% de área) nos vinhos em barricas e em inox. Letras diferentes entre as colunas significam diferenças significativas para $p < 0,05$.

Para a família das cetonas, e comparando as amostras das barricas com as do inox, observou-se que o vinho que estagiou em inox apresenta teores significativamente mais baixos e um decréscimo destes compostos voláteis, dos 3 para os 6 meses de maturação. Nos vinhos em barricas o teor em cetonas aumentou significativamente.

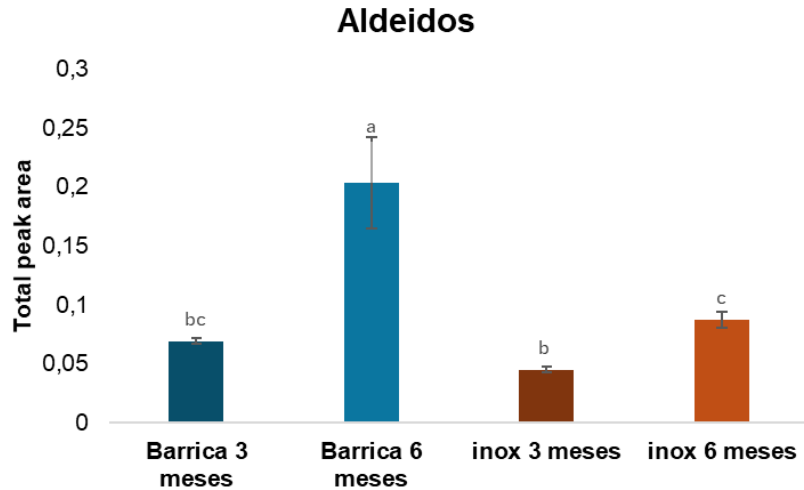


Figura 10-Teores totais dos aldeídos (% de área) nos vinhos em barricas e em inox
Letras diferentes entre as colunas significam diferenças significativas para $p < 0,05$.

Na família dos aldeídos, embora presente em concentrações baixas, consegue-se observar que há uma amostra que se destaca com maior quantidade que as outras, a barrica com 6 meses de estágio. Houve um aumento considerável dos compostos desta família após o estágio de 6 meses do vinho que permaneceu em barricas. Observou-se também um aumento significativo na amostra do vinho que ficou em inox após os 6 meses.

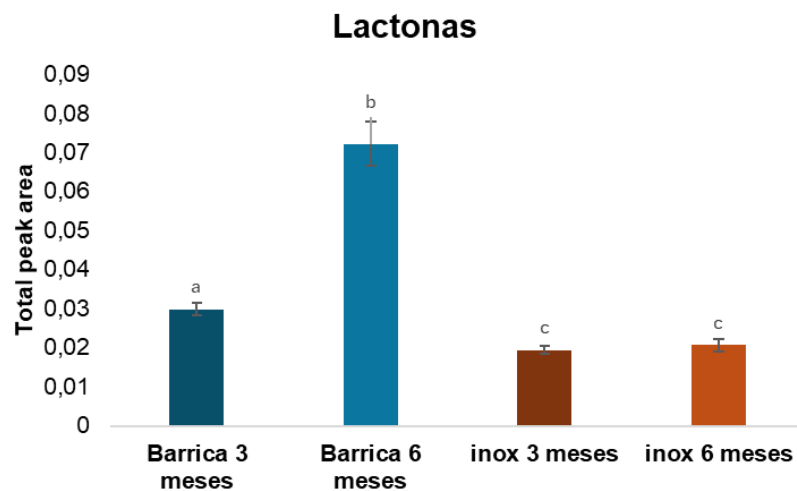


Figura 11-Teores totais das lactonas (% de área) nos vinhos em barricas e em inox
Letras diferentes entre as colunas significam diferenças significativas para $p < 0,05$.

A família das lactonas está presente nas amostras em pequenas quantidades, mesmo assim houve um aumento significativo na amostra das barricas após os 6 meses

de envelhecimento. O vinho que estagiou em inox não sofreu alterações significativas na quantidade de compostos voláteis desta família durante o seu estágio.

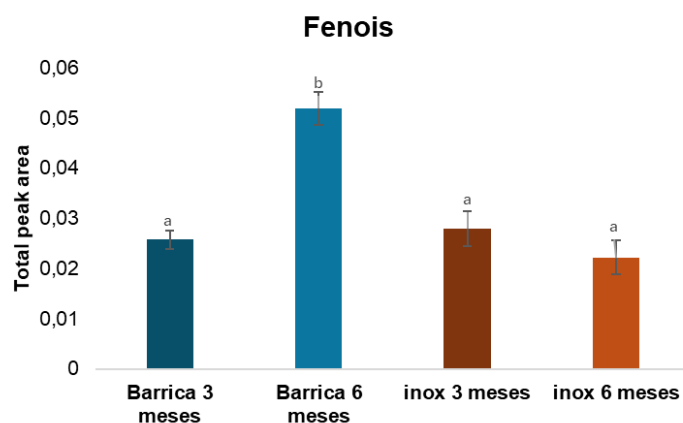


Figura 12-Teores totais dos fenois (% de área) nos vinhos em barricas e em inox. Letras diferentes entre as colunas significam diferenças significativas para $p < 0,05$.

Na família dos fenóis verificou-se um aumento significativo na amostra do vinho que estagiou em barricas, sendo a amostra da barrica 6 meses a que apresentou maior concentração. O vinho que estagiou em inox teve uma pequena perda destes compostos, não significativa.

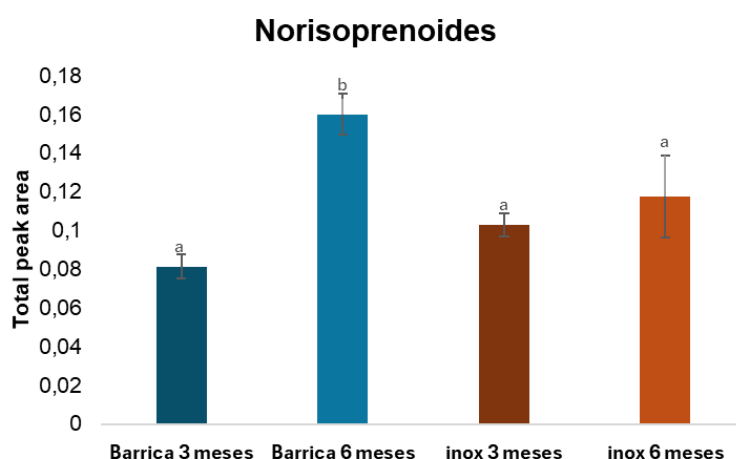


Figura 13-Teores totais dos norisoprenoides (% de área) nos vinhos em barricas e em inox. Letras diferentes entre as colunas significam diferenças significativas para $p < 0,05$.

A família dos norisoprenoides aumentou durante o estágio de 6 meses em ambos os vinhos, estando presente em maior concentração na amostra da barrica 6 meses, que apresentou teores significativamente maiores que as restantes amostras.

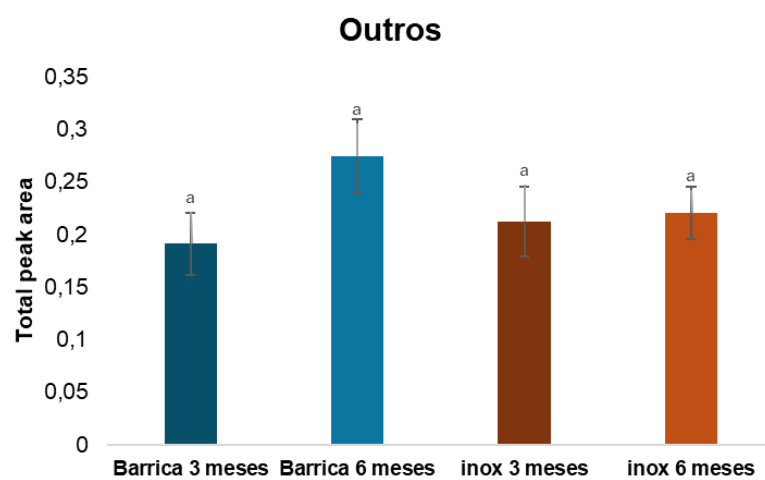


Figura 14-Teores totais de outros (% de área) nos vinhos em barricas e em inox. Letras diferentes entre as colunas significam diferenças significativas para $p < 0,05$.

Para os compostos voláteis agrupados na família “Outros” verifica-se um aumento dos 3 para os 6 meses de maturação, embora não significativo.

6. Discussão

Com a metodologia analítica que foi utilizada neste trabalho, foi possível identificar (tentativamente) e semi-quantificar 150 compostos voláteis. A maioria dos compostos voláteis pertencem às famílias dos esteres (77), dos álcoois (22) e dos terpenos (12).

Quando comparamos os valores totais por famílias encontrados para os quatro vinhos em estudo, verifica-se que o vinho que apresenta maiores diferenças em relação aos restantes foi o vinho em barrica 6 meses. Neste vinho foram encontrados os teores mais elevados de todas as famílias de compostos voláteis, exceto para a família dos esteres onde se verificou um decréscimo significativo. Durante a maturação de vinhos, os esteres podem diminuir porque são sujeitos a hidrólise ou oxidação, podem-se formar por processos de esterificação, ou podem manter-se em equilíbrio, tudo dependendo das suas concentrações iniciais. Dado que, neste caso o teor total de esteres diminui, podemos inferir que provavelmente terão sido sobretudo hidrolisados ou oxidados durante a permanência do vinho em barrica, onde a quantidade de oxigénio dissolvido no vinho será maior. O mesmo resultado foi verificado por outros autores (Pichler et al., 2024b).

Da observação das tabelas em anexo, onde se encontram discriminados todos os compostos tentativamente identificados, podemos verificar a influência da barrica na composição volátil dos vinhos. De facto, observa-se que entre os vinhos em barrica e em inox, existem compostos que apenas foram identificados nos vinhos em barrica, como por exemplo o furfural, a vanilina, a whiskey lactona e o guaiacol. Estes compostos já foram identificados por outros autores como sendo compostos provenientes da madeira (Martins et al., 2012). A whiskey lactona é um produto da degradação dos lípidos da madeira, e é extraída pelo vinho quando em contacto com a madeira, contribuindo para os aromas frutados e amadeirados (Dumitriu (Gabur) et al., 2020). O guaiacol, que provém da degradação térmica da lenhina e o furfural que provém da degradação térmica das hemiceluloses (Garde-Cerdán & Ancín-Azpilicueta, 2006) são considerados marcadores de vinhos maturados em barricas de carvalho.

A fermentação malolática (FML) é fundamental para o desenvolvimento do perfil aromático dos vinhos, sendo responsável pela formação de compostos voláteis que enriquecem a sua complexidade sensorial. Um exemplo significativo é o lactato de etilo, formado pela esterificação do lactato, produzido pelas bactérias lácticas (*Oenococcus oeni*), com o etanol da fermentação alcoólica (Ugliano & Moio, 2005). Foi possível observar que este composto está presente nas amostras retiradas logo após o final da

fermentação malolática tanto em barricas como em inox (tabela 13), confirmando o impacto da FML na complexidade sensorial dos vinhos.

Estudos realizados por Hernandez-Orte et al., 2009 e Boido et al., 2002 demonstraram que a fermentação malolática realizada em depósitos de inox e barricas de carvalho originam vinhos com concentrações semelhantes de compostos como o lactato de etilo e os terpenos. Contudo, o contacto com a madeira e a oxigenação nas barricas contribuem para uma influência específica do perfil aromático, favorecendo o aumento de compostos como a β -damascenona e o álcool benzílico. No presente estudo, observou-se que a concentração de β -damascenona aumentou nas amostras envelhecidas em barrica, e diminuiu nas amostras em inox. Da mesma forma, o álcool benzílico aumentou nas barricas e manteve-se constante no depósito de inox. Estes resultados comprovam a influência única da barrica na intensificação de compostos aromáticos específicos, diferenciando o perfil sensorial dos vinhos envelhecidos em barrica ou inox.

De acordo com Winterhalter & Rouseff, 2002, os norisoprenóides são compostos aromáticos que existem nas uvas e podem também ser formados durante o envelhecimento do vinho através da degradação térmica e oxidativa de precursores carotenoides, como o β -caroteno, luteína e neoxantina. Estes compostos desempenham um papel essencial no perfil aromático do vinho, contribuindo com notas de fruta madura, flores secas e especiarias, enriquecendo a complexidade sensorial. A sua presença tem efeitos muito benéficos para a qualidade sensorial dos vinhos, como também destacado por Izquierdo-Cañas et al., 2016.

Neste estudo, verificou-se que, a vitispirane 1 e vitispirane 2 apresentaram um aumento nas suas concentrações entre as amostras envelhecidas em barrica por 3 e 6 meses. Este resultado é consistente com o observado por Izquierdo-Cañas et al., 2016 que também verificou um aumento nas concentrações de norisoprenóides em vinhos submetidos ao envelhecimento, reforçando a sua contribuição para o desenvolvimento aromático durante este processo.

Em estudos realizados por Izquierdo-Cañas et al., 2016 e Heras et al., 2008 também se verificaram aumentos significativos da concentração de terpenos em barricas, o que pode ser explicado pela micro-oxigenação a que os vinhos são submetidos durante o estágio em barrica.

No caso das lactonas, verificaram-se diferenças significativas entre o vinho que estava nas barricas durante 3 meses e o de 6, enquanto no inox não se verificaram

diferenças significativas na concentração de lactonas consoante o tempo de estágio. Esta diferença pode ser explicada pela presença de lactonas no carvalho, e ausência destes compostos no inox. Resultados semelhantes foram obtidos no estudo realizado por (Izquierdo-Cañas et al., 2016).

Neste estudo não se verificaram diferenças significativas na concentração de fenóis no vinho estagiado em carvalho, quando comparado com o vinho estagiado em inox, mas verificaram-se diferenças significativas entre a concentração de fenóis no vinho estagiado durante 3 meses em madeira e o vinho estagiado durante 6 meses também em madeira, o que pode ser explicado pela instabilidade destes compostos cuja formação de reações começa quando as uvas são esmagadas ou prensadas e continua durante a vinificação e o envelhecimento (He et al., 2023)

Para uma melhor visualização das diferenças entre os vinhos, apresenta-se um “heat map” (figura 15) onde facilmente se verifica que os vinhos se encontram agrupados dois a dois, barricas e inox, o que parece indicar que a influencia da madeira se sobrepõe à FML.

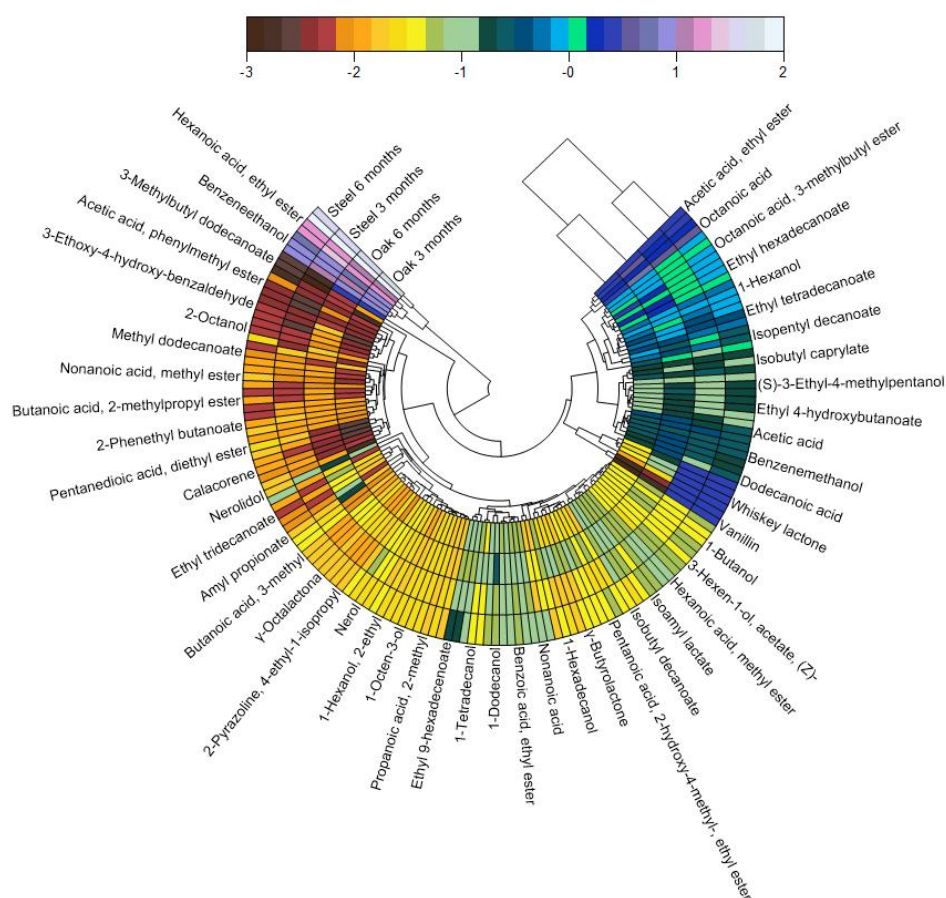


Figura 15- Polar heat map

7. Conclusões

O principal objetivo deste estudo foi analisar o efeito da fermentação malolática num vinho tinto Alfrocheiro em barricas de carvalho. De acordo com os resultados deste estudo, são alguns fatores que influenciam o perfil aromático final do vinho como o tipo de recipiente (foram observadas diferenças entre amostras do depósito de aço inoxidável e das barricas de madeira) e o tempo de armazenamento.

A análise detalhada dos compostos voláteis realizada neste estudo permitiu evidenciar a influência significativa da fermentação malolática (FML) e do envelhecimento em diferentes condições (barrica e inox) no perfil aromático dos vinhos. Foram identificados e semi-quantificados 150 compostos voláteis, com destaque para as famílias dos ésteres, álcoois e terpenos.

Os resultados demonstraram que o envelhecimento em barrica promoveu concentrações mais elevadas de compostos aromáticos como a β -damascenona, o álcool benzílico, as vitispiaranes e as lactonas, que são conhecidos por contribuir para aromas complexos e de elevada qualidade sensorial. Este comportamento confirma a influência única da barrica, através do contacto com a madeira e da micro-oxigenação, como já descrito por Boido et al., 2002; Hernandez-Orte et al., 2009; Izquierdo-Cañas et al., 2016.

Por outro lado, os vinhos envelhecidos em inox apresentaram perfis aromáticos distintos, com menor concentração de compostos associados ao contacto com a madeira. Apesar disso, foi possível observar o impacto da FML em ambos os sistemas, destacando-se o aumento do lactato de etilo, um marcador importante deste processo (Ugliano & Moio, 2005). Estes resultados reforçam a importância da FML e das condições de envelhecimento na definição do perfil aromático dos vinhos.

Embora a fermentação malolática contribua significativamente para o perfil sensorial do vinho, especialmente com a formação de compostos como o lactato de etilo e alguns terpenos (Hernandez-Orte et al., 2009; Ugliano & Moio, 2005), os resultados deste estudo mostram que o tipo de estágio (barrica ou inox) exerce uma influência ainda mais determinante. O contacto prolongado com a madeira, combinado com os efeitos de micro-oxigenação, promove o desenvolvimento de compostos exclusivos, como a β -damascenona, o álcool benzílico e os compostos derivados da degradação térmica da lignina e hemiceluloses, como o guaiacol e o furfural (Garde-Cerdán & Ancín-Azpilicueta, 2006).

Dessa forma, o estágio em barrica não apenas intensifica o perfil aromático, mas também contribui para diferenças mais marcantes entre os vinhos, superando a influência isolada da FML. Já no inox, a ausência de interação com a madeira limita essa modulação aromática, reforçando a importância do tipo de recipiente no desenvolvimento do perfil final do vinho.

Assim, não é indiferente fazer a FML em barricas ou em inox, tal como não é indiferente que os vinhos passem ou não por madeira. Estas duas etapas da produção de vinhos afetam a componente volátil dos vinhos, mas os nossos resultados indicam que a influência da madeira se sobrepõe, porque paralelamente às alterações induzidas pela FML, há um enriquecimento dos vinhos em compostos extraídos da madeira, que claramente influenciam a sua componente volátil.

8. Referências

- Antalick, G., Perello, M. C., & De Revel, G. (2012). Characterization of fruity aroma modifications in red wines during malolactic fermentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(50), 12371–12383. <https://doi.org/10.1021/jf303238n>
- Bauer, R., & Dicks, L. M. T. (2004). *Control of Malolactic Fermentation in Wine. A Review*.
- Boido, E., Lloret, A., Medina, K., Carrau, F., & Dellacassa, E. (2002). Effect of β -glycosidase activity of *Oenococcus oeni* on the glycosylated flavor precursors of Tannat wine during malolactic fermentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(8), 2344–2349. <https://doi.org/10.1021/jf0109367>
- Botelho, M., Cruz, A., & De Castro, R. (2013). *Canopy density on the vine variety “alfrocheiro” (vitis vinifera L.) I. Effects on canopy structure, microclimate, vigour and vegetative growth*.
- Carpena, M., Pereira, A. G., Prieto, M. A., & Simal-Gandara, J. (2020). Wine aging technology: Fundamental role of wood barrels. In *Foods* (Vol. 9, Issue 9). MDPI Multidisciplinary Digital Publishing Institute. <https://doi.org/10.3390/foods9091160>
- Chira, K., & Teissedre, P. L. (2015). Chemical and sensory evaluation of wine matured in oak barrel: effect of oak species involved and toasting process. *European Food Research and Technology*, 240(3), 533–547. <https://doi.org/10.1007/s00217-014-2352-3>
- Crump, A. M., Johnson, T. E., Wilkinson, K. L., & Bastian, S. E. P. (2015). Influence of oak maturation regimen on composition, sensory properties, quality, and consumer acceptability of cabernet sauvignon wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(5), 1593–1600. <https://doi.org/10.1021/jf5044025>
- Cunha, J., Santos, M. T., Ibáñez, J., & Brazão, J. (2013). *A importância da casta “Alfrocheiro” na origem e preservação da diversidade genética da Videira em Portugal*. <https://www.researchgate.net/publication/328335578>

- Dumitriu (Gabur), G. D., Peinado, R. A., Cotea, V. V., & López de Lerma, N. (2020). Volatilome fingerprint of red wines aged with chips or staves: Influence of the aging time and toasting degree. *Food Chemistry*, 310. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125801>
- Fu, J., Wang, L., Sun, J., Ju, N., & Jin, G. (2022). Malolactic Fermentation: New Approaches to Old Problems. In *Microorganisms* (Vol. 10, Issue 12). MDPI. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10122363>
- Garde-Cerdán, T., & Ancín-Azpilicueta, C. (2006). Review of quality factors on wine ageing in oak barrels. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 17, Issue 8, pp. 438–447). <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2006.01.008>
- González-Barreiro, C., Rial-Otero, R., Cancho-Grande, B., & Simal-Gándara, J. (2015). Wine Aroma Compounds in Grapes: A Critical Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(2), 202–218. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.650336>
- González-Centeno, M. R., Teissedre, P.-L., Thibon, C., & Chira, K. (2020). Does barrel size influence white wine aging quality? *IVES Technical Reviews, Vine and Wine*. <https://doi.org/10.20870/ives-tr.2020.3305>
- González-Marco, A., Jiménez-Moreno, N., & Ancín-Azpilicueta, C. (2008). Concentration of volatile compounds in Chardonnay wine fermented in stainless steel tanks and oak barrels. *Food Chemistry*, 108(1), 213–219. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.10.067>
- Graça, A. (2007). *Modernizing an “old wine industry”. Portugal, a case-study of diversity-driven innovation*. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.3602.2248>
- He, Y., Wang, X., Li, P., Lv, Y., Nan, H., Wen, L., & Wang, Z. (2023). Research progress of wine aroma components: A critical review. In *Food Chemistry* (Vol. 402). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134491>
- Heras, M. O., Rivero-Pérez, M. D., Pérez-Magariño, S., González-Huerta, C., & González-Sanjosé, M. L. (2008). Changes in the volatile composition of red wines during aging in oak barrels due to microoxygenation treatment applied before malolactic fermentation. *European Food Research and Technology*, 226(6), 1485–1493. <https://doi.org/10.1007/s00217-007-0680-2>

- Hernandez-Orte, P., Cersosimo, M., Loscos, N., Cacho, J., Garcia-Moruno, E., & Ferreira, V. (2009). Aroma development from non-floral grape precursors by wine lactic acid bacteria. *Food Research International*, 42(7), 773–781. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.02.023>
- Hidalgo Togores, J. (2002). *Tratado de Enología: Vol. II*. Ediciones Mundi-Prensa.
- Infovini. (2024). *Infovini - O portal do vinho português*. <https://www.infovini.com/pagina.php?codNode=18017#tab1>
- Izquierdo-Cañas, P. M., Mena-Morales, A., & García-Romero, E. (2016). Malolactic fermentation before or during wine aging in barrels. *LWT*, 66, 468–474. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.11.003>
- Jordão, A. M., & Cosme, F. (2022). The Application of Wood Species in Enology: Chemical Wood Composition and Effect on Wine Quality. In *Applied Sciences (Switzerland)* (Vol. 12, Issue 6). MDPI. <https://doi.org/10.3390/app12063179>
- LAFFORT. (2022). *CATÁLOGO 2022*.
- Martínez-Gil, A., Del Alamo-Sanza, M., & Nevares, I. (2022). Evolution of red wine in oak barrels with different oxygen transmission rates. Phenolic compounds and colour. *LWT*, 158. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113133>
- Martínez-Gil, A., Del Alamo-Sanza, M., Sánchez-Gómez, R., & Nevares, I. (2018). Different woods in cooperage for oenology: A review. In *Beverages* (Vol. 4, Issue 4). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/beverages4040094>
- Martins, N., Garcia, R., Gomes, M., Silva, D., & Cabrita, M. J. (2012). *Volatile compounds from oak, cherry, chestnut and acacia chips: Influence of toasting level / Composição volátil de aparas de carvalho, cerejeira, castanheiro e acácia: Influência do nível de queima*.
- Moreno-Arribas, V., & Polo, M. C. (2009). *Wine Chemistry and Biochemistry*.
- Navarro, M., Kontoudakis, N., Gómez-Alonso, S., García-Romero, E., Canals, J. M., Hermosín-Gutiérrez, I., & Zamora, F. (2016). Influence of the botanical origin and toasting level on the ellagitannin content of wines aged in new and used oak barrels. *Food Research International*, 87, 197–203. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.07.016>

- Paramithiotis, S., Stasinou, V., Tzamourani, A., Kotseridis, Y., & Dimopoulou, M. (2022). Malolactic Fermentation—Theoretical Advances and Practical Considerations. In *Fermentation* (Vol. 8, Issue 10). MDPI. <https://doi.org/10.3390/fermentation8100521>
- Pichler, A., Ivić, I., Mesić, J., Drenjančević, M., Kujundžić, T., Marković, T., & Kopjar, M. (2024a). Aroma Profile of Merlot Red Wine Stored in Stainless-Steel Tanks and Wooden Barrels with Different Toasting Methods. *Foods*, *13*(1). <https://doi.org/10.3390/foods13010045>
- Pichler, A., Ivić, I., Mesić, J., Drenjančević, M., Kujundžić, T., Marković, T., & Kopjar, M. (2024b). Aroma Profile of Merlot Red Wine Stored in Stainless-Steel Tanks and Wooden Barrels with Different Toasting Methods. *Foods*, *13*(1). <https://doi.org/10.3390/foods13010045>
- Pittari, E., Moio, L., & Piombino, P. (2021). Interactions between polyphenols and volatile compounds in wine: A literature review on physicochemical and sensory insights. In *Applied Sciences (Switzerland)* (Vol. 11, Issue 3, pp. 1–29). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/app11031157>
- Qian, X., Jia, F., Cai, J., Shi, Y., Duan, C., & Lan, Y. (2022). Characterization and evolution of volatile compounds of cabernet sauvignon wines from two different clones during oak barrel aging. *Foods*, *11*(1). <https://doi.org/10.3390/foods11010074>
- Rebelo, J., & Baptista, A. (2024). Potential market failures in the Portuguese wine industry. *Ciencia e Technica Vitivinicola*, *39*(1), 1–13. <https://doi.org/10.1051/ctv/20243901001>
- Regodón Mateos, J. A., Pérez-Nevado, F., & Ramírez Fernández, M. (2006). Influence of *Saccharomyces cerevisiae* yeast strain on the major volatile compounds of wine. *Enzyme and Microbial Technology*, *40*(1), 151–157. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2005.10.048>
- Ruiz, J., Kiene, F., Belda, I., Fracassetti, D., Marquina, D., Navascués, E., Calderón, F., Benito, A., Rauhut, D., Santos, A., & Benito, S. (2019). Effects on varietal aromas during wine making: a review of the impact of varietal aromas on the flavor of wine. In *Applied Microbiology and Biotechnology* (Vol. 103, Issue 18, pp. 7425–7450). Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-10008-9>

- Santos, S. F. (2011). *Estágio de um vinho tinto em barricas de madeira com diferentes tostas, provenientes da mesma tanoaria: Efeitos na composição química e análise sensorial*. Dissertação de Mestrado, Instituto Superior de Agronomia.
- Silva, L. R., & Queiroz, M. (2016). Bioactive compounds of red grapes from Dão region (Portugal): Evaluation of phenolic and organic profile. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(4), 315–321.
<https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2015.12.015>
- Sumby, K. M., Grbin, P. R., & Jiranek, V. (2010). Microbial modulation of aromatic esters in wine: Current knowledge and future prospects. In *Food Chemistry* (Vol. 121, Issue 1, pp. 1–16). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.12.004>
- Tupajić, P. (2001). Influence of Malolactic Fermentation on the Quality of Riesling Wine. In *Agriculturae Conspectus Scientificus* (Vol. 66, Issue 1).
<https://www.researchgate.net/publication/27197125>
- Ugliano, M., & Moio, L. (2005). Changes in the concentration of yeast-derived volatile compounds of red wine during malolactic fermentation with four commercial starter cultures of *Oenococcus oeni*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(26), 10134–10139. <https://doi.org/10.1021/jf0514672>
- Vine to Wine Circle. (2024). *Vine to Wine Circle- Alfrocheiro*.
https://www.vinetowinecircle.com/castas_post/alfrocheiro/
- Winterhalter, P., & Rouseff, R. (2002). *Carotenoid-Derived Aroma Compounds: An Introduction*. <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>

9. Anexos

Tabela 13-Semi- quantificação - Ésteres

Ésteres	Barrica 3 meses		Barrica 6 meses		Inox 3 meses		Inox 6 meses	
	média	dp	média	dp	média	dp	média	dp
Acetic acid, ethyl ester	1,0098	0,0295	1,2175	0,0141	1,0078	0,0033	1,1677	0,0916
Propanoic acid, ethyl ester	0,0149	0,0002	0,0177	0,0003	0,0161	0,0001	0,0177	0,0006
Propanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester	0,0123	0,0004	0,0202	0,0007	0,0128	0,0003	0,0213	0,0016
Acetic acid, propyl ester	0,0077	0,0003	0,0072	0,0003	0,0081	0,0000	0,0075	0,0003
Acetic acid, 2-methylpropyl ester	0,0655	0,0014	0,0601	0,0006	0,0793	0,0017	0,0680	0,0040
Butanoic acid, ethyl ester	0,3354	0,0346	0,3621	0,0050	0,4401	0,0067	0,3981	0,0226
Butanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester	0,0005	0,0000	0,0052	0,0004	0,0030	0,0000	0,0055	0,0014
Acetic acid, butyl ester	0,0018	0,0001	0,0015	0,0004	0,0041	0,0000	0,0026	0,0003
1-Butanol, 3-methyl-, acetate	3,6817	0,0485	3,3195	0,0286	4,3857	0,0524	4,1023	0,1434
Pentanoic acid, ethyl ester	0,0035	0,0002	0,0043	0,0002	0,0047	0,0000	0,0053	0,0002
Butanoic acid, 2-methylpropyl ester	0,0023	0,0003	0,0050	0,0003	0,0022	0,0001	0,0042	0,0004
2-Butenoic acid, ethyl ester	0,0123	0,0007	0,0167	0,0000	0,0145	0,0016	0,0198	0,0007
Hexanoic acid, methyl ester	0,0167	0,0006	0,0203	0,0014	0,0267	0,0001	0,0275	0,0020
Amylpropionate	0,0059	0,0000	0,0580	0,0035	0,0063	0,0000	0,0066	0,0005
Hexanoic acid, ethyl ester	5,7583	0,1299	5,3059	0,0271	7,0141	0,0929	6,6108	0,2108
Isoamyl butyrate	0,0146	0,0007	0,0141	0,0006	0,0183	0,0005	0,0216	0,0005
Acetic acid, hexyl ester	0,3879	0,0097	0,2972	0,0000	0,4761	0,0037	0,4152	0,0074
(Ethyl 3-hexenoate) 3-Hexenoic acid, ethyl ester. (Isomero)	0,0034	0,0001	0,0032	0,0003	0,0023	0,0001	0,0040	0,0001
3-Hexen-1-ol, acetate, (E)-	0,0079	0,0004	0,0077	0,0000	0,0087	0,0001	0,0087	0,0001
3-Hexen-1-ol, acetate, (Z)-	0,0151	0,0007	0,0131	0,0005	0,0156	0,0003	0,0144	0,0006
Hexanoic acid, propyl ester	0,0053	0,0015	0,0068	0,0012	0,0069	0,0005	0,0085	0,0004
Heptanoic acid, ethyl ester	0,0444	0,0015	0,0377	0,0014	0,0551	0,0007	0,0499	0,0007
Propanoic acid, 2-hydroxy-, ethyl ester	0,2583	0,0142	0,3211	0,0119	0,2106	0,0061	0,2674	0,0035
2-Hexenoic acid, ethyl ester	0,0279	0,0008	0,0312	0,0018	0,0315	0,0005	0,0327	0,0012
Hexanoic acid, 2-methylpropyl ester	0,0256	0,0008	0,0192	0,0053	0,0286	0,0014	0,0306	0,0008
Acetic acid, heptyl ester	0,0131	0,0002	0,0106	0,0003	0,0211	0,0011	0,0209	0,0011
Octanoic acid, methyl ester	0,1800	0,0055	0,1595	0,0034	0,2118	0,0056	0,1971	0,0028

Tabela 13-Semi- quantificação - Ésteres (continuação)

Ésteres	Barrica 3 meses		Barrica 6 meses		Inox 3 meses		Inox 6 meses	
	média	dp	média	dp	média	dp	média	dp
Octanoic acid, ethyl ester	39,5495	0,8356	39,1101	0,8466	41,4549	0,0722	45,5004	1,5651
Isopentyl hexanoate	0,1666	0,0025	0,3305	0,0187	0,1769	0,0069	0,2933	0,0251
Acetic acid, octyl ester	0,0068	0,0006	0,0032	0,0021	0,0170	0,0007	0,0167	0,0008
7-Octenoic acid, ethyl ester	0,0034	0,0000	0,0049	0,0010	0,0048	0,0019	0,0059	0,0011
Nonanoic acid, methyl ester	0,0016	0,0000	0,0032	0,0002	0,0034	0,0003	0,0067	0,0002
(Propyl octanoate) Octanoic acid, propyl ester	0,0413	0,0016	0,0203	0,0009	0,0439	0,0022	0,0370	0,0046
Nonanoic acid, ethyl ester	0,3833	0,0021	0,1229	0,0032	0,4566	0,0008	0,0864	0,0020
Pentanoic acid, 2-hydroxy-4-methyl-, ethyl ester	0,0113	0,0004	0,0163	0,0015	0,0098	0,0001	0,0132	0,0003
Isobutyl caprylate	0,0755	0,0025	0,0515	0,0013	0,0766	0,0004	0,0549	0,0034
Isoamyl lactate	0,0177	0,0010	0,0272	0,0013	0,0173	0,0000	0,0214	0,0009
Decanoic acid, methyl ester	0,1054	0,0021	0,1222	0,0039	0,1038	0,0093	0,1121	0,0062
Butyl caprylate	0,0039	0,0000	0,0081	0,0002				
2-Furancarboxylic acid, ethyl ester	0,0081	0,0001	0,0145	0,0000	0,0050	0,0003	0,0065	0,0005
Decanoic acid, ethyl ester	22,3378	0,5985	20,1002	0,9087	18,7597	0,0725	19,4463	0,6033
Octanoic acid, 3-methylbutyl ester	0,5425	0,0124	0,3350	0,0193	0,4686	0,0052	0,3135	0,0110
Ethyl cis-4-decenoate	0,0007	0,0000	0,0020	0,0001	0,0013	0,0001	0,0007	0,0001
Benzoic acid, ethyl ester	0,0242	0,0002	0,0386	0,0025	0,0202	0,0001	0,0239	0,0012
Butanedioic acid, diethyl ester	1,0631	0,0119	1,6408	0,0452	0,7030	0,0192	0,9285	0,0733
Ethyl dec-9-enoate	0,9259	0,0206	0,8387	0,0256	0,4596	0,0008	0,3418	0,0031
Tetradecanoic acid, ethyl ester	0,0117	0,0095	0,0450	0,0032				
Decanoic acid, propyl ester	0,0135	0,0002	0,0088	0,0008	0,0135	0,0000	0,0093	0,0007
Acetic acid, phenylmethyl ester	0,0016	0,0000	0,0026	0,0001	0,0009	0,0000	0,0016	0,0001
Undecanoic acid, ethyl ester	0,0332	0,0037	0,0187	0,0005	0,0321	0,0014	0,0653	0,0056
Iso butyl decanoate	0,0320	0,0002	0,0209	0,0023	0,0263	0,0006	0,0138	0,0005
Pentanedioic acid, diethyl ester	0,0009	0,0004	0,0015	0,0000	0,0069	0,0005	0,0108	0,0006
Benzoic acid, 2-hydroxy-, methyl ester	0,0089	0,0001	0,0198	0,0003	0,0078	0,0000	0,0080	0,0007
Methyl salicylate	0,0071	0,0000	0,0126	0,0005	0,0041	0,0001	0,0056	0,0006

Tabela 13- Semi- quantificação - Ésteres (continuação)

Ésteres	Barrica 3 meses		Barrica 6 meses		Inox 3 meses		Inox 6 meses	
	média	dp	média	dp	média	dp	média	dp
Dodecanoic acid, methyl ester	0,0061	0,0003	0,0020	0,0004	0,0028	0,0008	0,0026	0,0009
ethyl 4-hydroxybutanoate	0,0423	0,0000	0,0639	0,0159	0,0425	0,0056	0,0587	0,0019
Benzoic acid, 2-hydroxy-, ethyl ester	0,0013	0,0002	0,0042	0,0008	0,0010	0,0001	0,0021	0,0001
Acetic acid, 2-phenylethyl ester	0,4967	0,0066	0,5546	0,0062	0,5362	0,0114	0,3867	0,0321
Dodecanoic acid, ethyl ester	3,7274	0,0645	2,7233	0,2302	2,9691	0,2096	2,3601	0,2589
Iso Amyl decanoate	0,2627	0,0003	0,1322	0,0180	0,2119	0,0037	0,0905	0,0101
Ethyl 3-phenylpropionate	0,0040	0,0003	0,0044	0,0007	0,0045	0,0000	0,0021	0,0003
Butanedioic acid, ethyl 3-methylbutyl ester	0,1231	0,0044	0,1646	0,0010	0,1229	0,0077	0,0834	0,0087
Ethyl tridecanoate	0,0080	0,0002	0,0167	0,0070	0,0039	0,0005	0,0021	0,0003
2-heptyl dodecanoate	0,0019	0,0000	0,0015	0,0006	0,0016	0,0000	0,0027	0,0002
β -Phenylethyl butyrate	0,0046	0,0002	0,0046	0,0001	0,0077	0,0004	0,0047	0,0006
Diphenyl ether	0,0014	0,0001	0,0051	0,0001	0,0058	0,0048	0,0017	0,0001
Isopropyl myristate	0,1238	0,0406	0,4186	0,2309	0,0512	0,0079	0,5550	0,2321
Tetradecanoic acid, ethyl ester	0,2647	0,0236	0,3173	0,0763	0,1640	0,0141	0,1660	0,0148
3-methylbutyl dodecanoate	0,0046	0,0004	0,0020	0,0001	0,0004	0,0000	0,0009	0,0001
2-Propenoic acid, 3-phenyl-, ethyl ester	0,0025	0,0000	0,0047	0,0009	0,0021	0,0007	0,0025	0,0001
Pentadecanoic acid, ethyl ester	0,0099	0,0003	0,0396	0,0100	0,0058	0,0004	0,0092	0,0006
Hexadecanoic acid, methyl ester					0,0006	0,0000	0,0011	0,0001
Hexadecanoic acid, ethyl ester	0,6422	0,0040	0,7064	0,0648	0,4701	0,0127	0,3701	0,0116
Ethyl 9-hexadecenoate	0,0433	0,0014	0,0248	0,0015	0,0294	0,0072	0,0584	0,0113
Octadecanoic acid, ethyl ester	0,0207	0,0013	0,0261	0,0049	0,0136	0,0012	0,0055	0,0001
Ethyl Oleate	0,0462	0,0015	0,0539	0,0106	0,0299	0,0007	0,0218	0,0007
Linoleic acid ethyl ester	0,0018	0,0001	0,0086	0,0002	0,0039	0,0006	0,0270	0,0016
Ethyl Vanillate	0,0010	0,0000	0,0055	0,0021	0,0013	0,0000	0,0021	0,0004

Tabela 14-Semi- quantificação – Álcoois

Álcoois	Barrica 3 meses		Barrica 6 meses		Inox 3 meses		Inox 6 meses	
	média	dp	média	dp	média	dp	média	dp
1-Propanol, 2-methyl-	0,7676	0,0216	0,7825	0,0246	0,7540	0,0013	0,7437	0,0244
1-Butanol	0,0168	0,0005	0,0193	0,0013	0,0169	0,0001	0,0171	0,0010
Isso amyl alcohol	8,6084	1,4870	8,5424	1,5616	9,7778	0,0581	6,6168	0,4434
4-Menthylpentan-1-Ol	0,0083	0,0003	0,0096	0,0002	0,0082	0,0003	0,0088	0,0002
1- Pentanol, 3-methyl-	0,0211	0,0008	0,0435	0,0017	0,0220	0,0005	0,0378	0,0032
1-Hexanol	0,3029	0,0038	0,3217	0,0065	0,3349	0,0009	0,3143	0,0192
3-Hexen-1-ol, (E)-	0,0137	0,0004	0,0172	0,0003	0,0161	0,0000	0,0165	0,0000
3-Hexen-1-ol, (Z)-	0,0181	0,0001	0,0213	0,0011	0,0191	0,0004	0,0218	0,0001
2-Octanol	0,0018	0,0002	0,0026	0,0004	0,0019	0,0004	0,0020	0,0003
1-Octen-3-ol	0,0084	0,0007	0,0085	0,0006	0,0098	0,0000	0,0097	0,0001
1-Heptanol	0,0246	0,0000	0,0327	0,0013	0,0341	0,0001	0,0356	0,0017
5-Hepten-2-ol, 6-methyl-	0,0224	0,0005	0,0392	0,0024	0,0272	0,0017	0,0263	0,0015
1-Hexanol, 2-ethyl-	0,0055	0,0002	0,0088	0,0003	0,0090	0,0003	0,0083	0,0004
2-Nonanol	0,0090	0,0000	0,0104	0,0001	0,0100	0,0006	0,0087	0,0010
1-Octanol	0,1081	0,0009	0,1312	0,0022	0,1298	0,0005	0,1243	0,0054
Ethanol, 2-(2-ethoxyethoxy)-	0,0052	0,0003	0,0095	0,0010	0,0051	0,0003	0,0074	0,0003
1-Decanol	0,0686	0,0017	0,1491	0,0079	0,0850	0,0041	0,0794	0,0046
Benzenemethanol	0,0959	0,0003	0,1314	0,0016	0,1026	0,0057	0,1039	0,0048
Phenylethyl Alcohol	3,8768	0,0541	4,5759	0,0381	3,9807	0,2322	3,5977	0,1995
1-Dodecanol	0,0402	0,0029	0,0878	0,0053	0,0178	0,0010	0,0245	0,0005
1-Tetradecanol	0,0188	0,0016	0,0526	0,0199	0,0127	0,0008	0,0151	0,0020
1-Hexadecanol	0,0107	0,0000	0,0365	0,0024	0,0073	0,0003	0,0147	0,0052

Tabela 15-Semi- quantificação- Terpenos

Terpenos	Barrica 3 meses		Barrica 6 meses		Inox 3 meses		Inox 6 meses	
	média	dp	média	dp	média	dp	média	dp
D-Limonene	0,0036	0,0009	0,0098	0,0001	0,0071	0,0002	0,0126	0,0008
α -Terpinolene	0,0010	0,0000	0,0020	0,0001	0,0045	0,0001	0,0079	0,0008
L-Menthone	0,0008	0,0000	0,0015	0,0001	0,0022	0,0001	0,0040	0,0003
α - Terpinene	0,0075	0,0004	0,0156	0,0007	0,0092	0,0002	0,0120	0,0007
Linalool	0,0410	0,0016	0,0629	0,0001	0,0509	0,0005	0,0617	0,0027
4- Terpineol	0,0072	0,0005	0,0073	0,0005	0,0100	0,0003	0,0109	0,0018
α -Terpineol	0,0091	0,0002	0,0181	0,0000	0,0123	0,0000	0,0143	0,0004
β -Citronellol	0,0206	0,0004	0,0280	0,0003	0,0220	0,0004	0,0162	0,0001
Nerol	0,0103	0,0001	0,0136	0,0004	0,0127	0,0004	0,0089	0,0004
Calacorene	0,0014	0,0000	0,0015	0,0002	0,0033	0,0001	0,0046	0,0001
Nerolidol	0,0370	0,0006	0,0646	0,0033	0,0455	0,0014	0,0056	0,0006
Cadalene	0,0021	0,0001	0,0039	0,0002	0,0038	0,0003	0,0054	0,0022

Tabela 16- Semi- quantificação- Cetonas

Cetonas	Barrica 3 meses		Barrica 6 meses		Inox 3 meses		Inox 6 meses	
	média	dp	média	dp	média	dp	média	dp
2,3-Butanedione	0,0324	0,0009	0,0286	0,0004	0,0255	0,0007	0,0114	0,0008
2-Butanone, 3-hydroxy- (Acetoin)	0,0047	0,0005	0,0068	0,0007	0,0014	0,0002	0,0097	0,0000
Ethanone, 1-phenyl- (Acetophenone)	0,0067	0,0002	0,0138	0,0004	0,0022	0,0001	0,0031	0,0011

Tabela 17-Semi- quantificação- Aldeídos

Aldeídos	Barrica 3 meses		Barrica 6 meses		Inox 3 meses		Inox 6 meses	
	média	dp	média	dp	média	dp	média	dp
Nonanal	0,0017	0,0001	0,0401	0,0284	0,0034	0,0000	0,0032	0,0007
Furfural (2-Furancarboxaldehyde)	0,0132	0,0001	0,0641	0,0008				
Decanal	0,0015	0,0001	0,0038	0,0005	0,0019	0,0000	0,0020	0,0004
Benzaldehyde	0,0434	0,0018	0,0863	0,0052	0,0323	0,0011	0,0667	0,0046
Benzeneacetaldehyde (Phenyl Acetaldehyde)	0,0091	0,0004	0,0082	0,0039	0,0076	0,0012	0,0156	0,0014
Vanillin	0,0004	0,0000	0,0007	0,0000				

Tabela 18- Semi- quantificação- Ácidos

Ácidos	Barrica 3 meses		Barrica 6 meses		Inox 3 meses		Inox 6 meses	
	média	dp	média	dp	média	dp	média	dp
Acetic acid	0,1558	0,0082	0,1612	0,0116	0,0810	0,0153	0,0937	0,0122
Propanoic acid, 2-methyl-	0,0074	0,0005	0,0085	0,0000	0,0076	0,0007	0,0065	0,0004
Butanoic acid, 3-methyl-	0,0051	0,0018	0,0134	0,0015	0,0037	0,0000	0,0074	0,0001
Hexanoic acid	0,2578	0,0114	0,4435	0,0120	0,2713	0,0044	0,2990	0,0164
Octanoic acid	1,3037	0,0274	2,7164	0,0637	1,4797	0,1122	1,4308	0,2245
Nonanoic acid	0,0055	0,0001	0,0145	0,0066	0,0077	0,0007	0,0379	0,0122
Decanoic acid	0,4373	0,0242	0,8636	0,0392	0,4356	0,0338	0,4388	0,1432
Dodecanoic acid	0,0617	0,0030	0,1580	0,1565	0,0431	0,0056	0,1177	0,0503

Tabela 19-Semi- quantificação- Lactonas

Lactonas	Barrica 3 meses		Barrica 6 meses		Inox 3 meses		Inox 6 meses	
	média	dp	média	dp	média	dp	média	dp
2(3H)-Furanone, dihydro (Butyrolactona)	0,0078	0,0002	0,0252	0,0022	0,0079	0,0002	0,0123	0,0013
2(3H)-Furanone, 5-ethoxydihydro-	0,0035	0,0005	0,0051	0,0015	0,0051	0,0004	0,0022	0,0002
Whiskey lactone	0,0142	0,0002	0,0328	0,0008				
2(3H)-Furanone, 5-butylidihydro- (γ-Octalactona)	0,0043	0,0007	0,0092	0,0012	0,0064	0,0005	0,0061	0,0000

Tabela 20-Semi- quantificação- Fenóis

Fenóis	Barrica 3 meses		Barrica 6 meses		Inox 3 meses		Inox 6 meses	
	média	dp	média	dp	média	dp	média	dp
Phenol, 2-methoxy- (Guaiacol)	0,0007	0,0000	0,0013	0,0001				
Phenol	0,0045	0,0001	0,0098	0,0005	0,0041	0,0002	0,0062	0,0004
Eugenol	0,0087	0,0007	0,0261	0,0014	0,0024	0,0000	0,0051	0,0006
Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-	0,0102	0,0010	0,0133	0,0010	0,0206	0,0033	0,0097	0,0021
4-vinylphenol	0,0016	0,0000	0,0015	0,0004	0,0009	0,0000	0,0011	0,0002

Tabela 21-Semi- quantificação- Norisoprenoides

Norisoprenoides	Barrica 3 meses		Barrica 6 meses		Inox 3 meses		Inox 6 meses	
	média	dp	média	dp	média	dp	média	dp
vitispirane 1	0,0167	0,0046	0,0444	0,0078	0,0129	0,0024	0,0176	0,0023
vitispirane 2	0,0122	0,0000	0,0283	0,0001	0,0126	0,0006	0,0159	0,0159
Naphthalene, 1,2-dihydro-1,1,6-trimethyl-	0,0060	0,0000	0,0153	0,0015	0,0124	0,0008	0,0322	0,0006
β-Damascenone	0,0463	0,0016	0,0721	0,0010	0,0650	0,0024	0,0520	0,0024

Tabela 22-Semi- quantificação- Outros

Outros	Barrica 3 meses		Barrica 6 meses		Inox 3 meses		Inox 6 meses	
	média	dp	média	dp	média	dp	média	dp
Styrene	0,0941	0,0036	0,0789	0,0029	0,1045	0,0028	0,0659	0,0638
2-Pyrazoline, 4-ethyl-1-isopropyl-	0,0081	0,0001	0,0078	0,0000	0,0038	0,0007	0,0062	0,0002
(s)-3-Ethyl-4-methylpentanol	0,0337	0,0034	0,0835	0,0046	0,0371	0,0017	0,0598	0,0025
2-Methyltetrahydrothiophen-3-one	0,0104	0,0002	0,0201	0,0007	0,0102	0,0004	0,0188	0,0017
Benzonitrile	0,0014	0,0000	0,0019	0,0000	0,0012	0,0004	0,0013	0,0003
1-Propanol, 3-(methylthio)-	0,0387	0,0032	0,0756	0,0150	0,0439	0,0008	0,0492	0,0019
5,9- Undecadien-2-ol, 6,10- dimethyl-	0,0026	0,0000	0,0031	0,0001	0,0084	0,0005	0,0146	0,0015
Benzene, 1,2,3- trimethoxy-5-(2-propenyl)-	0,0021	0,0000	0,0039	0,0002	0,0028	0,0000	0,0049	0,0005

Red wine volatile organic compounds evolution in winery conditions: inox *versus* oak barrels

Nuno Martins¹ Daniela Fonseca² Ana Januário³, Raquel Garcia^{1,3} Maria João Cabrita^{1,3*}

¹ Mediterranean Institute for Agriculture, Environment and Development & Global Change and Sustainability Institute, University of Évora, Pólo da Mitra, Ap. 94, 7006-554 Évora, PORTUGAL

² Mediterranean Institute for Agriculture, Environment and Development & Institute of Research and Advanced Training, University of Évora, Pólo da Mitra, Ap. 94, 7006-554 Évora, PORTUGAL

³ Department of Crop Science, School of Science and Technology, University of Évora, Pólo da Mitra, Ap. 94, 7006-554 Évora, Portugal

* Email: mjbc@uevora.pt

Keywords: HS-SPME-GC-ToFMS, volatile organic compounds, inox, oak barrels

Objective

The main goal of the present work is to describe how the volatile composition of wines is impacted by oak or inox during a short period of time (3 and 6 months) in real winery conditions. To achieve this objective, we used 10 oak barrels, but samples were collected from all the 10 barrels when wines were racked to a stain steel deposit and returned to barrels and compared to the same wine kept in a stain steel deposit. The rationale to this simple experimental design was to overcome the well known barrel-to-barrel variation by considering the wine in the barrels as a unique sample, since the influence of each barrel on the volatile composition of the wine was not the goal.

Methods

HS-SPME-GC-ToF/MS was employed to analyze the volatile profile of the different wines. The GC-ToFMS analysis was performed on an Agilent 8890 GC System (Agilent Technologies, UK) coupled to a Bench ToF-Select detector (MARKES International, China) and the data were acquired and analyzed with ToF-DS 4.1 of Markes International.

Results

With the analytical methodology used we were able to tentatively identify and semi-quantified 150 compounds. The majority of the compounds belong to the esters (77) and alcohols (22) families, followed by the terpenes (12) family. For the total content of esters, the only significative difference observed was a decrease that occurs in wines in oak barrels. The total content of alcohols and acids increased significantly in wines aged in oak barrels while no differences were observed for wines in inox.

Conclusions

A polar heatmap with dendrogram of volatile compounds found in wine aged in oak and steel after 3 and 6 months, clearly shows differences among samples. It is possible to use a compose sample from the 10 oak barrels instead of a sample per barrel and still be able to evaluate the influence of oak and the influence of maturation time.

ACKNOWLEDGMENTS

Authors also acknowledges MED <https://doi.org/10.54499/UIDB/05183/2020> and CHANGE <https://doi.org/10.54499/LA/P/0121/2020>.

Red wine volatile organic compounds evolution in winery conditions: inox versus oak barrels

Nuno Martins¹ Daniela Fonseca² Ana Januário³, Raquel Garcia^{1,3} Maria João Cabrita^{1,3*}

¹ MED - Mediterranean Institute for Agriculture, Environment and Development & CHANGE - Global Change and Sustainability Institute, University of Évora, Pólo da Mitra, Ap. 94, 7006-554 Évora, PORTUGAL

² MED - Mediterranean Institute for Agriculture, Environment and Development & IIFA - Institute of Research and Advanced Training, University of Évora, Pólo da Mitra, Ap. 94, 7006-554 Évora, PORTUGAL

³ Department of Crop Science, School of Science and Technology, University of Évora, Pólo da Mitra, Ap. 94, 7006-554 Évora, Portugal

Objective - The main goal of the present work is to describe how the volatile composition of wines is impacted by oak or inox during a short period (3 and 6 months) in real winery conditions.

Wines - Wine was produced during 2022 vintage from Alfocheiro grapes in a 30 000L stainless steel deposit. At the end of alcoholic fermentation wine was divided into 10 oak barrels and a stainless steel deposit. After 3 months, with malolactic fermentation ended, wines from barrels were racked into a stainless steel deposit and racked again into 10 barrels. The wine from the stainless steel deposit was racked into another deposit. After 3 months wines were racked again. Samples were collected at 3 and 6 months.



Analysis of volatile compounds by HS-SPME-GC-ToFMS

HS-SPME: 5 mL of sample + 0.6g NaCl into a 20 mL vial. The vial was equilibrated 5 min at 40°C and sample headspace was extracted at same temperature for 30 min with a DVB/Carb/PDMS fiber (50/30 µm film thickness (df), Supelco). Thermal desorption of the analytes was carried out by exposing the fiber in the GC injection port at 260 °C for 3 min in with a split ratio of 50:1.

Chromatographic analysis: a ZB-WAX PLUS (60 m x 0.25 mm i.d., 0.25 µm df) column was used. Oven temperature program began at 40 °C, hold for 5 min, raised at 4 °C min⁻¹ up to 240 °C and hold for 5 min. Helium was used as carrier gas. MS transfer line and source temperatures were set at 250 °C. Mass spectrometer was operated in the EI mode at 70 eV using a range of m/z 30–400 Da.



GC-ToFMS (Agilent 8890, Markes Int. Bench TOF-select detector, CTC Analysis autosampler PAL-System)

Results

With the analytical methodology used we were able to tentatively identify and semi-quantified 150 compounds that were grouped into families (Fig. 1). The majority of the compounds belong to the esters (77) and alcohols (22) followed by the terpenes (12).

For the esters, a significant decrease was observed in wines in oak barrels. During wines maturation, esters may be lost due to hydrolysis, be formed through chemical esterification, or remain at a near constant equilibrium concentration depending on their initial levels.

The alcohols, acids, aldehydes, lactones and phenols increased significantly in wines aged in oak barrels while no differences were observed for wines in stainless steel. The norisoprenoids increased from 3 to 6 months, both in oak and stainless steel.

The polar heat map (Fig 2) shows wines in oak barrels and in stainless steel well clustered.

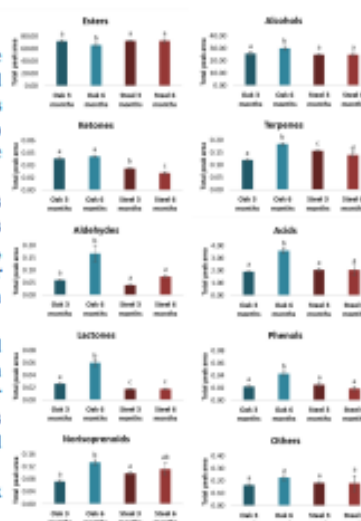


Fig 1 – compounds grouped by family

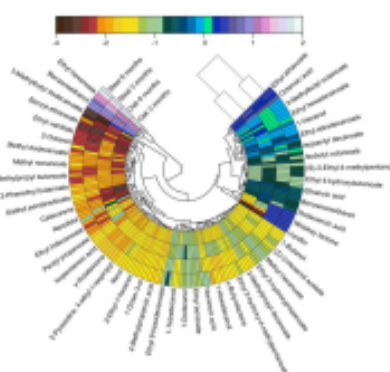


Fig 2 – Polar heat map

Conclusions

The volatile profile of wines matured in oak barrels and stainless steel deposits is different, as expected. This study reveals that using composite samples, representative of the 10 barrels, is sufficient to evaluate the differences between wines in barrels and wines in stainless steel over two sampling periods, 3 and 6 months. Using composite samples allow to overcome the individual differences of each oak barrel, that was not the objective. In this way, we mimic the real impact of oak barrels in wine, since in real winery conditions, wines from barrels are racked.

Acknowledgements: This research was funded by “Vine&Wine-Driving Sustainable Growth Through Smart Innovation” project (sub-project-BioGrapeSustain), “Mobilizing Agendas for Business Innovation” under the Recovery and Resilience Program. Authors also acknowledges MED <https://doi.org/10.54499/UIDB/05183/2020> and CHANGE <https://doi.org/10.54499/LA/P/0121/2020>.