



INSTITUTO POLITÉCNICO DE CASTELO BRANCO

Escola Superior Agrária

***Variação do teor de extractivos e lenhina Klason
em madeiras de Castanheiro e Carvalho que
serviram de base para o envelhecimento de
aguardentes vínicas.***

Clarisse Pires Carmona

**Mestrado em Tecnologia e Sustentabilidade dos Sistemas
Florestais**

Nome da Orientadora: Doutora Ofélia Maria Serralha dos Anjos

Nome da Co-orientadora: Doutora Ilda Maria Justino Caldeira

Castelo Branco, Novembro 2010

“As doutrinas expressas neste trabalho são da inteira responsabilidade do seu autor”

Agradecimentos

Às minhas orientadoras:

à Doutora Ofélia Anjos pela valiosa oportunidade de realização desta dissertação, pelo voto de confiança, pela orientação incansável ao longo de todo o trabalho, pela ajuda e sugestões na análise estatística dos dados, pela amizade e boa disposição sempre demonstradas;

à Doutora Ilda Caldeira, da Estação Vitivinícola Nacional, pela preciosa colaboração na revisão desta dissertação, pelos conhecimentos fornecidos na área em causa e pelos artigos sugeridos;

A todos os técnicos da ESACB que contribuíram para este trabalho, especialmente, à Eng.^a Graça Diogo pela ajuda e companheirismo demonstrada durante o trabalho laboratorial;

Aos meus pais, por acreditarem sempre em mim e pelo apoio incondicional que me têm dado em todas as situações;

À minha irmã e a todos os amigos que estiveram ao meu lado nos momentos mais difíceis, pelas palavras motivadoras;

A todos os que de alguma forma ajudaram na concretização deste trabalho,

Muito Obrigada.

Índice

Resumo	I
Abstract	II
Índice de Tabelas	III
Índice de Figuras	IV
1-Introdução	1
2-Estado Actual do Conhecimento.....	3
2.1-Composição química da madeira com relevância para o envelhecimento das aguardentes	3
2.1.1-Celulose	4
2.1.2-Hemiceluloses	4
2.1.3-Lenhina.....	6
2.1.4-Extractivos.....	8
2.2-O efeito da composição da madeira no envelhecimento de Aguardente	10
2.3-Utilização de fragmentos de madeira no envelhecimento de vinhos e aguardentes.....	13
3-Material e Métodos	16
3.1-Determinação do teor humidade	17
3.2-Determinação do teor de extractivos	18
3.3-Determinação do teor de lenhina de Klason.....	19
4-Resultados e Discussão	22
4.1-Teor de extractivos.....	22
4.2-Teor em Lenhina	29
4.3-Variação explicativa por Análise de Componentes Principais.....	33
5-Considerações Finais	37
6-Bibliografia.....	39

Varição do teor de extractivos e lenhina Klason em madeiras de Castanheiro e Carvalho que serviram de base para o envelhecimento de aguardentes vínicas.

Clarisse Pires Carmona

Resumo

Os sistemas de envelhecimento de aguardentes vínicas têm sido alvo de investigações, de modo a diminuir os custos e o tempo de duração a eles associados. No presente trabalho avaliou-se os teores de extractivos e de lenhina Klason em fragmentos de madeira adicionados a depósitos de aço inoxidável onde foi envelhecida a aguardente. Utilizaram-se duas formas de fragmentos, dominós e tábuas, de carvalho e castanheiro analisados antes do envelhecimento e 30 meses depois. Os resultados obtidos revelam que a espécie botânica teve influência significativa no teor de extractivos bem como no teor de lenhina Klason e lenhina total. O factor forma teve igualmente influência significativa no teor de extractivos e no teor de lenhina Klason.

Palavras-chave: Extractivos, Lenhina, castanheiro, carvalho, fragmentos madeira

Variation in extractive contents and Klason lignin wine-brandies aged in wood of chestnut and oak.

Clarisse Pires Carmona

Abstract

Ageing systems of wine-brandies have been a target of profound investigation in order to reduce costs and duration associated with them. In this study we evaluated the extractives and Klason lignin contents in wood fragments added to stainless steel containers used to produce aged brandy. We used two types of fragments: chips and staves, oak and chestnut. Which were analyzed before and after 30 months of aging. The results showed that the botanical species had significant influence on the extractives contents, Klason lignin contents and total lignin. The form factor also had significant influence on the extractives contents and Klason lignin contents.

Keywords: Extractives, Lignin, Chestnut; Oak, Wood fragments

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Valores médios percentuais do teor de extractivos, para os três solventes, das amostras em estudo (média \pm desvio padrão).	22
Tabela 2 – Resumo da Análise de variância para os teores de extractivos analisados para cada factor estudado.	24
Tabela 3 – Valores médios percentuais da Lenhina Klason, Lenhina Solúvel e Lenhina Total, das amostras em estudo (média \pm desvio padrão).	29
Tabela 4 – Resumo da Análise de variância para os teores de lenhina analisados para cada factor estudado.	30
Tabela 5 – Factores de correlação da análise de componentes principais para a composição química em extractivos, lenhina Klason e lenhina Solúvel para as amostras em estudo.	34

Índice de Figuras

Figura 1 - Composição química da madeira (adaptado de Klock <i>et al.</i> , 2005).....	3
Figura 2 - Formação da cadeia de celulose pela união de unidades β -D-glucose.....	4
Figura 3 - Açúcares que compõem as unidades de hemiceluloses (Sjöström, 1993).....	5
Figura 4 - Estrutura representativa de uma hemicelulose, a galactoglucomanana (Sjöström, 1993).	5
Figura 5 - Álcoois precursores das unidades fenilpropanólicas: guaiacilo (G), siringilo (S) e hidroxifenilo (H) (Barbosa <i>et al.</i> , 2008).....	6
Figura 6 - Estrutura da molécula de lenhina (adaptado de Koning, 1994)	7
Figura 7 - Diferença de dimensões entre as formas de madeiras utilizadas.....	16
Figura 8 - Delineamento experimental.	17
Figura 9 - Metter Toledo MJ33 Infrared Moisture Analyzer	17
Figura 10 - Aparelho Soxtec System HT 1043 Extraction Unit	18
Figura 11 - Filtração por gravidade das amostras hidrolisadas.	20
Figura 12 - Variação do teor dos extractivos (%) entre os 3 factores em estudo: espécie, forma da madeira e tempo de envelhecimento.	23
Figura 13 - Efeito dos factores Espécie e Tempo de envelhecimento nos valores dos extractivos retirados com o solvente diclorometano.....	25
Figura 14 - Efeito dos factores Espécie e Tempo de envelhecimento nos valores dos extractivos retirados com o solvente etanol.	26
Figura 15 - Efeito dos factores Forma e Tempo de envelhecimento nos valores dos extractivos retirados com o solvente água.	27
Figura 16 - Efeito dos factores Espécie, Forma e Tempo de envelhecimento nos valores dos extractivos totais.	28

Figura 17 - Valores médios percentuais da Lenhina Klason e Lenhina Solúvel das amostras em estudo.	29
Figura 18 - Efeito dos factores Forma e Espécie nos valores da lenhina Klason.	31
Figura 19 - Efeito dos factores Forma e Tempo de envelhecimento nos valores da lenhina solúvel.	31
Figura 20 - Efeito dos factores Forma, tempo de envelhecimento e Espécie nos valores da lenhina total.	32
Figura 21 - Projecção dos valores médios dos extractivos, lenhina Klason e lenhina solúvel para as amostras em estudo.....	33
Figura 22 - Projecção das amostras num sistema de eixos ACP em função dos valores médios de extractivos e lenhina.	34
Figura 23 - Projecção das amostras controlo (sem envelhecimento) num sistema de eixos ACP em função dos valores médios de extractivos e lenhina.	35
Figura 24 - Projecção das amostras com 30 meses de envelhecimento num sistema de eixos ACP em função dos valores médios de extractivos e lenhina.	36

1-Introdução

A madeira é um bem natural que tem vindo a ser explorado, desde a pré-história até a actualidade, nas mais variadas formas e indústrias. Foi inicialmente muito utilizada na construção naval e civil, estendendo-se desde então às mais diversas áreas como a imobiliária, aglomerados, material de jardins e postes, celulose (pasta e papel), tanoaria entre outras.

Segundo Jonhson (1989) foram os Celtas, no século III a.C., que utilizaram a madeira para armazenamento e transporte de vinho, inventando os tonéis. Posteriormente, o recurso a tonéis de madeira tornou-se imprescindível para a produção de bebidas de elevada qualidade, tais como, aguardentes, whisky e rum (Johnson, 1985).

O envelhecimento da aguardente vínica envolve obrigatoriamente um período em que a aguardente permanece numa vasilha de madeira e durante o qual adquire características organolépticas (cor, aroma e sabor) resultantes do contacto com as madeiras (Belchior *et al.* 2001; Canas, 2003; Caldeira *et al.* 2002; Caldeira *et al.*, 2006), as quais se traduzem num aumento da qualidade global da bebida (Caldeira *et al.*, 2006). São vastas as características da madeira que influenciam o produto final após envelhecimento. Trabalhos realizados nas últimas décadas têm evidenciado, para além da enorme variabilidade anátomo-estrutural e química das madeiras, uma importante influência de factores como a espécie botânica e origem geográfica, assim como das operações de tanoaria (secagem e tratamentos térmicos) nas características físico-químicas da madeira (Belchior *et al.*, 1998; Canas *et al.*, 1999; Canas *et al.*, 2000, Caldeira *et al.*, 2006), o que tem revelado importantes repercussões na qualidade e composição das aguardentes envelhecidas (Belchior *et al.*, 1998; Canas *et al.*, 1998; Canas *et al.*, 1999; Canas *et al.*, 2000; Caldeira, 2004; Caldeira *et al.*, 2002; Canas, 2003; Canas *et al.*, 2004).

A investigação científica tem sido centrada, fundamentalmente, nas espécies de carvalho provenientes de França (*Quercus. robur* Lineu. e *Quercus. Sessiliflora* Salibs) e dos Estados-Unidos (*Quercus. Alba* Linnaeus), existindo um menor conhecimento relativo às madeiras de outras proveniências ou a madeiras de outras espécies.

Segundo Caldeira (2004), os estudos conduzidos na Estação Vitivinícola Nacional (EVN), têm revelado as potencialidades dos carvalhos portugueses para o envelhecimento de vinhos e aguardentes. De igual modo, esses estudos revelaram o interesse e a possibilidade de utilização de outras madeiras, nomeadamente a madeira de castanheiro (*Castanea. sativa* Mill.) no envelhecimento de aguardentes.

A tecnologia de envelhecimento é uma técnica onerosa e morosa, devido ao custo das vasilhas e ao tempo de envelhecimento das aguardentes. De modo a minimizar este problema, tem-se recorrido a várias técnicas, nomeadamente à introdução de pedaços de madeira (aparas, tábuas ou de outras formas) na bebida a envelhecer condicionada em vasilhas de inox. Estas técnicas têm sido bastante estudadas no envelhecimento de vinhos, sendo já uma prática autorizada, enquanto que para as aguardentes os estudos têm sido menos e esta prática ainda não é autorizada. Durante o envelhecimento a aguardente extrai da madeira diversos compostos orgânicos de diferentes famílias químicas designadamente compostos furânicos, ácidos carboxílicos, fenóis voláteis, aldeídos fenólicos, lactonas, açúcares, ácidos fenólicos, cumarinas, lenhanas e taninos. Tendo em atenção que os primeiros resultados sobre a utilização de fragmentos de madeira em alternativa às vasilhas (Canas *et al.*, 2009a, Canas *et al.*, 2009b; Caldeira *et al.*, 2010), evidenciaram uma grande variabilidade das aguardentes em termos de compostos orgânicos extraídos da madeira, será importante estudar as modificações ocorridas nos biopolímeros, de modo a compreender aqueles resultados.

É objectivo deste trabalho avaliar a quantidade de extractivos em diclorometano, etanol e água que a madeira, aplicada sob a forma de fragmentos, que se perdeu no processo de envelhecimento de aguardentes vónicas. Pretende-se, também, avaliar se houve alguma perda de lenhina (solúvel e insolúvel) no mesmo processo, dado que não foi determinado analiticamente aquando do estudo das aguardentes envelhecidas.

2-Estado Actual do Conhecimento

2.1-Composição química da madeira com relevância para o envelhecimento das aguardentes

A madeira é muito heterogénea e apresenta grande variabilidade química que depende da espécie botânica, das práticas silvícolas e principalmente da estrutura anatómica da madeira (Severo *et al.*, 2006).

Os compostos da madeira são normalmente divididos em dois grandes grupos (Haluk & Irmouli, 1997):

- compostos de massa molecular elevada ou macromoleculares: celulose, hemicelulose e lenhina, são os principais constituintes da parede celular que estão presentes em quase todas as madeiras; (Klock *et al.*, 2005)
- compostos de massa molecular baixa, ainda divididos por compostos orgânicos (extractivos) e compostos inorgânicos (cinzas).

De um modo mais resumido, a Figura 1, apresenta os compostos da madeira.

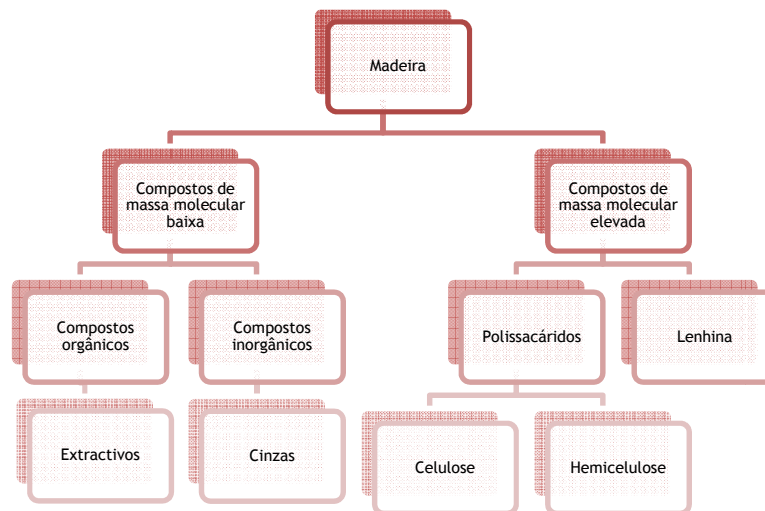


Figura 1 - Composição química da madeira (adaptado de Klock *et al.*, 2005)

Os compostos de massa molecular elevada são maioritariamente constituídos por polissacáridos, que engloba a celulose e a hemicelulose, pela lenhina e por proteínas (estas são quantitativamente pouco importantes).

2.1.1-Celulose

A celulose é o principal componente da parede celular das plantas pois representa cerca de 45% do peso seco da madeira. É um polissacarídeo de cadeia linear com um comprimento suficiente para ser insolúvel em solventes orgânicos, como a água e ácidos diluídos, constituído por unidades monoméricas de β -D-glucose que se ligam entre si através dos carbonos 1-4 (Morais *et al.*, 2005). Na Figura 2, apresenta-se a formação da molécula de celulose via eliminação de água (Sjöström, 1993)

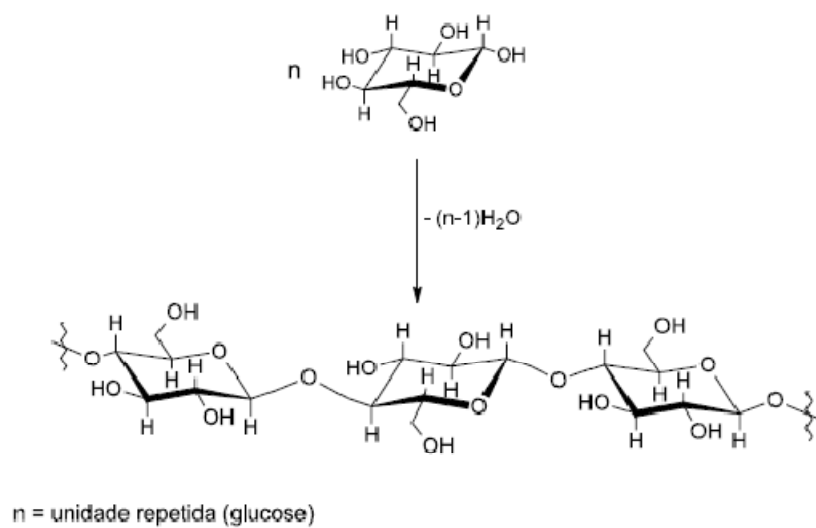


Figura 2 - Formação da cadeia de celulose pela união de unidades β -D-glucose.

A celulose forma microfibras rígidas, devido, por um lado, à estrutura com zonas cristalinas (regiões altamente ordenadas) e zonas amorfas (regiões menos ordenadas), e por outro às ligações por pontes de hidrogénio intra e intermoleculares (Sjöström, 1993).

2.1.2-Hemiceluloses

As hemiceluloses englobam polissacáridos de composição heterogénea, de estrutura mais ou menos ramificada, que constituem parte da estrutura das paredes celulares da madeira. Segundo (Santos, 2008), as hemiceluloses, apesar de serem polissacáridos, diferem da celulose por serem constituídas por várias unidades de açúcares unidas por ligações glicosídicas e por apresentarem uma estrutura ramificada. Segundo Sjöström & Alén (1999), estes polissacáridos podem facilmente sofrer hidrólise

nos monómeros que os constituem, principalmente açúcares como a glucose, manose, galactose, xilose, arbinose, ramnose e ácidos urónicos (Figura 3).

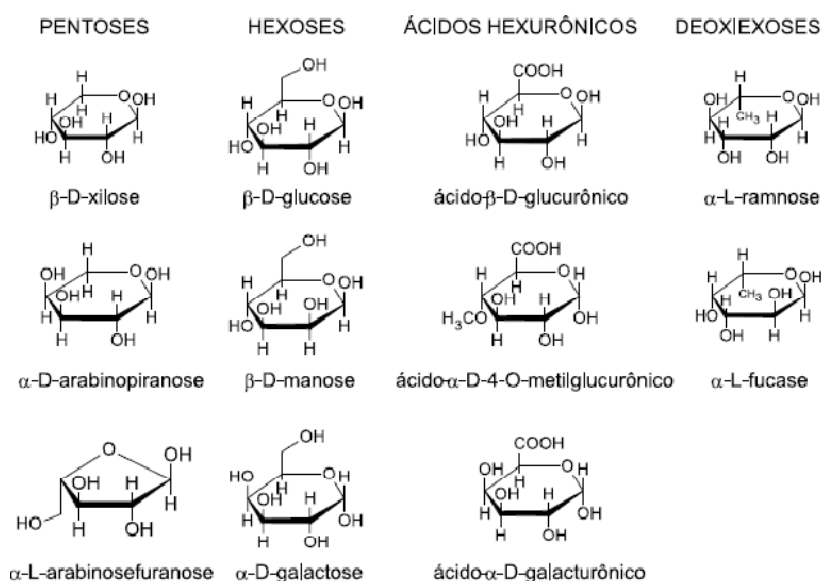


Figura 3 - Açúcares que compõem as unidades de hemiceluloses (Sjöström, 1993).

Isoladas das madeiras, as hemiceluloses apresentam-se como misturas complexas de polissacarídeos, sendo as mais importantes as glucoxilanas, arabinoglucoxilanas, glucomananas, arabinogalactanas e galactoglucomananas (Morais *et al.*, 2005) (Figura 4). Portanto, o termo hemiceluloses não designa um composto químico, mas sim uma classe de componentes poliméricos presentes em vegetais fibrosos, possuindo cada componente propriedades peculiares. O seu teor e proporção na madeira varia segundo a espécie botânica, assim como a celulose e a lenhina (Santos, 2008).

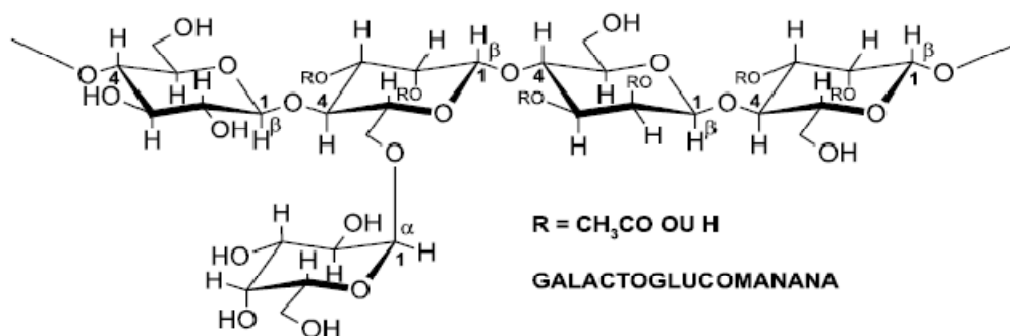


Figura 4 -Estrutura representativa de uma hemicelulose, a galactoglucomanana (Sjöström, 1993).

2.1.3-Lenhina

A lenhina é o terceiro constituinte macromolecular, sendo normalmente o segundo em termos quantitativos, pois representa 15 a 35% do peso seco da madeira. A lenhina presente nas paredes celulares das plantas está directamente associado à celulose e hemicelulose, é um polímero muito estável e difícil de isolar, formado por ligações cruzadas, existindo em várias formas, o que leva a que a sua configuração no interior da madeira permaneça desconhecida (Haygreen & Bowyer, 1996). A lenhina é responsável, em parte, pela resistência mecânica das madeiras e pelo sistema de transporte interno de água e nutrientes (Philipp & D'Almeida, 1988 citado por Morais *et al.*, 2005). As suas estruturas básicas são muito diferentes consoante se trata de madeira de fibras longas (resinosas) ou madeira de fibras curtas (folhosas ou gramíneas).

Ao contrário da celulose que ocorre em todas as plantas a lenhina ocorre apenas nas plantas vasculares, as quais desenvolvem tecidos especializados em funções de transporte de soluções aquosas e suporte mecânico. É ela que confere as propriedades de elasticidade e resistência à madeira.

A lenhina é um constituinte da parede celular, formada a partir de monómeros constituídos por um anel fenólico ligado a uma cadeia de três carbonos com um grupo hidroxilo (álcool) no carbono terminal da cadeia. Estes monómeros são designados por unidades por unidades fenilpropanólicas e distinguem-se pela ausência de substituições metóxilo no anel fenólico (álcool cumarílico) ou pela presença de um grupo metóxilo (álcool coniferílico) ou dois grupos metóxilo (álcool sinapílico) substituídos. Estes monómeros são muitas vezes mencionados fazendo apenas alusão à parte fenólica que os distingue pelas designações de hidroxifenilo (sem metóxilos), guaiacilo (um substituinte metóxilo), e siringilo (dois grupos metóxilo), que podem ser abreviadas pelas letras H, G e S, respectivamente (Rodrigues *et al.*, 1999; Sjöström, 1993; Barbosa *et al.*, 2008) e estão representados na Figura 5.

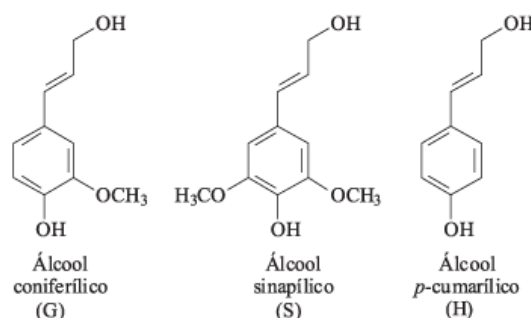


Figura 5 - Álcoois precursores das unidades fenilpropanólicas: guaiacilo (G), siringilo (S) e hidroxifenilo (H) (Barbosa *et al.*, 2008).

Os teores de grupos álcoois e metoxílos diferem consoante o tipo de madeira (Klock *et al*, 2005), nas madeiras das gimnospérmicas predominam unidades de guaiacilpropano e nas angiospérmicas para além deste aparece também os unidades de siringilpropano. A Figura 6 ilustra genericamente a molécula de lenhina.

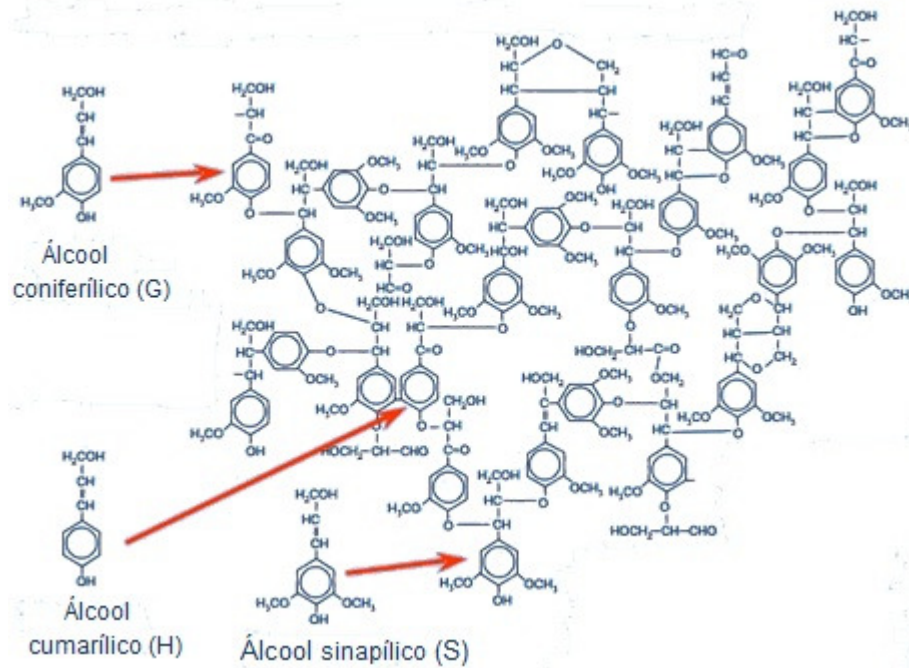


Figura 6 – Estrutura da molécula de lenhina (adaptado de Koning, 1994)

As massas moleculares dos derivados solúveis de lenhina situam-se num intervalo bastante amplo. De certo modo, a molécula de lenhina pode ser reduzida a tamanhos suficientemente pequenos para ser considerada um composto químico com comportamentos de compostos solúveis ou suficientemente grandes para ter o comportamento de um alto polímero (Klock *et al*, 2005).

Os valores em teores de lenhina diferem entre folhosas e resinosas, sendo as resinosas a apresentar valores mais elevados, contudo nas folhosas a variabilidade é maior (Klock *et al*, 2005).

De acordo com o método clássico de Klason, a solução de ácido sulfúrico a 72% reage em primeiro lugar com os extractivos livres nas amostras de madeiras, os polissacáridos são hidrolisados e dissolvidos, permanecendo os resíduos sólidos de lenhina. A solução é filtrada para separar a parte insolúvel, resíduos sólidos que ficam retidos no cadinho, da solúvel, que está contida na solução filtrada. A determinação da lenhina insolúvel (Lenhina Klason – LK) é feita com base na massa seca dos resíduos não filtrados, enquanto a lenhina dissolvida (LS) durante a hidrólise é determinada por

espectrometria UV (ultravioleta), com um comprimento de onda de 205 nm (Sjöström & Alén, 1999). A lenhina total é a soma da insolúvel com a solúvel.

2.1.4-Extractivos

Relativamente aos compostos de massa molecular baixa, apenas se abordará os extractivos por estarem directamente relacionados com o presente trabalho, embora as cinzas também estejam englobadas neste grupo.

Os extractivos englobam compostos químicos não estruturais de muitas famílias químicas (Freitas *et al.*, 2005) que se encontram na madeira das árvores, representando entre 4 e 10% da massa total da madeira seca. Apesar da sua baixa representação quantitativa, eles são muito importantes, nomeadamente na durabilidade natural das madeiras. O grupo de compostos orgânicos da madeira, comuns a todos os vegetais, é constituído por ácidos gordos, álcoois, glúcidos, compostos terpénicos, norisoprenóides, carotenóides, esteróides e lactonas. A madeira ainda possui uma vasta família de compostos fenólicos (Masson *et al.*, 1996). Canas & Caldeira (2009) destacaram a importância dos compostos fenólicos da madeira devido ao seu envolvimento: a) nalgumas das propriedades mais importantes da madeira, condicionando a sua aptidão para a tanoaria; b) nas características físico-químicas e organolépticas de vinhos e aguardentes que contactem com a madeira, contribuindo por isso para a sua diferenciação; c) na avaliação da genuinidade e da qualidade das aguardentes, como marcadores do envelhecimento em madeira; d) nos potenciais efeitos benéficos para a saúde humana, com especial incidência em doenças cardiovasculares, doenças neurodegenerativas, tumores e distúrbios gastro-intestinais.

Os extractivos da madeira podem ser classificados de acordo com a sua função e localização na árvore e também de acordo com a sua polaridade e solubilidade nos diferentes solventes (Sjöström & Alén, 1999). É utilizado o termo “extractivos” para identificar componentes não estruturais da madeira que podem ser extraídos com solventes neutros e classificados como lipofílicos (insolúveis em água) ou hidrofílicos (solúveis em água) (Fengel & Wegener, 1989; Sjöström, 1993). Os extractivos lipofílicos são também chamados de resina da madeira e podem ser extraídos através de solventes orgânicos (éter-dietílico, éter de petróleo, diclorometano, acetona, etanol, metanol, tolueno). Os solventes não polares como o diclorometano extraem compostos não polares como gorduras, compostos resínicos e fenólicos menos polares. Os solventes mais polares como o etanol extraem compostos mais polares como açúcares ou compostos fenólicos mais polares (Freitas *et al.*, 2005). A mistura de etanol - benzeno

permite extrair gorduras, algumas resinas, assim como alguma goma da madeira; a água quente é usada na extracção de taninos, gomas, açúcares e substâncias corantes.

Existem diversos métodos para isolar os extractivos, contudo a extracção em amostras sólidas é, geralmente, feita utilizando os extractores Soxhlet ou Soxtec (Sitholé et al., 1991). Comparativamente, o sistema Soxtec requer menos tempo, menor quantidade de solvente para a extracção e permite a extracção de seis amostras simultaneamente. No entanto, os valores obtidos do sistema Soxtec podem ser ligeiramente inferiores relativamente aos obtidos no sistema Soxhlet, mas quando se executam duplas extracções, os valores são praticamente idênticos. Recentemente, o novo sistema de extracção ASE (Accelerated Solvent Extraction), que combina os solventes com elevadas temperaturas e pressões, permite uma extracção rápida e eficiente utilizando uma menor quantidade de solvente que as técnicas tradicionais. A extracção gravimétrica requer uma quantidade muito grande de amostra (cerca de 10 g), sendo este um método que tem vindo a ser substituído por outros métodos mais sensíveis que requerem menos tempo e menor quantidade de amostra para a extracção (Sjöström & Alén, 1999).

Os compostos extraíveis de natureza orgânica, da madeira de carvalho, integram, um vasto número de compostos de diferentes famílias químicas: compostos fenólicos designadamente lenhanas (Masson *et al.*, 1996; Nabeta *et al.*, 1987; Seikel *et al.*, 1971); cumarinas (Masson *et al.*, 1996; Puech & Moutonet, 1988; Chatonnet, 1995a), taninos (Monties, 1992; Mayer *et al.*, 1967; Nonaka *et al.*, 1990; Hervé du Penhoat *et al.*, 1991); ácidos fenólicos (Puech *et al.*, 1989; Canas, 2003), aldeídos fenólicos (Marco *et al.*, 1994, Artajona, 1991, Chatonnet *et al.*, 1989; Nomdedeu *et al.*, 1988; Canas, 2003), ácidos gordos (Chen, 1970; Nishimura *et al.*, 1983; Nabeta *et al.*, 1986); Chatonnet, 1995a), fenilcetonas (Maga, 1985; Chatonnet *et al.*, 1989) e fenóis voláteis (Dubois, 1989; Chatonnet, 1995a; Nabeta *et al.*, 1986; Nishimura *et al.*, 1983), ácidos alifáticos e álcoois (Fengel e Wegener, 1989; Chatonnet, 1995a; Chatonnet & Dubourdiou, 1998; Caldeira *et al.*, 2006), glúcidos (Weissman *et al.*, 1989; Reazin, 1983), compostos terpénicos (Nabeta *et al.*, 1986), noisoprenoides (Nishimura *et al.*, 1983; Sefton *et al.*, 1990) e lactonas (Masuda & Nishimura 1971; Nabeta *et al.*, 1986; Marco *et al.*, 1994; Clímaco, 1987; Clímaco *et al.*, 1990; Clímaco & Borralho 1996; Caldeira *et al.*, 2006), aldeídos furânicos (Nabeta *et al.*, 1986; Marsal e Sarre, 1987; Chatonnet *et al.*, 1989; Marco *et al.*, 1994; Gétaz *et al.*, 1996; Garcia-Romero *et al.*, 1998; Perez-Coello *et al.*, 1999; Masson *et al.*, 2000, Artajona 1991) carotenóides (Masson *et al.*, 1997), esteróides (Masson *et al.*, 1996).

Embora com menos estudos, foram igualmente identificados nos extractivos de madeira de castanheiro diferentes famílias químicas: compostos fenólicos nomeadamente taninos (Mayer *et al.*, 1967; Viriot *et al.*, 1994; Canas, 2003), ácidos fenólicos (Canas *et al.*, 2000); aldeídos fenólicos (Canas *et al.*, 2000; Canas 2003); cumarinas (Canas, 2003) e fenois voláteis (Clímaco & Borralho, 1996; Canas, 2003); aldeídos furânicos (Clímaco & Borralho, 1996; Canas, 2003; Caldeira *et al.*, 2006); ácidos (Clímaco & Borralho, 1996; Caldeira, 2004; Caldeira *et al.*, 2006;) e álcoois (Clímaco & Borralho, 1996; Caldeira, 2004; Caldeira *et al.*, 2006).

Factores como a espécie botânica e origem geográfica das madeiras, bem como as operações tecnológicas realizadas na tanoaria designadamente a secagem das pranchas e o tratamento térmico das vasilhas, aquando do seu fabrico, afectam de modo significativo a composição da madeira e conseqüentemente a sua composição em extractivos, conforme é sintetizado em Canas (2003) e Caldeira (2004).

2.2-O efeito da composição da madeira no envelhecimento de Aguardente

O envelhecimento da aguardente envolve obrigatoriamente um período em que a aguardente permanece numa vasilha de madeira que pode ter diferentes dimensões. Durante este estágio a aguardente sofre várias transformações físico-químicas, as quais resultam na obtenção de um produto com características sensoriais muito diferentes das apresentadas pelo destilado, à saída do equipamento de destilação.

A composição química da aguardente envelhecida é influenciada por diversos factores designadamente as características do destilado e, principalmente, as condições em que se processa o envelhecimento nomeadamente as características da vasilha de madeira utilizada, condições de envelhecimento e operações tecnológicas efectuadas durante o envelhecimento.

Embora os mecanismos ocorridos durante o envelhecimento não se encontrem totalmente esclarecidos, aceita-se que os principais os fenómenos implicados no envelhecimento são os seguintes (Baldwin *et al.*, 1967; Puech *et al.*, 1985; Nishimura & Matsuyama, 1989; Singleton, 1995): i) extracção directa dos constituintes da madeira; ii) decomposição dos biopolímeros que formam a malha lenho-celulósica da madeira, seguida de transferência para o destilado; iii) reacções químicas entre os compostos da madeira e do destilado; iv) reacções químicas envolvendo apenas os compostos

extraídos da madeira; v) reacções químicas entre os compostos do destilado; vi) concentração dos compostos não voláteis e evaporação dos compostos mais voláteis da aguardente; vii) formação de agregados estáveis entre a água e o etanol, sendo que os mais estudados têm sido a extracção directa dos constituintes bem como a decomposição de alguns biopolímeros.

Vários trabalhos têm mostrado e evidenciado o enriquecimento da aguardente em compostos da madeira durante o envelhecimento. Assim, a aguardente vínica destilada extrai da madeira vários compostos, designadamente açúcares (Belchior & Carneiro, 1972; Marché *et al.*, 1975; Cantagrel *et al.*, 1992), ácidos fenólicos (Guymon, 1970; Belchior & Carneiro, 1972; Joseph & Marché 1972; Puech, 1978; Puech *et al.*, 1984; Viriot *et al.*, 1993; Canas, 2003) cumarinas (Bricout, 1971; Joseph & Marché, 1972; Delgado & Gomes-Cordoves, 1987; Puech, 1992) lenhanas (Nabeta *et al.*, 1987; Rabier & Moutounet, 1991), taninos (Guymon, 1970; Puech *et al.*, 1985; Viriot *et al.*, 1993), aldeídos furânicos (Onishi *et al.*, 1977; Rabier & Moutounet, 1991; Canas, 2003; Caldeira, 2004), fenóis voláteis (Artajona, 1991); aldeídos fenólicos (Viriot *et al.*, 1993; Puech *et al.*, 1994; Canas, 2003; Caldeira, 2004). Muitos destes compostos encontram-se bem identificados como odorantes-chaves das aguardentes existindo por isso uma relação entre os seus teores nas aguardentes e o perfil de aroma das aguardentes (Caldeira *et al.*, 2008).

Das macromoléculas da madeira, a lenhina tem sido a que tem merecido mais atenção e estudo, dado que a sua degradação poder originar vários compostos fenólicos, com importância para o aroma e sabor das bebidas alcoólicas.

Os trabalhos realizados (Baldwin *et al.*, 1967; Puech *et al.*, 1977; Reazin, 1981; Puech, 1978; Nishimura *et al.*, 1983) sugerem a existência de várias vias para a extracção e degradação da lenhina. Assim, para além da degradação térmica ocorrida aquando do fabrico da vasilha que resulta no aparecimento de ácidos e aldeídos fenólicos assim como de fenóis voláteis, que podem ser extraídos pela aguardente durante o envelhecimento, apenas uma pequena percentagem da lenhina é extraída pela aguardente durante o envelhecimento (3 a 5%) (Puech, 1984; Puech & Goffinet, 1987; Puech *et al.*, 1985). Esta extracção vai aumentando em função do tempo, segundo uma função de potência (Puech *et al.*, 1985), parece incidir mais sobre as lenhinas ricas em unidades guaiacilo (Viriot *et al.*, 1993).

Para além dessa solubilização da lenhina, a sua degradação durante o envelhecimento contribui para o enriquecimento da aguardente ao longo do envelhecimento. De acordo com os trabalhos efectuados por diversos autores, admite-se a existência de um mecanismo de hidroalcoólise à temperatura ambiente, num meio

oxidante e ácido, e que resulta no aparecimento de aldeídos e ácidos fenólicos (Puech & Sarni, 1990; Nishimura *et al.*, 1983).

No que respeita às hemiceluloses não se conhece exactamente o mecanismo da sua eventual degradação durante o envelhecimento. Admite-se que os açúcares identificados em aguardentes envelhecidas em carvalho, nomeadamente arabinose, xilose, glucose, ramnose, fucose e frutose (Belchior & Carneiro, 1972; Marché *et al.*, 1975; Cantagrel *et al.*, 1992), resultarão da degradação das hemiceluloses, uma vez que estas são facilmente hidrolisáveis em meio ácido (Fengel & Wegener, 1989). Os resultados sugerem que primeiramente se formam dissacáridos ou oligómeros e que ocorrerá uma hidrólise posterior (Reazin, 1981; Nykanen *et al.*, 1985).

Assim a composição química da aguardente vai-se modificando durante o envelhecimento, sendo essa modificação condicionada por vários factores, sendo o tipo de madeira da vasilha designadamente a espécie botânica e tratamento térmico das vasilhas, aquando do seu fabrico, um dos factores com particular importância (Guymon & Crowell, 1970; Onishi *et al.*, 1977; Artajona, 1991; Rabier & Moutounet, 1991; Puech *et al.*, 1992; Viriot *et al.*, 1993, Guichard *et al.*, 1995; Canas *et al.*, 1999; Belchior *et al.*, 2001; Canas, 2003; Caldeira, 2004).

Por outro lado a utilização de sistemas alternativos de envelhecimento, designadamente aplicação de fragmentos de madeiras (dominós e tábuas) na aguardente parecem originar aguardentes com uma composição química muito diferenciada, em relação ao sistema tradicional, em que a aguardente é colocada em vasilha de madeira. (Canas *et al.*, 2009; Caldeira *et al.*, 2010).

Entre os compostos não voláteis frequentemente identificados na madeira de Carvalho e Castanheiro encontram-se compostos fenólicos, nomeadamente as curaminas, os ácidos fenólicos e os taninos entre outros (Canas, 2003).

Assim, é necessário compreender melhor quais os compostos não voláteis que a madeira perde durante o processo de envelhecimento de modo a explorar outras técnicas analíticas para caracterização dos compostos presentes nas aguardentes e consequentemente caracterizar melhor as suas alterações sensoriais.

2.3-Utilização de fragmentos de madeira no envelhecimento de vinhos e aguardentes

A tecnologia de envelhecimento é uma técnica onerosa e morosa, devido, por um lado, à necessidade de recorrer à indústria de tanoaria e por outro ao tempo de envelhecimento das aguardentes. Neste sentido têm vindo a ser introduzidas e desenvolvidas novas técnicas com o objectivo de otimizar e reduzir os custos associados a esta tecnologia. Uma dessas novas técnicas consiste em introduzir pedaços de madeira (aparas, tábuas ou de outras formas) na bebida a envelhecer condicionada em vasilhas de inox.

Têm-se realizado vários estudos em vinhos (Arapitsas *et al.*, 2004; Clímaco. *et al.*, 2004; Clímaco *et al.*, 2006; Eiriz *et al.*, 2007; Frangipane *et al.*, 2007; Nevares & Del Álamo, 2008; Sartini *et al.*, 2007; Del Álamo *et al.*, 2008; Pérez-Magariño *et al.*, 2009), sendo esta prática regulamentada a nível europeu pelo Regulamento (CE) Nº 1507/2006.

Frangipane *et al.* (2007) investigaram as diferenças de variação nas características qualitativas do vinho, durante a sua maturação, avaliando o efeito da origem geográfica da espécie botânica e do sistema de envelhecimento. Para tal, utilizaram madeira de carvalho de quatro florestas francesas e três tipos de sistemas de envelhecimento (vasilhas novas, vasilhas usadas 7 meses e vasilhas usadas 12 meses + dominós de madeira). Este estudo revelou que para a maioria das amostras se observava uma maior libertação de compostos nas vasilhas novas, contudo para o 5-hidroxiacetilfurfural, furfural, cis- β -metil- γ -octalactona e trans- β -metil- γ -octalactona obtiveram maiores concentrações nas vasilhas usadas 12 meses + dominós de madeira, mas os compostos fenólicos e a cor do vinho não foram afectados pelos diversos sistemas de envelhecimento. Também confirmaram a influência da origem geográfica no envelhecimento.

Durante o mesmo período, Sartini *et al.* (2007) estudaram a influência da utilização de dominós de madeira, borras de vinho e micro-oxigenação na composição fenólica do vinho durante o seu envelhecimento. Os factores foram analisados individualmente e em todas as combinações possíveis entre eles. Assim, o uso de dominós provoca pequenas alterações na composição fenólica do vinho, enquanto que a combinação de dominó x micro-oxigenação influencia significativamente o aumento da cor do vinho, mesmo que o nível de pigmentos monoméricos determinados tenha sido baixo. Embora a combinação dominós x borras x micro-oxigenação não tenha afectado muito a composição de compostos fenólicos, foi a que mais contribuiu para o aumento da cor e dos pigmentos poliméricos vermelhos. A aplicação de tecnologias diferentes

durante o processo de envelhecimento afectou a composição do vinho, sendo a micro-oxigenação a mais estável.

Do mesmo modo, Del Álamo *et al.* (2008) compararam diferentes sistemas de envelhecimento do vinho, o sistema tradicional (vasilhas) e em depósitos de aço inoxidável com fragmentos de madeira dentro (dominós e aduelas) e 3 espécies de carvalho (*Quercus sessiliflora*, *Quercus robur*, *Quercus alba*) de origens geográficas diferentes (França, Hungria, Estado Unidos da América). Estes investigadores concluíram que, nos primeiros seis meses de envelhecimento, os vinhos adquirem mais características à medida que alteramos os sistemas de envelhecimento de depósitos de aço inoxidável com dominó, para depósitos de aço inoxidável com aduelas e finalmente para as vasilhas, esta diferença é cada vez mais notória quanto maior é o tempo de envelhecimento.

Em 2009, Pérez-Magariño e os seus colaboradores, analisaram a variação de compostos fenólicos, antiocianinas individuais e os parâmetros da cor para estudar o efeito da forma da madeira, da variedade da casta, da micro-oxigenação e do tempo de envelhecimento no vinho tinto. Assim, embora o factor variedade da uva fosse o que maior influência teve sobre a maioria dos parâmetros e compostos avaliados, foi o tratamento de micro-oxigenação o factor que mais influenciou a composição fenólica e a cor do vinho, a contrastar com o menor efeito sobre estes parâmetros que se verificou no factor forma da madeira, resultado que veio corroborar o obtido por Frangipane *et al.* (2007).

No que respeita às aguardentes a adição de fragmentos ainda não é uma prática autorizada, nem regulamentada.

Os primeiros estudos em aguardentes foram realizados em Portugal (Almeida, 2002; Belchior *et al.*, 2003). Os autores estudaram vários factores: espécies botânicas (o carvalho e o castanheiro), formas de madeira (toros e micro-aparas), arejamento (com ou sem oxigenação) e tempo (várias amostragens ao longo do envelhecimento) para determinar, a uma escala laboratorial, a cinética de extracção dos compostos fenólicos de madeiras utilizadas no envelhecimento de aguardentes. Concluíram que o enriquecimento da aguardente em polifenóis totais e intensidade de cor ocorre nas primeiras horas; relativamente ao índice de polifenóis totais (Ipt) e à intensidade da cor, as micro-aparas apresentaram uma cinética tipo logarítmica e os toros uma cinética tipo polinomial; o factor espécie teve elevada significância para distinguir a aguardente quanto à concentração de ácido gálgico; quanto ao factor forma, os toros conferiram maior teores dos constituintes analisados à aguardente com que estiveram em contacto do que as micro-aparas.

Mais recentemente, Caldeira *et al.* (2010) e Canas *et al.* (2010) também estudaram diferentes sistemas de envelhecimento de aguardentes víquicas, o sistema tradicional em vasilha de madeira e dois sistemas alternativos que consistiam na aplicação de fragmentos de madeira (dominós e aduelas) de duas espécies de madeira Carvalho Limousin e Castanheiro Português a uma aguardente colocada em recipientes de inox. Foram avaliadas as alterações sensoriais e as alterações químicas designadamente o extracto seco, o índice de polifenóis totais, os compostos de massa molecular baixa, o teor de oxigénio dissolvido e as características cromáticas da aguardente. O sistema de envelhecimento afectou o perfil sensorial das aguardentes, verificando-se que as aguardentes envelhecidas em dominós parecem mais evoluídas do que as envelhecidas em vasilhas de madeira e que as aguardentes envelhecidas com tábuas apresentam uma situação intermédia. Os resultados obtidos demonstram também que a composição química e a evolução da cor das aguardentes víquicas envelhecidas são fortemente condicionadas pelo sistema de envelhecimento (Canas *et al.* 2010; Caldeira *et al.*, 2010). Segundo Canas *et al.* (2010), o teor oxigénio dissolvido nas aguardentes está de acordo com o índice de polifenóis totais e com o extracto seco, logo o oxigénio é determinante na composição química da aguardente.

3-Material e Métodos

Este trabalho surge na continuidade de um projecto em curso no INIA-Dois Portos/INRB, IP “*Envelhecimento de aguardente vínica em vasilhas de madeira versus depósitos de inox com adição de madeira*” em que se avaliou a influência de diferentes sistemas de envelhecimento em madeira de duas espécies diferentes Carvalho francês da região de Limousin e Castanheiro português, na composição química das aguardentes vínicas durante um período de 30 meses. Neste trabalho irão ser estudados os fragmentos de madeira (tábuas com 40 cm x 10cm x 3 cm ou 17 cm x 10 cm x 3 cm e dominós 7 cm x 3 cm x 0,8 cm) após contacto de 30 meses com a aguardente em depósitos de aço inoxidável de 40 L (Figura 7).

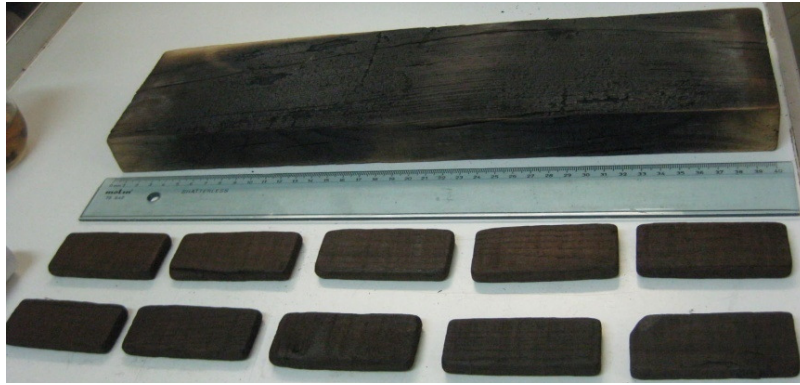


Figura 7 - Diferença de dimensões entre as formas de madeiras utilizadas

Foram igualmente analisadas amostras dos mesmos fragmentos que não estiveram em contacto com a aguardente. Assim, serão avaliadas 8 modalidades de acordo com a Figura 8.

O número de tábuas e dominós colocados nos depósitos de inox foi calculado de modo a ser representativo da relação superfície/volume de uma vasilha de 650L (57 cm²/L).

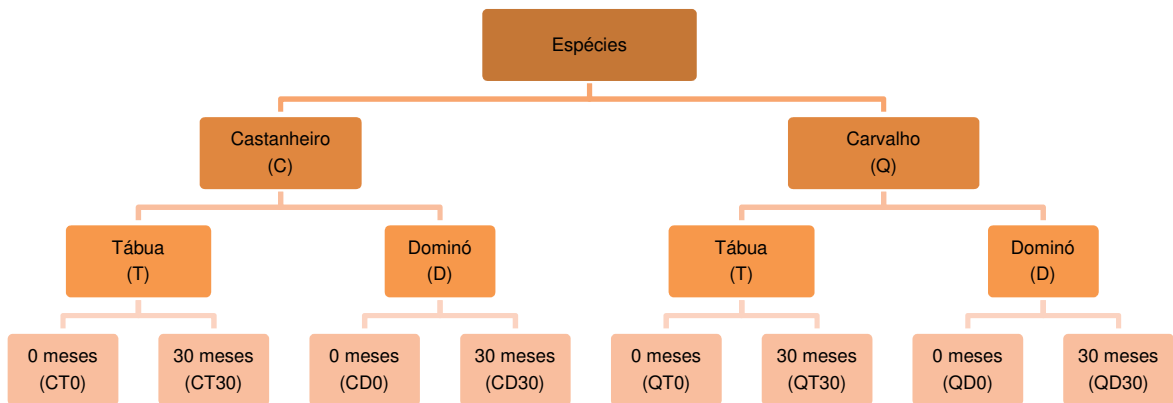


Figura 8 - Delineamento experimental.

Para cada uma das modalidades foram efectuadas 4 repetições. O valor base de 4 repetições de cada amostra foi escolhido com base em trabalhos previamente publicados (Silvestre *et al.*, 1999).

Todas as amostras em estudo, depois de secas, foram reduzidas a fragmentos mais pequenos de modo a serem maceradas à dimensão de 1mm, no moinho de lâminas em forma de hélice, Retsch SM2000, e crivadas num aparelho vibratório por diferentes classes de tamanhos, sendo a classe dos 60 a 40 mesh a utilizada para determinar o teor de extractivos e a lenhina de Klason.

3.1-Determinação do teor humidade

Para determinar o teor de humidade recorreu-se ao aparelho Metter Toledo MJ33 Infrared Moisture Analyzer (Figura 9).

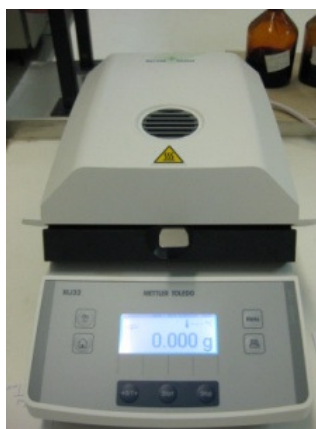


Figura 9 - Metter Toledo MJ33 Infrared Moisture Analyzer

Este aparelho permite pesar as amostras, secá-las, e determinar o teor de humidade de cada amostra, em aproximadamente 10 min, proporcionando um ganho temporal relativamente ao método segundo a Norma NP-614. Serão pesadas aproximadamente 2,5 g de massa húmida para determinar o teor de humidade e posteriormente utilizadas 2 g de massa seca para o teor de extractivos. Utilizou-se a massa seca de cada amostra, de modo a eliminar a variabilidade existente na massa húmida devido à humidade inerente a cada amostra.

3.2-Determinação do teor de extractivos

A determinação do teor de extractivos foi efectuada no aparelho Soxtec System HT 1043 Extraction Unit (Figura 10) com três solventes, sucessivos, com polaridades diferentes: o diclorometano, o etanol e água, segundo a norma Tappi t204 cm-07. Sendo o primeiro solvente um solvente não polar que extraí compostos não polares como gorduras, compostos resínicos e fenólicos menos polares, o segundo, um solvente mais polar extraí compostos mais polares como açúcares ou compostos fenólicos mais polares e por último a água quente que é usada na extracção de taninos, gomas, açúcares e substâncias corantes.



Figura 10 - Aparelho Soxtec System HT 1043 Extraction Unit

Pesou-se 2 g de cada amostra seca para os respectivos cartuchos de algodão, devidamente tarado e identificados, que foram selados com algodão e colocados no Soxtec. Mediu-se 40 ml de diclorometano para cada copo de alumínio, previamente pesados e identificados e colocaram-se na placa do Soxtec aquecida a 110°C. A extracção ocorreu durante 1h30min (1h com as amostras imersas no solvente na posição

de ebulição “boiling” e 30 min com as amostras emersas na posição de lavagem “rinsing”. Após este período, retiraram-se os copos de alumínio com os extractivos com o diclorometano e os cartuchos de algodão do aparelho e colocaram-se na estufa a 105° durante cerca de 30 e 20 mim, respectivamente. Posteriormente, os copos foram colocados no excicador mais 30 min e pesados. As amostras nos cartucho de algodão, após a secagem colocaram-se de novo no aparelho. Durante o período de permanência das amostras na estufa, recuperou-se o diclorometano utilizado para deixar livre o aparelho para as análises seguintes. Este procedimento foi repetido para o etanol e para a água, aumentando apenas a temperatura da placa para 160°C e 200°C, respectivamente.

No final das três extracções, cada amostra extraída foi colocada numa estufa a 40°C durante 24 horas. O material seco foi guardado para a determinação dos teores de lenhina.

Para determinação da percentagem de extractivos por solvente foi utilizada a seguinte fórmula:

$$Extractivos(\%) = \frac{P_{cr} - P_c}{ms} \times 100$$

Em que:

P_{cr} – massa do copo de alumínio com o resíduo seco, expresso em gramas;

P_c – massa do copo de alumínio, expresso em gramas;

ms – massa seca da amostra, expressa em gramas.

A percentagem total de extractivos calcula-se através da soma dos extractivos para cada solvente.

3.3-Determinação do teor de lenhina de Klason

Na determinação da lenhina foi ser utilizado o protocolo segundo o método de Klason (Tappi t222 om-06), em que as amostras de madeira extractáveis são tratadas com ácido sulfúrico a 72%.

Na determinação da lenhina Klason, pesou-se 0,333 g de cada amostra extractada seca, recorrendo ao aparelho Metter Toledo MJ33 Infrared Moisture Analyzer,

para gobelés de 100 ml. Juntou-se 5 ml de ácido sulfúrico a 72 % e macerou-se o material muito bem com a ajuda de uma vareta de vidro. Os gobelés com as amostras foram mantidos em banho com uma temperatura entre 18 °C a 20 °C, durante duas horas, mexidos a cada 5 min, para uma primeira hidrólise. De seguida, transferiu-se as amostras para Schott's de 500 ml, previamente tarados, per fez-se, com água destilada, um peso de 193,5 g, e colocou-se na autoclave durante uma hora a 120 °C para uma segunda hidrólise. Posteriormente os schott's foram retirados da autoclave e foi verificado e acertado o peso para as 193,5 g.

Procedeu-se depois à filtração por gravidade (Figura 11) do material contido na solução, utilizando cadinhos G3, previamente tarados. Os cadinhos com o material filtrado foram colocados na estufa a 103 ± 2 °C durante 24 horas sendo, após este período, colocados num excicador durante 30 min e pesados.



Figura 11 - Filtração por gravidade das amostras hidrolisadas.

Para calcular a lenhina insolúvel recorreu-se às fórmulas seguintes:

$$\text{Lenhina Klason (\%)} = \frac{Pr}{Ms} \times 100$$

$$Pr = Pca - Pc$$

$$Ms = Pa \times \frac{Ps}{100}$$

Em que:

Pr – massa do resíduo seco, expresso em gramas;

Ms – massa seca da amostra, expressa em gramas;

Pca – massa do cadinho com a amostra, expresso em gramas;

Pc – massa do cadinho, expresso em gramas;

Pa – massa da amostra, expresso em gramas;

Ps – massa seca da amostra, expresso em gramas;

A lenhina solúvel é medida na solução, após a filtração da lenhina insolúvel, através de um espectrofotómetro de ultra violeta, utilizando um comprimento de onda de 205 nm. Para a sua determinação recorreu-se à seguinte expressão:

$$LS(\%) = \frac{A. Vi. f}{\varepsilon. Ms} \times 100$$

Em que:

A – absorvência a 205 nm;

ε – 110 lg-1 x absorvência específica-1

Vi – volume inicial

f - factor de diluição

Ms – massa seca, expressa em gramas (já calculada para a LK)

4- Resultados e Discussão

4.1-Teor de extractivos

Os compostos extraíveis da madeira têm grande influência nas propriedades e qualidades tecnológicas da madeira. Na Tabela 1 estão representados os valores médios obtidos no teor de extractivos, para os três solventes utilizados e extractivos totais, para cada amostra.

Tabela 1 – Valores médios percentuais do teor de extractivos, para os três solventes, das amostras em estudo (média \pm desvio padrão).

Código da amostra	Diclorometano (%)	Etanol (%)	Água (%)	Extractivos Totais (%)
QT0	0,61 \pm 0,07	9,10 \pm 0,73	5,12 \pm 0,70	14,83 \pm 1,5
QD0	0,66 \pm 0,11	10,21 \pm 1,83	4,82 \pm 3,59	15,68 \pm 5,53
CT0	0,43 \pm 0,05	11,34 \pm 1,39	6,23 \pm 1,28	18,00 \pm 2,73
CD0	0,67 \pm 0,10	15,81 \pm 1,01	2,38 \pm 0,46	18,85 \pm 1,57
QT30	0,40 \pm 0,02	6,07 \pm 0,13	4,82 \pm 0,20	11,29 \pm 0,35
QD30	0,34 \pm 0,01	3,39 \pm 0,11	1,57 \pm 0,08	5,30 \pm 0,21
CT30	0,33 \pm 0,02	5,77 \pm 0,10	6,13 \pm 0,61	12,23 \pm 0,73
CD30	0,21 \pm 0,02	3,49 \pm 0,49	1,39 \pm 0,55	5,09 \pm 1,05

Para melhor compreensão dos valores obtidos efectuou-se também a representação gráfica (Figura 12) dos valores da Tabela 1. Os compostos extraíveis totais das madeiras não utilizadas no envelhecimento variam entre 15 a 19%, valores um pouco superiores aos da bibliografia (Fengel & Wegener, 1989) que referem cerca de 10%. Este resultado deve resultar do facto de serem madeiras submetidas a queima forte, dado que o aumento da intensidade da queima se traduz num aumento do teor de vários compostos extraíveis (Canas *et al.*, 1999; Canas, 2003; Caldeira *et al.*, 2006).

Pela análise da Figura 12 constata-se que amostras que foram utilizadas como controlo, ou seja as não tinham estado ainda em contacto com as aguardentes, apresentam valores de extractivos mais elevados do que as restantes. Estes resultados seriam de esperar e confirmam a extracção de compostos que ocorre durante o envelhecimento, conforme se referiu anteriormente (*vide* 2.2.).

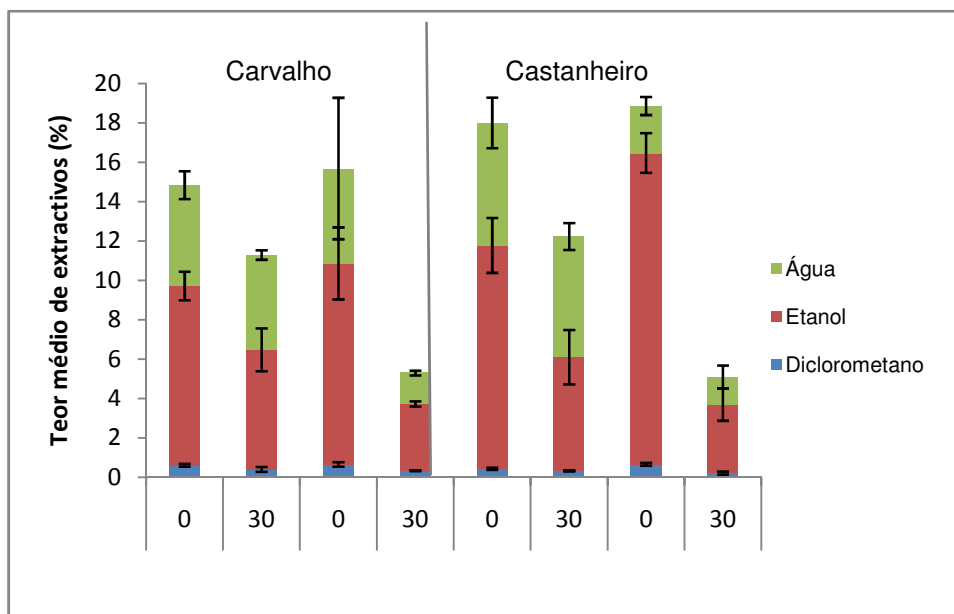


Figura 12 – Variação do teor dos extractivos (%) entre os 3 factores em estudo: espécie, forma da madeira e tempo de envelhecimento.

O solvente com percentagens de extracção mais elevadas, para a maioria das amostras, foi o etanol que extrai compostos mais polares como açúcares e compostos fenólicos. É neste solvente que se nota uma diminuição mais acentuada das amostras sem contacto com a aguardente para as que contribuíram para o envelhecimento, que corresponde, respectivamente a 11,61% e 4,68%. Esta diminuição pode ser explicada com a elevada contribuição que os compostos fenólicos têm no processo de envelhecimento da aguardente e consequentemente no enriquecimento da mesma (Viriot *et al.*, 1993) e também porque as madeiras estiveram em contacto com uma mistura hidroalcolica, mais concretamente com uma aguardente vínica da Lourinhã com 78,7% v/v (Caldeira *et al.*, 2010; Canas *et al.*, 2010).

A água quente que extrai taninos, açúcares e substâncias corantes foi o segundo solvente com maiores valores de extracção, mas neste caso não é tão notória a diferença entre as amostras tendo em conta o factor Tempo de envelhecimento, é apenas de 4,64% (T0) para 3,48% (T30). A diferença manifesta-se ao analisarmos o factor Forma, verificando-se que as tábuas após o contacto com a aguardente apresentam o valor médio é de 5,47% e enquanto que os dominós apresentam um valor de 1,48%. Pode dizer-se que a forma dominó perdeu taninos, açúcares e substâncias corantes com mais facilidade para a aguardente do que a forma tábua.

Efectuou-se a análise de variância – ANOVA para avaliar o contributo de cada factor e sua interacção na variação total observada. Na Tabela 2 apresenta-se o resumo

da ANOVA, para os valores dos extractivos obtidos pelos diferentes solventes designadamente diclorometano, etanol e água e para os extractivos totais.

Para os factores significativos foi efectuado o estudo da comparação de médias através do teste de Scheffé a 95 % de confiança. Os resultados estão representados graficamente nas várias figuras, onde letras iguais correspondem a médias estatisticamente iguais a 95 % de confiança.

Tabela 2 - Resumo da Análise de variância para os teores de extractivos analisados para cada factor estudado.

Origem da variação (Extractivos)	Origem da Variação	G.L.	MS	F	p	Varição (%)
Diclorometano	Espécie (E)	1	0,0933	13,9	0,0006 (***)	6,8
	Forma (F)	1	0,0068	1,01	0,3211 (ns)	0,0
	Tempo (T)	1	0,7788	116	0,0000 (***)	60,3
	E x F	1	0,0024	0,36	0,5527 (ns)	0,0
	E x T	1	0,0008	0,12	0,7353 (ns)	0,0
	F x T	1	0,1365	20,32	0,0001 (***)	20,3
	Resíduo	41	0,0067			12,6
Etanol	Espécie (E)	1	38,9	30,1	0,0000 (***)	4,9
	Forma (F)	1	0,239	0,19	0,6692 (ns)	0,0
	Tempo (T)	1	512,8	397	0,0000 (***)	66,3
	E x F	1	5,74	4,44	0,0412 (*)	0,6
	E x T	1	43,1	33,4	0,0000 (***)	5,4
	F x T	1	74,0	57,3	0,0000 (***)	18,8
	Resíduo	41	1,29			4,0
Água	Espécie (E)	1	0,023	0,02	0,8953 (ns)	0,0
	Forma (F)	1	98	73,4	0,0000 (***)	55,5
	Tempo (T)	1	14,4	10,8	0,0021 (**)	7,5
	E x F	1	14,1	10,6	0,0023 (**)	7,4
	E x T	1	4,05	3,04	0,0890 (ns)	1,6
	F x T	1	9,81	7,35	0,0097 (**)	9,7
	Resíduo	41	1,34			18,4
Extractivos Totais	Espécie (E)	1	33,4	23,4	0,0000 (***)	2,6
	Forma (F)	1	87,0	61,0	0,0000 (***)	7,1
	Tempo (T)	1	746	523	0,0000 (***)	61,7
	E x F	1	1,73	1,22	0,2768 (ns)	0,0
	E x T	1	21,0	14,7	0,0004 (***)	1,6
	F x T	1	146,6	102,8	0,0000 (***)	24,1
	Resíduo	41	1,43			2,8

(***) Altamente significativo; (**) Muito significativo; (*) Significativo; (ns) Não Significativo; G.L. – graus de liberdade; MS – média da soma dos quadrados.

Verifica-se que para o grupo de extractivos isolados com o solvente diclorometano que correspondem aos compostos menos polares, o efeito da espécie de madeira

utilizada e do envelhecimento é altamente significativo, explicando respectivamente 7% e 60% da variação observada. Este resultado denota que a espécie utilizada no envelhecimento é efectivamente significativa, verificando-se os teores mais elevados em extractivos pelo diclorometano na madeira de carvalho (Figura 13). No entanto a quantidade de compostos que são libertados para a aguardente durante o seu envelhecimento é de facto muito significativa verificando-se um decréscimo que oscilou entre 23 e os 69%.

Embora a forma não seja um factor significativo, pode observar-se que ao longo do tempo de envelhecimento se observa um comportamento diferente entre tábuas e dominós dado pela interacção (Forma x Tempo de envelhecimento) que é altamente significativa e que explica 20,3% da variação observada, verificando-se que o decréscimo ao longo do tempo, de compostos extraíveis pelo diclorometano, é mais acentuado nos dominós do que nas tábuas (Tabela 1).

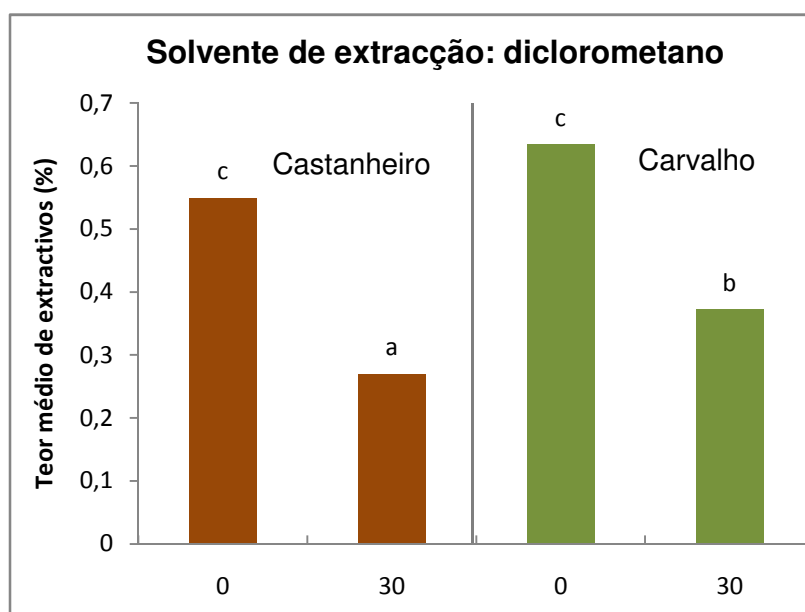


Figura 13 – Efeito dos factores Espécie e Tempo de envelhecimento nos valores dos extractivos retirados com o solvente diclorometano.

Pela análise da Figura 13 podemos observar que embora existam diferenças estatisticamente significativas entre as espécies de madeira a variação mais acentuada é verificada para o envelhecimento das madeiras. Efectivamente os compostos menos polares retirados pelas aguardentes têm efeitos altamente significativos e parecendo existir uma extracção mais acentuada durante o envelhecimento para as madeiras de castanheiro.

Para o solvente etanol, que extrai compostos mais polares, essencialmente açúcares e compostos fenólicos, obteve-se uma variação altamente significativa para o efeito da madeira utilizada e para o tempo de envelhecimento, que explicam 4,9% e 66,3%, respectivamente, da variação observada. Assim, é também altamente significativa a interação entre estes dois factores (ExT), que explica 5,4% da variação, o que revela que ao longo do tempo de envelhecimento existem diferenças interespecíficas nos compostos libertados para a aguardente.

Contudo, a interação (F_{xT}) é altamente significativa (18,8% da variação observada), embora a forma como factor isolado não o seja. Deste modo, há diferenças na extracção de compostos entre as formas utilizadas ao longo do tempo de envelhecimento.

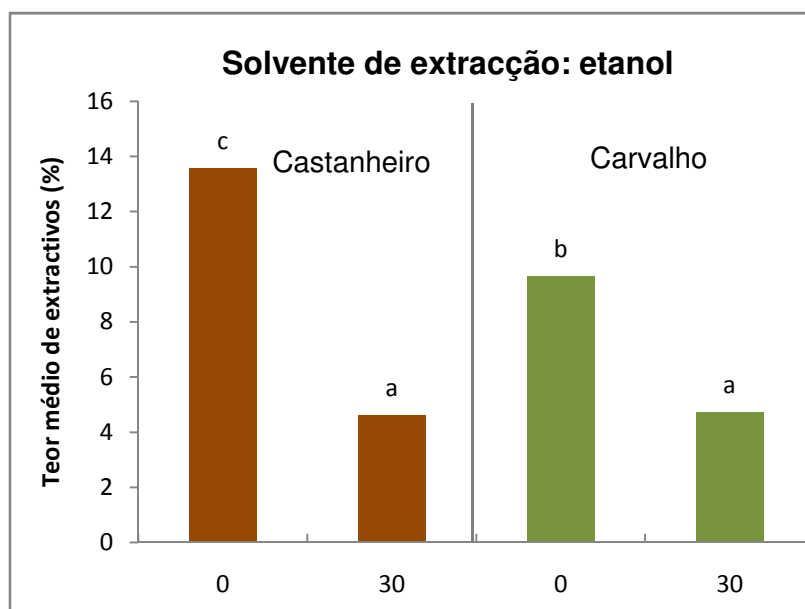


Figura 14 – Efeito dos factores Espécie e Tempo de envelhecimento nos valores dos extractivos retirados com o solvente etanol.

Pela análise da Figura 14 podemos observar que embora existam diferenças estatisticamente significativas entre as espécies de madeira a variação mais acentuada é verificada para o tempo de envelhecimento das madeiras. Os resultados mostram que são as madeiras de castanheiro as mais ricas em extraíveis pelo etanol, antes do envelhecimento e são as madeiras de castanheiro as que cedem mais extraíveis durante o envelhecimento. Estes resultados são concordantes com trabalhos anteriores em que se efectuou uma análise comparativa de madeiras de carvalho e castanheiro, tendo as amostras de madeira sido sujeitas a uma extracção hidroalcoólica (Caldeira *et al.*, 1996)

e analisadas no que respeita a sua composição em ácidos e aldeídos fenólicos e em cumarinas. Os resultados obtidos (Canas *et al.*, 2000), evidenciaram a maior riqueza da madeira de castanheiro em compostos fenólicos. Também o estudo das cinéticas de extracção em aguardente (Belchior *et al.*, 2001; Canas *et al.*, 2002) evidenciou a maior riqueza em compostos fenólicos e em extracto seco das aguardentes que envelheceram em madeira de castanheiro quando em comparação com as aguardentes envelhecidas em madeira de carvalho.

No grupo de extractivos separados pelo solvente água, ao qual pertencem compostos como taninos e açúcares, a forma é o factor que apresenta uma variação altamente significativo, explicando 55,5% da variação obtida .

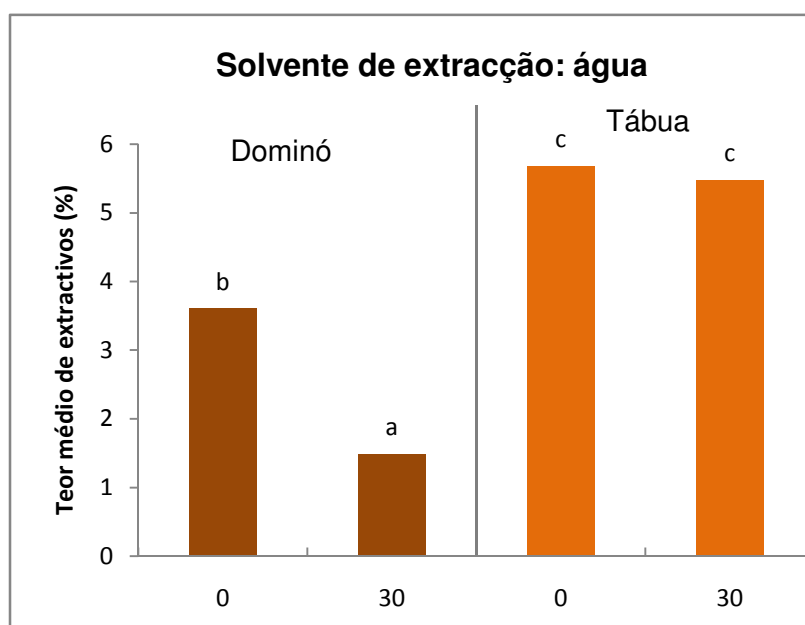


Figura 15 - Efeito dos factores Forma e Tempo de envelhecimento nos valores dos extractivos retirados com o solvente água.

Verificou-se que as tábuas, antes do envelhecimento, apresentam um teor mais elevado em compostos extraíveis pela água (Figura 15) do que os dominós. Como neste grupo de compostos se encontram os taninos e estes são afectados e degradados pelo aumento da intensidade da queima (Sarni *et al.*, 1990a; Moutonet *et al.*, 1992; Chatonnet 1995a; Hale *et al.*, 1999, Moutounet *et al.*, 1989; Lavergne *et al.*, 1991; Sarni *et al.*, 1990b; Chatonnet, 1995b; Matricardi & Waterhouse, 1999) poder-se-á admitir que a queima forte ocorrida nos dominós tenha sido mais intensa e que por isso tenha provocado uma maior degradação de taninos.

Na análise dos extractivos totais, detectaram-se efeitos altamente significativos, os três factores em estudo, a espécie, a forma e o tempo de envelhecimento, que

explicam a variação observada em 2,6%, 7,1% e 61,7%, respectivamente. Este resultado corrobora os obtidos para cada solvente individualmente, sendo o tempo de envelhecimento, aquele que mais contribuiu para a variação observada. Assim, são também altamente significativas as interações deste factor com os outros dois em estudo, (ExT) e (F_xT) que explicam 1,6% e 24,1% da variação obtida.

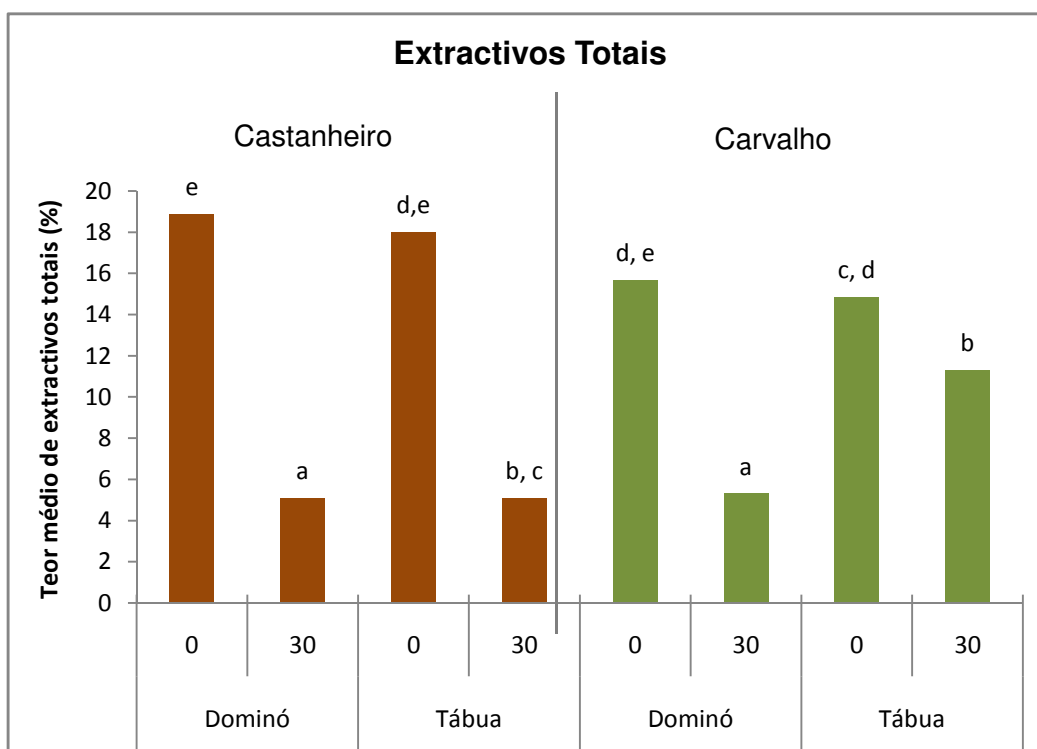


Figura 16 - Efeito dos factores Espécie, Forma e Tempo de envelhecimento nos valores dos extractivos totais.

Assim, em termos globais a madeira de castanheiro confirma a sua maior riqueza em extractivos e permite uma maior extracção durante o envelhecimento e por outro lado a forma de dominó fica mais esgotada do que a tábua. Os dominós parecem assim mais permeáveis e acessíveis no que respeita à extracção, podendo admitir-se que isso resultará de uma queima forte mais intensa do que a das tábuas, uma vez que se sabe que a queima provoca modificações anátomo-estruturais (Boeglin *et al.*, 1993; Hale *et al.*, 1999) que conduzem a um aumento da permeabilidade e acessibilidade aos solventes (Hillis, 1984).

No entanto, as aguardentes que envelheceram em contacto com estes dominós apresentaram um menor extracto seco e um menor índice de polifenóis totais do que as que envelheceram em contacto com as tábuas (Canas *et al.*, 2010), pelo que serão necessários mais estudos para a compreensão dos fenómenos envolvidos.

4.2-Teor em Lenhina

Os resultados das determinações da lenhina nas amostras em estudo são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 – Valores médios percentuais da Lenhina Klason, Lenhina Solúvel e Lenhina Total, das amostras em estudo (média \pm desvio padrão).

Código da amostra	Lenhina Klason (%)	Lenhina Solúvel (%)	Lenhina Total (%)
QT0	44,17 \pm 3,08	3,49 \pm 0,07	47,65 \pm 3,10
QD0	62,29 \pm 7,23	2,10 \pm 0,04	64,39 \pm 7,26
CT0	39,92 \pm 7,26	3,53 \pm 0,05	43,45 \pm 7,31
CD0	49,22 \pm 5,73	1,98 \pm 0,01	51,20 \pm 5,74
QT30	33,35 \pm 4,34	3,17 \pm 0,07	36,52 \pm 4,37
QD30	59,99 \pm 5,60	1,10 \pm 0,06	61,09 \pm 5,57
CT30	39,46 \pm 9,23	3,05 \pm 0,10	42,51 \pm 9,24
CD30	47,90 \pm 4,97	1,45 \pm 0,07	49,34 \pm 4,93

O teor em lenhina Klason obtido nas amostras estudadas é de um modo geral elevado ($> 30\%$), comparativamente com resultados de outros autores (Fengel & Wegener, 1989).

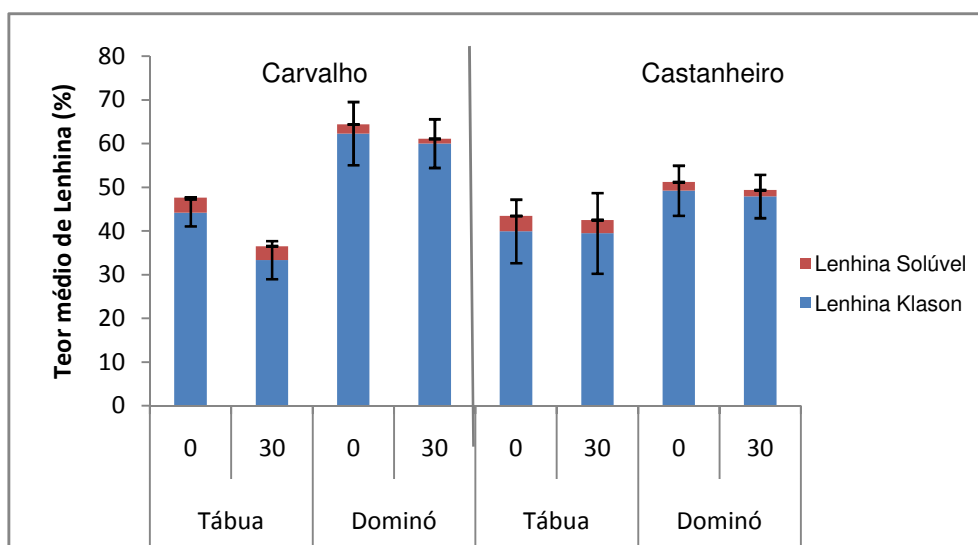


Figura 17 – Valores médios percentuais da Lenhina Klason e Lenhina Solúvel das amostras em estudo.

Verifica-se que o processo de envelhecimento se traduz numa diminuição do teor de lenhina total (Figura 17), de todas as madeiras estudadas. Os decréscimos verificados (2 a 5%) correspondem aos valores referidos para o decréscimo ocorrido nas vasilhas (3 a 5,8%) durante o envelhecimento de aguardentes durante 10 anos (Puech, 1984; Belchior & Puech, 1983). No entanto, as tábuas de madeira de carvalho sofreram um decréscimo muito mais acentuado.

Na Tabela 4 está representada o resumo da ANOVA para os valores de lenhina solúvel, lenhina Klason e lenhina total em função dos diferentes factores. Os dados encontram-se também representados graficamente para cada origem de variação (Figuras 18,19 e 20).

Tabela 4 – Resumo da Análise de variância para os teores de lenhina analisados para cada factor estudado.

Origem da variação	Origem da Variação	G.L.	MS	F	p	Varição (%)
Lenhina Solúvel	Espécie (E)	1	0,0176	1,57	0,2173 (ns)	0,0
	Forma (F)	1	29,15	2608	0,0000 (***)	85,7
	Tempo (T)	1	3,65	327	0,0000 (***)	10,7
	E x F	1	0,198	17,74	0,0001 (***)	0,6
	E x T	1	0,062	5,56	0,0233 (*)	0,1
	F x T	1	0,367	32,86	0,0000 (***)	2,1
	Resíduo	41	0,011			0,8
Lenhina Klason	Espécie (E)	1	362	9,17	0,0042 (**)	7,0
	Forma (F)	1	2605	66,02	0,0000 (***)	55,4
	Tempo (T)	1	148	3,75	0,0597 (ns)	2,3
	E x F	1	682	17,29	0,0002 (***)	13,9
	E x T	1	85,8	2,18	0,1479 (ns)	1,0
	F x T	1	39,0	0,99	0,3259 (ns)	0,0
	Resíduo	41	39,5			20,4
Lenhina Total	Espécie (E)	1	357	9,06	0,0045 (**)	7,7
	Forma (F)	1	2083	52,87	0,0000 (***)	49,4
	Tempo (T)	1	198	5,03	0,0304 (*)	3,8
	E x F	1	659	16,73	0,0002 (***)	15,0
	E x T	1	90,5	2,30	0,1373 (ns)	1,2
	F x T	1	31,8	0,81	0,3742 (ns)	0,0
	Resíduo	41	39,4			22,9

(***) Altamente significativo; (**) Muito significativo; (*) Significativo; (ns) Não Significativo; G.L. – graus de liberdade; MS – média da soma dos quadrados

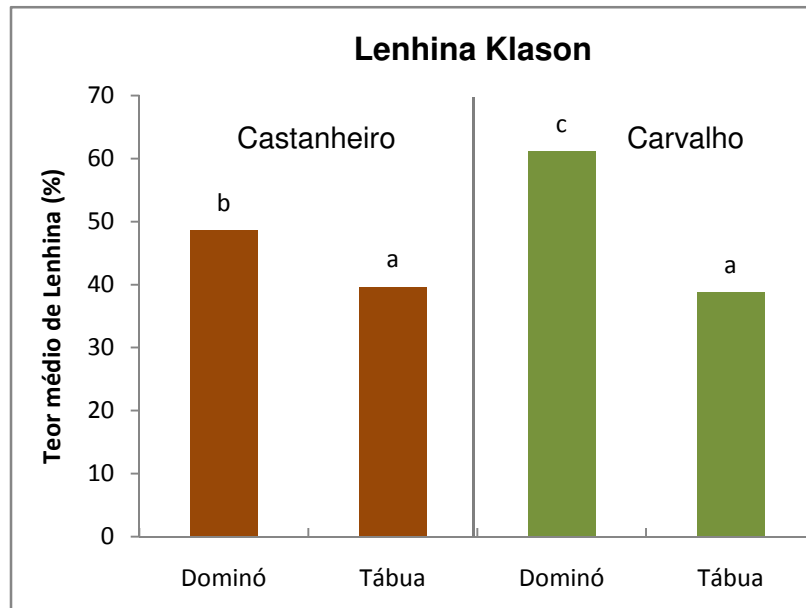


Figura 18 - Efeito dos factores Forma e Espécie nos valores da lenhina Klason.

Os dominós apresentam teores significativamente superiores da lenhina de Klason em relação às tábuas, verificando-se que os dominós de carvalho apresentam teores mais elevados do que os dominós de castanheiro (Figura 18).

Verificou-se também que não há efeito do factor tempo sobre o teor de lenhina de Klason, o que seria de esperar uma vez que se trata de uma forma menos solúvel e de maior dificuldade de extracção.

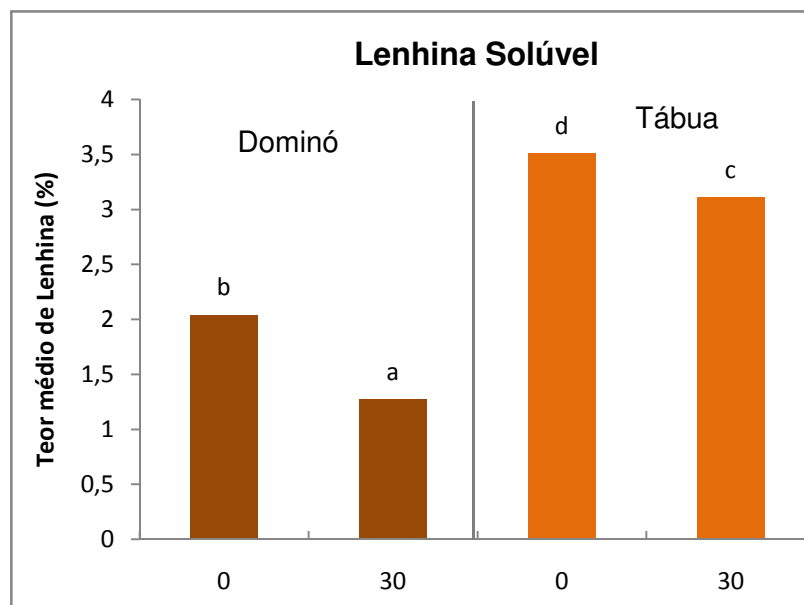


Figura 19 – Efeito dos factores Forma e Tempo de envelhecimento nos valores da lenhina solúvel.

No que respeita à lenhina verifica-se um efeito altamente significativo da forma e do tempo de envelhecimento, bem como da interacção espécie-forma e tempo-forma. Verifica-se assim que os dominós apresentam menores teores de lenhina solúvel do que as tábuas, embora o decréscimo em lenhina solúvel durante o tempo de envelhecimento, seja mais acentuado nos dominós do que nas tábuas (Figura 19).

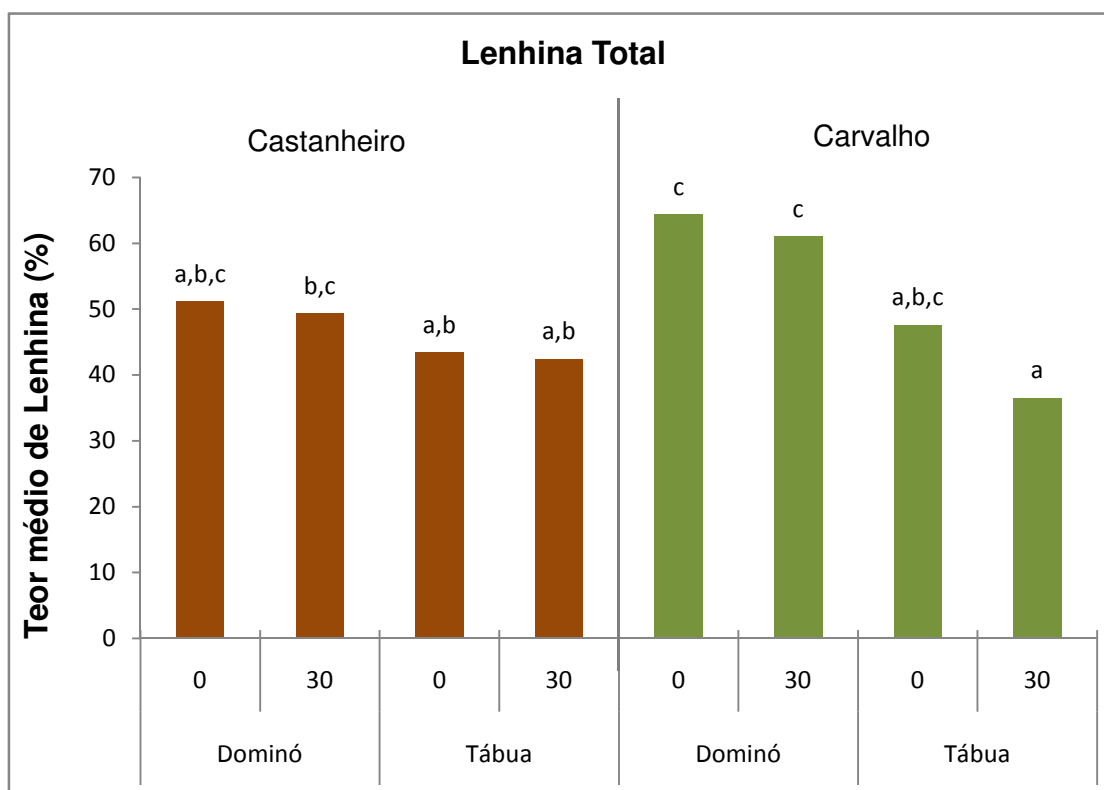


Figura 20 – Efeito dos factores Forma, tempo de envelhecimento e Espécie nos valores da lenhina total.

Assim, quando observamos os resultados da lenhina total podemos verificar que nem todos os factores afectam significativamente o seu teor, sendo o factor forma o que tem maior percentagem de variação (49,4%), verificando-se uma interacção significativa entre a espécie e a forma. (Tabela 4; Figura 20). Os dominós apresentam um maior teor em lenhina do que as tábuas, sendo essa diferenciação mais acentuada na madeira de carvalho. As madeiras de carvalho apresentaram teores mais elevados do que as madeiras de castanheiro e todas as madeiras sofrem um decréscimo de lenhina durante o envelhecimento, sendo esse decréscimo mais acentuado nas tábuas de carvalho (Figura 20).

4.3-Varição explicativa por Análise de Componentes Principais

Para as mesmas amostras foi efectuada a análise de componentes principais (ACP), para se compreender, por um lado, a relação entre variáveis e por outro o modo como os casos de estudo se agrupam.

O modelo composto por dois eixos explica 84,23% da variação total (Figura 21). Os extractivos obtidos pela extracção com diclorometano e com etanol e os teores em lenhina Klason estão bem correlacionados entre si, o que indica que o valor de uma destas variáveis está sempre ligado ao das outras duas. Os extractivos obtidos pela extracção com água estão correlacionados com os valores de lenhina solúvel.

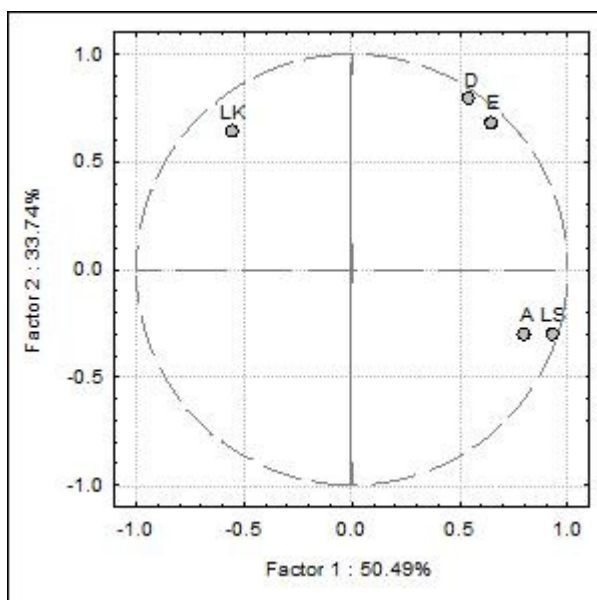


Figura 21 - Projecção dos valores médios dos extractivos, lenhina Klason e lenhina solúvel para as amostras em estudo.

Os extraíveis por diclorometano, os extraíveis por etanol e a lenhina Klason com coeficientes de 0,79, 0,68 e 0,64, respectivamente, explicam o factor 2, sendo o factor 1 é explicado pela água e pela lenhina solúvel com coeficientes mais elevados 0,79 e 0,93 (Tabela 5).

Tabela 5 – Factores de correlação da análise de componentes principais para a composição química em extractivos, lenhina Klason e lenhina Solúvel para as amostras em estudo.

	Factor 1	Factor 2
D	0,543120	0,792403
E	0,645969	0,685895
A	0,799142	-0,297589
LK	-0,561439	0,641875
LS	0,926485	-0,297088

Efectuou-se a projecção das variáveis no mesmo sistema de eixos de modo a estudar possíveis correlações entre as espécies, a forma e o tempo de envelhecimento (Figura 22, 23 e 24).

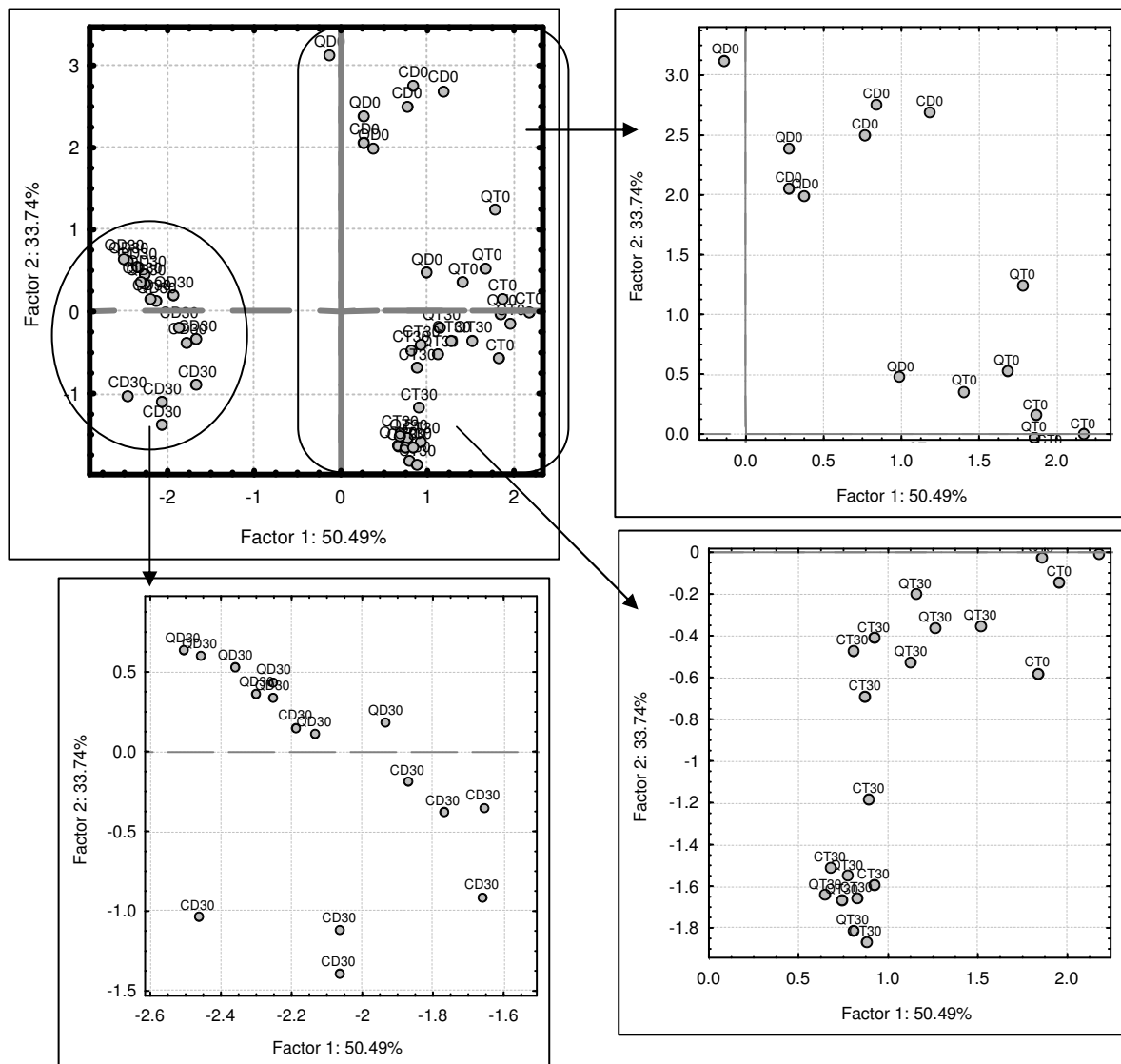


Figura 22 - Projecção das amostras num sistema de eixos ACP em função dos valores médios de extractivos e lenhina.

Na Figura 22, nota-se que as amostras se agruparam consoante a forma e o tempo de envelhecimento, formando assim os quatro grupos. O eixo 1 parece separar as amostras em função do tempo do tempo de envelhecimento, com as tábuas mais localizadas sobre o lado direito do eixo e os dominós a localizarem mais à esquerda, sobre o eixo, sendo a lenhina solúvel e os extraíveis em água as variáveis que mais contribuem para este eixo. As amostras não utilizadas no envelhecimento situam-se do lado positivo do eixo 1 e 2, ao qual se encontram associados a lenhina de Klason e os extraíveis pelo etanol e pela água. As amostras de madeira com a forma de dominó, após o envelhecimento de 30 meses, localizam-se do lado negativo do eixo 1 e as amostras de madeira com a forma tábua localizam-se na parte negativa do eixo 2 e positiva do eixo 1.

Avaliaram-se separadamente por ACP os resultados das amostras de madeira não utilizadas no envelhecimento e das amostras utilizadas no envelhecimento (Figuras 23 e 24). Os resultados evidenciam que, em ambos os casos, há uma separação nítida das amostras em função da forma.

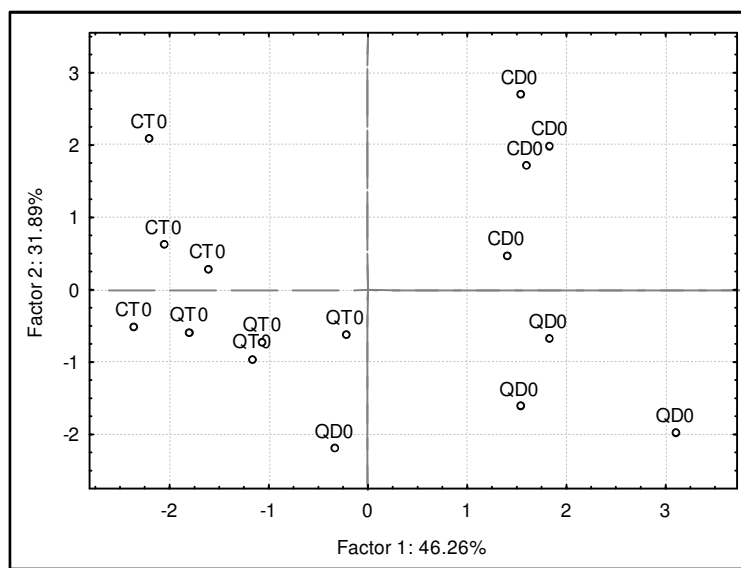


Figura 23 - Projecção das amostras controlo (sem envelhecimento) num sistema de eixos ACP em função dos valores médios de extractivos e lenhina.

Numa análise separando as amostras segundo o factor tempo de envelhecimento, nota-se que elas estão mais correlacionadas com a forma (Figura 23 e 24) do que com as espécie. De facto, quer nas amostras não envelhecidas (Figura 23), quer nas amostras utilizadas no envelhecimento (Figura 24) verifica-se uma separação das amostras em função da forma ao longo do eixo 1. Estes resultados evidenciam a diferenciação de

composição das madeiras em função da forma em estudo (domínós versus tábuas), em correspondência com o que se verificou nas aguardentes que apresentaram uma composição diferenciada em função do sistema de envelhecimento utilizado (Caldeira *et al.*, 2010; Canas *et al.*, 2010). Nas amostras de madeira não utilizadas no envelhecimento parece ocorrer ainda uma separação em função da espécie, ao longo do eixo 2 (Figura 23).

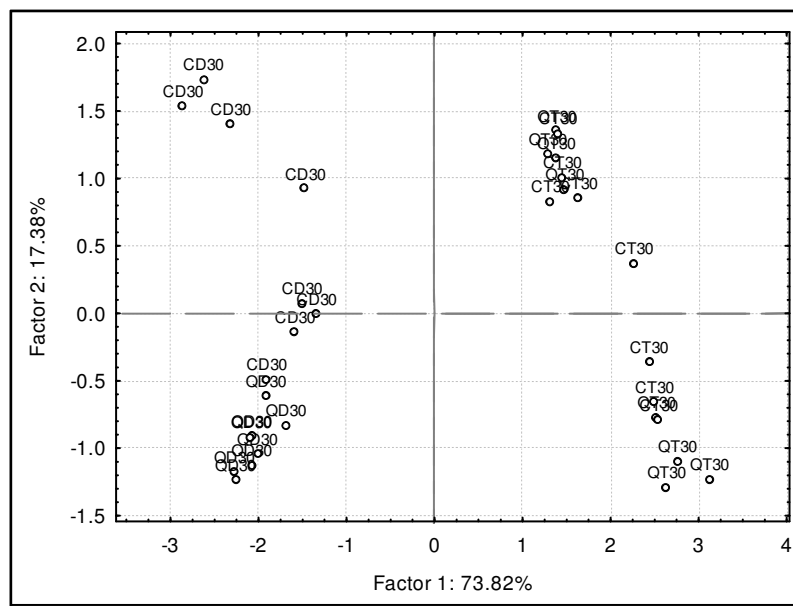


Figura 24 - Projecção das amostras com 30 meses de envelhecimento num sistema de eixos ACP em função dos valores médios de extractivos e lenhina.

5- Considerações Finais

Através dos resultados obtidos com o presente trabalho as conclusões são apresentadas segundo os tópicos em estudo.

Teor de extractivos:

- ✓ As amostras de madeiras que não foram sujeitas ao envelhecimento apresentam valores de extractivos superiores que as restantes amostras, pois não perderam os seus compostos para enriquecimento da aguardente, esses valores (15 a 19%) são mais elevados que os referidos por Fengel & Wegener (1989), que rondam os 10%, estas diferenças devem-se à queima que as amostras em estudo sofreram;
- ✓ Para compostos extraídos com o solvente diclorometano foram altamente significativos o factor tempo de envelhecimento (60%) e o factor espécie (7%), sendo o carvalho a que obteve valores mais elevados;
- ✓ O solvente etanol foi aquele que obteve maiores percentagens de extracção e o factor tempo foi o que mais contribui para a variação total (66,3%), contudo a espécie também influencia significativamente essa variação, especialmente o castanheiro, se para além de apresentar madeiras mais ricas, foi aquele que mais compostos cedeu à aguardente;
- ✓ Nos compostos extraídos com o solvente água, foi o factor forma que explicou 55,5% da variação obtida, sendo as tábuas as que mais contribuíram para essa percentagem;
- ✓ Analisando os extractivos totais, todos os factores em estudo influenciaram significativamente a variação observada, mas foi o factor tempo que comporta maior peso (61,7%);
- ✓ A madeira de castanheiro é mais rica que a de carvalho e sobre maiores perdas durante o processo de envelhecimento;
- ✓ O dominó é o tipo de forma que mais compostos extraíveis perde para a aguardente.

Teor de lenhina:

- ✓ O teor de lenhina Klason é de um modo geral elevado (> 30%);
- ✓ Os dominós apresentam teores de lenhina Klason significativamente superiores aos das tábuas, sendo que os dominós de carvalho obtiveram teores mais elevados que os dominós de castanheiro;

- ✓ O factor tempo não influenciou os teores de lenhina Klason;
- ✓ O teor de lenhina solúvel é altamente influenciado pelos factores tempo e forma, sendo que as tábuas apresentam valores superiores aos dominós e mais uniformes ao longo do tempo de envelhecimento;
- ✓ O teor de lenhina total é influenciado por todos os factores em estudo, sendo no entanto, a forma o factor que contribui mais significativamente para a variação total (49,4%), sendo os dominós os que apresentam teores mais elevados e acentuam-se nas madeiras de carvalho.

Perspectivas para trabalhos futuros:

- ✓ Efectuar um estudo mais aprofundado do efeito da queima na estrutura micro-celular da madeira, no sentido de perceber as alterações observadas;
- ✓ Efectuar a análise de extractivos às madeiras utilizadas no envelhecimento, mas sem a queima, no sentido de se poder efectuar uma melhor comparação da perda efectiva de determinado grupo de compostos;
- ✓ Efectuar esta determinação em 4 períodos de tempo de envelhecimento diferente para se perceber evolução da variação dos diferentes tipos de extractivos;
- ✓ Determinar exactamente que tipos de compostos saem com cada solvente, de modo a perceber se coincidem com os identificados nas aguardentes.

6-Bibliografia

- Almeida, T. G. (2002). Cinética de extracção de compostos fenólicos da madeira por aguardente. Modelização de diferentes formas de utilização de madeiras. *Trabalho de fim de curso em Engenharia Agro-Alimentar, Universidade Técnica de Lisboa, Instituto Superior Agronomia*. Lisboa.
- Arapitsas, P., Antonopoulos, A., Stefanou, E., & Dourtoglou, V. (2004). Artificial aging of wines using oak chips. *Food Chem.*, 86: 563-570 .
- Artajona, J. (1991). Caracterisation del roble según su origen y grado de tostado, mediante la utilizacion de GC y HPLC . *Viticultura/Enologia Profesionalm*, 14:61-72.
- Baldwin, S., Black, R. A., Andreasen, A. A., & Adams, S. L. (1967). Aromatic congener formation in maturation of alcoholic distillates. *J. Agric. Food Chem.*, 15: 381-385.
- Barbosa, L. C., Maltha, C. R., Silva, V. L., & Colodette, J. L. (2008). Determinação da relação siringila/guaiacila da lignina em madeiras de eucalipto por pirólise acoplada à cromatografia gasosa e espectrometria de massas (PI CG/EM). *Química Nova*, 31, 8: 2035-2041.
- Belchior, A. P., & Carneiro, L. C. (1972). Identification de substances extraites du bois neuf de chêne du Limousin par des eaux-de-vie de vin. *Conn. Vigne Vin*, 6: 365-372.
- Belchior, A. P., Almeida, T. G., Mateus, A. M., & Canas, S. (2003). Ensaio laboratorial sobre a cinética de extracção de compostos de baixa massa molecular da madeira pela aguardente. *Ciência Téc. Vitiv.*, 18: 29-41.
- Belchior, A. P., Caldeira, I., Costa, S., Lopes, C., Tralhão, G., Ferrão, A. F. M & Mateus, A. M. (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, 2: 81-94.
- Belchior, A. P., Caldeira, I., Tralhão, G., Costa, S., Lopes, C., & Carvalho, E. (1998). Incidência da origem e queima da madeira de Carvalho (*Q. pyrenaica*, *Q. robur*, *Q. sessiliflora*, *Q. alba*/*Q. stellada* + *Q.lyrada*/ *Q. bicolor*) e de castanho (*C. sativa*) em características físico-químicas e organolépticas de aguardentes Lourinhã em envelhecimento. *Ciência e técnica Vitivinícola*, 13, 1/2: 71-105.

-
- Belchior, A. P., Puech, J. L., Carvalho, E. C., & Mondies, H. (1983). Caractéristiques de la composition phenolique du bois de chêne Portugais et de quelques eaux-de-vie de vin. *Ciência Téc. Vitiv.*, 2, 2: 57-65.
- Boeglin, N., Kusara, S., & Duchanois, G. M. (1993). Étude du chêne de tonnellerie: perméabilité et cintrage. *R. F. Oenol.*, 144: 35-40.
- Bricout, K. (1971). Analyse de quelques constituants dérivés du chêne dans les vieilles eaux-de-vie d'Armagnac. *Ann. Technol. Agric.*, 20: 217-223.
- Caldeira, I. M. (2004). O Aroma de aguardentes vónicas envelhecidas em madeira. Importância da tecnologia de tanoaria. *Dissertação de Douturamento*. Universidade Técnica de Lisboa, Instituto Superior de Agronomia, Lisboa, 265 pp.
- 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., Clímaco, M. C., & Bruno-de-Sousa, R. (2002). Aroma profile of Portuguese brandies aged in Chestnut and Oak woods. *Analytica Chimica Acta*, 458: 33-62.
- Caldeira, I., Bruno-de-Sousa, R., Belchior, A. P., & Clímaco, M. C. (2008). A sensory and chemical approach to the aroma of wooden aged Lourinhã wine brandy. *Ciência Téc. Vitiv.*, 23, 2: 97-110.
- Caldeira, I., Canas, S., & Belchior, A. P. (1996). *Optimização das condições de extracção de aparas de madeira*. Relatório interno, Secção de aguardentes, EVN - INIA, Dois Portos.
- Caldeira, I., Clímaco, M. C., & Belchior, A. P. (2001). CG-EM no estudo do aroma de aguardentes Lourinhã envelhecidas em madeira de carvalho. *Actas do 2º Encontro Nacional de Cromatografia*. Lisboa, P15, 78-79 pp.
- Caldeira, I., Mateus, A. M., & Belchior, A. P. (2006). Flavour and odour profile modifications during the first five years of Lourinhã brandy maturation on different wooden barrels. *Anal. Chim. Acta*, 563: 264-273 .
- Canas, S. (2003). Estudo de compostos extraíveis de madeira (Carvalho e Castanheiro) e de processos de extracção na perspectiva do envelhecimento em Enologia. *Tese*

- de doutoramento em Engenharia Agro-Alimentar*. Universidade Técnica de Lisboa, Instituto Superior de Agronomia, Lisboa, 303 pp.
- Canas, S., & Caldeira, I. (2009b). O envelhecimento de aguardentes víquicas - A madeira - . *Texto de Apoio*. Instituto Nacional de Recursos Biológicos I.P. L-INIA/Dois Portos: 27 pp.
- Canas, S., Belchior, A. P., Mateus, A., Sprange, R. M., & Bruno de Sousa, R. (2002). Kineticcs of impregnation/evaporation and release of phenolic compounds from wood to brandy in experimental model. *Ciencia Tec. Vitiv.*, 17, 1: 1-14.
- Canas, S., Belchior, A. P., Spranger, M. I., & Bruno-de-Sousa, B. (2003). High-performance liquid chromatography method for analysis of phenolic acids, phenolic aldehydes, and furanic derivatives in brandies. Development and validation. *J. Sep. Sci.*, 26: 496-502.
- Canas, S., Caldeira, I., & Belchior, A. P. (2010). Comparação de diferentes sistemas de envelhecimento de aguardente víquica. *In: Actas do 8º Simpósio de Vitivinicultura do Alentejo*. Évora, 81-90pp.
- Canas, S., Caldeira, I., & Belchior, P. A. (2009a). Comparação de sistemas alternativos para o envelhecimento de aguardente víquica. Efeito da oxigenação e da forma da madeira. *Ciência Tec. Vitiv*, 24, 1: 33-40.
- Canas, S., Caldeira, I., Leandro, M. C., Spranger, M. I., Climaco, M. C., & Belchior, A. P. (1998). Phenolic compounds in a Lourinhã brandy extracted from different woods. *Polyphenols Communications*, 2: 373-374.
- Canas, S., Leandro, M. C., Spranger, M. I., & Belchior, A. P. (2000). Influence of botanical species and geographical origin on the content of low molecular weight phenolic compounds of woods used in Portuguese cooperage. *Holzforschung*, 54, 3: 255-261.
- Canas, S., Leandro, M. C., Spranger, M. I., & Belchior, A. P. (1999). Low molecular weight organic compounds of chestnut wood and corresponding aged brandies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 12: 5023-5030.
- Canas, S., Quaresma, H., Belchior, A. P., Spranger, M. I., & Bruno-de-Sousa, R. (2004). Evaluation of wine brandies authenticity by the relationships between benzoic and

- cinnamic aldehydes and between furanic aldehydes. *Ciência Tec. Vitiv.*, 19, 1: 13-27.
- Cantagrel, R., Mazerolles, G., Vidal, J., Galy, B., Boulesteix, J., Lablanquie, O., & Gaschet, J. (1992). *Évolution analytique et organoleptique des eaux-de-vie de Cognac au cours du vieillissement. Incidence des techniques de tonnellerie. In: Elaboration et connaissance des spiritueux.* Cantagrel R. (ed.), TEC & DOC-Lavoisier, Paris, 567-572pp.
- Chatonnet P. (1995b). Le séchage et la maturation des bois en tonnellerie. *R. F. Oenol.*, 151: 33-38 .
- Chatonnet, P. (1995a). Influence des procédés de tonnellerie et des conditions d'élevage sur la composition et la qualité des vins élevés en fût de chêne. *Thèse Doctorat.* UFR Institut d'Oenologie, Université de Bordeaux II, Bordéus. 268 pp.
- Chatonnet, P., & Dubourdieu, D. (1998). Identification of substances responsible for the "sawdust" aroma in oak wood. *J. Sci. Food Agric*, 76: 179-188.
- Chatonnet, P., Boidron, J. N., & Pons, M. (1989). Incidence du traitement thermique du bois de chêne sur sa composition chimique. 2. partie: Évolution de certains composés en fonction de l'intensité de brûlage. *Conn. Vigne Vin*, 23: 223-250.
- Chen, C. L. (1970). Constituents of *Quercus alba*. *Phytochem*, 9: 1149.
- Clímaco, M. C. (1987). Efeitos do envelhecimento na composição aromática e na qualidade de vinhos tintos. *Dissertação para Investigador Auxiliar.* INIA-EVN, Dois Portos, 147 pp.
- Clímaco, M. C., & Borralho, A. (1996). Influence des technologies d'élevage dans les transformations des composants de l'arôme des vins rouges. *In: Oenologie 95-5e Symposium international d'œnologie.* Lonvaud-Funel A. (ed.), TEC & DOC-Lavoisier, Paris, 415-418pp.
- Clímaco, M. C., Belchior, A. P., & Belchior, R. M. (1990). A utilização de aparas de madeira no envelhecimento de vinhos tintos. *Ciência Tec. Vitiv.*, 9: 53-61.
- Clímaco, M. C., Eiriz, N., & Avelar, M. L. (2006). Novas tecnologias no envelhecimento de vinhos tintos. *Enologia*, 47/48: 19-23.

-
- Clímaco, M., Avelar, M., Eiriz, N., Caldeira, I., Rodrigues, J., Rodrigues, V., et al. (2004). Fragmentos de madeira de carvalho versus quartolas no envelhecimento de vinhos tintos. *Livro de Actas do 6º Simpósio de Vitivinicultura no Alentejo*. Evora, Portugal: 148-155pp.
- Del Álamo, M., Nevares, I., Gallego, L., Martín, C., & Merino, S. (2008). Aging markers from bottled red wine aged with chips, staves and barrels. *Anal. Chim. Acta*, 621: 86-99.
- Delgado, T., & Gómez-Cordovés, C. (1987). Teneur des brandies commerciaux espagnols en aldéhydes et acides phénoliques. *R. F. Oenol.*, 107: 39-43.
- Dubois, P. (1989). Apport du fût de chêne neuf à l'arôme des vins. *R. F. Oenol*, 120: 19-24.
- Eiriz, N., Santos-Oliveira, J. F., & Clímaco, M. C. (2007). Fragmentos de madeira de carvalho no estágio de vinhos tintos. *Ciência Tec. Vitiv.*, 22: 63-7.
- Fengel, D., & Wegener, G. (1989). *Wood: chemistry, ultrastructure, reactions*. Berlin, Walter de Gruyter, 613 pp.
- Frangipane, M. T., De Santis, D., & Ceccarelli, A. (2007). Influence of oak woods of different geographical origins on quality of wines aged in barriques and using oak chips. *Food Chemistry*, 103: 46-54.
- Freitas, L., Rodrigues, J., & Graças, J. (2005). Composição dos extractivos da madeira de pinheiro bravo: variação borne/cerne e lenho normal/lenho resinado. *5º Congresso Florestal Nacional, 16 a 19 Maio. Actas Instituto de Investigação Científica Tropical*. Viseu, T4-31, 3 p.
- Garcia-Romero, E., Pérez-Coello, M. S., Sanz, J., & Cabezudo, M. S. (1998). Quantitative analysis of the principal volatile compounds in oak wood by direct thermal desorption (DTD) and GC/MS. *Analisis*, 26: 33-35.
- Gétaz, J., Canetti, J., Lebedeff, J., & Horisberger, D. (1996). Utilisation de chênes indigènes pour la construction de barriques: une solution d'avenir. *Rev. Suisse Vitic. Arboric. Hortic*, 28: 183-194.
- Guichard, E., Fournier, N., Masson, G., & Puech, J. L. (1995). Stereoisomers of β -methyl- γ -octalactone. I-Quantification in brandies as a function of wood origin and treatments of the barrels. *Am. J. Enol. Vitic.*, 46: 419-423.

-
- Guymon, J. F. (1970). Composition of California commercial brandy distillates. *Am. J. Enol. Vitic.*, 21: 61-69.
- Guymon, J. F., & Crowell, E. A. (1970). Brandy aging. Some comparisons of American and French oak cooperage. *Wines & Vines*, 1: 23-25.
- Hale, M. D., Mc Cafferty, K., Larmie, E., Newton, J., & Swan, J. (1999). The influence of oak seasoning and toasting parameters on the composition and quality of wine. *Am. J. Enol. Vitic.*, 50: 495-502.
- Haluk, J. P., & Irmouli, M. (1997). The fixed polymer constituents in cooperage oak: cellulose, hemicelluloses and lignin. *J. Sci. Tech. Tonnellerie*, 4: 43-82.
- Haygreen, J. G., & Bowyer, J. L. (1996). *Forest products and wood science. An introduction*. Iowa State University Press, Ames, Iowa, 484pp.
- Herve du Penhoat, C. L., Michon, V. M., Ohassan, A., Peng, S., Scalbert, A., & Gage, D. (1991). Roburin A, a dimeric ellagitannin from heartwood of *Quercus robur*. *Phytochem*, 30: 329-332.
- Hillis, W. E. (1984). Wood quality and utilization. In *Hillis, W. E.; Brown, A. G. (Eds.). Eucalypts for wood production*. CSIRO/Academic Press, Sydney, 159-289pp.
- Johnson, H. (1985). *The World Atlas of Wine*. Mitchell Beazley Publishers: London. Citado por: Viriot, C., Scalbert, A., Lapierre, C & Moutounet, M. (1993). Ellagitannins and Lignins in Aging of Spirits in Oak Barrels. *J. Agric. Food Chem*, 41: 1872-1879.
- Jonhson, H. (1989). *The story of Wine*. Mitchell Beazley Publishers: London. Citado por: Viriot, C., Scalbert, A., Lapierre, C & Moutounet, M. (1993). Ellagitannins and Lignins in Aging of Spirits in Oak Barrels. *J. Agric. Food Chem*, 41: 1872-1879.
- Joseph, E., & Marché, M. (1972). Contribution à l'étude du vieillissement du Cognac. Identification de la scopolétine, de l'aesculetine, de l'ombelliférone, de la -méthyl-ombelliférone, de l'aesculine et de la scopoline, hétérosides provenant du bois. *Connaissance Vigne Vin*, 6: 273-330.
- Klock, U., Bolzon de Muñiz, G. I., Hernandez, J. A. & Sulato de Andrade, A. (2005). *Química da madeira*. Universidade Federal do Panamá, Departamento de Engenharia e Tecnologia Florestal, Sector de Ciências Agrárias, Curitiba, 82pp.

-
- Koning, R. (1994). *Basic Plant Cytology 1*. Obtido de Plant Physiology Information Website: http://plantphys.info/plant_physiology/basiccytology1.shtml (acesso em 10 de Outubro de 2010)
- Lavergne, J., Olivier, J., Thomas, Y., & Raffier, C. (1991). Origine géographique des grumes «bousinage» et gestion des fûts neufs - incidences sur la composition des cognacs. In *Les Eaux-de-vie traditionnelles d'origine viticole*. A. Bertrand, Paris, Tec & Doc, 206-212pp.
- Maga, J. A. (1985). Flavor contribution of wood in alcoholic beverages. In: Progress in flavour research 1984. Adda J. (ed.), Elsevier, Amsterdam, 409-416 pp.
- Marché, M., Joseph, E., Goizet, A., & Audebert, J. (1975). Étude théorique sur le Cognac, sa composition et son vieillissement naturel en fûts de chêne. *R. F. Oenol.*, 57: 1-17.
- Marco, J., Artajona, J., Larrechi, M. S., & Rius, F. X. (1994). Relationship between geographical origin and chemical composition of wood for oak barrels. *Am. J. Enol. Vitic.*, 45: 192-200.
- Marsal, F., & Sarre, C. (1987). Étude par chromatographie en phase gazeuse de substances volatiles issues du bois de chêne. *Conn. Vigne Vin*, 21: 71-80.
- Masson, E., Baumes, R., Moutounet, M., & Puech, J. L. (2000). The effect of kiln-drying on the levels of ellagitannins and volatile compounds of European oak (*Quercus petraea* Liebl.) stave wood. *Am. J. Enol. Vitic.*, 51: 201-214.
- Masson, G., Baumes, R., Puech, J. L., & Razungles, A. (1997). Demonstration of the presence of carotenoids in wood: quantitative study of cooperage oak. *J. Agric. Food Chem.*, 45: 1649-1652.
- Masson, G., Puech, J. L., & Moutounet, M. (1996). Composition chimique du bois de chêne de tonnellerie. *Bull. O.I.V.*, 69, 785/786: 634-657.
- Masuda, M., & Nishimura, K. (1971). Branched nonalactones from some *Quercus* species. *Phytochem.*, 10: 1401-1402.
- Matricardi, L., & Waterhouse, A. L. (1999). Influence of toasting technique on color and ellagitannins of oak wood in barrel making. *Am. J. Enol. Vitic.*, 50: 519-526.

-
- Mayer, W., Gabler, W., Riester, A., & Korger, H. (1967). Die Isolierung von Castalagin, Vescalagin, Castalin und Vescalin. *Liebigs Ann. Chem.*, 707: 177-181.
- Monties, B. (1992). Composition chimique des bois de chêne: composés phénoliques, relations avec quelques propriétés physiques et chimiques susceptibles d'influencer la qualité des vins et des eaux-de-vie. In: *Le bois et la qualité des vins et eaux-de-vie*. , Vigne et Vin Publ. Intern. Bordeaux, 59-72pp.
- Morais, S. A., Nascimento, E. A., & Melo, D. C. (2005). Análise da madeira de Pinus oocarpa parte I: Estudo dos constituintes macromoleculares e extrativos voláteis. *R. Árvore*, 29, 3: 461-470.
- Moutounet M., R. P. (1992). Les tanins du bois de chêne. Les conditions de leur presence dans les vins. In *Le bois et la qualité des vins et eaux-de-vie*. Vigne et Vin Publ. Intern., 75-79pp.
- Moutounet, M., Rabier, P., Puech, J. L., Verette, E., & Barillère, J. M. (1989). Analysis by HPLC of extractable substances in oak wood. Application to a chardonnay wine. *Sci. Aliments*, 9: 35-52.
- Nabeta, K., Yonekubo, J., & Miyake, M. (1986). Analysis of volatile constituents of european and japanese oaks. *Mokuzai Gakkaishi*, 32: 408-415.
- Nabeta, K., Yonekubo, J., & Miyake, M. (1987). Phenolic compounds from the heartwood of european oak (*Quercus robur* L.) and brandy. *Mokuzai Gakkaishi*, 33: 408-415.
- Nevares, I., & Del Álamo, M. (2008). Measurements of dissolved oxygen during red wines tank aging with chips and micro-oxygenation. *Anal. Chim. Acta*, 621: 68-78.
- Nishimura, K., & Matsuyama, R. (1989). *Maturation and maturation chemistry*. In: *The science and technology of whiskies*. Piggott J.R., Sharp R., Duncan R.E.B. (eds.), Longman Scientific & Technical, Essex, Cap. 8, 235-263.
- Nishimura, K., Ohnishi, M., Masuda, M., koga, K., & Matsuyama, R. (1983). *Reactions of wood components during maturation*. In: *Flavour of distilled beverages: origin and development*. Piggott J.R. (ed.). Ellis Horwood Limited, England, 241-255pp.
- Nomdedeu, L., Leaute, R., GrandChamp, B., Bonnichon, C., Laurichesse, D., & Trichet, P. (1988). Brûlage des barriques de chêne et qualité des vins de Médoc. *Progrés Agricole et Viticole*, 105: 505-556.

-
- Nonaka, G., Sakai, T., Tanaka, T., Mihashi, K., & Nishioka, I. (1990). Tannins and related compounds. XCVII. Structure revision of C-glycosidic ellagitannins, castalagin, vescalagin, casuarinin and stachyurin, and related hydrolyzable tannins. *Chem. Pharm. BULL*, 38: 84-96.
- Norma, P. (1973). NP614 :Madeiras. Determinação do teor em água.
- Nykänen, L., Nykänen, I., & Moring, M. (1985). Aroma compounds dissolved from oak chips by alcohol. In: *Progress in Flavour Research*. Adda J. (ed.), Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 339-346.
- Onishi, M., Guymon, J. F., & Crowell, E. A. (1977). Changes in some volatile constituents of brandy during aging. *Am. J. Enol. Vitic.*, 28: 152-158.
- Pérez-Coello, M. S., Sanz, J., & Cabezudo, M. D. (1999). Determination of volatile compounds in hydroalcoholic extracts of french and american oak wood. *Am. J. Enol. Vitic.*, 50: 162-165.
- Pérez-Magariño, S., Ortega-Heras, M., Cano-Mozo, E., & González-Sanjosé, M. L. (2009). The influence of oak wood chips, micro-oxygenation treatment, and grape variety on colour, and anthocyanin and phenolic composition of red wines. *J. Food Comp. and Anal.*, 22: 204-211.
- Philipp, P., & D'Almeida, M. L. (1988). *Celulose e papel: tecnologia e fabricação da pasta celulósica*. São Paulo.: IPT, 2ed. Citado por: Morais, S. A., Nascimento, E. A. & Melo, D. C. (2005). Análise da madeira de Pinus oocarpa parte II: Caracterização estrutural da lignina de madeira moída. *R. Árvore*, 29, 3: 471-478.
- Puech, J. L. (1984). Characteristics of oak wood and biochemical aspects of Armagnac aging. *Am. J. Enol. Vitic.*, 35: 77-81.
- Puech, J. L. (1992). Influence du bois de chêne sur les caractéristiques analytiques des eaux-de-vie. In: *Le bois et la qualité des vins et eaux-de-vie*. Vigne et Vin Publ. Intern, Bordeaux, 123-124pp.
- Puech, J. L. (1978). *Vieillessement des eaux-de-vie en fûts de chêne. Extraction et evolution de la lignine et de ses produits de degradation*. Thèse doctorat de l'Université Paul Sabatier de Toulouse, Toulouse, 68p.

-
- Puech, J. L., & Goffinet, B. (1987). Adjustment of nonlinear models for lignin and its degradation products during the aging of Armagnac. *Journal of Food Science*, 52: 1280-1282 & 1301.
- Puech, J. L., & Moutounet, M. (1988). Liquid chromatographic determination of scopoletin in hydroalcoholic extract of oak wood and in matured distilled alcoholic beverages. *J. Assoc. Off. Anal. Chem*, 71: 512-514.
- Puech, J. L., Sarni, F., Labidi, A., Mouttet, B. & Robert, A. (1990). Delignification of oak wood with an ethanol-water solution in a flow-through reactor. *Holzforschung*, 44: 367-371.
- Puech, J. L., Joure, T. C., & Goffinet, B. (1985). Évolution des composés phénoliques du bois de chêne au cours du vieillissement de l'Armagnac. *Sci. Aliments*, 5: 379-392.
- Puech, J. L., Jouret, C., Deibner, L., & Alibert, G. (1977). Substances phenoliques des eaux-de-vie d'Armagnac et de rhum. II. Produits de la degradation de la lignine: les aldehydes et les acides aromatiques. *Ind. Alim. Agric.*, 483-493.
- Puech, J. L., Leauté, R., Clot, G., Nomdedeu, L., & Mondiés, H. (1984). Évolution de divers constituants volatils et phénoliques des eaux-de-vie de cognac au cours de leur vieillissement. *Sci. Aliments*, 4: 65-80.
- Puech, J. L., Lepoutre, J. P., Baumes, R., Bayonove, C., & Moutounet, M. (1992). Influence du thermotraitement des barriques sur l'évolution de quelques composants issus du bois de chêne dans les eaux-de-vie. *In: Elaboration et connaissance des spiritueux*. Cantagrel R. (ed.), TEC & DOC-Lavoisier e BNIC, Cognac, 583-588pp.
- Puech, J. L., Moutounet, M., Lepoutre, J. P., Baumes, R., & Bayonove, C. (1994). Composés de bois de chêne extraits par les eaux de vie. *Revue des Oenologues*, 4: 27-31.
- Puech, J. L., Robert, A., & Mouttet, B. (1989). Evolution of oak wood lignin subjected to flash hydrolysis. *Holzforschung*, 43: 235-238.
- Rabier, P., & Moutounet, M. (1991). Évolution d'extractibles de bois de chêne dans une eau-de-vie de vin. Incidence du thermotraitement des barriques. *In: Les eaux de vie traditionnelles d'origine viticole*, Bertrand A., TEC & DOC-Lavoisier, Paris, 220-230pp.

-
- Reazin, G. H. (1983). Chemical analysis of whisky maturation. In *Flavour of distilled beverages. Origin and development*. Ellis Horwood Limited, West Sussex, England. Piggott J.R. (ed.), Cap. 19, 225-240pp.
- Reazin, G. H. (1981). Chemical mechanisms of whiskey maturation. *Am. J. Enol. Vitic.*, 32: 283-289.
- Rodrigues, J., Meier, D., Faix, O., & Pereira, H. (1999). Determination of tree to tree variation in syringly/guaiacyl ratio of Eucalyptus globulus wood lignin by analytical pyrolysis. *J. Anal. Pyrol.*, 48: 121-128.
- Santos, I. D. (2008). *Influência dos teores de lignina, holocelulose e extrativos na densidade básica, contração da madeira e nos rendimentos e densidade do carvão vegetal de cinco espécies lenhosas do cerrado*. Tese de Mestrado. Universidade de Brasília, Departamento de Ciências Florestais. Brasília, 57pp.
- Sarni, F., Moutounet, M., Puech, J. L., & Rabier, P. (1990a). Effect of heat treatment of oak wood extractable compounds. *Holzforschung*, 44: 461-466.
- Sarni, F., Rabier, P., & Moutounet, M. (1990b). Fabrication des barriques et thermotraitement: relevé des températures. *R. F. Oenol.*, . *R. F. Oenol.*, 123: 53-58.
- Sartini, E., Arfelli, G., Fabiani, A., & Piva, A. (2007). Influence of chips, lees and micro-oxygenation during aging on the phenolic composition of a red Sangiovese wine. *Food Chemistry*, 104: 1599-1604.
- Sefton, M. A., Francis, I. L., & Williams, P. J. (1990). Volatile norisoprenoids compounds as constituents of oak woods used in wine and spirit maturation. *J. Agric. Food Chem.*, 38, 11: 2045-2049.
- Seikel, M., Hostettler, F. D., & Niemann, G. J. (1971). Phenolics of Quercus rubra wood. *Phytochem*, 10: 2249-2251.
- Severo, E. T., Calonego, F. W., & Sansígolo, C. A. (2006). Composição química da madeira de Eucalyptus citriodora em função das direcções estruturais. *Silva Lusitana*, 14, 1: 113-126.
- Silvestre, A. J. D., Pereira, C. C. L., Neto, C. P., Evtuguin, D. V., Duarte, A. C., Cavaleiro, J. A. S., Furtado, F. P., 1999. Chemical composition of pitch deposits from an ECF Eucalyptus globulus bleached kraft pulp mill: its relationship with wood extractives and additives in process streams. *Appita Journal*, 52, 5: 335-347.

-
- Singleton, V. L. (1995). Maturation of wines and spirits: comparison, facts, and hypothesis. *Am. J. Enol. Vitic.*, 46, 1: 98-115.
- Sitholé, B. B., Vollstaedt, P., & Allen, L. H. (1991). Comparison of Soxtec versus Soxhlet systems for the determination of wood extractives (lipids). *TAPPI J.* , 74, 11: 187-191.
- Sjöström, E. (1993). *Wood Chemistry. Fundamentals and Applications*. Academic press, Second Edition, San Diego, 293pp.
- Sjöström, E., & Alén, R. (1999). *Analytical Methods in Wood Chemistry, Pulping and Papermaking*. Springer Séries in Wood Science, 1st Edition, Berlin, 316pp.
- TAPPI. (2006). Tappi Test Methods: Acid-Insoluble Lignin in Wood and Pulp (T222 om-06). *Technical Association of Pulp and Paper Industry* , Tappi Press, Atlanta.
- TAPPI. (2007). Tappi Test Methods: Solvent Extractives of Wood and Pulp (T 204 cm-07). Tappi Press, Atlanta.
- Viriot, C., Scalbert, A., Hervé du Penhoat, C. L., & Moutounet, M. (1994). Ellagitannins in wood of sessile oak and chestnut. Dimerization and hydrolysis during wood ageing. *Phytochemistry* , 36: 1253-1260.
- Viriot, C., Scalbert, A., Lapierre, C., & Moutounet, M. (1993). Ellagitannins and lignins in aging of spirits in oak barrels. *J. Agric. Food Chem.*, 41: 1872-1879.
- Vivas, N. (2000). Apports récents à la connaissance du chêne de tonnellerie et à l'élevage des vins rouges en barriques. *BULL. OIV* , 827/828: 79-108 .
- Weissman, V. G., Kubel, H., & Lauge, W. (1989). Untersuchungen cancerogenitat vonholzstaub. Die extraktstoffe von Eichenhotiz (*Quercus robur* L.). *Holzforschung*, 43: 75-77.