

Quantificação de elagitaninos de madeira de carvalho e conhaque eaux-de-vie

Extraído do artigo de investigação “Validation of a Mass Spectrometry Method to Identify and Quantify Ellagitanins in Oak Wood and Cognac during Aging in Oak Barrels.” (Food Chem., 2020)¹.

>>> Os elagitaninos são os principais compostos fenólicos extraíveis da madeira de carvalho. Estes compostos são responsáveis pela elevada durabilidade da madeira e podem contribuir para a qualidade organolética do vinho e da aguardente (cor, adstringência e acidez). Apesar de serem importantes, a sua presença e formas na aguardente destilada são pouco conhecidas. Assim, o presente estudo tem como objetivo desenvolver e validar uma metodologia de medição e quantificar os elagitaninos de madeira de carvalho no Conhaque. <<<

Devido às suas propriedades, os barris de carvalho têm feito parte da produção de vinho e aguardente por um longo período de tempo. Providenciam um bom isolamento térmico, têm uma impermeabilidade notável e contribuem principalmente para a qualidade organolética dos vinhos e das aguardentes. Durante o envelhecimento em barris de carvalho, a composição dos vinhos e da aguardente altera-se devido à libertação de compostos da madeira que afetam as suas propriedades organoléticas, como o aroma e a cor, e até mesmo a sensação e o sabor, como a adstringência e a acidez². Entre estes compostos, os elagitaninos (taninos hidrolisáveis) são responsáveis pela elevada durabilidade³, da madeira, apresentam atividade antioxidante⁴ e têm um impacto na acidez e na sensação⁵ de adstringência.

Até ao momento, foram identificados oito elagitaninos (Figura 1). Estes compostos foram amplamente estudados no vinho tinto⁶, mas pouco estudados na aguardente, especialmente no Conhaque «eaux-de-vie». Graças à sua elevada reatividade e semelhanças estruturais, é difícil detetar e quantificar elagitaninos na aguardente. Assim, o nosso estudo tinha como objetivo identificar e quantificar estes compostos em madeira de carvalho e aguardente destilada, utilizando um método rápido para o validar.

■ Método de quantificação de elagitaninos

O desafio do presente trabalho era o desenvolvimento de um método simples e reprodutível de quantificação de elagitaninos individuais na madeira de carvalho e eau-de-vie com seletividade elevada. A combinação cromatografia líquida de alta eficiência-tríplo quadrupolo LC-QQQ aparentava ser uma técnica poderosa para compostos fenólicos¹.

De forma a caracterizar elagitaninos em madeira de carvalho e Conhaque eaux-de-vie, foi estabilizado um método de espetrometria de massa.

A análise da madeira de carvalho foi efetuada em amostras de aduela armazenadas no exterior durante 36 meses. Para a análise do Conhaque «eaux-de-vie», foram usadas 20 amostras de eaux de vie envelhecidas em barris de carvalho durante 6 meses.

Todas as concentrações foram expressas em equivalente de vescalagina. A quantificação de elagitaninos individuais foi realizada no modo negativo e foram identificados a partir das seguintes massas: (-)-vescalagina e (-)-castalagina, monómeros e isómeros com uma razão

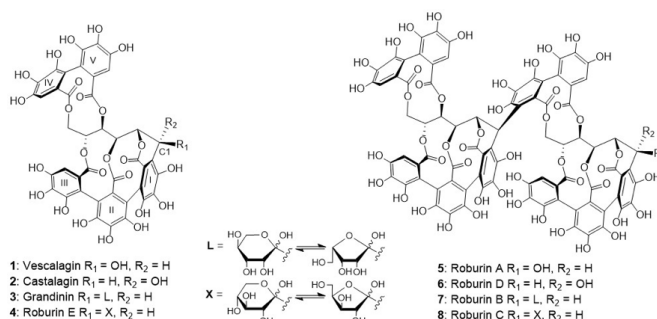


Figura 1. Estruturas químicas dos elagitaninos 1-8. O L e o X correspondem a Lixose e Xilose, respetivamente (adaptado de Gadrat *et al.*)¹.

massa/carga (m/z) idêntica de 933,0634 (C₄₁H₂₅O₂₆); (-)-grandinina e (-)-roburina E, monómeros glicosilados com estruturas similares e uma razão m/z idêntica de 1065,1057 (C₄₆H₃₃O₃₀); de igual modo, roburina A e D, dois dímeros com uma razão m/z idêntica de 1849,1241 (C₈₂H₄₉O₅₁), mas, ao serem moléculas polares, são mais facilmente observáveis em espetrometria de massa a uma razão m/z de 924,5620; por fim, roburina B e C, dois dímeros glicosilados com uma razão m/z idêntica de 1981,1664 (C₈₇H₅₇O₅₅), mas, tal como a roburina A e D, são moléculas polares e, por essa razão, são mais facilmente observáveis a uma razão m/z de 990,5831. Foram feitas observações para os oito elagitaninos de madeira de carvalho em todas as amostras, e todas as concentrações foram medidas utilizando a curva de calibração de vescalagina. Na Figura 2 podem ver-se os oito cromatogramas de elagitaninos conforme a sua forma e tempo de retenção encontrados nos extratos de madeira de carvalho analisados (Figura 2a) e em Conhaque eau-de-vie (Figura 2b). O método de quantificação foi validado¹ em termos de LOD, LOQ, sensibilidade, linearidade no intervalo de trabalho, repetibilidade intradiária e precisão intradiária. Para determinar a precisão intradiária, foram injetadas sucessivamente cinco repetições de duas concentrações intermédias (2 mg/L e 20 mg/L) da curva de calibração. A repetibilidade intradiária (RSD) foi de <2 % para 2 mg/L e <1 % para 20 mg/L, assegurando assim uma boa repetibilidade do método.

■ Determinação de elagitaninos em amostras de madeira de carvalho

Para examinar os elagitaninos em madeira de carvalho, foram estudadas 9 aduelas de diferentes posições numa paleta de madeira: 3 amostras na base, 3 amostras no meio e 3 amostras no topo da paleta¹. Todas as concentrações foram expressas como miligramas de equivalente de vescalagina por gramas de madeira na base do fator de diluição. As concentrações totais de elagitaninos individuais variavam desde 10,37 a 18,77 mg/g de equivalentes de vescalagina.

A análise de variância ANOVA mostrou que o teor de elagitaninos dependia da posição da madeira na paleta. A p <0,05, o teor de elagitaninos totais é significativamente

diferente conforme a posição da aduela dentro da paleta: o teor aumenta desde o topo (11,27 mg/g de madeira em equivalente de vescalagina) para a base da paleta (16,72 mg/g de madeira em equivalente de vescalagina) (Figura 3). Este fator também se verificou no caso da castalagina e da roburina D. Para outros elagitaninos individuais, as diferenças observadas eram menores ou não eram significativas. Este estudo preliminar ajudou a otimizar a amostragem da peça de madeira para alcançar uma boa representatividade de concentrações de elagitaninos em madeira de carvalho.

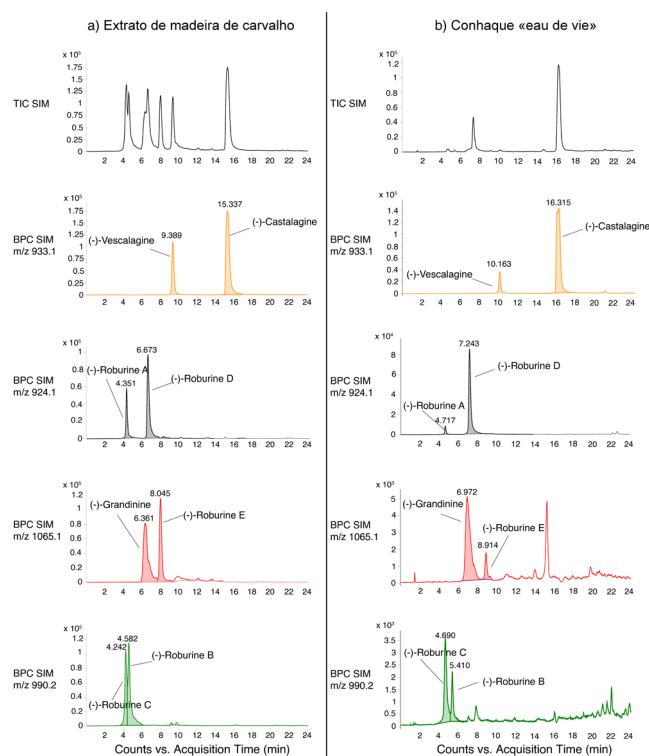


Figura 2. LC-MS/MS negativa de a) extrato de madeira de carvalho e b) Conhaque eau-de-vie correspondente a iões $[M - H]^-$ de elagitaninos (adaptado de Gadrat *et al.* 2020¹).

■ Determinação de elagitaninos em amostras de Eaux-de-vie

O método desenvolvido no presente estudo foi também aplicado para quantificar elagitaninos em Conhaque. Foram analisadas vinte amostras de Conhaque «eaux-de-vie» jovem, envelhecido em barris, utilizando quatro repetições para cada «eau-de-vie». Detetaram-se elagitaninos em todas as amostras. Os resultados mostraram que os «eaux-de-vie» jovens continham todos os oito elagitaninos. No entanto, cada elagitanino individual tinha o seu próprio padrão de extração. A castalagina compreendia cerca de 40 a 70 % do total de elagitaninos extraídos. Este monómero é o elagitanino maioritário na madeira de carvalho e é mais estável do que o seu isómero, a vescalagina, devido à posição do hidróxilo no carbono 1. O dímero roburina D e o monómero glicosilado grandinine são os elagitaninos mais extraíveis a seguir à castalagina. No geral, a concentração total de elagitaninos variava desde 1,9 a 9,3 mg/L em equivalentes de vescalagina. Uma vez que as concentrações de elagitaninos individuais no Conhaque não tinham sido analisadas antes do presente estudo, os valores aqui observados são os primeiros a ser registados para a aguardente de Conhaque. Em brandies, a soma de vescalagina e castalagina tem sido registada como estando entre 9 a 12 mg/L de elagitaninos em equivalentes de ácido gálico⁷. Num vinho tinto francês Cabernet Sauvignon, a soma das concentrações de elagitaninos individuais variou entre 0,6 a 15,5 mg/L em

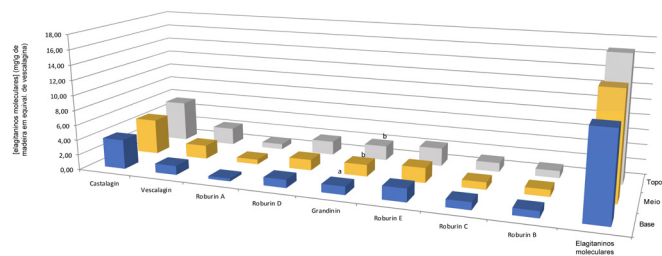


Figura 3. Teor dos oito principais elagitaninos da madeira extraídos das aduelas nos três níveis distintos (base, meio, topo) na paleta; a-c indica as diferenças significativas entre as diferentes posições ($p < 0,05$) (adaptado de Gadrat *et al.*, 2020¹).

equivalentes de castalagina para um envelhecimento em barris de carvalho de seis e doze meses, respetivamente. Vinhos Cabernet Sauvignon italianos e americanos apresentaram uma soma de 0,5 a 5,76 mg/L e 0,6 a 12,4 mg/L em equivalentes de castalagina após um período de envelhecimento de entre seis e doze meses, respetivamente. Tal como no vinho tinto, a castalagina é o componente mais abundante em «eau-de-vie» e representa 68 a 79 % da fração de elagitaninos totais⁸.

■ Conclusão

Pela primeira vez, foram quantificados com precisão os elagitaninos do carvalho em Conhaque «eaux-de-vie», utilizando um método de espectrometria rápida e exato. Este método validado foi aplicado com sucesso à deteção e quantificação dos oito elagitaninos principais do carvalho em diferentes amostras de madeira de carvalho e «eaux-de-vie». ■

Mathilde Gadrat^{1,2}, *Joel Lavergne*², *Catherine Emo*², *Pierre-Louis Teissedre*¹, *Kleopatra Chira*¹

1 Unité de recherche CEnologie, EA 4577, USC 1366 INRAE, ISVV, Univ. Bordeaux, Bordeaux INP, F33882 Villenave d'Ornon France
2 Courvoisier SAS, 2 places du château, 16200 Jarnac, France

- Gadrat, M.; Lavergne, J.; Emo, C.; Teissedre, P.-L.; Chira, K. Validation of a Mass Spectrometry Method to Identify and Quantify Ellagitannins in Oak Wood and Cognac during Aging in Oak Barrels. *Food Chem.* 2020, 128223. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128223>.
- Li, S.-Y.; Duan, C.-Q. Astringency, Bitterness and Color Changes in Dry Red Wines before and during Oak Barrel Aging: An Updated Phenolic Perspective Review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2019, 59 (12), 1840–1867. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1431762>.
- Scalbert, A.; Monties, B.; Dupouey, J. L.; Becker, M. Polyphénols Extractibles Du Bois de Chêne : Variabilité Interspécifique, Interindividuelle et Effet de La Duraminisation. *Bull. Liaison Groupe Polyphenol* 1986, No. 13, 617–619.
- Alañón, M. E.; Castro-Vázquez, L.; Díaz-Maroto, M. C.; Gordon, M. H.; Pérez-Coello, M. S. A Study of the Antioxidant Capacity of Oak Wood Used in Wine Ageing and the Correlation with Polyphenol Composition. *Food Chem.* 2011, 128 (4), 997–1002. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.005>.
- Chira, K.; Teissedre, P.-L. Chemical and Sensory Evaluation of Wine Matured in Oak Barrel: Effect of Oak Species Involved and Toasting Process. *Eur. Food Res. Technol.* 2015, 240 (3), 533–547. <https://doi.org/10.1007/s00217-014-2352-3>.
- González-Centeno, M. R.; Chira, K.; Teissedre, P.-L. Comparison between Malolactic Fermentation Container and Barrel Toasting Effects on Phenolic, Volatile, and Sensory Profiles of Red Wines. *J. Agric. Food Chem.* 2017, 65 (16), 3320–3329. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b05497>.
- Canas, S.; Casanova, V.; Pedro Belchior, A. Antioxidant Activity and Phenolic Content of Portuguese Wine Aged Brandies. *J. Food Compos. Anal.* 2008, 21 (8), 626–633. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2008.07.001>.
- González-Centeno, M. R.; Chira, K.; Teissedre, P.-L. Ellagitannin Content, Volatile Composition and Sensory Profile of Wines from Different Countries Matured in Oak Barrels Subjected to Different Toasting Methods. *Food Chem.* 2016, 210, 500–511. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.139>.