

Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia

Mestrado em Viticultura e Enologia

Dissertação

**Influência do sistema de envelhecimento no perfil
de compostos odorantes de aguardentes vínicas**

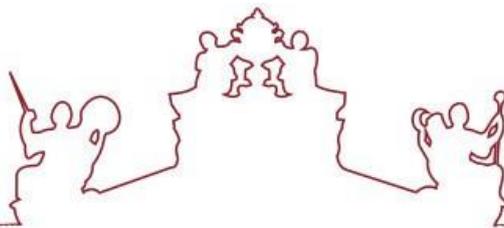
Joana Margarida Granja Soares

Orientador(es) / Ilda Maria Justino Caldeira

Maria João Pires de Bastos Cabrita

Évora 2019





Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia

Mestrado em Viticultura e Enologia

Dissertação

**Influência do sistema de envelhecimento no perfil
de compostos odorantes de aguardentes vínicas**

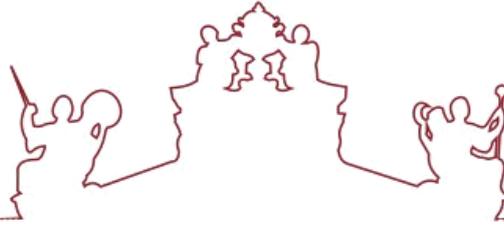
Joana Margarida Granja Soares

Orientador(es) / Ilda Maria Justino Caldeira

Maria João Pires de Bastos Cabrita

Évora 2019





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

- Presidente | João Manuel Mota Barroso (Universidade de Évora)
- Vogal | Ilda Maria Justino Caldeira (INIAV - Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária)
- Vogal | Sara Maria de Almeida Lopes Canas (INIAV - Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária)

Évora 2019



À Filipa, à Marta e ao Martim,

*“Adoramos a perfeição,
porque a não podemos ter;
repugná-la-íamos se a tivéssemos.*

*O perfeito é o desumano
porque o humano é imperfeito.”*

Fernando Pessoa

Granja Soares, J. (2019). Influência do sistema de envelhecimento no perfil de compostos odorantes de aguardentes vínicas

Resumo

A aguardente vínica envelhecida constitui uma bebida complexa do ponto de vista aromático. Para tal complexidade, contribuem os compostos voláteis com capacidade odorante provenientes do destilado, da madeira utilizada no seu envelhecimento, e ainda de diversas interações que têm lugar nesse processo.

Devido, nomeadamente, à morosidade e onerosidade intrínsecas ao envelhecimento em vasilhas de madeira, a investigação tem procurado desenvolver alternativas mais sustentáveis. Neste âmbito, o presente estudo compara a influência dos sistemas tradicional (vasilha de madeira) e alternativo (depósito de inox com aduelas mergulhadas e micro-oxigenação), no perfil sensorial e de compostos odorantes de uma aguardente vínica, utilizando-se madeiras de carvalho Limousin e castanheiro, separada e conjuntamente.

Os resultados sugerem que o sistema alternativo de envelhecimento e a madeira de castanheiro conferem maior celeridade ao processo de envelhecimento, pois perante o mesmo tempo de envelhecimento, as aguardentes apresentam características de maior extracção de compostos da madeira e de maior evolução sensorial.

Palavras-chave:

Aguardentes vínicas; compostos odorantes; cromatografia gás líquido; envelhecimento; micro-oxigenação.

Granja Soares, J. (2019). Effect of ageing system on odorant profile of wine brandies

Abstract

Aged wine spirit is known as an aromatically complex drink. Volatile compounds with an odorant capacity from distillate, wood used in its ageing, and the various interactions that take place in this process, all contribute to this complexity.

Due to, particularly, the time and cost inherent to the process of ageing in wooden vessels, research has sought to develop more sustainable alternatives.

In this context, the present study compares the effect of the traditional (wooden vessel) and alternative (stainless steel tank with dipped staves and micro-oxygenation) systems, on the sensory profile and odorant compounds of a wine spirit, using Limousin oak and chestnut woods, separately and together.

The results suggest that the alternative ageing system and the chestnut wood speed up the ageing process, because considering the same ageing time frame, they present characteristics of greater extraction of wood compounds and sensorial evolution.

Keywords:

Wine spirits; odorant compounds; liquid gas chromatography; ageing; micro-oxygenation.

Agradecimentos

Somos aquilo que trazemos na bagagem. Trago na minha, a par com “todos os sonhos do mundo”, gratidão e felicidade. Gratidão para com Deus e para com as pessoas extraordinárias que contribuíram de um ou de outro modo para a confecção do presente trabalho e, por conseguinte, para a felicidade que trago.

Agradeço ao meu núcleo forte, de quem muito me orgulho: aos meus pais, Margarida Rosa e Paulo Florindo, pelo amor e apoio incondicionais, pelos valores transmitidos, por me “ensinarem a pescar”! Ao meu irmão António Samuel, acérrimo crítico do meu trabalho, pela cumplicidade que nos une, pela lufada de humor e de pragmatismo! Aos meus avós, Maria de Lurdes e António Florindo, segundos pais, sempre presentes e interessados, a conferir apoio e mimo como só os bons avós sabem fazer! À minha tia-avó Rita Fazenda, pelo apoio e incentivo desde sempre, bem como ao meu tio-avô António Fazenda, eternizado em cada gargalhada que dou!...Aos meus primos, Paula e Luís Fazenda, Andreia Ventura, Ricardo Seabra e Margarida Cabral, por todas as ideias, auxílio e interesse pela “obra”, porque sei que posso contar sempre convosco! Ao Diogo Teixeira, meu namorado, amigo, tantas vezes “alavanca” dos meus projectos, pela compreensão e todo o apoio, pela pessoa maravilhosa que é e pelo brilho que dá à minha vida! À Luísa e ao Rui Teixeira, que me ajudam e me tratam como filha! À memória do Sr. António, “avô emprestado” por um par de importantes anos da minha vida! À tia de coração Ana Isabel Figueiredo, por me receber sempre tão bem e pelos maravilhosos cafés! Aos meus amigos de sempre, por tudo o que representam para mim, André Silva, Andreia Santos, Ângela Canelhas, Carolina Oliveira, Carolina Serafim, Cátia Costa, Diogo Silva, Joana Cavaleiro, João Antunes, Maria Raquel Rocha, Mi Lopes dos Santos, Patrícia Calhau, Ricardo Coquenim, Sergii Kohzokar, Tânia Amador, Tiago João Soares; à Marina Oliveira, por tudo...!, à Telma Silva e à Vânia Pantaleão, também pela preciosa ajuda no decorrer da elaboração deste trabalho! À minha “família” de Pegões, nas pessoas da Sara e do Sr. Paulo Santos, sempre atentos ao meu percurso com enorme amizade!

À Sónia Norte, pelo auxílio num pequeno grande passo para a concretização desta etapa. À empresa Vilaroucha, nas pessoas do Eng. Rui Soares e da Sandra Carvalhais, que com amizade e compreensão promoveram a conciliação de trabalho e estudo e me apoiaram quando mais precisei!

À Universidade de Évora e seus docentes, pela excelente organização do curso de mestrado!

À Dr^a Maria João Cabrita, pela extraordinária docente que é, e que foi responsável por me levantar tantas madrugadas para poder assistir às suas aulas, obrigada também por ter aceitado a co-orientação deste trabalho!

Ao Professor Paulo Mendes pelo pronto auxílio na revisão dos nomes IUPAC dos compostos voláteis.

Aos meus colegas de Mestrado, que muito me ajudaram, especialmente à Ana Pereira e à Inês Santana, que me acolheram tão bem em suas casas e de quem me sinto família, e também à Márcia Cambeiro, à Maria Luísa Marques, à Maria Inês Farias e ao José Miguel Carvalho.

Ao INIAV, pólo de Dois Portos, instituição onde desenvolvi e redigi esta dissertação, na pessoa do seu Presidente, Eng^o Eiras Dias, pelo mérito de receber tão bem os seus estagiários! À Dr^a Sara Canas pela simpatia nos esclarecimentos de dúvidas! À boa disposição e simpatia de todos os membros desta instituição, que me fizeram sentir sempre “em casa”.

À Dr^a Ilda Caldeira, pela excelente orientação, amizade, pela profissional extraordinária e pelo ser humano inspirador que é, obrigada por tudo, desde o método de “Paul”! Às técnicas de laboratório, Otília Cerveira e Deolinda Mota, pelos conhecimentos transmitidos e carinho com que tratam os seus estagiários! Agradeço ainda a Otília Cerveira o trabalho de injeção das amostras deste ensaio, a quem faço votos de rápido restabelecimento! Aos meus colegas e amigos da “GC-room”, Rita Roque e Simone Piras, pela vossa amizade, pelos óptimos momentos que passámos juntos “maas” também pela vossa preciosa ajuda. Também à Anna Nocera e ao Damiano Zarpéllon pela boa disposição e auxílio!

Ao grupo de prova de aguardentes desta instituição, que graciosamente se disponibiliza em nome do conhecimento e do progresso da investigação!

Ao Tomás Grilo: vou continuar a “estudar imenso” e espero poder ter o privilégio de continuar a aprender contigo!

À Vossa!

Bem hajam todos vós, que a saúde e o sucesso vos acompanhem sempre!

ÍNDICE

Índice de Anexos	10
Índice de Figuras	11
Índice de Tabelas.....	13
Listagem de Abreviaturas ou Siglas.....	14
1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA OU ENQUADRAMENTO TEÓRICO	17
2.1 Aguardente vínica.....	17
2.1.1 Processo de envelhecimento	19
2.1.2 Madeiras utilizadas – carvalho e castanheiro	20
2.1.3 Sistemas alternativos	23
2.1.4 Micro-oxigenação.....	25
2.2 Compostos odorantes da aguardente.....	26
2.2.1 Provenientes do destilado.....	26
2.2.2. Provenientes da Madeira	28
2.3 Análise Sensorial.....	31
2.3.1 Análise sensorial descritiva	33
2.4 Análise da composição volátil	34
3. METODOLOGIA.....	37
3.1 Delineamento experimental e amostragens.....	37
3.2 Análise Sensorial descritiva	39
3.3 Análise da composição volátil das aguardentes.....	41
3.3.1 Extracção prévia dos compostos voláteis	41
3.3.2 Cromatografia gás-líquido de alta resolução	42
3.3.3 Espectrometria de massa	43
3.4 Análise estatística.....	44
4. ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS.....	45
4.1 Análise Sensorial.....	45
4.1.1 Efeito do sistema de envelhecimento no perfil sensorial das aguardentes	45
4.1.2 Efeito da madeira no perfil sensorial das aguardentes.....	49
4.1.3 Efeito da interacção sistema de envelhecimento-madeira no perfil sensorial das aguardentes.....	54
4.2 Análise de componentes principais.....	56

4.3	Análise da composição volátil	58
4.3.1	Efeito do sistema de envelhecimento na composição volátil	60
4.3.2	Efeito da madeira na composição volátil	62
4.3.3	Efeito da interacção do sistema de envelhecimento-madeira na composição volátil... 64	
4.4	Análise de Componentes Principais	66
5.	CONCLUSÕES.....	68
6.	BIBLIOGRAFIA.....	70
7.	ANEXOS.....	I

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo I. Ficha de prova de aguardentes	I
Anexo II. Tabela da análise variância - Análise Sensorial	III
Anexo III. Tabela da análise variância - Análise da Composição Volátil	VII

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Denominações de Origem Protegida de aguardente vínica em Portugal das quais se destaca a aguardente DOC Lourinhã.....	18
Figura 2. Sistemas de destilação: (A) Coluna de destilação e (B) Alambique “Charentais”	19
Figura 3. Carvalho Limousin	21
Figura 4. Castanheiro	23
Figura 5. Exemplo de alternativos de madeira, A- aduelas e B- aparas de madeira	24
Figura 6. Aspecto de um equipamento de MOx acoplado a cuba de inox.	25
Figura 7. Mecanismos neurofisiológicos de percepção do gosto e do aroma	32
Figura 8. Esquema de ensaio e identificação das unidades experimentais	37
Figura 9. Aspecto de uma sessão de prova de aguardentes decorrida na sala de provas do INIAV.....	40
Figura 10. (A) Extracção líquido-líquido; (B) Banho de ultrasons	41
Figura 11. Cromatógrafo gás líquido de alta resolução	42
Figura 12. Espectrómetro de massa.....	43
Figura 13. Valores médios (do teste de comparação de média) dos atributos da cor nas aguardentes provenientes dos dois sistemas	46
Figura 14. Valores médios (do teste de comparação de média) dos atributos do aroma nas aguardentes provenientes dos dois sistemas	47
Figura 15. Valores médios (do teste de comparação de média) dos atributos do sabor nas aguardentes provenientes dos dois sistemas	48
Figura 16. Valores médios (do teste de comparação de média) dos atributos da apreciação nas aguardentes provenientes dos dois sistemas	49
Figura 17. Valores médios (do teste de comparação de média) dos atributos da cor nas aguardentes envelhecidas em diferentes madeiras	50
Figura 18. Valores médios (do teste de comparação de média) dos atributos do aroma nas aguardentes envelhecidas em diferentes madeiras	51
Figura 19. Valores médios (do teste de comparação de média) dos atributos do sabor nas aguardentes envelhecidas em diferentes madeiras	52
Figura 20. Valores médios (do teste de comparação de médias) dos atributos da apreciação nas aguardentes envelhecidas em diferentes madeiras	53
Figura 21. Valores médios da interacção do sistema de envelhecimento e madeira (do teste de comparação de média) dos atributos do aroma.....	54

Figura 22. Valores médios da interacção sistema de envelhecimento e madeira (do teste de comparação de média) dos atributos da apreciação	55
Figura 23. Representação gráfica das 14 amostras de aguardente e dos 23 descritores em relação aos dois componentes principais	57
Figura 24. Cromatograma de um extracto de uma aguardente envelhecida em depósito de inox com aduelas de madeira de carvalho “Limousin” e Mox.....	58
Figura 25. Influência significativa do sistema de envelhecimento nos compostos voláteis provenientes do destilado, 2-feniletanol /10	60
Figura 26. Influência significativa do sistema de envelhecimento nos compostos voláteis provenientes do envelhecimento, furfural e HMF/10	61
Figura 27. Influência significativa da madeira utilizada no envelhecimento nos compostos voláteis provenientes do envelhecimento; furfural e HMF /10.....	63
Figura 28. Influência significativa da interacção sistema de envelhecimento-madeira nos compostos voláteis provenientes do envelhecimento furfural e vanilina /100	65
Figura 29. Representação gráfica das 14 amostras de aguardente e dos 17 compostos voláteis em relação aos dois componentes principais.	67

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Compostos voláteis e respectivos descritores de aroma de aguardentes jovens consoante a bibliografia.....	27
Tabela 2. Compostos voláteis e respectivos descritores de aroma de aguardentes envelhecidas consoante bibliografia.....	30

LISTAGEM DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

A.P. – álcool puro

DOC – Denominação de origem controlada

FID – detector de ionização de chama

GC – cromatografia gás líquido

5-HMF – Hidroximetilfurfural

INIAV – Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária

min – minutos

MOx –micro-oxigenação

s – segundos

%v/v – percentagem volúmica

1. INTRODUÇÃO

A percepção do aroma fornecida pelo sentido do olfacto constitui actualmente mais do que uma questão de sobrevivência. O aroma intervém directamente na aceitabilidade e percepção de um indivíduo perante determinado produto, ao que a aguardente vínica não constitui excepção, fazendo-se munir de uma panóplia de compostos voláteis. A fim de otimizar o seu processo de produção e aprofundar o conhecimento sobre a bebida, há que procurar conhecer nomeadamente, entre a sua fracção volátil, quais os compostos que possuem de facto propriedades odorantes.

Porque existe a obrigatoriedade de submeter a aguardente vínica DOC Lourinhã a um processo de envelhecimento, que neste caso específico delonga dois anos, e porque há muito se verificou que essa etapa promove a qualidade sensorial desta bebida destilada, por intermédio de diversas reacções físico-químicas, a aguardente envelhece tradicionalmente em vasilhas de madeira. Neste âmbito, a madeira de carvalho continua, por ora, a constituir-se como a única aprovada para o efeito (Dec.Lei nº 323/94 de 29 de Dezembro), conquanto a demonstração da aptidão da madeira de castanheiro em diversos estudos nos últimos vinte anos. Entretanto razões de ordem económica e temporal conduziram ao desenvolvimento e aplicação de sistemas alternativos de envelhecimento, cujo objectivo é mimetizar o processo de envelhecimento tradicional, garantindo o mesmo nível de qualidade ou superior, com menos custos, e maior celeridade. Os sistemas de envelhecimento alternativo mais utilizados consistem genericamente na introdução de pedaços de madeira, com as mesmas características da madeira utilizada para o fabrico de vasilhas, em contacto com a bebida em depósitos de inox.

Recentemente, e tendo como propósito a melhor replicação/optimização do processo de envelhecimento tradicional a investigação recaiu sobre a aplicação simultânea de micro-oxigenação e pedaços de madeira de diferentes espécies botânicas, tendo-se obtido interessantes resultados que abrem perspectivas a mais estudos.

Deste modo, o presente trabalho, desenvolvido no âmbito do projecto “CENTRO-04-3928-FEDER-000001”, teve por objectivo comparar, ao final de um ano e à escala industrial, a influência do sistema de envelhecimento tradicional (em vasilha de madeira) *versus* alternativo (em depósitos de inox com introdução de aduelas e micro-oxigenação), bem como a influência das madeiras utilizadas, carvalho Limousin (*Quercus robur* sp. e castanheiro (*Castanea sativa* Mill.), na composição de uma mesma aguardente “Lourinhã”, dando especial relevância ao perfil de compostos odorantes das aguardentes. Para o efeito, recorreu-se a cromatografia gás

líquido de alta resolução acoplada à detecção por FID e por espectrometria de massa, e complementarmente, pela importância percebida por aqueles compostos, a análise sensorial.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA OU ENQUADRAMENTO TEÓRICO

2.1 Aguardente vínica

A aguardente vínica é, segundo o Regulamento (CE) Nº 2019/787 uma bebida espirituosa obtida exclusivamente por destilação a menos de 86% v/v de vinho ou de vinho aguardentado destinado à destilação ou por redistilação de um destilado de vinho a menos de 86% v/v, contendo um teor de substâncias voláteis igual ou superior a 125 gramas por hectolitro de álcool a 100% v/v e com um teor máximo de metanol de 200 gramas por hectolitro de álcool a 100% v/v.

De referir que, a par das regiões francesas de Cognac e Armagnac, a região portuguesa “Lourinhã” (Figura 1), de onde proveio a aguardente vínica utilizada neste trabalho, constitui Denominação de Origem. Esta detém exclusividade nacional para aguardentes desde 1992 (Dec.Lei nº 34/92 de 7 de Março), pese embora a indicação geográfica das aguardentes vínicas do Douro, Ribatejo, Alentejo, Região dos Vinhos Verdes e Região dos Vinhos Verdes Alvarinho.

Independentemente da região, a aguardente vínica obtém-se pela destilação de vinho, que deverá ser elaborado com uvas com acidez fixa elevada, de baixo teor de açúcares e perfeitamente sãs, já que a vinificação deverá ser obtida por bica-aberta e sem utilização de dióxido de enxofre, sob pena de este se poder salientar na aguardente ou originar mercaptanos, o que em ambos os casos deprecia a bebida pela presença de aromas desagradáveis (Belchior *et al.*, 2015).

As uvas utilizadas para a elaboração de vinho destinado a destilação devem provir de castas de alto rendimento (Belchior *et al.*, 2015) uma vez que cinco litros de vinho dão origem a apenas um litro de destilado (Louw e Lambrechts, 2012).

Da fermentação, que genericamente transforma os açúcares das uvas em vinho, resultam álcool etílico, bem como diversos outros compostos que podem ser desejáveis pela sua contribuição no sabor do destilado. Resultam ainda compostos cujo teor deve ser controlado pela destilação (Berk, 2018).



Figura 1. Denominações de Origem Protegida de aguardente vínica em Portugal das quais se destaca a aguardente DOC Lourinhã. Fonte: IVV 2019

O período que decorre entre a fermentação e a destilação deverá ser tão curto quanto possível, (Leauté, 1990; Tsakiris *et al.*, 2014; Coldea *et al.*, 2017).

A destilação, processo mediante o qual se obtém a aguardente, é uma operação que consiste na separação de substâncias com diferentes pontos de ebulição. Quando uma mistura hidroalcoólica, neste caso o vinho, é levada a ebulição, liberta vapores, que após condensação constituem o destilado, a aguardente, com composição diferente da do líquido que lhes dá origem (Berk, 2018). Por meio deste processo, obtém-se uma bebida mais concentrada, de sabor mais forte, e maior concentração alcoólica que o vinho que lhe deu origem (Gibson e Newsham, 2018), composta por água, etanol e centenas de compostos voláteis (Coldea *et al.*, 2017).

Genericamente podem distinguir-se dois métodos de destilação para a produção de aguardente, o método descontínuo, utilizando alambique, também conhecido como “Charentais”, e o método contínuo, utilizando coluna de destilação (Figura 2) (Belchior *et al.*, 2015).

No método descontínuo, utilizando alambique, geralmente realiza-se uma dupla destilação para que haja um incremento do teor alcoólico e se aprimore a qualidade da aguardente.

Neste sistema procede-se à separação das fracções do destilado, cabeças e caudas, seguindo o coração da aguardente para a segunda destilação, onde sofre novamente “cortes” de cabeças e caudas devido ao seu aroma que deprecia a aguardente (Belchior *et al.*, 2015).

O método contínuo de destilação origina um destilado uniforme, não havendo aqui separação de cabeças nem de caudas (Belchior *et al.*, 2015). Como o nome indica, neste método existe uma alimentação contínua de vinho e consequentemente uma maior produtividade (Waterhouse *et al.*, 2016), devido à obtenção contínua de destilado, quando é atingido o equilíbrio do sistema (Belchior *et al.*, 2015).

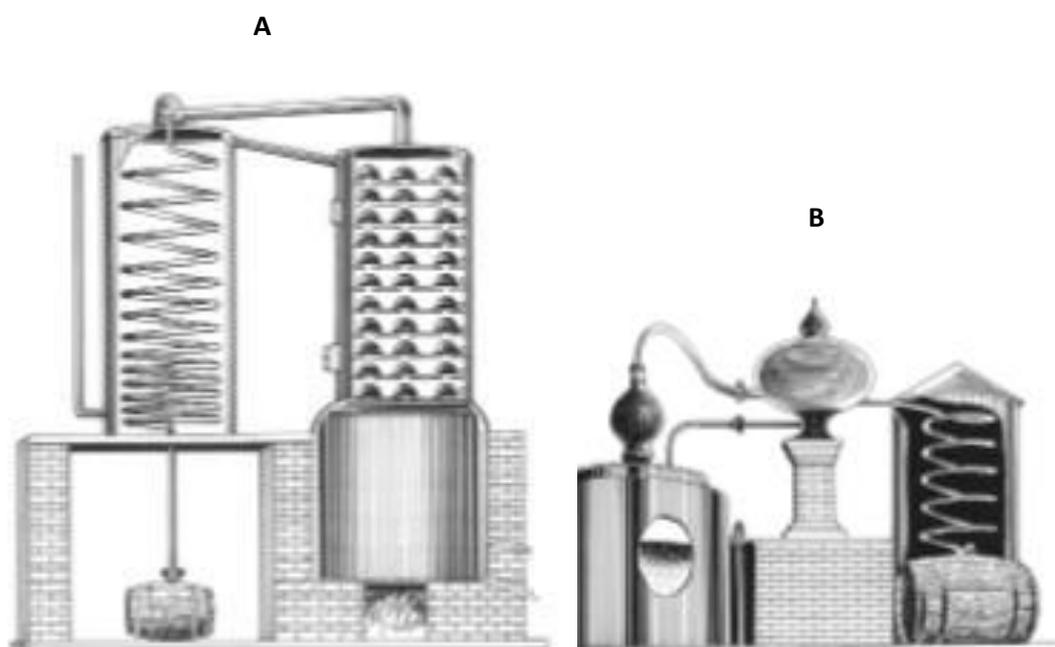


Figura 2. Sistemas de destilação: (A) Coluna de destilação e (B) Alambique “Charentais”; (Fonte: Tsakiris *et al.*, 2016)

Em ambos os casos obtém-se um produto incolor, neutro e por vezes de sabor áspero, que por conseguinte, é então submetido a um período de envelhecimento, mais ou menos duradouro, que pode ir de alguns meses a alguns anos consoante diversos factores, como o perfil requerido (Gibson e Newsham, 2018).

2.1.1 Processo de envelhecimento

Enquanto a tradição refere o armazenamento das aguardentes em cascos de madeira de carvalho, a fim de que se dê a sua maturação ou envelhecimento (Guymon, 1974; Berger,

2007; Tsakiris *et al.*, 2014), e para que a sua sua qualidade seja substancialmente incrementada (Canas *et al.*, 2019a) a legislação remete para a obrigatoriedade do processo de envelhecimento ocorrer em contacto com madeira (Regulamento (CE) nº 2019/787). Durante este processo a composição da aguardente é modificada, o que consequentemente se repercute nas suas características sensoriais (Caldeira *et al.*, 2002; Caldeira *et al.*, 2006a; Caldeira *et al.*, 2008), o que conduz, nomeadamente à obtenção de um sabor mais suave por parte da bebida (Berger, 2007).

Segundo o Regulamento (CE) nº 2019/787, a aguardente pode ser envelhecida, devendo para o efeito permanecer em recipientes de madeira durante pelo menos um ano ou, se a capacidade dos tonéis for inferior a 1 000 litros, durante pelo menos seis meses.

Caso o envelhecimento se reporte especificamente a aguardentes “Lourinhã”, estas devem estagiar em barricas de madeira de carvalho durante, pelo menos, dois anos, (Dec. Lei nº 323/1994 de 29 de Dezembro).

Em todo o caso, a celeridade do processo (bem como as repercussões que este tem sobre a qualidade da aguardente) é influenciada por diversos factores, a saber: o teor alcoólico do destilado (Berger, 2007), a origem geográfica da madeira, a parte do tronco que é seccionada para dar origem à vasilha, e a sua espécie (Puech, 1984; Marco *et al.*, 1994; Feuillat e Keller, 1997; Caldeira *et al.*, 2009), o tipo de vasilha utilizada para o efeito (Mosedale e Puech, 1998; Canas, 2003; Caldeira *et al.*, 2004) designadamente o tamanho da vasilha e processo de fabrico que a originou, no que respeita ao binómio tempo/temperatura utilizado na queima (Canas *et al.*, 2000a; Gibson e Newsham, 2018), e as condições de humidade e temperatura do local de envelhecimento (Berger, 2007).

2.1.2 Madeiras utilizadas – carvalho e castanheiro

Durante um longo período, e após a terracota, a madeira foi o único material afecto quer à conservação do vinho (Boidron *et al.*, 1988), quer ao seu transporte, facto que terá motivado o enorme desenvolvimento da indústria de tanoaria em Portugal, no século XVIII, devido à expansão das exportações de vinho do Porto (Cardoso, 2005).

Conforme se verifica na bibliografia, o processo de envelhecimento é tipicamente realizado em contacto com a madeira, sobretudo em barricas de madeira de carvalho (Puech, 1984; Tsakiris *et al.*, 2014) e apenas em 1995 aparecem os primeiros trabalhos sobre envelhecimento em

madeira de castanheiro (Bronze e Vilas Boas, 1998; Caldeira *et al.*, 1998; Canas *et al.*, 1999). Nos anos 80, do século XX, a madeira de carvalho ainda era referenciada como sendo a “única capaz de melhorar de facto as bebidas” (Chatonnet *et al.*, 1989).

Provenientes da mesma família botânica *Fagaceae*, as madeiras de carvalho e de castanheiro são semelhantes a nível da sua composição química e anatómica, embora difiram relativamente aos raios lenhosos, à porosidade e à composição química (Belchior *et al.*, 2015).

A estrutura celular da madeira é composta sobretudo pelas macromoléculas celulose, hemiceluloses e lenhina (Soares, *et al.*, 2012; Le Floch *et al.*, 2015), das quais a mais abundante é a celulose, seguida das hemiceluloses e da lenhina (Belchior *et al.*, 2015). A celulose e a lenhina contribuem para a resistência da madeira, enquanto que a hemicelulose, polissacárido constituído por ácido urónico, hexoses e pentoses, age como agregador da celulose e fortalecedor da parede celular (Le Floch *et al.*, 2015). A diferente organização destes compostos a nível celular determina a especificidade de cada madeira (Soares *et al.*, 2012). Encontram-se ainda presentes na madeira constituintes de massa molecular baixa, designados extraíveis, como taninos (elagitaninos, galhotaninos), ácidos e aldeídos fenólicos, cumarinas, aldeídos furânicos, lactonas e ácidos gordos (Belchior *et al.*, 2015).



Figura 3. Carvalho Limousin Fonte: B L Walton <https://hubpages.com/food/barrels>; 12-08-19

A primazia da madeira de carvalho (Figura 3) para utilização enológica, desde logo para a produção de vasilhas, prende-se com as suas características de flexibilidade, resistência e relativa impermeabilidade aos líquidos, que são muitíssimo afectadas pela anatomia da

madeira (Feuillat e Keller, 1997). De resto, a própria legislação limita o envelhecimento de algumas aguardentes (brandy) à utilização desta madeira (Regulamento (CE) Nº 2019/787). É também uma madeira muito estudada para o envelhecimento do vinho (Mosedale e Puech, 1998; Eiriz, 2006). Ainda assim, dentro da mesma espécie e inclusive numa mesma árvore verifica-se variabilidade química e física (Singleton, 1995; Jordão, *et al.*, 2005). Das cerca de 250 espécies do género *Quercus* existentes, as mais utilizadas são as de carvalho americano *Q. alba* e as de carvalho francês *Q. robur* - nomeadamente provenientes da floresta de Limousin, muito utilizada no envelhecimento de Cognac (Mosedale e Puech, 1998) - e *Q. sessiliflora* (Chatonnet e Dubourdieu, 1998), embora existam estudos relativos ao envelhecimento de vinhos e aguardentes com a espécie *Q. pyrenaica* (Canas, 2003; Caldeira *et al.*, 2004; Fernández de Simon *et al.*, 2008).

Relativamente à madeira de castanheiro (Figura 4), o primeiro trabalho acerca da aptidão da madeira de castanheiro para a tanoaria foi realizado por Belchior em 1995 (Canas, 2012). Em 1999, Canas *et al.* realizaram o primeiro trabalho acerca da caracterização do uso do castanheiro no envelhecimento de aguardentes e em 2002, Caldeira *et al.* obtiveram os primeiros dados sensoriais sobre a influência desta madeira na mesma bebida. Em ambos os casos se verificou o interesse desta espécie no envelhecimento das aguardentes. A utilização desta madeira foi reconhecida apenas como meio de envelhecimento tradicional de vinhos, a par com a madeira de carvalho, em 2005, com a Res. OENO 4/2005.

Mais trabalhos realizados têm demonstrado o mérito desta madeira corroborando o seu interesse para utilização no envelhecimento de aguardentes vónicas (Belchior *et al.*, 2001; Canas, 2003; Belchior *et al.*, 2005; Caldeira *et al.*, 2006b; Canas, 2012; Caldeira *et al.*, 2013), nomeadamente ao nível do enriquecimento da complexidade e da qualidade do produto final (Canas, 2012), o que terá motivado a sistematização destes aspectos num “Collective expert report” da OIV em Fevereiro de 2018. Mais estudos têm sido efectuados no envelhecimento de vinhos (De Rosso *et al.*, 2009; Gambuti *et al.*, 2010; Garcia *et al.*, 2010; Alañon *et al.*, 2012; Soares *et al.*, 2012; Alañon *et al.*, 2013; Fernandez de Simon *et al.*, 2013), processo para o qual a Res. OENO 4/2005 reconhece a madeira de castanheiro para além da madeira de carvalho como apta para a produção de barricas.

A utilização da madeira de castanheiro permite obter maior rapidez no processo de envelhecimento (Canas *et al.*, 2013) bem como maior número de reutilizações e tem menor preço. Como tal, permite reduzir os custos associados ao processo de envelhecimento (Canas, 2012). Contudo, a madeira de castanheiro origina mais perdas de aguardente (Belchior *et al.*, 2001) e é mais porosa do que a madeira de carvalho (De Rosso *et al.*, 2009).



Figura 4. Castanheiro Fonte: <https://brigadadafloresta.abae.pt/castanheiro/12-08-19>

Canas *et al.*, (2016) verificaram a vantagem da utilização simultânea dos dois tipos de madeira (Carvalho Limousin e castanheiro) no envelhecimento de aguardentes.

Independentemente da espécie em causa, e para se proceder à confecção de vasilhas há que proceder a uma série de operações que consistem, após a selecção e abate das árvores, no corte e fendimento dos toros e obtenção das pranchas que seguem para secagem. Posteriormente preparam-se as aduelas, e procede-se à montagem da vasilha, bastião e queima da vasilha e os acabamentos finais (Caldeira, 2004).

2.1.3 Sistemas alternativos

Dado o conhecimento acerca da influência da madeira no processo de envelhecimento, e considerando os custos, o factor tempo necessário ao processo tradicional, o espaço a que obrigam as barricas, a sua limitada vida útil (já que a concentração de compostos extraídos diminui com a sua utilização (Reazin, 1981)) e a perda de aguardente por evaporação (Canas *et al.*, 2002), surgiram métodos alternativos na óptica de reduzir os factores. Um dos métodos mais estudados, baseia-se na colocação de fragmentos de madeira, sob as mais diversas formas (aduelas, aparas, dominós, cubos) (Figura 5) dentro de depósitos de inox, em contacto com a bebida a envelhecer (Caldeira *et al.*, 2009; Caldeira *et al.*, 2013). A aplicação de alternativos de madeira encontra-se regulamentada apenas para o envelhecimento de vinhos,

(Res. OENO (3/2005), Regulamento (CE) Nº 1507/2006). Todavia, existem diversos estudos a corroborar a aptidão dos sistemas alternativos no envelhecimento de aguardente vínica. Nos primeiros trabalhos onde se comparou o sistema tradicional com o alternativo, verificou-se discriminação entre ambos com base na composição química (Canas *et al.*, 2009; Caldeira *et al.*, 2010; Canas *et al.*, 2013).

Canas *et al.* (2013), verificaram que compostos odorantes-chave como a vanilina e o 5-metilfurfural, apresentaram teores mais elevados na aguardente envelhecida com método alternativo do que no método tradicional. Caldeira *et al.*, (2013) verificaram que o sistema de envelhecimento não afectou a qualidade global da aguardente. Canas *et al.*, (2016) verificaram maior evolução da cor das aguardentes no sistema alternativo.

No que concerne às madeiras utilizadas na elaboração de alternativos, tem sido dada primazia às madeiras de carvalho e castanheiro. Existem também estudos acerca da composição volátil nomeadamente de madeiras de acácia e cerejeira (Martins *et al.*, 2012), tendo-se contudo verificado menor “riqueza volátil” nestas madeiras em comparação com as de carvalho e castanheiro.

Recentemente, surgiram outros sistemas alternativos de envelhecimento. Em Brandy de Jerez Schwarz *et al.*, (2014) e Delgado-González *et al.*, (2017) obtiveram, à escala laboratorial e com recurso a tecnologia de ultrasons, respectivamente num mês, e em apenas três dias, características sensoriais de envelhecimento semelhantes às obtidas entre seis meses e ano e meio de envelhecimento, e características de envelhecimento como as conferidas pelo método tradicional. Niazi (2017) registou a patente de um equipamento que permite acelerar, à escala industrial, o envelhecimento de bebidas alcoólicas, devido ao aumento da área de madeira exposta à bebida.



Figura 5. Exemplo de alternativos de madeira, A- aduelas e B- aparas de madeira (Fontes <https://store.xtraoak.com/french-oak-stave-fan-assembly-40-sq-ft-toast-blends-p73.aspx> 29-08-19 e <https://vincarta.com/blog/oak-and-wine/02-09-19>, respectivamente).

2.1.4 Micro-oxigenação

Em vários trabalhos, do sistema alternativo de envelhecimento faz parte integrante a micro-oxigenação (MOx) de modo a simular a difusão que ocorre em vasilhas. Esta técnica foi desenvolvida por Ducournou, Laplace e Lemaire (Gómez-Plaza e Cano-López, 2011) e consiste na adição de oxigénio de qualidade alimentar (Dias Cardoso, 2007) em pequenas e monitorizadas doses (Parish *et al.*, 2000) de modo a simular o processo de entrada de oxigénio que tem lugar em barricas (Gómez-Plaza e Cano-López, 2011), com o auxílio de um equipamento (Figura 6).

Em 1873, Pasteur escreveu que o oxigénio do ar era fundamental no envelhecimento do vinho (Pasteur, 1873). Dois séculos depois, esta menção manteve-se actual, sabendo-se que o oxigénio intervém em diversas reacções que para além de favorecerem o processo de vinificação, influem também positivamente nas características sensoriais do vinho (Parish *et al.*, 2000; Gómez-Plaza e Cano-López, 2011). Segundo Del Álamo-Sanza e Nevares (2017), o recipiente de madeira (de carvalho) onde decorre o envelhecimento, funciona como um recipiente activo uma vez que simultaneamente, promove a libertação de compostos da madeira para o vinho e permite a entrada de uma pequena quantidade de oxigénio, através da madeira e das juntas entre as aduelas, que contribui para a harmonização entre os compostos provenientes do vinho e os fornecidos pela madeira, devido, nomeadamente à oxidação de compostos fenólicos e voláteis (Gómez-Plaza e Cano-López, 2011). O aporte de oxigénio nas vasilhas depende do seu processo de construção, da madeira em causa (Del Álamo-Sanza e Nevares, 2017) e das dimensões da vasilha (Bronze e Vilas Boas, 1998).



Figura 6. Aspecto de um equipamento de MOx acoplado a cuba de inox Fonte: Phillips (2009).

Neste âmbito, segundo a literatura têm sido desenvolvidos vários estudos em vinhos (Llaudy *et al.*, 2006; Nevares e Del Álamo, 2008; Cano-Lopéz *et al.*, 2010; Nevares *et al.*, 2010; Garcia *et al.*, 2012; Pizarro *et al.*, 2014; Oberholster *et al.*, 2015; Del Álamo *et al.*, 2019), sidra (Madrera *et al.*, 2013), e menos informação existe no que toca a aguardentes (Belchior *et al.*, 2003; Canas *et al.*, 2009; Canas *et al.*, 2019b). Todavia, o conhecimento dado por estes trabalhos corrobora a questão da optimização do sistema alternativo de envelhecimento pela reprodução da transferência/difusão de oxigénio que se dá em vasilha (Gómez-Plaza e Cano-Lopéz, 2011) pelo que surgiu o primeiro estudo sobre o efeito da micro-oxigenação no envelhecimento de aguardentes ao final de seis meses, e onde se verificou que a aplicação directa de oxigénio permitiu celeridade no processo face ao envelhecimento em barrica (Canas *et al.*, 2019b).

2.2 Compostos odorantes da aguardente

À semelhança do que sucede noutras bebidas, não obstante a grande quantidade de compostos voláteis presentes nas aguardentes, somente alguns – os designados odorantes-chave -contribuem de facto para o aroma daquelas (Grosch, 2001).

Segundo Biniécka e Caroli, (2011) o odor causado por uma substância é produto da sua concentração e da sua estrutura química, nomeadamente do seu peso molecular. Sabe-se que os compostos de massa molecular baixa se dispersam mais habilmente na matriz, sendo mais voláteis que os compostos de alto peso molecular.

2.2.1 Provenientes do destilado

Se, por um lado, a composição físico-química das aguardentes jovens está relacionada com a dos vinhos que as originaram (Belchior *et al.*, 2015), e então, por conseguinte, dependente das uvas e do processo de fermentação que as originou (Coldea *et al.*, 2017), também as características químicas das aguardentes recém destiladas são determinadas durante o processo de destilação (Osorio *et al.*, 2005), já que através deste processo para além de se assistir a uma concentração de compostos voláteis provenientes da fermentação, também se formam novos compostos nomeadamente via esterificação e desidratação (Madrera *et al.*, 2003a).

Assim, de acordo com Tsakiris *et al.*, (2014), o intervalo de tempo que decorre entre a fermentação e a destilação embora não afecte o conteúdo em álcoois superiores e polióis, pode conduzir a um aumento indesejável de ácido acético, lactato de etilo, acetato de etilo, succinato de dietilo e acetaldeído e, simultaneamente, à perda substancial do teor em ésteres. O mesmo autor refere que os ésteres mais afectados são os que detêm propriedades com interesse do ponto de vista aromático - o isoamilo, o acetato de hexilo, o acetato de feniletilo, o caproato de etilo, o caprilato de etilo, o caprato de etilo e o laurato de etilo.

Os compostos voláteis que contribuem para aroma dos destilados (Tabela 1) são genericamente constituídos por hidrocarbonetos, álcoois, ésteres, ácidos carboxílicos, aldeídos, cetonas e compostos de azoto e enxofre. (Ferrari *et al.*, 2004).

Tabela 1. Compostos voláteis e respectivos descritores de aroma de aguardente não envelhecida consoante a bibliografia

Nome do Composto	Nome IUPAC	Descritor do Aroma	Autor
Acetato de isobutilo	Etanoato de 2-metilprop-1-ilo	Ervas frescas	Caldeira (2004)
Butirato de etilo	Butanoato de etilo	Herbáceo, frutado	Caldeira (2004)
Acetato de isoamilo	Etanoato de 3-metilbut-1-ilo	Frutado, banana	Caldeira (2004)
Hexanoato de etilo	Hexanoato de etilo	Frutado	Caldeira (2004)
<i>trans</i>-2-Hexenol	(<i>E</i>)-hex-2-en-1-ol	Herbáceo	Caldeira (2004)
Octanoato de etilo	Octanoato de etilo	Floral, frutado	Caldeira <i>et al.</i> (2008)
Ácido acético	Ácido etanóico	Vinagre	Caldeira (2004)
2-Feniletanol	2-Feniletan-1-ol	Floral, rosas	Caldeira (2004)
Linalol	3,7-Dimetilocta-1,6-dien-3-ol	Floral, violetas	Caldeira <i>et al.</i> (2008)
Ácido butanóico	Ácido butanóico	Manteiga	Caldeira (2004)
Ácido isovalérico	Ácido 3-metilbutanóico	Chulé	Caldeira (2004)
Ácido hexanóico	Ácido hexanóico	Fumo, floral, farmácia	Caldeira (2004) e Caldeira <i>et al.</i> (2008)
Ácido dodecanóico	Ácido dodecanóico	Sabão	Caldeira <i>et al.</i> (2008)

Os mesmos autores verificaram que os hidrocarbonetos não participam activamente na percepção do aroma das aguardentes jovens devido aos seus elevados limiares de detecção, enquanto que os compostos de enxofre contribuem para o aroma característico daquelas, ainda que a sua presença seja ténue, os ésteres e os ácidos gordos constituem a maioria dos compostos aromáticos em aguardentes conferindo aromas frutados e florais, e os álcoois influenciam a percepção sensorial do destilado. Entre os álcoois, o 2-feniletanol é formado principalmente pelo metabolismo das leveduras (Alañon *et al.*, 2013).

2.2.2. Provenientes da madeira

Cabrita *et al.*, (2012) referem que a maioria dos compostos voláteis da madeira tem origem nas etapas de secagem e queima, processo absolutamente necessário para que se possa moldar a madeira, de modo a produzir vasilhas, que altera a concentração dos seus compostos (Boidron *et al.*, 1988) e que se pode prolongar para além dessa necessidade com o objectivo de desenvolver aromas na aguardente (Chatonnet *et al.*, 1989; Snakkers *et al.*, 2003).

Assim durante o período de envelhecimento, as modificações que ocorrem na aguardente devem-se a diversas reacções, favorecidas pelo elevado teor de etanol (Madrera *et al.* 2003a), que envolvem simultaneamente compostos do destilado e derivados da madeira. Estas envolvem reacções de oxidação redução, esterificações, reacções de Maillard, polimerizações e policondensações (Mosedale e Puech, 1998).

O complexo aroma atribuído às aguardentes víquicas envelhecidas, resulta de centenas de compostos voláteis já identificados (Zhao *et al.*, 2009), que são provenientes das uvas e dos vinhos (Caldeira *et al.*, 2002; Alañon *et al.*, 2013) do destilado, da madeira (Boidron *et al.*, 1988) e das reacções de interacção entre ambos (Caldeira, 2004; Louw e Lambrechts, 2012; Caldeira *et al.*, 2016). Segundo Nishimura e Matsuyama (1989), as alterações que induzem mudanças ao nível do aroma, bem como do sabor, podem dever-se a diversos fenómenos que ocorrem durante o envelhecimento: extracção directa dos elementos da madeira; extracção e difusão no destilado, dos produtos da degradação do conteúdo macromolecular da madeira; interacções entre os compostos da madeira e os compostos do destilado; interacções entre os próprios compostos do destilado; evaporação dos constituintes voláteis através da vasilha.

Na aguardente víquica, tem sido possível identificar em diversos trabalhos (Caldeira, 2004; Ferrari *et al.*, 2004; Caldeira *et al.*, 2008; Janáčová *et al.*, 2008; Malfondet *et al.*, 2016) entre inúmeros compostos voláteis, quais os que contribuem de facto para o aroma (Tabela 2). Entre

os aldeídos furânicos, o furfural é aquele que se apresenta em maior concentração e está correlacionado com o aroma a frutos secos. Os fenóis voláteis como o eugenol e o siringol contribuem com aromas a cravinho-da-índia e a fumo. Dos aldeídos fenólicos, a vanilina constitui um importante odorante com o aroma de baunilha. Entre os alcoóis, o 2-feniletanol contribui com aroma a rosas. Os ésteres contribuem para os aromas frutado e floral. Relativamente aos ácidos, como é o caso do ácido acético, e da acetoína, estes estão associados a aromas de conotação negativa. Outros compostos referidos na Tabela 2 são referidos na análise e discussão dos resultados.

Caldeira *et al.* (2002) realizaram o primeiro trabalho de caracterização do aroma da aguardente envelhecida em madeira de castanheiro, tendo verificado que comparativamente às aguardentes envelhecidas em madeira de carvalho, aquelas diferiram destas últimas por possuir maior intensidade dos descritores queimado e caramelo.

Enquanto Chatonnet e Boidron (1989) concluíram que a síntese máxima de compostos odorantes advinha da queima “média”, e Boidron e Chatonnet (1988) reportaram o incremento de aldeídos fenólicos em função da intensidade da queima, Caldeira *et al.* (2002) verificaram que queima mais forte induziu maior intensidade de descritores baunilha, caramelo, fumo e menor intensidade dos descritores fruta, verde, caudas, pelo que a variabilidade da madeira (Feuillat e Keller, 1997) e a variabilidade do processo de queima (Canas, 2003) influem na composição química e conseqüentemente na composição odorante. Do mesmo modo, de acordo com Louw e Lambrechts (2012) e Malfondet *et al.* (2016) as diferenças sensoriais entre aguardentes dever-se-ão ao equilíbrio entre as concentrações das diversas moléculas presentes.

Tabela 2. Compostos voláteis e respectivos descritores de aroma de aguardentes envelhecidas consoante bibliografia

Nome do Composto	Nome IUPAC	Descritor do Aroma	Autor
Furfural	2-furanocarboxaldeído	Pão fresco/Frutos secos	Janáčová <i>et al.</i> (2008)/ Caldeira (2004)
5-Metilfurfural	5-(hidroximetil)furano-2-carboxaldeído	Tabaco/baunilha	Janáčová <i>et al.</i> (2008)/ Caldeira (2004)
5-Hidroximetilfurfural	5-(hidroximetil)furano-2-carboxaldeído	Caramelo	Janáčová <i>et al.</i> (2008)
Guaiacol	2-Metoxifenol	Farmácia, pomada, fumo	Caldeira (2004)
4-Metilguaiacol	4-Metil-2-metoxifenol	Fumo, cinzas	Caldeira <i>et al.</i> (1999)
Eugenol	2-Metoxi-4-(2-propenil)fenol	Cravo da Índia	Caldeira <i>et al.</i> (2008)
trans-β-Metil-γ-octalactona	(4R,5S)-5-butil-4-metildihidrofuran-2(3H)-ona	Doce, floral	Caldeira <i>et al.</i> (2008)
cis-β-Metil-γ-octalactona	(4R,5R)-5-butil-4-metildihidrofuran-2(3H)-ona	Côco, doce	Caldeira <i>et al.</i> (2008)
Siringol	2-Hidroxi-1,3-dimetoxibenzeno	Queimado, fumo, madeira queimada	Caldeira <i>et al.</i> (2008)
4-Metilsiringol	4-Metil-2,6-dimetoxifenol	Fumo, queimado, floral	Caldeira (2004)
4-Alilsiringol	4-Alil-1,2-dimetoxifenol	Floral, cravo, fumo, queimado	Caldeira <i>et al.</i> (2008)
Vanilina	4-Hidroxi-3-metoxibenzaldeído	Baunilha	Caldeira <i>et al.</i> (2008)
Acetovanilona	1-(4-Hidroxi-3-metoxifenil)etanona	Baunilha	Caldeira (2004)

2.3 Análise Sensorial

A análise sensorial constitui, de acordo com a ISO 5492:2008, a “ciência que está relacionada com a avaliação dos atributos organolépticos de um produto mediante os sentidos” – visão, olfacto, gosto, tacto e audição. Esta avaliação decorre da excitação dos órgãos dos sentidos, que mediante receptores específicos transmitem um estímulo ao cérebro, do que resulta um reflexo ou sensação. Essa sensação pode ser interpretada com base na consciência, experiência e memória adquiridas (Figura 7).

Os sentidos podem dividir-se em sentidos “químicos”, caso do gosto e do olfacto, e sentidos “físicos”, a visão, o tacto e a audição. Aquando da avaliação subjectiva dos alimentos, os sentidos designados “químicos” podem sobrepor-se aos sentidos “físicos” (Cabrita e Pinheiro, 2010).

A técnica de prova de aguardentes passa pela observação da limpidez e da cor das mesmas, seguindo-se-lhe a observação do aroma e por fim a observação do sabor. (Belchior *et al.*, 1996). Também se sabe que as percepções aromáticas, são, de entre as restantes propriedades sensoriais, as que mais contribuem para a qualidade sensorial (Fiches *et al.*, 2015) bem como para a aceitabilidade de um produto (Paravisini *et al.*, 2012). Deste modo, e no âmbito do presente trabalho, importa salientar a função olfactiva, implicada na percepção dos aromas.

Assim, ao sistema olfactivo, os compostos voláteis provenientes dos alimentos podem chegar através do nariz, por via do aroma ortonasal ou através do transporte dos compostos da cavidade oral para a garganta e para o nariz, por via do aroma retronasal (Berger, 2007). Belchior *et al.* (1996) referem ainda a via hematogénica, que se estabelece mediante a passagem dos compostos voláteis do sangue para o ar expirado e subsequentemente até ao epitélio olfactivo devido à expiração do ar.

Por muito que os compostos voláteis possam ser percebidos em baixas concentrações (Rapp e Mandery, 1986), a sua relevância e percepção depende dos seus valores limiar (Berger, 2007), definindo-se o valor limiar de detecção como a concentração mínima necessária para que uma substância seja detectada por pelo menos 50% de um painel de provadores (Baldovini e Filippi, 2017). Deste modo se justifica que embora em concentrações baixas, compostos há que podem produzir impacto olfactivo (devido ao seu baixo limiar de detecção), (Ledauphin *et al.*, 2006).

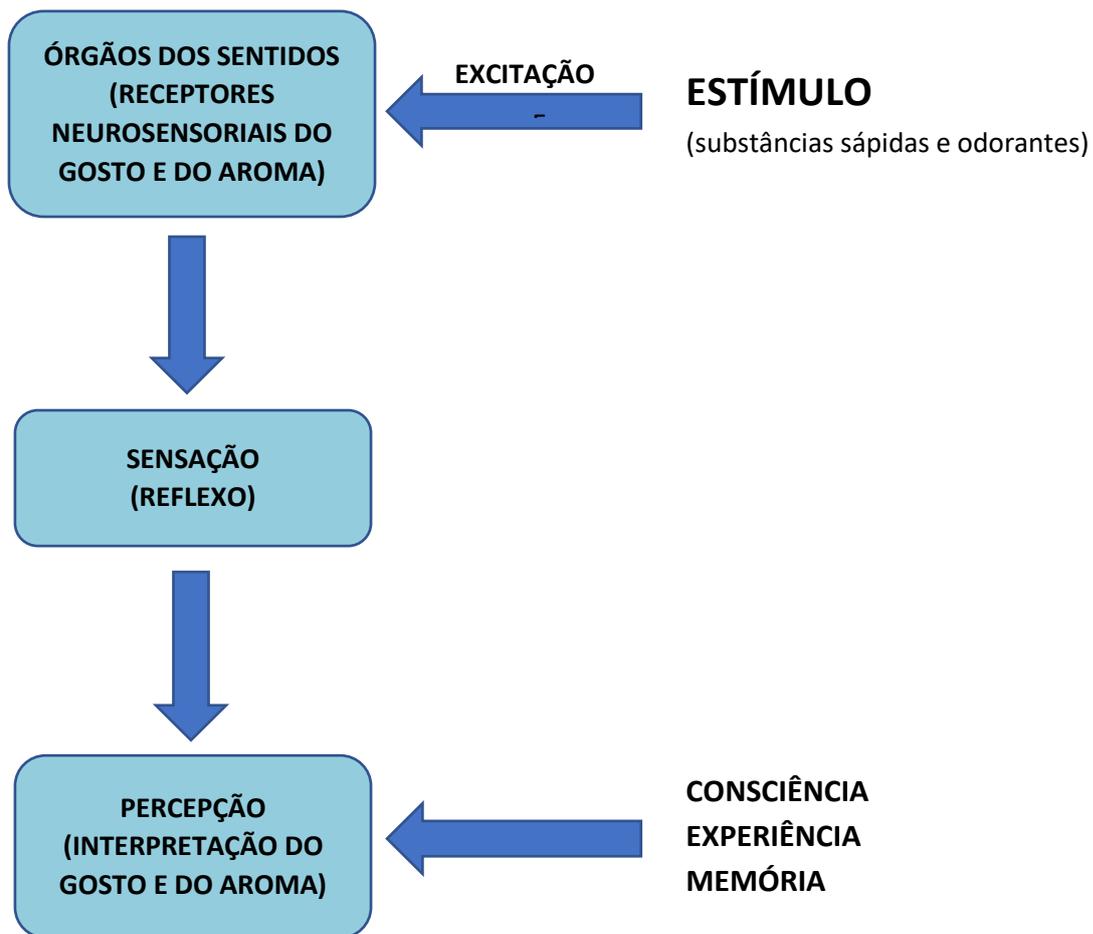


Figura 7. Mecanismos neurofisiológicos de percepção do gosto e do aroma, adaptado de Cabrita e Pinheiro (2010)

Embora existam métodos de análise como o recurso ao nariz electrónico, com provas dadas de bons resultados, estes aparelhos continuam a ser vistos como meios auxiliares aos testes sensoriais (Carmo, 2018), e de facto estes últimos continuam a ser utilizados em diversos estudos (Caldeira *et al.* 2002; Caldeira, 2004; Caldeira *et al.*, 2006a; Hernández-Orte *et al.*, 2009; Cejudo-Bastante *et al.*, 2011; Caldeira *et al.*, 2013; Canas *et al.*, 2016; Caldeira *et al.*, 2017).

2.3.1 Análise sensorial descritiva

A análise sensorial recorre a princípios científicos de outras disciplinas como a fisiologia, a psicologia e a estatística para, em conjunto com a percepção dada pelos órgãos sensoriais, obter dados objectivos acerca das propriedades dos alimentos (Piggott *et al.*, 1998).

Neste âmbito, existem diferentes testes em análise sensorial: testes afectivos, testes discriminativos e testes descritivos. Os primeiros são efectuados por consumidores (indivíduos não treinados) e servem a estudos de preferência de produtos (Carmo, 2018). Os testes discriminativos consistem na comparação e detecção, ou não detecção, de diferenças sensoriais entre dois ou mais produtos. Estes são frequentemente utilizados para seleccionar e treinar painéis de provadores e não permitem quantificar a intensidade das diferenças entre produtos, quando as há (Cabrita e Pinheiro, 2010). Por outro lado, os métodos descritivos permitem identificar e quantificar as características (Piggott *et al.*, 1998), aferir a qualidade sensorial, realizar a comparação entre produtos dentro de uma mesma gama, perceber a receptividade e o posicionamento dos mesmos face ao mercado e melhorar a sua formulação e/ou conceber novos produtos (Gacula, 1997), determinar a relação entre a análise sensorial e a análise instrumental, ou físico-química (Berger, 2007) e realizar o rastreio de produtos ao longo do tempo (Murray *et al.*, 2001).

A análise descritiva quantitativa surgiu em meados dos anos 70 do séc. XX e consiste na identificação e quantificação das características sensoriais de um produto, levada a cabo por indivíduos treinados (Stone *et al.*, 1980). Esta relevante técnica permite a sistematização dos resultados obtidos na medida em que a terminologia é comumente reconhecida pelos indivíduos envolvidos na análise e supõe uma série de padrões de referência que possibilitam ilustrar o significado dos termos utilizados (Lee *et al.*, 2000).

Relativamente às etapas pelas quais passam os testes descritivos, e compilando a informação dada pela bibliografia, (Stone e Sidel, 1993; Caldeira *et al.*, 1999; Minim *et al.*, 2010; Carmo, 2018) estas envolvem:

- I. Recrutamento e pré-selecção dos candidatos a provadores, de modo a aferir o interesse e a disponibilidade dos indivíduos bem como de verificar a sua capacidade em distinguir e identificar gostos elementares (Caldeira *et al.*, 1999)
- II. Treino e selecção dos provadores, de acordo com a Norma ISO 8586:2012

- III. Levantamento e selecção dos atributos ou descritores, bem como a sua definição, gerados pelo painel de prova após várias sessões de treino. Estes passarão a constituir a ficha de prova e definem os atributos do produto a avaliar (Minim *et al.*, 2010).
- IV. Avaliação dos produtos, com introdução de amostras codificadas e casualizadas com três repetições, (Caldeira *et al.*, 2002; Minim *et al.*, 2010).
- V. Análise dos resultados obtidos, recorrendo a análise estatística, frequentemente mediante análise de variância “ANOVA”, que permite simultaneamente avaliar o desempenho dos provadores e perceber quais os descritores que diferenciam os produtos sob avaliação.

Relativamente a aguardentes, Caldeira *et al.*, 1999 desenvolveram uma ficha de prova descritiva quantitativa no âmbito de um projecto de investigação, a qual continua a ser utilizada.

2.4 Análise da composição volátil

O estudo da composição volátil, e no caso concreto de aguardentes vónicas, reveste-se de particular importância. Mediante esta análise, é possível obter dados nomeadamente acerca das condições sanitárias da matéria prima e procedimentos tecnológicos utilizados, e proceder à caracterização de aguardentes antes e após o seu envelhecimento. É ainda exequível por esta via, e de acordo com o Regulamento nº 2870/2000, a realização do controlo de substâncias consideradas tóxicas como o metanol, e a obtenção da garantia de origem da bebida tendo em conta os seus níveis em álcoois superiores (Madrera e Valles, 2007).

A técnica de cromatografia gás-líquido (GC) desenvolvida no início dos anos 50 do século XX (Robinson *et al.* 2014) tem sido então amplamente utilizada para quantificar compostos voláteis, e identificá-los combinando para o efeito a técnica de cromatografia gasosa com a espectrometria de massa (Binięcka e Caroli, 2011).

Deste modo existem diversos estudos em vinhos (Corręa, 1996; Eiriz, 2006; Cabrita *et al.*, 2012), whisky (Wanikawa *et al.*, 2000), destilados de diferentes origens (Vlassov e Maruzhenkov, 1999; Guichard *et al.*, 2003; Ledauphin *et al.*, 2003; Janacová *et al.*, 2008; Zhao *et al.*, 2009; Ledauphin *et al.*, 2010; López-Vásquez *et al.*, 2010; Plutowska *et al.*, 2010; Malfondet *et al.*, 2016), e aguardentes (Caldeira, 2004; Caldeira *et al.*, 2008; Caldeira *et al.*,

2009; Caldeira *et al.*, 2010; Caldeira *et al.*, 2012; Caldeira *et al.*, 2016), entre as quais cognacs (Shaefer e Timmer, 1970; Lablanquie *et al.*, 2002; Ferrari *et al.*, 2004; Savchuk e Kalesov, 2005).

A cromatografia é uma técnica conducente à separação total ou parcial dos constituintes de uma mistura, devido a fenómenos de adsorção ou partição, que têm lugar entre uma fase estacionária, líquida ou sólida, e uma fase móvel, líquida ou gasosa (Das Neves, 1980). Relativamente à cromatografia em gás-líquido de alta resolução, a fase móvel é um gás quimicamente inerte, podendo ser hidrogénio, hélio ou azoto, através do qual os componentes de uma mistura são arrastados sob a forma de gases. Neste sentido, a cromatografia gás-líquido, cuja fase estacionária é um líquido com elevado ponto de ebulição, baseia-se na diferença de solubilidade que os constituintes de uma mistura comportam, sob a forma de gases numa determinada fase líquida (Das Neves, 1980).

De acordo com Biniécka e Caroli (2011), a técnica de GC é subordinada às seguintes condições:

- as substâncias a analisar devem ser voláteis o suficiente para poderem ser eluídas e detectadas à temperatura operacional;
- a fase estacionária deve ser estável do ponto de vista térmico, e razoavelmente não volátil, de modo a poder funcionar como substracto onde as substâncias são separadas.

Entre os compostos voláteis presentes nas aguardentes, os mais abundantes designados maioritários (metanol, alcoois superiores, acetaldeído) (Nykanen, 1986; López-Vásquez *et al.*, 2010) encontram-se em maior concentração, podendo chegar a várias g/L, pelo que podem ser analisados por injeção directa (Caldeira, 2004; Madrera *et al.*, 2007). Os compostos designados minoritários, que por sua vez abrangem a maior parte dos compostos com capacidade odorante (Caldeira *et al.*, 2016), encontram-se presentes em pequenas concentrações (Schreier *et al.*, 1979), carecendo, portanto, de extracção e concentração prévias (Caldeira *et al.*, 2016), à semelhança do que ocorre em vinhos (Cabrita *et al.*, 2012) e em cognac (Panosyan *et al.*, 2001).

A extracção das amostras pode ser obtida por diferentes métodos, conforme sintetizado por Kloskowski *et al.* (2007) e Cabrita *et al.* (2012), entre os quais pela extracção líquido-líquido (LLE). Este método tem sido aplicado em destilados como a cidra (Madrera *et al.*, 2007), Calvados e Cognac (Ledauphin *et al.*, 2006) e foi validado em aguardentes vnicas por Caldeira (2004).

Após a recolha dos extractos e dado que a maioria dos compostos odorantes se encontram em concentrações reduzidas (Schreier *et al.*, 1979), procede-se à concentração das amostras (Corrêa, 1996) através de evaporação do solvente (Kloskowski *et al.*, 2007).

Porque não é necessariamente a maior concentração de um composto que determina a maior intensidade odorante (Ohloff, 1978), para entender quais os compostos que de facto contribuem para o aroma (Caldeira, 2004; Ferrari *et al.*, 2004; Caldeira *et al.*, 2008; Janacóvá *et al.*, 2008; Cabrita *et al.*, 2012; Tsakiris *et al.*, 2014) e com o objectivo de correlacionar os dados obtidos pela análise sensorial (Belchior *et al.*, 2015), pode acoplar-se a olfactometria à técnica de GC (conhecida como GC-O), onde à saída da coluna é possível identificar os compostos com maior capacidade odorante (Caldeira, 2004). Em aguardente vínica velha o primeiro trabalho a utilizar esta abordagem foi o de Caldeira (2004), onde foram identificados 31 compostos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Com o objectivo de avaliar à escala industrial os efeitos do sistema de envelhecimento em duas modalidades de madeira - castanheiro (*Castanea sativa* Mill.) e carvalho Limousin (*Quercus robur* L.) - no perfil de compostos odorantes e perfil sensorial de uma mesma aguardente vínica “Lourinhã”, avaliaram-se amostras recolhidas no ensaio (Figura 8) estabelecido no âmbito do projecto CENTRO-04-3928-FEDER-000001.

3.1 Delineamento experimental e amostragens

A matéria-prima que serviu de base a este ensaio experimental foi uma aguardente vínica, produzida pela Adega Cooperativa da Lourinhã (ACL) e obtida por destilação contínua com as seguintes características analíticas: 77,4%v/v, pH de 5,44, acidez total de 0,13 g/hL A.P. e acidez volátil de 0,11 g/hL A.P., expressas em ácido acético.

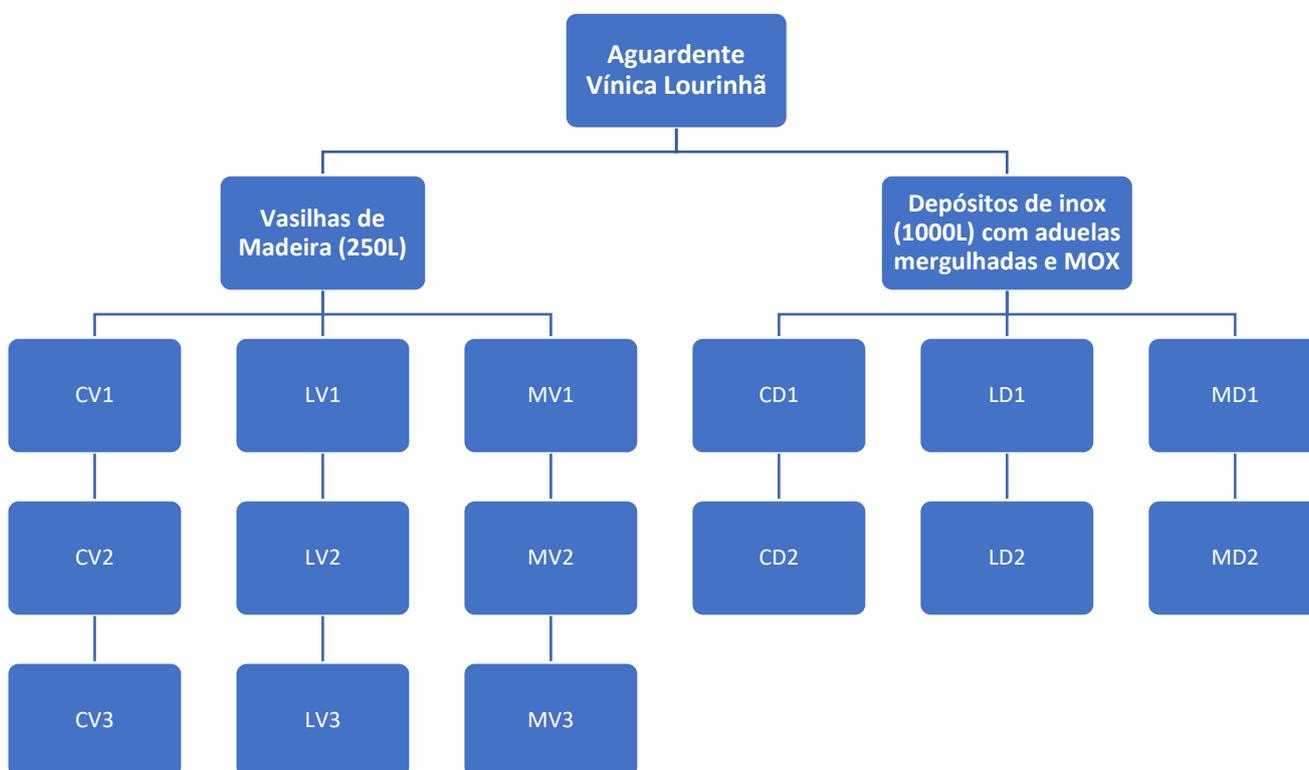


Figura 8. Esquema de ensaio e identificação das unidades experimentais; C-castanheiro;L-carvalho Limousin;M-mistura de madeiras C e L alternadas; V-vasilha(de madeira); D-depósito de inox; 1,2 e 3- réplicas de ensaio

Seguiu-se um delineamento experimental de factorial duplo em que se consideraram os factores sistema de envelhecimento (tradicional - vasilha e alternativo - depósitos de inox com introdução de aduelas e micro-oxigenação) e madeira (castanheiro e carvalho) e. Colocou-se assim a mesma aguardente vínica “Lourinhã” em 9 vasilhas de madeira de 250L (3 elaboradas a partir de madeira de castanheiro, 3 produzidas a partir de madeira de carvalho Limousin e 3 elaboradas com aduelas de ambas as madeiras, alternadamente); e em 6 depósitos de inox, de capacidade de 1000L, aos quais se adicionaram aduelas das mesmas madeiras.

As aduelas (91cm x 5cm x 1,8cm) foram colocadas em cada depósito em quantidade correspondente à relação volume/superfície das vasilhas utilizadas. Estas, bem como as vasilhas, foram produzidas com queima média +, em Palaçoulo, pela tanoaria J.M. Gonçalves.

Foi aplicada micro-oxigenação aos depósitos, mediante a introdução de 2mL/L/mês de oxigénio puro (X50S Food, Gasin, Portugal) com recurso a um micro-oxigenador com múltiplos difusores (VISIO 6, Vivelys, França) com difusores de cerâmica, de modo a simular nestas condições, a transferência que se reconhece ocorrer nas vasilhas, nomeadamente quando armazenam vinho (Parish *et al.*, 2000).

Todas as 15 unidades experimentais (vasilhas de madeira e depósitos) foram mantidas sob as mesmas condições na cave da ACL e após 12 meses foram recolhidas amostras de aguardente de cada uma delas, as quais foram submetidas a análise sensorial e análise da composição volátil.

Em virtude da inviabilidade de uma das réplicas provenientes de aguardente envelhecida em madeira de mistura (MD2), foram consideradas somente 14 amostras para efeitos de análise de resultados.

Os resultados obtidos nas análises foram sujeitos a análise estatística descrita no ponto 3.4.

3.2 Análise Sensorial descritiva

As amostras de aguardente foram previamente diluídas para um teor alcoólico de 40% v/v.

Realizou-se a análise descritiva quantitativa, recorrendo-se a um painel de 9 provadores, 3 elementos do sexo feminino e 6 elementos do sexo masculino, com idades compreendidas entre os 26 e os 69 anos. Este painel foi previamente treinado e seleccionado pelo INIAV, de acordo com a metodologia descrita em Caldeira *et al.*, (1999) e em concordância com a Norma ISO 8586:2012 e cuja fiabilidade foi avaliada consoante descrito em Caldeira *et al.*, (2002). O número de provadores a que se recorreu encontra-se de acordo com o preconizado para o efeito, nomeadamente por Stone *et al.*, (1980) e Heymann *et al.*, (2012), que referem entre 6 e 10 e entre 8 e 10 provadores, respectivamente.

As 15 amostras foram avaliadas em duas sessões, com intervalo de uma semana. Em cada sessão avaliaram-se 9 amostras, devidamente codificadas (três dígitos aleatórios), foram apresentadas de forma balanceada a cada provador, para eliminar o efeito de apresentação e posição relativa inter-amostras (Macfie e Bratchell, 1989). Em cada sessão foram avaliadas amostras repetidas para avaliar a acuidade e fiabilidade dos provadores (Stone *et al.*, 1980; Caldeira *et al.*, 2002). Ambas as sessões tiveram lugar durante a manhã, cerca das 10h, de modo a evitar os possíveis efeitos do estado de saciedade, bem como da diminuição da acuidade sensorial por parte dos provadores. Estas sessões tiveram lugar na sala de prova do INIAV (Figura 9), equipada de acordo com a Norma ISO 8589:2007, sob luz natural e temperatura ambiente de cerca de 20°C, e cada copo de prova (os mesmos utilizados para a prova de vinho, de acordo com a Norma ISO 3591:1977) continham 30mL de aguardente. Foi disponibilizada água para neutralização do palato entre cada amostra provada.



Figura 9. Aspecto de uma sessão de prova de aguardentes decorrida na sala de provas do INIAV

Na ficha de prova elaborada para o efeito por Caldeira *et al.* (1999), (Anexo 1), os provadores avaliaram a intensidade da percepção de cada um dos 36 descritores, gerados pelo grupo de prova, de acordo com uma escala estruturada de 0 (imperceptível/ sem percepção) a 5 (percepção mais forte).

Os descritores avaliados foram:

- Descritores visuais:
 - citrino, palha, dourado, topázio e esverdeado;
- Descritores de aroma (ortonasal):
 - álcool, frutado, baunilha, madeira, ranço bom, especiarias, caramelo, queimado/torrado, frutos secos, fumo, café, adocicado, herbáceo, caudas, acetato de etilo e borracha;
- Descritores de sabor:
 - doce, macio, queimante, adstringência, aspereza, amargo, corpo, untuosidade, evolução, complexidade, aroma de boca e persistência;

Complementarmente foi pedido aos provadores uma apreciação do aroma, sabor e geral das aguardentes, as quais foram classificadas de 0 a 20.

Os parâmetros cor, sabor e apreciações foram avaliados complementarmente ao aroma devido à sua relevância em termos sensoriais.

3.3 Análise da composição volátil das aguardentes

3.3.1 Extração prévia dos compostos voláteis

Para proceder à análise dos compostos voláteis seguiu-se o método validado por Caldeira (2004), com as modificações introduzidas por Caldeira *et al.*, (2010). Diluíram-se as aguardentes para 20% v/v, com água ultrapura. A cada 100 cm³ de aguardente diluída adicionaram-se 1,6 cm³ de padrão interno 5-metil-2-hexanol (81 mg.dm⁻³ em etanol) e 0,5 cm³ de 3,4-dimetilfenol (100 mg.dm⁻³) e procedeu-se à extração líquido-líquido com adição sucessiva de 30, 10 e 10 cm³ de diclorometano por ultrasonificação (Figura 10). O total das fases orgânicas daí provenientes foram concentradas no evaporador rotativo a 42,5°C até cerca de 0,2mL e obtiveram-se assim os extractos de compostos voláteis. Estes extractos foram recolhidos e conservados no congelador a -20°C, e posteriormente analisados por cromatografia gás-líquido de alta resolução acoplada a um detector de ionização de chama (GC-FID) para efeitos de quantificação e por cromatografia gás-líquido de alta resolução acoplada a um espectrómetro de massas para efeitos de identificação (GC-MS).

Cada aguardente foi extraída em duplicado.



Figura 10. (A) Extração líquido-líquido; (B) Banho de ultrasons

3.3.2 Cromatografia gás-líquido de alta resolução

Com a finalidade de analisar e quantificar os compostos voláteis por GC-FID, cada extracto foi analisado em triplicado, no cromatógrafo “Agilent Technologies 6890N Network GC System Series (Wilmington, DE, EUA) (Figura 11). Este equipamento, estava munido de um detector de ionização de chama (FID) e de uma coluna capilar de polietilenoglicol fundida em sílica (HP-INNOWax, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA, 60 m, 0,32 mm e 0,25 μm de espessura) que operou com as seguintes condições de trabalho: injetor e detector: 260°C; gás de arraste: hidrogénio (2,4 mL/min e razão de divisão 1:25); programa de temperatura do forno: 3,5°C min⁻¹ de 35°C (6min isotérmicos) até 55°C, 7,5°C min⁻¹ até 130°C, 5°C min⁻¹ até 210°C e mantida essa temperatura por 30min. O volume injectado foi entre 0,4 e 0,8 μL .

Soluções hidroalcoólicas (55%, pH 4,2) com concentrações conhecidas de diferentes odorantes foram extraídas e analisadas nas condições descritas anteriormente. Os resultados obtidos permitiram estabelecer as curvas de calibração para cada composto.

A quantificação dos compostos odorantes nas aguardentes foi realizada com base nos resultados das curvas de calibração e os resultados são apresentados em mg.dm⁻³ de aguardente.



Figura 11. Cromatógrafo gás líquido de alta resolução

3.3.3 Espectrometria de massa

Para proceder à identificação dos compostos voláteis quantificados por GC-FID, seguiu-se o procedimento descrito em Caldeira *et al.*, (2010) e Caldeira *et al.*, (2016). Deste modo, recorreu-se ao espectrómetro de massa GC-MS (Figura 12) (Magnum, Finnigan Mat, San Jose CA, USA), munido de coluna capilar de sílica fundida de polietilenoglicol (HP-INNOWax of I&W Scientific Folsom CA, USA, 30m, 0,25mm, 0,25µm de espessura). As condições de trabalho foram de 250°C no injector e na linha de transferência, utilizando hélio como gás de arraste a 83kPa de pressão e razão de divisão 1:60, o forno operou no programa de temperatura 3,5°C min⁻¹ de 35°C (6 minutos isotérmico) até 55°C, 7,5 min⁻¹ até 130°C, 5°C min⁻¹ até 210°C e mantida essa temperatura por 30 min. O volume injectado foi de cerca 0,4µL. O espectrómetro de massa foi operado no modo de impacto de electrões a 70 eV, varrendo a faixa m/z 40-340 num ciclo de 1s. Através da comparação dos tempos de retenção e dos espectros de massa obtidos com os dos compostos padrão puros, sempre que foi possível, procedeu-se à identificação dos compostos voláteis. Todos os espectros de massa obtidos foram confrontados com os das bibliotecas NIST e WILEY do sistema de dados.

Realizou-se também a injeção de uma solução de alcanos (C9 a C30), nas mesmas condições de análise das amostras, a qual permitiu o cálculo dos índices de retenção (IR) de cada composto, conforme metodologia descrita em Philips (1989). Com base nos resultados procedeu-se ao cálculo dos IR.



Figura 12. Espectrómetro de massa

3.4 Análise estatística

Os resultados obtidos, nas amostras de aguardente recolhidas ao fim de 12 meses de envelhecimento, foram submetidos a análise de variância (ANOVA) a dois factores, para verificar a influência do sistema de envelhecimento (tradicional e alternativo), da madeira utilizada (carvalho Limousin e castanheiro), bem como da interacção entre ambos, ao nível da análise sensorial e da análise da composição volátil. Foi verificada a homogeneidade de variância (Cochran) e quando se detectou um efeito estatisticamente significativo ($p < 0,05$) realizou-se o teste de comparação de médias da mínima diferença significativa desenvolvido por Fisher (Williams e Abdi, 2010).

Procedeu-se ainda a análise multidimensional de resultados, nomeadamente à análise de componentes principais, dada a sua aptidão específica para fornecer informações a partir de conjuntos vastos de dados (Jombart *et al.*, 2010) por meio da redução da matriz original e mantendo a variabilidade total das variáveis de origem (Reis, 1997; Câmara *et al.*, 2006) que possibilita obter uma visão geral da posição das amostras.

Para os cálculos da análise de variância foi utilizado o programa StatSoft, Inc. (2004). STATISTICA (data analysis software system), version 7. Os cálculos para a análise de componentes principais, foram realizados no pacote NTSYS-pc, versão 2.1q (Rohlf, 2000).

4. ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

As amostras de aguardente, do ensaio descrito no ponto 3, foram submetidas à análise sensorial e à análise da composição volátil, sendo posteriormente ambos os resultados sujeitos a análise estatística, conforme descrito na metodologia.

4.1 Análise Sensorial

Realizou-se a análise sensorial descritiva quantitativa, recorrendo para o efeito à ficha de prova (Anexo I), composta por 36 descritores, conforme descrito no ponto 3.

Os resultados médios dos 9 provadores, obtidos para os 36 descritores, foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e para os factores em que se detectou efeito estatístico significativo ($p < 0,05$) realizou-se o teste de comparação de médias Fischer LSD.

O resultado da ANOVA (ANEXO II) demonstrou que o sistema de envelhecimento foi o factor que mais influenciou a intensidade dos descritores sensoriais avaliados, tendo-se verificado efeito significativo deste factor em 26 descritores sensoriais. O factor madeira influenciou significativamente a intensidade de 17 dos descritores e a interação entre os factores sistema-madeira teve efeito em 6 dos descritores. Estes resultados são diferentes dos obtidos por Caldeira *et al.* (2010) e Caldeira *et al.* (2013), onde se verificou pouca influência do sistema de envelhecimento no perfil sensorial, tendo-se verificado em ambos os trabalhos (de comparação do sistema de envelhecimento), maior efeito da espécie da madeira.

4.1.1 Efeito do sistema de envelhecimento no perfil sensorial das aguardentes

O sistema de envelhecimento influenciou os 5 descritores de cor, 11 dos descritores de aroma (baunilha, madeira, ranço bom, especiarias, caramelo, queimado, frutos secos, fumo, café, adocicado e herbáceo), 7 dos descritores de sabor (macio, corpo, untuosidade, evolução, complexidade, ar boca e persistência) e também de apreciação (aroma, sabor e geral).

Relativamente aos descritores da cor (Figura 13) verificou-se que os descritores: citrino, palha e dourado obtiveram maior intensidade média do atributo nas aguardentes envelhecidas em

vasilha, ao passo que os descritores da cor topázio e esverdeado apresentaram maior intensidade média nas aguardentes envelhecidas em depósito.

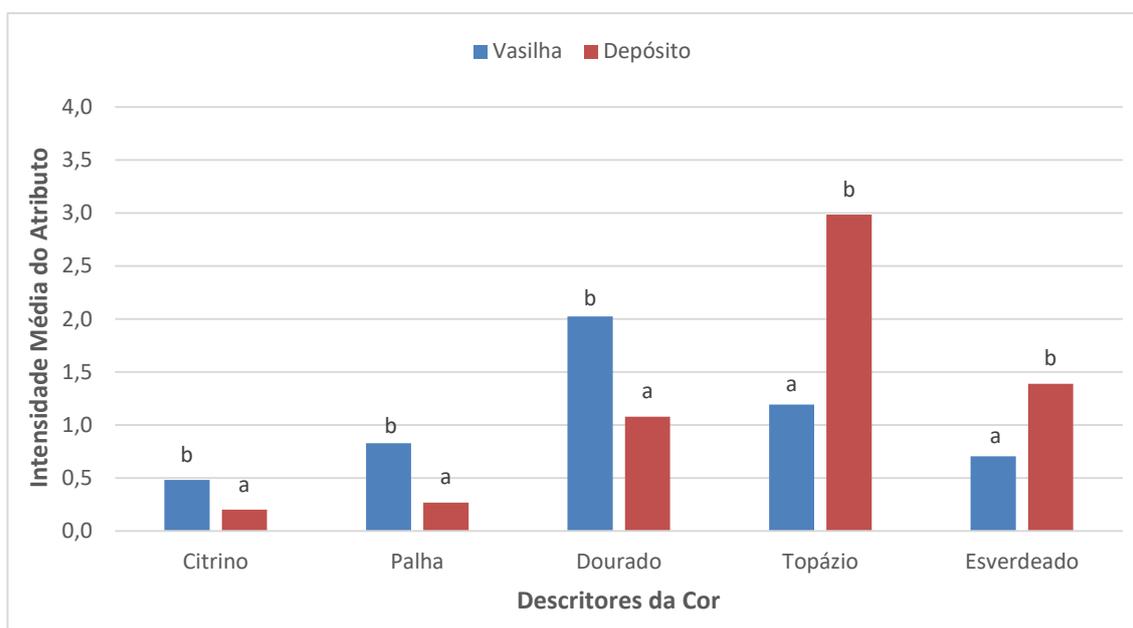


Figura 13. Valores médios (do teste de comparação de média) dos atributos da cor nas aguardentes provenientes dos dois sistemas

Os descritores da cor topázio e esverdeado constituem-se tonalidades associadas a cores mais evoluídas (Canas *et al.*, 2016), contrariamente aos descritores da cor citriño, palha e dourado (sendo esta última considerada uma cor de “transição” (Canas *et al.*, 2000b). Assim, os resultados obtidos sugerem que, para o mesmo tempo de envelhecimento, as aguardentes envelhecidas em depósito assumem-se com características de maior evolução, enquanto que as aguardentes envelhecidas em vasilha apresentam sobretudo cor de transição.

Resultados semelhantes foram obtidos por Caldeira *et al.* (2017), em cujo trabalho se verificou uma menor intensidade do atributo dourado nas aguardentes envelhecidas em depósito e, simultaneamente, uma maior intensidade média do atributo topázio nesse sistema de envelhecimento.

Uma vez que as cores citriño, palha e dourado apresentam correlação negativa com a qualidade, sendo associado a aguardentes jovens e por outro lado as cores topázio e esverdeado se correlacionam positivamente com a qualidade (Caldeira *et al.*, 2013), os resultados obtidos sugerem que as aguardentes envelhecidas em sistema alternativo se constituem mais evoluídas, talvez devido à aplicação de oxigénio que poderá favorecer essa evolução (Canas *et al.*, 2012 e 2016).

Todos os descritores do aroma que foram significativamente influenciados pelo sistema de envelhecimento (11 dos 16 avaliados) apresentaram maior intensidade nas aguardentes envelhecidas em depósitos, com exceção do herbáceo, que apresentou intensidade mais elevada nas aguardentes envelhecidas em vasilha (Figura 14).

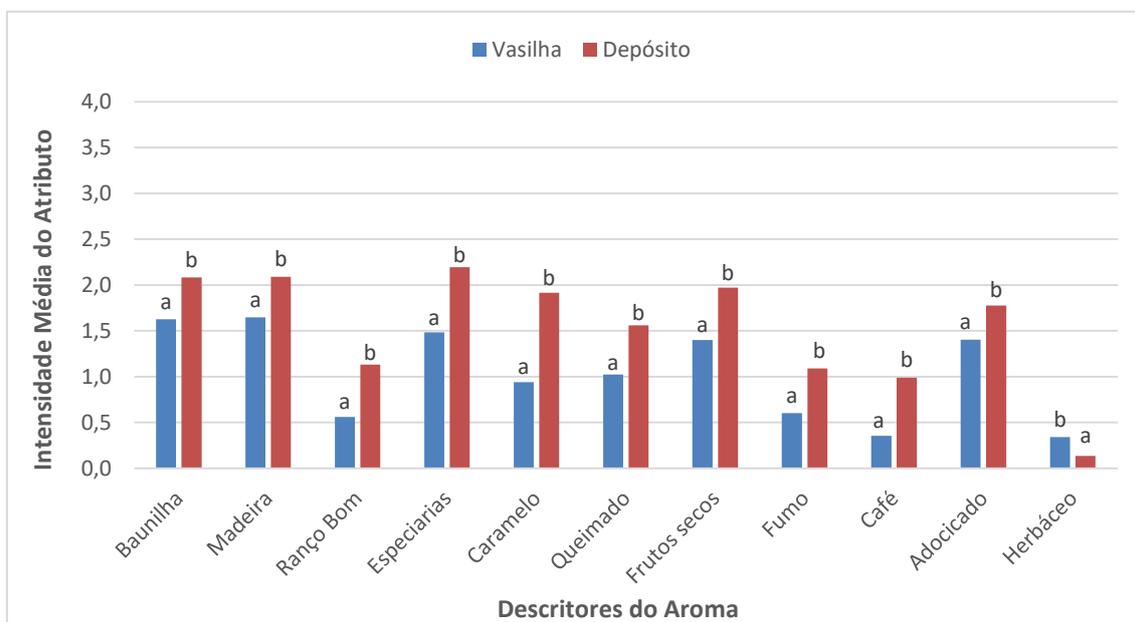


Figura 14. Valores médios (do teste de comparação de média) dos atributos do aroma nas aguardentes provenientes dos dois sistemas

Descritores do aroma como baunilha, madeira, especiarias, queimado, frutos secos, fumo (Caldeira *et al.* 2006a), caramelo e ranço bom (Caldeira *et al.*, 2002) e café (Caldeira *et al.*, 2010), relacionam-se positivamente com a qualidade da aguardente e a sua intensidade é incrementada ao longo do envelhecimento (Caldeira *et al.* 2002; Caldeira *et al.* 2010). Pelo contrário o descritor herbáceo, tido como um atributo negativamente correlacionado com a qualidade global (Caldeira *et al.*, 2002), (Caldeira *et al.*, 2006) encontra-se associado a aguardentes jovens, (Caldeira *et al.*, 2010) sendo descritor de alguns álcoois (Malfondet *et al.*, 2016). A intensidade deste descritor decresce com o envelhecimento (Caldeira *et al.* 2013). Os resultados obtidos evidenciam que as aguardentes envelhecidas em vasilha comportam características de menor envelhecimento face às aguardentes envelhecidas em depósito.

Os descritores do sabor que foram susceptíveis da influência significativa do sistema de envelhecimento, nomeadamente, macio, corpo, untuosidade, evolução, complexidade, aroma

de boca e persistência, verificaram a sua maior intensidade média nas aguardentes envelhecidas em depósito (Figura 15).

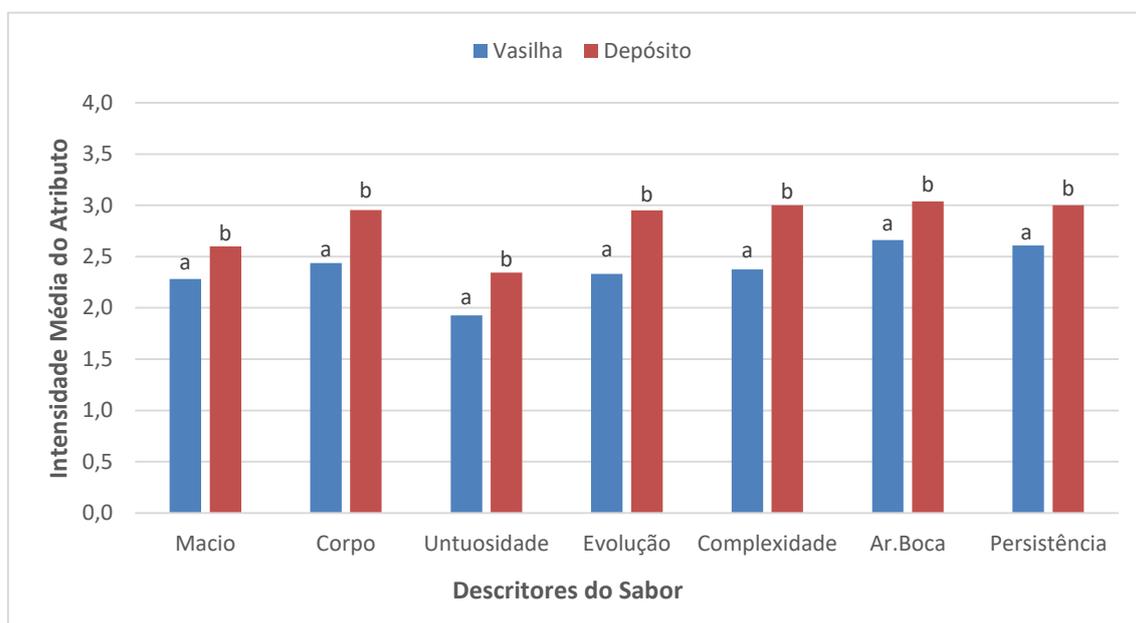


Figura 15. Valores médios (do teste de comparação de média) dos atributos do sabor nas aguardentes provenientes dos dois sistemas

Os atributos do sabor, macio, corpo, complexidade, aroma de boca, persistência (Caldeira *et al.*, 2006a), untuosidade e evolução (Caldeira *et al.*, 2013) estão associados a atributos positivos e a maioria deles aumenta a sua intensidade ao longo do tempo (Caldeira *et al.*, 2017). Assim, os resultados obtidos sugerem que com o sistema alternativo se obtiveram aguardentes com características de maior envelhecimento, face às aguardentes envelhecidas em vasilha, à semelhança do obtido por Caldeira *et al.* (2010), embora neste caso se tenham obtido efeitos significativos num maior número de descritores do sabor.

Relativamente à apreciação de aroma, sabor e geral, verificaram-se diferenças significativas induzidas pelo sistema de envelhecimento entre as aguardentes envelhecidas em vasilha, que apresentam menores valores do que as aguardentes envelhecidas em depósito (Figura 16).

Estes resultados podem estar relacionados com os descritores de cor, aroma e sabor verificados anteriormente cuja intensidade média foi superior no sistema alternativo (Caldeira *et al.*, 2010) já que aqueles se relacionam positivamente com a qualidade global da aguardente (Caldeira *et al.*, 2006a; Caldeira *et al.*, 2013), na medida em que sugerem maior maturação da

bebida (Caldeira *et al.*, 2010). O efeito significativo do sistema de envelhecimento na apreciação global das aguardentes não se verificou no trabalho de Caldeira *et al.* (2013), tendo-se verificado no trabalho de Caldeira *et al.* (2017). Neste último, obteve-se maior intensidade na qualidade global da aguardente com o sistema alternativo. Tendo em conta que o presente trabalho resulta de 12 meses de envelhecimento, face a 30 e a 24 meses, respectivamente, os resultados obtidos podem estar relacionados com a aplicação de micro-oxigenação, que contribui para a extracção mais célere de compostos da madeira (Canas *et al.*, 2019b).

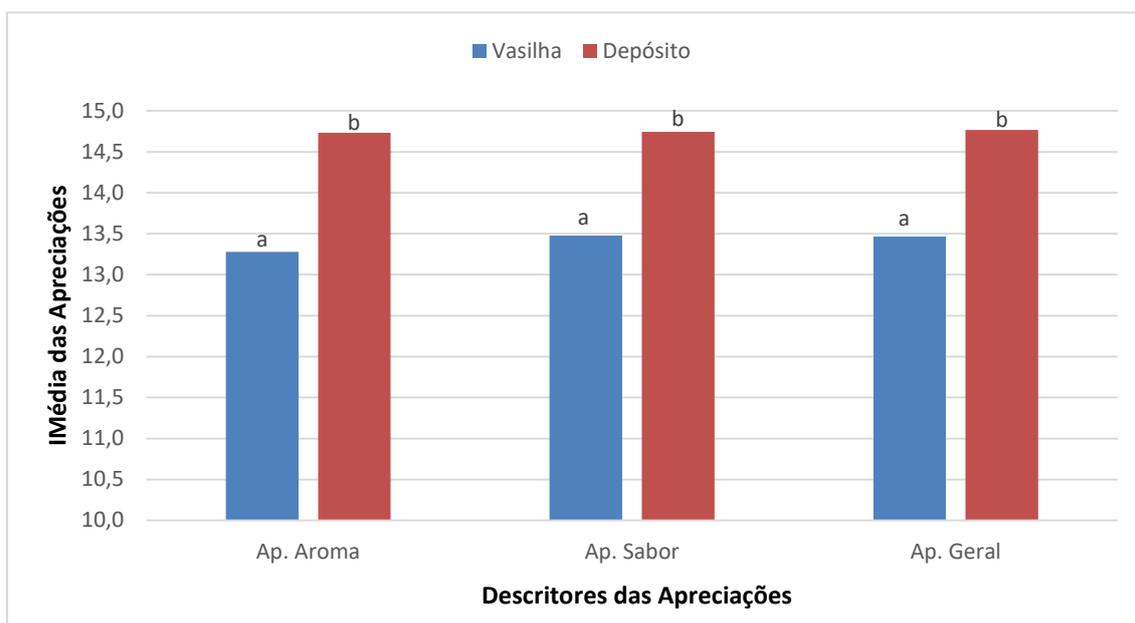


Figura 16. Valores médios (do teste de comparação de média) dos atributos da apreciação nas aguardentes provenientes dos dois sistemas

4.1.2 Efeito da madeira no perfil sensorial das aguardentes

O factor madeira influenciou significativamente a intensidade de 5 descritores da cor, 6 descritores do aroma (baunilha, caramelo, queimado, frutos secos, fumo e café), 3 descritores do sabor (corpo, evolução e complexidade) e também na apreciação de aroma, sabor e geral.

No que respeita ao efeito do factor madeira nos descritores da cor, e relativamente aos descritores da cor citrino, palha e dourado, verificou-se que as aguardentes envelhecidas em madeira de carvalho Limousin apresentaram intensidade média mais elevada diferindo

significativamente das aguardentes envelhecidas em madeira de castanheiro. Para os descritores da cor topázio e esverdeado, as aguardentes envelhecidas em madeira de castanheiro apresentaram a maior intensidade média do atributo, diferindo significativamente das aguardentes envelhecidas em madeira de carvalho Limousin. As aguardentes envelhecidas em mistura de madeiras apenas diferem significativamente das outras aguardentes no que refere ao descritor da cor topázio (Figura 17).

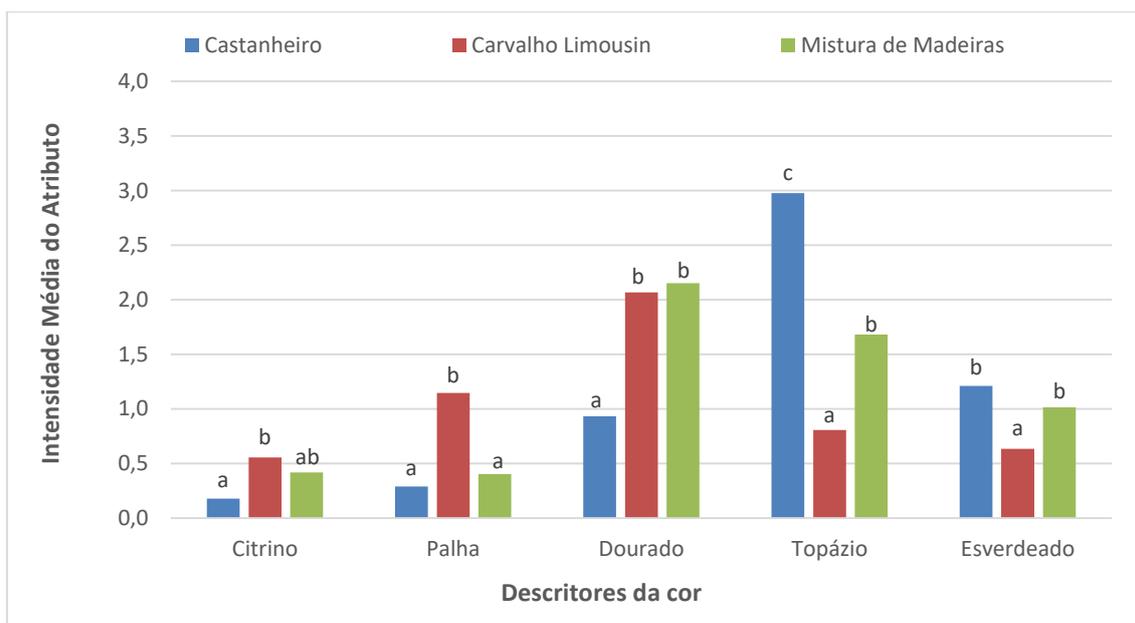


Figura 17. Valores médios (do teste de comparação de média) dos atributos da cor nas aguardentes envelhecidas em diferentes madeiras

As aguardentes envelhecidas em madeira de castanheiro, comparativamente àquelas envelhecidas em madeira de carvalho Limousin, apresentaram em trabalhos anteriores, predominância do descritor da cor topázio ao final de 30 meses (Caldeira *et al.*, 2013), predominância do atributo topázio seguido do atributo esverdeado ao final de 3 anos (Canas *et al.*, 2000) e maior evolução da cor, que se relaciona com os mesmos atributos, ao final de 6 meses de envelhecimento (Canas *et al.*, 2019b). Verificando-se resultados semelhantes ao final de 12 meses, tal sugere que as aguardentes envelhecidas em madeira de castanheiro possuem características de maior envelhecimento do que as aguardentes envelhecidas em carvalho Limousin, o que se pode dever à maior porosidade da madeira de castanheiro (De Rosso *et al.*, 2009), motivo pelo qual pode transferir mais oxigénio e promover os processos de extracção e oxidação que influem nas características da cor (Canas *et al.*, 2019b).

Relativamente ao efeito do factor madeira sobre os descritores do aroma, (Figura 18) constatou-se que relativamente ao atributo baunilha as aguardentes envelhecidas em castanheiro e as aguardentes envelhecidas em mistura de madeiras não diferem significativamente entre si, diferindo ambas significativamente das aguardentes envelhecidas em madeira de carvalho Limousin. Relativamente aos atributos caramelo e frutos secos, existem diferenças significativas entre todas as aguardentes (provenientes de castanheiro, mistura e limousin). Para os atributos queimado, fumo e café, verificou-se que as aguardentes envelhecidas em madeira de castanheiro diferem significativamente das aguardentes envelhecidas em madeira de mistura e das envelhecidas em madeira de carvalho Limousin, estes dois grupos não diferiram entre si.

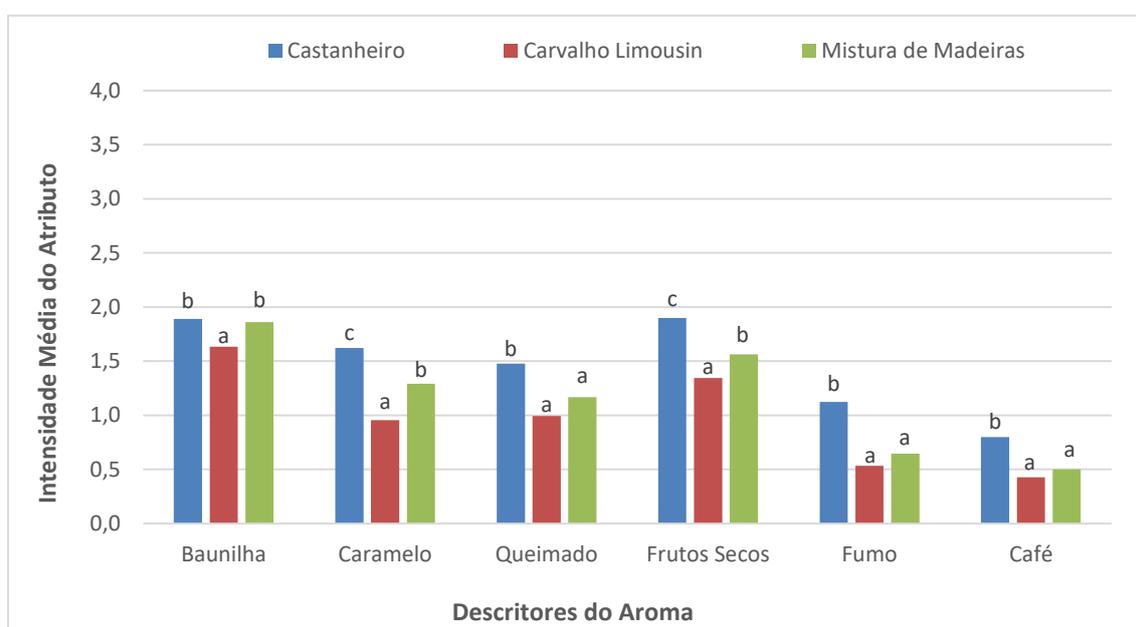


Figura 18. Valores médios (do teste de comparação de média) dos atributos do aroma nas aguardentes envelhecidas em diferentes madeiras

As aguardentes envelhecidas em madeira de castanheiro destacaram-se, em vários trabalhos, com maior intensidade média das aguardentes envelhecidas em madeira de carvalho Limousin para os descritores do aroma baunilha, caramelo e queimado (Caldeira *et al.*, 2002) e também café (Caldeira *et al.*, 2010) frutos secos e fumo (Caldeira *et al.*, 2006a).

Estes atributos do aroma provêm do envelhecimento das aguardentes em contacto com madeira nomeadamente fumo- fenóis voláteis; frutos secos, queimado – aldeídos furânicos; baunilha- vanilina (Caldeira *et al.*, 2010) caramelo-aldeídos furânicos (Caldeira *et al.*, 2008) como a intensidade destes atributos aumenta com o passar do tempo as aguardentes parecem

ter sido sujeitas a um período de maior envelhecimento (Caldeira *et al.*, 2017), o que pode ser influenciado pelo facto da madeira de castanheiro ter maior capacidade de extracção/oxidação (Canas *et al.*, 2019a) devido à sua maior porosidade quando comparada com a madeira de carvalho (De Rosso *et al.*, 2009).

Relativamente aos atributos do sabor afectados significativamente pela madeira: corpo, evolução e complexidade, verificou-se que as aguardentes envelhecidas em madeira de castanheiro obtiveram maior intensidade média dos atributos, distinguindo-se e sendo sucedidas pelas aguardentes envelhecidas em madeira de mistura e em madeira de carvalho Limousin, as quais não se distinguem significativamente entre si (Figura 19).

Estes resultados estão de acordo com os obtidos por Caldeira *et al.* (2006) relativamente ao descritor complexidade, que tomou maior intensidade média nas aguardentes envelhecidas em madeira de castanheiro do que em aguardentes envelhecidas em madeira de carvalho Limousin, bem como de acordo com Caldeira *et al.* (2013) onde as aguardentes envelhecidas em madeira de castanheiro obtiveram maior intensidade média dos descritores corpo e evolução do que as aguardentes envelhecidas em madeira de carvalho Limousin. Uma vez que estes atributos do aroma são incrementados ao longo do processo de envelhecimento (Caldeira *et al.* 2006a, Caldeira *et al.* 2017), os resultados obtidos sugerem que as aguardentes envelhecidas em madeira de castanheiro apresentaram-se com características de maior envelhecimento do que as aguardentes envelhecidas em madeira de carvalho Limousin.

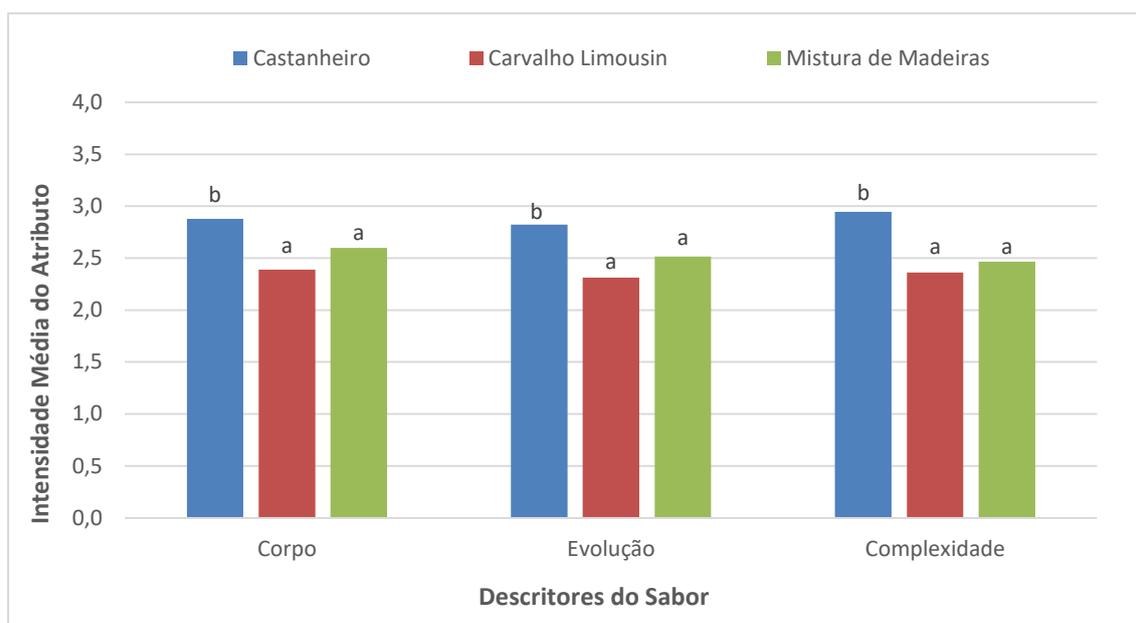


Figura 19. Valores médios (do teste de comparação de média) dos atributos do sabor nas aguardentes envelhecidas em diferentes madeiras

No que respeita ao efeito do factor madeira sobre as apreciações de aroma, sabor e geral das aguardentes, (Figura 20) destaca-se a madeira de castanheiro, cujas aguardentes nela envelhecidas tiveram maior intensidade média, distinguindo-se significativamente das madeiras de mistura e de carvalho Limousin, que por sua vez, não diferiram significativamente entre si.

Os resultados obtidos, onde se denota a prevalência das maiores intensidades dos descritores de aroma, sabor e geral nas aguardentes envelhecidas em madeira de castanheiro, encontram-se em concordância com os resultados relativamente aos atributos da cor, aroma e sabor, atributos esses correlacionados positivamente com a qualidade global das aguardentes (Caldeira *et al.*, 2006; Caldeira *et al.*, 2010), confirmando que a madeira de castanheiro fornece características que conferem mais rápida maturação às aguardentes.

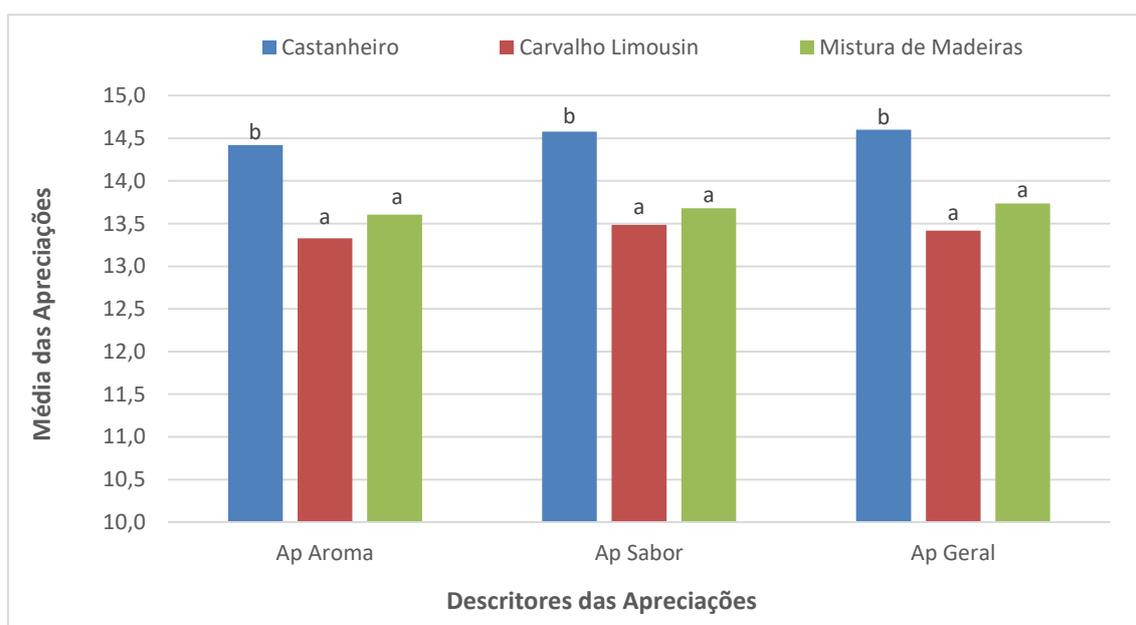


Figura 20. Valores médios (do teste de comparação de médias) dos atributos da apreciação nas aguardentes envelhecidas em diferentes madeiras

Relativamente às amostras de aguardente envelhecidas em mistura de madeiras, estas apresentam um perfil intermédio do ponto de vista dos descritores das apreciações, em congruência com os restantes descritores conducentes a essa apreciação, o que sugere a possibilidade do recurso a esta modalidade como meio de envelhecimento de aguardente pela cedência de características de lote.

4.1.3 Efeito da interacção sistema de envelhecimento-madeira no perfil sensorial das aguardentes

A interacção dos factores sistema de envelhecimento e madeira teve efeito significativo em 4 descritores de aroma apreciação de sabor e geral (Figura 21).

Relativamente aos descritores baunilha e caramelo, comparando as aguardentes envelhecidas em vasilha com as aguardentes envelhecidas em depósito foi possível verificar que o efeito da madeira foi atenuado nas aguardentes envelhecidas em depósito, que independentemente da madeira que esteve na origem do seu envelhecimento, não apresentou diferenças significativas.

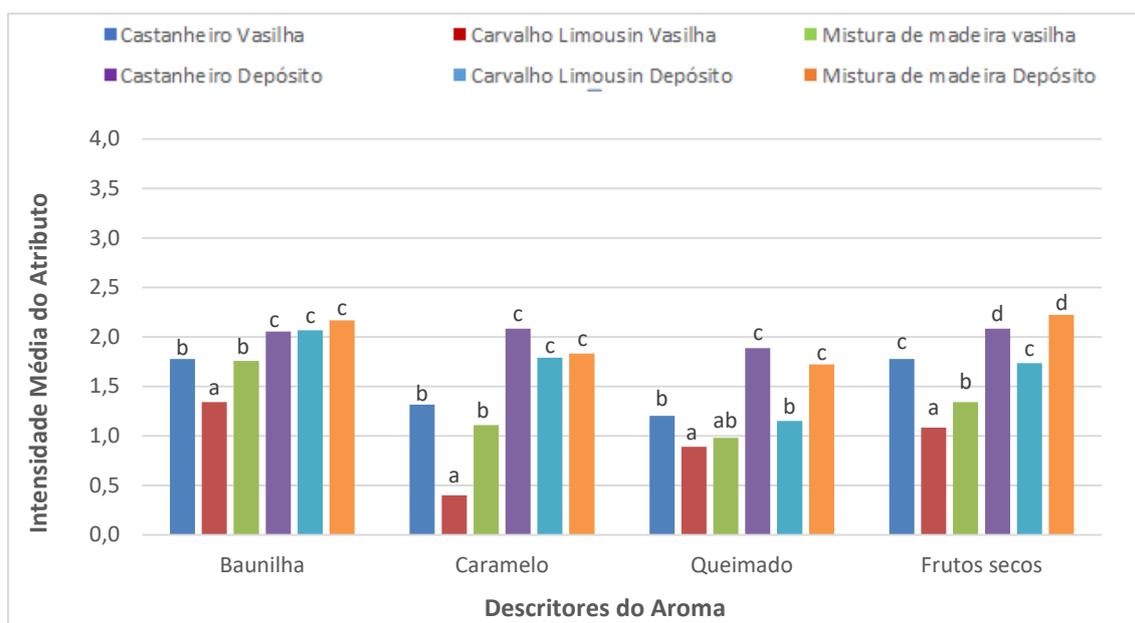


Figura 21. Valores médios da interacção do sistema de envelhecimento e madeira (do teste de comparação de média) dos atributos do aroma

Verifica-se que as intensidades dos descritores são significativamente diferentes entre as aguardentes envelhecidas em madeira de castanheiro e em madeira de carvalho Limousin. No sistema alternativo as intensidades destes descritores são significativamente mais elevadas não se distinguindo significativamente, no entanto, entre as aguardentes das duas diferentes madeiras e a mistura de madeiras.

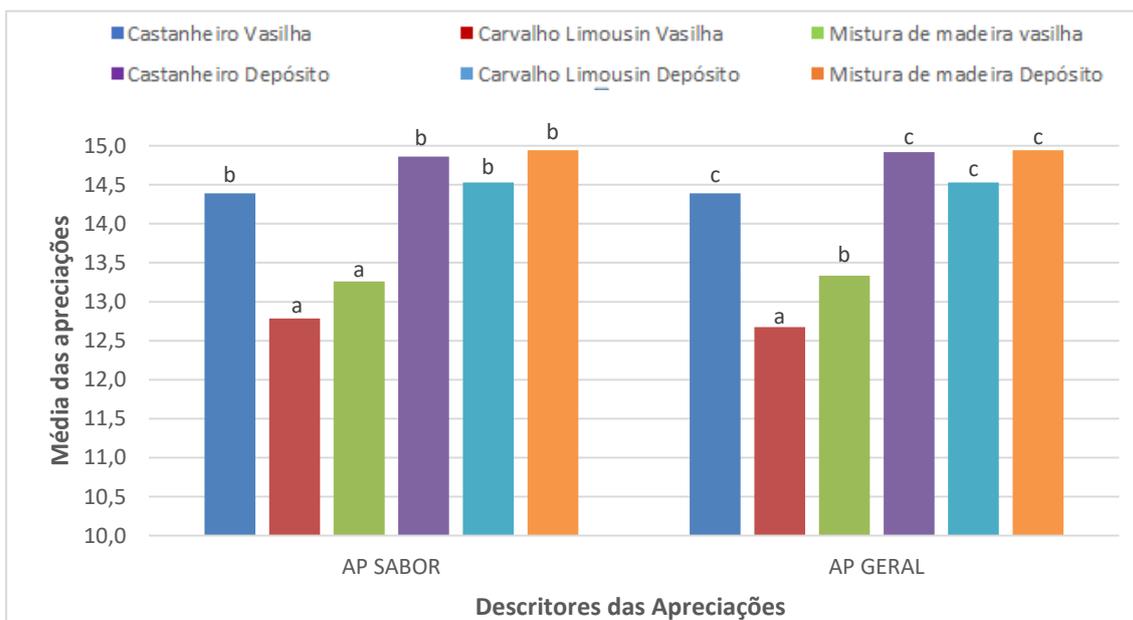


Figura 22. Valores médios da interação sistema de envelhecimento e madeira (do teste de comparação de média) dos atributos da apreciação

Relativamente à apreciação de sabor, (Figura 22) nas aguardentes envelhecidas em vasilha, verificaram-se diferenças significativas entre as aguardentes envelhecidas em madeira de carvalho Limousin e as aguardentes envelhecidas em mistura de madeiras em comparação às aguardentes envelhecidas em madeira de castanheiro, ao passo que nas aguardentes envelhecidas em depósito não houve diferenças significativas entre as aguardentes envelhecidas nas diferentes madeiras, nem entre estas e a aguardente envelhecida em vasilha de castanheiro

No que respeita à apreciação geral, (Figura 22) nas aguardentes envelhecidas em vasilha verificaram-se diferenças significativas entre as aguardentes envelhecidas nas diferentes madeiras ao passo que não se verificaram diferenças significativas nas aguardentes envelhecidas em diferentes madeiras nos depósitos, constatando-se ainda e à semelhança da apreciação de sabor, não existir diferenças significativas entre as aguardentes envelhecidas em depósito e a aguardente envelhecida em vasilha de castanheiro.

Verificou-se portanto que as diferenças existentes face às madeiras utilizadas no envelhecimento foram atenuadas quando se passou do sistema tradicional para o sistema alternativo.

Estes resultados sugerem que mais do que a madeira, também o sistema de envelhecimento tem um papel decisivo no envelhecimento, tendo-se observado a potenciação do efeito do

sistema alternativo em conjunto com a madeira de castanheiro, tal como no trabalho de Canas *et al.* (2019b).

4.2 Análise em componentes principais

A matriz dos resultados da análise sensorial composta pelas 14 aguardentes e os descritores sensoriais, excluindo os descritores de apreciação, nos quais se detectou efeitos significativos na ANOVA, foi submetida a uma análise em componentes principais. A projecção das amostras e dos descritores no plano definido pelos dois componentes principais é apresentada na Figura 23.

Através da análise de componentes principais, verificou-se a dispersão das 14 amostras de aguardente pelos dois primeiros componentes principais que reuniram 79,7% da variância total acumulada.

No primeiro componente, representando 74,26% da variância total, é possível distinguir-se o sistema de envelhecimento, com os atributos relacionados às aguardentes jovens (citrino, palha, dourado e herbáceo) a coincidir com o sistema de envelhecimento tradicional, situando-se do lado positivo deste eixo. Entre as aguardentes envelhecidas em vasilha, encontram-se as envelhecidas em madeira de castanheiro mais aproximadas ao sistema alternativo (mais evoluídas) enquanto as envelhecidas em carvalho Limousin se encontram mais distanciadas (menos evoluídas) e as aguardentes envelhecidas em mistura de madeiras apresentam um perfil sensorial intermédio. Do lado negativo do eixo e portanto junto aos descritores característicos de maior envelhecimento, encontram-se pela mesma ordem as aguardentes envelhecidas em sistema alternativo com madeira de castanheiro, as aguardentes envelhecidas em mistura de madeiras e as aguardentes envelhecidas em madeira de carvalho Limousin (estas as com menores características de envelhecimento).

O segundo componente, em muito menor escala, permite distinguir entre madeiras, embora esta diferença seja ténue dado o valor de apenas 3,44% da variância total. Deste modo encontram-se no lado positivo do eixo, tendencialmente as aguardentes envelhecidas em madeira de castanheiro e em mistura de madeiras, ao passo que as aguardentes envelhecidas em madeira de carvalho Limousin se encontram mais distanciadas, destacando-se a madeira de castanheiro em ambos os sistemas enquanto meio de obtenção de características de maior evolução nas aguardentes. A diferença entre réplicas dever-se-á à variabilidade da madeira

e/ou do processo de queima (Feuillat e Keller, 1997; Caldeira, 2004; Canas *et al.*, 2007; Canas *et al.*, 2019).

Estes resultados apresentam-se coerentes com a análise ANOVA, verificando-se o efeito significativo sobretudo do sistema de envelhecimento. Nos trabalhos realizados, (Caldeira *et al.*, 2010, 2013, 2017) à excepção do de Canas *et al.* (2019b), verificou-se destaque na espécie botânica sobre o sistema de envelhecimento no perfil sensorial das aguardentes envelhecidas. Verificou-se também no presente trabalho o efeito benéfico significativo da associação da madeira de castanheiro ao sistema de envelhecimento alternativo.

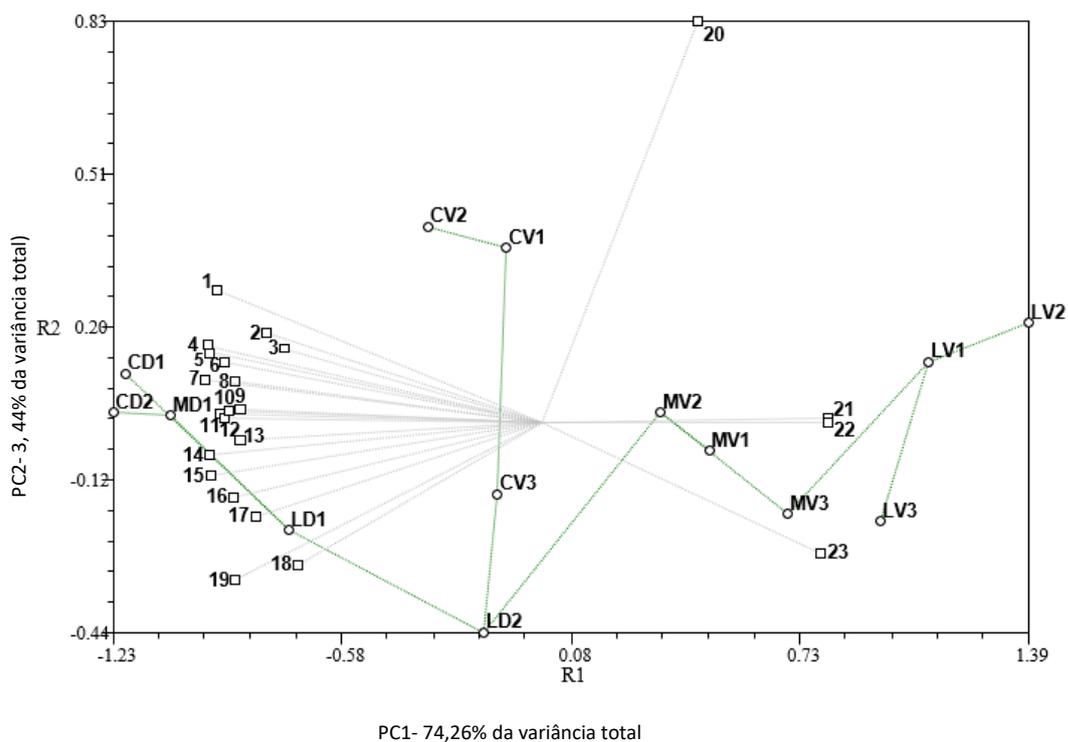


Figura 23. Representação gráfica das 14 amostras de aguardente e dos 23 descritores (1- corpo, 2-ranço bom; 3- adocicado; 4-topázio; 5-frutos secos; 6-esverdeado; 7-complexidade; 8-queimado; 9-persistência; 10-aroma de boca; 11-café; 12-untuosidade; 13-fumo; 14-caramelo; 15-evolução; 16-especiarias; 17-macio; 18-madeira; 19-baunilha; 20-herbácio; 21-citrino; 22-palha; 23-dourado) em relação aos dois componentes principais

4.3 Análise da composição volátil

De entre os principais compostos voláteis identificados, assinalam-se no cromatograma da Figura 24, os compostos odorantes quantificados neste trabalho.

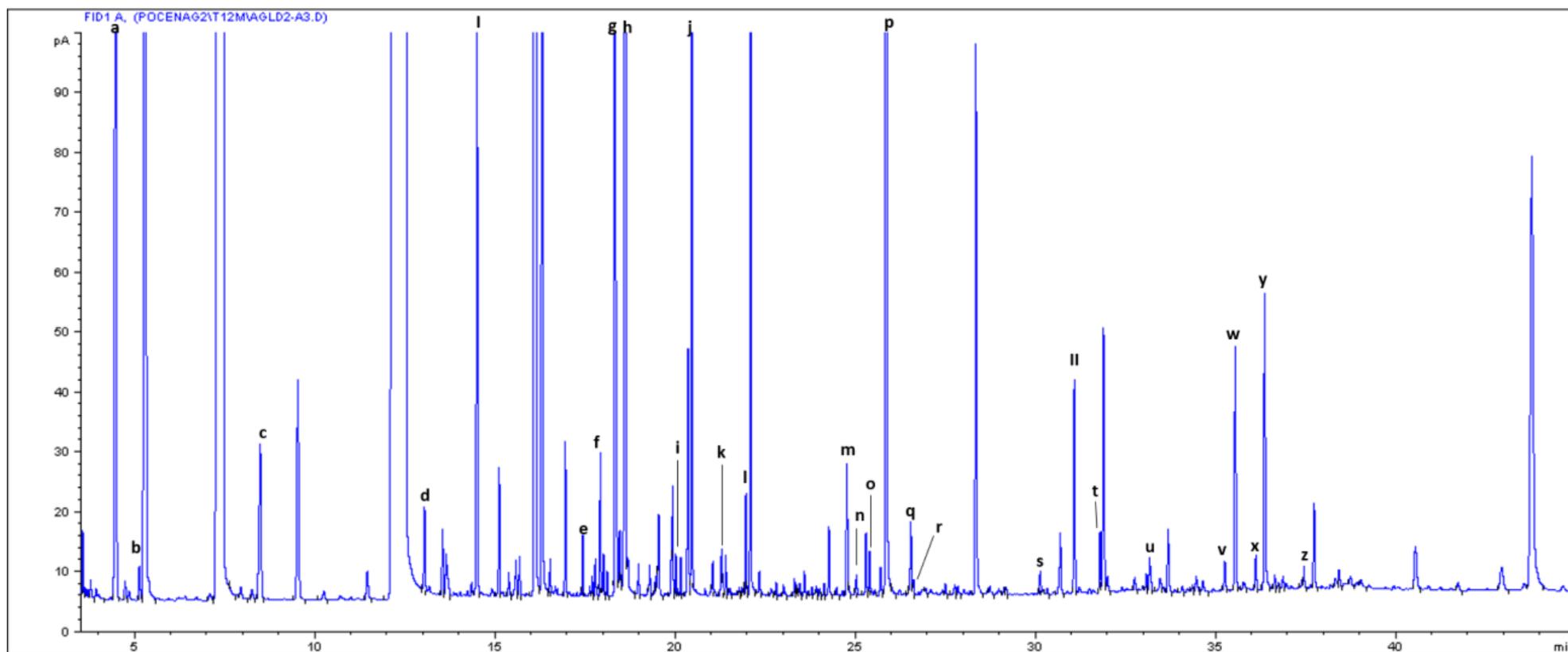


Figura 24. Cromatograma de um extracto de uma aguardente envelhecida em depósito de inox com aduelas de madeira de carvalho “Limousin” e Mox. Identificação dos compostos odorantes quantificados: a- acetato de isobutilo; b- butirato de etilo; c- acetato de isoamilo; d- hexanoato de etilo; e- trans-2-hexanol; f- octanoato de etilo; g- ácido acético; h- furfural; i- linalol; j- 5-metilfurfural; k- ácido butanóico; l- ácido isovalérico; m- ácido hexanóico; n- guaiacol; o- trans- β -metil- γ -octalactona; p- 2-feniletanol; q- cis- β -metil- γ -octalactona; r- 4-metilguaicol; s- eugenol; t- siringol; u- 4-metilsiringol; v- ácido dodecanóico; w- 5-HMF; x- 4- alilsiringol; y- vanilina; z- acetovanilona; I- P.I. (padrão interno)- 5-metil-2-hexanol; II- P.I. 3,4-dimetilfenol

Embora estejam identificados mais compostos por GC-MS, este trabalho apenas aborda os compostos relevantes do ponto de vista odorante, conforme resultados de trabalhos anteriores (Caldeira, 2004, Caldeira *et al.*, 2008).

Os isómeros “*trans*” e “*cis*” do composto β -metil- γ -octalactona não foram detectados nas aguardentes envelhecidas em madeira de castanheiro.

Os compostos voláteis foram quantificados por GC-FID, com base nas curvas de calibração estabelecidas para cada composto. Os resultados obtidos foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e quando se detectaram efeitos significativos dos factores em estudo, procedeu-se ao teste de comparação de médias, conforme se descreveu nos materiais e métodos.

O resumo dos resultados da ANOVA é apresentado no ANEXO III. Verificaram-se efeitos significativos do factor sistema de envelhecimento em 16 dos compostos analisados: acetato de isobutilo, linalol, ácido hexanóico, 2-feniletanol, ácido dodecanóico, furfural, 5-metilfurfural, guaiacol, *cis*- β -metil- γ -octalactona, 4-metilguaiacol, siringol, 4-metilsiringol, 5-hidroximetilfurfural, 4-alilsiringol, vanilina e acetovanilona. Relativamente ao factor madeira verificou-se um efeito significativo em 9 dos compostos voláteis: furfural, guaiacol, *cis*- β -metil- γ -octalactona, 4-metilguaiacol, eugenol, 4-metilsiringol, hidroximetilfurfural, vanilina e acetovanilona. Verificaram-se também efeitos significativos da interacção dos factores em 8 dos compostos voláteis: furfural, *cis*- β -metil- γ -octalactona, 4-metilguaiacol, eugenol, 4-metilsiringol, 4-alilsiringol, vanilina e acetovanilona.

4.3.1 Efeito do sistema de envelhecimento na composição volátil

Os ésteres, os compostos terpênicos, os álcoois e os ácidos são compostos provenientes do destilado (Caldeira *et al.*, 2004).

Relativamente aos compostos provenientes do destilado, em cujos teores se detectou efeitos significativos do sistema de envelhecimento, o resultado do teste de comparação de médias é apresentado no Figura 25. Apenas o acetato de isobutilo apresentou maior concentração nas aguardentes envelhecidas em depósito em comparação com as aguardentes envelhecidas em vasilha. Para os restantes compostos, linalol, ácido hexanoico, 2-feniletanol e ácido dodecanoico, verificou-se o contrário com maiores concentrações nas aguardentes envelhecidas em vasilha.

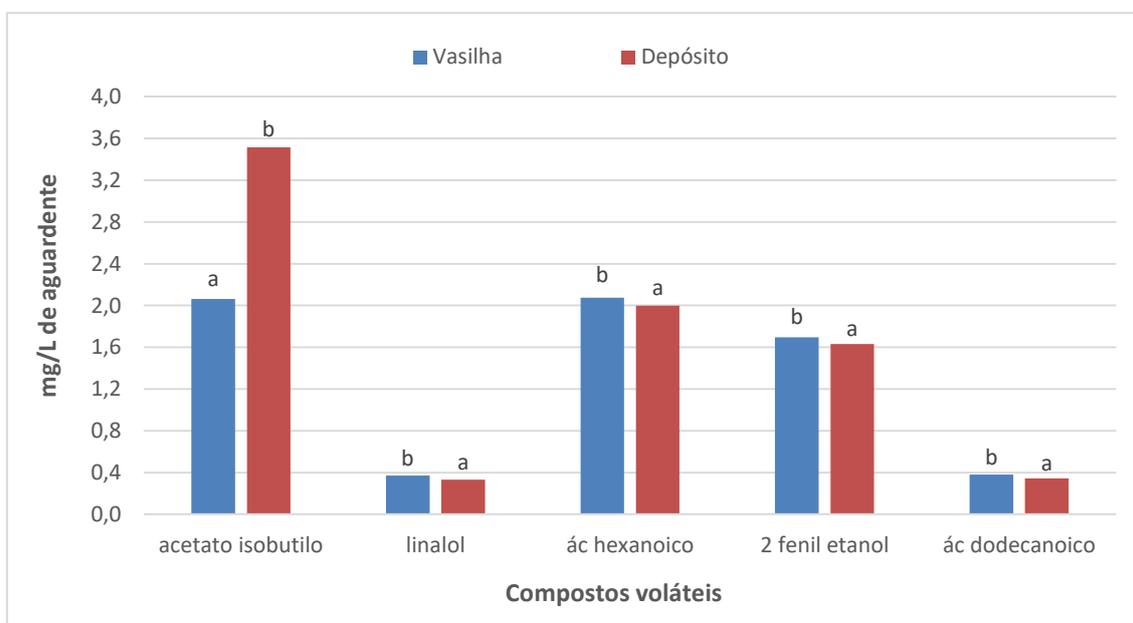


Figura 25. Influência significativa do sistema de envelhecimento nos compostos voláteis provenientes do destilado, 2-feniletanol /10

Os ésteres, entre os quais o acetato de isobutilo, provêm do destilado (Zhao *et al.*, 2014) e constituem compostos com importância aromática nos mesmos (Nykänen, 1986). Como tal, encontram-se nas aguardentes jovens (Caldeira *et al.*, 2010, 2016) associados ao descritor de aroma “frutado” (Caldeira *et al.*, 2008, 2010).

Em trabalhos anteriores, onde se compararam sistemas de envelhecimento, o acetato de isobutilo foi encontrado em maior concentração nas aguardentes envelhecidas em vasilha (Caldeira *et al.*, 2010, 2016). No presente trabalho este composto foi encontrado presente em

maior concentração nas aguardentes envelhecidas em depósito. Estes resultados podem dever-se por um lado, à concentração de ácido acético presente (Reazin, 1981) que devido a reacções de oxidação e esterificação contribui para incrementar o teor em ésteres (Caldeira *et al.*, 2016), ou por outro, à aplicação de micro-oxigenação, que pode ter favorecido a sua extracção (Belchior *et al.*, 2003) nos sistemas alternativos de envelhecimento.

À excepção do éster acetato de isobutilo, o composto terpénico linalol, os ácidos hexanóico e dodecanóico e o 2-feniletanol, responsáveis respectivamente pelos aromas a violetas, fumo, sabão e rosas (Caldeira, 2004) apresentaram teores mais elevados nas aguardentes envelhecidas em vasilha. Estes resultados podem dever-se à evaporação do álcool e subsequente concentração dos compostos voláteis que acontece em vasilha, pois neste sistema de envelhecimento a oxigenação depende muito da porosidade da madeira, pelo que é difícil de controlar (Niazi, 2017).

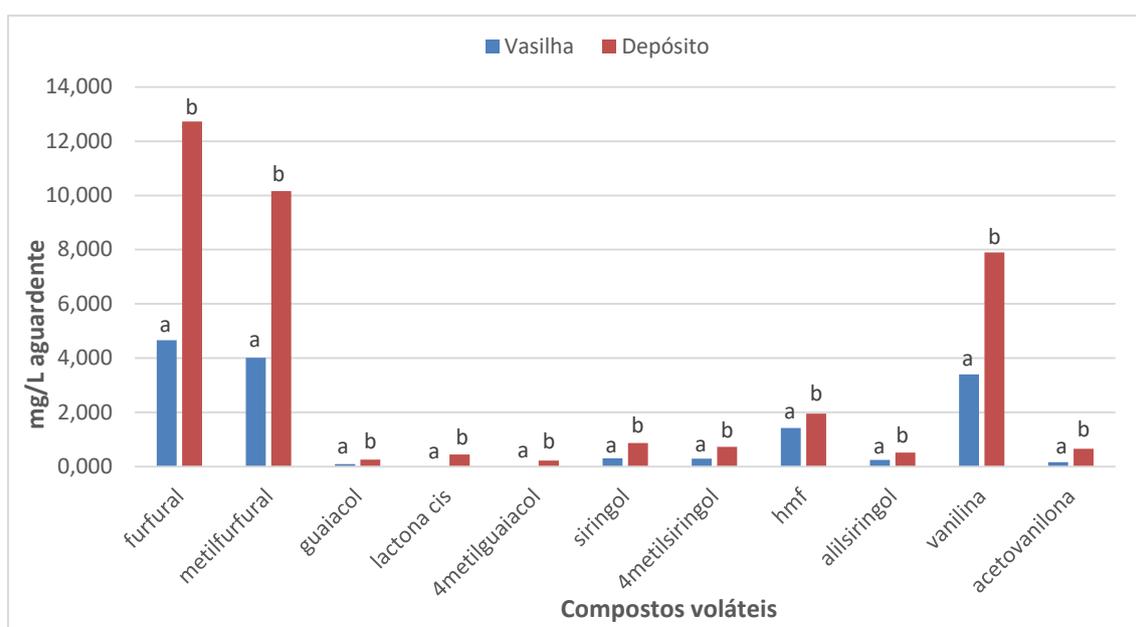


Figura 26. Influência significativa do sistema de envelhecimento nos compostos voláteis provenientes do envelhecimento, furfural e HMF/10

Relativamente aos compostos voláteis com origem na madeira, os resultados do teste de comparação de médias, são apresentados no Figura 26. Para todos os compostos as maiores concentrações foram encontradas nas aguardentes envelhecidas em depósito, com destaque para os maiores teores verificados nos compostos furfural, 5-metilfurfural e vanilina.

Os compostos metilfurfural, 5-HMF e furfural pertencem à família dos aldeídos furânicos, derivando da degradação térmica das hemicelulose e da celulose da madeira embora o furfural também surja em consequência do processo de destilação (Caldeira *et al.*, 2010). Em trabalhos anteriores (Canas *et al.*, 2009; Caldeira *et al.*, 2010; Canas *et al.*, 2013; Caldeira *et al.*, 2016) verificou-se a maior concentração destes compostos nas aguardentes envelhecidas em vasilha. Os fenóis voláteis – guaiacol, 4-metilguaiacol, siringol, 4-metilsiringol, e 4-ailisiringol, relacionados com os descritores fumo, madeira, torrado (Caldeira *et al.*, 2008), derivados da degradação térmica da lenhina, apresentaram os seus maiores teores nas aguardentes envelhecidas em depósito, o que sugere ou que existem maiores teores de fenóis voláteis nas madeiras utilizadas no sistema alternativo ou que o sistema alternativo potencia a sua extracção. Em trabalhos anteriores já foi verificado semelhante comportamento (Caldeira *et al.*, 2010) e comportamento oposto (Caldeira *et al.*, 2016). Ainda relativamente a derivados da lenhina, a vanilina e acetovanilona, relacionadas com o descritor baunilha (Caldeira *et al.*, 2008) apresentaram os teores mais elevados nas aguardentes envelhecidas em depósito. No trabalho de Canas *et al.* (2013) e Canas *et al.* (2019) verificou-se também o incremento de vanilina em aguardente envelhecidas em sistema alternativo com aduelas. Relativamente ao isómero *cis* do composto β -metil- γ -octalactona cujo descritor é o côco, carvalho (Caldeira *et al.*, 2008) e é um composto extraível presente na madeira de carvalho, importante também para o aroma dos vinhos (Jordão, 2007), verificou-se o seu teor mais elevado nas aguardentes envelhecidas em depósito, contrariamente ao verificado nos trabalhos de Caldeira *et al.* (2010; 2016), onde os valores deste composto foram superiores nas aguardentes envelhecidas em vasilha. Estes resultados sugerem que neste caso a cinética de extracção tenha sido afectada pela micro-oxigenação e/ou que haja alguma variabilidade no processo de queima entre vasilhas e aduelas (Caldeira *et al.*, 2010).

4.3.2 Efeito da madeira na composição volátil

A madeira teve efeito significativo no teor de 9 compostos voláteis, apresentando-se na Figura 27 o resultado do teste de comparação de médias. A maior concentração dos compostos furfural e 5-HMF, seguidos pela vanilina, verifica-se nas aguardentes envelhecidas em madeira de castanheiro. As aguardentes envelhecidas em madeira de castanheiro apresentaram efeitos significativos nos compostos furfural, guaiacol, 4-metilsiringol, vanilina e acetovanilona, contrariamente às aguardentes envelhecidas nas madeiras de carvalho Limousin e mistura,

que não apresentaram diferenças estatísticas relativamente a estes compostos. Para a cis- β -metil- γ -octalactona existe diferença significativa entre as aguardentes envelhecidas em madeira de castanheiro e mistura e as aguardentes envelhecidas em madeira de carvalho Limousin.

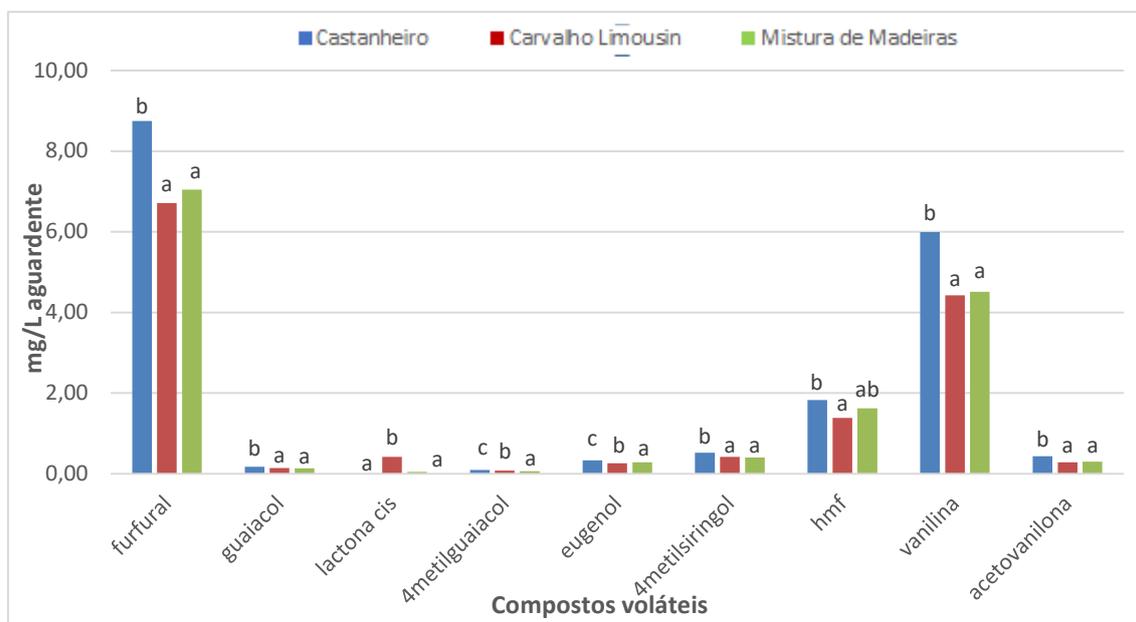


Figura 27. Influência significativa da madeira utilizada no envelhecimento nos compostos voláteis provenientes do envelhecimento; furfural e HMF /10

Para o 4-metilguaiacol existem diferenças significativas entre as aguardentes envelhecidas em cada uma das três modalidades de madeira, com o maior valor para as aguardentes envelhecidas em madeira de castanheiro e o menor para as aguardentes envelhecidas em madeira de Limousin. Para o composto eugenol, existem diferenças significativas entre as aguardentes envelhecidas em cada uma das três madeiras; para o HMF, relativamente às aguardentes envelhecidas em mistura de madeiras, estas não diferem significativamente nem das aguardentes envelhecidas em madeira de castanheiro nem das aguardentes envelhecidas em madeira de carvalho Limousin.

As aguardentes envelhecidas em madeira de castanheiro apresentam-se significativamente distintas das demais no que aos compostos furfural, guaiacol, 4-metilguaiacol, eugenol, 4-metilsiringol, HMF, vanilina e acetovanilona, diz respeito, ocorrendo nas aguardentes envelhecidas nessa madeira os teores mais elevados. Tal como esperado, não se verificou a presença do composto cis- β -metil- γ -octalactona nas aguardentes envelhecidas em madeira de

castanheiro, verificando-se a sua presença nas aguardentes envelhecidas em carvalho Limousin e em menor teores nas aguardentes envelhecidas em mistura de madeiras.

Os resultados obtidos sugerem que a madeira de castanheiro imprime maior diferenciação e características de envelhecimento à aguardente, devido ao impacto odorante conferido pelos fenóis voláteis guaiacol, 4-metilguaiacol, eugenol, 4-metilsiringol, bem como pelos aldeídos furânicos furfural e 5-HMF e pelo aldeído fenólico vanilina, característico de bebidas alcoólicas envelhecidas (Cabrita *et al.*, 2012), talvez devido à maior porosidade da madeira de castanheiro quando comparada com a da madeira de carvalho, o que poderá facilitar a extracção destes compostos para a aguardente.

O composto vanilina, correlacionado com o atributo baunilha (Caldeira *et al.*, 2008), evidencia-se mais nas aguardentes envelhecidas em madeira de castanheiro, embora o atributo sensorial não tenha sido significativamente distinto entre aguardentes envelhecidas em madeira de castanheiro e em madeira de mistura, o que pode ter acontecido devido à interacção entre os compostos voláteis (Louw e Lambrechts, 2012).

Considerando que estes compostos vêm as suas concentrações incrementadas com o tempo de envelhecimento, à excepção da cis- β -metil- γ -octalactona (cuja concentração é superior nas aguardentes envelhecidas em madeira de carvalho Limousin), e pelo potencial odorante que comportam, verifica-se que as aguardentes envelhecidas em madeira de castanheiro apresentam um perfil de compostos voláteis mais rico em compostos extraíveis da madeira, à semelhança dos resultados obtidos na análise sensorial.

As aguardentes envelhecidas em madeira de mistura apresentam genericamente teores intermédios dos compostos voláteis considerados.

4.3.3 Efeito da interacção do sistema de envelhecimento-madeira na composição volátil

A interacção sistema-madeira influenciou em 8 dos compostos voláteis, denotando-se a maior concentração destes para o composto furfural, seguido pela vanilina (Figura 28).

Verificou-se que as concentrações do aldeído furânico (furfural), da lactona (isómero cis), dos fenóis voláteis (4-metilguaiacol, 4-metilsiringol, 4-alilsiringol), da vanilina e da acetovanilona foram significativamente diferentes entre sistemas de envelhecimento. O composto eugenol, cuja concentração foi superior nas aguardentes envelhecidas em vasilha de castanheiro,

apresenta assim comportamento distinto dos demais, em concordância com o trabalho de Caldeira *et al.*, (2016). Os compostos cis- β -metil- γ -octalactona e acetovanilona, mais elevados e significativamente distintos nas aguardentes envelhecidas em depósito, contrariamente ao verificado anteriormente (Caldeira *et al.*, 2016) sugerem que os mecanismos de extracção destes compostos são afectados pelo teor de oxigénio e/ou levantam a hipótese de que haja variabilidade no processo de queima entre vasilha e alternativos (Caldeira *et al.*, 2013).

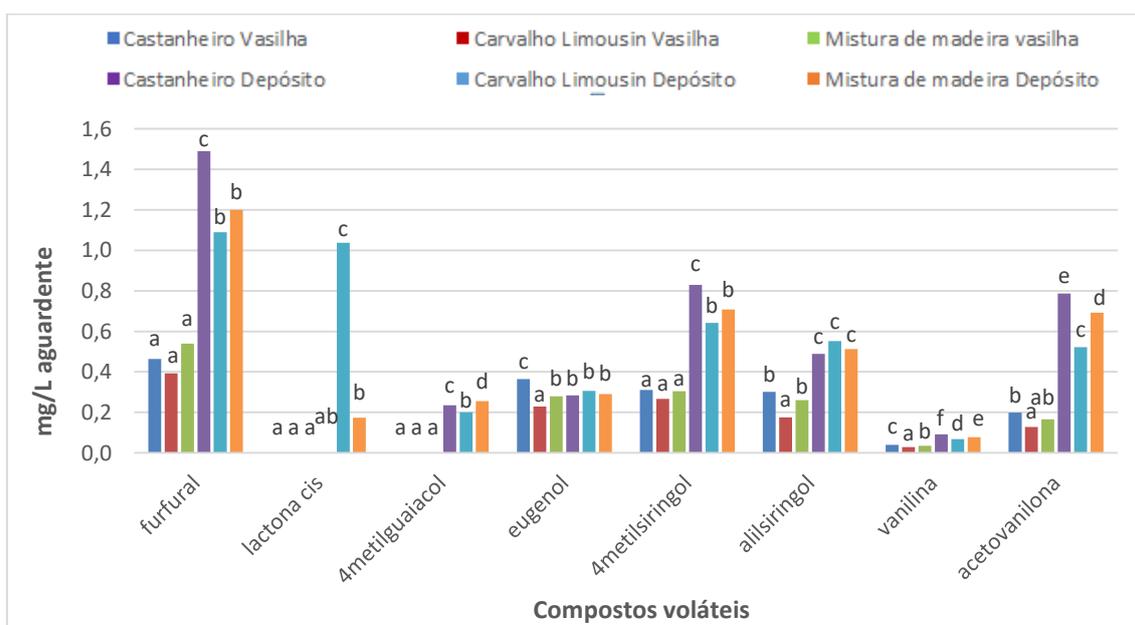


Figura 28. Influência significativa da interacção sistema de envelhecimento-madeira nos compostos voláteis provenientes do envelhecimento furfural e vanilina /100

Os resultados sugerem maior influência do sistema de envelhecimento do que da madeira na concentração dos compostos voláteis presentes nas aguardentes envelhecidas.

Relativamente à vanilina, todas as modalidades de envelhecimento tiveram diferenças estatísticas significativas, registando-se a maior concentração deste composto nas aguardentes envelhecidas em madeira de castanheiro em depósito, e a sua menor concentração nas aguardentes envelhecidas em vasilha de carvalho Limousin, à semelhança do observado no trabalho de Canas *et al.* (2019b).

4.4 Análise em componentes principais

A matriz dos resultados dos compostos voláteis determinados nas 14 aguardentes nos quais se detectaram efeitos significativos na análise ANOVA, foi submetida a uma análise em componentes principais.

A projecção das 14 amostras de aguardente no plano constituído pelos dois primeiros componentes principais que reuniram cerca 79% da variância total acumulada, é apresentada na Figura 29.

O primeiro componente representa 66,23% da variância total e permite distinguir claramente os sistemas de envelhecimento, com as amostras de aguardentes envelhecidas em depósito a situarem-se do lado positivo do eixo e entre estas destacam-se as amostras de aguardente envelhecidas em madeira de castanheiro. A coincidir com a localização destas amostras encontram-se os compostos voláteis provenientes da madeira, que são responsáveis pela capacidade odorante percebida como característica das aguardentes mais evoluídas, em concordância com a análise sensorial. No extremo oposto, e em congruência com a análise sensorial encontram-se as amostras de aguardente envelhecida em vasilha de carvalho Limousin, e em contraste com a análise sensorial, as amostras de aguardente envelhecida em vasilha que mais se aproximam das amostras envelhecidas em depósito, foram as amostras de aguardente envelhecidas em vasilha com mistura de madeiras.

O segundo componente permite distinguir pouco claramente entre as modalidades de madeira utilizadas no envelhecimento das aguardentes, uma vez que comportou somente 12,59% da variância total. Ainda assim, verifica-se nas amostras de aguardente envelhecidas em vasilha a tendência da influência da madeira de castanheiro, seguida da mistura de madeiras e posteriormente da madeira de carvalho Limousin, em concordância com o verificado na análise sensorial. Já nas amostras de aguardente envelhecidas em depósito, a tendência da distribuição das aguardentes envelhecidas com as diferentes modalidades de madeira difere do observado na análise sensorial, posicionando-se primeiramente as amostras de aguardente envelhecidas em mistura de madeiras, seguidas das amostras de aguardente envelhecidas em madeira de castanheiro e posteriormente pelas amostras de aguardente envelhecidas em madeira de carvalho Limousin.

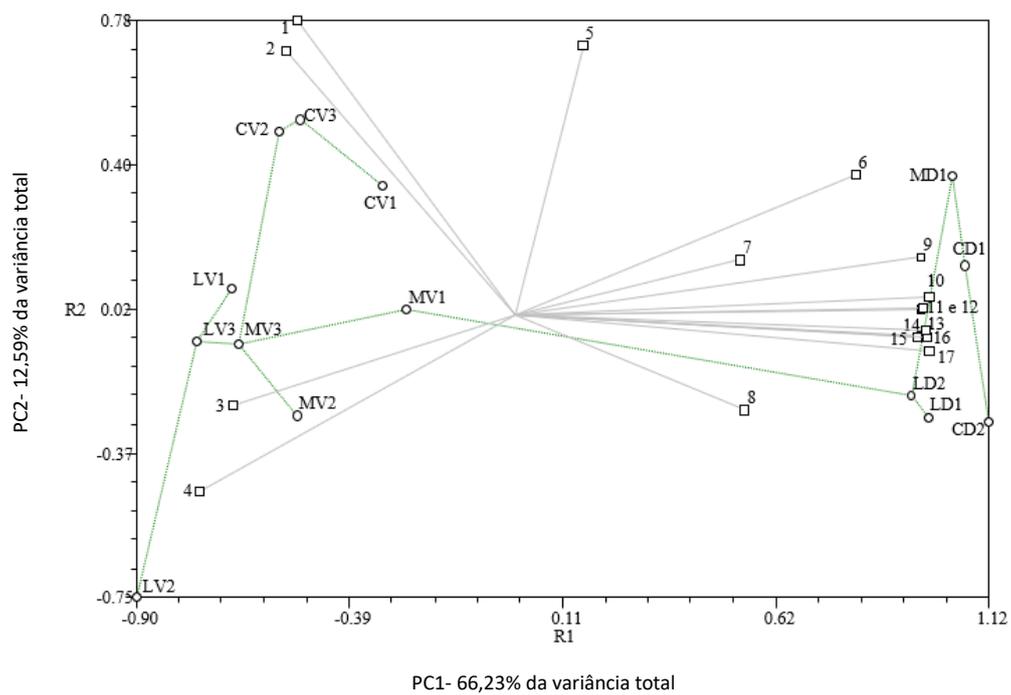


Figura 29. Representação gráfica das 14 amostras de aguardente e dos 17 compostos voláteis (1-2-feniletanol; 2-ácido hexanóico; 3-linalol; 4-ácido dodecanóico; 5-eugenol; 6-hmf; 7-acetato de isobutilo; 8-lactona cis; 9-4-alilsiringol; 10-guaiacol; 11-vanilina; 12-acetovanilona; 13-furfural; 14-5-metilfurfural; 15-4-metilguaiaicol; 16-4-metilsiringol; 17-siringol) em relação aos dois componentes principais.

5. CONCLUSÕES

O presente trabalho pretendeu comparar, à escala industrial, a influência do sistema de envelhecimento bem como das madeiras de castanheiro (*Castanea sativa* Mill.) e carvalho Limousin (*Quercus robur* sp.) no perfil de compostos odorantes e nas características sensoriais de uma mesma aguardente vínica Lourinhã. Para o efeito, recorreu-se a análise sensorial descritiva e a análise da composição volátil por cromatografia gás líquido e espectrometria de massa.

Embora existam diversos estudos acerca da comparação do efeito do sistema de envelhecimento e de madeiras utilizadas, este trabalho advém do primeiro estudo em que se utilizou micro-oxigenação controlada e constitui o primeiro estudo publicado em que se estudou a influência da mistura de madeiras e em ambos os casos se verificou ao final de um ano os efeitos sobre o perfil sensorial e sobre o perfil de compostos voláteis.

Nas condições de trabalho pode concluir-se que: a metodologia proposta serviu o propósito do estudo e uma vez mais prova-se a capacidade de detecção de uma vasta gama de compostos voláteis; o sistema de envelhecimento foi mais discriminante quer no perfil sensorial, quer no perfil volátil das aguardentes, do que o factor madeira. Entre os sistemas de envelhecimento verificou-se que o sistema alternativo contribui para, no mesmo tempo de envelhecimento, incrementar maiores características de envelhecimento nas aguardentes do que o sistema tradicional. Relativamente à madeira utilizada no processo de envelhecimento, destacou-se a madeira de castanheiro, contribuindo de igual modo para conferir maiores características de envelhecimento. Os resultados de maiores características de envelhecimento das aguardentes foram obtidos nas aguardentes envelhecidas em depósito com introdução de madeira de castanheiro, o que terá sido potenciado pela micro-oxigenação. Esta técnica terá potenciado a maior evolução dos parâmetros de cor, aroma e sabor nos sistemas alternativos. Estes resultados, em congruência com os obtidos por Canas *et al.* (2019b) vêm reforçar não só a potencialidade da madeira de castanheiro no envelhecimento de aguardentes vínicas como sustentar a possibilidade de proceder ao processo de envelhecimento recorrendo a sistema alternativo, com as óbvias reduções de custos e tempo e aumento da sustentabilidade.

Em trabalhos anteriores (Caldeira *et al.*, 2010; Caldeira *et al.*, 2013), sem recurso à tecnologia de micro-oxigenação, não houve discriminação do sistema de envelhecimento na análise sensorial mas houve-o na composição volátil. Neste estudo, verificou-se elevada discriminação do sistema de envelhecimento em ambas as análises. Tal facto sugere que a micro-oxigenação

ajuda a mimetizar melhor o processo que ocorre em vasilha, ou que inclusive consegue ultrapassar o que acontece em vasilha, na medida em que incrementa a concentração de compostos, possibilitando a sua detecção por parte do painel de provadores.

Relativamente à modalidade de mistura das madeiras utilizada, e pelo perfil sensorial e volátil de “lote” que as aguardentes que em contacto com aquelas envelheceram apresentaram, esta modalidade poder-se-á constituir como uma opção para a indústria.

A comparação entre ambas as análises de componentes principais revela alguma coincidência na distribuição das amostras aos níveis sensorial e da composição volátil, mostrando a importância odorante dos compostos identificados. Todavia, a coincidência pouco provavelmente poderia ser absoluta dadas as possíveis interações ocorridas entre os compostos voláteis, que em conjunto podem fornecer aromas distintos de quando isolados.

Será pertinente continuar a investigar os efeitos da micro-oxigenação ao nível do perfil sensorial e da composição volátil das aguardentes dando relevância à interação dos compostos e sua cinética de extração. Poder-se-ia também investigar quais as repercussões de um estágio em garrafa após o seu envelhecimento nas condições deste ensaio, à semelhança do realizado em vinhos tintos (Del Álamo *et al.* 2008).

6. BIBLIOGRAFIA

Alañon, M.E., Castro-Vázquez, L., Díaz-Maroto, M.C., Pérez-Coello, M.S. (2012). Aromatic potential of *Castanea sativa* Mill. Compared to *Quercus* species to be used in cooperage. *Food Chemistry*, **130**: 875-881.

Alañon, M.E., Schumacher, R., Castro-Vázquez, L., Díaz-Maroto, I.J., Díaz-Maroto, M.C., Pérez-Coelho, M.S. (2013). Enological potential of chestnut wood for aging Tempranillo wines part I: Volatile compounds and sensorial properties. *Food Research International*, **51**: 325-334.

Baldovini, N., e Filippi, J. J. (2017). *Natural Fragrant Raw Materials*. In Springer Handbook of Odor (pp. 39-41). Springer, Cham.

Belchior, A.P., Caldeira, I., Canas, S. (1996). Apontamentos do curso de prova organoléptica de aguardentes. Instituto Nacional de Investigação Agrária – Estação Vitivinícola Nacional Dois Portos

Belchior, A.P., Caldeira, I., Costa, S., Lopes, C., Tralhão, G., Ferrão, A.F.M., Mateus, A.M., Carvalho, E. (2001). Evolução das características físico-químicas e organolépticas de aguardentes Lourinhã ao longo de cinco anos de envelhecimento em madeiras de carvalho e de castanheiro. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, **16**: 81-94.

Belchior, A.P., Almeida, T.G.T., Mateus, A.M., Canas, S. (2003). Ensaio laboratorial sobre a cinética de extracção de compostos de baixa massa molecular da madeira pela aguardente. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, **18**: 29-41.

Belchior, A.P., Mateus, A.M., Soares, A.M. (2005). Comparação do envelhecimento de aguardente Lourinhã em vasilhas de madeira de castanheiro e de carvalho e em dois volumes *Ciência e Técnica Vitivinícola*, **20**: 91-103.

Belcior, A. P., Canas, S., Caldeira, I., e Carvalho, E. (2015). *Aguardentes vinícolas. Tecnologias de produção e envelhecimento, Controlo de Qualidade*. Publindústria, Edições Técnicas, Porto, Portugal.

Berger, R. G. (Ed.). (2007). *Flavours and fragrances: chemistry, bioprocessing and sustainability*. Springer Science & Business Media, Berlin Heidelberg, Germany.

Berk, Z. (2018). Distillation. In Food process engineering and technology (third edition). Food Science and Technology, pp 329-351. Elsevier Inc. Amsterdam. Netherland.

- Biniecka, M., Caroli, S. (2011). Analytical methods for the quantification of volatile aromatic compounds. *Trends in Analytical Chemistry*, **30**: 1756-1769.
- Boidron, J.N., Chatonnet, P., Pons, M. (1988). Influence du bois sur certaines substances odorantes des vins. *Connaissance Vigne Vin*, **22**: 275-294.
- Bronze, M. R., Vilas Boas, L.F. (1998). Characterisation of brandies and wood extracts by capillary electrophoresis. *Analisis*, **26**: 40-47.
- Cabrita, M.J. e Pinheiro, C. (2010). Apontamento de Análise Sensorial. Mestrado em Viticultura e Enologia, Évora
- Cabrita, M.J.B., Garcia, R., Martins, N., Gomes da Silva, M.D.R., Freitas, A.M.C., (2012). Gas Chromatography in the Analysis of Compounds Released from Wood into Wine, *Advanced Gas Chromatography - Progress in Agricultural, Biomedical and Industrial Applications*, Dr. Mustafa Ali Mohd (Ed.), ISBN: 978-953-51-0298-4, InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/advanced-gaschromatography-progress-in-agricultural-biomedical-and-industrial-applications/gas-chromatography-inanalysis-of-compounds-released-from-wood-into-wine>
- Caldeira I.; Canas S.; Costa S.; Lopes C.; Carvalho E.; Belchior A.P. (1998). Influence de l'origine du bois et de la technologie de fabrication des fûts sur la qualité des eaux-de-vie Lourinhã pendant le vieillissement. *L'Oenologie de l'Avenir et la Qualité de Vie. OIV. XXIII Congrès Mondial de la Vigne et du Vin*. p. 528-532.
- Caldeira, I.; Canas, S.; Costa, S.; Carvalho, E.; Belchior, A.P. (1999). Formação de uma câmara de prova organoléptica de aguardentes velhas e selecção de descritores sensoriais. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, **14**: 21-30.
- Caldeira, I., Belchior, A.P., Clímaco, M.C., Bruno de Sousa, R. (2002). Aroma profile of portuguese brandies aged in chestnut and oak woods. *Analytica Chimica Acta*, **458**: 55-62.
- Caldeira, I., Pereira, R., Clímaco, M.C., Belchior, A.P., Bruno de Sousa, R. (2004). Improved method for extraction of aroma compounds in aged brandies and aqueous alcoholic wood extracts using ultrasound. *Analytica Chimica Acta*, **513**: 125–134.
- Caldeira, I. (2004). *O aroma de aguardentes víquicas envelhecidas em madeira. Importância da tecnologia de tanoaria*. Dissertação de Doutoramento em Engenharia Agro-Industrial, Instituto Superior de Agronomia - Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa.p. 238.

Caldeira, I., Mateus, A. M., e Belchior, A. P. (2006a). Flavour and odour profile modifications during the first five years of Lourinhã brandy maturation on different wooden barrels. *Analytica Chimica Acta*, **563**: 264-273.

Caldeira, I., Clímaco, M.C., Sousa, R.B., Belchior, A.P. (2006b). Volatile composition of oak and chestnut woods used in brandy ageing: modification induced by heat treatment, *Journal of Food Engineering*, **76**: 202-211.

Caldeira, I., Bruno de Sousa, R., Belchior, A.P., e Clímaco, M.C. (2008). A sensory and chemical approach to the aroma of wooden aged Lourinhã wine brandy. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, **23**: 97-110.

Caldeira, I., Anjos, O., Portal, V., e Canas, S. (2009). Envelhecimento acelerado de aguardentes víquicas na presença de fragmentos de madeira. Influência nos compostos odorantes. *9º Encontro de Química dos Alimentos*, 115-116.

Caldeira, I., Anjos, O., Portal, V., Belchior, A.P., Canas, S. (2010). Sensory and chemical modifications of wine-brandy aged with chestnut and oak wood fragments in comparison to wooden barrels. *Analytica Chimica Acta*, **660**: 43-52.

Caldeira, I., Belchior, A.P., Canas, S. (2013). Effect of alternative ageing systems on the wine brandy sensory profile. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, **28**: 09-18.

Caldeira, I., Santos, R., Ricardo-da-Silva, J.M., Anjos, O., Mira, H., Belchior, A.P., Canas, S. (2016). Kinetics of odorant compounds in wine brandies aged in different systems. *Food Chemistry*, **211**: 937-946.

Caldeira, I., Anjos, O., Belchior, A.P., Canas, S. (2017). Sensory impact of alternative ageing technology for the production of wine brandies. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, **32**: 12-22.

Câmara, J. S., Alves, M. A., & Marques, J. C. (2006). Multivariate analysis for the classification and differentiation of Madeira wines according to main grape varieties. *Talanta*, **68**: 1512-1521.

Canas, S., Leandro, M.C., Spranger, M.I., Belchior, A.P. (1999). Low molecular weight organic compounds of chestnut wood (*Castanea sativa* L.) and corresponding aged brandies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **47**: 5023-5030.

Canas S., Grazina N., Belchior A.P., Spranger, M.I., Bruno de Sousa R., (2000a). Modelisation of heat treatment of portuguese oak wood (*Quercus pyrenaica* L.). Analysis of the behaviour of low molecular weight phenolic compounds. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, **15**: 75-94.

Canas, S., Belchior, A. P., Caldeira, I., Spranger, M. I., & Bruno de Sousa, R. (2000b). Évolution de la couleur des eaux-de-vie de Lourinhã au cours des trois premières années de vieillissement. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, **15**: 1-14.

Canas, S., Belchior, A.P., Mateus, A. M., Spranger, M. I., Bruno-de-Sousa, R. (2002). Kinetics of impregnation/evaporation and release of phenolic compounds from wood to brandy in experimental model. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, **17**: 1-14.

Canas, S. (2003). *Estudo dos compostos extraíveis das madeiras (carvalho e castanheiro) e dos processos de extração na perspectiva do envelhecimento em enologia*. Dissertação de Doutoramento em Engenharia Agro-Industrial, Instituto Superior de Agronomia - Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa. p.302.

Canas, S., Belchior, A. P., Falcão, A., Gonçalves, J. A., Spranger, M. I., & Bruno-de-Sousa, R. (2007). Effect of heat treatment on the thermal and chemical modifications of oak and chestnut wood used in brandy ageing. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, **22**: 5-14.

Canas, S., Caldeira, I., Belchior, A.P. (2009). Comparison of alternative systems for the ageing of wine brandy. Oxygenation and wood shape effect. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, **24**: 33-40.

Canas, S. (2012). Potencialidades da madeira de castanheiro para o envelhecimento de aguardentes vnicas. *Enologia*, p.18-23.

Canas, S.; Caldeira, I.; Belchior, A. P. (2013). Extraction/oxidation kinetics of low molecular weight compounds in wine brandy resulting from different ageing technologies. *Food Chemistry*, **138**: 2460-2467.

Canas, S., Caldeira, I., Anjos, O., Lino, J., Soares, A., Belchior, A.P. (2016). Physicochemical and sensory evaluation of wine brandies aged using oak and chestnut wood simultaneously in wooden barrels and in stainless steel tanks with staves. *International Journal of Food Science and Technology*, **51**: 2537-2545.

Canas, S., Caldeira, I., Belchior, A.P., Spranger, M.I., Bruno de Sousa, R. (2019a). Madeiras utilizadas no envelhecimento de aguardente vnica. *Enovitis*, **55**: 26-30.

Canas, S., Caldeira, I., Anjos, O., Belchior, A.P. (2019b). Phenolic profile and colour acquired by the wine spirit in the beginning of ageing: Alternative technology using micro-oxygenation vs traditional technology. *Food Science and Technology*, **111**: 260-269.

Cano-López, M., López-Roca, J.M., Pardo-Minguez, F., Gómez-Plaza, E. (2010). Oak barrel maturation vs. micro-oxygenation: effect on the formation of anthocyanin derived pigments and wine colour. *Food Chemistry*, **119**: 191-195.

Cardoso, A. B. (2005). Os mercadores ingleses do Porto e os mercadores do atlântico e mediterrânico (séc XVIII). In *Actas dos VIII Congresso da Asociación Española de Historia Económica*, Santiago de Compostela.

Carmo, J.L. (2018). *Manual de boas práticas em análise sensorial*. Dissertação de Mestrado em qualidade e tecnologia alimentar. Instituto Politécnico de Viseu, Escola Superior Agrária de Viseu, p.101.

Cejudo-Bastante, M.J., Hermosín-Gutiérrez, I., Pérez-Coello, M.S. 2011. Micro-oxygenation and oak chip treatments of red wines: Effects on colour-related phenolics volatile composition and sensory characteristics Part I: Petit Verdot wines. *Food Chemistry*, **124**: 727-737.

Chatonnet, P., Boidron, J.-N., & Pons, M. (1989). Incidence du traitement thermique du bois de chêne sur sa composition chimique. 2e partie : évolution de certains composés en fonction de l'intensité de brûlage. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, **23**: 223-250.

Chatonnet, P., Dubourdieu, D. (1998). Comparative Study of the Characteristics of American White Oak (*Quercus alba*) and European Oak (*Quercus petraea* and *Q. robur*) for Production of Barrels Used in Barrel Aging of Wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, **49**: 79-85.

Codex OIV - International Code of Oenological Practices, 2019/01 I.1.7-6. International Organisation of Vine and Wine. Paris. France.

Coldea, T.E., Mudura, E., Socaciu, C. (2017). Advances in distilled beverages authenticity and quality testing. Ideas and Applications Toward Sample Preparation for Food and Beverage Analysis, 109. InTech
https://books.google.pt/books?hl=en&lr=&id=69CPDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA109&dq=Advances+in+Distilled+Beverages+Authenticity+and+Quality+Testing&ots=7X9KI3JjgS&sig=H8r-29YZTPuBPbyH5WAVnbnrHqml&redir_esc=y#v=onepage&q=Advances%20in%20Distilled%20Beverages%20Authenticity%20and%20Quality%20Testing&f=false.

Corrêa, P., (1996). *Influência de tecnologias de acabamento no aroma de vinhos brancos*. Dissertação de Mestrado em Viticultura e Enologia. Universidade Técnica de Lisboa - Universidade do Porto.

Das Neves, H.J.C. *Introdução à prática da cromatografia gás-líquido*. (1980). Universidade Nova de Lisboa. Faculdade de Ciências e Tecnologia. Lisboa. Portugal

Decreto Lei nº 34 de 7 de Março de (1992). Estabelece a Região Demarcada de Aguardente Vínica de Qualidade com Denominação de Origem Controlada "Lourinhã". *Diário da República, I Série-A, nº 56:1202-1203*.

Decreto Lei nº 323 de 29 de Dezembro de (1994). Aprova o Estatuto da Região Demarcada das Aguardentes Vínicas da Lourinhã. *Diário da República, I Série-A, nº 300:7486-7489*.

Del Álamo, M., Nevares, I., Gallego, L., Martín, C., & Merino, S. (2008). Aging markers from bottled red wine aged with chips, staves and barrels. *Analytica Chimica Acta*, **621**: 86-99.

Del Alamo-Sanza, M., Nevares, I. (2017). Oak wine barrel as an active vessel: A critical review of past and current knowledge. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **58**: 2711-2726.

Del Alamo-Sanza, M., Nevares, I., Martínez-Gil, A., Rubio-Bretón, P., Garde-Cerdán, T. (2019). Impact of long bottle aging (10 years) on volatile composition of red wines micro-oxygenated with oak alternatives. *Food Science and Technology*, **101**: 395-403.

Delgado-González, M.J., Sánchez-Guillén, M.M., García-Moreno, M.V., Rodríguez-Dodero, M.C., García-Barroso, C., Guillén-Sánchez, D.A. (2017). Study of a laboratory-scaled new method for the accelerated continuous ageing of wine spirits by applying ultrasound energy. *Ultrasonics Sonochemistry*, **36**: 226-235.

De Rosso, M., Cancian, D., Panighel, A., Vedova, A.D., Flamini, R. (2009). Chemical compounds released from five different woods used to make barrels for aging wines and spirits: volatile compounds and polyphenols. *Wood Science Technology*, **43**: 375-385.

Dias Cardoso, A. (2007). *O vinho da uva à garrafa*. Âncora Editora. Coimbra. pp. 423.

Eiriz, N., (2006). Fragmentos de madeiras de carvalho no envelhecimento de vinhos tintos, Dissertação de Mestrado em Tecnologia Alimentar/Qualidade Universidade Nova de Lisboa - Faculdade de Ciências e Tecnologia. Lisboa.

Fernández de Simón, B.; Cadahía, E.; Sanz, M.; Poveda, P.; Perez-Magariño, S.; Ortega-Heras, M.; González-Huerta, C. (2008). Volatile compounds and sensorial characterization of wines from four Spanish denominations of origin, aged in Spanish Rebollo (*Quercus pyrenaica* Willd.) oak wood barrels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **56**: 9046-9055.

Fernández de Simón, B.; Martínez, J.; Sanz, M. Cadahía, E.; Esteruelas, E.; Muñoz, A.M. (2013). Volatile compounds and sensorial characterisation of red wine aged in cherry, chestnut, false acacia, ash and oak wood barrels. *Food Chemistry* **147**: 346-356.

Ferrari, G., Lablanquie, O., Cantagrel, R., Ledauphin, J., Payot, T., Fournier, N., Guichard, E. (2004). Determination of key odorant compounds in freshly distilled Cognac using GC-O, GC-MS, and sensory evaluation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52**: 5670-5676.

- Feuillat, F. e Keller, R. (1997). Variability of Oak Wood (*Quercus robur* L., *Quercus petraea* Liebl.) Anatomy Relating to Cask Properties. *American Journal of Enology and Viticulture*, **48**: 502-508.
- Fiches, G., Eve, A.S., Jourdren, S., Déléris, I., Brunerie, P., Souchon, I. (2015). Temporality of perception during the consumption of French grape brandies with different aging times in relation with aroma compound release. *Flavour and Fragrance Journal*, **31**: 31-40.
- Gacula, M.C. (1997). Descriptive Sensory Analysis Methods in *Descriptive Sensory analysis in Practice*. Food & Nutrition Press, Inc, USA Chapter 1.1.
- Gambutì, A., Capuano, R., Lisanti, M.T., Stollo, D., Moio, L. (2010). Effect of aging in new oak, one-year-used-oak, chestnut barrels and bottle on color, phenolics and gustative profile of three monovarietal red wines. *European Food Research and Technology*, **231**: 455-465.
- Garcia, R., Vieira, M., Cabrita, M.J. (2010). Utilização de aparas de madeira no envelhecimento de vinhos tintos: quantificação da composição fenólica de madeiras por HPLC. In *8º Simpósio de Vitivinicultura do Alentejo*. <http://dspace.uevora.pt/rdpc/handle/10174/5883>.
- Garcia, R., Soares, B., Dias, C.B., Freitas, A.M.C., Cabrita, M.J. (2012). Phenolic and furanic compounds of portuguese chestnut and french, american and portuguese oak wood chips. *European Food Research and Technology*, **235**: 457-467.
- Gibson, M., Newsham, P. (2018). *Spirits*. In Food Science and the culinary arts pp. 399-415. Elsevier Inc. Amsterdam. Netherlands. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811816-0.00020-8>.
- Gómez-Plaza, E., Cano-López, M. (2011). A review on micro-oxygenation of red wines: claims, benefits and the underlying chemistry. *Food Chemistry*, **125**: 1131-1140.
- Grosch, W. (2001). Evaluation of the key odorants of foods by dilution experiments, aroma models and omission. *Chemical Senses*, **26**: 533-545.
- Guichard, H., Lemesle, S., Ledauphin, J., Barillier, D., Picoche, B. (2003). Chemical and sensorial aroma characterization of freshly distilled Calvados. 1. Evaluation of quality and defects on the basis of key odorants by olfactometry and sensory analysis. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, **51**: 424-432.
- Guymon, J.F. (1974). Chemical aspects of distilling wines into brandy In *Chemistry of Winemaking*; Webb, A.; Advances in Chemistry; American Chemical Society: Washington, DC, pp. 232-253.

Hernández-Orte, P., Lapena, A. C., Escudero, A., Astrain, J., Baron, C., Pardo, I., Polo, L., Ferrer, S., Cacho, J. e Ferreira, V. (2009). Effect of micro-oxygenation on the evolution of aromatic compounds in wines: Malolactic fermentation and ageing in wood. *Food Science and Technology*, **42**: 391-401.

Heymann, H., Machado, B., Torri, L., & Robinson, A. L. (2012). *How many judges should one use for sensory descriptive analysis?*. *Journal of Sensory Studies*, **27**: 111-122.

ISO 3591: 1977. Sensory analysis – Wine-tasting glass.

ISO 8589:2007. Sensory analysis - General guidance for the design of test room

ISO 5492: 2008. Sensory analysis - Vocabulary.

ISO 8586: 2012. Sensory analysis – General guidelines for the selection, training and monitoring of selected assessors and expert sensory assessors.

Janáčková, A., Sádecká, J., Kohajdová, Z., Špánik, I. (2008). The identification of aroma-active compounds in Slovak brandies using GC-sniffing, GC-MS and sensory evaluation. *Chromatographia Supplement*, **67**: S113-S121.

Jombart, T., Devillard, S., & Balloux, F. (2010). Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC genetics*, **11**: 94.

Jordão, A.M.; Ricardo-Da-Silva, J.M.; Laureano, O. (2005). Comparison of volatile composition of cooperage oak wood of different origins (*Quercus pyrenaica* vs. *Quercus alba* and *Quercus petraea*). *Mitteilungen Klosterneuburg*, **55**: 22-31.

Kloskowski, A., Chrzanowski, W., Pilarczyk, M., Namiesnik, J. (2007). Modern techniques of sample preparation for determination of organic analytes by gas-chromatography. *Analytical Chemistry*, **37**: 15-38.

Lablanque O., Cantagrel R., Ferrari G. (2002). Characterisation of young Cognac spirit aromatic quality. *Analytica Chimica Acta*, **458**: 191-196.

Le Floch, A., Jourdes, M., Teissedre, P-L. (2015). Polysaccharides and lignin from oak wood used in cooperage: Composition, interest, assays: A review. *Carbohydrate Research*, **417**: 94-102.

Léauté, R. (1990). Distillation in alambic. *American Journal of Enology and Viticulture*, **41**: 90-103.

Ledauphin, J., Guichard, H., Saint-Clair, J-F., Picoche, B., Barillier, D. (2003). Chemical and sensorial aroma characterization of freshly distilled Calvados. 2. Identification of volatile compounds and key odorants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**: 433-442.

Ledauphin, J., Basset, B., Cohen, S., Payot, T., Barillier, D. (2006). Identification of trace volatile compounds in freshly distilled Calvados and Cognac: carbonyl and Sulphur compounds. *Journal of Food Composition and Analysis*, **19**: 28-40.

Ledauphin, J., Le Milbeau, C., Barillier, D., Hennequin, D. (2010). Differences in the volatile compositions of French labeled brandies (Armagnac, Calvados, Cognac and Mirabelle) using GC-MS and PLS-DA. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **58**: 7782-7793.

Lee, K-Y.M., Paterson, A., Piggott, J.R., Richardson, G.D. (2000). Perception of whisky flavor reference compounds by Scottish distillers. *Journal of The Institute of Brewing*, **106**: 203-208.

Llaudy, M.C., Canals, R., González-Manzano, S., Canals, J.M., Santos-Buelga, C., Zamora, F. (2006). Influence of micro-oxygenation treatment before oak aging on phenolic compounds composition, adstringency, and color of red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54**: 4246-4252.

López-Vázquez, C., Bollaín, M. H., Moser, S., & Orriols, I. (2010). Characterization and differentiation of monovarietal grape pomace distillate from native varieties of Galicia. *Journal of agricultural and food chemistry*, **58**: 9657-9665.

Louw, L., Lambrechts, M.G. (2012). Grape-based brandies: production, sensory properties and sensory evaluation, in *Alcoholic beverages-sensory evaluation and consumer research* edited by John Piggott, Woodhead Publishing, Cambridge, UK. pp: 281-296.

MacFie, H. J., Bratchell, N., GREENHOFF, K., e Vallis, L. V. (1989). Designs to balance the effect of order of presentation and first-order carry-over effects in hall tests. *Journal of Sensory Studies*, **4**: 129-148.

Madrera, R.R., Gomis, D.B., Alonso, J.J.M. (2003). Influence of distillation system oak wood type and aging time on volatile compounds of cider brandy. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, **51**: 5709-5714.

Madrera, R.R., Valles, B.S. (2007). Determination of volatile compounds in cider spirits by gas chromatography with direct injection. *Journal of Chromatographic Science*, **45**: 428-434.

Madrera, R.R., Hevia, A.G., Valles, B.S. (2013). Comparative study of two aging systems for cider brandy making. Changes in chemical composition. *Food Science and Technology*, **54**: 513-520.

- Malfondet, N., Gourrat, K., Brunerie, P., Le Quéré, J-L. (2016). Aroma characterization of freshly-distilled French brandies; their specificity and variability within a limited geographic area. *Flavour and Fragrance Journal*, **31**: 361-376.
- Marco, J., Artajona, J., Larrechi, M.S., Rius, F.X. (1994). Relationship Between Geographical Origin and Chemical Composition of Wood for oak barrels. *American Journal of Enology and Viticulture*, **45**: 192-200.
- Martins, N., Garcia, R., Da Silva, M.G., Cabrita, M.J. (2012). Volatile compounds from oak, cherry, chestnut and acacia chips: influence of toasting level. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, **27**: 49-57.
- Minim, V., Silva, R., Milagres, M., Martins, E., Sampaio, S., Vasconcelos, C. (2010). *Análise Descritiva: Comparação entre metodologias*. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, Maio/Jun, nº 374, 65: 41-48.
- Mosedale, J.R., Puech, J-L. (1998). Wood maturation of distilled beverages. Review. *Trends in Food Science & Technology*, **9**: 95-101.
- Murray, J.M., Delahunty, C.M., Baxter, I.A. (2001). Descriptive sensory analysis: past, present and future. *Food Research International*, **34**: 461-471.
- Nevarés, I., Del Alamo, M. (2008). Measurement of dissolved oxygen during red wines tank aging with chips and micro-oxygenation. *Analytica Chimica Acta*, **621**: 68-78.
- Nevarés, I., Del Álamo, M., Gonzalez-Muñoz, C. (2010). Dissolved oxygen distribution during micro-oxygenation. Determination of representative measurement points in hydroalcoholic solution and wines. *Analytica Chimica Acta*, **660**: 232-239.
- Nykanen, L. (1996). Formation and occurrence of flavor compounds in wine and distilled alcoholic beverages. *American Journal of Enology and Viticulture*, **37**: 84-96.
- Niazi, S.K. (2017). *Faster aging of alcoholic beverages*. U.S. Patent 9,745,545. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Nishimura, K., Matsuyama, R. (1989). *Maturation and Maturation Chemistry in The Science and Technology of Whiskies*. Piggott, J.R., Sharp, R. and Duncan (ed.), Cap. 8, 235-263, Longman Scientific and Technical, London, UK.
- Oberholster, A., Elmendorf, B.L., Lerno, L.A., King, E.S., Heymann, H., Brenneman, C.E., Boulton, R.B. (2015). Barrel maturation, oak alternatives and micro-oxygenation: Influence on red wine aging and quality. *Food Chemistry*, **173**: 1250-1258.

- Ohloff, G. (1978). Recent developments in the field of naturally-occurring aroma components. In *Fortschritte der Chemie Organischer Naturstoffe/Progress in the Chemistry of Organic Natural Products* (pp. 431-527). Springer, Vienna.
- Osorio, D., Pérez-Correa, J.R., Biegler, L.T., Agosin, E. (2005). Wine distillates: practical operating recipe formulation for stills. *Agricultural and Food Chemistry*, **53**: 6326-6331.
- Panosyan, A.G., Mamikonyan, G.V., Torosyan, M., Gabrielyan, E.S., Mkhitaryan, S.A., Tirakyan, M.R., Ovanesyan, A. (2001). Determination of the composition of volatils in cognac (brandy) by headspace gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Analytical Chemistry*, **56**: 945-952.
- Paravisini, L., Gourrat-Pernin, K., Gouttefangeas, C., Moretton, C., Nigay, H., Dacremont, C., Guichard, E. (2012). Identification of compounds responsible for the odorant properties of aromatic caramel. *Flavour and Fragrance Journal*, **27**: 424-432.
- Parish, M., Wollan, D., Paul, R. (2000). *Micro-oxygenation – a review*. 30th Annual New York Wine Industry Workshop. The Australian and New Zealand Grapegrower and Winemaker, Annual technical Issue. Pp. 48-57.
- Pasteur, L. (1873). *Études sur le vin: ses maladies, causes qui les provoquent, procédés nouveaux pour le conserver et pour le vieillir*. Simon Raçou et Comp. pp.115.
- Phillips, R.J., (1989). Qualitative and quantitative analysis. In *High resolution gas chromatography (3rd edition)*. 1-11. Hyver K.J., Sandra P. (eds), Hewlett-Packard, Co.
- Phillips, C., (2009). *Product Review: Micro-oxygenation Controllers*. Wine Business Monthly. Pp.20-23
- Pizarro, C., Rodríguez-Tecedor, S., Esteban-Díez, I., Pérez-del-Notario, N., González-Sáiz, J.M. (2014). Experimental design approach to evaluate the impact of oak chips and micro-oxygenation on the volatile profile of red wines. *Food Chemistry*, **148**: 357-366.
- Piggot, J.R., Simpson, S.J., Williams, A.R. (1998). Sensory analysis. *International Journal of Food Science and Technology*, **33**: 7-18.
- Plutowska, B., Biernacka, P., Wardencki, W. (2010). Identification of volatile compounds in raw spirits of different organoleptic quality. *Journal of the Institute of Brewing & Distilling*, **116**: 433-439.
- Puech, J-L. (1984). Characteristics of oak wood and biochemical aspects of Armagnac aging. *American Journal of Enology and Viticulture*, **35**: 77-81.

- Rapp, A. e Mandery, H. (1986). Wine aroma. *Experientia*, 42(8), 873-884. Basel/Switzerland.
- Reazin, G.H. (1981). Chemical mechanisms of whiskey maturation. *American Journal of Enology and Viticulture*, **32**: 283-289.
- Regulamento (CE) nº 2870/2000 da Comissão de 19 de Dezembro de 2000. Estabelece métodos de análise comunitários de referência aplicáveis no sector das bebidas espirituosas.
- Regulamento (CE) nº 1507/2006 da Comissão de 11 de Outubro de 2006. Estabelece a organização comum do mercado vitivinícola, no que respeita às normas de utilização de pedaços de madeira de carvalho na elaboração de vinhos e às normas de designação e apresentação dos vinhos sujeitos a esse tratamento.
- Regulamento (CE) nº 2019/787 do Parlamento Europeu e do Conselho de 17 de Abril de 2019. Relativo à definição, designação, apresentação, rotulagem e proteção das indicações geográficas das bebidas espirituosas, e que revoga o Regulamento (CE) nº 110/2008.
- Reis, E., (1997). *Estatística multivariada aplicada*. Pp. 343. Edições Sílabo, Lisboa.
- Résolution OENO 3/2005. Organisation Internationale de la Vigne et du Vin, 2005.
- Résolution OENO 4/2005. Organisation Internationale de la Vigne et du Vin, 2005.
- Robinson, A. L., Boss, P. K., Solomon, P. S., Trengove, R. D., Heymann, H., & Ebeler, S. E. (2014). Origins of grape and wine aroma. Part 2. Chemical and sensory analysis. *American Journal of Enology and Viticulture*, **65**: 25-42.
- Rohlf, F. J. (2000). NTSYS-pc: Numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 2.1 Exeter Software. Setauket, New York, USA.
- Savchuk, S.A. e Kolesov, G.M. (2005). Chromatographic techniques in the quality control of cognacs and cognac spirits. *Journal of analytical chemistry*, **60**: 752-771.
- Schreier, P., Drawert, F., Winkler, F. (1979). Composition of neutral volatile constituents in grape brandies. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, **27**: 365-372.
- Schaefer, J., e Timmer, R. (1970). Flavor components in Cognac. *Journal of Food Science*, **35**: 10-12.
- Schwartz, M., Rodríguez, M.C., Sánchez, M., Guillén, D.A., Barroso, C.G. (2014). Development of an accelerated aging method for Brandy. *Food Science and Technology*, **59**: 108-114.
- Singleton, V. (1995). Maturation of wines and spirits: comparisons, facts, and hypotheses. *American Journal of Enology and Viticulture*, **46**: 98-115.

- Snackers, G., Boulesteix, J.M., Estréguil, S., Gaschet, J., Lablanquie O., Faure, A., Cantagrel, R. (2003). Effect of oak wood heating on Cognac spirit matured in new barrel: a pilot study. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, **37**: 243-255.
- Soares, B., Garcia, R., Freitas, A.M.C., Cabrita, M.J. (2012). Phenolic compounds released from oak, cherry, chestnut and robinia chips into a syntethic wine: influence of toasting level. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, **27**: 17-26.
- Spirituuous Beverages Experts Group. (2018). Chestnut wooden barrels for the ageing of wine spirits. International Organisation of Vine and Wine. OIV Paris. France.
- Stone, H., Sidel, J.L., Bloomquist, J. (1980). Quantitative Descriptive Analysis, *Cereal Foods World* 25(10), 642-644 chapter 1.6
- Stone, H., Sidel, J. (1993). Sensory evaluation practices. 3. ed. Academic Press, Redwood City, California. pp.394
- Tsakiris, A.; Kallithraka, S. Kourkoutas, Y. (2014). Grape brandy production, composition and sensory evaluation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **94**: 404-414.
- Tsakiris, A.; Kallithraka, S. Kourkoutas, Y. (2016). *Brandy and Cognac: Manufacture and Chemical Composition*. Encyclopedia of Food and Health, Elsevier Ltd pp.462-468.
- Vlassov, V.N., Maruzhenkov, D.S. (1999). Application of GC/MS method for the identification of brandies and cognacs. *Analusis*, **27**: 663-667.
- Wanikawa, A., Hosoi, K., Takise, I., Kato, T. (2000). Detection of γ -lactones in malt whisky. *Journal of the Institute of Brewing*, **106**: 39-43.
- Waterhouse, A.L., Sacks, G.L. and Jeffery, D.W. (2016). *Distillation, Understanding Wine Chemistry*. First Edition, published by John Wiley & Sons, Ltd. Pp. 359-376
- Williams, L. J., & Abdi, H. (2010). Fisher's least significant difference (LSD) test. *Encyclopedia of Research Design*, 218, 840-853.
- Zhao, Y.; Li, J.; Xu, Y.; Fan, W.; Jiang, W., (2009). Characterization of aroma compounds of four brandies by aroma extract dilution analysis. *American Journal of Enology and Viticulture*, **60**: 269-276.
- Zhao, Y., Tian, T., Li, J., Zhang, B., Yu, Y., Wang, Y., & Niu, H. (2014). Variations in main flavor compounds of freshly distilled brandy during the second distillation. *International Journal of Food Engineering*, **10**: 809-820.

7. ANEXOS

Anexo I. Ficha de prova de aguardentes

EVN- SERVIÇO DE PROVA ORGANOLÉPTICA - Ficha de avaliação de aguardentes víquicas 2019

Provador _____ Data ____/____/____

	AMOSTRAS								
CARACTERÍSTICAS (Nota de 0 a 5)	940	582	244	642	429	573	196	963	347
COR									
Citrino									
Palha									
Dourado									
Topázio									
Esverdeado									
AROMA									
Alcool									
Frutado.									
Vanilina/baunilha									
Madeira									
Ranço (bom)									
Especiarias									
Caramelo									
Queimado/Torrado									
Frutos secos									
Fumo/Cinzas									
Café									
Adocicado									
Herbáceo									
Caudas									
Acetato									
Etilo/Cola/Verniz									
Borracha									
OUTROS									
SABOR									

Doce									
Macio									
Queimante									
Adstringência									
Aspereza									
Amargo									
Corpo									
Untuosidade									
Evolução									
Complexidade									
Aroma de boca									
Persistência									
OUTROS									
APRECIACÕES (Nota 1 a 20)									
Aroma									
Sabor									
Geral									

Observações:

Anexo II. Tabela da análise variância - Análise Sensorial

Características	Variável	G.L	MS	F	p
Citrino	Madeira	2	0,178483	5,29727	0,034262 (*)
	Sistema	1	0,25467	7,55856	0,025087 (*)
	Mad* Sist	2	0,07440	2,20807	0,172351 (n.s.)
	Erro	8	0,03369		
Palha	Madeira	2	1,145836	11,976	0,003930 (**)
	Sistema	1	1,009779	10,554	0,011725 (*)
	Mad* Sist	2	0,230227	2,406	0,151994 (n.s.)
	Erro	8	0,095679		
Dourado	Madeira	2	1,98581	8,2598	0,011332 (*)
	Sistema	1	2,88207	11,9877	0,008539 (**)
	Mad* Sist	2	0,47137	1,9606	0,202802 (n.s.)
	Erro	8	0,24042		
Topázio	Madeira	2	5,90304	36,3041	0,000097 (***)
	Sistema	1	10,32164	63,4788	0,000045 (***)
	Mad* Sist	2	0,2537	1,5603	0,267831 (n.s.)
	Erro	8	0,162600		
Esverdeado	Madeira	2	0,4724	13,8618	0,002515 (**)
	Sistema	1	1,50904	44,280	0,000160 (***)
	Mad* Sist	2	0,03326	0,9760	0,417574 (n.s.)
	Erro	8	0,03408		
Álcool	Madeira	2	0,00972	0,425	0,667878 (n.s.)
	Sistema	1	0,00927	0,405	0,542305 (n.s.)
	Mad* Sist	2	0,00334	0,146	0,866352 (n.s.)
	Erro	8	0,02289		
Frutado	Madeira	2	0,10481	2,8054	0,119350 (n.s.)
	Sistema	1	0,00001	0,0003	0,986716 (n.s.)
	Mad* Sist	2	0,03095	0,8283	0,471036 (n.s.)
	Erro	8	0,037360		
Baunilha	Madeira	2	0,12303	9,979	0,006705 (**)
	Sistema	1	0,67068	54,396	0,000078 (***)
	Mad* Sist	2	0,06307	5,116	0,037076 (*)
	Erro	8	0,01233		
Madeira	Madeira	2	0,00564	0,1017	0,904445 (n.s.)
	Sistema	1	0,62438	11,2519	0,010015 (*)
	Mad* Sist	2	0,13227	2,3836	0,154164 (n.s.)
	Erro	8	0,05549		

Características	Variável	G.L	MS	F	p
Ranço Bom	Madeira	2	0,215383	1,77983	0,229393 (n.s.)
	Sistema	1	1,050211	8,67847	0,018541 (*)
	Mad* Sist	2	0,056873	0,46998	0,641238 (n.s.)
	Erro	8	0,121013		
Especiarias	Madeira	2	0,29433	4,419	0,050946 (n.s.)
	Sistema	1	1,61976	24,321	0,001147 (**)
	Mad* Sist	0	0,00803	0,1206	0,887959(n.s.)
	Erro	8	0,0666		
Caramelo	Madeira	2	0,58795	21,6294	0,000593 (***)
	Sistema	1	3,05752	112,479	0,000005 (***)
	Mad* Sist	2	0,15397	5,6642	0,029348 (*)
	Erro	8	0,02718		
Queimado	Madeira	2	0,29219	19,194	0,000885 (***)
	Sistema	1	0,9249	60,756	0,000053 (***)
	Mad* Sist	2	0,07349	4,828	0,042153 (*)
	Erro	8	0,01522		
Frutos secos	Madeira	2	0,38678	33,096	0,000135 (***)
	Sistema	1	1,04794	89,671	0,000013 (***)
	Mad* Sist	2	0,08199	7,016	0,017386(*)
	Erro	8	0,01169		
Fumo	Madeira	2	0,450772	15,79	0,001669 (**)
	Sistema	1	0,762445	26,7062	0,000855 (***)
	Mad* Sist	2	0,035648	1,2486	0,337326(n.s.)
	Erro	8	0,028549		
Café	Madeira	2	0,173702	6,6374	0,019994 (*)
	Sistema	1	1,2918	49,3614	0,000110 (***)
	Mad* Sist	2	0,005088	0,1944	0,827099 (n.s.)
	Erro	8	0,02617		
Adocicado	Madeira	2	0,23059	2,8127	0,118839 (n.s.)
	Sistema	1	0,4483	5,4682	0,047534 (*)
	Mad* Sist	2	0,01332	0,1625	0,852793 (n.s.)
	Erro	8	0,08198		
Herbáceo	Madeira	2	0,004125	0,27183	0,768747 (n.s.)
	Sistema	1	0,13663	9,00371	0,017056 (*)
	Mad* Sist	2	0,015559	1,02534	0,401400 (n.s.)
	Erro	8	0,015175		

Características	Variável	G.L	MS	F	p
Caudas	Madeira	2	0,014854	1,050043	0,393604 (n.s.)
	Sistema	1	0,013247	0,93645	0,361533 (n.s.)
	Mad* Sist	2	0,020263	1,432381	0,293954 (n.s.)
	Erro	8	0,014146		
Acetato de Etilo	Madeira	2	0,013465	1,21046	0,347325 (n.s.)
	Sistema	1	0,005498	0,49425	0,501981 (n.s.)
	Mad* Sist	2	0,020777	1,86777	0,215948 (n.s.)
	Erro	8	0,011124		
Borracha	Madeira	2	0,004154	0,702277	0,523609 (n.s.)
	Sistema	1	0,000078	0,013251	0,911194 (n.s.)
	Mad* Sist	2	0,005654	0,955694	0,424446 (n.s.)
	Erro	8	0,005916		
Doce	Madeira	2	0,124030	4,104	0,059356 (n.s.)
	Sistema	1	0,15697	5,194	0,052148 (n.s.)
	Mad* Sist	2	0,0465300	1,54	0,271813 (n.s.)
	Erro	8	0,030220		
Macio	Madeira	2	0,01369	0,585	0,579414 (n.s.)
	Sistema	1	0,32737	13,987	0,005706 (**)
	Mad* Sist	2	0,00538	0,23	0,799662 (n.s.)
	Erro	8	0,02341		
Queimante	Madeira	2	0,01415	0,199	0,823385 (n.s.)
	Sistema	1	0,00471	0,0663	0,803357 (n.s.)
	Mad* Sist	2	0,00132	0,0185	0,981665 (n.s.)
	Erro	8	0,07105		
Adstringência	Madeira	2	0,01142	0,1189	0,889441 (n.s.)
	Sistema	1	0,00635	0,0661	0,803585 (n.s.)
	Mad* Sist	2	0,03926	0,4088	0,677595 (n.s.)
	Erro	8	0,09605		
Aspereza	Madeira	2	0,01129	0,2189	0,808021 (n.s.)
	Sistema	1	0,0011	0,0214	0,887361 (n.s.)
	Mad* Sist	2	0,04948	0,9597	0,423068 (n.s.)
	Erro	8	0,051550		
Amargo	Madeira	2	0,00063	0,0249	0,975442 (n.s.)
	Sistema	1	0,01705	0,6783	0,434033 (n.s.)
	Mad* Sist	2	0,00944	0,3754	0,698505 (n.s.)
	Erro	8	0,02514		
Corpo	Madeira	2	0,30127	10,771	0,005378 (**)
	Sistema	1	0,86009	30,75	0,000544 (***)
	Mad* Sist	2	0,0771	2,757	0,122836 (n.s.)
	Erro	8	0,02797		

Características	Variável	G.L	MS	F	p
Untuosidade	Madeira	2	0,09647	2,539	0,140051 (n.s.)
	Sistema	1	0,56301	14,815	0,004884 (**)
	Mad* Sist	2	0,0151	0,397	0,684637 (n.s.)
	Erro	8	0,038		
Evolução	Madeira	2	0,3289	11,373	0,004584 (**)
	Sistema	1	1,23459	42,691	0,000182 (***)
	Mad* Sist	2	0,017500	0,605	0,569247 (n.s.)
	Erro	8	0,028920		
Complexidade	Madeira	2	0,43822	18,57	0,000987 (***)
	Sistema	1	1,24939	52,944	0,000086 (***)
	Mad* Sist	2	0,04154	1,76	0,232491 (n.s.)
	Erro	8	0,0236		
Ar. Boca	Madeira	2	0,149	4,45	0,050209 (n.s.)
	Sistema	1	0,4602	13,745	0,005979 (**)
	Mad* Sist	2	0,0615	1,836	0,220680 (n.s.)
	Erro	8	0,0335		
Persistência	Madeira	2	0,1073	3,247	0,092802 (n.s.)
	Sistema	1	0,4939	14,943	0,004771 (**)
	Mad* Sist	2	0,0016	0,047	0,954149 (n.s.)
	Erro	8	0,0331		
Ap.Aroma	Madeira	2	1,501	14,5	0,002185 (**)
	Sistema	1	6,81	65,78	0,000040 (***)
	Mad* Sist	2	0,449	4,34	0,052916 (n.s.)
	Erro	8	0,104		
Ap.Sabor	Madeira	2	1,535	15,31	0,001842 (**)
	Sistema	1	5,152	51,4	0,000095 (***)
	Mad* Sist	2	0,578	5,77	0,028095 (*)
	Erro	8	0,1		
Ap.Geral	Madeira	2	1,759	20,62	0,000697 (***)
	Sistema	1	5,437	63,72	0,000044 (***)
	Mad* Sist	2	0,577	6,76	0,019110 (*)
	Erro	8	0,085		

p>0,05 - n.s. (não significativo); 0,01<p<0,05 - * - significativo; 0,001<p<0,01- ** - muito significativo; p<0,001- *** - altamente significativo

Anexo III. Tabela da análise variância - Análise da Composição Volátil

Composto	Variável	G.L	MS	F	p
Acetato de Isobutilo	Madeira	2	4,28499	4,30451	0,053825 (n.s.)
	Sistema	1	9,26841	9,31063	0,015789 (*)
	Mad* Sist	2	2,02784	2,03707	0,192723 (n.s.)
	Erro	8	0,99547		
Butirato de Etilo	Madeira	2	0,004237	1,217	0,345463 (n.s.)
	Sistema	1	0,000010	0,003	0,958814 (n.s.)
	Mad* Sist	2	0,001176	0,338	0,723061 (n.s.)
	Erro	8	0,003481		
Acetato de Isoamilo	Madeira	2	0,0427	0,507	0,620674 (n.s.)
	Sistema	1	0,0042	0,050	0,828766 (n.s.)
	Mad* Sist	2	0,0514	0,610	0,566979 (n.s.)
	Erro	8	0,0844		
Hexanoato de Etilo	Madeira	2	0,01196	1,702	0,242260 (n.s.)
	Sistema	1	0,00048	0,069	0,799674 (n.s.)
	Mad* Sist	2	0,00412	0,586	0,578530 (n.s.)
	Erro	8	0,00703		
Trans-2-hexanal	Madeira	2	0,000565	0,294	0,752679 (n.s.)
	Sistema	1	0,002186	1,139	0,317005 (n.s.)
	Mad* Sist	2	0,000429	0,223	0,804755 (n.s.)
	Erro	8	0,001920		
Octanoato de etilo	Madeira	2	0,05034	2,541	0,139875 (n.s.)
	Sistema	1	0,01092	0,551	0,479088 (n.s.)
	Mad* Sist	2	0,03092	1,561	0,267749 (n.s.)
	Erro	8	0,01981		
Ác acético	Madeira	2	2514	3,201	0,095203 (n.s.)
	Sistema	1	1340	1,706	0,227843 (n.s.)
	Mad* Sist	2	681	0,867	0,456402 (n.s.)
	Erro	8	785		
Furfural	Madeira	2	582,62	5,9972	0,025628 (*)
	Sistema	1	20853,32	214,6535	0,000000 (***)
	Mad* Sist	2	440,75	4,5368	0,048201 (*)
	Erro	8	97,15		
Linalol	Madeira	2	0,000372	0,620	0,562122 (n.s.)
	Sistema	1	0,004163	6,930	0,030064 (*)
	Mad* Sist	2	0,000398	0,662	0,541880 (n.s.)
	Erro	8	0,000601		

Composto	Variável	G.L	MS	F	p
5-Metilfurfural	Madeira	2	0,6519	0,6446	0,550092 (n.s.)
	Sistema	1	120,6894	119,3417	0,000004 (***)
	Mad* Sist	2	3,0801	3,0457	0,103881 (n.s.)
	Erro	8	1,0113		
Ácido butanóico	Madeira	2	0,001149	2,216	0,171496 (n.s.)
	Sistema	1	0,002201	4,244	0,073355 (n.s.)
	Mad* Sist	2	0,002011	3,878	0,066473 (n.s.)
	Erro	8	0,000519		
Ác isovalérico	Madeira	2	0,01267	4,103	0,059377 (n.s.)
	Sistema	1	0,00093	0,301	0,598370 (n.s.)
	Mad* Sist	2	0,01149	3,720	0,072062 (n.s.)
	Erro	8	0,00309		
Ácido hexanóico	Madeira	2	0,00035	0,10	0,909204 (n.s.)
	Sistema	1	0,02105	5,75	0,043287 (*)
	Mad* Sist	2	0,00687	1,88	0,214430 (n.s.)
	Erro	8	0,00366		
Guaiacol	Madeira	2	0,002437	6,8956	0,018165 (*)
	Sistema	1	0,092161	260,8147	0,000(***)
	Mad* Sist	2	0,000158	0,4480	0,654013 (n.s.)
	Erro	8	0,000353		
Trans-β-metil-γ-octalactona	Madeira	2	0,013028	1,415253	0,297690 (n.s.)
	Sistema	1	0,013183	1,432093	0,265681 (n.s.)
	Mad* Sist	2	0,010711	1,163575	0,360112 (n.s.)
	Erro	8	0,009205		
2-feniletanol	Madeira	2	0,303	1,91	0,209558 (n.s.)
	Sistema	1	1,275	8,05	0,021904 (*)
	Mad* Sist	2	0,547	3,45	0,082893 (n.s.)
	Erro	8	0,158		
Cis-β-metil-γ-octalactona	Madeira	2	0,254157	63,2183	0,000013 (***)
	Sistema	1	0,600797	149,4403	0,000002 (***)
	Mad* Sist	2	0,357549	88,9356	0,000003 (***)
	Erro	8	0,004020		
4-metilguaiacol	Madeira	2	0,001017	31,083	0,000169 (***)
	Sistema	1	0,161627	4939,992	0,000 (***)
	Mad* Sist	2	0,000762	23,289	0,000462 (***)

Composto	Variável	G.L	MS	F	p
	Erro	8	0,000033		
Eugenol	Madeira	2	0,007037	35,670	0,000103 (***)
	Sistema	1	0,000007	0,036	0,854398 (n.s.)
	Mad* Sist	2	0,007585	38,445	0,000079 (***)
	Erro	8	0,000197		
Siringol	Madeira	2	0,004888	3,543	0,079096 (n.s.)
	Sistema	1	1,012172	733,592	0,000 (***)
	Mad* Sist	2	0,000797	0,578	0,582873 (n.s.)
	Erro	8	0,001380		
4-metilsiringol	Madeira	2	0,017998	20,826	0,000674 (***)
	Sistema	1	0,600815	695,225	0,000 (***)
	Mad* Sist	2	0,006746	7,806	0,013175 (*)
	Erro	8	0,000864		
Ácido dodecanóico	Madeira	2	0,000103	0,153	0,860992 (n.s.)
	Sistema	1	0,005104	7,533	0,025268 (*)
	Mad* Sist	2	0,000016	0,023	0,977282 (n.s.)
	Erro	8	0,000678		
HMF	Madeira	2	24,668	6,3369	0,022422 (*)
	Sistema	1	89,381	22,9608	0,001370 (**)
	Mad* Sist	2	7,524	1,9327	0,206646 (n.s.)
	Erro	8	3,893		
4-alilsiringol	Madeira	2	0,004265	3,615	0,076131 (n.s.)
	Sistema	1	0,237621	201,420	0,000001 (***)
	Mad* Sist	2	0,010990	9,315	0,008144 (**)
	Erro	8	0,001180		
Vanilina	Madeira	2	3,7828	81,18	0,000005 (***)
	Sistema	1	63,4817	1362,345	0,000 (***)
	Mad* Sist	2	0,5698	12,229	0,00369 (**)
	Erro	8	0,0466		
Acetovanilona	Madeira	2	0,033297	55,261	0,000021 (***)
	Sistema	1	0,784302	1301,651	0,000 (***)
	Mad* Sist	2	0,011618	19,281	0,000871 (***)
	Erro	8	0,000603		

p>0,05 - n.s. (não significativo); 0,01<p<0,05 - * - significativo; 0,001<p<0,01- ** - muito significativo; p<0,001- *** - altamente significativo