

Dissertação de Mestrado – Rafael Dutra Soares

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

INSTITUTO DE QUÍMICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**Estudo do perfil cromatográfico dos componentes voláteis do vinho
espumante Moscatel através do emprego de micro extração em fase sólida e
cromatografia gasosa monodimensional e bidimensional abrangente**

Dissertação de Mestrado

Rafael Dutra Soares

Julho 2012

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

INSTITUTO DE QUÍMICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Rafael Dutra Soares

**Estudo do perfil cromatográfico dos componentes voláteis do vinho
espumante Moscatel através do emprego de micro extração em fase sólida e
cromatografia gasosa monodimensional e bidimensional abrangente**

Dissertação de Mestrado

Profa. Dra. Cláudia Alcaraz Zini
Orientadora

Prof. Dr. Vitor Manfroi
Co-orientador

Porto Alegre, Julho de 2012.

DECLARAÇÃO DE AUTORIA

A presente dissertação foi realizada inteiramente pelo autor, exceto as colaborações as quais serão devidamente citadas nos agradecimentos, no período entre (abril/2010) e (Julho/2012), no Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul sob orientação da Professora Doutora Cláudia Alcaraz Zini e co-orientação do Professor Doutor Vitor Manfroi. A dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de Mestre em Química pela seguinte banca examinadora:

Comissão Examinadora:

Profa. Dra. Neide Garcia Penna

Profa. Dra. Rosângela Assis Jacques

Prof. Dr. João Henrique Zimnoch dos Santos

Profa. Dra. Cláudia Alcaraz Zini
Orientadora

Prof. Dr. Vitor Manfroi
Co-orientador

Rafael Dutra Soares

*“Somente os extremamente sábios e os
extremamente estúpidos é que não mudam.”*

Confúcio

AGRADECIMENTOS

Agradeço à professora e orientadora Cláudia Zini, um exemplo de profissional e dedicação, pela orientação, ensinamentos, inspiração, paciência e outras tantas contribuições que ajudaram a tornar realidade este trabalho.

A minha família, que sempre me incentivou a estudar, sempre!

A Patrícia, a quem dedico este trabalho, pelo estímulo, carinho e principalmente compreensão;

As professoras Elina Caramão e Rosângela Jaques, por toda a contribuição ao grupo de pesquisa do LAAO.

A Karine Nicolli e Juliane Welke, por partilhar de seus conhecimentos.

Aos colegas do laboratório, pela convivência e conhecimentos trocados.

Ao professor Vitor Manfroi, pela co-orientação e contribuição na realização deste trabalho.

A Vinícola Perini, Cléber Andrade e Giseli Scopel, pelo fornecimento de amostras e pelas informações técnicas fornecidas.

Ao pesquisador Mauro Zanus (Embrapa Uvas e Vinhos) pela parceria na execução deste trabalho

Aos colegas do IFRS, por oportunizar momentos de dedicação exclusiva a este trabalho.

Aos demais colegas do PPGQ, pelos agradáveis encontros nos corredores do IQ.

Aos professores do PPGQ, pelos ensinamentos durante o curso de mestrado.

Aos amigos, em especial ao Diego Rosa, pelo fornecimento de alguns materiais que foram essenciais na execução deste trabalho.

A todos aqueles que possam ter contribuído em algum momento para a realização deste trabalho

Muito Obrigado!

SUMÁRIO

DECLARAÇÃO DE AUTORIA.....	ii
AGRADECIMENTOS.....	iv
SUMÁRIO.....	v
Índice de Figuras	vi
Índice de Tabelas.....	viii
Abreviações.....	x
RESUMO	xi
ABSTRACT.....	xii
1. INTRODUÇÃO	13
1.1. OBJETIVO GERAL	14
1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
2. REVISÃO BILIOGRÁFICA	15
2.1. ESPUMANTES	15
2.2. AROMA	20
2.3. TERPENOS	22
2.4. TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO E ANÁLISE	24
2.4.1. Técnicas de extração de voláteis de vinho.....	24
2.4.2. Técnicas de análise de voláteis de vinho	26
3. PARTE EXPERIMENTAL.....	30
3.1. COLETA E PREPARO DAS AMOSTRAS	30
3.2. EXTRAÇÃO DAS AMOSTRAS	31
3.3. ANÁLISES CROMATOGRÁFICAS	33
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	34
4.1. IDENTIFICAÇÃO PRELIMINAR TENTATIVA DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS PRESENTES NO ESPUMANTE	34
4.2. OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO	38
4.2.1. Tipo de Fibra	38
4.2.2. Concentração de Etanol.....	44

4.2.3.	Volume da Amostra	45
4.2.4.	Temperatura de Extração	46
4.2.5.	Influência da Força Iônica	48
4.2.6.	Tempo de Extração	50
4.3.	IDENTIFICAÇÃO TENTATIVA DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS PRESENTES NO ESPUMANTE ...	51
4.3.1.	Cromatografia Gasosa com Detector Quadrupolar de Espectrometria de Massas.....	51
4.3.2.	Cromatografia gasosa bidimensional abrangente com detector espectrométrico de massas do tipo tempo de voo	55
4.4.	EVOLUÇÃO DO AROMA DURANTE O PROCESSO DE ELABORAÇÃO DO ESPUMANTE MOSCATEL	77
5.	RESUMO DOS RESULTADOS	87
6.	CONCLUSÕES.....	90
7.	PRODUÇÃO CIENTÍFICA GERADA A PARTIR DESTE TRABALHO	91
8.	SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS	91
9.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	93
10.	ANEXO I – ESTRUTURA DOS COMPOSTOS TENTATIVAMENTE IDENTIFICADOS NO HEADSPACE DE ESPUMANTE MOSCATEL (Análise preliminar).....	97
11.	ANEXO II – ALGUMAS ESTRUTURAS DOS PRINCIPAIS COMPOSTOS TERPÊNICOS ENCONTRADOS EM PRODUTOS VITÍCOLAS ORIGINADOS DA UVA MOSCATEL E SEUS RESPECTIVOS LIMIARES DE PERCEPÇÃO.....	99

Índice de Figuras

Figura 1. Produção de vinhos pelo método <i>Champenoise</i> com as seguintes etapas 1- Engarrafamento do vinho base, 2- Fermentação na garrafa, 3 e 4- <i>remuage</i> , 5 e 6- <i>Degourgement</i> , 7 – licor de expedição	16
Figura 2. Diferentes etapas na produção de vinhos pelo método Charmat.	16
Figura 3. Comercialização de espumantes finos produzidos por empresas do Rio Grande do Sul de 2004 a 2009 ⁽¹⁾	17
Figura 4. Uva moscato utilizada na produção do espumante Moscatel	17
Figura 5. Esquema das principais etapas de produção de espumantes Moscatel.	18
Figura 6. Sequência tecnológica da produção de espumante e sua relação com os diferentes tipos de aroma	22
Figura 7. Esquema de um sistema de cromatografia gasosa com detector de espectrometria de massas quadrupolar	27
Figura 8. Esquema representivo dos componentes do sistema de cromatografia gasosa bidimensional abrangente.(I – injetor, ¹ D – coluna responsável pela separação da primeira dimensão, M – modulador, ² D – coluna responsável pela separação na segunda dimensão, D – detector).	29

Figura 9. Diferentes etapas da parte experimental. A – Desgaseificação, B- SPME, C-Dessorção dos compostos voláteis no pórtico do injetor do cromatógrafo e D – Análise por GC/MS.	32
Figura 10. Cromatograma do perfil volátil de um espumante Moscatel dividido em três partes, de acordo com o tempo de retenção dos compostos voláteis tentativamente identificados: (A) de 0 a 15 min; (B) de 15 a 27 min; (C) de 27 a 40 min.	36
Figura 11. Número total de picos cromatográficos de compostos voláteis tentativamente identificados, obtido a partir da extração de amostra de espumante Moscatel utilizando diferentes fases poliméricas. As condições de extração para as diferentes fibras foram: volume da amostra de 2mL, sem diluição (teor alcóolico das amostras de 7,5%), temperatura de extração de 40°C, adição de 30% (m/v) de sal (NaCl) na amostra e o tempo de extração de 10 minutos.	40
Figura 12. Somatório das áreas cromatográficas de compostos voláteis tentativamente identificados, obtido a partir da extração de amostra de espumante Moscatel utilizando diferentes fases poliméricas. As condições de extração para as diferentes fibras foram: volume da amostra de 2mL, sem diluição (teor alcóolico das amostras de 7,5%), temperatura de extração de 40°C, adição de 30% (m/v) de sal (NaCl) na amostra e o tempo de extração de 10 minutos.	40
Figura 13. Cromatogramas que mostram a comparação dos resultados obtidos após extração do <i>headspace</i> de amostras de espumante Moscatel com as fibras A. PDMS 100 µm, B. PDMS 7 µm StableFlex, C. PA 85 µm, D. CAR/PDMS 85 µm, E. DVB/PDMS 65 µm StableFlex e F. DVB/CAR/PDMS 50/30 StableFlex. (todos os valores no eixo x são referentes ao tempo de retenção (variando de 0 à 40 minutos) e no eixo y dizem respeito à intensidade (0 à 1,5 x 10 ⁶). As condições de extração para as diferentes fibras foram: volume da amostra de 2mL, sem diluição (teor alcóolico das amostras de 7,5%), temperatura de extração de 40°C, adição de 30% (m/v) de sal (NaCl) na amostra e o tempo de extração de 10 minutos.....	43
Figura 14. Comparação das áreas cromatográficas obtidas para (A) ésteres e (B) terpenos majoritários tentativamente identificados após extrações realizadas com as fibras DVB/PDMS e tripla (DVB/CAR/PDMS).	44
Figura 15. Avaliação da influência da diluição da amostra na eficiência da extração de compostos voláteis de espumante Moscatel (foram mantidos constantes o volume (2mL), a temperatura de extração (40°C), a força iônica (adição de 30% de sal) e o tempo de extração (10 minutos). Todas as extrações foram realizadas utilizando a fibra com fase DVB/PDMS.	45
Figura 16. Eficiência de extração para alguns compostos representativos de várias classes químicas presentes no <i>headspace</i> do espumante Moscatel quando da utilização de três diferentes volumes de amostra (foram mantidos constantes o teor alcóolico (7,5%), a temperatura de extração (40°C), a força iônica (adição de 30% de sal) e o tempo de extração (10 minutos)). Todas as extrações foram realizadas utilizando a fibra com fase DVB/PDMS.....	46
Figura 17. Influência da temperatura na área cromatográfica de alguns componentes (foram mantidos constantes o teor alcóolico (7,5%), o volume (2mL), a força iônica (adição de 30% de sal) e o tempo de extração (10 minutos)). Todas as extrações foram realizadas utilizando a fibra com fase DVB/PDMS.	48
Figura 18. Influência da adição de cloreto de sódio ao espumante Moscatel na eficiência da microextração em fase sólida no modo <i>headspace</i> com uma fibra PDMS/DVB (foram mantidos constantes o teor alcóolico (7,5%), o volume (2mL), a temperatura de extração (40°C) e o tempo de extração (10 minutos)). Todas as extrações foram realizadas utilizando a fibra com fase DVB/PDMS.	49

Figura 19. Perfil de extração de alguns compostos voláteis representativos do perfil cromatográfico do headspace de vinhos espumantes Moscatel, obtido através de HS-SPME (foram mantidos constantes o teor alcóolico (7,5%), o volume (2mL), a temperatura de extração (40°C) e a força iônica (adição de 30% de sal)). Todas as extrações foram realizadas utilizando a fibra com fase DVB/PDMS.50

Figura 20. Diagrama de cores para as análises por GC×GC/TOFMS do espumante Moscatel. A) diagrama de cores. B) diagrama tridimensional56

Figura 21 - Separação de citronelol e nerol na 2t_R ($^1t_R = 1575$ s para ambos os compostos, 2t_R 4,24 s para o citronelol e 4,49 s para o nerol) no *headspace* de amostras de espumante Moscatel e demonstração de deconvolução espectral. A) coeluição dos álcoois monoterpênicos B) espectro de massas do citronelol de banco de dados de espectros de massas NIST 107C) espectro de massas do nerol de banco de dados de espectros de massas Nist 107. D) cromatograma obtido a partir da deconvolução espectral. E) espectro de massas encontrado para o citronelol do espumante Moscatel. F) espectro de masss encontrado para o nerol do espumante Moscatel.71

Figura 22 - Separação de alguns compostos tentativamente identificados (numeração de acordo com a Tabela IV) de uma determinada região do diagrama de cores, resultante da análise do *headspace* de espumante Moscatel por HS-GC×GC/TOFMS. (Apenas os compostos tentativamente identificados foram enumerados: 201- *cis*-óxido de linalol, 52- 2-nonanona, 203- terpinoleno, 202- hotrienol, 204- linalol, 205- óxido de rosa, 89- éster, 90- acetato de n-heptila, 206- mircenol, 91- éster, 101- octanoato de metila72

Figura 23 Comportamento da área cromatográfica normalizada de três monoterpênicos oxigenados encontrados no *headspace* da matriz líquida proveniente de diferentes etapas do processo de produção de espumante Moscatel.....78

Figura 24 - Comportamento da área cromatográfica normalizada de óxidos terpênicos encontrados no *headspace* da matriz líquida proveniente de diferentes etapas do processo de produção de espumante Moscatel.....80

Figura 25 Comportamento da área cromatográfica normalizada de quatro monoterpênicos encontrados no *headspace* da matriz líquida proveniente de diferentes etapas do processo de produção de espumante Moscatel.....82

Figura 26 Comportamento da área cromatográfica normalizada de três acetatos terpênicos encontrados no *headspace* da matriz líquida proveniente de diferentes etapas do processo de produção de espumante Moscatel.....83

Figura 27 Comportamento da área cromatográfica normalizada de três ésteres etílicos encontrados no *headspace* da matriz líquida proveniente de diferentes etapas do processo de produção de espumante Moscatel.....84

Figura 28 Comportamento da área cromatográfica normalizada de três álcoois encontrados no *headspace* da matriz líquida proveniente de diferentes etapas do processo de produção de espumante Moscatel.....86

Índice de Tabelas

Tabela I Quadro resumo das etapas de coleta das amostras de espumante de um processo de vinificação de mosto de uvas Moscatel nos anos de 2010 e 2011.31

Tabela II Compostos tentativamente identificados no *headspace* do espumante Moscatel por GC/qMS.....36

Tabela III -Compostos tentativamente identificados nos processos 1,2 e 3 de vinificação e relação de área percentual (% a) no mosto (m) e no espumante final (e)	52
Tabela IV – Compostos tentativamente identificados no <i>headspace</i> de espumante Moscatel por GCxGC/TOFMS	57
Tabela V – Divisão das classes dos compostos terpênicos tentativamente identificados no espumante Moscatel.....	69

Abreviações

CAR/PDMS – Carboxen/polidimetilsiloxano (do inglês, *carboxen/polydimethyl siloxane*)

CAR/DVB/PDMS – Carboxen/ divinilbenzeno/ polidimetilsiloxano (do inglês, *carboxen/divinylbenzene/polydimethyl siloxane*)

CLSA - Análise por purga em circuito fechado (do inglês, *closed-loop stripping analysis*)

DVB/PDMS – Divinilbenzeno/polidimetilsiloxano (do inglês, *divinylbenzene/polydimethyl siloxane*)

GC-FID - Cromatografia gasosa com detector de ionização em chama (do inglês *gas chromatography with flame ionization detector*)

GC×GC – Cromatografia gasosa bidimensional abrangente (do inglês, *comprehensive two-dimensional gas chromatography*)

GC×GC/TOFMS – Cromatografia gasosa bidimensional abrangente acoplada a detector de espectrometria de massas do tipo tempo de voo (do inglês, *comprehensive two-dimensional gas chromatography with time-of-flight mass spectrometric detection*)

GC/MS ou **1D-GC/MS** - Cromatografia gasosa monodimensional acoplada a detector de espectrometria de massas (do inglês, *one-dimensional gas chromatography with mass spectrometric detection*)

GC-O – Cromatografia Gasosa-Olfatometria (do inglês, *gas chromatography- olfactometry*)

GC/qMS ou **1D-GC/qMS** – Cromatografia gasosa monodimensional acoplada a detector de espectrometria de massas do tipo quadrupolar (do inglês, *one-dimensional gas chromatography with quadrupolar mass spectrometric detection*)

HS-SPME – Microextração em fase sólida no modo *headspace* (do inglês, *headspace solid phase micro extraction*)

HS-SPME-GC×GC/TOFMS – Microextração em fase sólida no modo *headspace* acoplada à cromatografia gasosa bidimensional abrangente acoplada a detector espectrométrico de massas por tempo de voo

LLE – Extração líquido-líquido (do inglês, *liquid-liquid extraction*)

LTPRI - Índices de retenção com programação linear de temperatura (do inglês, *linear temperatura programmed retention index*)

PA – Poliacrilato (do inglês, *polyacrylate*)

PDMS – Polidimetilsiloxano (do inglês, *polydimethyl siloxane*)

SPE – Extração em fase sólida (do inglês, *solid phase extraction*)

SDE – Extração-destilação simultâneas (do inglês, *simultaneous distillation extraction*)

SBSE - Extração sortiva em barra de extração (do inglês, *stir-bar sorptive extraction*)

TD-GC/MS - Dessorção térmica acoplada à cromatografia gasosa com detector de espectrometria de massas (do inglês, *thermal desorption with gas chromatography and mass spectrometric detection*)

RESUMO

Uma avaliação do perfil cromatográfico de voláteis de espumantes Moscatel da Serra Gaúcha foi realizada durante o processo de vinificação, usando-se um método de HS-SPME que foi otimizado para este fim. O método incluiu a utilização do filme PDMS/DVB, 2 mL de amostra sem diluição, temperatura de extração de 40°C, 30% (m/v) de NaCl, e tempo de extração de 30 min. Utilizando-se a técnica de GC/qMS foram tentativamente identificados 55 compostos e outros três por co-injeção, totalizando 58 compostos, enquanto pela técnica de GC×GC/TOFMS foram tentativamente identificados 232 compostos. O perfil cromatográfico dos vinhos espumantes apresentou alterações durante o processo de vinificação, como quantidades decrescentes de álcoois monoterpênicos (linalol, hotrienol, α -terpineol) e quantidades crescentes de ésteres terpênicos (acetatos de citronelila, nerila e geranila). O método HS-SPME-GC/qMS provou ser uma escolha analítica apropriada para monitorar o perfil cromatográfico de compostos voláteis durante a vinificação e pode ser utilizado como ferramenta útil para o desenvolvimento da produção do vinho espumante, controle de qualidade e de futuras pesquisas de marcadores de qualidade do produto. A técnica GC×GC/TOFMS abre perspectivas para um estudo mais detalhado do perfil volátil de espumantes e outras bebidas aromáticas por sua maior seletividade e capacidade de pico.

ABSTRACT

An evaluation of the chromatographic profile of volatile compounds of Moscatel sparkling wines of the Serra Gaucha during vinification process, using an optimized HS-SPME method was performed. The optimized method included the use of PDMS/DVB film, 2 mL of wine, extraction temperature of 40°C, 30% (w/v) of NaCl, and extraction time of 30 min. The use of GC/qMS resulted in 55 tentatively identified compounds and other three positively identified in the wine headspace, while in GC×GC/TOFMS, 232 compounds were tentatively identified in the same sample. The chromatographic profile of sparkling wines volatiles showed changes during wine making process, such as decreasing amounts of monoterpenic alcohols (linalool, hotrienol, α -terpineol) and increasing amounts of terpenic esters, such as citronelyl, neryl and geranyl acetates. The HS-SPME-GC/qMS method proved to be an appropriate analytical choice to follow the chromatographic profile of volatile compounds during wine making process and may be employed as a useful tool for wine production development, quality control and future search of volatile markers of product quality. GC×GC/TOFMS opens a perspective of a more detailed study of the volatile chromatographic profile of sparkling wines and other aromatic beverages and spirits due to its higher selectivity and peak capacity.

1. INTRODUÇÃO

O vinho espumante Moscatel é um dos produtos de maior ascensão produtiva da região vitícola da Serra Gaúcha, sendo conhecido por seu intenso aroma frutado e floral. No Brasil, em 2009, foram comercializados 2,5 milhões de litros de espumante Moscatel ⁽¹⁾, destacando-se o Rio Grande do Sul como principal produtor. Este espumante é produzido através de um processo muito semelhante ao processo Asti, elaborado na região do Piemonte, na Itália ⁽²⁾. A qualidade global do vinho está relacionada ao balanço de diferentes parâmetros sensoriais, contudo, o aroma é provavelmente o que desempenha o papel de maior relevância na sua aceitabilidade, satisfação e distinção ^{(2) (3)}. Apesar das características diferenciadas do espumante Moscatel e da sua importância econômica, poucos estudos relacionados ao aroma e à composição de sua fração volátil têm sido feitos. No que diz respeito à análise de compostos voláteis de produtos provenientes da indústria vinícola, a técnica de micro extração em fase sólida (HS-SPME, do inglês *headspace solid phase micro extraction*) vem sendo amplamente utilizada.

Diversas pesquisas em torno de caracterização do perfil aromático de vinhos ^{(4) - (10)}, bem como sobre o comportamento da composição dos vinhos durante e após o processo de fermentação ⁽¹¹⁾⁻⁽¹³⁾ estão reportadas em artigos científicos. Além disso, o desenvolvimento de métodos de análise quantitativa de analitos importantes na formação do aroma dos vinhos das mais variadas espécies de uvas também tem sido alvo de investigação ^{(14) (15)}, empregando-se esta mesma técnica. Além da ausência de estudos específicos acerca do perfil aromático do espumante Moscatel, poucas informações são encontradas a respeito da variação deste perfil durante o processo de fabricação do espumante. O conhecimento a respeito da geração e desaparecimento de compostos voláteis durante o processo de fabricação de uma bebida se reveste de importância, visto que pode indicar caminhos para um melhor controle de qualidade do processo de fabricação, para a elucidação de mecanismos de reações químicas e de processos fermentativos, bem como para a certificação da qualidade dos compostos voláteis produzidos. Além disso, a descoberta de componentes voláteis de aroma desagradável pode auxiliar no desenvolvimento ou na modificação de etapas do processo que venham a impedir a formação destes componentes, de forma a valorizar ainda mais o produto.

A cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (do inglês, *gas chromatography with mass spectrometric detection*, GC/MS ou 1D-GC/MS) é a técnica de

escolha para a análise de compostos voláteis de vinhos e também de outras bebidas, sendo mais comumente empregada na sua forma monodimensional ^{(6) (14) - (18)}. Nos últimos anos a GC×GC-TOFMS (do inglês, *comprehensive two-dimensional gas chromatography with time-of-flight mass spectrometric detection*) tem sido também empregada, gerando resultados superiores, devido a sua maior capacidade de pico, sensibilidade, seletividade e resolução ^{(5) (10) (19) - (21)}.

1.1. OBJETIVO GERAL

Este trabalho tem por objetivo investigar o perfil dos compostos voláteis durante várias etapas da vinificação de vinhos espumantes Moscatel, empregando a técnica de micro extração em fase sólida no modo *headspace* (HS-SPME, do inglês, *headspace solid phase micro extraction*).

1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver um método de HS-SPME para voláteis de vinhos espumantes moscatéis gaúchos, através de planejamento experimental e aplicar este método para acompanhar o perfil cromatográfico de compostos voláteis, ao longo de algumas etapas importantes do processo;
- Utilizar 1D-GC/qMS como ferramenta principal de acompanhamento do perfil cromatográfico do vinho, nas várias etapas do processo de vinificação, empregando-se índices de retenção e espectros de massas experimentalmente obtidos para identificação tentativa dos compostos voláteis;
- Avaliar a transformação dos compostos voláteis durante o processo de vinificação, comparando áreas cromatográficas dos mesmos componentes ao longo do processo de elaboração;
- Interpretar a importância da presença/ausência, aumento e/ou decréscimo dos compostos voláteis identificados durante o processo de vinificação à luz do caráter aromático destes componentes, registrado na literatura científica.
- Realizar uma avaliação preliminar da potencialidade da GC×GC/TOFMS para o estudo dos compostos voláteis do espumante Moscatel.

2. REVISÃO BILIOGRÁFICA

2.1. ESPUMANTES

O termo espumante se refere exclusivamente aos vinhos que foram submetidos à fermentação alcoólica em um recipiente fechado. De acordo com a legislação brasileira, o espumante é um vinho no qual o anidrido carbônico é resultante de uma segunda fermentação alcoólica do vinho com uma pressão mínima de 4 (quatro) atmosferas a 20° C ⁽²²⁾. Existem vários métodos para produção de vinhos espumantes, os quais geralmente incluem dois estágios. A primeira etapa consiste em fazer um vinho base com determinadas características e a etapa seguinte é a ocorrência da fermentação pela segunda vez ^{(3) (23)}. Estes vinhos são altamente apreciados em todo o mundo, tendo, por isto, um valor adicional. Sua característica mais importante é que eles efervesce durante todo o processo de degustação ⁽²³⁾.

A segunda fermentação pode ocorrer na garrafa ou em tanques. No caso do **método tradicional (Figura 1)**, conhecido também como **Champenoise**, os vinhos espumantes são fermentados em garrafas ⁽²⁴⁾ e após o final da segunda fermentação, as leveduras (microorganismos que fazem com que o processo de fermentação ocorra ⁽²⁵⁾) se rompem e a garrafa passa pelo processo de *remuage*, que consiste em colocá-la de cabeça para baixo em um ângulo de 45°, submetendo-a a rotações periódicas por cerca de 30 dias. As borras depositadas junto ao gargalo sofrem congelamento rápido e são expulsas da garrafa (do francês, *degorgement*). Na sequência, é inoculado na garrafa o licor de expedição (do francês, *dosage liqueur*) ⁽²⁶⁾ determinante no grau de açúcar do espumante. Só então a garrafa será fechada com sua rolha definitiva, passando ainda um determinado tempo nas caves antes de sua comercialização ^{(23) (26)}. Os tipos de espumantes mais conhecidos, que são produzidos através deste método são: os Champanhes, na França, os Cavas; na Espanha, os Franciacortas, na Itália e os Cap Classique, na África do Sul.

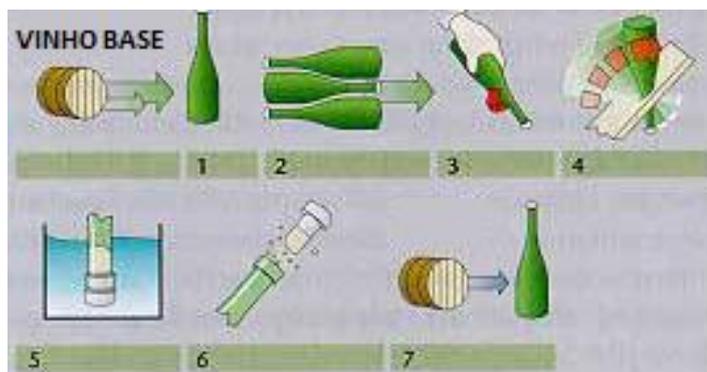


Figura 1. Produção de vinhos pelo método *Champenoise* com as seguintes etapas 1- Engarrafamento do vinho base, 2- Fermentação na garrafa, 3 e 4- *remuage*, 5 e 6- *Degorgement*, 7 – licor de expedição

Outro processo de elaboração de vinhos e espumantes é conhecido como **Charmat** (Figura 2). Este método utiliza tanques de fermentação (autoclaves) de tamanho variável, os quais são construídos em aço inoxidável, suportam uma pressão de até 20 atm e ainda são munidos de controladores de temperaturas, agitadores e manômetro para o monitoramento da pressão. A principal vantagem desse método é que o tempo elaboração do espumante é bem mais curto que no *Champenoise*. A produção em tanques também demanda menor uso de mão-de-obra e, conseqüentemente, o custo é menor, resultando em espumantes de preço mais acessível. O produto final apresenta menor complexidade, mas alguns produtores argumentam que ele apresenta ênfase nos aromas mais frutados e florais do espumante ⁽³⁾ ⁽²⁴⁾ ⁽²⁶⁾



Figura 2. Diferentes etapas na produção de vinhos pelo método Charmat.

Um terceiro tipo de processo é o do **espumante Moscatel**, o qual gera um produto muito semelhante ao espumante tipo *Asti*, elaborado na região do Piemonte, na Itália. O

processo *Asti* foi desenvolvido por Giovan Battista Croce, em meados do século XVII. Croce, proprietário de uma pequena área de terra, iniciou o cultivo de uvas e a produção de vinho branco doce, aromático e de baixa graduação alcoólica, conhecido como *Moscato d’Asti*. Em 1865, Carlo Gancia incorporou da França as técnicas de espumantização produzindo o *Moscato Spumante*, um vinho doce e aromático. Mais tarde, Camillo Gancia, filho de Carlo Gancia, com o apoio dos demais produtores da região, alterou o nome do espumante para *Asti Spumante* para reforçar a identidade do vinho ⁽²⁷⁾.

No Brasil, sua produção iniciou no ano de 1978, na serra gaúcha, onde a bebida foi elaborada pela primeira vez pela empresa Martini & Rossi, que tinha sede na Itália. A **Figura 3** mostra a evolução de sua produção no Brasil comparativamente a outros espumantes. O vinho Moscatel espumante é um caso típico de descoberta de um novo segmento do mercado brasileiro. É um produto relativamente recente no setor vitivinícola brasileiro, que teve seu surgimento ocorrido há cerca de 20 anos atrás e que, desde então vem ganhando espaço de mercado e experimentando um crescimento vigoroso e consistente, sobretudo ganhando maior notoriedade nos últimos anos, quando o consumidor brasileiro passou a apreciar este produto pela sua tipicidade e intensidade aromática ⁽²⁸⁾.

Segundo a legislação brasileira, o vinho Moscatel Espumante possui graduação alcoólica de 7 a 10% v/v, a 20°C, resultante de uma única fermentação alcoólica pressurizada do mosto de uva da variedade moscato (**Figura 4**), sob o processo fermentativo denominado Asti, o qual deve conceder um mínimo de duas atmosferas de pressão no produto a 10°C ⁽²²⁾.

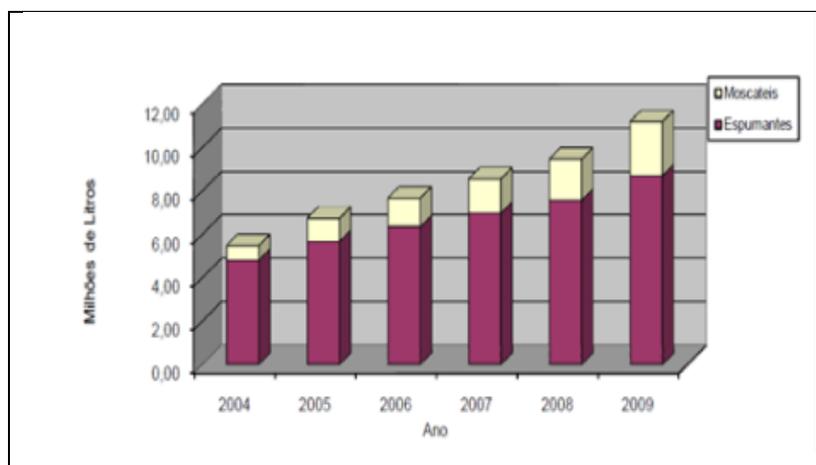


Figura 3. Comercialização de espumantes finos produzidos por empresas do Rio Grande do Sul de 2004 a 2009 ⁽¹⁾

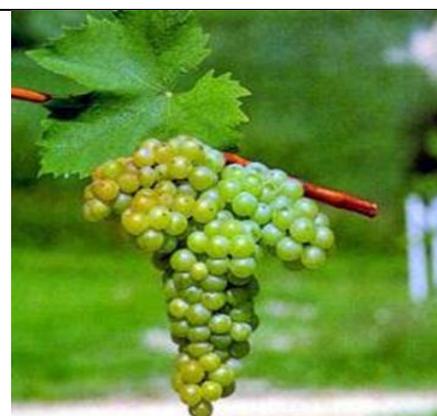


Figura 4. Uva moscato utilizada na produção do espumante Moscatel

A **Figura 5** mostra as etapas envolvidas no processo de elaboração do espumante Moscatel ⁽²⁹⁾.

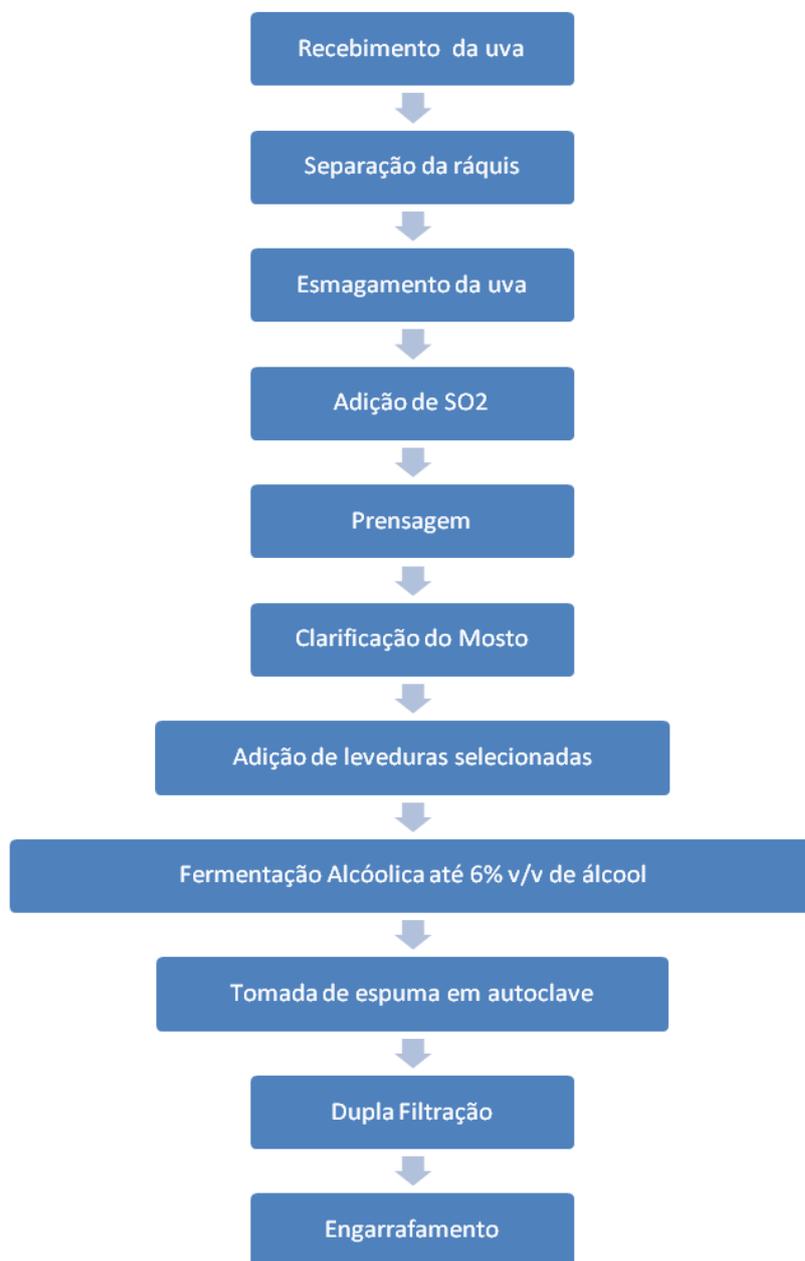


Figura 5. Esquema das principais etapas de produção de espumantes Moscatel.

O processo *Asti*, utilizado na produção do espumante Moscatel, é o método mais tradicional para a elaboração de espumantes com o perfil sensorial aromático, pela utilização exclusiva de uvas moscatéis. Neste caso, salienta-se que o espumante, de forma distinta dos outros processos citados anteriormente, não sofre uma segunda fermentação alcóolica de um vinho seco, ao qual foi adicionada sacarose, mas é obtido da fermentação alcóolica incompleta,

interrompida quando a pressão do dióxido de carbono e a quantidade de açúcar residual do vinho estiverem no limite desejado, ocorrendo uma parte da fermentação com o tanque aberto e o restante em tanque de pressão fechado (tomada de espuma), como ocorre no processo *Charmat* ⁽³⁾.

Durante a preparação do mosto, as clarificações são realizadas, ocorrendo a sedimentação das partículas sólidas, seguida pela sifonagem do mosto límpido. Para favorecer a sedimentação são adicionados produtos como gelatina, enzima pectolítica, dióxido de enxofre e bentonite. O mosto límpido é então filtrado com terra diatomáceas e resfriado à temperatura próxima de 0°C, onde permanece de cinco a sete dias. A ação do frio forma pequenos centros de cristalização que, permanecendo em suspensão por alguns dias, provocam uma turvação no mosto. Depois desse período, os cristais aumentam de volume e precipitam dando ao mosto uma maior limpidez. Neste momento, o mosto é filtrado novamente ficando pronto para o início do processo de fermentação.

A linhagem de levedura mais usada para a elaboração do vinho Moscatel espumante é *Saccharomyces cerevisiae* da variedade *ellipsoideus* que, além de suportar altas pressões e baixas temperaturas, apresenta boa capacidade de multiplicação, produz pouco dióxido de enxofre, ácido sulfídrico e acidez ⁽²⁸⁾. Esta técnica de vinificação procura conservar no vinho o aroma característico da uva Moscato, interrompendo a fermentação alcoólica e estabilizando o vinho com teor elevado de açúcar. Para controlar essa evolução, o vinho espumante é submetido à refrigeração, clarificações e filtrações, operações repetidas cada vez que a fermentação adquire ritmo acelerado, provocando empobrecimento do mosto em substâncias nitrogenadas. Desta forma, elimina-se a maior parte das células de leveduras e com elas as substâncias nitrogenadas assimiláveis (parte do nitrogênio é assimilado pelas leveduras), conferindo ao vinho a estabilidade biológica desejável. De modo geral, são provocadas interrupções no processo fermentativo quando o mosto/vinho apresenta aproximadamente 1, 2, 4 e 6% v/v de álcool ^{(2) (3)}. A seguir, fecha-se a autoclave e inicia-se a tomada de espuma. Na prática, o mosto/vinho colocado na autoclave para a tomada de espuma além dos 6% v/v de álcool deve apresentar, ainda, entre 100 e 110 g/L de açúcar residual. Concluída a fase de tomada de espuma, a temperatura do espumante é reduzida a 3°C negativos (-3°C), para interromper a fermentação alcoólica e estabilizar os sais do ácido tartárico. Após um período de, aproximadamente, 10 dias nestas condições, é efetuada uma dupla filtração em condições isobáricas, passando o espumante para outra autoclave. Para efetuar a operação de filtração é

necessário que a autoclave de tomada de espuma esteja com cinco atmosferas de pressão, e a segunda autoclave com quatro atmosferas com o cuidado de manter sempre a mesma diferença de pressão. O espumante deve ser mantido sempre, durante a operação de filtração, numa temperatura inferior a 0°C.

2.2. AROMA

Aroma é um dos fatores mais importantes na determinação do caráter do vinho e de sua qualidade. Os compostos que definem o aroma do vinho estão relacionados à aceitação ou rejeição destes produtos pelos consumidores. As características do aroma são o resultado de complexas interações entre diferentes fatores, tais como a localização geográfica, a variedade de uva e as condições técnicas de processamento do vinho ^{(17) (23) (30)}.

Os compostos que podem contribuir para o aroma do vinho são compostos voláteis e/ou semi-voláteis. Substâncias aromáticas podem então ser definidas como compostos voláteis que são percebidos pelos receptores de odor do nariz, isto é, o tecido olfativo da cavidade nasal. Eles atingem os receptores quando aspirados pelo nariz (detecção nasal) e também através da garganta depois de terem sido liberados pela mastigação (detecção retronasal). Assim, a intensidade de uma sensação olfativa não depende apenas da concentração destas substâncias na fase líquida, mas também da sua volatilidade (pressão de vapor) e do seu limiar de percepção olfativo. Define-se limiar de percepção como a concentração mínima no qual uma substância odorífera é detectada por 50% dos avaliadores sensoriais ⁽³¹⁾.

O aroma de um vinho é de uma enorme complexidade devido ao elevado número de compostos resultantes de um longo processo biotecnológico, os quais estão presentes em uma ampla variedade de concentrações, que podem variar de poucos nanogramas por litro até muitos miligramas por litro. Além disso, cada composto apresenta o seu próprio limiar de percepção olfativa que é, muitas vezes, condicionado pelo conjunto dos outros compostos presentes na solução hidroalcoólica, que é o vinho ⁽²³⁾. Estes compostos aromáticos distribuem-se por diversas famílias químicas, como ésteres, álcoois, terpenos, fenóis, ácidos graxos, entre outros.

Os aromas do vinho podem ser classificados em quatro diferentes classes, de acordo com sua origem e processo biotecnológico empregado na sua elaboração (**Figura 6**), conforme descrito a seguir ^{(26) (31)}.

Aroma varietal: característico da variedade de uva e depende também do tipo de solo, do clima, da fitotecnia, do estado sanitário e do grau de maturação da uva. A maioria das uvas é pouco aromática. Apenas a uva Moscatel se caracteriza pelo intenso aroma, possuindo essencialmente precursores de aromas como ácidos graxos e conjugados de cisteína, glicosídeos, carotenoides e compostos fenólicos, com potencialidade para originar compostos aromáticos ⁽³¹⁾ ⁽²⁶⁾ ⁽²³⁾. Os precursores são substâncias não voláteis como as supra citadas, capazes de originar compostos aromáticos pela ação de certas enzimas específicas. Podem ser ainda substâncias odoríferas ou não e que, pela sua instabilidade, se transformam em outras substâncias odoríferas, caso de alguns terpenos que estão relacionados diretamente à tipicidade aromática das castas das variedades moscatéis.

Aroma pré-fermentativo: proveniente das uvas e se revela durante o processamento da vindima (colheita) e das operações subsequentes (transporte, prensagem, maceração e clarificação). Este aroma é essencialmente devido aos álcoois e aldeídos com seis átomos de carbono, formados a partir de certos lipídios, por ação de enzimas da uva ⁽²³⁾ ⁽³¹⁾.

Aroma fermentativo: origina-se através da ação das leveduras durante a fermentação alcoólica e depende das condições de processo, como por exemplo, temperatura e tipo de levedura utilizada. As condições de fermentação são muito importantes, por exemplo, para a produção dos ácidos graxos voláteis e dos seus ésteres. Condições de anaerobiose, temperatura de fermentação baixa e clarificação do mosto são fatores favoráveis à formação destes compostos com importante característica aromática. Os constituintes enquadrados neste grupo são os mais abundantes, sendo majoritariamente responsáveis pela qualidade aromática final e pelo caráter vinoso da bebida ⁽²³⁾ ⁽³¹⁾.

Aroma pós-fermentativo: resulta de transformações ocorridas durante a conservação e envelhecimento do vinho, caracterizadas por um conjunto de reações físico-químicas de oxidação e de redução dos compostos existentes no vinho jovem ⁽²³⁾ ⁽³¹⁾.

Até hoje foram identificados mais de 600 compostos voláteis no vinho, tendo muitos deles um impacto olfativo importante, pelo que contribuem decisivamente para o aroma ⁽²⁶⁾.

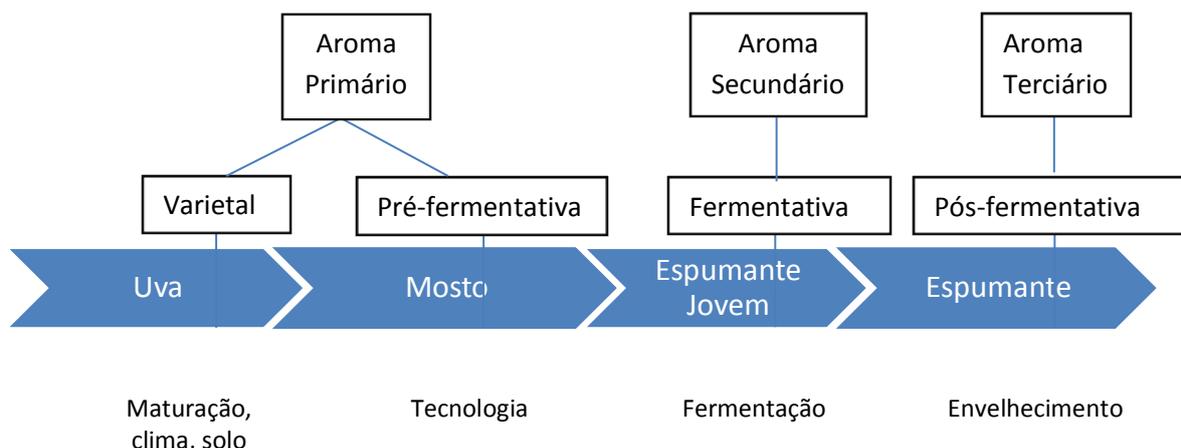


Figura 6. Sequência tecnológica da produção de espumante e sua relação com os diferentes tipos de aroma

Os espumantes moscateis são vinhos jovens muito apreciados pelo seu aroma frutado e floral. Esta tipicidade está ligada aos aromas varietais, tendo em vista que a tecnologia utilizada na sua elaboração procura preservar ao máximo as características aromáticas da uva. Nos vinhos em geral, ao contrário do que acontece no espumante Moscatel, este aroma pode não ser diretamente identificado pela uva de origem, mas somente se revelar no decorrer da fermentação e da conservação do vinho. Ainda assim, características aromáticas peculiares de vinhos de castas neutras, como Cabernet Sauvignon, Sauvignon Blanc ou Chardonnay podem ser relacionadas a um perfil específico de componentes voláteis que remonta às uvas de origem.

2.3. TERPENOS

A qualidade do vinho é determinada pelo balanço complexo de todos os componentes aromáticos do vinho, a qual é verificada por avaliação sensorial. Embora vários parâmetros sensoriais (cor, consistência, fluidez, efervescente, entre outros) possam desempenhar um papel na aceitação e apreciação do vinho, o aroma do vinho é possivelmente o fator mais importante⁽³²⁾. Os principais responsáveis pelo aroma característico dos vinhos Moscatel são os compostos terpênicos, principalmente derivados das uvas, os quais são conhecidos por caracterizarem diversas variedades de uvas^{(26) (24)}. Os terpenos são um importante grupo de compostos aromáticos que caracterizam o odor de muitas flores, frutos, sementes, folhas, madeiras e raízes. Como tal, os terpenos são de grande importância no que diz respeito à

fragrância floral dos vinhos, pois, além de estarem em grande quantidade no vinho, os terpenos possuem baixos limiares de percepção ⁽³³⁾. Os compostos terpênicos presentes nos vinhos pertencem a famílias de hidrocarbonetos, álcoois, aldeídos, ácidos entre outros. Na sua maioria são compostos monoterpênicos, bem como alguns sesquiterpenos. No entanto, os que se apresentam mais interessantes do ponto de vista olfativo são os álcoois monoterpênicos como o linalol, o geraniol, o nerol, o α -terpineol, o citronelol, o hotrienol e alguns óxidos monoterpênicos como o óxido de nerol e o óxido de rosa ^{(26) (31)}. Os aldeídos (geranial, neral e citronelal) são bastante odoríferos, mas são mais agressivos (ou intensos) que os álcoois correspondentes. Os óxidos de linalol possuem limiares de percepção mais altos, quando comparados aos compostos voláteis em geral, e são da ordem de 3 mg/L a 6 mg/L ⁽²⁶⁾. Linalol, geraniol e nerol são reconhecidos como os três principais componentes terpênicos, visto que contribuem de forma decisiva para o aroma das castas Moscatel. Outros compostos terpênicos contribuem para a tipicidade de uvas aromáticas que não são moscatéis, como por exemplo, Gewürztraminer, Riesling, Müller-Thurgau, etc, visto que estão presentes em concentrações acima do seu limiar de percepção ⁽³⁴⁾.

Uma vez que os resultados quantitativos do teor de terpenos em vinhos e espumantes disponíveis na literatura científica são geralmente obtidos utilizando-se diferentes técnicas de análise e dizem respeito a amostras colhidas em anos e regiões diferentes ⁽³¹⁾, não é fácil estabelecer uma comparação direta das distintas castas de uvas em relação aos teores de compostos aromáticos. Pesquisas realizadas por Rapp mostraram a possibilidade de classificar em três diferentes grupos os vinhos brancos produzidos na Alemanha através de uma determinação quantitativa de 12 compostos monoterpênicos. Este estudo possibilitou a diferenciação de vinhos do tipo Riesling, Moscato e Grüner Sylvaner, todos com características aromáticas frutadas. Ainda, foi possível observar o perfil terpênico diferenciado do vinho verdadeiramente Riesling (real Riesling) de outros vinhos também conhecidos como Riesling (como por exemplo, Welschriesling, Kap Riesling e Emerald Riesling), mas não produzidos a partir das uvas da variedade Riesling ⁽³⁶⁾. No entanto, é possível também estabelecer uma classificação geral das castas com base no teor total de monoterpênicos, permitindo a sua divisão em variedades Moscatel (intensivamente aromáticas), variedades aromáticas não-Moscatel e variedades neutras ⁽³¹⁾.

Além dos terpenos presentes nos vinho originados a partir da uva, a composição terpênica do vinho pode ser profundamente modificada durante a produção do espumante

devido às diversas reações que ocorrem no decorrer do processo de vinificação. Alguns terpenos surgem devido à hidrólise dos glicosídeos e outros, já na forma livre, podem sofrer modificações moleculares. Há enriquecimento em compostos terpênicos cíclicos às custas dos monoterpenos abundantes nos vinhos jovens como o nerol, o geraniol e o linalol. Os compostos formados possuem, na maior parte das vezes, limiares de percepção mais elevados que os terpenos encontrados nos vinhos jovens, de forma que o aroma característico da uva no vinho continua sendo uma nota marcante e preceptível. As reações que conduzem às modificações moleculares são aceleradas a pH baixo e temperatura elevada.⁽³¹⁾

2.4. TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO E ANÁLISE

2.4.1. Técnicas de extração de voláteis de vinho

As técnicas de extração empregadas na investigação de aromas de vinhos e espumantes são diversificadas. López e colaboradores pesquisaram as melhores condições para a extração de monoterpenos em vinhos sintéticos através da técnica de extração líquido-líquido (do inglês *liquid-liquid extraction*, LLE)⁽³⁷⁾. A mesma técnica foi empregada por Lamikanra e colaboradores, os quais analisaram a presença e a formação de compostos aromáticos em vinhos do cultivar Noble Muscadine durante o processo de envelhecimento, fazendo uso também de LLE⁽³⁸⁾. Outro grupo de pesquisadores estudou a influência da idade na composição volátil dos vinhos Madeira brancos envelhecidos em barril de carvalho durante 1, 11 e 25 anos de idade, utilizando a técnica de LLE para extrair os compostos voláteis das amostras. Os resultados mostram que durante o processo de envelhecimento, a concentração de ácidos graxos e acetatos diminuíram significativamente, podendo estes compostos serem utilizados como marcadores de idade do vinho Madeira⁽³⁹⁾. Piñeiro e colaboradores empregaram extração em fase sólida (do inglês *solid phase extraction*, SPE) para extrair compostos terpênicos de vinhos moscato branco, empregando diferentes fases sólidas e solventes de eluição⁽⁴⁰⁾. López e colaboradores realizaram uma análise quantitativa de compostos representativos do aroma de vinho tinto espanhol em nível de traços, utilizando SPE e posterior análise por GC/MS, tendo obtido bons níveis de recuperação e detecção de compostos importantes para o aroma do vinho tais como 4-etilguaicol, 4-etilfenol, 4-vinilguaicol, guaiacol, eugenol, *cis*-whiskylactona, etil 2- metilbutirato, etilcinamato, etil dihidrocinamato, linalol, β -damascenona e β -ionona⁽⁹⁾. Fusté e colaboradores avaliaram o perfil dos compostos voláteis de

espumantes Cava envelhecidos obtido através de três técnicas de extração (extração-destilação simultâneas, SDE, do inglês *simultaneous distillation extraction*; análise por purga em circuito fechado, do inglês *closed-loop stripping analysis*, CLSA; microextração em fase sólida no modo *headspace*, HS-SPME) utilizando GC/MS para a caracterização dos componentes. Foi possível a identificação de um total de 80 compostos pelas duas primeiras técnicas e por HS-SPME foram identificados 40% destes compostos. Entretanto, a técnica de HS-SPME permitiu identificar compostos que até então não haviam sido identificados, tais como lilial, octanal, 2-octanona, metiltiofen-3-ona, 2-acetilfurano entre outros.

Existem várias técnicas de extração de *headspace*, as quais são aplicadas para investigação de voláteis de espumantes, vinhos e outras bebidas alcóolicas: *headspace* estático, *headspace* dinâmico na forma conhecida como *purge and trap*, extração sortiva em barra de extração (SBSE, do inglês *stir-bar sorptive extraction*), etc ⁽⁴¹⁾ - ⁽⁴⁴⁾. *Headspace* ou espaço confinado é definido como sendo o local constituído dos compostos voláteis contidos na fase vapor sobre uma solução ou sobre um sólido, mantido em ambiente fechado ⁽⁴⁵⁾.

Aznar e colaboradores otimizaram e aplicaram a técnica de *purge and trap* para identificar e analisar diferentes compostos voláteis presentes em vinhos branco e tinto de diferentes regiões da Espanha. Neste mesmo estudo, os pesquisadores reportaram a eficiência e rapidez da técnica, porém advertiram sobre o uso da mesma na análise de compostos de peso molecular mais alto ⁽¹⁶⁾. A mesma técnica foi utilizada por outros pesquisadores para determinar os componentes aromáticos presentes em uvas, ressaltando a vantagem da ausência de possíveis reações devidas ao solvente, já que este não é empregado durante a extração. Miller e colaboradores compararam as técnicas de *purge and trap* e a microextração em fase sólida modo *headspace* na análise de compostos voláteis em amostras de diferentes sucos e observaram uma maior sensibilidade analítica quando da utilização da HS-SPME.

Weldegergis e colaboradores ⁽⁴⁶⁾ identificaram e quantificaram os compostos aromáticos majoritários presentes em vinhos jovens do tipo *Pinotage* utilizando a técnica HS-SBSE combinada com dessorção térmica (do inglês, *thermal desorption*) e GC/MS. Através das análises pode-se concluir que a técnica possui uma faixa de precisão aceitável para os compostos quantificados, além de uma capacidade de extração satisfatória.

A SPME é uma técnica simples e rápida que se baseia na sorção dos analitos presentes na amostra ou no seu *headspace*, que são absorvidos e/ou adsorvidos em uma fase extratora, que

consiste de um filme polimérico líquido, sólido ou misto, suportado sobre uma fibra de sílica fundida. Para a extração de voláteis de bebidas, o modo *headspace* é amplamente empregado, sendo que este se baseia na exposição do filme polimérico à fase gasosa acima da amostra. Neste caso, os analitos a serem extraídos apresentam suficiente volatilidade na temperatura de extração desejada. Entre os fatores que influenciam a eficiência do processo extrativo estão a escolha do filme polimérico mais apropriado ao(s) analito(s) e o tipo de matriz em que o mesmo está contido. A escolha do filme, bem como de sua espessura é geralmente feita, tendo como base as características físico-químicas dos analitos e das fibras disponíveis. Rebière e colaboradores desenvolveram uma metodologia para quantificar os compostos aromáticos presentes nos vinhos do cultivar *Sémillon*, em diferentes safras, utilizando as técnicas de HS-SPME e 1D-GC/MS⁽¹⁵⁾. Peña e colaboradores otimizaram diferentes parâmetros da SPME para analisar compostos terpênicos em vinhos Ribeira sacra da região de Galícia⁽⁴⁷⁾, enquanto Câmara e colaboradores fizeram o mesmo para vinhos Madeira⁽⁶⁾. Alvarez e colaboradores quantificaram a composição terpênica de diferentes amostras de tequila a partir da otimização da técnica de SPME, obtendo coeficientes de correlação das curvas de calibração maiores do que 0,99 (com exceção do *trans,trans*-farnesol) e desvios padrões menores do que 10%, confirmando a precisão da técnica⁽⁴⁸⁾. Estudos mais abrangentes, semelhantes aos da caracterização de 256 compostos voláteis de vinhos do tipo *Pinotage*, de origem sul-africana⁽¹⁹⁾ e de 334 compostos do *headspace* de vinhos brasileiros Merlot⁽¹⁰⁾ por HS-SPME-GC×GC/TOFMS ainda não foram realizados para o espumante Moscatel.

2.4.2. Técnicas de análise de voláteis de vinho

A cromatografia gasosa (GC) é uma técnica físico-química de separação que permite a análise de compostos voláteis a partir das diferentes interações dos analitos com a fase estacionária, bem como a sua identificação e quantificação por parte de um sistema apropriado de detecção⁽⁴⁹⁾. O aumento rápido do número de compostos encontrados em produtos enológicos foi devido à evolução das técnicas cromatográficas, como a GC/MS (**Figura 7**). A literatura científica mostra que a GC/MS tem sido extensamente empregada para a análise de compostos voláteis em vários tipos de vinhos e espumantes (vinhos de mesa, vinhos tintos e brancos, vinhos fortificados, espumantes Cava, Champagne), devido a sua resolução, sensibilidade e pelas informações estruturais fornecidas pelo detector^{(6) (14) (18) (47)}. Embora a

1D-GC seja comumente empregada, são observadas várias co-eluições cromatográficas, o que pode resultar em falsos positivos e quantificações errôneas. Além disso, nem sempre a sensibilidade da técnica é suficiente para detectar os componentes traços que podem ser de interesse, devido ao seu impacto no aroma.

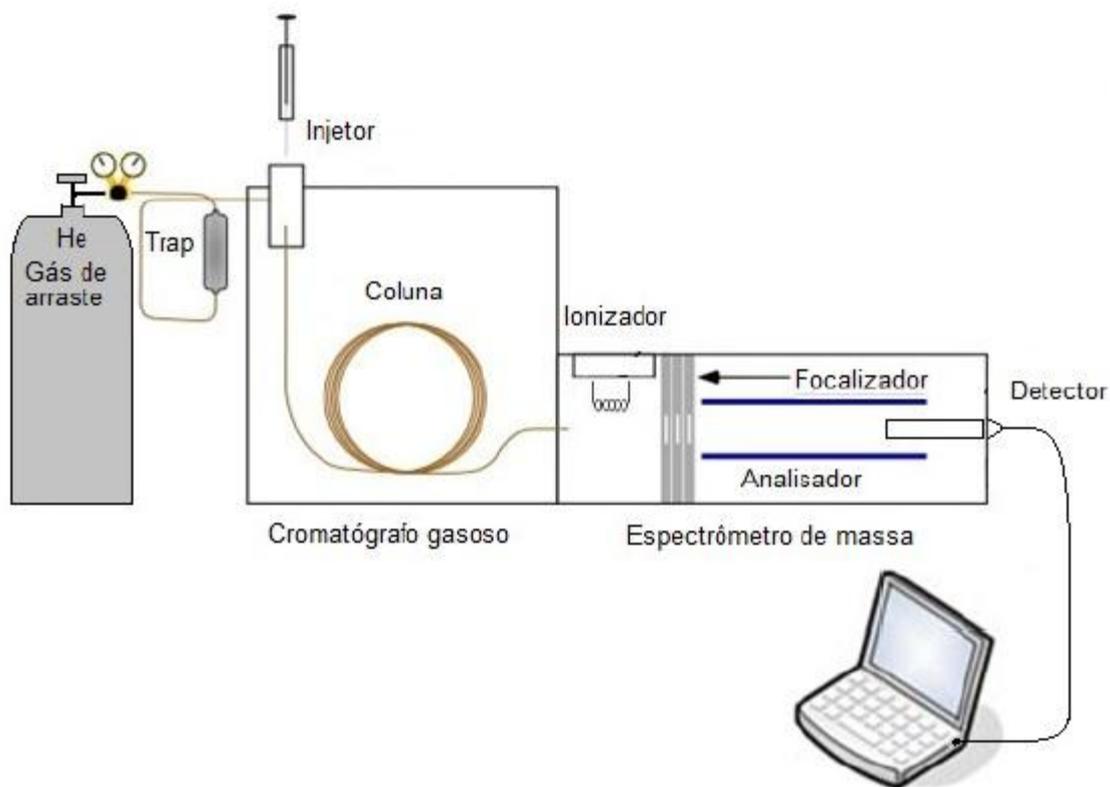


Figura 7. Esquema de um sistema de cromatografia gasosa com detector de espectrometria de massas quadrupolar

A cromatografia gasosa-olfatometria (GC-O) é outra técnica aplicada à investigação de voláteis de vinhos, que investiga o aspecto sensorial do composto eluído da coluna cromatográfica. Neste caso, o papel do detector é realizado por painelistas devidamente treinados. Nos últimos anos, vários estudos foram realizados sobre a atividade sensorial dos componentes individuais dos odores de várias bebidas alcoólicas e também sobre a relação entre o odor e a composição química da fração volátil destes produtos, utilizando-se a GC-O. Falcão e colaboradores utilizaram a técnica de GC-O para identificar os componentes responsáveis pelo aroma de vinhos produzidos a partir de uvas do tipo Cabernet Sauvignon, cultivadas em Santa Catarina ⁽⁵⁰⁾, tendo sido detectados um total de 62 sinais olfatométricos diferentes para as cinco amostras analisadas. Eva Campo e colaboradores analisaram quatro diferentes tipos de vinhos licorosos e espumante (Pedro Ximénez (PX), Fino, Sauternes

botritizados e Cava) por GC-O e GC-FID (cromatografia gasosa com detector de ionização de chama) ⁽⁵¹⁾. Estes pesquisadores obtiveram níveis elevados de 3-metilbutanal, fenilacetaldeído, metional, sotolona (lactona), e ésteres etílicos de ácidos 2 -, 3 -, e 4-metilpentanóico para os vinhos do tipo PX, Fino, e Sauternes enquanto que, para o espumante Cava, obteve-se um perfil de aroma menos intenso. Em termos de distinção entre os vinhos, foi observado que o PX é rico em 3-metilbutanal, furfural, damascenona, etil ciclohexanoato, e sotolona; já o vinho do tipo Fino contém acetaldeído, diacetil, etil ester de ácidos alifáticos ramificado com 4, 5 ou 6 átomos de carbono e 4-etilguaicol; Sauternes em fenilacetaldeído, 3-mercaptohexanol, and 4-metil-4-mercaptopentanona. Já o espumante Cava, mostrou-se com um perfil aromático menos definido, não podendo ser caracterizado por determinados compostos.

A cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GC×GC) é uma técnica relativamente nova, caracterizada pela combinação sequencial de duas colunas, uma de dimensões convencionais e outra mais curta (capaz de gerar uma análise de GC rápida), sendo que o efluente proveniente da primeira coluna é dirigido à segunda coluna através de um modulador. O modulador mais empregado é o criogênico, onde o processo de modulação comprime a banda cromatográfica que elui da primeira coluna, sendo esta banda rapidamente introduzida na segunda coluna (**Figura 8**) ^{(52) - (54)}.

As colunas devem ter fases estacionárias diferentes, permitindo que a separação obtida na primeira coluna, seja melhorada na segunda. A forma mais tradicional em GC×GC de separação ortogonal é a utilização de uma coluna apolar, ou de baixa polaridade na primeira dimensão, o que caracteriza uma separação por ponto de ebulição e uma coluna polar na segunda dimensão, onde a separação ocorre por polaridade. A possibilidade de escolha de diferentes conjuntos de colunas para a análise bidimensional abrangente é um dos parâmetros empregados na otimização do método analítico, juntamente com a escolha das condições de análise, períodos de modulação e detector. Esta otimização visa à obtenção de uma maior capacidade de pico, seletividade, sensibilidade e resolução, juntamente com a obtenção de cromatograma que apresente informações provenientes de efeitos de estruturação ⁽⁵⁵⁾. O efeito adicional relativo à combinação de duas colunas cromatográficas com mecanismos de separação independentes (ortogonais) confere uma capacidade extra de separação a esta técnica (seletividade), minimizando os frequentes problemas de sobreposição de compostos, cujo sinal é menos intenso por compostos majoritários na mistura ⁽⁵⁶⁾.

A maior sensibilidade da GC×GC em relação à 1D-GC está relacionada com aumento da resolução e é consequência do processo de modulação da banda cromatográfica, que resulta em picos mais estreitos e com maior intensidade. A vantagem desse processo é tornar visíveis picos que estão em baixa concentração e não seriam detectados em sistemas monodimensionais. O ganho de sensibilidade pode chegar a ordem de 20 e este fator ganha importância na análise de compostos voláteis, uma vez que os vários componentes aromáticos são encontrados em nível de traços em vinhos e espumantes ⁽⁵⁷⁾.

Em relação à estruturação cromatográfica, o que ocorre é que compostos quimicamente semelhantes dispõem-se ordenadamente no espaço bidimensional em regiões específicas, de acordo com suas características físico-químicas. Esta disposição possibilita a identificação da classe química de um composto, se dados de retenção e/ou informações estruturais não estiverem disponíveis, como o espectro de massas ⁽⁵⁵⁾. As características mencionadas fazem da GC×GC uma técnica conveniente para análise de matrizes complexas ou de outras amostras onde a cromatografia monodimensional é incapaz de fornecer uma separação razoável ⁽⁵⁶⁾.

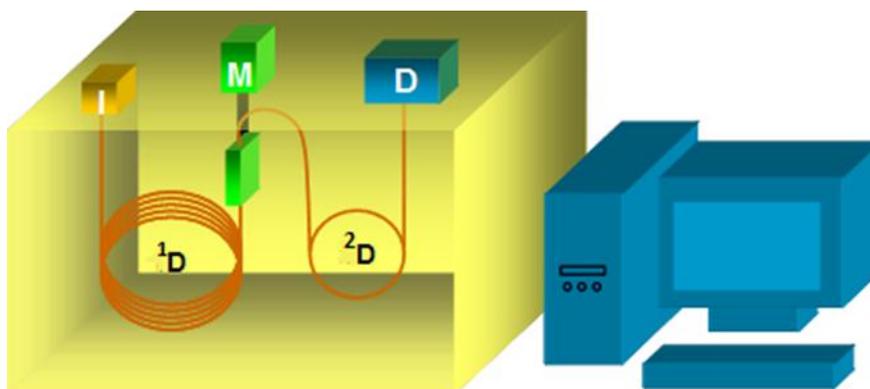


Figura 8. Esquema representativo dos componentes do sistema de cromatografia gasosa bidimensional abrangente. (I – injetor, ¹D – coluna responsável pela separação da primeira dimensão, M – modulador, ²D – coluna responsável pela separação na segunda dimensão, D – detector).

Robinson e colaboradores descreveram o desenvolvimento de um método sensível e abrangente para a análise de compostos voláteis e semi-voláteis encontrados no *headspace* do vinho através do uso de HS-SPME-GC×GC/TOFMS ⁽²¹⁾. A metodologia permitiu a análise simultânea de mais de 350 diferentes compostos voláteis e semi-voláteis, tais como monoterpenos, norisoprenoides, sesquiterpenos e alquil-metóxi-pirazinas. Weldegergis e

colaboradores utilizaram a técnica de GC×GC/TOFMS para a análise de compostos voláteis em três vinhos tintos sul-africanos ⁽¹⁹⁾. Foram tentativamente identificados 214 compostos e identificados 62 compostos através do uso de padrões. Rocha e colaboradores determinaram o perfil monoterpênico de uvas, encontrando um total de 52 tipos de compostos monoterpênicos, sendo que 20 destes foram identificados pela primeira vez em uvas. Estes pesquisadores sugerem que o perfil terpenóide pode ser usado como uma maneira de descobrir a origem da uva. Welke e colaboradores utilizaram GC×GC/TOFMS para obter uma caracterização qualitativa dos voláteis dos vinhos Merlot da Serra Gaúcha, localizada na parte sul do Brasil ⁽¹⁰⁾. Foram tentativamente identificados 334 compostos e observada a presença dos compostos dodecanoato de etila, 1-hexanol, nonanoato de etila, hexanoato de etila, decanoato de etila, dehidro-2-metil-3(2H)tiofenona, ácido 3-metil butanoico, tetradecanoato de etila, octanoato de metila, 1,4 butanediol e 6-metiloctan-1-ol, que diferenciam o vinho Merlot de outros vinhos de diferentes castas de uva.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. COLETA E PREPARO DAS AMOSTRAS

Foram avaliadas amostras de três diferentes processos de elaboração de espumante Moscatel, em escala industrial (vinícola Perini), que ocorreram no período de 2010/2011. As amostras foram obtidas a partir das diferentes etapas do processo de fabricação da vinícola Perini, partindo-se do mosto até o produto final, ou seja, o espumante filtrado e engarrafado. As amostras foram armazenadas a 0°C, a partir do momento da amostragem até sua análise cromatográfica para evitar a continuidade da fermentação. As etapas do processo, onde ocorreram as amostragens estão listadas na **Tabela I**.

Tabela I Quadro resumo das etapas de coleta das amostras de espumante de um processo de vinificação de mosto de uvas Moscatel nos anos de 2010 e 2011.

No. da etapa	1	2	3	4	5	6
Etapa do processo	Mosto	1° Filtração	2° Filtração	3° Filtração	Filtração por terra diatomáceas	Produto Final
Processo 1	19/10/2010	20/10/2010	25/10/2010	01/11/2010	08/11/2010	25/11/2010
Processo 2	31/05/2011	01/06/2011	06/06/2011	13/06/2011	20/06/2011	25/06/2011
Processo 3	13/09/2011	14/09/2011	22/09/2011	28/09/2011	07/10/2011	13/10/2011
Situação	Mosto Moscato sem adição de leveduras	Mosto em fermentação após a adição de leveduras	Mosto em fermentação	Mosto em fermentação	Espumante filtrado após fermentação	Espumante engarrafado

3.2. EXTRAÇÃO DAS AMOSTRAS

Todas as amostras de espumante foram submetidas a processo de desgaseificação à baixa temperatura (**Figura 9 – A**), a fim de evitar a perda de componentes voláteis por ocasião da abertura da garrafa e também para evitar a interferência do dióxido de carbono no ambiente onde ocorre a extração dos voláteis através de HS-SPME. Um Erlenmeyer contendo 200 mL de vinho espumante, mantido a aproximadamente 5°C, foi submetido a ondas ultrassônicas por um período de 30 min (dois ciclos de 15 min em banho de ultrassom marca Quimis, Diadema-SP). As temperaturas do banho de ultrassom, bem como da amostra foram monitoradas através de um termômetro digital com sonda (Prolab, São Paulo-SP), de forma que não ultrapassassem 10°C.

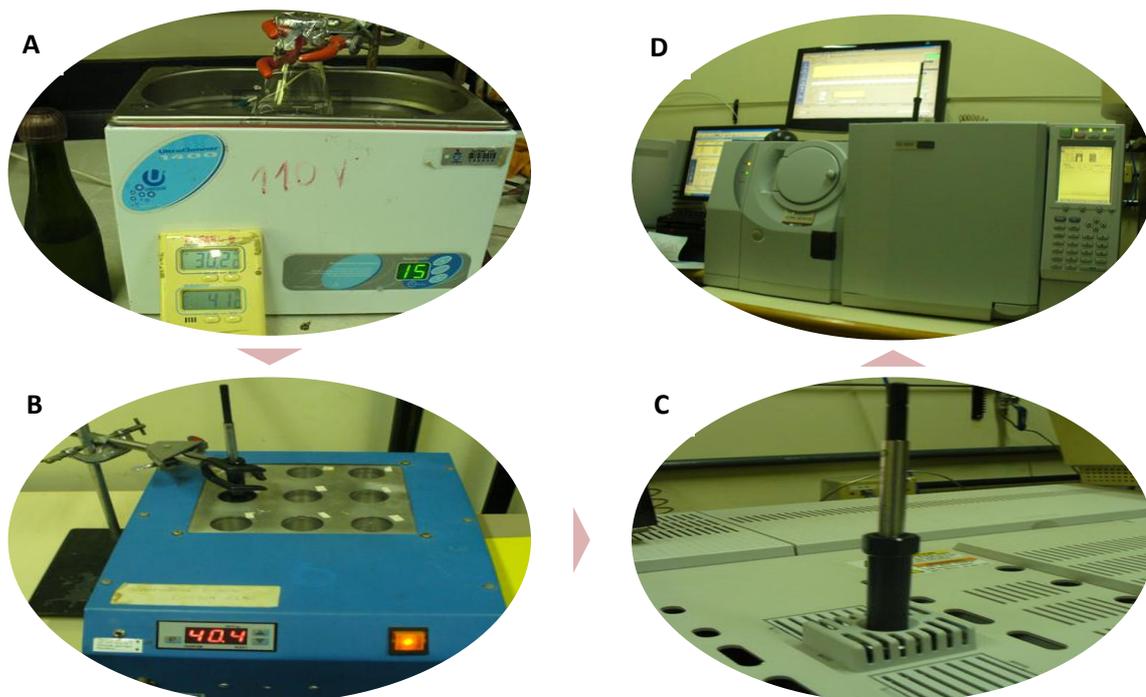


Figura 9. Diferentes etapas da parte experimental. A – Desgaseificação, B- SPME, C-Dessorção dos compostos voláteis no pórtico do injetor do cromatógrafo e D – Análise por GC/MS.

Durante a etapa de HS-SPME dos compostos voláteis do espumante Moscatel, um certo volume de amostra desgaseificada foi transferido para frasco de vidro de 10 mL, com tampas vazadas, contendo um septo revestido por teflon (Supelco, Bellefonte, PA, USA). Os frascos fechados, contendo as amostras, ficaram por cerca de 1 hora em um bloco termostático, fabricado no Instituto de Física da UFRGS (**Figura 9-B**), sob uma temperatura constante ($\pm 1,5^{\circ}\text{C}$). As fibras utilizadas para realizar as extrações foram previamente condicionadas, conforme orientações do fabricante. Análises em branco da coluna cromatográfica e das fibras de SPME foram feitas para verificar a ausência de compostos interferentes. Após a inserção da fibra no *headspace* da amostra, por um determinado período de tempo, a mesma foi inserida no pórtico do injetor do cromatógrafo para realizar a dessorção térmica (**Figura 9-C**), tendo-se empregado um insersor de vidro (*liner*) especial para SPME. A temperatura utilizada para a dessorção térmica da fibra foi aquela recomendada pelo fabricante, de acordo com a fase polimérica. O tempo de dessorção térmica da fibra foi de 5 minutos ^{(58) (14)}, ocorrendo, na sequência, a separação cromatográfica, bem como a identificação dos compostos por GC/MS (**Figura 9-D**) e GC×GC/TOFMS.

A sistemática adotada para otimização da extração consistiu em alterar um parâmetro de cada vez, escolhendo-se a melhor condição para cada um e adotando esta melhor condição

para os experimentos seguintes. Os parâmetros foram avaliados de acordo com a seguinte ordem de citação: tipo de filme polimérico da fibra, {polidimetilsiloxano (PDMS) 7 µm StableFlex , PDMS 100µm, poliacrilato (PA) StableFlex, carboxen/polidimetilsiloxano (CAR/PDMS) 85 µm StableFlex, divinilbenzeno-polidimetilsiloxano (DVB/PDMS) 65µm, e carboxen/divinilbenzeno/polidimetilsiloxano (CAR/DVB/PDMS) 50/30 StableFlex}, percentual de álcool do vinho (7,5, 4,5, 1,5%), temperatura de extração (30, 40, 50°C), volume de amostra (1, 2 e 3 mL), força iônica (0, 15 e 30% (m/v) de adição de sal), tempo de extração (10, 30 e 50 minutos) O número de repetições de extrações para cada parâmetro estudado foi de 4 replicatas

3.3. ANÁLISES CROMATOGRÁFICAS

Os compostos voláteis das amostras provenientes das diferentes etapas do processo de vinificação do espumante Moscatel (item 4.3.1 e 4.4) foram analisados empregando-se um cromatógrafo a gás com detector quadrupolar de espectrometria de massas (GC/qMS) da marca Shimadzu (Kioto, Japão), modelo QP2000, equipado com uma coluna capilar de fase estacionária composta por 5% fenilmetilpolisiloxano e 95% de dimetilpolisiloxano (DB-5) (J&W Scientific, Folsom, USA), de (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm). As temperaturas do injetor, detector e interface foram 250°C. As análises iniciaram com o forno a 60 °C, com taxa de aquecimento a 2°C/min até 140 °C e após, numa taxa de aquecimento de 20°C/min, até a temperatura final de 240°C. O fluxo de hélio (pureza 5.0, White Martins, Pinhais, PR - Brasil) foi de 1,0 mL min⁻¹. O intervalo de massas avaliado foi de 40 a 400 uma, sendo a análise realizada no modo impacto eletrônico e a energia do feixe de elétrons foi de 70 eV.

Na análise por GC×GC/TOFMS de uma amostra de espumante (produto final) foi utilizado um amostrador automático CTC CombiPAL (CTC Analytics, Zwingen, Suíça), portador de uma estação de condicionamento de fibras SPME, o qual foi empregado para extrair os produtos voláteis a partir do *headspace* da amostra. O sistema GC×GC consiste de um cromatógrafo Agilent 6890N (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, EUA), equipado com um detector espectrométrico de massas Pegasus, do tipo tempo de voo (Leco Corporation, St. Joseph, MI, EUA). O sistema GC (Agilent 6890 N) foi equipado com um forno para a coluna secundária e um modulador térmico com quatro jatos de N₂ do tipo quadjet, sendo dois jatos quentes que são aquecidos pelo próprio bloco do modulador e dois jatos frios resfriados por nitrogênio gasoso resfriado por nitrogênio líquido. A temperatura do injetor, da linha de transferência e da fonte

de íons foi de 250°C. A temperatura inicial do forno foi de 45°C durante 0,5 min e atingiu 240°C a 3°C/min. O forno secundário foi mantido 10°C acima do forno primário. Hélio (pureza 5.0, White Martins) foi utilizado como gás de arraste com um fluxo constante de 0,80 mL min⁻¹. A fase estacionária utilizada na primeira dimensão (¹D) continha 5% fenilmetilpolisiloxano e 95% de dimetilpolisiloxano (DB-5, 60 m × 0,25 mm × 0,25 μm). A composição da fase estacionária utilizada na segunda dimensão (²D) apresentava 50% fenilmetilpolisiloxano e 50% de dimetilpolisiloxano (DB-17ms, 1,70 m × 0,18 mm × 0,18 μm). O período de modulação foi de 7 s e os parâmetros relacionados ao detector foram: energia de ionização do feixe de elétrons de 70 eV, temperatura da fonte de íons de 250°C, faixa de varredura de massas de 45 a 450 m/z e taxa de aquisição de 100 espectros/s.

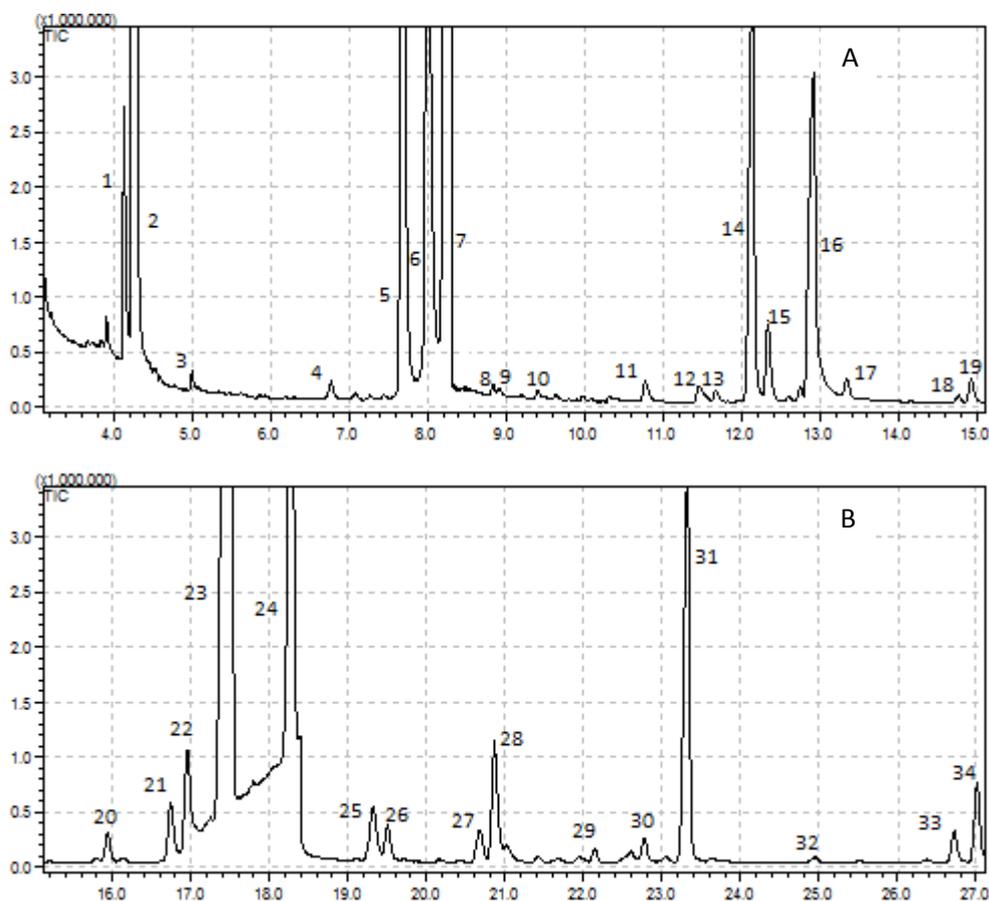
A identificação tentativa dos compostos voláteis foi realizada comparando-se os índices de retenção com programação linear de temperatura (LTPRI, do inglês, *linear temperature programmed retention indices*) obtidos experimentalmente com aqueles reportados na literatura⁽⁵⁹⁾ para uma coluna DB-5. Tempos de retenção de uma série de *n*-alcanos (C9-C24), sob as mesmas condições experimentais utilizadas para a análise cromatográfica de voláteis do espumante Moscatel foram utilizados para o cálculo LTPRI experimental. Este procedimento foi realizado tanto para as análises de GC/qMS, quanto para GC×GC/TOFMS. A diferença máxima entre os valores de LTPRI experimental e da literatura foi de 20 unidades para fins de identificação tentativa de um dado composto. Foram também comparados os espectros de massas dos compostos voláteis dos espumantes Moscatel e aqueles das bibliotecas comerciais de espectros de massas NIST versão 107 e Wiley versão 229, considerando-se um valor mínimo de similaridade de 80% para as análises realizadas no GC/qMS e 75% de similaridade nas análises realizadas no GC×GC/TOFMS.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. IDENTIFICAÇÃO PRELIMINAR TENTATIVA DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS PRESENTES NO ESPUMANTE

As análises preliminares realizadas nas amostras de espumante filtrado (produto final) permitiu a identificação tentativa de um total de 37 compostos e a identificação positiva de outros três, os quais totalizam 40 compostos e se encontram listados e numerados na Tabela II, sendo o cromatograma correspondente apresentado na **Figura 10**. Os 40 compostos pertencem

às seguintes classes: 14 ésteres, 11 terpenos, 3 ésteres terpênicos, 2 óxidos terpênicos, 4 álcoois, 1 aldeído, 1 hidrocarboneto, 1 norisoprenoide, 1 ácido carboxílico, 1 fenol e 1 diol. Os compostos terpinoleno, linalol e α -terpineol foram positivamente identificados através da injeção de padrões e posterior comparação dos dados de retenção e espectros de massa obtidos. Esta identificação preliminar de compostos voláteis do headspace de vinho espumante Moscatel serviu para verificar quais seriam os compostos a serem monitorados para otimização do método de HS-SPME.



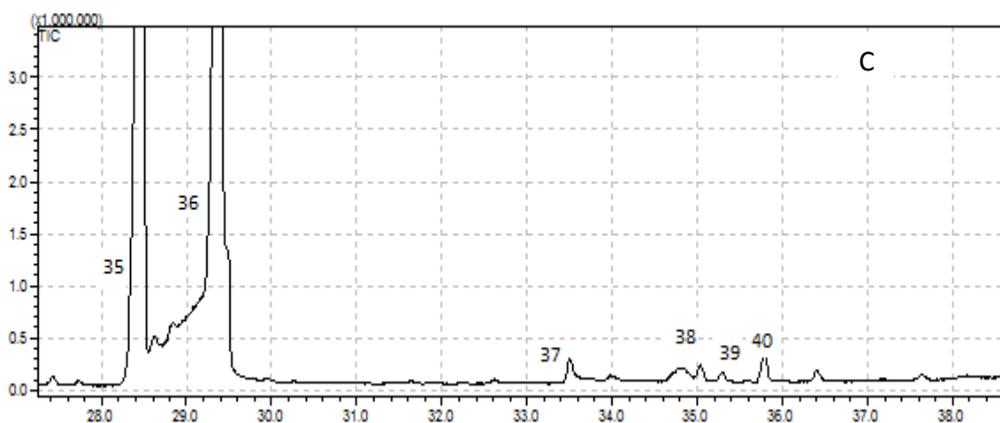


Figura 10. Cromatograma do perfil volátil de um espumante Moscatel dividido em três partes, de acordo com o tempo de retenção dos compostos voláteis tentativamente identificados: (A) de 0 a 15 min; (B) de 15 a 27 min; (C) de 27 a 40 min.

Tabela II Compostos tentativamente identificados no *headspace* do espumante Moscatel por GC/qMS

pico	t_r	composto	LTPRI _{calc} (DB-5)	LTPRI _{lit} (DB-5) ⁽⁵⁹⁾ (70)	descrição do aroma ⁽⁷¹⁾
1	4,18	1-hexanol	883	871	rústico/vegetal
2	4,29	acetato de isoamila	886	880	frutado (banana)
3	4,81	heptanal	904	902	gordura rançosa
4	6,77	acetato de 2-etilbutila	973	972	
5	7,75	hexanoato de etila	1003	1003	frutado (pera)
6	8,05	acetato de 3-hexenol	1010	1002	
7	8,28	acetato de hexila	1016	1009	frutado (maçã)
8	8,87	limoneno ^a	1029	1029	cítrico
9	8,96	2-etilhexanol	1031	1030	rosas
10	9,75	<i>trans</i> -ocimeno	1038	1047	herbácea
11	10,11	δ -terpineno	1058	1060	plástico
12	10,79	óxido de linalol	1073	1073	azedo/bolor
13	11,53	terpinoleno ^b	1090	1089	
14	12,24	linalol ^b	1105	1097	floral/rosas
15	12,39	hotrienol	1108	1101	tília (planta)

16	12,96	feniletanol	1119	1106	floral/amadeirado
17	13,37	octanoato de metila	1126	1125	groselha
18	14,82	éster ^a	1153	-	
19	14,94	óxido de nerol	1155	1158	
20	16,00	1-nonanol	1175	1169	
21	16,67	4-terpineol	1187	1177	
22	16,94	α -terpineol ^b	1192	1188	lírios do vale (floral)
23	17,39	octanoato de etila	1200	1197	sabão
24	18,24	acetato de octila	1215	1214	frutado
25	19,36	citronelol	1234	1226	limão verde
26	19,52	3,7-dimetil-1,5- octadien-3,7-diol	1237	1237	
27	20,86	geraniol	1259	1253	floral
28	21,00	acetato de 2-feniletila	1260	1260	frutado (damasco)
29	22,47	ácido nonanoico	1286	1277	queijo azedo
30	22,86	terpeno ^a	1296	-	
31	23,29	nonanoato de etila	1299	1294	óleo de amêndoas
32	25,07	decanoato de metila	1328	1328	
33	26,80	acetato de citronelila	1358	1354	
34	27,49	acetato de nerila	1368	1362	frutado
35	28,53	β - damascenona	1386	1385	frutado/mel
36	28,68	acetato de geranila	1389	1379	
37	28,92	hexanoato de 3-hexenila	1393	1386	
38	29,43	decanoato de etila	1401	1398	oleosa/ gordura rancosa
39	34,90	pentadecano	1494	1500	
40	35,79	2,4-bis(1,1-dime- tiletil)fenol	1509	1519	

LTPRI Lit: LTPRI reportado em fontes da literatura científica; LTPRI Calc: LTPRI calculado a partir de dados experimentais.

^a agrupamento químico identificado pela comparação do espectro de massas dos compostos do headspace do vinho com os espectros de massas da literatura.

^b compostos positivamente identificados através da injeção de padrões

Demais compostos foram tentativamente identificados pela comparação de espectros de massas e LTPRI com dados da literatura científica.

4.2. OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO

4.2.1. Tipo de Fibra

A eficiência da técnica de SPME está relacionada diretamente com a afinidade existente entre a matriz e o material de revestimento da fibra. As fibras PDMS 7 μm StableFlex, PDMS 100 μm , PA StableFlex, CAR/PDMS 85 μm StableFlex, DVB/PDMS 65 μm , e CAR/DVB/PDMS 50/30 StableFlex foram testadas para verificar qual delas apresentaria o melhor desempenho na extração dos compostos voláteis de espumante Moscatel. Os parâmetros considerados nesta avaliação foram o número de compostos extraídos e a área cromatográfica obtida para estes compostos.

O número de picos extraídos com as fibras PDMS 7 μm e PDMS 100 μm foram 13 e 27 respectivamente, inferior ao que se obteve com os filmes DVB/PDMS e CAR/DVB/PDMS (44 e 34, respectivamente) como pode ser observado nas **Figuras 11, 12 e 13**, os quais apresentaram a melhor eficiência de extração. Embora os revestimentos PDMS 7 μm e 100 μm tenham apresentado sinal mais intenso para ésteres como decanoato de etila, estes mesmos compostos e ainda outros foram também extraídos pelos revestimentos mistos (polímeros sólidos dispersos em uma matriz polimérica líquida), o que evidenciou eficiência superior de extração para estes últimos. Observou-se que, apesar de uma eficiência inferior na extração de compostos voláteis, houve um aumento da capacidade de extração quando o filme de PDMS de 100 μm foi empregado em relação ao filme menos espesso do mesmo polímero (7 μm), resultado este já esperado, uma vez que ocorreu um aumento da área e do volume de sorção. O revestimento polimérico de PDMS tem uma aplicação maior nas análises de compostos apolares, entretanto, com as condições de extração otimizadas, pode ser usada em compostos mais polares, como por exemplo, alguns terpenos oxigenados, álcoois e ácidos carboxílicos⁽⁴⁷⁾⁽⁵⁸⁾⁽⁴⁵⁾. Demyttenaere e colaboradores obtiveram melhores resultados em análises por SPME no modo *headspace*, utilizando este filme para analisar qualitativamente compostos voláteis responsáveis pelo aroma do vinho grego do tipo Boutari. Além disso, o somatório das áreas cromatográficas para compostos responsáveis pelo aroma do vinho foi maior com esta fibra do que com DVB/CAR/PDMS, CW/DVB e PA⁽⁸⁾. Rosa M. Peña e colaboradores utilizaram uma fibra

com revestimento polimérico de 100µm para otimizar as condições de extração de terpenos em vinhos da região de Galicia ⁽⁴⁷⁾.

O revestimento de PA apresentou uma eficiência superior na extração de ácidos carboxílicos, como ácido acético e ácido decanóico, o que está de acordo com o caráter polar do revestimento polimérico, entretanto, o número de compostos extraídos foi bastante inferior ao que se obteve com os demais filmes poliméricos. Entretanto, as **Figuras 11 e 12** mostram uma baixa eficiência para a fibra PA na extração dos compostos voláteis da amostra de espumante Moscatel. O principal mecanismo de extração do revestimento PA, bem como do PDMS é a absorção, de forma que, pode ser necessário um maior tempo de equilíbrio para que se tenha maior eficiência de extração. Além disso, o polímero PA é mais utilizado para compostos polares e, neste caso, a extração dos monoterpenos das mais variadas classes não é favorecida por esta técnica ⁽⁶⁰⁾. O revestimento de CAR/PDMS também apresentou baixa eficiência de extração quando comparado com as demais fibras mistas. Tat e colaboradores também observaram um baixo desempenho desta fibra na extração de compostos voláteis de vinhos Chardonnay, quando comparado com os demais revestimentos poliméricos, tendo-se verificado apenas a extração de alguns compostos de maior volatilidade e baixa polaridade, de forma que o revestimento foi considerado inadequado para análise de compostos voláteis de vinhos Chardonnay ⁽⁶¹⁾.

O revestimento polimérico DVB/PDMS foi escolhido para dar continuidade aos trabalhos, por apresentar um maior número de picos, bem como uma área cromatográfica superior de picos extraídos. Além disso, não foram identificados compostos adicionais de interesse aromático nas demais fibras que apresentaram uma eficiência de extração inferior à fibra escolhida.

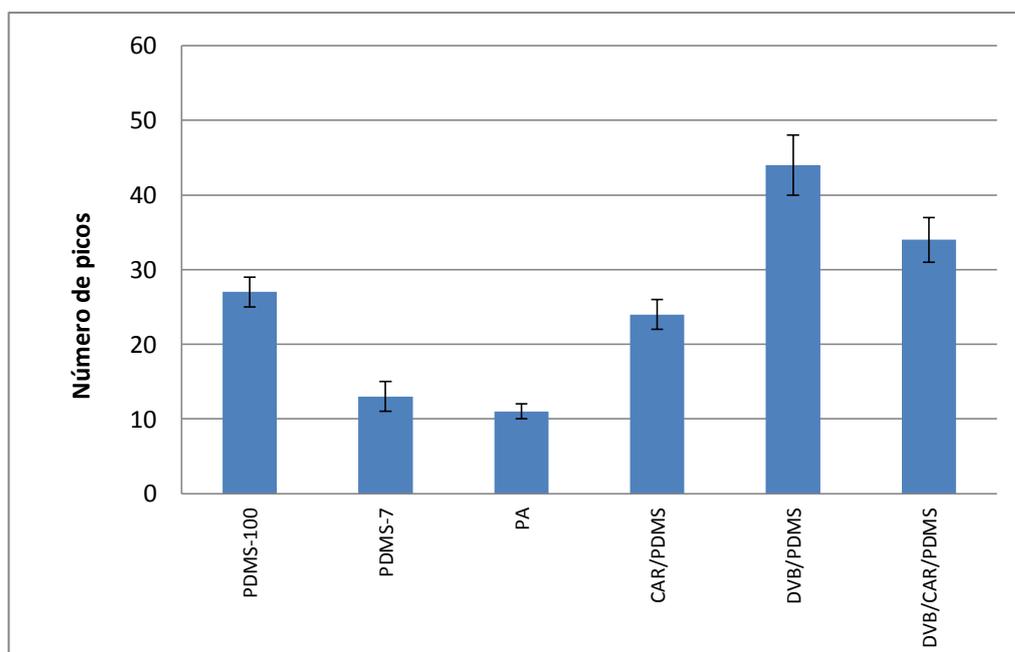


Figura 11. Número total de picos cromatográficos de compostos voláteis tentativamente identificados, obtido a partir da extração de amostra de espumante Moscatel utilizando diferentes fases poliméricas. As condições de extração para as diferentes fibras foram: volume da amostra de 2mL, sem diluição (teor alcóolico das amostras de 7,5%), temperatura de extração de 40°C, adição de 30% (m/v) de sal (NaCl) na amostra e o tempo de extração de 10 minutos.

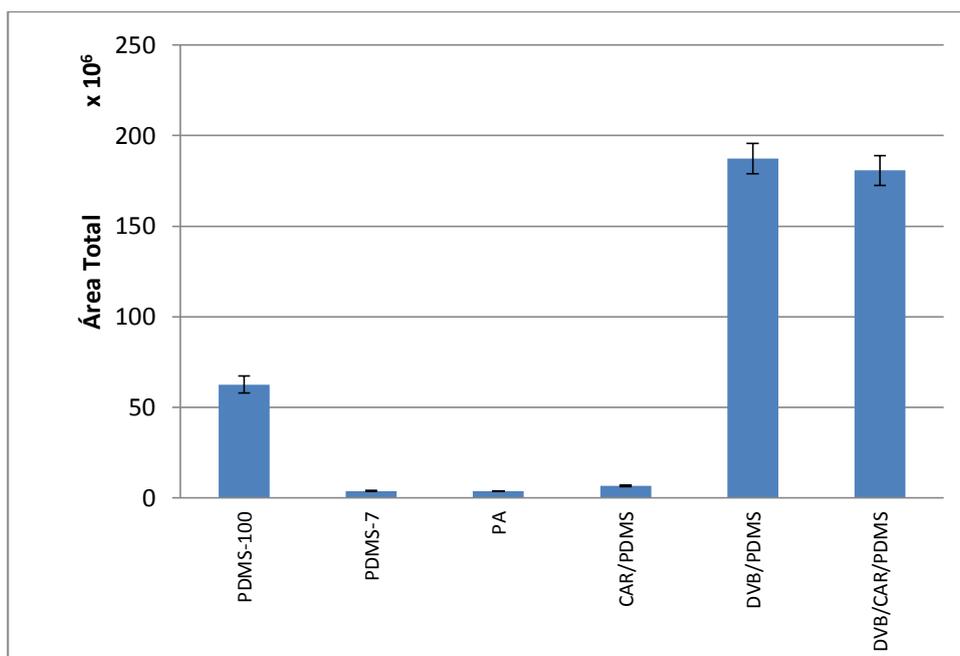


Figura 12. Somatório das áreas cromatográficas de compostos voláteis tentativamente identificados, obtido a partir da extração de amostra de espumante Moscatel utilizando diferentes fases poliméricas. As condições de extração para as diferentes fibras foram: volume

da amostra de 2mL, sem diluição (teor alcóolico das amostras de 7,5%), temperatura de extração de 40°C, adição de 30% (m/v) de sal (NaCl) na amostra e o tempo de extração de 10 minutos.

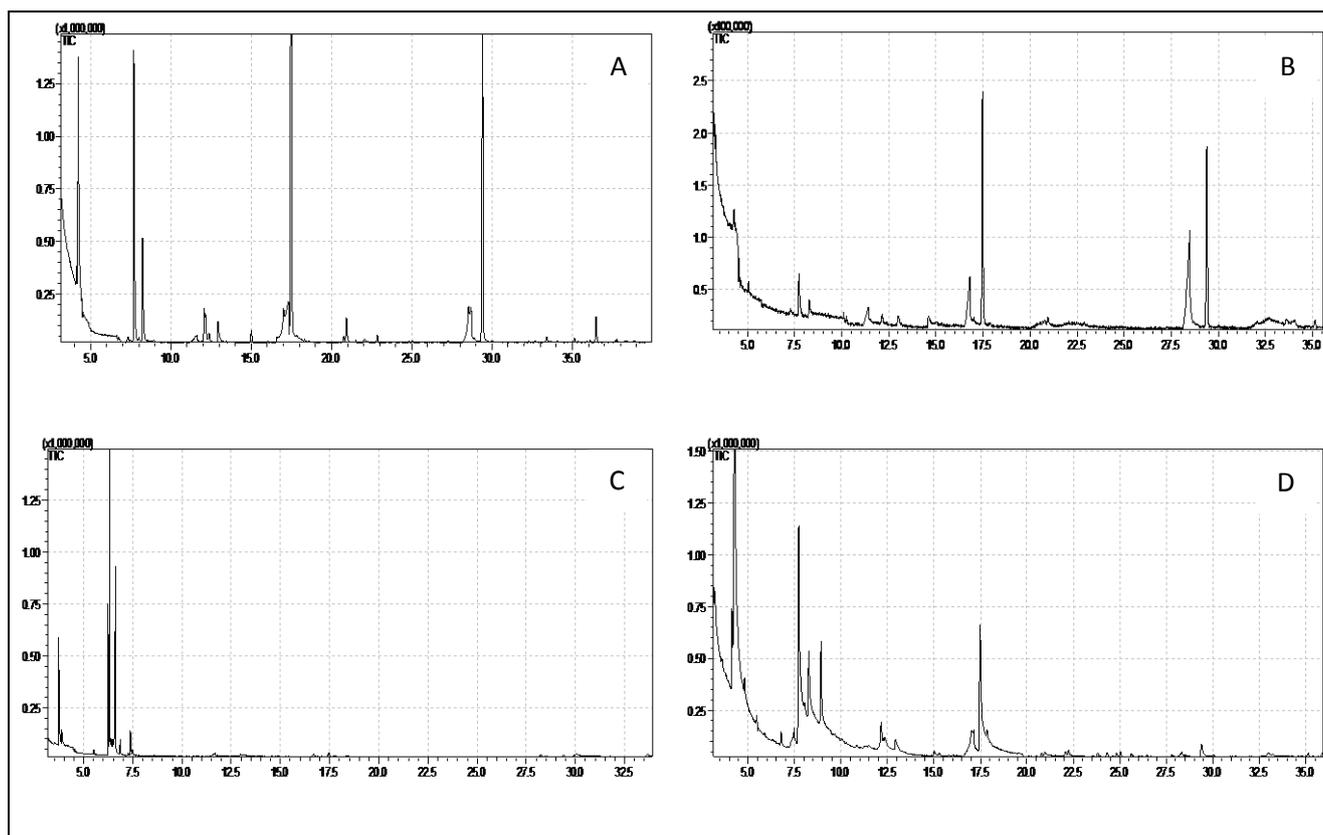
As fibras mistas DVB/PDMS e a DVB/CAR/PDMS exibiram eficiências semelhantes. A DVB/CAR/PDMS é considerada de polaridade intermediária ⁽⁴⁵⁾ e vem sendo amplamente utilizada na extração de compostos voláteis de diferentes tipos de vinhos ^{(11) (15) (61) (62)}. O seu bom desempenho é devido à presença de três camadas de diferentes filmes poliméricos, cuja porosidade determina o tamanho dos analitos retidos, sendo indicada para análises em que os compostos de interesse apresentam entre 2 e 12 átomos. Weldegergis e colaboradores estudaram a composição de diferentes vinhos típicos Pinotage e para isso utilizaram uma fibra CAR/PDMS e GC×GC para análise dos compostos voláteis. Foram tentativamente identificados um total de 206 compostos, incluindo ésteres, álcoois, aldeídos, cetonas, ácidos, acetais, furanos e lactonas, compostos sulfurados e nitrogenados, terpenos, hidrocarbonetos e fenóis ⁽¹⁹⁾.

Neste trabalho, este filme apresentou uma capacidade de extração um pouco inferior à PDMS/DVB no que diz respeito ao número de compostos extraídos, entretanto, em termos de área cromatográfica, mostrou-se bastante inferior à fibra PDMS/DVB. Uma das possíveis razões para o excelente desempenho obtido na extração de voláteis de espumantes Moscatel utilizando-se o filme PDMS/DVB pode ser a possibilidade de interação do tipo π - π entre as insaturações dos terpenos e os anéis benzênicos do polímero DVB. Além disso, sabe-se que este revestimento apresenta capacidade de extração de compostos de baixo peso molecular e de certa polaridade ^{(15) (45) (58)}.

M. Bonino e colaboradores caracterizaram a composição do aroma do vinho italiano Piedmont, utilizando a fibra PDMS/DVB e identificaram tentativamente 59 compostos, após uma avaliação entre fibras do tipo PDMS/DVB, CAR/PDMS e PDMS, obtendo uma eficiência e reprodutibilidade de extração superior para aquelas realizadas com a fibra PDMS/DVB. Foi observada a presença de compostos da família de ésteres, terpenos e álcoois nas amostras analisadas ⁽¹⁷⁾. Chunxiang e colaboradores ⁽⁶³⁾ avaliaram a evolução dos compostos voláteis de três diferentes uvas durante e após a maturação, utilizando a fibra PDMS/DVB. Foi possível avaliar a mudança na concentração dos compostos, tais como terpenos e ésteres, durante o

período de tempo avaliado (oito semanas). Em estudos anteriores foi observada a eficiência desta fibra na extração de compostos voláteis em sucos de frutas e em diferentes bebidas alcoólicas, quando comparada com fibras com revestimentos do tipo PDMS, PA e CAR ⁽⁴³⁾. Em todos estes estudos citados pode-se perceber a eficiência da fibra DVB/PDMS na extração de compostos aroma ativos, tais como ésteres, álcoois e terpenos, mostrando que está é uma fibra apropriada para o estudo dos componentes aromáticos que caracterizam o espumante Moscatel.

Estudo recente deste grupo de pesquisa reporta o emprego da fibra PDMS/CAR/DVB como condição ótima para a extração de voláteis de vinhos base de espumante *Chardonnay*, entretanto, no caso destes espumantes, os ésteres são os componentes majoritários ⁽⁶⁴⁾. Nesta investigação dos voláteis de Moscatel, o foco principal foi a investigação dos compostos terpênicos, visto que os mesmos caracterizam o espumante Moscatel. A **Figura 14** mostra claramente a maior eficiência da PDMS/DVB para a extração de terpenos e a maior eficiência da DVB/CAR/PDMS para a extração de ésteres, o que ratifica a escolha da PDMS/DVB para este trabalho.



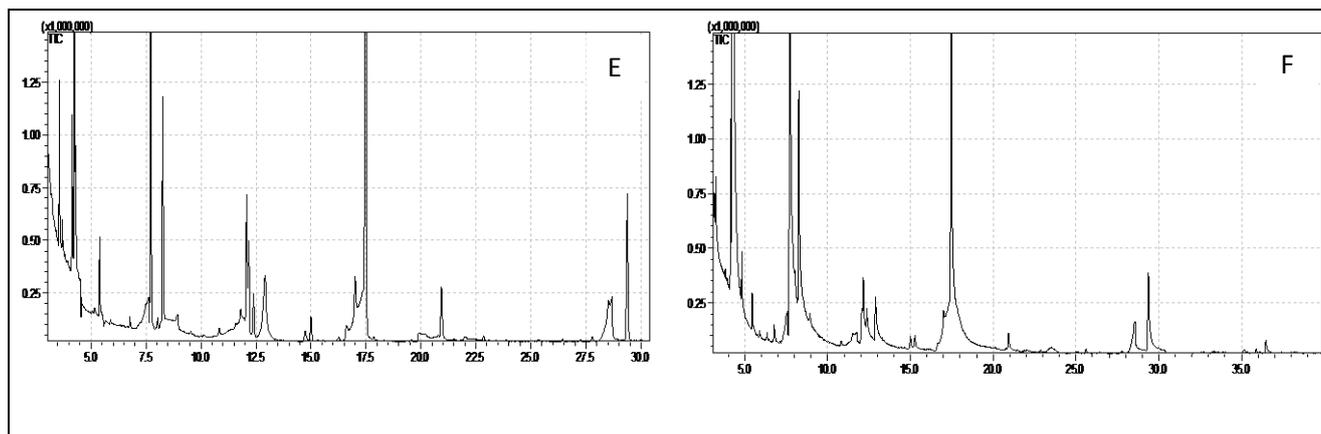


Figura 13. Cromatogramas que mostram a comparação dos resultados obtidos após extração do *headspace* de amostras de espumante Moscatel com as fibras **A.** PDMS 100 μm , **B.** PDMS 7 μm StableFlex, **C.** PA 85 μm , **D.** CAR/PDMS 85 μm , **E.** DVB/PDMS 65 μm StableFlex e **F.** DVB/CAR/PDMS 50/30 StableFlex. (todos os valores no eixo x são referentes ao tempo de retenção (variando de 0 à 40 minutos) e no eixo y dizem respeito à intensidade (0 à $1,5 \times 10^6$). As condições de extração para as diferentes fibras foram: volume da amostra de 2mL, sem diluição (teor alcóolico das amostras de 7,5%), temperatura de extração de 40°C, adição de 30% (m/v) de sal (NaCl) na amostra e o tempo de extração de 10 minutos.

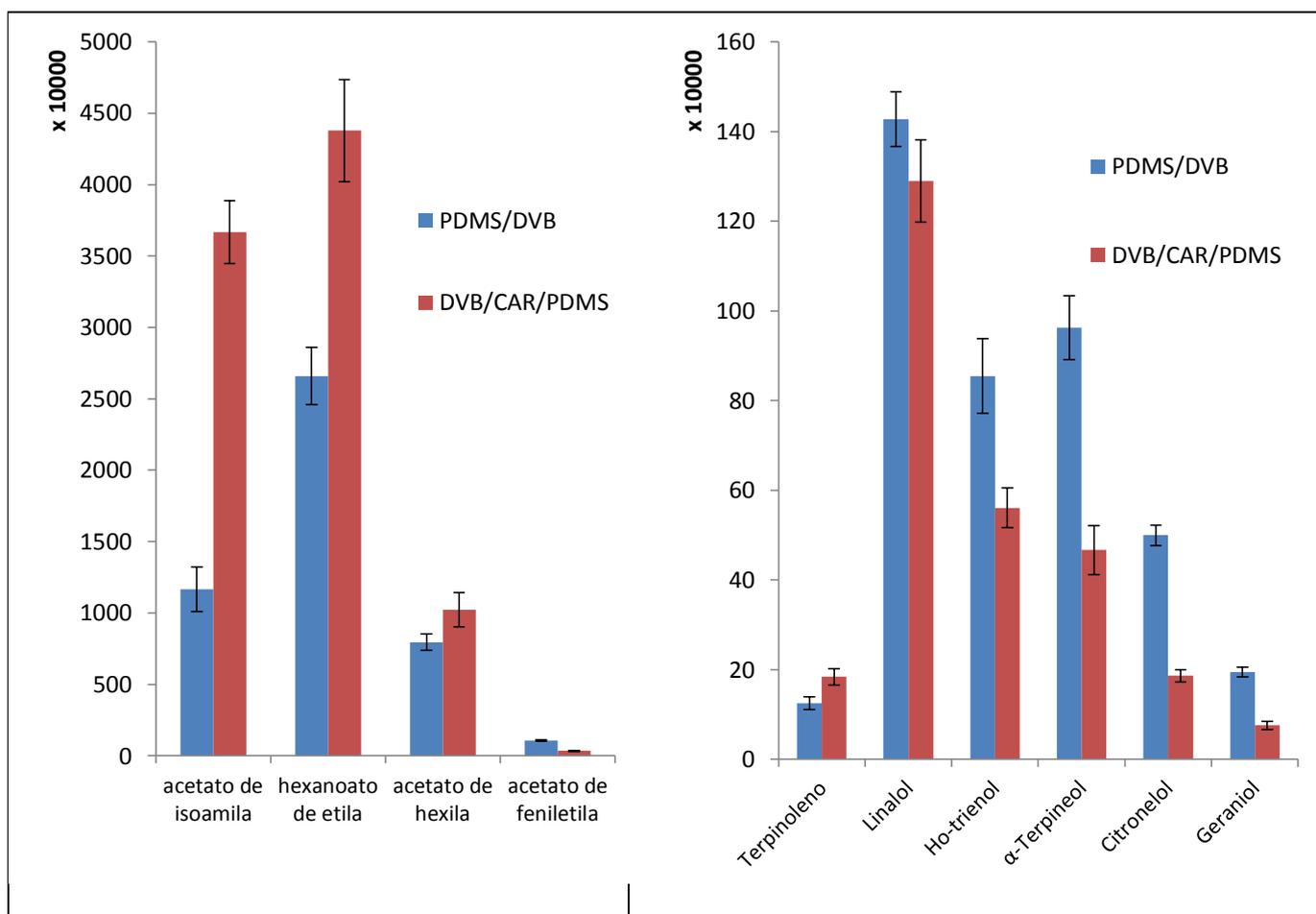


Figura 14. Comparação das áreas cromatográficas obtidas para (A) ésteres e (B) terpenos majoritários tentativamente identificados após extrações realizadas com as fibras DVB/PDMS e tripla (DVB/CAR/PDMS).

4.2.2. Concentração de Etanol

O etanol é o segundo composto majoritário dos espumantes (o primeiro é a água), estando presente em torno de 7,5% (v/v) Tendo em vista que o etanol está presente em quantidades mais elevadas, a sua absorção maciça pelo revestimento pode ocorrer, havendo a possibilidade de alteração da natureza físico-química, o que pode levar à diminuição da eficiência da fibra ^{(7) (65) (66) (67)}. A **Figura 15** mostra a avaliação da eficiência da extração com amostras de espumante diluídas em 1,5%, 4,5% e 7,5% (quantidade de álcool na amostra), verificando-se um melhor desempenho nas extrações nas quais o teor alcóolico do espumante permaneceu com 7,5% de álcool, ou seja, sem diluição. Todos os gráficos que indicam a eficiência do processo de extração e também aqueles que apresentam a evolução do perfil dos voláteis durante o processo de vinificação foram obtidos a partir da normalização das áreas,

onde a área de um composto x, por exemplo, numa determinada condição (A_x) foi dividida pela área cromatográfica deste mesmo composto quando este atingiu o maior valor de área ($A_{máx}$).

As áreas cromatográficas normalizadas (A_N) foram calculadas conforme equação a seguir

$$A_N = \frac{A_x}{A_{max}}$$

Os compostos voláteis apresentados nas **Figuras 15, 16, 17,18 e 19** foram escolhidos por representarem as principais classes de compostos identificados nos espumantes e também por apresentarem importante contribuição no aroma dos espumantes ^{(24) (26) (32) (38)}.

O desvio padrão relativo para A_N em cada ponto representado no gráfico da **Figura 15** variou de 6,0% a 13,4%.

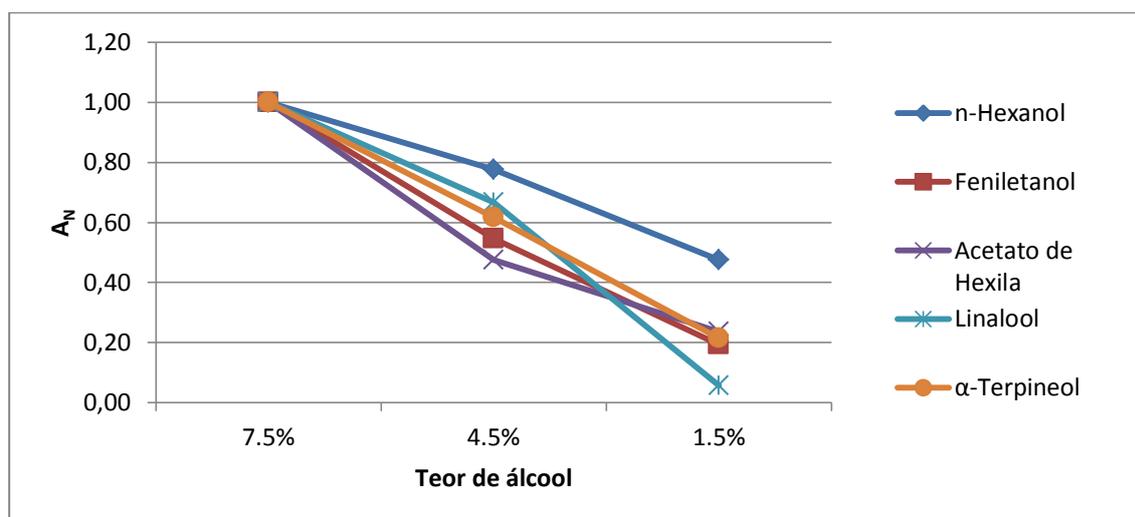


Figura 15. Avaliação da influência da diluição da amostra na eficiência da extração de compostos voláteis de espumante Moscatel (foram mantidos constantes o volume (2mL), a temperatura de extração (40°C), a força iônica (adição de 30% de sal) e o tempo de extração (10 minutos). Todas as extrações foram realizadas utilizando a fibra com fase DVB/PDMS.

4.2.3. Volume da Amostra

Foram avaliados três diferentes volumes (1, 2 e 3 mL) de amostra na performance da extração dos compostos voláteis do espumante, o que resultou em volumes diferentes de *headspace*. De acordo com Rodríguez-Bencomo e colaboradores ⁽⁶⁶⁾, a absorção aumenta, enquanto o volume do *headspace* diminui, devido ao fato de que os analitos difundem mais rapidamente para o revestimento quando o volume de *headspace* é menor. Inclusive, pode-se perceber o efeito do volume do *headspace* quando se testa, em uma razão de 1:1 de amostra/

headspace (volume constante de amostra), em frascos de 20 e 50 mL, obtendo-se melhores resultados quando utilizado o frasco de 20 mL⁽⁶⁸⁾.

A diferença de eficiência na extração de voláteis de espumante Moscatel foi muito pequena quando diferentes volumes de amostra foram avaliados, entretanto utilizando-se o teste t de *student*, foi possível determinar as diferenças de performance na extração de amostras no volume de 1, 2 e 3 mL. Em um nível de significância de $p=0,05$, foi possível determinar o volume de 2 mL como volume ótimo de amostra para extração dos voláteis da amostra. Os dados obtidos podem ser visto na **Figura 16**.

O desvio padrão relativo para A_N em cada ponto representado no gráfico da **Figura 16** variou de 4,6% a 12,3%.

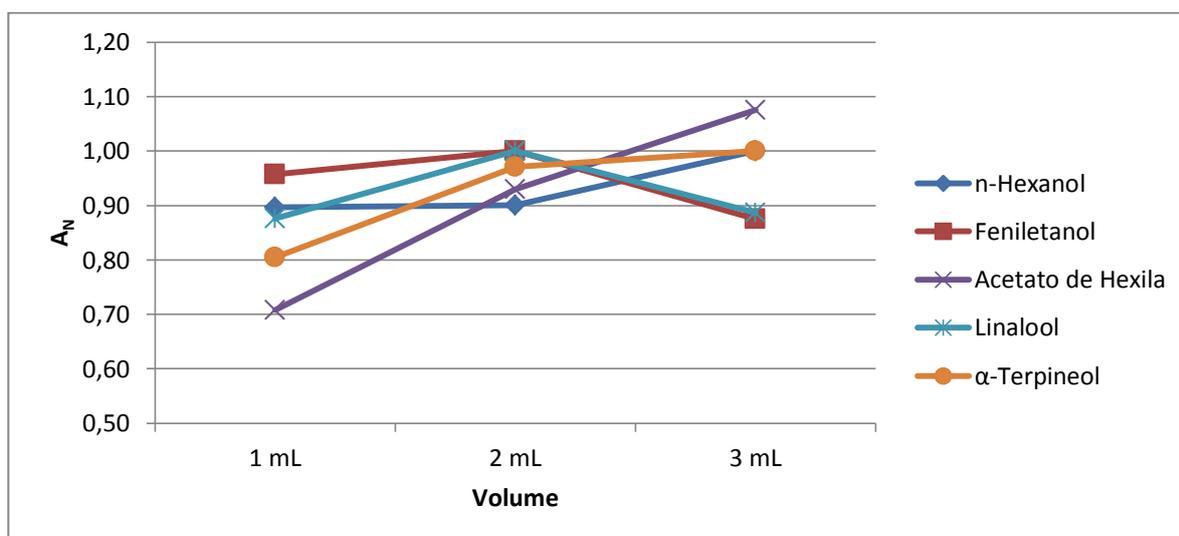


Figura 16. Eficiência de extração para alguns compostos representativos de várias classes químicas presentes no *headspace* do espumante Moscatel quando da utilização de três diferentes volumes de amostra (foram mantidos constantes o teor alcóolico (7,5%), a temperatura de extração (40°C), a força iônica (adição de 30% de sal) e o tempo de extração (10 minutos)). Todas as extrações foram realizadas utilizando a fibra com fase DVB/PDMS.

4.2.4. Temperatura de Extração

A temperatura de extração em SPME tem sabidamente influência sobre a vaporização das moléculas, bem como na velocidade de transferência dos compostos da região próxima à fase líquida até aquela próxima à fibra e também no equilíbrio de sorção dos analitos no

revestimento da fibra⁽⁶⁹⁾. Altas temperaturas favorecem a liberação dos analitos no *headspace*, bem como sua transferência até a fibra, favorecendo o processo de extração. No entanto, altas temperaturas podem afetar adversamente a sorção dos analitos pelo revestimento polimérico devido à diminuição dos coeficientes de partição analito/filme de SPME, na medida em que a temperatura aumenta⁽⁸⁾.

Robinson e colaboradores avaliaram a eficiência da extração SPME em diferentes temperaturas de 25 compostos representativos presentes em vinhos Cabernet Sauvignon e observaram que, para grande parte dos compostos, havia uma melhora na extração de determinados compostos na medida em que a temperatura de extração era aumentada⁽²¹⁾. Entretanto, para compostos como linalol e decanoato de etila, observou-se um acentuado decréscimo em suas área cromatográficas nas temperaturas de extrações mais altas, sendo justificado por estes pesquisadores a ocorrência de reações de degradação destes compostos. Antalick e colaboradores desenvolveram uma metodologia de SPME para quantificar 32 diferentes ésteres característicos de vinhos tintos⁽¹⁴⁾. Foi observado que a adsorção de todos os estéres (com exceção dos aromáticos) sofreu uma pequena diminuição quando aumentou-se a temperatura de extração de 30°C para 40°C e uma diminuição mais acentuada quando aumentou-se a temperatura de 40°C para 50°C.

Monoterpenos são compostos extremamente voláteis e, conseqüentemente, são facilmente liberados pela matriz líquida. Um aumento na temperatura não apenas aceleraria a vaporização destes componentes da matriz para a fase gasosa, mas também favoreceria a dessorção dos mesmos da fibra, para a fase gasosa. Por outro lado, o comportamento dos sesquiterpenos, que são menos voláteis, é um pouco diferente. Numa temperatura mais elevada, a sua migração a partir da matriz para a fase gasosa é predominante, observando-se, portanto, um aumento na área dos picos cromatográficos destes compostos. Porém, em temperaturas ainda mais altas, observa-se que o processo de dessorção dos sesquiterpenos da fibra é favorecido, o que leva a um decréscimo da área cromatográfica destes componentes⁽⁵⁸⁾.

A **Figura 17** mostra que a temperatura de 40°C foi aquela em que se obteve maior eficiência de extração para o maior número de compostos voláteis quando compara com as temperaturas de 30 e 50°C. Entretanto, para alguns compostos como o α -terpineol, a área cromatográfica atingiu maior valor em 50°C, visto que este componente atinge o equilíbrio de extração em um maior tempo. Ainda, pode-se acrescentar a possibilidade da ocorrência de formação deste composto a partir da reação de degradação do linalol, devido à temperatura de

extração mais elevada ⁽²¹⁾. Portanto, como o perfil dos compostos voláteis do espumante Moscatel é predominantemente formado por compostos de alta volatilidade, optou-se pela temperatura de 40°C como condição ótima de extração.

O desvio padrão relativo para A_N em cada ponto representado no gráfico da **Figura 17** variou de 3,4% a 14,1%.

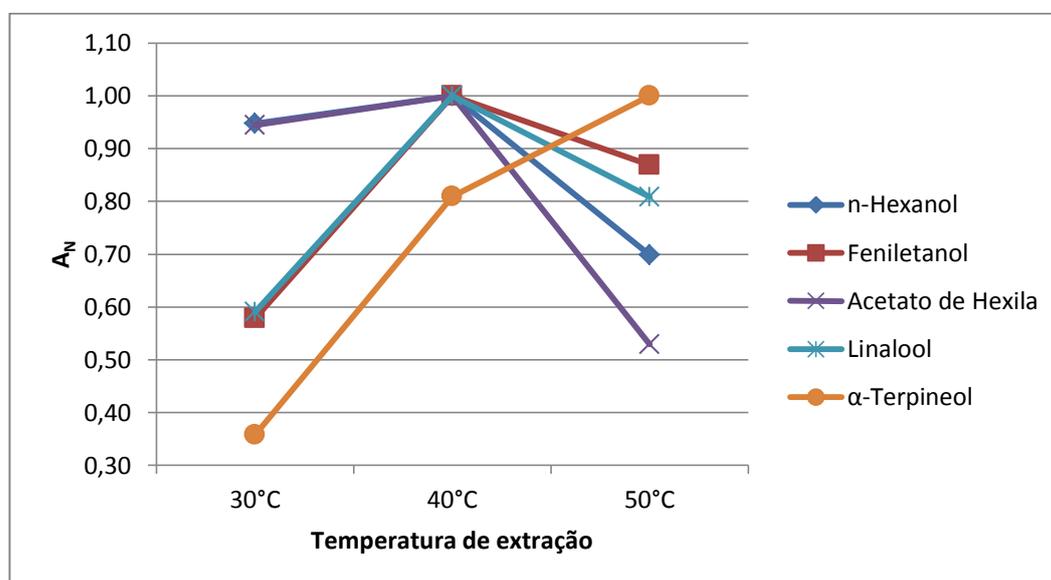


Figura 17. Influência da temperatura na área cromatográfica de alguns componentes (foram mantidos constantes o teor alcóolico (7,5%), o volume (2mL), a força iônica (adição de 30% de sal) e o tempo de extração (10 minutos)). Todas as extrações foram realizadas utilizando a fibra com fase DVB/PDMS.

4.2.5. Influência da Força Iônica

A quantidade de analito sorvido pela fibra pode ser influenciada pela composição da amostra. O aumento da força iônica da solução reduz a solubilidade de analitos voláteis e apolares na fase líquida, facilitando sua transferência para o *headspace* (efeito *salting out*). A fim de aumentar a força iônica da solução pode-se adicionar um sal, como por exemplo cloreto de sódio à amostra de espumante, de forma a favorecer a extração dos analitos. ^{(68) (67) (45) (47)}.

Peña e colaboradores otimizaram os parâmetros de um método de SPME para determinar compostos terpênicos em amostras de vinho encontrando como melhor resultado, a adição de 25% (m/v) de NaCl nas amostras analisadas ⁽⁴⁷⁾. Robinson e colaboradores ⁽²¹⁾

otimizaram a adição de sal com a finalidade de aumentar a eficiência de extração de compostos voláteis presentes em vinhos Cabernet Sauvignon através da técnica SPME e observaram que, para os compostos de menor hidrofobicidade, tais como os álcoois, o efeito *salting out* era mais pronunciado.

Para realizar a avaliação das melhores condições de extração em termos de força iônica, foram adicionadas nas amostras de espumante as seguintes proporções (relação massa de sal/volume de amostra, m/v) de cloreto de sódio (NaCl): 0% (sem adição de NaCl), 15% e 30%. A **Figura 18** mostra que a adição de sal proporcionou uma eficiência de extração superior frente à amostra sem adição de sal. Aplicando-se o teste t de Student, foi possível determinar as diferenças de performance na extração de amostras com adição de 15 e 30% de NaCl, através de um teste de hipóteses. Em um nível de significância de $p=0,05$, a adição de 30% de NaCl propiciou uma eficiência maior frente a adição de 15% de NaCl.

O desvio padrão relativo para A_N em cada ponto representado no gráfico da **Figura 18** variou de 4,0% a 10,5%.

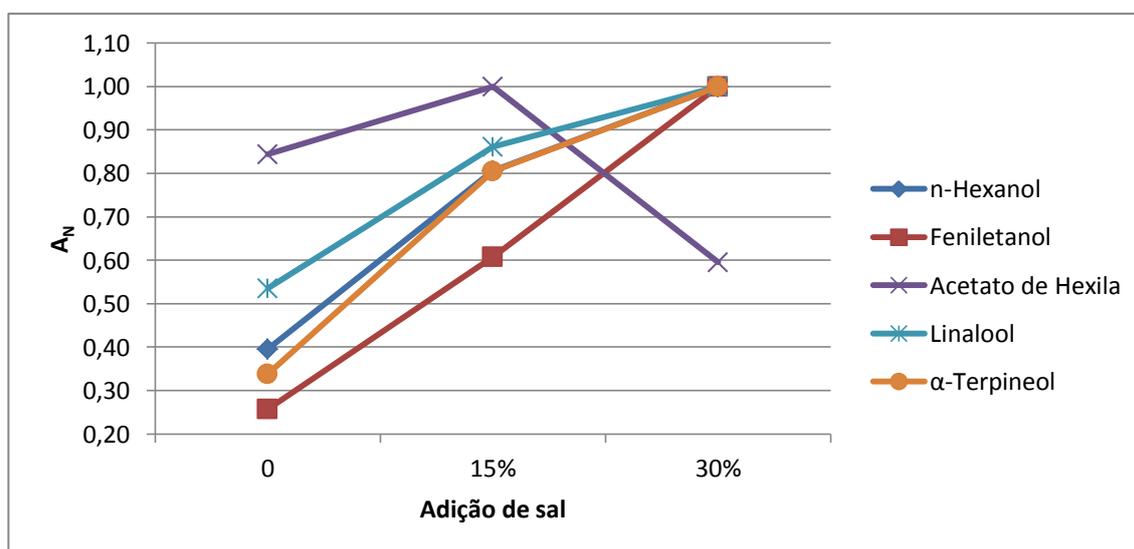


Figura 18. Influência da adição de cloreto de sódio ao espumante Moscatel na eficiência da microextração em fase sólida no modo headspace com uma fibra PDMS/DVB (foram mantidos constantes o teor alcoólico (7,5%), o volume (2mL), a temperatura de extração (40°C) e o tempo de extração (10 minutos)). Todas as extrações foram realizadas utilizando a fibra com fase DVB/PDMS.

4.2.6. Tempo de Extração

O tempo de extração é o tempo em que o filme extrator da fibra de SPME fica exposto ao *headspace* da amostra. Idealmente, este tempo deve ser suficiente para que o analito atinja o equilíbrio entre o filme extrator e o *headspace* da amostra. A **Figura 19** mostra que a eficiência do processo de extração aumentou à medida que o tempo de extração passou de 10 min para 30 min, para a grande maioria dos compostos avaliados. Entretanto, observa-se um decréscimo da eficiência de extração quando o tempo de extração passou de 30 para 50 min para vários dos compostos em estudo. Este comportamento foi observado na determinação de ésteres em amostras de vinho branco, onde o tempo de extração foi variado de 0 a 60 minutos, sendo observado um decréscimo na eficiência de extração da fibra a partir dos 40 minutos ⁽⁶⁶⁾. Comportamento semelhante foi verificado na otimização do método SPME para análise de ésteres em vinhos, onde foi visto que, a partir de 45 minutos de extração, a eficiência diminuía para aqueles ésteres mais leves ⁽¹⁴⁾. Uma hipótese para esta diminuição da área cromatográfica de alguns compostos após os 30 minutos de extração pode ser a perda parcial dos mesmos por volatilidade.

O desvio padrão relativo para A_N em cada ponto representado no gráfico da **Figura 19** variou de 4,0% a 7,4%.

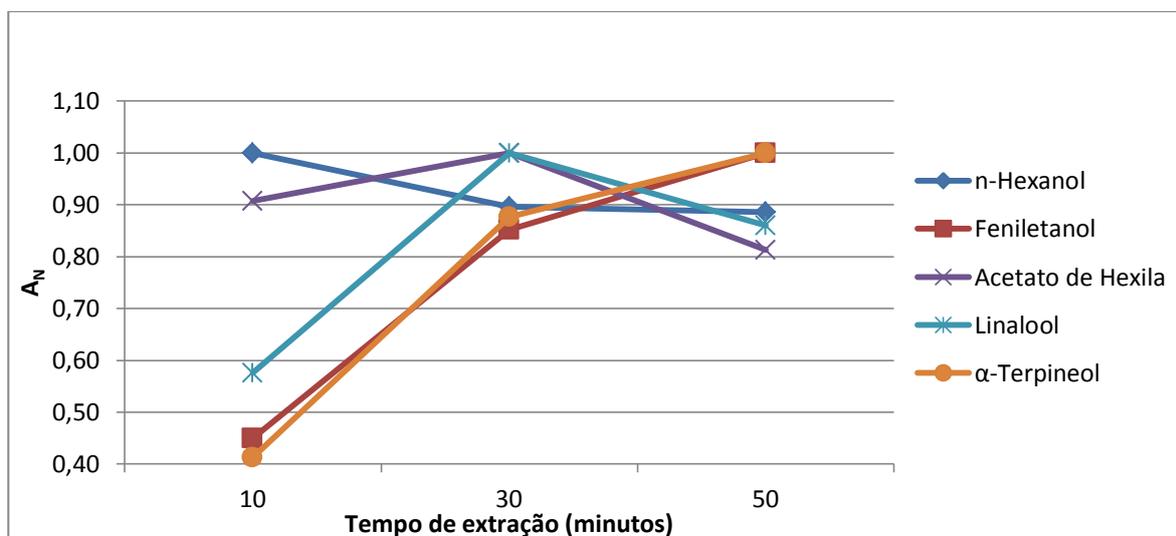


Figura 19. Perfil de extração de alguns compostos voláteis representativos do perfil cromatográfico do headspace de vinhos espumantes Moscatel, obtido através de HS-SPME (foram mantidos constantes o teor alcóolico (7,5%), o volume (2mL), a temperatura de extração

(40°C) e a força iônica (adição de 30% de sal)). Todas as extrações foram realizadas utilizando a fibra com fase DVB/PDMS.

Dados os resultados obtidos durante a otimização do método de HS-SPME, foram empregados os seguintes parâmetros para extração de compostos voláteis do *headspace* de espumantes Moscatel e também das outras matrizes líquidas provenientes das várias etapas do processo de fabricação destes espumantes: filme PDMS/DVB, teor alcóolico de 7,5%, 2 mL de amostra, temperatura de 40°C, adição de 30 % de cloreto de sódio, tempo de extração de 30 minutos

4.3. IDENTIFICAÇÃO TENTATIVA DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS PRESENTES NO ESPUMANTE

4.3.1. Cromatografia Gasosa com Detector Quadrupolar de Espectrometria de Massas

Após a otimização dos parâmetros da técnica SPME, foram analisadas as amostras das diferentes etapas do processo de vinificação do espumante Moscatel (Tabela I, 3.1 - COLETA E PREPARO DAS AMOSTRAS) por GC/qMS, onde foi possível detectar um total de 58 compostos, sendo que o grupo que estava presente em maior número de compostos tentativamente identificados no *headspace* do espumante Moscatel foram os terpenos (23), seguido por ésteres (19), álcoois (7), aldeídos (4), cetonas (2), ácidos (1), fenóis (1) e hidrocarbonetos (1). Na Tabela III, constam, além dos compostos tentativamente identificados, as áreas cromatográficas relativas do mosto e do espumante de cada um dos três processos monitorados.

Tabela III -Compostos tentativamente identificados nos processos 1,2 e 3 de vinificação e relação de área percentual (% A) no mosto (M) e no espumante final (E)

Composto	t _R (min)	LTPRI _{calc}	LTPRI _{lit}	Processo					
				1		2		3	
				M (%A)	E(%A)	M(%A)	E(%A)	M(%A)	E(%A)
1-hexanol	4,133	882	871	9,92	3,67	25,05	1,05	10,89	0,61
acetato de isoamila	4,248	886	880	4,92	7,92	3,59	7,13	6,27	7,61
heptanal	4,810	905	902	0,00	0,00	0,11	0,02	0,00	0,00
benzaldeido	6,471	961	958	0,00	0,00	0,99	0,00	0,09	0,00
acetato de 2-etilbutila	6,794	973	972	0,18	0,00	0,50	0,12	0,60	0,03
1-octen-3-ol	7,065	982	981	0,06	0,00	0,23	0,04	0,14	0,03
6-metil 5-hepten-2-ona	7,324	991	984	0,06	0,00	0,35	0,02	0,12	0,00
α-mirceno	7,483	996	981	0,14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
hexanoato de etila	7,727	1003	1003	4,44	4,77	2,82	5,84	14,03	10,11
acetato de 3-hexenol	8,035	1010	1002	0,18	1,52	0,26	5,23	0,53	0,00
acetato de hexila	8,273	1016	1009	7,91	22,96	5,27	20,01	8,69	4,10
limoneno	8,884	1030	1029	0,08	0,12	0,13	0,04	0,29	0,04
2-etil-1-hexanol	8,918	1030	1030	0,00	0,00	0,08	0,02	0,11	0,00
cis-ocimeno	9,264	1038	1050	0,10	0,00	0,06	0,01	0,09	0,00
fenilacetaldeido	9,506	1044	1043	0,26	0,00	0,17	0,00	0,04	0,00
trans ocimeno	9,712	1049	1047	0,21	0,00	0,11	0,03	0,22	0,37
δ-terpineno	10,140	1058	1060	0,10	0,00	0,04	0,00	0,06	0,00
cis-óxido de linalol	10,845	1075	1073	0,69	0,04	0,87	0,17	0,81	0,06
terpinoleno ^b	11,591	1092	1089	0,70	0,32	0,59	0,16	0,90	0,03
2-nonanona	11,739	1095	1094	0,00	0,24	0,66	0,07	0,00	0,08
linalol ^b	12,273	1106	1097	20,94	5,34	38,36	3,53	25,36	4,11
hotrienol	12,440	1109	1101	2,19	1,08	2,75	0,50	5,10	0,36

Dissertação de Mestrado – Rafael Dutra Soares

Composto	t _R (min)	LTPRI _{calc}	LTPRI _{lit}	Processo					
				1		2		3	
				M (%A)	E(%A)	M(%A)	E(%A)	M(%A)	E(%A)
óxido de rosa	12,632	1113	1112	0,00	0,00	0,08	0,03	0,06	0,02
acetato de heptila	12,763	1115	1110	0,00	0,00	0,05	0,07	0,05	0,03
feniletanol	12,957	1119	1106	9,01	5,37	3,22	3,51	1,41	2,08
octanoato de metila	13,456	1128	1125	0,09	0,00	0,10	0,13	0,06	0,06
menta-1,4,8-trieno	13,649	1131	1111	0,00	0,08	0,04	0,01	0,07	0,00
óxido de nerol	15,034	1157	1158	1,01	0,43	0,50	0,18	0,97	0,09
epóxi-linalol	15,874	1173	1163	0,24	0,12	0,20	0,02	0,05	0,01
1-nonanol	16030	1175	1169	0,00	0,08	0,11	0,20	0,10	0,15
4-terpineol	16,205	1179	1177	0,18	0,09	0,06	0,03	0,08	0,02
succinato de etila	16,672	1187	1179	0,00	0,27	0,00	0,44	0,00	0,02
α-terpineol ^b	17,046	1194	1188	5,37	3,66	3,08	0,86	0,59	0,08
octanoato de etila	17,531	1203	1197	10,23	12,62	1,80	15,62	4,98	41,62
acetato de octila	18,372	1217	1214	0,09	1,03	0,15	4,65	0,06	0,00
citronelol	19,431	1235	1226	1,43	1,19	1,17	0,89	0,98	0,38
3,7-dimetil-1,5-octadieno-3,7-diol	19,606	1238	1237	0,00	0,28	0,03	0,23	0,00	0,11
hexanoato de isopentila	20,419	1251	1254	0,00	0,24	0,00	0,02	0,00	0,04
acetato de 2-feniletila	20,989	1261	1260	3,75	3,38	0,00	1,00	3,05	1,57
geraniol	21,424	1268	1253	0,00	0,00	0,00	0,05	0,00	0,00
1-decanol	21900	1276	1268	0,00	0,00	0,22	0,06	0,18	0,00
4,6-dimetil dodecano	22,213	1281	1285	0,00	0,23	0,45	0,10	0,20	1,06
nonanoato de etila	23,377	1301	1294	0,00	0,34	0,05	3,29	0,00	0,03
decanoato de metila	25,092	1329	1328	0,28	0,16	0,06	0,05	0,04	0,11
éster ^a	26,499	1353	n.e.	0,17	0,00	0,20	0,03	0,26	0,00
acetato de citronelila	26,839	1358	1354	0,36	0,44	0,12	0,28	0,22	0,51
triacetin	27,084	1362	1344	0,00	1,26	0,00	0,65	0,00	0,00
acetato de nerila	27,537	1370	1362	0,09	0,12	0,18	0,27	0,05	0,06

Dissertação de Mestrado – Rafael Dutra Soares

Composto	t _R (min)	LTPRI _{calc}	LTPRI _{lit}	Processo					
				1		2		3	
				M (%A)	E(%A)	M(%A)	E(%A)	M(%A)	E(%A)
éster ^a	27,842	1375	n.e.	0,35	0,18	0,29	0,04	0,42	0,01
damascenona	28,555	1387	1385	0,41	1,25	1,01	9,64	0,49	0,08
acetato de geranila	28,725	1389	1379	0,15	0,29	0,12	0,21	0,00	0,07
ácido <i>n</i> -decanoico	28,942	1393	1373	1,51	0,24	0,15	0,33	0,41	0,00
decanoato de etila	29,502	1402	1398	10,30	18,44	2,65	12,93	10,05	24,14
hexadecanal	29,921	1409	1410	0,00	0,00	0,07	0,02	0,00	0,00
butanoato de feniletila	31,990	1444	1439	1,61	0,11	0,40	0,02	0,16	0,00
geranil acetona	32,584	1455	1460	0,00	0,00	0,19	0,04	0,05	0,02
1-dodecanol	34,132	1481	1470	0,28	0,13	0,23	0,05	0,22	0,07
2,4-bis(1,1-dimetiletil)fenol	36,407	1519	1519	0,00	0,02	0,00	0,10	0,35	0,01
Σ A %				100	100	100	100	100	100

^a agrupamento químico identificado pela comparação do espectro de massas dos compostos do headspace do vinho com os espectros de massas da literatura.

^b compostos positivamente identificados através da injeção de padrões

Demais compostos foram tentativamente identificados pela comparação de espectros de massas e LTPRI com dados da literatura científica.

4.3.2. Cromatografia gasosa bidimensional abrangente com detector espectrométrico de massas do tipo tempo de voo

As condições empregadas nas análises cromatográficas monodimensional e bidimensional são distintas, o que impede comparações diretas entre os resultados obtidos para a mesma amostra de espumante através das duas técnicas. Entretanto, os resultados da GC×GC/TOFMS fornecem uma idéia preliminar do potencial desta técnica aplicada ao vinho espumante Moscatel gaúcho, o que vem ao encontro dos objetivos deste trabalho. Um grande número de compostos (246) foi tentativamente identificado por GC×GC/TOFMS no *headspace* de um vinho espumante Moscatel (do processo 3, item 3.1) e os mesmos estão listados na Tabela III, de acordo com suas classes químicas, em ordem alfabética. Os diagramas de cores e tridimensional dos compostos voláteis do *headspace* de um vinho espumante Moscatel são apresentados na **Figura 20**.

Entre todos os grupos químicos tentativamente identificados no *headspace* do espumante Moscatel da Serra Gaúcha, ésteres estavam presentes em maior número (72), seguidos por terpenos (42), hidrocarbonetos (40), álcoois (25), cetonas (15), ácidos (11) éteres (9), aldeídos (8), compostos de enxofre (4), lactonas (3), fenóis (3) e ainda mais 14 compostos de grupos funcionais não identificados.

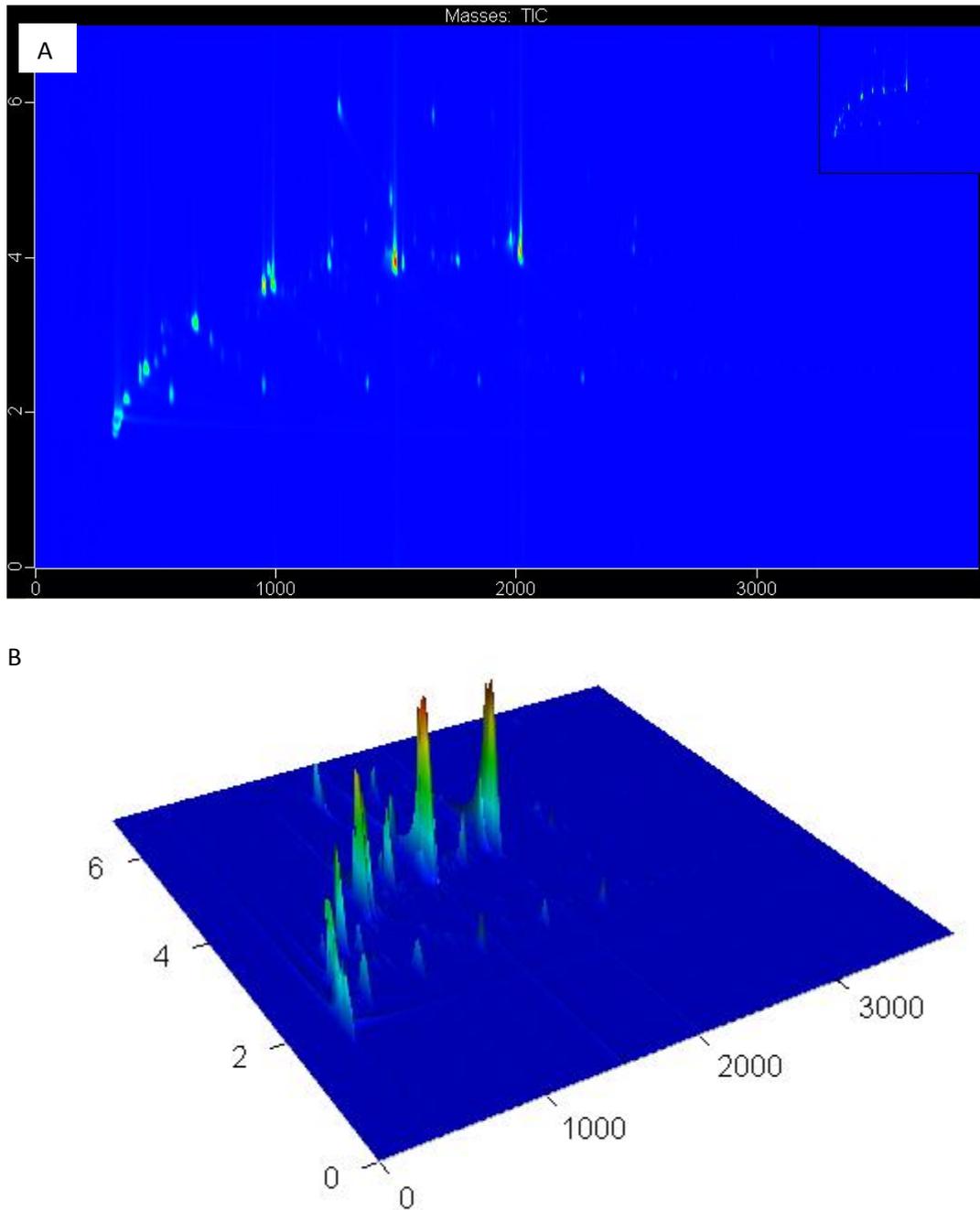


Figura 20. Diagrama de cores para as análises por GCxGC/TOFMS do espumante Moscatel. A) diagrama de cores. B) diagrama tridimensional

Tabela IV – Compostos tentativamente identificados no *headspace* de espumante Moscatel por GC×GC/TOFMS

	Composto	CAS	t _R ¹	t _R ²	Similaridade	LTPRI _{calc.}	LTPRI _{lit}	% Área
ÁCIDOS								
1	ácido ^a	64-19-7	455	2,17	928	764	n.e.	0,0267
2	ác. butanoico	107-92-6	518	2,7	946	799	789 ⁽⁷⁰⁾	0,1498
3	ác. 2-metil butanoico	116-53-0	623	2,9	829	857	853 ⁽⁷⁰⁾	0,0665
4	ác. hexanóico	112-37-8	938	3,58	908	996	981 ⁽⁷²⁾	1,6248
5	ácido ^a		994	3,27	779	1018	n.e.	0,1823
6	ácido ^a		1127	2,92	807	1068	n.e.	0,0299
7	ác. 2-etil hexanóico	149-57-5	1288	3,65	834	1127	1123 ⁽⁷⁰⁾	0,0467
8	ác. octanóico	124-07-2	1491	4,11	766	1199	1182 ⁽⁷⁰⁾	0,3343
9	ác. nonanóico	112-05-0	1701	4,03	887	1274	1273 ⁽⁷⁰⁾	0,2311
10	ác. decanóico	334-48-5	1967	4,22	924	1380	1373 ⁽⁷⁰⁾	3,3036
11	ác. undecanóico	112-37-8	2422	4,25	838	1569	1561 ⁽⁷²⁾	0,0540
ÁLCOOIS								
12	álcool ^a		357	2,11	950	710	n.e.	1,5265
13	álcool ^a		378	2,22	888	722	n.e.	0,3598
14	3-metil-1-butanol	123-51-3	455	2,61	874	764	773 ⁽⁷⁰⁾	9,9571
15	diol ^a		476	2,96	893	776	n.e.	0,1670
16	1-pentanol	71-41-0	490	2,68	841	784	771 ⁽⁷⁰⁾	0,0380
17	2,3-butanodiol	19132-06-0	511	3,13	953	795	779 ⁽⁷²⁾	7,4912
18	álcool ^a		602	2,91	751	845	n.e.	0,1160
19	álcool ^a		609	3,02	827	849	n.e.	0,0163
20	1-hexanol	928-96-1	630	3,25	951	860	871 ⁽⁷⁰⁾	0,6394
21	álcool ^a		651	3,19	895	872	n.e.	1,7314

	Composto	CAS	t _R ¹	t _R ²	Similaridade	LTPRI _{calc.}	LTPRI _{lit}	% Área
22	2-heptanol	6033-23-4	714	3,14	873	905	900 ⁽⁵⁹⁾	0,0748
23	álcool ^a		770	2,73	890	928	n.e.	0,0329
24	1-heptanol	111-70-6	882	3,5	903	973	969 ⁽⁷⁰⁾	0,0390
25	1-octen-3-ol	3391-86-4	903	3,5	876	982	981 ⁽⁷⁰⁾	0,0732
26	álcool ^a		938	3,67	902	996	n.e.	0,0182
27	2-etilhexanol	104-76-7	1029	3,62	883	1031	1033 ⁽⁷⁰⁾	0,1268
28	2-nonanol	628-99-9	1225	3,68	813	1104	1100 ⁽⁷²⁾	0,3729
29	feniletanol	60-12-8	1260	6,02	948	1117	1106 ⁽⁵⁹⁾	2,4420
30	1-nonanol	143-08-8	1421	3,91	811	1174	1169 ⁽⁵⁹⁾	0,0066
31	álcool ^a		1477	4,76	907	1194	1197 ⁽⁷⁰⁾	0,7163
32	álcool ^a		1519	4,17	775	1209	n.e.	0,0040
33	diol ^a		1876	5,89	853	1345	n.e.	0,0095
34	diol ^a		2065	4,22	801	1419	n.e.	0,0051
35	álcool ^a		2275	4	833	1505	n.e.	0,0079
36	álcool ^a		2289	4,26	855	1511	n.e.	0,0104
37	álcool ^a		2345	4,11	885	1535	n.e.	0,0143
ALDEÍDOS								
38	benzaldeído	100-52-7	861	5,19	903	965	958 ⁽⁷²⁾	0,0284
39	fenilacetaldéido	122-78-1	1071	5,83	833	1047	1043 ⁽⁷⁰⁾	0,0114
40	decanal	112-31-2	1512	4,09	912	1207	1209 ⁽⁷⁰⁾	0,0169
41	undecanal	112-44-7	1785	4,15	884	1310	1310 ⁽⁷⁰⁾	0,0028
42	aldeído ^a	123-05-7	2163	4,05	801	1459	n.e.	0,0134
43	aldeído ^a	110-41-8	2191	4,06	876	1471	n.e.	0,0601
44	aldeído ^a	60609-53-2	2436	4,33	795	1575	n.e.	0,0104

	Composto	CAS	t _R ¹	t _R ²	Similaridade	LTPRI _{calc.}	LTPRI _{lit}	% Área
45	aldeído ^a	55019-46-0	2653	4,19	761	1673	n.e.	0,0087
CETONAS								
46	cetona ^a		413	2,43	873	741	n.e.	0,1281
47	cetona ^a		434	2,79	957	753	n.e.	0,4696
48	2-heptanona	110-43-0	693	3,39	894	895	888 ⁽⁷⁰⁾	0,0550
49	3-octanona	106-68-3	917	3,71	899	988	984 ⁽⁷⁰⁾	0,0106
50	6-metil 5-hepten-2-ona	110-93-0	917	4,03	881	988	984 ⁽⁷⁰⁾	0,0209
51	acetofenona	98-86-2	1134	5,87	828	1070	1058 ⁽⁷²⁾	0,0094
52	2-nonanona	821-55-6	1197	4	905	1094	1094 ⁽⁷²⁾	0,3540
53	cetona ^a		1428	3,74	759	1177	n.e.	0,1006
54	cetona ^a		1687	4,04	923	1269	n.e.	0,0522
55	cetona ^a		1715	4,6	793	1279	n.e.	0,0565
56	2-undecanona	112-12-9	1750	4,15	906	1292	1298 ⁽⁷⁰⁾	0,1404
57	cetona ^a		2163	4,53	758	1459	n.e.	0,0096
58	2,6-bis(1,1-dimetileti) 2,5-ciclohexadiene-1,4-diona ^a	719-22-2	2191	4,91	832	1471	1462 ⁽⁷²⁾	0,0028
59	2-tetradecanona ^a	2345-27-9	2492	4,3	796	1599	1597 ⁽⁷²⁾	0,0361
ÉSTERES								
60	acetato de etila	141-78-6	371	2,19	897	718	n.e.	2,4088
61	éster ^a	105-37-3	434	2,44	885	753	n.e.	0,6681
62	2-metil propionato de etila	97-62-1	483	2,54	862	780	761 ⁽⁷²⁾	0,2857
63	éster ^a	110-19-0	497	2,66	935	787	n.e.	1,3482
64	butanoato de etila	105-54-4	532	2,82	938	807	799 ⁽⁷²⁾	1,7001
65	3-metil butanoato de etila	108-64-5	623	2,94	891	857	851 ⁽⁷²⁾	0,0380
66	acetato de 2-metilbutil	624-41-9	665	3,2	857	880	885 ⁽⁷⁰⁾	0,4937

	Composto	CAS	t _R ¹	t _R ²	Similaridade	LTPRI _{calc.}	LTPRI _{lit}	% Área
67	acetato de isoamila	123-92-2	665	3,17	906	880	880 ⁽⁷⁰⁾	3,6306
68	pentanoato de etila	539-82-2	714	3,24	847	905	901 ⁽⁷⁰⁾	0,0104
69	acetato de n-amila	628-63-7	742	3,31	892	916	926 ⁽⁷⁰⁾	0,0180
70	hexanoato de metila	106-70-7	770	3,39	883	928	934 ⁽⁷⁰⁾	0,0636
71	2-metil butanoato de propila	539-90-2	840	3,32	877	956	955 ⁽⁷²⁾	0,0218
72	3-metil propanoato de butila	105-68-0	875	3,42	836	971	969 ⁽⁷²⁾	0,0495
73	acetato de 2-etilbutila	10031-87-5	882	3,47	844	973	986 ⁽⁷²⁾	0,0237
74	hexanoato de etila	123-66-0	952	3,64	893	1002	1003 ⁽⁷⁰⁾	3,3357
75	acetato de hexenol	3681-71-8	966	3,86	956	1007	1002 ⁽⁷²⁾	4,0844
76	acetato de hexila	142-92-7	994	3,64	892	1018	1009 ⁽⁷²⁾	12,9009
77	éster ^a		1008	3,92	827	1023	n.e.	0,0154
78	3-metil pentanoato de etila ^a	5870-68-8	1008	3,4	834	1023	1004 ⁽⁷⁰⁾	0,0703
79	acetato de 1-metilhexila	5921-82-4	1064	3,48	863	1044	1047 ⁽⁷²⁾	0,0522
80	2-hexenoato de etila	1552-67-6	1071	4,07	917	1047	1046 ⁽⁷⁰⁾	0,0579
81	éster ^a		1099	3,63	936	1057	n.e.	0,0693
82	furoato de etila	614-99-3	1099	5,33	829	1057	1047 ⁽⁷²⁾	0,0275
83	2-hidroxi-4-metil pentanoato de etila	10348-47-7	1106	3,95	794	1060	1078 ⁽⁷²⁾	0,0237
84	hexanoato de propila	626-77-7	1204	3,78	913	1097	1091 ⁽⁷⁰⁾	0,0161
85	sorbato de etila	2396-84-1	1218	4,61	832	1102	1089 ⁽⁷⁰⁾	0,0042
86	heptanoato de etila	106-30-9	1218	3,78	750	1102	1083 ⁽⁷²⁾	0,0307
87	3-metil-tiopropanoato de etila	13327-56-5	1225	5,12	807	1104	1098 ⁽⁷²⁾	0,0078
88	propanoato de hexila	2445-76-3	1239	3,77	875	1109	1108 ⁽⁷²⁾	0,0513
89	éster ^a		1253	3,57	809	1114	n.e.	0,0133
90	acetato de n-heptila	112-06-1	1253	3,81	886	1114	1110 ⁽⁷²⁾	0,0896

	Composto	CAS	t _R ¹	t _R ²	Similaridade	LTPRI _{calc.}	LTPRI _{lit}	% Área
91	éster ^a		1288	3,6	814	1127	n.e.	0,0667
92	octanoato de metila	111-11-5	1288	3,88	914	1127	1125 ⁽⁷⁰⁾	0,2478
93	acetato de 2-octila	2051-50-5	1330	3,62	754	1142	1147 ⁽⁷⁰⁾	0,0039
94	acetato de 2-etilhexila	103-09-3	1358	3,74	842	1152	1144 ⁽⁷⁰⁾	0,0436
95	benzoato de etila	93-89-0	1421	5,43	838	1174	1170 ⁽⁷⁰⁾	0,0163
96	succinato de etila	123-25-1	1449	5,04	959	1184	1179 ⁽⁷⁰⁾	0,4753
97	butirato de cis-3-hexenila	16491-36-4	1456	4,09	941	1187	1184 ⁽⁷⁰⁾	0,9402
98	butanoato de hexila	2639-63-6	1477	3,85	906	1194	1190 ⁽⁷⁰⁾	0,1386
99	octanoato de etila	106-32-1	1484	3,92	883	1197	1197 ⁽⁷⁰⁾	2,0123
100	metil salicilato	119-36-8	1484	5,72	844	1197	1188 ⁽¹⁹⁾	0,0116
101	acetato de octila ^a	112-14-1	1526	3,93	904	1212	1214 ⁽⁷⁰⁾	1,0112
102	éster ^b		1568	3,75	803	1227	n.e.	0,0254
103	acetato de feniletila ^a	101-97-3	1617	5,87	941	1244	1260 ⁽⁷²⁾	0,4400
104	hexanoato de isopentila ^a	2198-61-0	1631	3,87	902	1249	1254 ⁽¹⁹⁾	0,0467
105	acetato de 2-feniletila ^a	103-45-7	1652	5,84	939	1257	1260 ⁽¹⁹⁾	3,6726
106	éster ^b		1659	4,51	893	1259	n.e.	0,0619
107	éster ^b		1722	4,16	762	1282	n.e.	0,0085
108	octanoato de propila ^a	624-13-5	1743	3,94	886	1289	1277 ⁽⁷⁰⁾	0,1186
109	nonanoato de etila ^a	123-29-5	1757	3,95	909	1294	1294 ⁽¹⁹⁾	1,7097
110	decanoato de metila ^a	110-42-9	1827	4,03	882	1326	1328 ⁽⁷⁰⁾	0,1462
111	éster ^a	0-00-0	1834	4,88	849	1329	n.e.	0,0097
112	octanoato de isobutila	1300784	1890	3,85	846	1351	1334 ⁽⁷⁰⁾	0,0094
113	hexanoato de 3-hexenila	31501-11-8	1967	4,19	903	1380	1379 ⁽⁷²⁾	0,0849
114	decenoate de etila	67233-91-4	1988	4,25	825	1388	1389 ⁽⁷⁰⁾	0,2016

	Composto	CAS	t _R ¹	t _R ²	Similaridade	LTPRI _{calc.}	LTPRI _{lit}	% Área
115	decanoato de etila	110-38-3	2016	4,19	908	1399	1398 ⁽¹⁹⁾	3,9894
116	butanoato de etilfenila	103-52-6	2128	5,73	916	1445	1439 ⁽⁷⁰⁾	0,1214
117	octanoato de 3-metilbutila	2035-99-6	2135	3,98	886	1448	1450 ⁽⁷⁰⁾	0,0665
118	decanoato de propila	30673-60-0	2240	4,05	836	1491	1493 ⁽⁷⁰⁾	0,0154
119	undecanoato de etila	627-90-7	2254	4,04	798	1496	1477 ⁽⁷⁰⁾	0,0038
120	decanoato de 2-metilpropila	30673-38-2	2373	3,96	795	1548	1545 ⁽⁷⁰⁾	0,0041
121	éster ^a		2457	4,23	798	1584	n.e.	0,0579
122	dodecanoato de etila	106-33-2	2485	4,1	893	1596	1597 ⁽⁷⁰⁾	0,3529
123	éster ^a		2492	4,45	915	1599		0,8628
124	decanoato de 1-metilfenil	10233-13-3	2555	3,96	899	1628	1624 ⁽¹⁹⁾	0,0351
125	hexanoato de 2-feniletila	6290-37-5	2597	5,75	878	1647	1650 ⁽¹⁹⁾	0,0313
126	pentadecanoato de 3-metilbutila	2306-91-4	2597	4,07	848	1647	1644 ⁽⁷⁰⁾	0,0191
127	benzoato de 2-etilhexila	5444-75-7	2744	5,36	805	1716	1735 ⁽⁷²⁾	0,0046
128	tetradecanoato de etila	124-06-1	2912	4,22	879	1796	1790 ⁽⁷²⁾	0,0712
129	tetradecanoato de 1-metiletila	110-27-0	2975	4,08	814	1828	1827 ⁽⁷⁰⁾	0,0058
130	hexadecanoato de metila	112-39-0	3171	4,39	845	1929	1929 ⁽⁷²⁾	0,0160
131	hexadecanoato de etila	628-97-7	3304	4,34	849	1999	1997 ⁽⁷²⁾	0,1056
ÉTERES								
132	éter ^a		609	3,33	877	849	n.e.	0,0989
133	éter ^a		665	1,87	966	880	n.e.	0,2634
134	éter ^a		700	3,7	777	899	n.e.	0,0237
135	éter ^a		728	2,92	816	911	n.e.	0,7180
136	1,3-dimetoxibenzeno	151-10-0	1407	6,01	863	1169	1158 ⁽⁷⁰⁾	0,0046
137	2-(2-butoxietoxi)etanol	112-34-5	1477	4,89	806	1194	1196 ⁽⁷⁰⁾	1,1017

	Composto	CAS	t _R ¹	t _R ²	Similaridade	LTPRI _{calc.}	LTPRI _{lit}	% Área
138	éter ^a	0-00-0	1729	3,99	839	1284	n.e.	0,4105
139	éter ^a	17269-94-2	1953	5,43	776	1375	n.e.	0,0096
140	éter ^a	629-82-3	2639	3,71	917	1667	n.e.	0,0048
FENÓIS								
141	fenol	108-95-2	924	4,59	775	991	982 ⁽⁷²⁾	0,0087
142	butilhidroxitolueno (BHT)	128-37-0	2296	4,97	800	1514	1513 ⁽⁷⁰⁾	0,0172
143	2,4-bis(1,1-dimetiletil)fenol	1138-52-9	2296	5,04	892	1514	1519 ⁽⁷⁰⁾	0,1182
HIDROCARBONETOS								
144	hidrocarboneto ^a		462	2,49	767	768	n.e.	0,0042
145	hidrocarboneto ^a		490	2,79	862	784	n.e.	0,0249
146	etilbenzeno	100-41-4	637	3,3	806	864	856 ⁽⁷²⁾	0,0141
147	hidrocarboneto ^a		693	3,76	949	895	n.e.	0,0692
148	hidrocarboneto ^a	2492-22-0	917	3,05	870	988	977 ⁽⁷²⁾	0,0181
149	hidrocarboneto ^a	2792-39-4	952	3,15	888	1002	n.e.	0,0267
150	hidrocarboneto ^a	3382-59-0	1001	3,66	863	1020	n.e.	0,0116
151	hidrocarboneto ^a	50876-32-9	1085	4,01	750	1052	n.e.	0,0174
152	hidrocarboneto ^a		1099	3,55	802	1057	n.e.	0,0078
153	hidrocarboneto ^a		1099	2,74	803	1057	n.e.	0,0069
154	1-etenil-4-etil benzeno	3454-07-70	1176	4,52	866	1086	1072 ⁽⁷²⁾	0,0077
155	1-metil-4-(1-metiletenil) benzeno	1195-32-0	1190	4,51	929	1091	1097 ⁽⁷²⁾	0,0247
156	hidrocarboneto ^a		1197	3,69	773	1094	n.e.	0,0042
157	hidrocarboneto ^a		1309	3,84	783	1134	n.e.	0,0189
158	hidrocarboneto ^a		1337	3,93	868	1144	n.e.	0,0173
159	hidrocarboneto ^a		1344	3,86	815	1147	n.e.	0,0135

	Composto	CAS	t _R ¹	t _R ²	Similaridade	LTPRI _{calc.}	LTPRI _{lit}	% Área
160	hidrocarboneto ^a		1365	4,77	811	1154	n.e.	0,0058
161	hidrocarboneto ^a		1435	3,14	782	1179	n.e.	0,0391
162	hidrocarboneto ^a		1470	4,35	773	1192	n.e.	0,0162
163	hidrocarboneto ^a		1498	3,01	904	1202	n.e.	0,0478
164	hidrocarboneto ^a		1582	4,63	827	1232	n.e.	0,0040
165	hidrocarboneto ^a		1603	4,32	875	1239	n.e.	0,0239
166	tridecano	629-50-5	1757	3,12	908	1294	1300 ⁽⁷²⁾	0,2143
167	hidrocarboneto ^a		1834	3	886	1329	n.e.	0,0342
168	hidrocarboneto ^a		1876	3,03	774	1345	n.e.	0,0112
169	tetradecano	629-59-4	2009	3,21	943	1397	1400 ⁽⁷²⁾	0,2328
170	2,6-dimetilnaftaleno	581-42-0	2128	6,85	920	1445	1443 ⁽⁷²⁾	0,0183
171	3-metil tridecano	6418-41-3	2177	3,18	760	1465	1372 ⁽⁷²⁾	0,0038
172	hidrocarboneto ^a		2212	4,11	882	1479	n.e.	0,0048
173	hidrocarboneto ^a		2254	3,05	858	1496	n.e.	0,0114
174	hidrocarboneto ^a		2457	3,12	776	1584	n.e.	0,0025
175	hidrocarboneto ^a		2478	3,45	890	1593	n.e.	0,0046
176	hexadecano	544-76-3	2492	3,33	930	1599	1600 ⁽⁷²⁾	0,1262
177	hidrocarboneto ^a		2667	4,28	823	1680	n.e.	0,0163
178	heptadecano	593-49-7	2716	3,39	907	1702	1700 ⁽⁷²⁾	0,0409
179	hidrocarboneto ^a		2737	3,16	844	1712	n.e.	0,0161
180	(1-pentilheptil) benzeno ^a	2719-62-2	2779	4,28	795	1732	1719 ⁽⁷²⁾	0,0040
181	nonadecano ^a	629-92-5	3122	3,54	894	1903	1900 ⁽⁷²⁾	0,0188
182	2-metil nonadecano	1560-86-7	3248	3,35	813	1969	1966 ⁽⁷²⁾	0,0068
183	hidrocarboneto ^a		3367	6,13	851	2034	n.e.	0,4318

	Composto	CAS	t _R ¹	t _R ²	Similaridade	LTPRI _{calc.}	LTPRI _{lit}	% Área
LACTONAS								
184	butirolactona	96-48-0	763	6,38	942	925	918 ⁽⁷⁰⁾	0,0752
185	nonalactona	104-61-0	1932	6,45	831	1367	1372 ⁽⁷⁰⁾	0,0361
186	γ-decalactona	706-14-9	2198	6,33	825	1473	1463 ⁽⁷²⁾	0,0094
SULFURADOS								
187	composto sulfurado ^a		322	2,64	855	691	n.e.	0,0353
188	composto sulfurado ^a		350	1,83	804	707	n.e.	0,0694
189	2-(metiltio)ethanol	5271-38-5	609	3,93	785	849	838 ⁽⁷⁰⁾	0,0075
190	dihidro-2-metil-3-tiofenona	13679-85-1	924	5,76	897	991	1011 ⁽⁷⁰⁾	0,0560
TERPENOS								
191	α-mirceno	1686-30-2	896	3,2	854	979	981 ⁽⁷⁰⁾	0,0039
192	β-mirceno	123-35-3	924	3,29	886	991	990 ⁽⁵⁹⁾	0,3710
193	α-felandreno	99-83-2	959	3,51	869	1005	1002 ⁽⁵⁹⁾	0,0466
194	1,3,8- <i>p</i> -mentatrieno	21195-59-5	966	3,64	788	1007	1111 ⁽⁷⁰⁾	0,0316
195	δ-terpineno	99-85-4	994	3,53	830	1018	1014 ⁽⁷⁰⁾	0,0583
196	β-cimeno	535-77-3	1022	3,89	826	1028	1026 ⁽⁷⁰⁾	0,0068
197	limoneno	5989-54-8	1029	3,57	939	1031	1029 ⁽⁵⁹⁾	0,4357
198	eucaliptol	470-82-6	1036	3,82	872	1033	1029 ⁽⁷⁰⁾	0,0084
199	<i>cis</i> -ocimeno	3779-61-1	1050	3,53	932	1039	1050 ⁽⁵⁹⁾	0,1367
200	<i>trans</i> -ocimeno	3338-55-4	1078	3,55	914	1049	1047 ⁽⁵⁹⁾	0,2454
201	<i>cis</i> -óxido de linalol	34995-77-2	1148	3,97	896	1076	1073 ⁽⁵⁹⁾	0,2063
202	hotrienol	29957-43-5	1183	4,14	853	1089	1101 ⁽⁷⁰⁾	0,0230
203	terpinoleno	586-62-9	1190	3,9	919	1091	1089 ⁽⁷⁰⁾	0,1102
204	linalol	78-70-6	1218	3,96	910	1102	1097 ⁽⁷⁰⁾	3,0415

	Composto	CAS	t _R ¹	t _R ²	Similaridade	LTPRI _{calc.}	LTPRI _{lit}	% Área
205	óxido de rosa	16409-43-1	1253	4,01	900	1114	1112 ⁽⁷⁰⁾	0,0848
206	mircenol	543-39-5	1281	4,14	751	1124	1119 ⁽⁵⁹⁾	0,0064
207	<i>allo</i> -ocimeno	7216-56-0	1302	3,83	873	1132	1130 ⁽⁷⁰⁾	0,0295
208	2,6-dimetil 1,3,5,7-octatetraeno	460-01-5	1302	4,11	927	1132	1134 ⁽⁷⁰⁾	0,0908
209	canfora	21368-68-3	1351	5,23	896	1149	1147 ⁽⁷²⁾	0,0048
210	α-terpineol	5986-38-9	1365	4,27	813	1154	1150 ⁽⁷⁰⁾	0,0046
211	óxido de nerol	1786-08-9	1372	4,4	920	1157	1158 ⁽⁵⁹⁾	0,6415
212	epoxilinalol	14049-11-7	1414	4,78	863	1172	1163 ⁽⁷⁰⁾	0,0627
213	1-mentol	23283-97-8	1428	4,3	786	1177	1188 ⁽⁷⁰⁾	0,0056
214	4-terpineol	20126-76-5	1435	4,6	800	1179	1177 ⁽⁷⁰⁾	0,0606
215	p-menth-1-en-9-al	29548-14-9	1547	5,14	839	1219	1232 ⁽⁷⁰⁾	0,0165
216	citronelol	1117-61-9	1575	4,24	938	1229	1226 ⁽⁵⁹⁾	2,1206
217	nerol	106-25-2	1575	4,49	889	1229	1229 ⁽⁵⁹⁾	0,1091
218	3,7-dimetil-1,5-octadien-3,7-diol	13741-21-4	1632	4,07	756	1244	1237	0,0077
219	geraniol	106-24-1	1645	4,55	899	1254	1253 ⁽⁵⁹⁾	0,1557
220	geranial	5392-40-5	1694	4,98	831	1272	1277 ⁽⁷⁰⁾	0,0201
221	terpeno ^a		1715	3,94	774	1279	n.e.	0,0050
222	terpeno ^a		1743	4,64	849	1289	n.e.	0,0077
223	acetato de citronelila	150-84-5	1904	4,18	888	1356	1354	0,2450
224	acetato de nerila	141-12-8	1932	4,51	888	1366	1362 ⁽⁷⁰⁾	0,0768
225	acetato de geranila	16409-44-2	1981	4,61	905	1386	1379 ⁽⁷⁰⁾	0,0534
226	β-damascenona	23726-93-4	1988	5,36	886	1388	1385 ⁽⁵⁹⁾	0,3931
227	1,2-dihidro-1,1,6-trimeilnaftaleno(TDN)	30364-38-6	1904	5,42	886	1356	1354 ⁽⁷⁰⁾	0,0504
228	geranil acetona	3796-70-1	2156	4,76	874	1456	1452 ⁽⁷²⁾	0,0143

	Composto	CAS	t _R ¹	t _R ²	Similaridade	LTPRI _{calc.}	LTPRI _{lit}	% Área
229	β-farneseno	18794-84-8	2163	4,01	893	1459	1457 ⁽⁷²⁾	0,0141
230	cis-bisaboleno	6753-98-6	2366	4,44	781	1545	1533 ⁽⁷²⁾	0,0030
231	α-calacoreno	n.e.	2373	5,51	758	1548	1548 ⁽⁷⁰⁾	0,0029
232	nerolidol	40716-66-3	2415	4,51	905	1566	1564 ⁽⁷²⁾	0,0182
não-identificados								
233	ni		343	2,27	788	703	n.e.	0,0439
234	ni		560	3,06	945	822	n.e.	2,2591
235	ni		602	2,86	816	845	n.e.	0,1084
236	ni		917	5,6	843	988	n.e.	0,0087
237	ni		1421	3,47	796	1174	n.e.	0,3111
238	ni		1449	4,04	884	1184	n.e.	0,1993
239	ni		1687	5,51	858	1269	n.e.	0,0523
240	ni		1764	4,62	840	1302	n.e.	0,0467
241	ni		1792	1,04	789	1313	n.e.	0,0056
242	ni		1904	4,66	862	1356	n.e.	0,1186
243	ni		1904	5,78	939	1356	n.e.	0,5099
244	ni		1953	4,66	821	1375	n.e.	0,0063
245	ni		2009	4,22	761	1397	n.e.	0,0638
246	ni		3353	0,68	821	2026	n.e.	0,0243

n. e. - valor não encontrado na literatura científica;

^a grupamento químico identificado pela comparação do espectro de massas dos compostos do headspace do vinho com os espectros de massas da literatura

ni: não identificado

Demais compostos foram tentativamente identificados pela comparação de espectros de massas e LTPRI com dados da literatura científica.

Observa-se que os compostos presentes em percentual de área cromatográfica maior do que 1 %, na maior parte dos espumantes estudados por 1D-GC/qMS (**Tabela III**), também foram tentativamente identificados por GC×GC/TOFMS (**Tabela IV**) e, a maior parte deles apresentou um percentual de área relativo significativo em relação aos demais compostos encontrados no headspace. Alguns exemplos disto são os monoterpenos linalol, hotrienol, os ésteres acetato de isoamila, hexanoato, octanoato e decanoato de etila, acetato de feniletila, os álcoois hexanol e feniletanol.

Os compostos terpênicos, conforme já comentado no item 2.3, são de grande importância no que diz respeito à fragrância floral destes vinhos. Dos terpenos tentativamente identificados no espumante Moscatel por cromatografia mono e bi-dimensional, o linalol se apresentou como um dos majoritários, sendo que o citronelol também apresentou um percentual de área cromatográfica maior do que 1% na análise por GC×GC/TOFMS. O aroma característico do álcool monoterpênico linalol é o de rosas. Além do seu aroma agradável, este composto se destaca pelo seu baixo limiar de percepção nos vinhos (em torno de $50 \mu\text{g L}^{-1}$). O álcool monoterpênico citronelol apresenta um aroma cítrico, que lembra o aroma de limão verde e se destaca também por seu baixo limiar de percepção nos vinhos ($18 \mu\text{g L}^{-1}$)⁽⁶¹⁾. Juntamente com os álcoois monoterpênicos geraniol e α -terpineol (estes em menor % de área cromatográfica nas amostras), o linalol e o citronelol são reconhecidamente compostos que caracterizam o aroma dos vinhos da casta Moscatel e tem como principal origem o contato prolongado das cascas da uva com o mosto⁽²⁶⁾.

A caracterização do perfil terpênico do *headspace* do vinho espumante Moscatel por GC×GC/TOFMS pode ser vista em maior detalhe na **Tabela V**, onde se verifica também a presença dos álcoois monoterpênicos nerol, mircenol e 1-mentol (estes não foram detectados nas análises de GC/MS), considerados importantes, em termos de aroma dos vinhos, de reconhecido aroma frutado⁽²⁴⁾. Além dos álcoois monoterpênicos (12), foram encontrados diversos grupos terpênicos nas análises de GC×GC/TOFMS do espumante Moscatel, entre eles hidrocarbonetos (12), óxidos (3), aldeídos (2), ésteres monoterpênicos (3), cetonas (2), nor-isoprenoides (2); sesquiterpenos (4) e ainda dois (2) compostos terpênicos, para os quais não foi possível uma identificação tentativa com base nos espectros de massas e/ou índices de retenção

Tabela V – Divisão das classes dos compostos terpênicos tentativamente identificados no espumante Moscatel

Hidrocarbonetos monoterpênicos			
1	α -mirceno	7	limoneno
2	β -mirceno	8	<i>trans</i> -ocimeno
3	α -felandreno	9	<i>cis</i> -ocimeno
4	1,3,8- <i>p</i> -mentatrieno	10	terpinoleno
5	δ -terpineno	11	allo-ocimeno
6	β -cimeno	12	2,6-dimetil 1,3,5,7-octatetraeno (<i>E,E</i> -cosmeno)
Óxidos monoterpênicos			
13	óxido de linalol	15	óxido de nerol
14	óxido de rosa		
Álcool monoterpênico			
16	hotrienol	22	1-mentol
17	linalol	23	4-terpineol
18	mircenol	24	citronelol
19	α -terpineol	25	geraniol
20	epóxi-linalol	26	nerol
21	3,7-dimetil-1,5-octadien-3,7-diol	27	eucaliptol
Áldeido monoterpênico			
27	1- <i>p</i> -mentenal-9	28	geranial
Ésteres monoterpênico			
29	acetato de nerila	30	acetato de geraniol
31	acetato de citronelila		
Cetonas monoterpênicas			
32	geranil acetona		33 canfora
Nor-isoprenoides			
34	β -damascenona	35	1,2-dihidro-1,1,6-trimetil-naftaleno (TDN)
Sesquiterpenos			
36	β -farneseno	38	α -calacoreno
37	bisaboleno	39	nerolidol
não identificados			
40	terpeno	41	terpeno

Os índices de retenção dos álcoois monoterpênicos citronelol e nerol são muito semelhantes (LTPRI do citronelol: 1226, LTPRI do nerol: 1229), o que indica a co-eluição dos mesmos na primeira dimensão cromatográfica (1D), a qual pode ser vista na Figura 21 ($^1t_R=1575$ s). Na mesma figura, se pode observar que estes compostos apresentam pequena

diferença no 2t_R (4,49 s para o nerol e 4,24 s para o citronelol), o que pode implicar em influência do espectro de massas de um dos compostos no outro. Além disso, a semelhança entre os espectros de massas destes álcoois monoterpênicos é considerável. A ferramenta de deconvolução espectral se mostra especialmente vantajosa neste caso, pois através das pequenas diferenças de 2t_R e de espectros de massas é possível identificar ambos os compostos, obtendo-se espectros de massas de qualidade apropriada. No caso específico do vinho espumante Moscatel, esta separação se reveste de especial importância, pois o nerol é um álcool monoterpênico de aroma floral, encontrado em diversos vinhos^{(17) (32) (33) (73)} e contribui de forma relevante para o aroma das castas Moscatel⁽³¹⁾.

Várias outras co-eluições foram observadas na 1D e a **Figura 22** exemplifica algumas das separações cromatográficas obtidas na 2D pela apresentação de alguns outros casos de co-eluição, o que mostra de forma clara a maior seletividade e capacidade de pico da técnica GC×GC/TOFMS para esta amostra específica. Aqui também a deconvolução espectral auxilia na obtenção de espectros de massas de melhor qualidade e, portanto na identificação tentativa dos compostos do *headspace* do vinho espumante Moscatel. Os álcoois monoterpênicos linalol (204, $^1t_R = 1218$ s, $^2t_R = 3,96$ s, LTPRI calculado 1102) e hotrienol (202, $^1t_R = 1183$ s, $^2t_R = 4,14$ s, LTPRI calculado 1089) indicam uma separação cromatográfica que não é de linha de base na 1D-GC/qMS (**Tabela III**, LTPRI calculado do linalol é 1106 (literatura:1097) e do hotrienol é 1109 (literatura:1101)), a qual pode ser melhorada na 2D , bem como pela deconvolução espectral. Separação ainda melhor se verifica para o monoterpreno oxigenado óxido de rosa (205, $^2t_R = 4,01$ s), o acetato de *n*-heptila (99, $^2t_R = 3,81$ s) e um outro éster (98, $^2t_R = 3,57$ s) na 2D , os quais apresentam o mesmo tempo de retenção na 1D ($^1t_R = 1253$ s). Neste caso, o LTPRI obtido experimentalmente para todos os três compostos é 1114, enquanto a literatura aponta 1112 para óxido de rosa e 1110 para o acetato de *n*-heptila. Os índices de retenção obtidos experimentalmente na 1D-GC/MS são semelhantes (1113 para o óxido de rosa e 1115 para o acetato de *n*-heptila).

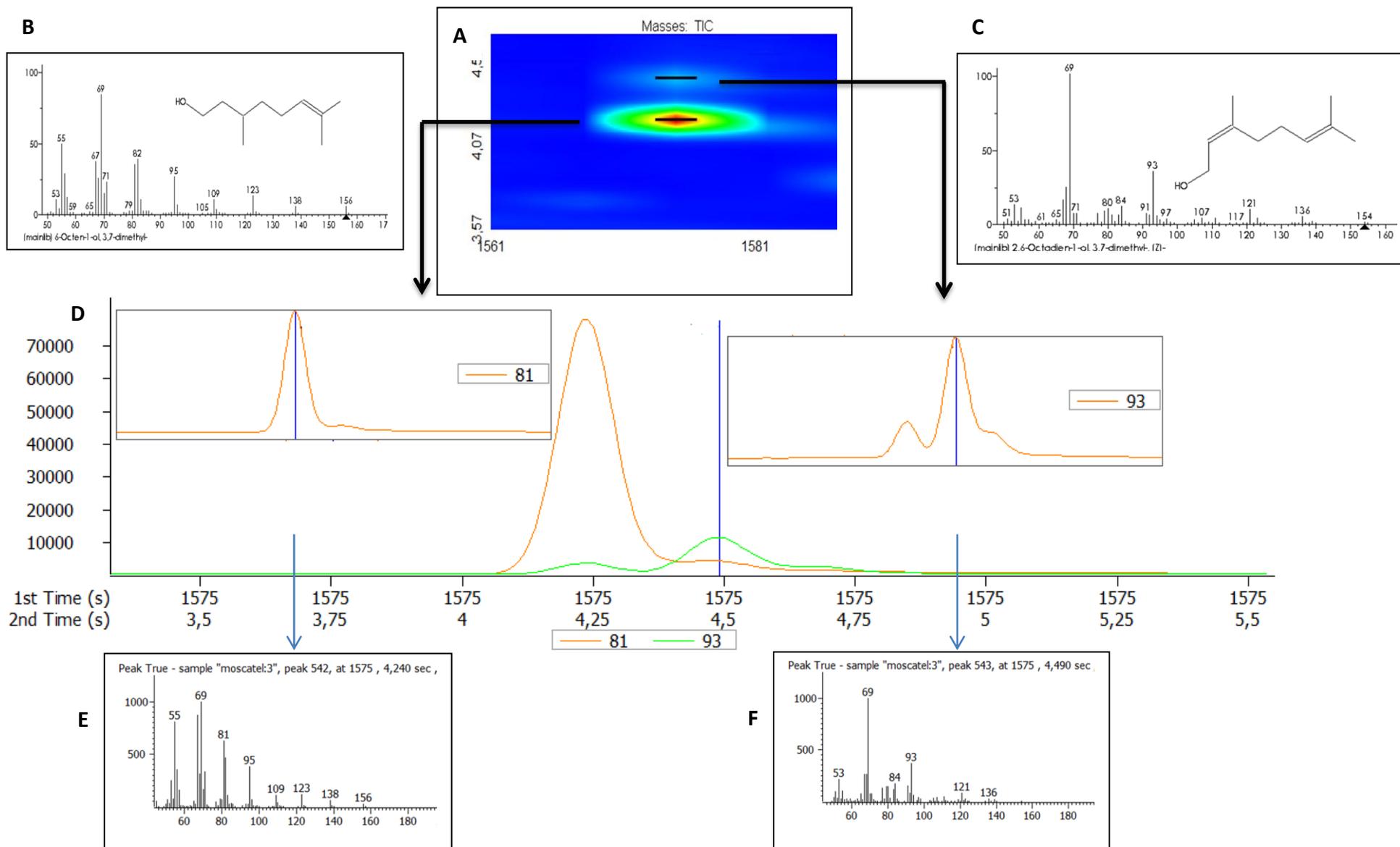


Figura 21 - Separação de citronelol e nerol na 2t_R ($^1t_R = 1575$ s para ambos os compostos, 2t_R 4,24 s para o citronelol e 4,49 s para o nerol) no *headspace* de amostras de espumante Moscatel e demonstração de deconvolução espectral. A) coeluição dos álcoois monoterpênicos B) espectro de massas do citronelol de banco de dados de espectros de massas NIST 107C) espectro de massas do nerol de banco de dados de espectros de massas Nist 107. D) cromatograma obtido a partir da deconvolução espectral. E) espectro de massas encontrado para o citronelol do espumante Moscatel. F) espectro de massas encontrado para o nerol do espumante Moscatel.

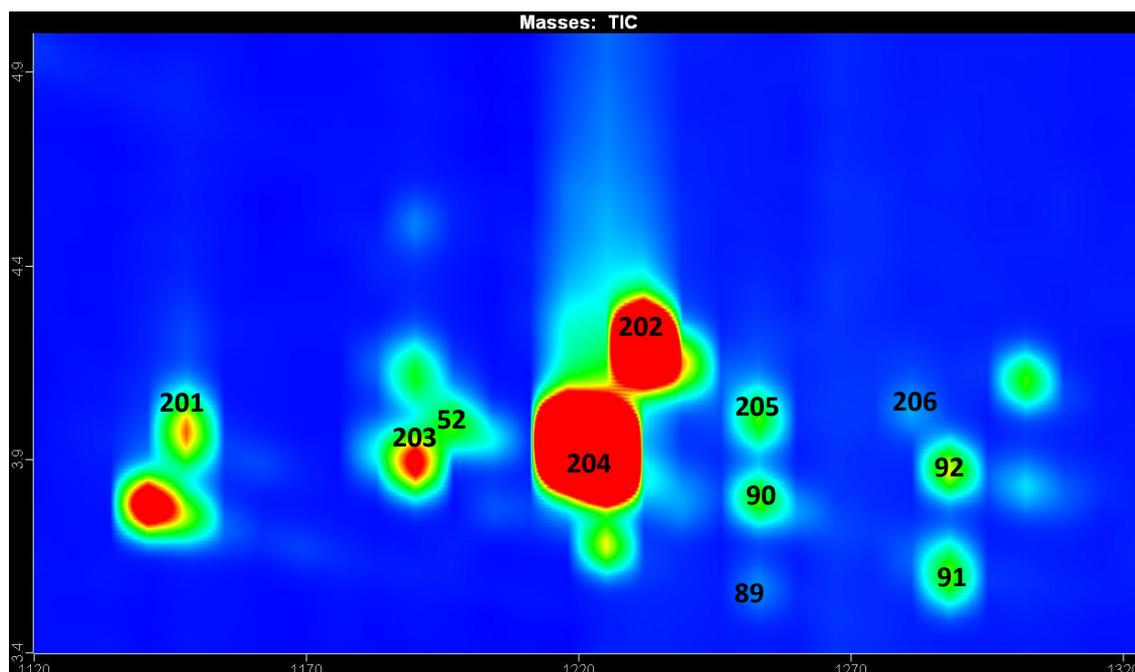


Figura 22 - Separação de alguns compostos tentativamente identificados (numeração de acordo com a Tabela IV) de uma determinada região do diagrama de cores, resultante da análise do *headspace* de espumante Moscatel por HS-GC×GC/TOFMS. (Apenas os compostos tentativamente identificados foram enumerados: 201- *cis*-óxido de linalol, 52- 2-nonanona, 203- terpinoleno, 202- hotrienol, 204- linalol, 205- óxido de rosa, 89- éster, 90- acetato de *n*-heptila, 206- mircenol, 91- éster, 101- octanoato de metila

Caso semelhante se apresenta para outros dois ésteres (91 e 92: éster não identificados e octanoato de metila $^1t_R = 1288$ s, $^2t_R = 3,60$ s e $3,88$ s, respectivamente) e um álcool monoterpênico – o mircenol (206, $^1t_R = 1281$ s, $^2t_R = 4,14$ s). Os LTPRI experimentalmente calculados por GC×GC/TOFMS para mircenol, octanoato de metila e o outro éster são 1124, 1127 e 1127, respectivamente; sendo os LTPRI da literatura ⁽⁵⁹⁾ 1119 para mircenol e 1127 para o octanoato de metila. O mircenol não foi detectado e tentativamente identificado em 1D-GC/qMS nas condições empregadas neste trabalho.

Além dos álcoois monoterpênicos já citados, há que se destacar a presença de compostos sesquiterpênicos (β -farneseno, *cis*-bisaboleno, α -calacoreno e nerolidol), estes pouco citados na literatura científica, tanto nas análises realizadas por GC/qMS ⁽⁴⁷⁾ ⁽⁷²⁾, quanto nas análises por GC×GC/TOFMS ⁽¹⁹⁾.

Os compostos norisoprenoides encontrados possuem participação reconhecida na composição do aroma dos vinhos em geral ⁽¹⁹⁾ ⁽²¹⁾ ⁽⁴⁷⁾ ⁽⁷³⁾. O norisoprenoide β -damascenona,

tem influência na composição do aroma dos vinhos das mais diversas castas devido ao seu intenso aroma floral/mel e seu baixo limite de percepção (45ngL^{-1})⁽²⁴⁾ ⁽⁶¹⁾. A combinação do aroma β -damascenona com outros compostos, como a β -ionona, é responsável pelo aroma de framboesa nas diversas variedades de uvas tintas⁽⁷²⁾. Outro composto desta mesma classe que foi tentativamente identificado é o norisoprenoide 1,1,6-trimetil-1,2-dihidronaftaleno, TDN, presente em uvas, ou gerado posteriormente nos vinhos, que possui um limiar de percepção em torno de $20\mu\text{gL}^{-1}$ e um aroma de fumaça/querosene, podendo ser desejável em baixas concentrações. A sua produção em uvas parece ser reforçada pela exposição do vinho ao sol, sendo mais evidente em vinhos produzidos em países de clima quente (como por exemplo a África do Sul) e por diferentes espécies de levedura⁽⁷¹⁾.

Quanto aos hidrocarbonetos monoterpênicos, de forma geral, estes não possuem características aromáticas de grande importância para a composição do aroma dos vinhos⁽³¹⁾ e, sendo assim, poucas informações a respeito destes compostos são disponíveis na literatura científica, apesar de sua presença constante no perfil volátil de produtos vitícolas. Nas análises do espumante Moscatel, pode-se destacar uma grande variedade de hidrocarbonetos. Devido à sua baixa solubilidade em água, eles se mantêm geralmente associados com os restos celulares de uva e são perdidos nas prensagens ou durante o processo de clarificação. Assim, estes compostos não influenciam diretamente nas características sensoriais do vinho. Impurezas adicionais de hidrocarbonetos podem vir de rolhas contaminadas por microorganismos, implicando em um aroma indesejável⁽¹⁹⁾.

Informações a respeito da contribuição aromática de cetonas e aldeídos monoterpênicos também não são muito abundantes, como ocorre com os hidrocarbonetos monoterpênicos, entretanto, sabe-se que compostos destas classes apresentam odor mais intenso (“agressivo”) do que os álcoois monoterpênicos⁽³²⁾.

Tanto os ésteres terpênicos, quanto os óxidos terpênicos são pouco estudados no que se refere a sua contribuição para o aroma dos vinhos. Os óxidos terpênicos, encontrados na uva, podem ser originados a partir da oxidação de alguns álcoois monoterpênicos, reação indesejada devido aos limites de percepção dos óxidos terpênicos serem reconhecidamente altos, assim como para os ésteres. De acordo com alguns autores, o geraniol pode ser transformado, pela ação das leveduras, em acetato de geranila e acetato de citronelila, enquanto nerol pode ser transformado em acetato de nerila⁽³⁵⁾. De todos os grupos funcionais presentes na composição volátil dos vinhos, certamente os ésteres são

freqüentemente os mais encontrados. Mais de 160 diferentes tipos de ésteres já foram identificados em vinhos ⁽²⁴⁾. No entanto, apenas alguns ésteres ocorrem acima de seus limiares de percepção, podendo ter uma contribuição mais marcante nos vinhos ⁽³¹⁾.

Dos ésteres de ácidos graxos, destacam-se o hexanoato de etila (maçã verde), octanoato de etila (sabão) e nonanoato de etila (óleo de amêndoas). Entretanto, os ésteres mudam de odor à medida que o comprimento da cadeia de hidrocarbonetos aumenta, indo do aroma frutado para a gordura rançosa, passando pelo aroma de sabão, como o aroma do decanoato de etila. Os ésteres formados a partir do ácido acético e álcoois superiores (álcoois com mais de 2 átomos de carbono em sua molécula ⁽²⁴⁾), como o acetato de isoamila (aroma de banana) e acetato de hexila (aroma de maçã) também contribuem para o aroma frutado, desempenhando um papel importante no aroma de vinhos brancos jovens. Acetato de 2-feniletila é um composto interessante do ponto de vista de aroma, fornecendo notas frutadas que lembram damascos. Conforme a Tabela III, podemos observar a presença destes ésteres em uma quantidade superior aos ésteres de cadeias longas (superior a C10), mostrando a contribuição destes compostos no aroma frutado característico do espumante Moscatel.

O etanol é o álcool mais importante no vinho, tendo em vista que influencia diretamente no aroma e no sabor do vinho. Embora pequenas quantidades sejam produzidas durante maceração das uvas, a fonte primária do etanol no vinho é o processo de fermentação com leveduras. Juntamente com outros álcoois, o etanol lentamente reage com os ácidos orgânicos para produzir ésteres.

Álcool isoamílico (3-metil-1-butanol) é encontrado em diversos vinhos ^{(19) (12) (74)} fornecendo um aroma característicos de vinhos frutados. Nas análises por GC×GC foi possível identificar a sua presença em grande quantidade, dada a sua área cromatográfica. Outro álcool de destacada participação na composição do aroma do espumante Moscatel é o feniletanol, o qual é caracterizado pelo seu intenso aroma florais e amadeirada ⁽⁷¹⁾ e de grande relevância principalmente nos vinhos moscatos ⁽⁷⁵⁾.

Outros álcoois superiores potencialmente significativos no aroma dos vinhos originados a partir da fermentação alcoólica são 2-etil-1-hexanol (27 na Tabela IV) e 1-octen-3-ol (27 na Tabela IV) ⁽⁷²⁾. Álcoois superiores também desempenham um papel indireto no desenvolvimento do bouquet de um vinho envelhecido, através da reação de ácidos orgânicos para a formação de ésteres ⁽²⁴⁾.

Os aldeídos possuem pouca importância na geração de aromas varietais. Estes são resultantes da redução de álcoois durante a fermentação. Destes, os aldeídos C6 (hexanal e hexenal) (não encontrados nas amostras deste estudo), são os mais significativos, podendo estar envolvidos no odor herbáceo associado a certas variedades de uva, como Grenache e Sauvignon Blanc⁽²⁴⁾. O aldeído decanal possui uma participação importante no aroma de vinhos por apresentar um baixo limite de percepção ($0,1 \mu\text{g L}^{-1}$)⁽⁷³⁾. Acetaldeído (não detectado nas amostras deste estudo) é o aldeído encontrado em maior quantidade nos vinhos, de forma geral, e pode representar até mais de 90% do conteúdo total de aldeídos de um vinho. Acima do limiar de percepção, normalmente é considerado um odor indesejado. Outro aldeído cuja presença pode acarretar em um odor indesejado nos vinhos é o benzaldeído (amêndoas amargas, identificado tanto em 1D-GC, como em GCxGC). Este pode ser originado a partir da oxidação de seu álcool correspondente ou ainda ter origem na ação metabólica de algumas espécies de levedura⁽⁷¹⁾.

Normalmente, o ácido acético é o ácido majoritário (subproduto do metabolismo das leveduras e bactérias), mas outros ácidos carboxílicos, tais como fórmico, propiônico e butírico (butanóico), também podem estar presentes nos vinhos. Ácidos que possuem em sua estrutura cadeias de hidrocarbonetos com mais de 12 carbonos são designados por ácidos graxos. A sua presença no vinho é também principalmente derivada do ácido graxo do metabolismo de leveduras e bactérias. Todos os ácidos carboxílicos voláteis possuem odores marcantes - o ácido acético, vinagre, o ácido propiônico é caracterizado pelo aroma de gordura, ácido butírico assemelha-se a manteiga rançosa, e C6 a C10 ácidos carboxílicos possuem um odor caprino. Embora estes ácidos estejam presentes nos vinhos, estes normalmente ocorrem em níveis detectáveis apenas em vinhos estragados pela ação microbiana.

No caso das análises realizadas no espumante Moscatel, a área percentual dos ácidos carboxílicos foi inferior aquela dos ésteres, álcoois e terpenos, sendo esta uma característica desejável de vinhos jovens, tendo em vista que estes compostos fornecem aromas indesejados quando presentes acima de seu limite de percepção⁽⁷⁵⁾. Observou-se que os ácidos hexanoico e decanoico (números 4 e 10, respectivamente, na Tabela IV) foram encontrados em maior área percentual em relação aos demais ácidos, os quais possuem um aroma de gordura rançosa quando acima de seus limites de percepção⁽⁷¹⁾. No entanto, deve-se mencionar que a presença dos ácidos não é totalmente indesejada. Além de fazer parte

da composição final do aroma do espumante, estes compostos possibilitam a iniciação de hidrólise ácida de precursores não-voláteis no fruto. Durante a fermentação e envelhecimento, ácidos estão envolvidos em reações que conduzem à formação de ésteres, os quais são, muitas vezes, importantes para o aroma frutado dos vinhos. Os compostos ácidos também são importantes no desenvolvimento do bouquet do vinho durante o processo de envelhecimento ⁽²⁴⁾.

Cetonas são poucas encontradas nas uvas. Nas análises realizadas no espumante Moscatel, não se obteve nenhum composto desta classe que tenha se destacado em relação a sua área cromatográfica percentual. Algumas cetonas podem ser geradas por ação de fungos, como por exemplo 1-octenona-3 e (Z)-1,5-octadienona-3. Estes compostos são responsáveis, em parte, pelo odor de bolor de uvas podendo ser metabolizados em 3-octanona e (Z)-5-octenona-3 durante a fermentação, resultando numa redução do aspecto “mofado” do vinho ⁽²³⁾.

Para os grupos de compostos sulfurados e fenóis, foram detectados poucos compostos, os quais apresentaram áreas cromatográficas percentuais pequenas. Os fenóis são um grupo grande e complexo e sua presença é considerada importante para a qualidade, principalmente de vinhos tintos, tendo em vista que desempenham um papel importante na cor e no sabor dos mesmos. Alguns compostos fenólicos encontrados nos vinhos são antioxidantes, contribuindo para uma redução do risco de doenças cardiovasculares ⁽⁷⁷⁾. Eles também são significativos nos vinhos brancos, mas ocorrem em concentrações muito mais baixas e estão relacionados à aparência, sabor, sensação retronasal e às propriedades antimicrobianas do vinho. Embora a origem dos mesmos seja majoritariamente a uva, quantidades menores podem ser extraídas a partir da madeira dos barris e também do metabolismo das leveduras. A maioria dos compostos voláteis de enxofre nos vinhos parece ser derivada da transformação microbiana de aminoácidos sulfurados (cisteína e metionina) e embora a maioria dos tióis sejam responsáveis por odores desagradáveis, alguns podem contribuir significativamente para o aroma varietal de certos cultivares. Um exemplo disto é a presença de 4-mercapto-4-metil-pentanol-2 e 3-mercapto-hexanol-1, importante para a caracterização da variedade de *Sauvignon Blanc*. Não foram encontrados relatos sobre os compostos fenólicos e sulfurados tentativamente identificados no headspace do vinho espumante Moscatel investigado neste trabalho.

4.4. EVOLUÇÃO DO AROMA DURANTE O PROCESSO DE ELABORAÇÃO DO ESPUMANTE MOSCATEL

As análises realizadas nas amostras das diferentes etapas do processo de fabricação do espumante Moscatel (etapas do processo constam da **Tabela 1**) mostraram alterações no perfil de compostos voláteis, conforme as figuras que seguem (**Figura 23** a **Figura 28**). Houve um acréscimo, em termos de área cromatográfica normalizada para alguns compostos, bem como um decréscimo para outros, sendo que, de acordo com a literatura, todos estes componentes mostram-se importantes para o caráter do aroma de diferentes vinhos.

Os primeiros compostos avaliados foram os da classe dos terpenos, devido a sua importância aromática ⁽³²⁾. A **Figura 23**, mostra a tendência de decréscimo das áreas cromatográficas normalizadas do α -terpineol, hotrienol e linalol durante as diferentes etapas de produção.

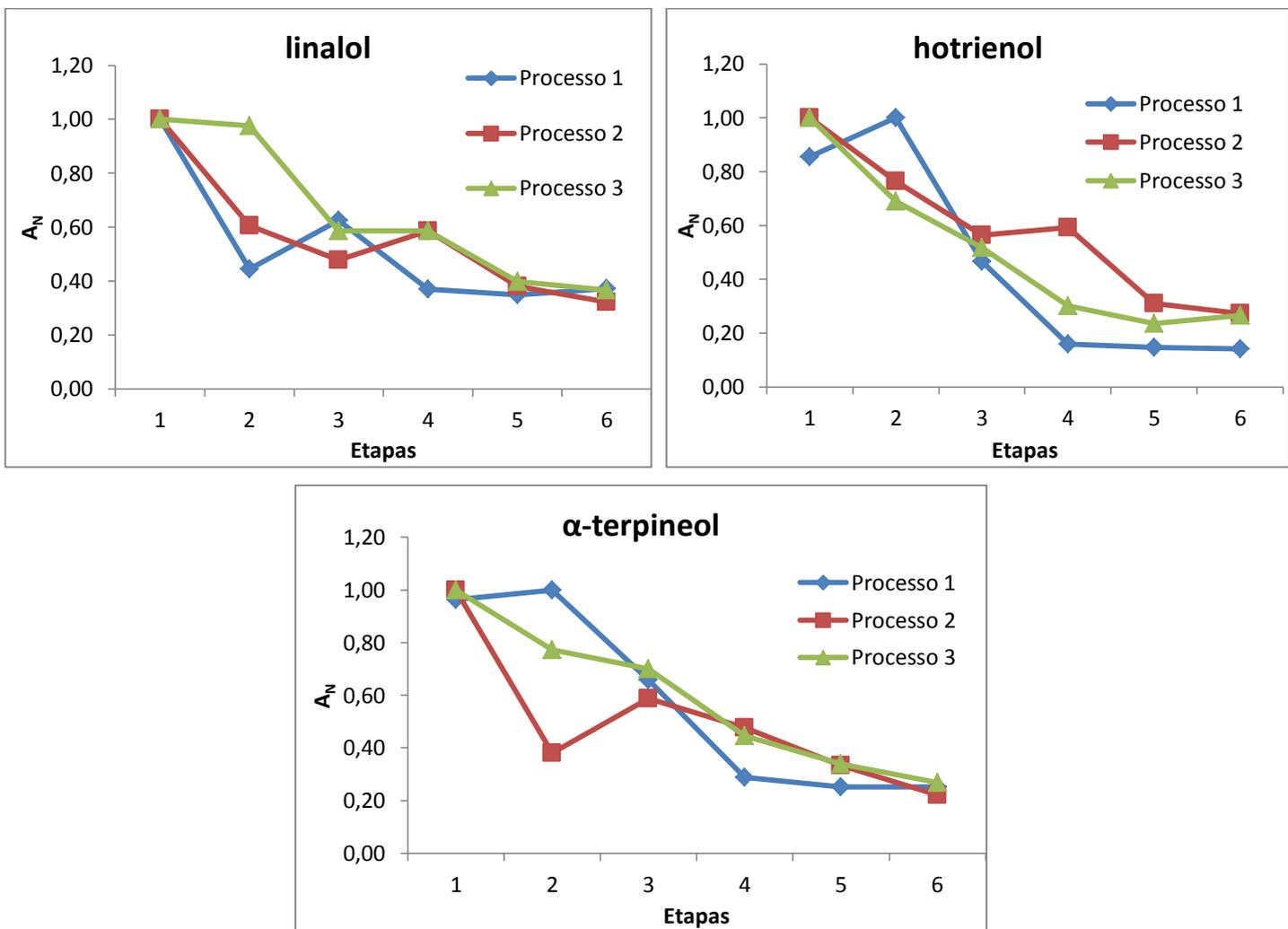


Figura 23 Comportamento da área cromatográfica normalizada de três monoterpênos oxigenados encontrados no *headspace* da matriz líquida proveniente de diferentes etapas do processo de produção de espumante Moscatel.

Apesar da ocorrência de algumas oscilações nas áreas cromatográficas normalizadas, podemos perceber uma tendência clara de decréscimo destas áreas, tendo em vista que todos os álcoois monoterpênicos da **Figura 23** exibiram uma diminuição de área de no mínimo 50% no final do processo, em relação ao mosto.

Comportamento semelhante é observado no processo de envelhecimento em garrafa para vinhos brancos do tipo Riesling ⁽⁷¹⁾. A concentração de linalol, geraniol e citronelol diminuiu durante o processo de envelhecimento. A concentração de linalol era de 400 µg/L antes do processo de envelhecimento e passou a ser 50 µg/L, ao final do processo, o que modifica acentuadamente o buquê (características aromáticas dos vinhos desenvolvidas durante o processo de envelhecimento ⁽²⁵⁾).

Zhang e colaboradores utilizaram a técnica de HS-SPME para monitorar a composição aromática de vinhos de uvas do tipo Syrah durante a etapa de fermentação alcoólica ⁽¹²⁾. No início da fermentação verificou-se que os compostos terpênicos encontravam-se presentes na concentração de aproximadamente 10 mg L⁻¹. Neste caso, provavelmente os terpenos não se encontravam na forma livre, mas sim glicosilados (como glicosídeos, ligados a moléculas de açúcar no suco da uva e também no vinho), diferentemente do que ocorre com as uvas do tipo Moscato. Os glicosídeos são uma classe de substâncias formada pela união de moléculas de glicídeos (glúcido, glocon ou “ose”, geralmente um monossacarídeo) e um composto não glucídico, também chamado de aglicona ou genina ⁽²³⁾. Entretanto, estes pesquisadores observaram um aumento na concentração de citronelol durante o processo de fermentação alcoólica, justificado pela capacidade da levedura de modificar o perfil terpênico do vinho. A hipótese é que o citronelol seria produzido a partir de geraniol e nerol, presentes em pequenas quantidades nas amostras do suco.

No que diz respeito às uvas em geral, a concentração dos compostos que contribuem para o aroma corresponde a sua forma livre (volátil) e os mesmos se encontram em pequenas concentrações, enquanto que os precursores de aroma na forma glicosilada (não volátil) estão presentes em concentrações muito maiores. A hidrólise destes conjugados por

ácidos ou enzimas pode gerar compostos aromaticamente ativos tais como monoterpenos, nor-isoprenoides e compostos fenólicos⁽²⁴⁾. Porém, nas uvas Moscato, os terpenos estão presentes em grande quantidade na forma livre⁽²⁶⁾ e, portanto, contribuem diretamente para o aroma do vinho, justificando o comportamento observado para os álcoois monoterpênicos da **Figura 23**, onde é possível observar uma quantidade maior destes compostos no mosto e, durante a fermentação, uma diminuição da presença dos mesmos, possivelmente devido a perdas decorrentes de sua volatilidade ou ainda decorrente de reações de transformação.

Os processos de transformação do vinho durante seu envelhecimento podem alterar consideravelmente a variedade e a quantidade de terpenos. O aumento da concentração dos terpenos se deve principalmente às reações já mencionadas de quebra do composto glicosilado, liberando a molécula terpenóide (genina ou aglicona) na sua forma livre. Entretanto, a diminuição na concentração de compostos terpênicos pode ser atribuída também à oxidação ou outras transformações. De acordo com a literatura⁽²⁴⁾, para a variedade de vinhos produzida a partir de uvas Moscato, estas perdas decorrem da transformação dos álcoois monoterpênicos em óxidos terpênicos, o que é uma transformação indesejada, já que a característica frutada dos álcoois terpênicos é importante para o aroma do Moscatel. Entretanto, neste trabalho o comportamento dos óxidos terpênicos foi diferente do reportado na literatura, já que se observou uma tendência ao declínio da área cromatográfica destes compostos a partir da segunda etapa do processo de vinificação. A **Figura 24** apresenta as áreas cromatográficas normalizadas dos óxidos terpênicos durante os estágios do processo de vinificação. Sendo assim, a diminuição nas áreas cromatográficas dos álcoois monoterpênicos e também dos óxidos monoterpênicos pode estar relacionada às perdas ocorridas durante o processo, tendo em vista que se trata de compostos voláteis. A literatura científica reporta perdas de álcoois superiores e monoterpenos devido ao arraste realizado pelo dióxido de carbono durante o processo de fermentação⁽²⁴⁾. No que diz respeito aos álcoois monoterpênicos, estas perdas podem reduzir o caráter floral/frutado dos vinhos.

O tipo de levedura(s) empregada(s) pode ser determinante no que diz respeito às transformações que ocorrem com os compostos do mosto e pode implicar em processos totalmente diferentes do que se esperaria sob o ponto de vista químico⁽⁷⁴⁾. A espécie (como por exemplo, *Saccharomyces cerevisiae* ou *Saccharomyces bayanus*) da levedura que conduz

à fermentação alcoólica pode ter influência direta na formação de compostos aromáticos tais como terpenos e álcoois superiores (álcoois com número de átomos de carbono entre três e cinco, como o álcool propílico, álcool amílico e seus isômeros) e ésteres ⁽³⁴⁾. As diferenças na composição aromática final de determinados vinhos, no que se refere a estes componentes, dependem mais da espécie de levedura utilizada do que da composição inicial do mosto. Madrera e colaboradores elaboraram duas sidras espumantes, feitas a partir da mesma base, utilizando duas espécies de diferentes leveduras *Saccharomyces* (*cerevisiae* e *bayanus*) em condições industriais com o objetivo de avaliar a influência da espécie de levedura sobre a evolução de compostos voláteis na cidra espumante ⁽⁷⁵⁾. Foi observado que as concentrações de metanol, 2-feniletanol, lactato de etila e octanoato de etila foram maiores na cidra feita com a levedura *Saccharomyce bayanus*. Carrascosca e colaboradores avaliaram o efeito de diferentes tipos de leveduras na composição volátil dos vinhos Albariños ⁽⁷⁶⁾ e obtiveram vinhos com características distintas. Vinhos que foram fermentados com uma determinada espécie de levedura apresentaram uma quantidade superior de terpenos e norisoprenoides frente aos demais.

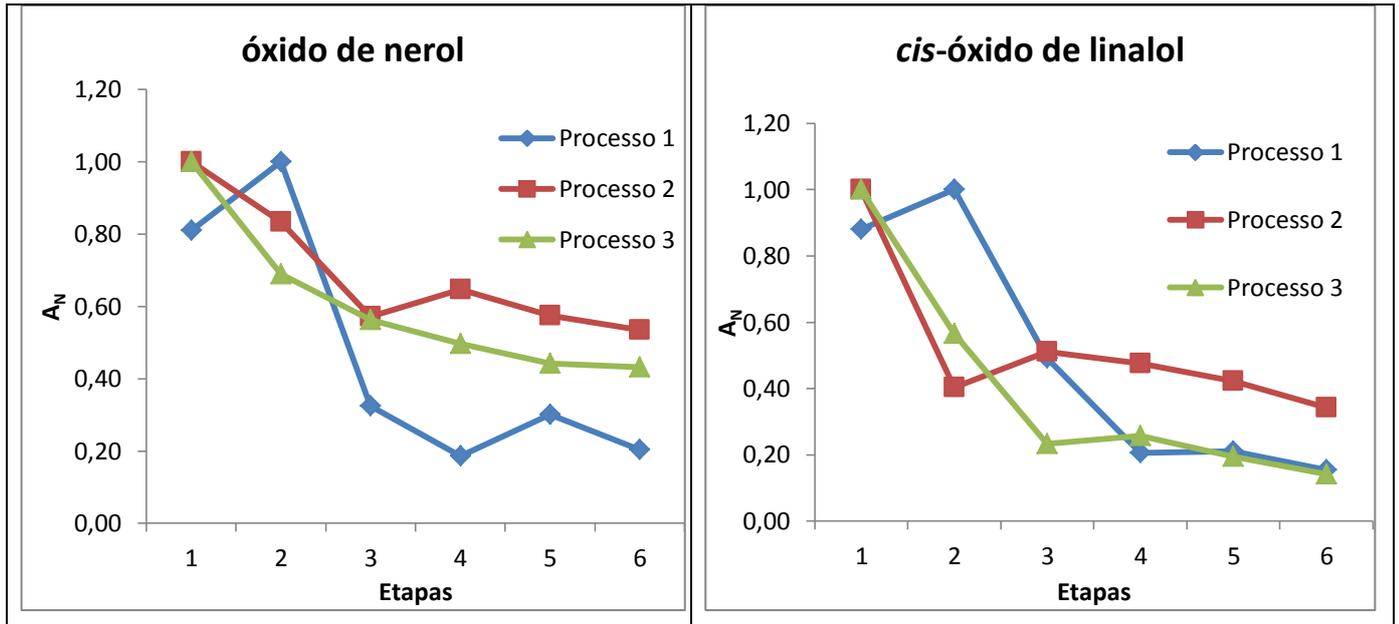


Figura 24 - Comportamento da área cromatográfica normalizada de óxidos terpênicos encontrados no *headspace* da matriz líquida proveniente de diferentes etapas do processo de produção de espumante Moscatel.

Ugliano e colaboradores avaliaram a composição dos voláteis de uvas do tipo Fiano (amplamente cultivadas no sul da Itália) e a sua participação no perfil do aroma de vinhos produzidos a partir destas uvas. Foi observado um acréscimo na concentração de compostos aromáticos (na ordem de dezenas a centenas de $\mu\text{g L}^{-1}$), tais como linalol, geraniol e feniletanol, após o processo de fermentação. Esta variação na composição foi justificada pelos pesquisadores devido ao processo de hidrólise enzimática provocado pelas leveduras ⁽⁷⁷⁾.

Gamero e colaboradores investigaram o perfil terpênico de vinhos do tipo Moscato a partir da fermentação por leveduras da espécie *Saccharomyces* e suas leveduras híbridas ⁽³⁴⁾. Foi avaliada a diferença no comportamento de formação/consumo de álcoois monoterpênicos pelas leveduras e observou-se a diminuição na concentração de geraniol para todos os vinhos, com exceção daqueles produzidos a partir da levedura do tipo *Saccharomyces bayanus*. No entanto, o teor de α -terpineol foi maior para os vinhos fermentados pelas leveduras do tipo *Saccharomyces cerevisiae* e suas espécies híbridas. Para o linalol, estes pesquisadores não observaram uma variação nas quantidades contidas no mosto e nos vinhos produzidos pelas diferentes leveduras utilizadas. Conclui-se que as diferenças no perfil terpênico dos vinhos dependem diretamente da espécie de levedura empregada na produção de vinhos Moscato.

No que diz respeito aos hidrocarbonetos monoterpênicos limoneno e terpinoleno, bem como para os monoterpênicos oxigenados 4-terpineol e citronelol, foi possível verificar uma tendência de diminuição das quantidades destes terpenos, através do acompanhamento do valor da área cromatográfica normalizada dos mesmos, durante o processo de fabricação do espumante Moscatel. Da mesma forma como ocorreu com os monoterpênicos oxigenados α -terpineol, linalol e hotrienol, aqui também se verificou uma diminuição de área cromatográfica no final da fermentação de pelo menos 50% em relação ao início do processo, com exceção do citronelol, onde é possível observar uma variação menor nas quantidades deste composto ao longo do processo, permanecendo praticamente constante a área cromatográfica normalizada nas diferentes etapas monitoradas. O decréscimo menos pronunciado da quantidade de citronelol, verificado durante o processo de vinificação pode ter sofrido a influência de variações na área cromatográfica do nerol, que co-elui com o citronelol, conforme observado nos resultados de GCxGC/TOFMS. A verificação desta hipótese pode ser feita através de uma melhor separação destes dois

compostos em cromatografia monodimensional (outra fase estacionária) ou por GC×GC/TOFMS.

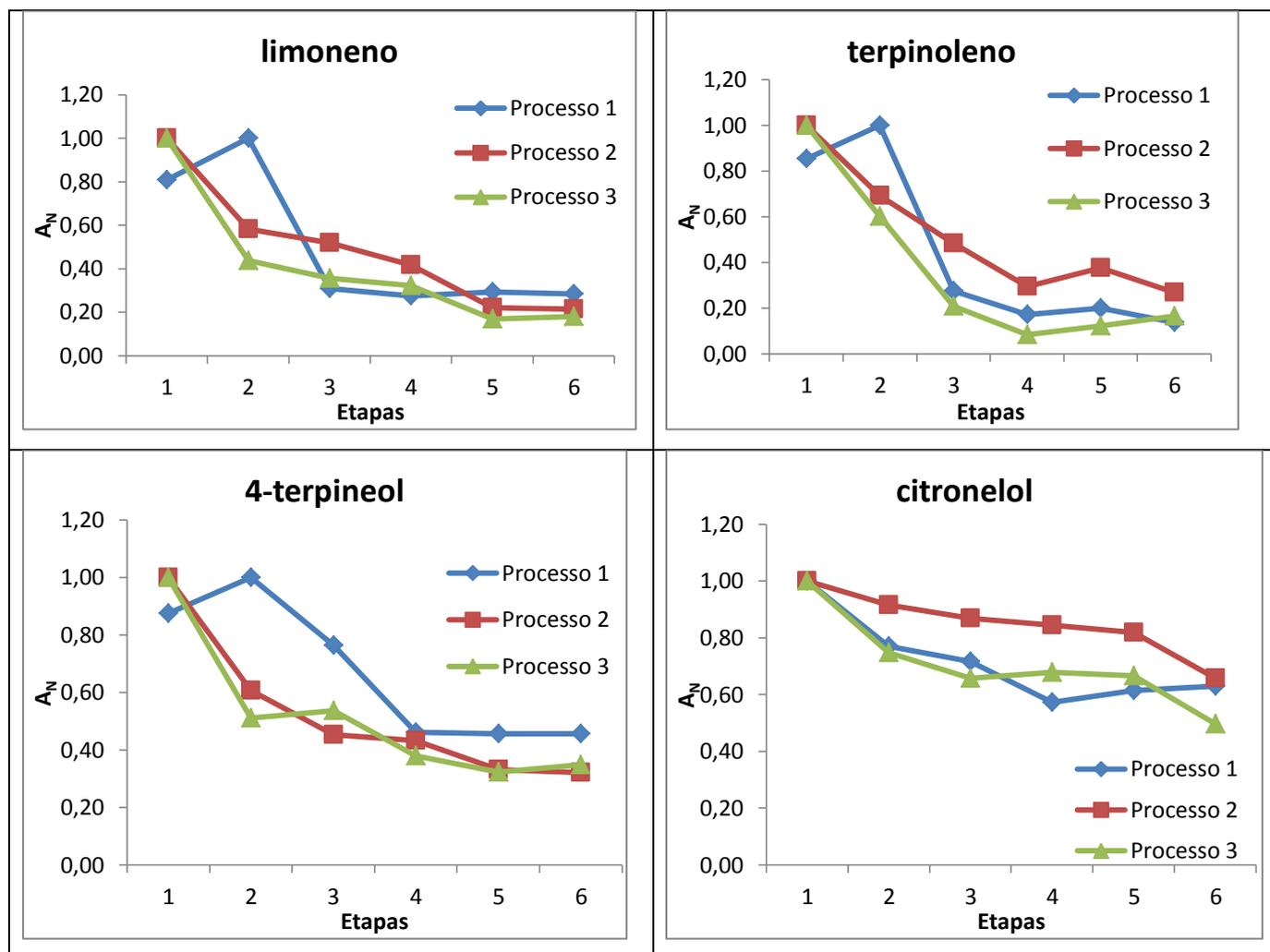


Figura 25 Comportamento da área cromatográfica normalizada de quatro monoterpênos encontrados no *headspace* da matriz líquida proveniente de diferentes etapas do processo de produção de espumante Moscatel.

Outros compostos que têm reconhecida influência no aroma do espumante Moscatel, tais como alguns ésteres e álcoois ⁽²⁴⁾, também tiveram seu comportamento avaliado durante o processo de fabricação do espumante Moscatel, conforme as **Figuras 26, 27 e 28**.

Na **Figura 26** é possível identificar a tendência ao aumento da área cromatográfica normalizada dos ésteres terpênicos: acetato de citronelila, acetato de nerila e acetato de geranila.

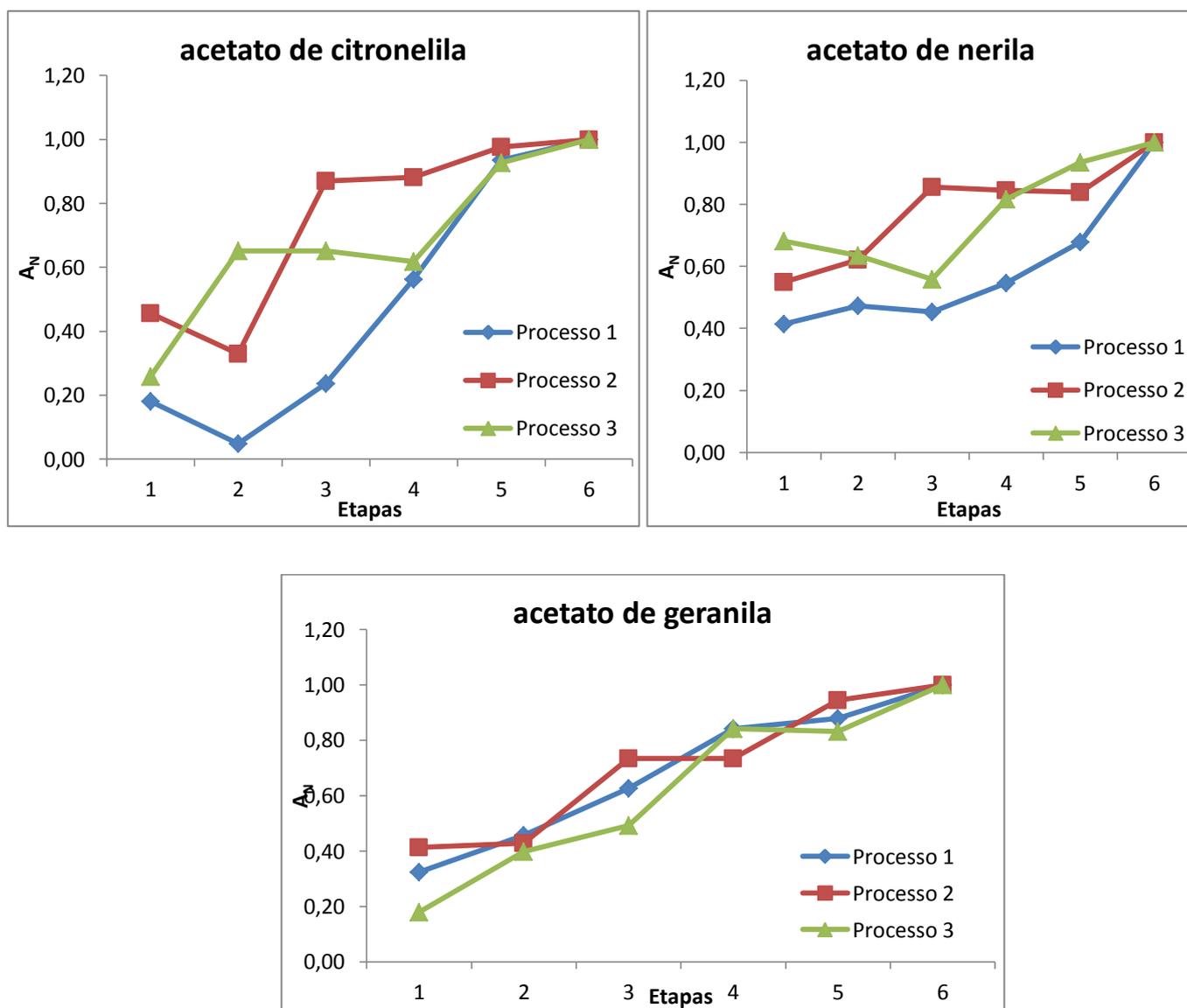


Figura 26 Comportamento da área cromatográfica normalizada de três acetatos terpênicos encontrados no *headspace* da matriz líquida proveniente de diferentes etapas do processo de produção de espumante Moscatel.

A mesma tendência é observada para os ésteres octanoato e decanoato de etila, cujo comportamento foi apresentado na **Figura 27**. Destaca-se a variação acentuada nas áreas cromatográficas normalizadas quando comparado o início do processo com o final do processo de vinificação.

No processo de fabricação do espumante Moscatel é possível destacar o comportamento do hexanoato de etila (**Figura 27**) que possui um aumento inicial em sua

área cromatográfica normalizada, quando iniciado o processo de fermentação e uma diminuição da mesma nas etapas subsequentes do processo de produção do espumante.

A filtração tem sido muitas vezes evitada por alguns produtores, devido à possível perda de compostos aromáticos que seria causada por ela. Embora haja poucos dados confirmando este ponto de vista, alguns pesquisadores apontam para a possibilidade de redução de compostos responsáveis pelo aroma provocada pelo processo de filtração. A redução na concentração do hexanoato de etila é um dos resultados reportados para sustentar esta hipótese ⁽²⁴⁾. Entretanto, na avaliação da evolução do perfil cromatográfico dos ésteres de etila realizado neste trabalho, foi observado um aumento nas áreas cromatográficas do octanoato e decanoato de etila, contrariando esta hipótese.

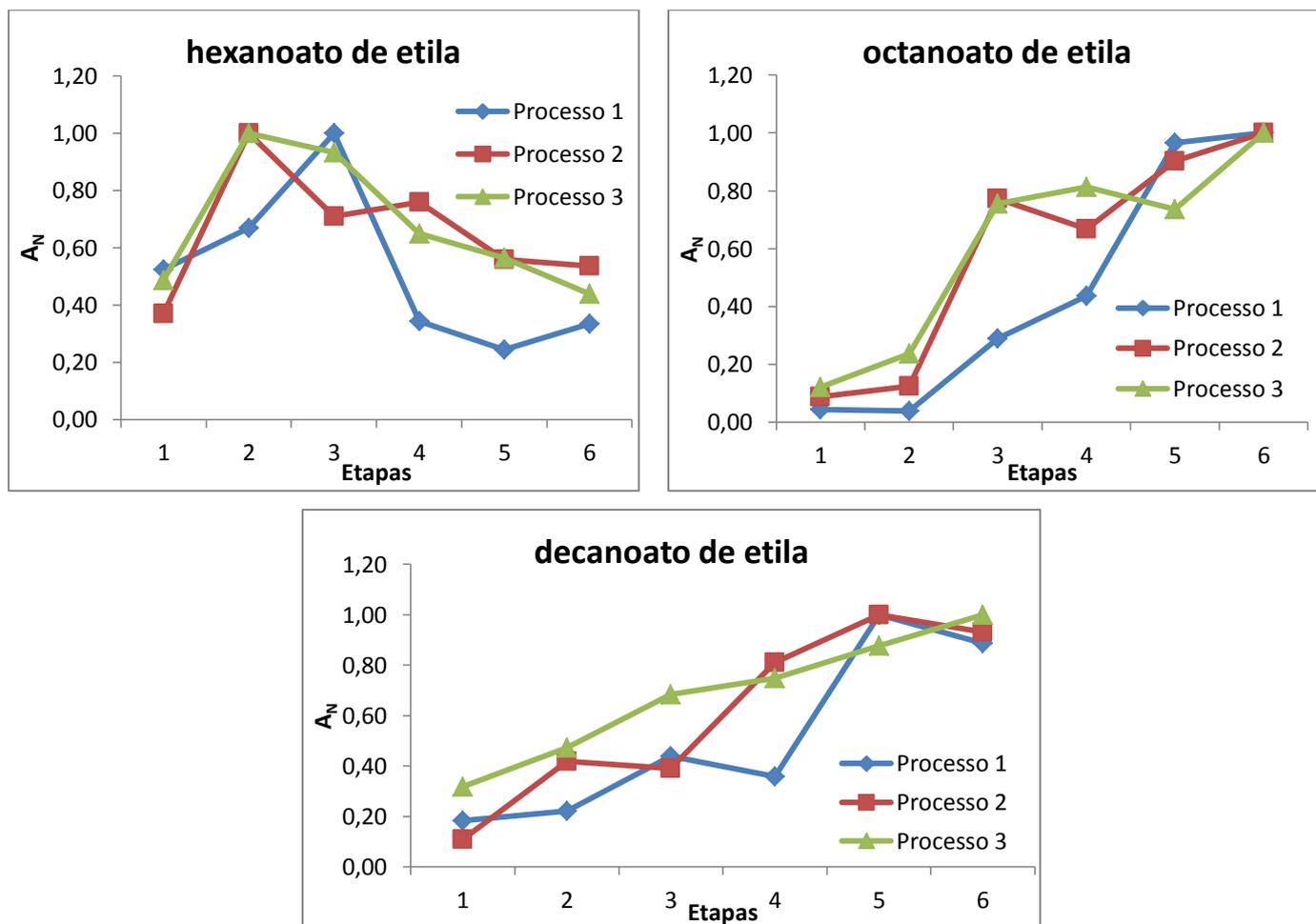


Figura 27 Comportamento da área cromatográfica normalizada de três ésteres etílicos encontrados no headspace da matriz líquida proveniente de diferentes etapas do processo de produção de espumante Moscatel.

Ganss e colaboradores observaram o comportamento de 37 compostos durante o processo de fabricação de espumantes do tipo *Riesling* e *Chardonnay* pelo método *Charmat*, na etapa de segunda fermentação ⁽¹³⁾. Os resultados mostraram que a segunda fermentação conduz a quantidades crescentes de ésteres etílicos de cadeia curta (acetato de metilpropila e acetato de feniletila) e valores decrescentes de ésteres etílicos de cadeia média, como por exemplo, hexanoato, octanoato e decanoato de etila. O comportamento observado para hexanoato, octanoato e decanoato de etila no *headspace* de Moscatel durante a vinificação foi diferente do que é relatado para estes espumantes *Riesling* e *Chardonnay*.

De forma genérica, a origem principal dos ésteres em vinho está no metabolismo secundário intracelular das leveduras durante a fermentação alcoólica. Os ésteres são produzidos enzimaticamente durante a fermentação e resultam da reação da acetil coenzima A (acetil-CoA) com álcoois superiores, que são formados pela degradação de aminoácidos ou carboidratos ⁽⁷¹⁾. A concentração destes ésteres depende de vários fatores, como por exemplo, a cepa de levedura utilizada, a temperatura de fermentação, grau de aeração e conteúdo de açúcar. Durante a autólise, que é o processo em que as células das leveduras são destruídas pelas suas próprias enzimas, são liberados alguns ésteres de cadeia longa que são importantes para o aroma do espumante, justificando, portanto o aumento na concentração de ésteres ocorrido durante o processo de fabricação do espumante Moscatel ⁽²³⁾.

Zhang e colaboradores também monitoraram a formação de ésteres no processo de fermentação de uvas do tipo *Syrah* e observaram um acréscimo na concentração de ésteres etílicos (hexanoato, octanoato e decanoato de etila) após 400 horas de fermentação ⁽¹²⁾.

O comportamento de alguns álcoois pode ser visto na **Figura 28**, onde se observa uma acentuada tendência de diminuição das áreas cromatográficas normalizadas do hexanol, logo após iniciada a etapa de fermentação e um aumento das áreas do nonanol e do feniletanol.

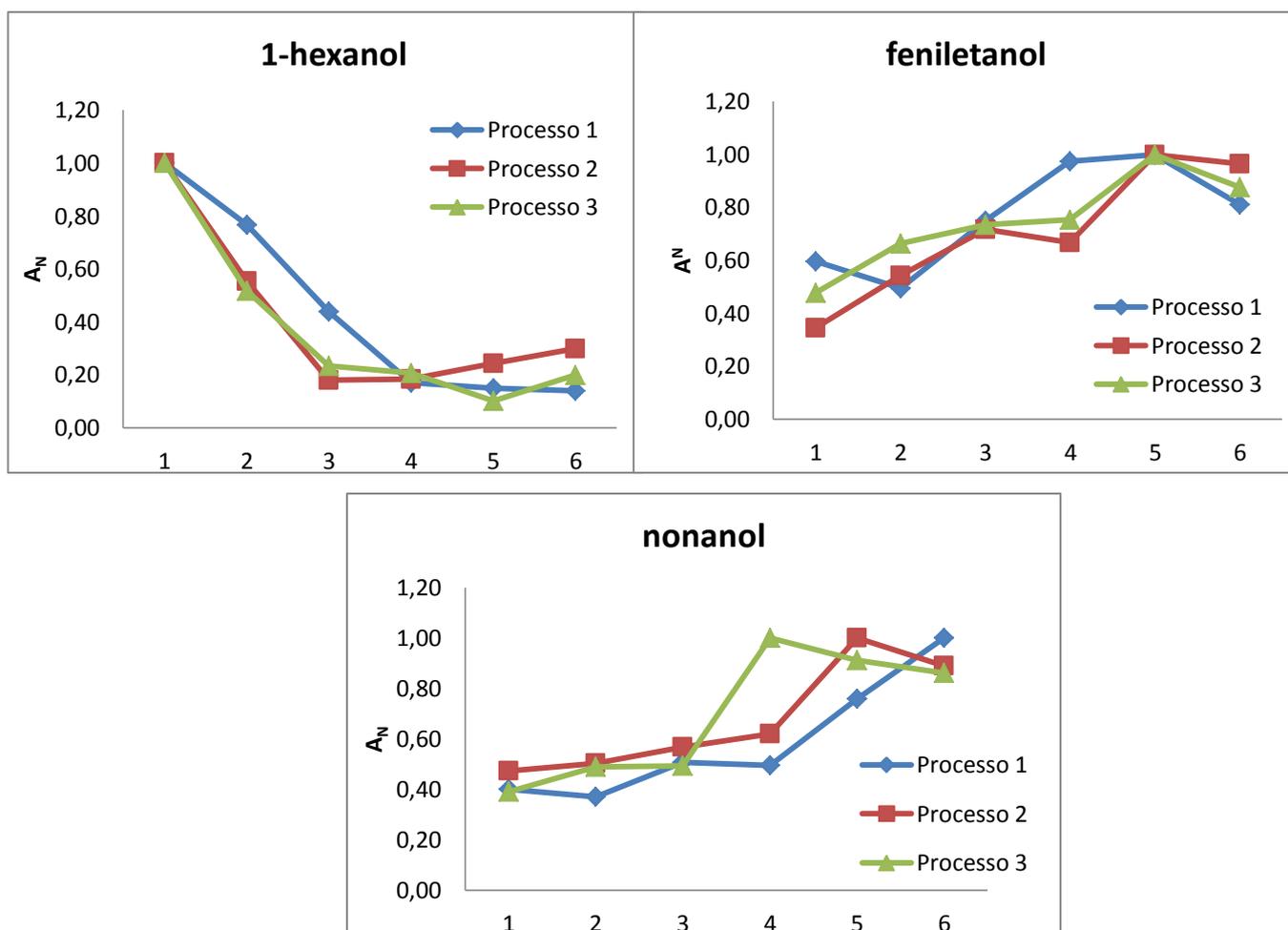


Figura 28 Comportamento da área cromatográfica normalizada de três álcoois encontrados no *headspace* da matriz líquida proveniente de diferentes etapas do processo de produção de espumante Moscatel.

A formação dos álcoois superiores é fortemente influenciada pela fonte de nitrogênio do mosto. É apontada como origem destes compostos a degradação de aminoácidos e o metabolismo de açúcares.

Zhang e colaboradores também observaram o aumento na concentração de determinados álcoois durante o processo de fermentação de uvas do tipo *Syrah*. Alguns compostos como hexanol, feniletanol e álcool isoamílico apresentaram elevadas concentrações durante as primeiras horas de fermentação (24 à 48 horas após a adição das leveduras) e com acentuada diminuição durante o restante do processo ⁽¹²⁾. A redução de álcoois pode ser devido à formação dos ésteres correspondentes, que são produtos do metabolismo da levedura, já que os álcoois podem servir como substratos para a formação de ésteres ⁽²⁶⁾.

5. RESUMO DOS RESULTADOS

✓ Foi desenvolvido um método de extração utilizando-se HS-SPME para extração de compostos voláteis do headspace do mosto e do espumante Moscatel, sendo que as melhores condições encontradas foram o uso do revestimento PDMS/DVB, teor de álcool de 7,5% (ou seja, sem diluição), volume de amostra de 2 mL, temperatura de extração de 40°C, adição de 30% (m/v) de sal (NaCl) e um tempo de 30 minutos de extração.

✓ Um total de 55 compostos foram tentativamente identificados através da comparação dos espectros de massas e dos LTPRI obtidos experimentalmente para os mesmos com dados da literatura científica, empregando-se 1D-GC/MS. Outros três compostos (terpinoleno, linalol e α -terpineol) foram positivamente identificados através de co-injeção com padrões dos mesmos e posterior comparação de seus dados de retenção e espectros de massas com os compostos do vinho.

✓ Do total de 58 compostos positivamente e tentativamente identificados, 23 eram terpenos, 19 ésteres, 7 álcoois, 4 aldeídos, 2 cetonas, 1 ácido carboxílico, 1 fenol e 1 hidrocarbonetol no espumante Moscatel

✓ Um total de 232 compostos do headspace de vinho espumante Moscatel foi tentativamente identificado através da comparação dos seus espectros de massas e LTPRI obtidos experimentalmente por GC×GC/TOFMS com dados da literatura científica, bem como bancos comerciais de espectros de massas. Ainda, não foi possível realizar a identificação de um total de 14 compostos.

✓ Entre todos os grupos químicos tentativamente identificados no *headspace* do espumante Moscatel da Serra Gaúcha, ésteres estavam presentes em maior número (72), seguidos por terpenos (42), hidrocarbonetos (40), álcoois (25), cetonas (15), ácidos (11) éteres (9), aldeídos (8), compostos de enxofre (4), lactonas (3), fenóis (3).

✓ Além dos álcoois monoterpênicos (12), foram encontrados diversos grupos terpênicos nas análises de GC×GC/TOFMS do espumante Moscatel, entre eles hidrocarbonetos (12), óxidos (3), aldeídos (2), ésteres monoterpênicos (3), cetonas (2), nor-isoprenoides (2); sesquiterpenos (4) e ainda dois (2) compostos terpênicos, para os quais

não foi possível uma identificação tentativa com base nos espectros de massas e/ou índices de retenção

✓ A aplicação da técnica GC×GC/TOFMS à análise dos compostos voláteis de espumante Moscatel mostrou a superioridade da técnica no que diz respeito à seletividade (alguns picos cromatográficos que co-eluíram na 1D foram separados na 2D e capacidade de pico, comparativamente à 1D-GC/MS, embora uma comparação direta entre os resultados obtidos das duas técnicas cromatográficas não tenha sido possível devido às diferentes condições cromatográficas empregadas. A deconvolução espectral também se mostrou importante na obtenção de espectros de massas de qualidade de forma a facilitar a identificação tentativa dos compostos voláteis do espumante Moscatel.

✓ Alguns exemplos de separação de compostos na 2D foram reportados para exemplificar melhoras à separação cromatográfica dos mesmos obtidas por GC×GC/TOFMS relativamente à separação monodimensional, tendo por base os LTPRI reportados na literatura para uma coluna de polidimetil siloxano com 5% de grupos fenila, bem como dados obtidos na GC×GC/TOFMS: citronelol e nerol; linalol e hotrienol; óxido de rosa, acetato de n-heptila e um éster não identificado; mircenol, octanoato de metila e um éster não identificado.

✓ Quanto às modificações nas áreas cromatográficas normalizadas que ocorreram durante o processo de vinificação, foi possível detectar alterações para diversos compostos nos três processos monitorados, dentro os quais ésteres, álcoois, terpenos, óxidos.

✓ Dos compostos monitorados durante o processo de vinificação, pode-se observar a tendência de acréscimo nas áreas cromatográficas normalizadas dos ésteres terpênicos (acetatos de citronelila, nerila e geranila), os quais conferem um aroma frutado ao espumante. Os ésteres etílicos (octanoato e decanoato) apresentaram também comportamento semelhante, sendo que o octanoato apresenta aroma de sabão e o decanoato, de gordura.

✓ Ao contrário do que era previsto na literatura, pode-se observar uma tendência de decréscimo nas áreas cromatográficas normalizadas de diversos compostos terpênicos, tais como os álcoois monoterpênicos linalol, hotrienol e α -terpineol, bem como o limoneno,

terpinoleno e 4-terpineol. O monoterpeno citronelol apresentou uma diminuição menos pronunciada em sua área cromatográfica normalizada.

✓ Quanto aos álcoois monitorados, foi observada uma tendência em diminuição da área cromatográfica normalizadas do 1-hexanol ao longo do processo de vinificação. Já para os alcoois feniletanol e nonanol, pode-se observar um aumento de sua área cromatográfica normalizada no produto final.

6. CONCLUSÕES

O perfil cromatográfico dos compostos voláteis de mosto/vinho espumante Moscatel foi investigado através de HS-SPME, tendo-se observado um decréscimo nas quantidades de monoterpenos, como α -terpineol, hotrienol, linalol, limoneno, terpinoleno, 4-terpineol e citronelol, o que confirma a presença de terpenos livres no mosto e a baixa contribuição da formação de terpenos pela transformação de precursores glicosilados, durante o processo de vinificação. A hipótese de formação de óxidos a partir de monoterpenos não se confirmou, visto que os óxidos de nerol e de *cis*-linalol apresentaram tendência de diminuição, durante o processo de vinificação. Desta forma, deduz-se que os monoterpenos sejam perdidos por volatilização e/ou transformação enzimática, durante o processo de fabricação do vinho espumante. Por outro lado, houve um acréscimo na quantidade de ésteres (acetatos de citronelila, nerila e geranila), presentes no vinho espumante ao longo do processo de produção, o que ratifica as características frutadas do aroma deste produto. Por outro lado, octanoato e decanoato de etila também apresentaram tendência a um aumento de suas áreas cromatográficas, embora a sua contribuição aromática seja negativa. A interpretação deste comportamento à luz das características aromáticas de cada componente se reveste de importância, já que os terpenos são reconhecidos como os principais componentes do aroma característico do espumante Moscatel. A busca pela certificação de qualidade do espumante Moscatel gaúcho, bem como de sua indicação geográfica passa pela caracterização da importância de cada componente (ou da mistura sinérgica de componentes) do *headspace* deste produto e, o método desenvolvido, pode auxiliar na definição de quais compostos são marcadores da qualidade deste espumante. A definição destes marcadores pode também ajudar na modificação/melhoria de processos de vinificação existentes.

Assim, considera-se que o método de extração otimizada para extração de voláteis do *headspace* de espumante Moscatel se mostrou adequado para o acompanhamento do perfil cromatográfico de compostos voláteis durante o processo de vinificação do mosto de uvas Moscato, produzido na Serra Gaúcha. Este método demanda pequeno volume de amostra, é

prático, rápido, automatizado e de simples execução para o acompanhamento de processos deste tipo.

Os resultados preliminares obtidos da aplicação da GC×GC/TOFMS à análise dos voláteis de espumante Moscatel gaúcho mostraram que a técnica apresenta seletividade superior e maior capacidade de pico, além da disponibilidade de deconvolução espectral para obtenção de espectros de massa de maior qualidade. Estes resultados abrem perspectivas para um estudo mais detalhado da composição qualitativa e quantitativa dos compostos voláteis de espumante Moscatel através de GC×GC/TOFMS, bem como de outras bebidas aromáticas, indicando melhores perspectivas para a descoberta de compostos que possam ser escolhidos como marcadores de qualidade destas bebidas.

7. PRODUÇÃO CIENTÍFICA GERADA A PARTIR DESTE TRABALHO

▪ - Soares, Rafael Dutra et al. “Desenvolvimento de método de análise de aroma de espumante Moscatel através do emprego de micro-extração em fase sólida e cromatografia gasosa acoplada a detector de espectrometria de massas” . In: Encontro Nacional de Química Analítica (16. : 2011 out. 23-26 : Campos do Jordão, SP). Química analítica sem fronteiras [recurso eletrônico]. [Campos do Jordão, SP], 2011 Resumo AL 092.

▪ - Soares, Rafael Dutra et al. “Investigation of the volatile profile of Moscatel Sparkling Wine during Vinification using Headspace Solid PhaseMicroextraction a and Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography with Time-of-Flight Mass Spectrometric Detector”. In: 36th Symposium on Capillary Chromatography, Riva del Garda, Itália, maio de 2012.

8. SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS

▪ Avaliar comparativamente o perfil dos compostos voláteis do espumante Moscatel em diferentes etapas do processo de vinificação do espumante, utilizando a técnica de 1D-GC/MS e GC×GC/TOFMS, de forma a verificar as vantagens e desvantagens de ambas, bem como investigar em maior detalhe a composição dos vinhos nas diferentes etapas através da técnica bidimensional;

▪ Verificar o perfil dos compostos voláteis dos espumantes moscatéis de todo o Brasil e também importados para verificar a presença de possíveis indicadores de qualidade;

- Realizar uma avaliação sensorial do espumante Moscatel em suas várias etapas de processo;
- Implementar um cromatógrafo gasoso com detector olfatométrico para avaliação sensorial do perfil de voláteis de espumantes e outras bebidas.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Instituto Brasileiro de Vinhos, IBRAVIN -. [Online] [Citado em: 10 de Fevereiro de 2012.] <http://www.ibravin.org.br>.
2. Rizzon, L.A.; Meneguzzo, J.; Gasparin, A. *Elaboração do Vinho Moscatel Espumante*. Documento N° 51. Bento Gonçalves : Embrapa Uvas e Vinhos, 2005. p. 42.
3. Manfroi, Vitor. Vinho Espumante. [A. do livro] Waldemar Gastoni Venturini Filho. *Bebidas alcoólicas : ciência e tecnologia*. s.l. : Blucher, 2010, pp. 181-190.
4. Alves, R.F.; Nascimento, A.M.D.; Nogueira, J.M.F. *Analytica Chimica Acta*. 2005, 546, 11–21.
5. Chin, Sung-Tong, Eyres, Graham T. e Marriott, Philip J. *Journal of Chromatography A*. 2011,1218, 7487– 7498.
6. Câmara, J.S., Alves, M.A. e Marques, J.C. *Analytica Chimica Acta*. 2006,555, 191–200.
- 7.. Freire, L.M.T.; Freitas, A. M.C.; Relva, A. M. J. *Microcolumn Separations* 2001, 13, 14-23.
8. Demyttenaere, J.C.R.; Dagher, C.; Sandra, P.; Kallithraka, S; Verhé, R.; De Kimpe, N.. *Journal of Chromatography A*. 2003, 985, 233–246.
9. López, R.,Aznar, M., Cacho, J., Ferreira, V. *Journal of Chromatography A*. 2002, 966, 167–177.
10. Welke, J.E.; Manfroi, V.; Zanús, M.; Lazarotto, M.; Zini, C.A.. *Journal of Chromatography A*. artigo no prelo, 2012.
11. Aumatell, M. Riu; Fuste, J. B.; Tamames, E.; Buxaderas, S. *Food Chemistry*, 2006, 95, 237–242.
12. Zhang, M.; Pan, Q.; Yan, G.; Duan, C.. *Food Chemistry*. 2011, 125, 743-749.
13. Ganss, S.; Kirsch, F.; Winterhalter, P.; Fischer, U.; Schmarr, H. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2011, 59, 2524–2533.
14. Antalick, G.; Perello, M.; de Revel, G. *Food Chemistry*. 2010, 121,. 1236–1245.
15. Rebière, L.; Clark, A.; Schmidtke, L.; Prenzler, P.; Scollary, G. *Analytica Chimica Acta*, 2010, 660, 149–157.
16. Aznar, M.; Arroyo, T. *Journal of Chromatography A*. 2007,1165, 151–157.
17. Bonino, M.; Schellino, R.; Rizzi, C.; Aigotti, R.; Delfini, C.; Baiocchi, C. *Food Chemistry*, 2003, 80, 125–133.
- 18.. Fuste, J.B.; Aumatell, M. R.; Guadayol, J.M.; Caixach, J.; Tamames, E.L.; Buxaderas, S. *Food Chemistry*, 2007, 105, 428–435.

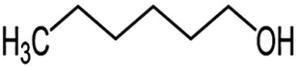
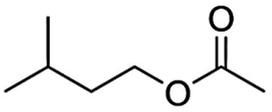
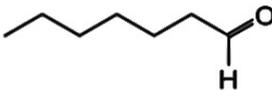
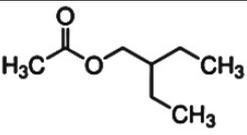
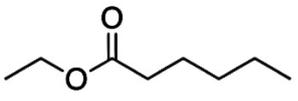
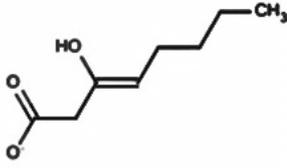
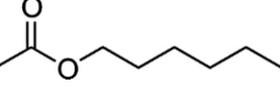
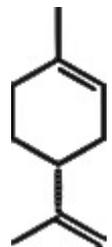
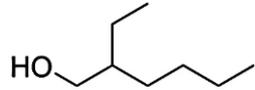
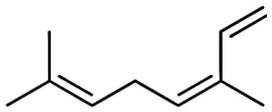
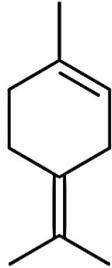
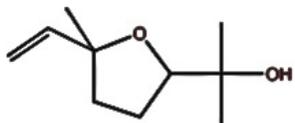
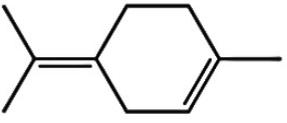
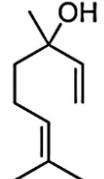
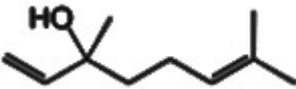
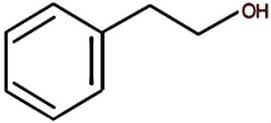
19. **Weldegergis, B.T.; de Villiers, A.; McNeish, C.; Seethapathy, S.; Mostafa, A.; Górecki, T.; Crouch, A. M.** *Food Chemistry*, 2011, 129, 188–199.
20. **Rocha, S.M.; Coelho, E.; Zrostlikova, J.; Delgadillo, I.; Coimbra, M.A.** *Journal of Chromatography A*. 2007, 1161, 292–299.
21. **Robinson, A.L.; Boss, P.K.; Heymann, H.; Solomon, P.S.; Trengove, R.D.** *Journal of Chromatography A*,. 2011, 1228, 504–517.
22. www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/1990-1994/D99066. [Online] [Citado em: 20 de Abril de 2012.]
23. **Moreno-Arribas, M. V.; Polo, M. C.** *Wine Chemistry and Biochemistry*. 1. ed.,: Springer Science, 2009. p. 728. Vol. 1.
24. **Jackson, Ronald S.** *Wine Science*. 3. ed,: Elsevier Inc., 2008. p. 789.
25. **Collin, S.** *Oddbins Dictionary of Wine*. 1ed,: Bloomsbury, 2004. p. 385.
26. **Ribéreau, P.; Dubourdieu, D.; Donèche, B.; Lonvaud, A.** *Handbook of Enology*. 2.ed: John Wiley & Sons Ltd, 2006. p. 497. Vol. 1.
27. **Albert, Agnaldo Zácia.** *Borbulhas - Tudo Sobre Champanhe e Espumantes*. São Paulo,: SENAC, 2008. p. 184.
28. **Hoffmann, Alexandre.** *Sistema de Produção de Vinho Moscatel Espumante*,: Embrapa, Novembro de 2008. ISSN 1678-8761 Versão Eletrônica.
29. **Lona, Adolfo Alberto.** Embrapa Uvas e Vinhos. [Online] Setembro de 2008. <http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/anais/cbve12/76-79.pdf>.
30. **Guerra, Celito Crivellaro.** Aromas: parte essencial da qualidade dos vinhos. *Bon Vivant*. 88, 2006, Vol. 8, pp. 4-5.
31. **Oliveira, José Maria Marques.** *Aromas Varietais e de Fermentação Determinantes da Tipicidade das Castas Loureiro e Alvarinho*. Departamento de Engenharia Biológica, Universidade do Minho. 2000. Tese de Doutorado.
32. **Marais, J.** 1983, *S. Afr. J. Enol.*, Vol. 4, pp. 49-58.
33. **Vilanova, M.; Sieiro, C.** *Journal of Food Composition and Analysis*. 2006, 19, 694–697.
34. **Gamero, A.; Manzanares, P.; Querol, A.; Belloch, C.** *International Journal of Food Microbiology*. 2011, 145, 92–97.
35. **Rapp, A.** *Food Flavours: Generation, Analysis and Process Influence*. 8.ed.: International Flavour Conference, 1994.
- 36.. **López, E. Falqué; Gómez, E. Fernández.** *Chromatographia* 2000, 52, 41-50
37. **Lamikanra, O.; Grimm, C. C.; Inyang, D.** *Food Chemistry*. 1996, 56, 4, 313-376.

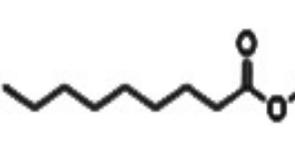
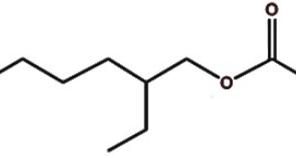
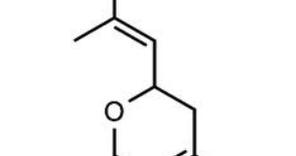
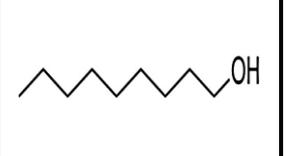
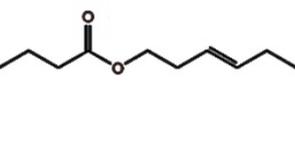
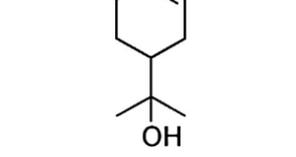
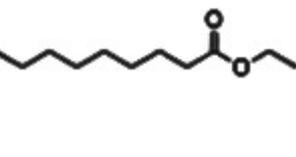
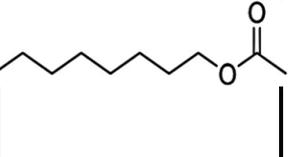
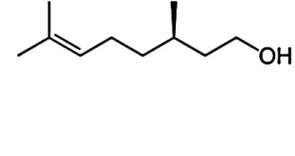
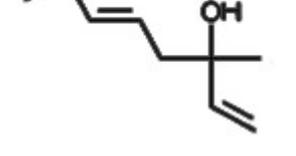
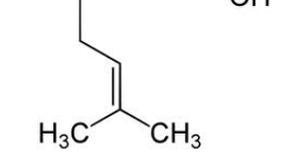
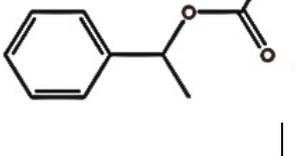
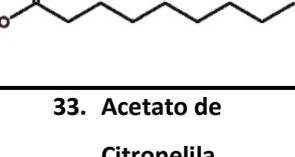
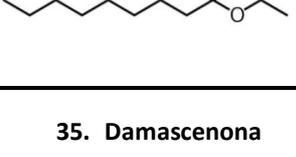
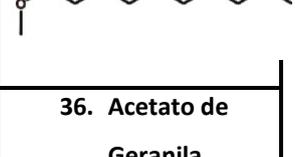
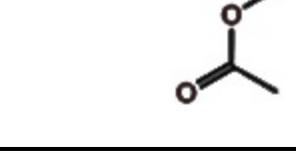
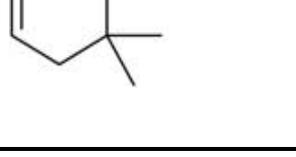
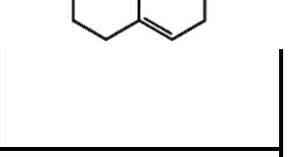
38. Câmara, J. S., Alves, M.A., Marques, J.C. *Analytica Chimica Acta*. 2006,563, 188–197.
39. Piñeiro, Z.; Palma, M.; Barroso, C. *Analytica Chimica Acta*. 2004, 513, 209–214.
40. Perestrelo, R.; Nogueira, J.M.F.; Câmara, J.S. *Talanta*. 2009,80, 622–630.
41. Zalacain, A.; Marín, J.; Alonso, G.L.; Salinas, M.R. *Talanta*. 2007, 71, 1610–1615.
42. Miller, M. e Stuart, J.. *Analytical Chemistry*. 1999, 71, 23-27.
43. Ortega-Heras, M.; González-SanJosé, M.L.; Beltrán, S. *Analytica Chimica Acta*. 2002, Vol. 458, pp. 85–93.
44. Pawliszyn, Janusz. *Solid Phase Microextraction: Theory and Practice*. 1ed: Wiley, 1997. p. 264.
45. Weldegergis, B.T.; Crouch, A.M. *J. Agric. Food Chem*. 2008, 56, 10225–10236.
46. Peña, R.M.; Barciela, J.; Herrero, C.; García-Martín, S. *J. Sci. Food Agric*. 2005, 85, 1227–1234.
47. Alvarez, Araceli Pena, *Journal of Chromatography A* 2006,. 1134, 291–297.
48. Skoog, D.A.; Holle, F. J.; Crouch, S. R. *Princípios de Análise Instrumental*. 5.ed: Bookman, 2009. Vol. 1.
49. Falcão, L. D.; Revel, G.; Rosier, J.; Bordignon-Luiz, M.T. *Food Chemistry*. 107, 2008, 497–505.
50. Campo, Eva; Cacho, Juan; Ferreira, Vicente.. *J. Agric. Food Chem*. 2008, 56, 2477–2484.
51. Ramos, L. *Comprehensive Analytical Chemistry*. Wilson & Wilson, Madrid: 2009. p. 305.
52. M. Adahchour, J. Beens, R.J.J. Vreuls, U.A.Th. Brinkman. *Trends in Analytical Chemistry*. 2006, 25, 438-454.
53. M. Adahchour, J. Beens, R.J.J. Vreuls, U.A.Th. Brinkman.. *Trends in Analytical Chemistry*. 2006, Vol. 25, pp. 540-553.
54. Mühlen,C.V., Zini, C.A., Caramão, E.B., Marriot, P.J. *Química Nova*. 2006, 29, 765-775.
55. Mondello, L., Tranchida, P., Dugo, P., Dugo, G. *Mass Spectrometry Reviews*. 2008, 27, 101– 124.
56. Pozzobon, M. P., Godoy, L.F., Fidélis, C.H., Ferreira, E.C., Poppi, R.J., Augusto, F. *Química Nova*. 2009, 32, 421-430.
57. Hamm, S.; Lesellier, E.; Tchaplá, A. *Journal of Chromatography A*, 2003, 1018, 73-83.
58. Adams, R.P. *Identification of Essential oil component by Gas Chromatography/Mass Spectrometry*. 4. ed.: Allured Publishing Corporation, 2007. 407.
59. Library, NIST/EPA/NIH Mass Spectral. Software NIST MS Search 2.0. 2005.
60. Clarke, Ronald J. e Bakker, Jokie. *Wine Flavour Chemistry*,: Blackwell Publishing Ltd, 2004. p. 318.

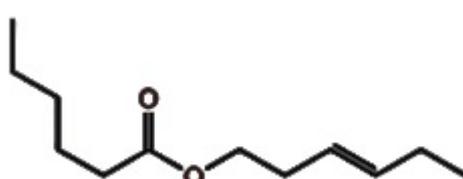
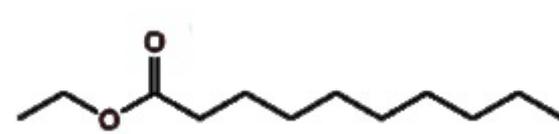
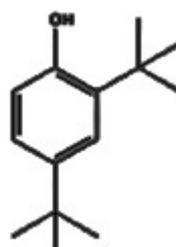
61. **Zini, Cláudia A.** *Estudo dos compostos voláteis de algumas espécies de eucalipto através do uso de microextração em fase sólida no modo headspace (HS-SPME)*. UFRGS. 2002. p. 180, Tese de Doutorado.
62. **Tat, L.; Comuzzo, P.; Stolfo, I.; Battistutta, F.** *Food Chemistry*, 2005, 93, 361–369.
63. **Carrillo, Jose David; Garrido-Lopez, Alvaro; Tena, Maria Teresa.** *Journal of Chromatography A*, 2006, 1102, 25–36.
64. **Yang, C.; Wang, Y.; Wu, B.; Fang, J.; Li, S.** *Food Chemistry*, 2011, 128, 823–830.
65. **Welke, J.E.; Zanus, M.; Lazarotto, M.; Schmitt, K.; Zini, C.A.** *J. Braz. Chem. Soc.*, no prelo, 2012.
66. **Plutowska B, Wardencki W.** *Analytica Chimica acta*, 2008, 613, 64–73.
67. **Rodríguez-Bencomo, J.J.; Conde, J.E.; Rodríguez-Delgado, M.A.; García-Montelongo, F.; Pérez-Trujillo, J.P.** *Journal of Chromatography A*, 2002, 963, 213–223 .
68. **Wardencki W, Sowiński P, Curyło J.** *Journal of Chromatography A*, 2003, 984, 89–96.
69. **Mestres, M.; Busto, O.; Guasch, J.** *Journal of Chromatography A*, 1998, 808, 211 –218.
70. **R Boutou, S.; Chatonnet , P.** *Journal of Chromatography A*, 2007, 1141, 1–9.
71. **Dziadas, M.; Jelen, H.** *Analytica Chimica Acta*, 2010, 677, 43–49.
72. **Jackson, Ronald S.** *Wine Tasting: A Professional Handbook*, Elsevier, 2002. p. 292.
73. **R. Noguero-Pato, C. González-Barreiro, B. Cancho-Grande, J. Simal-Gándara.** *Food Chemistry*. 2009, 117, 473–484.
74. **Mateo, J.J., Jiménez, M.** *Journal of Chromatography A*, 2000, 881, 557-567.
75. **Falque, E.; Darriet, P.; Fernandez, E.; Dubourdieu, D.** *International Journal of Food Science and Technology*, 2008, 43, 464–475.
76. **Laura Culleré, Vicente Ferreira, Juan Cacho.** *Food Chemistry*. 2011, 127, 1397–1403.
77. **M.N. Bravo, S. Silva, A.V. Coelho, L. Vilas Boas, M.R. Bronze.** *Analytica Chimica Acta*. 2006, 563, 84–92.
78. **Gamero, A.,** *International Journal of Food Microbiology*. 2011, 145, 92–97.
79. **Madrera, R.; Hevia, A.G.; García, N.P.; Valles, B.S..** *Food Science and Technology*. 2008, 41, 2064-2069.
80. **A.V. Carrascosa, B. Bartolome, S. Robredo, A. Leon, E. Cebollero, M. Juega, Y.P. Nunez.** *LWT - Food Science and Technology*. 2012, 46, 319-325.
81. **Ugliano, M.; Moio, L.** *Analytica Chimica Acta*. 2008, 621, 79–85.

82. *Standard Reference Data*. [Online] NIST. <http://webbook.nist.gov/> acessado em 12 de junho de 2012

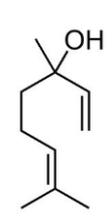
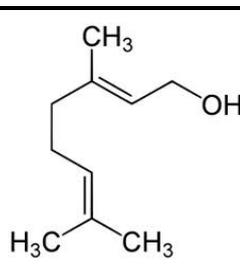
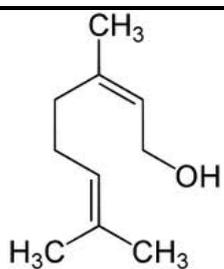
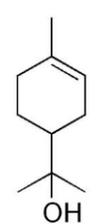
10. ANEXO I – ESTRUTURA DOS COMPOSTOS TENTATIVAMENTE IDENTIFICADOS NO HEADSPACE DE ESPUMANTE MOSCATEL (Análise preliminar).

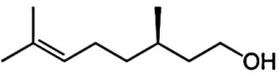
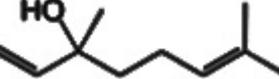
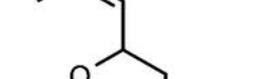
1. 1-Hexanol	2. Acetato de Isoamila	3. Heptanal	4. Acetato de 2-etilbutila
			
5. Hexanoato de Etila	6. Acetato de Hexenol	7. Acetato de Hexila	8. Limoneno
			
9. 2-etilhexanol	10. Ocimene	11. δ-terpineno	12. Óxido de Linalol
			
13. Terpinoleno	14. Linalol	15. Hotrienol	16. Feniletanol
			
17. Octanoato de metila	18. Acetato de 2-etilhexila	19. Óxido de nerol	20. Nonanol

			
21. Butirato de Hexenila	22. α -terpineol	23. Octanoato de Etila	24. Acetato de Octila
			
25. Citronelol	26. 3,7-dimetil-1,5-octadien-3,7-diol	27. Geraniol	28. Acetato de Feniletila
			
29. Ácido Nonanóico	30. Terpeno	31. Nonanoato de Etila	32. Decanoato de Metila
			
33. Acetato de Citronelila	34. Acetato de Nerila	35. Damascenona	36. Acetato de Geranila
			
37. Hexanoato de 3-hexenila	38. Decanoato de Etila		

	
39. Pentadecano	40. 2,4-bis (1,1 dimetiletil) fenol
$C_{15}H_{32}$	

11. ANEXO II – ALGUMAS ESTRUTURAS DOS PRINCIPAIS COMPOSTOS TERPÊNICOS ENCONTRADOS EM PRODUTOS VITÍCOLAS ORIGINADOS DA UVA MOSCATEL E SEUS RESPECTIVOS LIMIARES DE PERCEPÇÃO

Linalol	Geraniol	Nerol	α -terpineol
			
Limiar de percepção (μgL^{-1}): Água: 6 Vinho: 50	Limiar de percepção (μgL^{-1}): Água: 40 Vinho: 130	Limiar de percepção (μgL^{-1}): Água: - Vinho: 400	Limiar de percepção (μgL^{-1}): Água: 350 Vinho: 400
Citronelol	Hotrienol	Óxido de nerol	Óxido de Rosa

			
<p>Limiar de percepção (μgL^{-1}): Água: - Vinho: 18</p>	<p>Limiar de percepção (μgL^{-1}): Água: - Vinho: 110</p>	<p>Limiar de percepção (μgL^{-1}): Água: - Vinho: -</p>	<p>Limiar de percepção (μgL^{-1}): Água: - Vinho: -</p>

