

Pesquisa de compostos voláteis de enxofre varietais em vinhos brancos elementares de castas Portuguesas

O objectivo deste trabalho é provar a existência dos tióis voláteis, que apresentam como principais descritores aromáticos notas de buxo, toranja e maracujá, em vinhos elementares de castas Portuguesas, nomeadamente nas castas Antão Vaz, Arinto, Fernão Pires, Verdelho e Viosinho.

Em 1995, investigadores da Universidade de Bordéus, descobrem a origem química dos aromas varietais dos vinhos da casta Sauvignon Blanc. Estes compostos denominados de tióis varietais são a 4-mercaptopentano-2-ona (4MMP), o 3-mercaptopentanol (3MH) e o acetato de 3-mercaptopentano (A3MH), apresentando como descritores aromáticos mais representativas notas de buxo, toranja e maracujá, respectivamente (Tominaga *et al.*, 1995).

Estes compostos são libertados nos vinhos durante a vinificação a partir de precursores não odorantes, através da acção das leveduras por via de uma reacção enzimática β -liase, análoga à que existe em bactérias. Os substractos desta reacção são vários compostos precursores que existem na uva, os S-conjugados da cisteína, os S-conjugados da glutatona e o (E)-hexen-2-al entre outros ainda não identificados (Capone *et al.*, 2010; Fedrizzi *et al.*, 2009; Grant-Preece *et al.*, 2010; Luisier *et al.*, 2008; Subileau *et al.*, 2008; Thibon *et al.*, 2010).

Os tióis têm limiares de percepção olfactivos muito baixos, sendo compostos aromáticos muito importantes para o aroma dos vinhos. A 4MMP pode ser detectada a partir da concentração de 0,8 ng/L em solução hidroalcoólica e a partir dos 3 ng/L no vinho; o 3MH pode ser detectado numa solução hidroalcoólica só a partir dos 60 ng/L, por fim o A3MH pode ser detectado em solução hidroalcoólica a partir dos 4 ng/L (Tominaga *et al.*, 1996; Thibon *et al.*, 2010; Capone *et al.*, 2010). Contudo Tominaga *et al.* (2000) demonstraram que vinhos da casta Sauvignon Blanc não são os úni-



Quadro 1 – Pontuações médias, numa escala de 0 a 5, dos descritores de aroma nos diferentes vinhos, obtidos por análise sensorial

Aroma	Antão Vaz	Arinto	Fernão Pires	Sauvignon Blanc	Verdelho	Viosinho
frutado	1,0	3,2	3,4	2,7	2,9	2,5
floral	2,0	2,5	2,8	2,4	2,2	2,4
toranja	3,2	2,5	2,5	2,4	2,4	1,7
maracujá	2,6	2,9	2,4	1,9	2,6	1,6
buxo	2,5	1,7	1,4	2,1	1,4	2,2
herbáceo	2,1	1,7	1,7	2,2	1,6	2,0

(As notações médias máximas observadas por cada descritor, estão apresentadas à **negrito**)

Quadro 2 – Principais zonas olfactométricas detectadas nos 8 vinhos estudados

N.º da Zona	Tempo de retenção	KRI calculado	KRI	Descritores	Vinhos de 2009						Vinhos de 2010		Compostos
					Sauv. Blanc	A. Vaz	Arinto	F. Pires	Verdelho	Viosinho	Arinto 10	F. Pires 10	
1	12'10"	1210	n.i.	chulé	1	1	1	1	1	2	2	1	n.i.
2	13'30"	1223	n.i.	frutado	1	1	1	1	1	1	2	1	n.i.
3	21'25"	1398	1394 (a)	cassis/buxo	3	1	1	1	2	1	1	2	4MMP
4	23'-23'30"	1424	1400 (b)	palha	1	1	0	1	1	1	1	0	I.S. 3-octanol
5	25'30"	1465	1449 (a)	vinagre	1	2	2	2	1	2	2	1	ácido acético
6	27'40"	1502	n.i.	alho	1	2	1	2	1	1	1	2	n.i.
7	29'05"	1525	n.i.	coentros	1	2	2	2	3	3	3	2	n.i.
8	36'10"	1454	n.i.	herbáceo	1	1	1	1	1	2	1	0	n.i.
9	36'30"	1649	1644 (a)	queijo	2	2	2	2	2	3	2	1	ácido butírico
10	39'00"	1691	n.i.	crisântemos	1	2	1	2	1	1	3	3	n.i.
11	41'10"	1728	n.i.	couves	2	0	0	1	0	1	0	0	n.i.
12	41'50"-42'30"	1741	1735 (a)	toranja/maracujá	0	0	0	0	0	0	2	1	A3MH
13	47'30"	1842	1822 (c)	rosa/mel	2	2	2	2	2	3	2	2	APE
14	49'30"-50'15"	1883	1872 (d)	maracujá	2	3	3	2	2	3	3	3	3MH
15	53'30"	1959	1965 (b)	floral/rosa	2	2	2	2	0	3	2	2	PE

Referências: (a) Ferreira et al., 2001; (b) Yung et al., 1993; (c) Schnermann et al., 1997; (d) Cullere et al., 2004

Escala de avaliação olfactométrica: 0 - não detectado; 1 - baixa intensidade; 2 - intenso; 3 - muito intenso

Legenda: 4MMP - 4-mercaptopentano-2-ona; 3MH - 3-mercaptopentano-1-ol; A3MH - Acetato de 3-mercaptopentano; APE - Acetato de 2-feniletanol; PE - 2-feniletanol; KRI - Índice de retenção de Kováts

cos a desenvolver as “nuances” da casta em questão. Num estudo em que compararam nove vinhos comerciais de diversas castas (Gewurztraminer, Pinot Gris, Riesling, Muscat, Pinot Blanc, Sylvaner, Colombard, Semillon com podridão nobre) estes autores provaram que os tióis voláteis responsáveis pela tipicidade dos vinhos de Sauvignon Blanc, encontram-se presentes na maioria das castas estudadas, contudo com concentrações diferentes. Outros trabalhos revelaram este potencial aromático em outras castas como Melon Blanc e Scheurebe (Schneider, 2001; Fischer, 2000).

Objectivos do trabalho

Na mesma óptica, e partindo do facto que certos vinhos produzidos a partir de castas brancas portuguesas apresentam, desde que vinificados com determinados preceitos, aromas que se asseme-

lham a vinhos da casta Sauvignon Blanc, partimos neste trabalho para uma busca semelhante à que foi feita por Darriet et al. (1995), sendo que o objectivo deste trabalho é provar a existência dos tióis voláteis supra citados em vinhos elementares de castas portuguesas, nomeadamente nas castas Antão Vaz, Arinto, Fernão Pires, Verdelho e Viosinho.

Materiais e métodos

Vinhos

Os ensaios foram realizados com vinhos brancos portugueses comerciais, vinificados a partir das castas Sauvignon blanc, Antão Vaz, Arinto, Fernão Pires, Verdelho e Viosinho. Todos os vinhos foram produzidos em 2009. No caso das castas Arinto e Fernão Pires também foram analisados vinhos recém-vinificados de 2010.

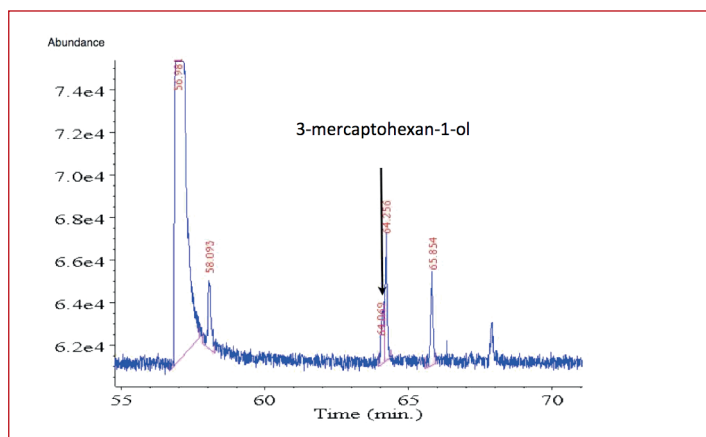


Figura 1 – Cromatograma obtido da análise do extracto de vinho da casta Antão Vaz de 2009, por GC-FPD.

Determinações analíticas

Os compostos de enxofre foram determinados por cromatografia em fase gasosa com detector fotométrico de chama (GC-FPD), de acordo com o método descrito por Moreira *et al.* (2004). O método relatado por Oliveira e Silva *et al.* (2008) foi utilizado para realizar as análises com GC-Espectrometria de massa (GC-MS) e GC-Olfactometria (GC-O).

Um cromatógrafo de gás, equipado com um detector de ionização de chama (GC-FID) também foi utilizado, de acordo com o método descrito por Moreira *et al.* (2011).

Análise sensorial

Os vinhos foram testados aleatoriamente quanto à sua componente aromática por um painel de 10 provadores treinados. Os provadores foram convidados a indicar a intensidade aromática numa escala variando entre 0 (nenhum estímulo) e 5 (intensidade aromática elevada), os seguintes descritores aromáticos: “frutado”, “floral”, “toranja”, “maracujá”, “buxo/urina de gato” e por fim “herbáceo”.

Resultados e discussão

Os resultados obtidos por GC-O mostraram a existência de duas zonas olfatómicas correspondentes à presença de 4MMP e de 3MH, em todos os vinhos analisados (Quadro 1). Uma terceira zona olfatómica só foi detectada nos vinhos novos, de 2010 (Arinto e Fernão Pires) relativa à presença do 3MHA. Estas zonas olfatómicas foram confirmadas por injeção de soluções padrão de cada tiol varietal em estudo no GC-O, assim como comparando os tempos de retenção obtidos para as mesmas soluções, injectadas no sistema GC-FID.

A identificação também foi possível através da comparação dos Índices de Kováts (KRI) calculados neste ensaio, com outros resul-

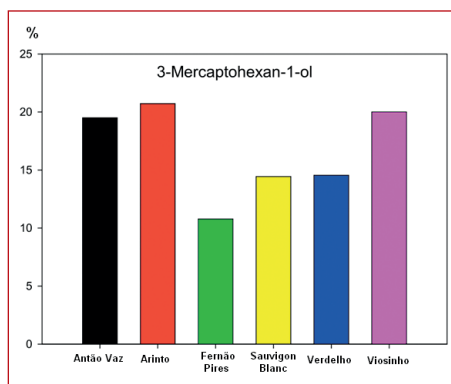


Figura 2 – Percentagem relativa dos níveis de 3MH obtidos por GC-FPD nos vinhos de 2009.

tados relativos aos mesmos compostos aromáticos existentes na literatura.

A intensidade aromática das zonas olfatómicas foi avaliada para todos os vinhos (Quadro 2). Os resultados mostram que alguns vinhos produzidos a partir das castas Portuguesas apresentam uma intensidade aro-

mática para estes tióis varietais, comparável ou mesmo superior às obtidas para o vinho de Sauvignon blanc (usado como testemunho). Esses resultados estão de acordo com os obtidos com o painel de provadores na análise sensorial, apresentados no Quadro 1.

A identificação formal do 3MH foi feita através da análise do espectro de massa obtido por GC-MS. No entanto, apenas foi possível avaliar a concentração em 3MH nos vinhos por GC-FPD (Figuras 1 e 2). O 3MH foi detectado em todos os vinhos analisados, sendo que os vinhos produzidos a partir de Antão Vaz, Arinto e Viosinho apresentaram níveis mais altos neste composto. Estes resultados estão de acordo com os obtidos pela análise sensorial, com excepção do vinho de Viosinho que apresentou uma pontuação baixa para o aroma ‘maracujá’.

Este resultado pode ser explicado pela complexidade aromática do vinho desta casta ou então da presença de “off-flavors”, que podem ter mascarado os aromas de “toranja” e “maracujá” presentes no vinho.

Conclusões

Este trabalho mostra a presença de tióis voláteis em vinhos das castas Antão Vaz, Arinto, Fernão Pires, Verdelho e Viosinho.

A metodologia de extracção aplicada neste trabalho é relativamente fácil de efectuar, conseguindo-se quantificar por GC-FPD o 3MH, que geralmente é de difícil detecção nas concentrações habitualmente encontradas nos vinhos. Este método revela-se assim muito mais simples do que os métodos já publicados para quantificar 3MH. No próximo passo da investigação este método deverá ser validado para a quantificação do 3MH.

Novas perspectivas

A confirmação da existência dos compostos enxofre varietais (tióis), tais como o 3MH, o A3MH e a 4MMP em vinhos de castas

portuguesas abre possibilidades de intervenção ao nível tecnológico para a elaboração de vinhos brancos de castas nacionais. A obtenção de perfis aromáticos próximos dos conseguidos em vinhos da casta Sauvignon Blanc, mas com uma tipicidade acrescida poderá ser uma mais-valia para os vinhos das castas brancas portuguesas estudadas neste trabalho.

Do ponto de vista enológico, os protocolos de vinificação, e mais a montante, os protocolos vitícolas, preconizados para enaltecer a tipicidade da casta Sauvignon Blanc poderão ser adequados para determinadas castas brancas portuguesas.

Existem hoje muito trabalhos publicados relacionados com este tema sobre a casta francesa em questão, será agora tempo de iniciar investigações do mesmo tipo com castas nacionais. 🍷

D. Ferreira ⁽¹⁾, *N. Moreira* ⁽²⁾⁽³⁾, *I. Vasconcelos* ⁽³⁾,
J.M. Ricardo-da-Silva ⁽¹⁾, *P. Guedes de Pinho* ⁽²⁾

⁽¹⁾ Instituto Superior de Agronomia /
Universidade Técnica de Lisboa,

Laboratório Ferreira Lapa (Sector de Enologia), Lisboa.
david@casacadaval.pt

⁽²⁾ REQUIMTE/Laboratório de Toxicologia,
Departamento de Ciências Biológicas, Faculdade de Farmácia,
Universidade do Porto, Porto

⁽³⁾ CBQF/Centro de Biotecnologia e Química Fina,
Escola Superior de Biotecnologia,
Universidade Católica Portuguesa, Porto

Referências Bibliográficas

Cullere, L., Escudero, A., Cacho, J., Ferreira, V. 2004. Gas chromatography olfactometry and chemical quantitative study of the aroma of six premium quality Spanish aged red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 1653-1660.

Darriet, P., Tominaga, T., Lavigne, V., Boidron, J.N., Dubourdieu, D. 1995. Identification of a powerful aromatic component of *Vitis vinifera* L. var. Sauvignon wines: 4-mercapto-4-methylpentan-2-one. *Flavour and Fragrance Journal*, 10: 385-392.

Fedrizzi, B., Pardon, K., Sefton, M., Elsey, G., Jeffery, D. 2009. First identification of 4-S-glutathionyl-4-methylpentan-2-one, a potential precursor of 2-mercapto-4-methylpentan-2-one, in Sauvignon blanc juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57: 991-995.

Ferreira V., Aznar M., Lopez R., Cacho J., 2001. Quantitative gas chromatography olfactometry carried out at different dilutions of an extract. Key differences in the odor profiles of four high-quality Spanish aged red wines. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 49: 4818-4824.

Fischer U., 2000. In: Berger R.G. (ed), 2007. *Flavour and Fragrance, Chemistry, Bioprocessing and Sustainability*. Springer, Berlin. p. 257.

Grant-Preece, P., Pardon, K., Capone, D., Cordente, A., Sefton, M., Jeffe-

ry, D., Elsey, G. 2010. Synthesis of wine thiol conjugates and labeled analogues: fermentation of the glutathione conjugate of 3-mercaptohexan-1-ol yields the corresponding cysteine conjugate and free thiol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58: 1383-1389.

Luisier, J.L., Buettner, H., Völker, S., Rausis, T., Frey, U. 2008. Quantification of cysteine S- conjugate of 3-sulfanylhexan-1-ol in must and wine of petite arvine vine by stable isotope dilution analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 2883-2887.

Moreira, N., Mendes, F., Guedes de Pinho, P., Vasconcelos, I. 2004. Analysis of sulphur compounds using gas chromatography with flame photometric detection. *Analytica Chimica Acta*, 513: 183-189.

Moreira, N., Pina, C., Mendes, F., Couto, J.A., Hogg, T., Vasconcelos, I. 2011. Volatile compounds contribution of *Hanseniaspora guilliermondii* and *Hanseniaspora uvarum* during red wine vinifications. *Food Control*, 22: 662-667.

Oliveira e Silva, H., Guedes de Pinho, P., Machado, B., Hogg, T., Marques, J.C., Câmara, J., Albuquerque, F., Silva Ferreira, A. 2008. Impact of forced-aging process on Madeira wine flavor. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 11989-11996.

Schneider R. 2001. Contribution à la connaissance du l'arôme et du potentiel aromatique du Melon B. (*Vitis vinifera* L.) et des vins de Muscadet. *Thèse de doctorat, Université de Montpellier II*.

Schnermann, P., Schieberle, P. 1997. Evaluation of key odorants in milk chocolate and cocoa cass by aroma extract dilution analyses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45: 867-872.

Subileau, M., Schneider, R., Salmon, J., Degryse, E. 2008. New insights on 3-mercaptohexanol (3MH) biogenesis in Sauvignon blanc wines: cys-3MH and (E)-hexen-2-al are not the major precursors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56:9230-9235.

Thibon, C., Shinkaruk, S., Jourdes, M., Bennetau, B., Dubourdieu, D., Tominaga, T. 2010.

Aromatic potential of botrytised white wine grapes: identification and quantification of new cysteine-S-conjugate flavor precursors. *Analytica Chimica Acta*, 660: 190-196.

Tominaga, T., Darriet, Ph., Dubourdieu, D. 1996. Identification de l'acetate de mercaptohexanol, composé a forte odeur de buis, intervenant dans l'arôme des vins de Sauvignon. *Vitis* 35: 207-210.

Tominaga, T., Balternweck-Guyot, R., Gachons, C.P., Dubourdieu, D. 2000. Contribution of volatile thiols to the aromas of white wines made from several *Vitis vinifera* grape varieties. *American Journal of Enology and Viticulture*, 51: 178-181.

Tominaga, T., Furrer, A., Henry, R., Dubourdieu, D., 1998. Identification of new volatile thiols in the aroma of *Vitis vinifera* L. var. Sauvignon blanc wines. *Flavour and Fragrance Journal*, 13: 159-162.

Yung, T.Y., Eiserich, J.P., Shibamoto, T. 1993. Volatile compounds isolated from edible Korean chamchwi (*Aster scaber* Thunb). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41: 1693-1697.