

CONTRIBUIÇÃO PARA O ESTUDO DO AROMA EM VINHOS TINTOS ENVELHECIDOS EM MADEIRA DE CARVALHO

M. C. CLÍMACO ⁽¹⁾, A. P. BELCHIOR ⁽¹⁾, A. M. P. VASCONCELOS ⁽²⁾
e R. M. BELCHIOR ⁽¹⁾

⁽¹⁾ Estação Vitivinícola Nacional, Dois Portos, 2575 RUNA, Portugal

⁽²⁾ Departamento de Química, Faculdade de Ciências e Tecnologia,
U. N. L. 2825 Monte da Caparica, Portugal

RESUMO

Observou-se nos cromatogramas dos extractos de freon 11 do vinho envelhecido em quartola de madeira de carvalho a existência de uma fracção ausente nos cromatogramas dos extractos de freon 11 do vinho envelhecido em depósito de aço inoxidável.

Esta fracção apresenta na análise sensorial olfactiva aroma característico a envelhecimento em madeira. A sua identificação por GC-MS indicou ser constituída pelo isómero trans da γ -lactona do ácido 4-hidroxi-3-metil-octanóico.

Pela análise sensorial olfactiva demonstrou-se não ser a referida fracção constituída unicamente pelo isómero trans da γ -lactona do ácido 4-hidroxi-3-metil-octanóico.

INTRODUÇÃO

O envelhecimento de vinhos em quartolas de madeira de carvalho intervém de formas diversas sobre as características do vinho. Por um lado a madeira de carvalho cede ao vinho certos constituintes em particular compostos fenólicos e substâncias que participam no aroma. Por outro lado a intervenção de oxigénio através da madeira na interface de humedecimento da mesma pelo líquido, junta-se às quantidades fixadas nas trasfegas e influencia os fenómenos de oxidação-redução.

Este trabalho procura contribuir para o estudo da influência do envelhecimento de vinhos tintos em madeira de carvalho nas substâncias do aroma.

Kepner *et al.* (1972) identificaram a γ -lactona do ácido 4-hidroxi-3-metil-octanóico em vinhos Cabernet-Sauvignon envelhecidos em madeira de carvalho e sugerem que este composto é extraído da madeira de carvalho, pois não aparece nos vinhos preparados por técnicas que omitam o envelhecimento em madeira.

A existência desta lactona em bebidas alcoólicas foi referida primeiramente por Suomalainen e Nykanen (1970) em whiskies de diversos tipos, que a denominaram de lactona do whisky. Por sua vez Nishimura e Masuda (1971) referem a existência dos dois isómeros desta lactona em whiskies japoneses e escoceses. Estes autores isolaram os isómeros *cis* e *trans* desta lactona em extractos de metanol de aparas de carvalho (Masuda e Nishimura, 1971).

Guymon e Crowell (1972) referem a existência da lactona de carvalho, como também tem sido denominada, em aguardentes envelhecidas em carvalho americano e a sua ausência virtual nas aguardentes envelhecidas em carvalho francês. Estes autores referem ainda que esta lactona possui um aroma semelhante ao do coco seco e deve representar uma fracção do aroma característico das bebidas envelhecidas em madeira de carvalho americano.

Num estudo sobre os componentes do aroma dos vinhos de Bourgogne, envelhecidos em quartolas de madeira de carvalho, Dubois e Dekimpe (1982) referem a presença de um composto com forte aroma a madeira com o mesmo tempo de retenção do isómero *trans* desta lactona, que não conseguiram identificar.

MATERIAL E MÉTODOS

O envelhecimento do vinho

Utilizou-se um vinho tinto proveniente de vinificação por curtimenta de uvas das castas Periquita, Trincadeira Preta e Tinta Miúda da vindima de 1982.

O envelhecimento deste vinho decorreu numa quartola de carvalho nova de 300 l, num depósito de aço inoxidável de 300 l e em garrafas tipo Dão de 0,75 l.

Durante o envelhecimento, procedeu-se periodicamente ao atesto das vasilhas com o respectivo vinho e procurou-se manter o teor de dióxido de enxofre livre em 25 mg/l.

Procedeu-se a um primeiro engarrafamento após 8 meses de envelhecimento em vasilha. O engarrafamento final realizou-se após 24 meses de envelhecimento.

De acordo com a data da amostragem denomina-se cada vinho pela letra V seguida da inicial da vasilha onde esteve em envelhecimento e do número correspondente aos meses de duração de envelhecimento nessa vasilha, sucessivamente.

O estudo das substâncias do aroma

Como solvente de extracção utilizou-se o freon 11 (tricloro-fluorometano, purissi. da Fluka). O solvente foi previamente purificado.

Utilizou-se um extractor contínuo idêntico ao referido por Rapp *et al.* (1976) nas condições descritas por Clímaco (1987).

Na análise por cromatografia em fase gasosa dos extractos utilizou-se um cromatógrafo Perkin-Elmer Sigma 3 e duas colunas empacotadas de aço inoxidável de 1/8" de diâmetro externo e 4 m de comprimento com o enchimento e as condições indicadas no Quadro I.

Na cromatografia em fase gasosa preparativa, quer para recolha de fracções (Vilas-Boas e Clímaco, 1977) quer para a análise sensorial olfactiva utilizou-se a coluna de SP1000 nas condições referidas no Quadro I, e um repartidor de efluente Perkin-Elmer que permite a separação de 10 % de efluente para o detector e de 90 % para um tubo de aço inoxidável de 1/8" com saída para o exterior.

Na identificação de substâncias por cromatografia em fase gasosa-espectrometria de massa (GC-MS) foi utilizado um instrumento Shimadzu modelo QP-1000, equipado com uma coluna WCOT em vidro revestida com OV-1 $df = 0,25$ com 42 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno.

QUADRO I
 Colunas utilizadas e respectivas condições de cromatografia
Colonnes utilisées et respectives conditions de chromatographie

Coluna	Temperatura		Azoto (ml/min.)	Hidrogénio (ml/min.)	Ar (ml/min.)	Volume de injeção (μ l)
	Injector/Detector	Programação				
10 % SP1000 s/ Chromosorb W AW 100-120 mesh	225° C	80° C (10 min.) depois 3° C/min. até 180° C (50 min.)	22	30	300	2.0 25 (Crom. prep.)
5 % DEGS s/Gas Chrom Q 80-100 mesh	220° C	80. C (10 min.) depois 3° C/min. até 175° C (40 min.)	22	30	300	2.0

Após vários ensaios utilizaram-se as seguintes condições:

Temperatura inicial	40° C
Tempo inicial	5 min.
Temperatura final	250° C
Velocidade de programação	3° C/min. até 150° C 6° C/min. de 150° C até 250° C
Volume de injeção	1 μ l
Alto vácuo	9.6×10^{-6} tor.
Temperatura da interface	250° C
Temperatura da fonte analisadora	150° C
Razão da repartição	1:20

Procedeu-se à síntese da γ -lactona do ácido 4-hidroxi-3-metil-octanóico pela reacção de Reformatsky da 2-heptanona com o bromoacetato de metilo, segundo a técnica referida por Kepner *et al.* (1972).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Apresenta-se na Fig. 1 um cromatograma de um extracto de freon 11 do vinho envelhecido em quartola de carvalho 8 meses e 13 meses em garrafa (VQ8G13) na coluna SP1000 nas condições indicadas no Quadro I.

Identificaram-se as substâncias indicadas na legenda da Fig. 1 por comparação com os tempos de retenção de substâncias padrão nas colunas referidas no Quadro I. Por cromatografia em fase gasosa-espectrometria de massa confirmou-se a identificação da γ -butirolactona, do succinato de dietilo e do acetato de 2-fenil-etilo.

Na Fig. 2 podem observar-se os cromatogramas dos extractos de freon 11 dos vinhos em estudo. Verifica-se a existência do pico 82 unicamente nos extractos do vinho que teve envelhecimento em quartola de madeira de carvalho.

A análise sensorial olfactiva das fracções separadas por cromatografia em fase gasosa mostrou que o pico 82, existente apenas nas extracções de vinho com envelhecimento em quartola de madeira de carvalho, apresenta aroma a «envelhecimento em madeira, bouquet».

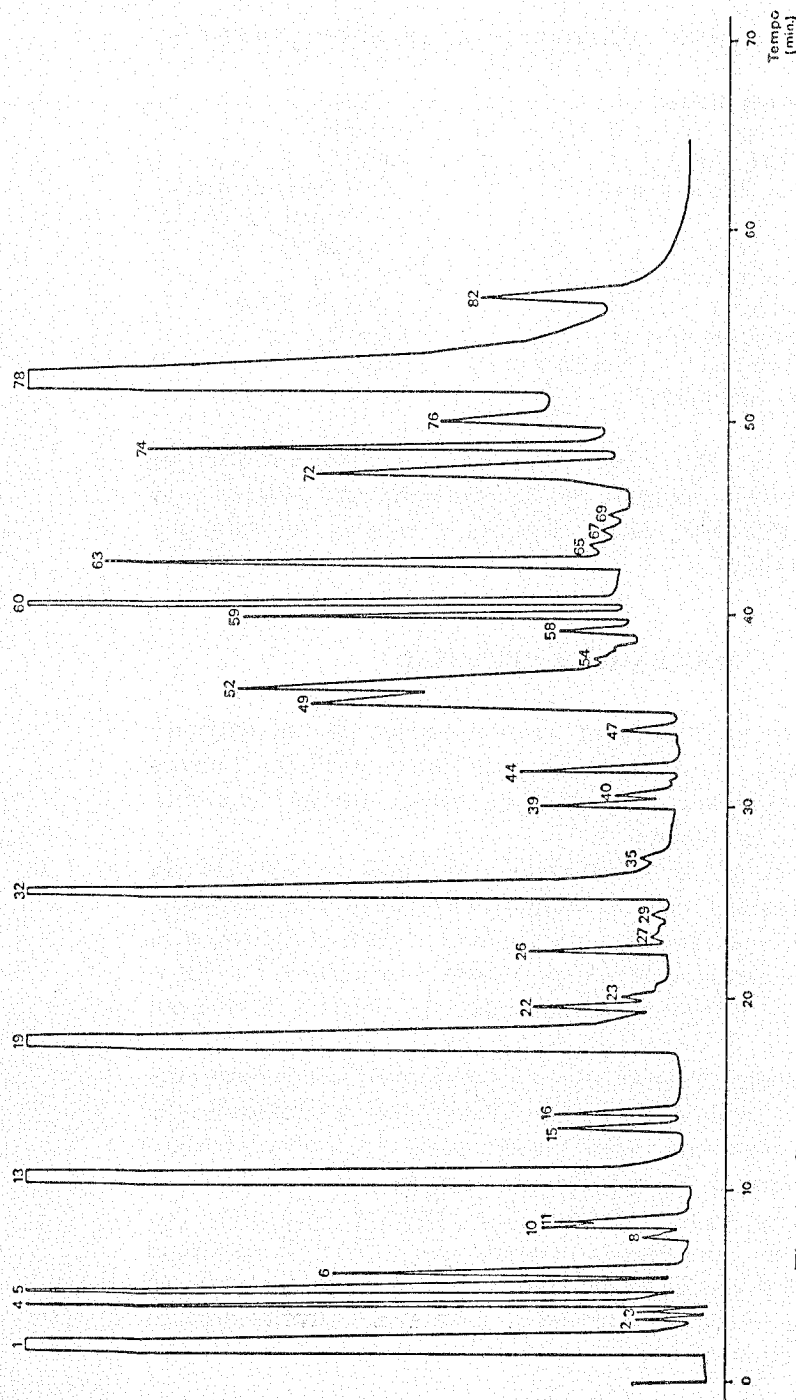


Fig. 1—Chromatograma de um extracto de freon 11 do vinho VQN8G13, numa coluna de SP1000.

Identificação dos picos: 4 acetato de etilo; 6 propionato de etilo; 8 acetato de 2-metil-propilo; 10 2-butanol; 11 1-propanol + butirato de etilo; 13 2-metil-1-propanol; 15 acetato de 3-metil-1-butilo; 19 2-metil-1-butanol + 3-metil-1-butanol; 22 hexanoato de etilo; 32 1-hexanol + lactato de etilo; 39 octanoato de etilo; 59 decanoato de etilo + γ -butirolactona; 60 succinato de dietilo; 72 acetato de 2-fenil-etilo; 74 dodecanoato de etilo; 78 2-fenil-etanol.

Chromatogramme d'un extrait de freon 11 du vin VQN8G13 sur colonne SP1000.

Identification des pics: 4 acétate d'éthyle; 6 propionate d'éthyle; 8 acétate de 2-méthyl-propyle; 10 2-butanol; 11 1-propanol + butyrate d'éthyle; 13 2-méthyl-1-propanol; 15 acétate de 3-méthyl-1-butyle; 19 2-méthyl-1-butanol + 3-méthyl-1-butanol; 22 hexanoate d'éthyle; 32 1-hexanol + lactate d'éthyle; 39 octanoate d'éthyle; 59 dodecanoate d'éthyle + γ -butyrolactone; 60 succinate de diéthyle; 72 acétate de phényl-2-éthyle; 74 dodecanoate d'éthyle; 78 2-phényl-ethanol.

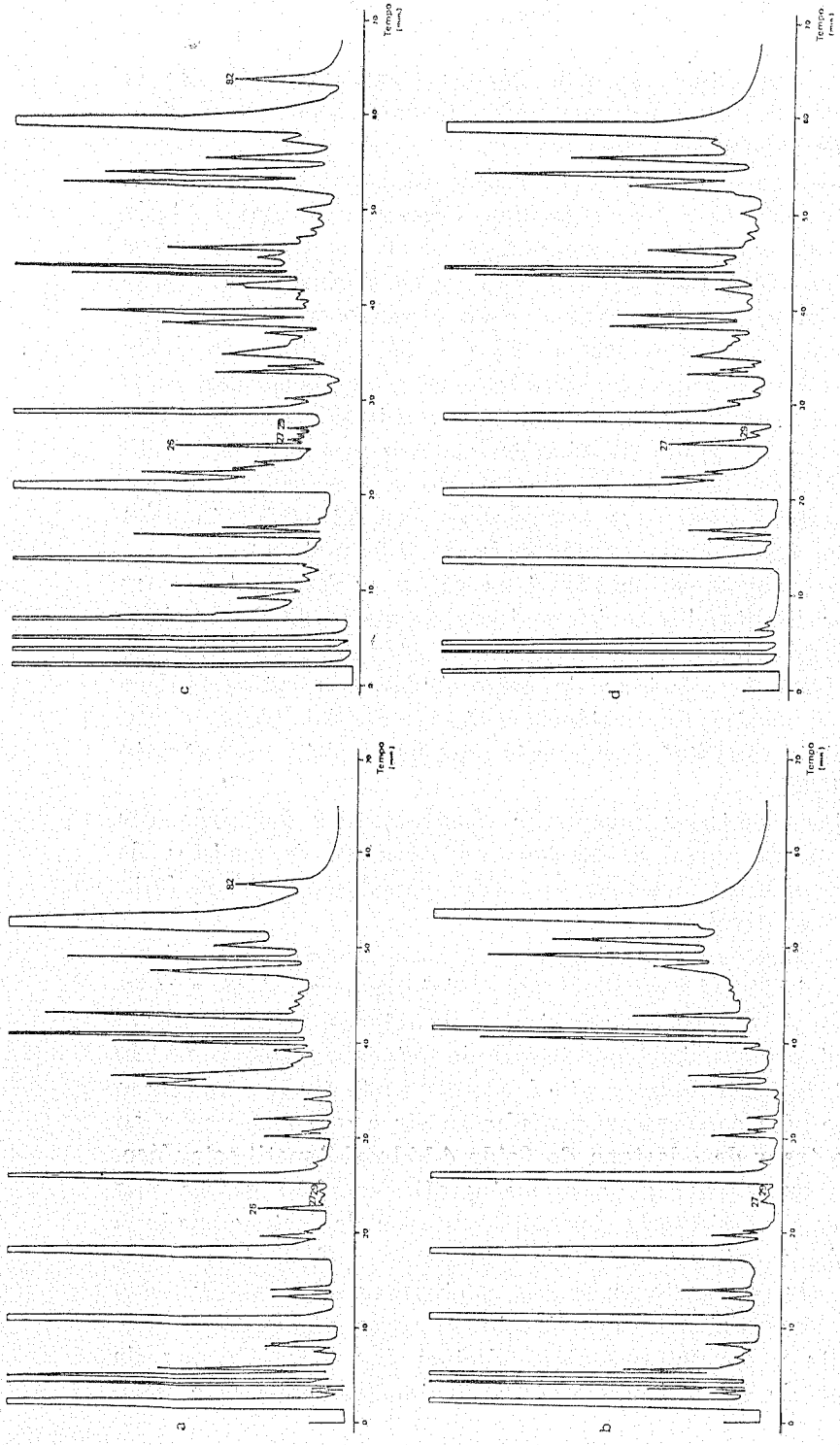


Fig. 2 — Cromatogramas de extractos de freon 11 dos vinhos VQN8G13 (a); VISG13 (b); VQN24 (c); VI24 (d); numa coluna de SP1000.

Chromatogrammes des extraicts de freon 11 des vins VQN8G13 (a); VISG13 (b); VQN24 (c); VI24 (d) sur colonne de SP1000.

Definiu-se então como prioritária a identificação do pico 82 tendo sido utilizada a cromatografia em fase gasosa — espectrometria de massa (GC-MS).

Apresenta-se na Fig. 3 o traçado de corrente iónica total (TIC) do pico 82 e os respectivos espectros de massa. Após análise dos espectros e comparação com espectros descritos (Anónimo, 1983; Kepner *et al.*, 1972 e Di Stefano, 1982) verificou-se tratar-se respectivamente do espectro do 2-fenil-etanol (ião base 91 e ião molecular 123) e da γ -lactona do ácido 4-hidroxi-3-metil-octanóico (ião base 99 e ião molecular 156).

Concluiu-se assim, que o pico 82 é constituído pela γ -lactona do ácido 4-hidroxi-3-metil-octanóico e que a presença do 2-fenil-etanol se deve ao facto de esta fracção se localizar na descida do pico deste álcool e na recolha do pico 82 se ter também recolhido uma pequena quantidade de 2-fenil-etanol.

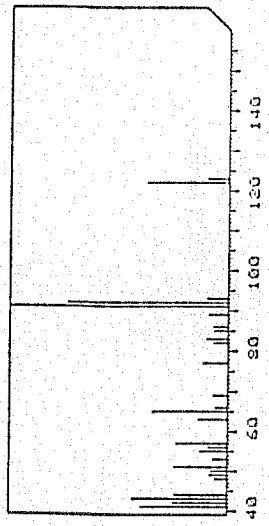
Pode observar-se na Fig. 4 os TIC e os fragmentogramas de massa de extractos de freon 11 dos vinhos VQ24G6 e VI24G6. Estes fragmentogramas de massa foram efectuados seleccionando o pico base da γ -lactona do ácido 4-hidroxi-3-metil-octanóico (ião 99) e mostram a existência deste ião em dois picos do TIC de extracto VQ24G6 e que este ião não existe no extracto de VI24G6.

Estes resultados sugerem a existência dos dois isómeros da lactona no vinho envelhecido em quartola de madeira de carvalho e a sua ausência no vinho envelhecido em depósito de aço inoxidável.

A análise por cromatografia em fase gasosa da γ -lactona do ácido 4-hidroxi-3-metil-octanóico sintetizada mostrou a existência de dois picos um com tempo de retenção idêntico ao do 2-fenil-etanol e outro com tempo de retenção idêntico ao do pico 82. Segundo Kepner *et al.* (1972) neste tipo de coluna o primeiro pico corresponde ao isómero *cis* e o segundo pico ao isómero *trans* da γ -lactona do ácido 4-hidroxi-3-metil-octanóico. Embora os resultados da cromatografia em fase gasosa não sugerissem a existência dos dois isómeros da lactona, dado a coincidência entre o tempo de retenção do 2-fenil-etanol e do isómero *cis*, os resultados da fragmentografia de massa demonstram a sua existência no extracto do vinho VQ24G6.

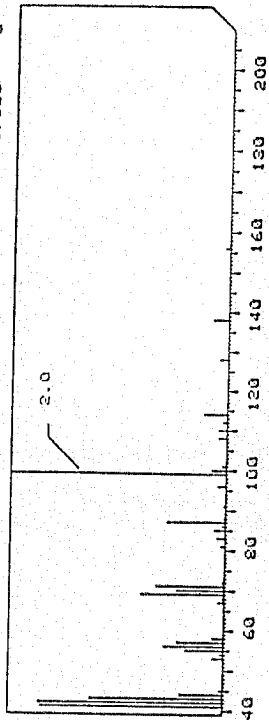
Feita a análise sensorial olfactiva dos dois isómeros da γ -lactona do ácido 4-hidroxi-3-metil-octanóico sintetizada veri-

DATA R.T. PEAK MASS RANGE BASE PEAK TOTAL RAW P.G.
 552 18.3 29 41- 219 1554C 913 5943 0- 0
 27 41- 123 1554C 913 3742 0- 0



a

DATA R.T. PEAK MASS RANGE BASE PEAK TOTAL RAW P.G.
 525 27.4 47 41- 220 10530C 993 57320 0- 0
 45 41- 156 10530C 993 67326 0- 0



b

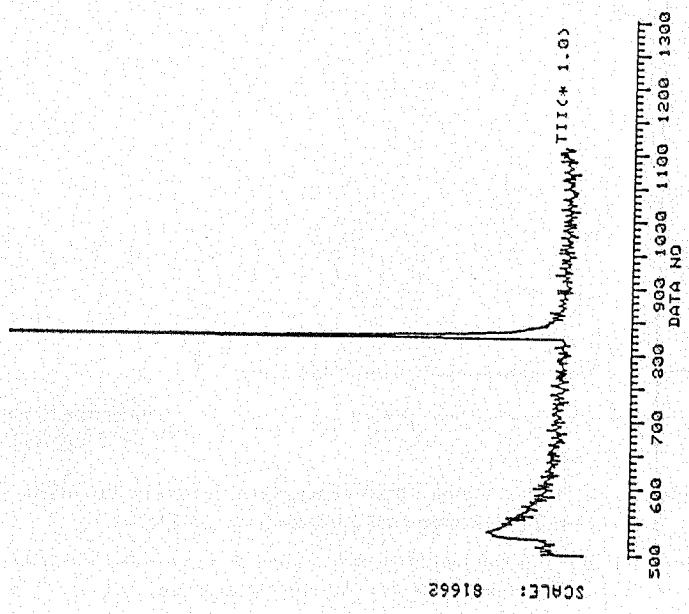


Fig. 3 — Traçado de corrente iônica total do pico 82 e respectivos espectros de massa. 2-Fenil-etanol (a);
 γ-lactona do ácido 4-hidroxi-3-metil-octanóico (b).

Tracé de courant ionique total du pic 82 et respectives spectres de masse. 2-phényl-ethanol (a);
 γ-lactone de l'acide 4-hydroxi-3-méthyl-octanoïque.

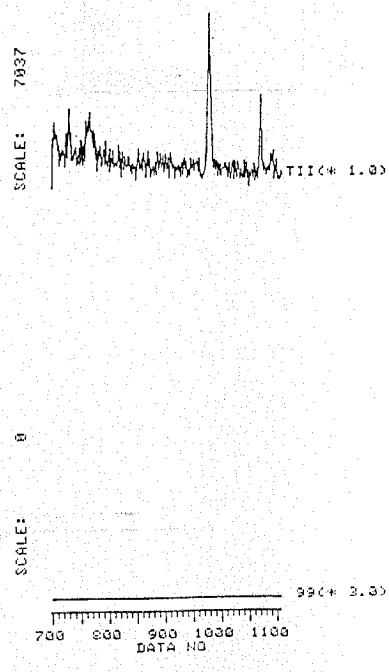
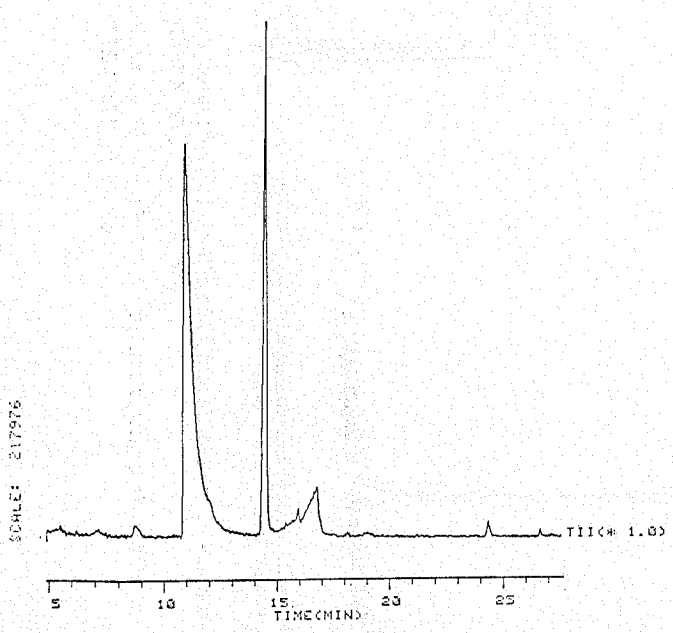
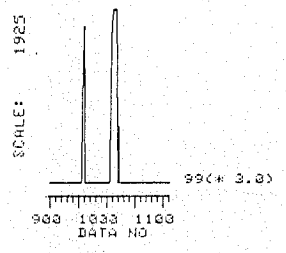
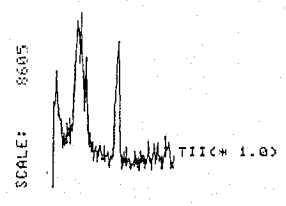
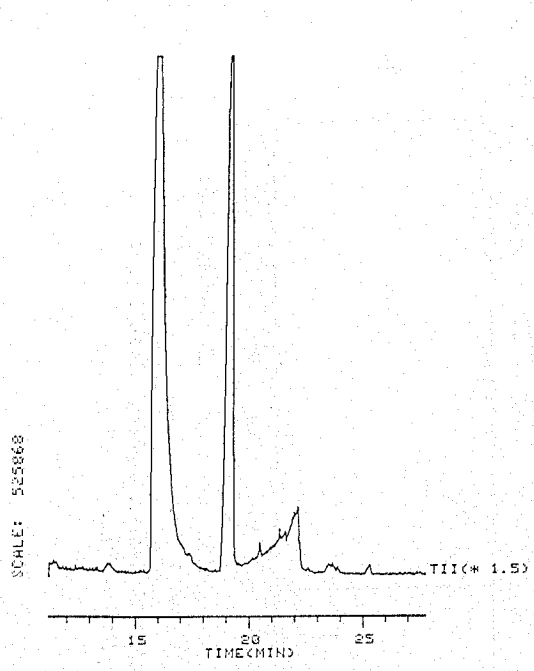


Fig. 4 — Traçados de corrente iónica total e fragmentogramas de massa de extractos de freon 11 dos vinhos VQN24G6 (a) e VI24G6 (b)
 Tracés de courant ionique total e fragmentogrammes de masse des extraits de freon 11 des vins VQN24G6 (a) et VI24G6 (b).

ficou-se que o isómero cis apresenta um aroma a «coco, ligeiro oleoso», enquanto que o isómero trans apresenta um aroma a «coco». Este facto sugere a possibilidade da existência além desta lactona de outro(s) constituinte(s) no pico 82. Efectivamente a análise sensorial olfactiva mostrava que o aroma mais intenso a «envelhecimento em madeira, bouquet» verifica-se na descida do pico 82 e não no seu máximo.

Pensa-se, assim, que esse(s) constituinte(s) deve(m) existir em teores extremamente diminutos, de tal modo, que não foi possível, até à data, a sua identificação por GC-MS.

CONCLUSÕES

Foi efectuada a identificação do isómero trans da γ -lactona do ácido 4-hidroxi-3-metil-octanóico como um componente da fracção com aroma a «envelhecimento em madeira, bouquet» característica do vinho envelhecido em quartola de madeira de carvalho.

Verificou-se que esta lactona tem uma influência determinante no aroma a vinho envelhecido em madeira de carvalho, embora esteja ainda para estudo qual ou quais as substâncias que acompanhando a lactona contribuem para a diferença de aroma observada entre a substância pura e o pico cromatográfico onde a mesma é revelada.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem reconhecidamente ao Prof. Dr. J. H. Chaves das Neves a colaboração prestada na identificação de substâncias por GC-MS.

RÉSUMÉ

Contribution pour l'étude de l'arôme dans les vins rouges vieillis dans le bois de chêne

Dans les chromatogrammes des extraits de freon 11 du vin vieilli en fût de chêne on a observé l'existence d'une fraction absent dans les chromatogrammes des extraits de freon 11 du vin vieilli en fût en acier inoxydable.

Cette fraction presente dans l'analyse sensoriel olfactive, arôme caractéristique a vieillissement en bois. Sa identification par CG-MS a

montré être constitué par l'isomère trans de la γ -lactone de l'acide 4-hydroxi-3-méthyl-octanoïque.

Pour l'analyse sensoriel olfactive on a montré n'être pas la fraction rapporté constitué uniquement par l'isomère trans de la γ -lactone de l'acide-4-hydroxi-3-méthyl-octanoïque.

SUMMARY

Contribution to the study of the flavour in red wines aged in oak wood

In the chromatograms of freon 11 extracts from the wine aged in oak wood barrels it was observed the existence of a fraction missing in the chromatograms of freon 11 extracts of the wine aged in stainless steel barrels.

This fraction exhibits in the olfactive sensorial analysis characteristic flavour to wood ageing. Its identification by GC-MS has showed to be constituted by the trans isomer of 4-hydroxi-3-methyloctanoic acid gamma lactone.

By the olfactive sensorial analysis it was showed that the referred fraction is not constituted only by the trans isomer of 4-hydroxi-3-methyl-octonoic acid gamma lactone.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Anónimo

1983 *Eight Peak Index of Mass Spectra*, Mass Spectrometry. Data Centre. Royal Society of Chemistry. University of Nottingham.

Climaco, M. C.

1987 *Efeitos do envelhecimento na composição aromática e na qualidade de vinhos tintos*. Dissertação apresentada às provas de Acesso à categoria de Investigador Auxiliar. Estação Vitivinícola Nacional — INIA.

Di Stefano, R.

1982 L'accoppiamento gas cromatografia dimassa nello studio dei composti volatili delle uva e dei vini. *Vini d'Italia* **136**: 4-14.

Dubois, P. e S. Dekimpe

1982 Constituants volatils odorantes des vins de Bourgogne élevés en fûts de chêne neufs. *Rev. Franc. d'Oenol.* **88**: 51-53.

Guymon, J. F. e E. A. Crowell

1972 GC — Separated brandy components derived from french and american oaks. *Am. J. Enol. Vitic.* **23** (3): 114-120.

Kepner, R. E.; A. D. Webb e C. J. Muller

1972 Identification of 4-hydroxi-3-methyl-octanoic acid gamma lactone [5-butyl-4-methyldihydro-2-(3H)-furanone] as a volatile component of oak wood aged wines of *Vitis vinifera* var. Cabernet-Sauvignon. *Am. J. Enol. Vitic.* **23** (3): 103-105.

Masuda, M. e K. Nishimura

1971 Branched nonalactones from some «Quercus» specie. *Phytochemistry* 10: 1401-1402.

Nishimura, K. e M. Masuda

1971 Minor constituents of whiskey fusel oils. *J. Food Sci* 36: 819-822.

Rapp, A.; H. Hastrich e L. Engel

1976 Gaschromatographische Untersuchungen Über die Aromastoffe von Weinbeeren. I. Anreicherung und Kapillarchromatographische Auftrennung. *Vitis* 15 (1): 29-36.

Ribéreau-Gayon, P.

1971 Recherches technologiques sur les composés phénoliques des vins rouges. III—Influence du mode de logement sur les caractères chimiques et organoleptiques des vins rouges, plus particulièrement sur leur couleur. *Conn. Vigne Vin*. 5 (1): 87-97.

Suomalainen, H. e L. Nykanen

1970 Citado por Kepner *et al.* (1972).

Villas-Boas, M. e M. C. Clímaco

1977 Técnica de fracionamento de amostras por cromatografia preparativa em fase gasosa. *Vin. Port. Doc. Série II* 7 (5): 9-12.

