

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

INSTITUTO DE QUÍMICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**Estudo dos componentes voláteis de vinhos espumantes Moscatéis através
do emprego de microextração em fase sólida e cromatografia gasosa**

Karine Primieri Nicolli

Porto Alegre, fevereiro de 2013.

Dissertação de Mestrado – Karine Primieri Nicolli

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Karine Primieri Nicolli

**Estudo dos componentes voláteis de vinhos espumantes Moscatéis através
do emprego de microextração em fase sólida e cromatografia gasosa**

Dissertação de Mestrado

Profa. Dra. Cláudia Alcaraz Zini
Orientadora

Prof. Dr. Vitor Manfroi
Co-orientador

Porto Alegre, fevereiro de 2013.

A presente dissertação foi realizada inteiramente pelo autor, exceto as colaborações as quais serão devidamente citadas nos agradecimentos, no período entre (março/2011) e (fevereiro/2013), no Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul sob Orientação da Professora Doutora Claudia 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:

Prof. Dr. Eduardo Carasek

Prof. Dra. Elina Caramão

Prof. Dra. Rosângela Assis Jacques

Prof. Dra. Simone Hickmann Flores

Prof. Dra. Claudia Alcaraz Zini

Prof. Dr. Co-orientador Vitor Manfroi

Karine Primieri Nicolli

AGRADECIMENTOS

À professora Dra. Claudia Alcaraz Zini, grande profissional e exemplo de dedicação, pela orientação, confiança e incentivo durante todo o projeto.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) Uva e Vinho, em especial ao pesquisador Dr. Mauro Zanus, pelo apoio no que diz respeito ao acesso às amostras e informações necessárias para a execução deste trabalho.

A todas as vinícolas e importadoras que colaboraram com o fornecimento de amostras e informações para a execução deste trabalho.

A Associação Brasileira de Enologia (ABE) pela doação de boa parte dos espumantes moscatéis nacionais.

Ao professor Dr. Vitor Manfroi (ICTA/UFRGS) pela co-orientação, pelos esclarecimentos em relação à elaboração de vinhos e pelas contribuições para este trabalho.

À professora Dra. Simone Flores (ICTA/UFRGS) pelos esclarecimentos relativamente à análise estatística multivariada.

Aos alunos de iniciação científica: Juliana Zoch, Mayara Closs e Rafael Huff pela ajuda durante a realização deste trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Química Analítica Ambiental e Oleoquímica (LAAO), especialmente à Juliane Elisa Welke, Isadora Dalla Vecchia Torri, Janaína Aith Barbara e ao Rafael Dutra Soares pela ajuda na parte técnica e amizade.

A CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) e FAPERGS (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul) pelo auxílio financeiro.

Aos meus pais, Laurindo e Leonida, e irmã, Camila, mesmo à distância, pelo amor, incentivo e apoio em meus estudos.

Ao meu noivo, Denis Figueiredo Fernandes, com quem os meus dias são mais felizes, pela companhia durante essa jornada.

Enfim a todos que direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	iv
SUMÁRIO	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
ÍNDICE DE TABELAS	ix
ABREVIACÕES	x
RESUMO	xi
ABSTRACT	xii
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 OBJETIVO GERAL.....	3
1.2 OBJETIVO ESPECÍFICO	3
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1 ESPUMANTE MOSCATEL	4
2.2 AROMAS.....	7
2.3 CONSERVANTES EM VINHOS E ESPUMANTES.....	9
2.3.1 Agentes Antioxidantes	10
2.3.2 Agentes Antimicrobianos	10
2.4 TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO E ANÁLISE.....	12
2.4.1 Técnicas de extração de voláteis em vinho	12
2.4.2 Técnicas de análise de voláteis em vinho.....	14
2.5 TÉCNICAS DE ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	16
2.5.1 Análise dos Componentes Principais	17
2.5.2 Razão de Fisher	18
3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	20
3.1 REAGENTES E MATERIAIS	20
3.2 PREPARAÇÃO E EXTRAÇÃO DA AMOSTRA	20
3.3 ANÁLISES CROMATOGRÁFICAS	22
3.4 ANÁLISE DOS COMPONENTES PRINCIPAIS.....	25
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
4.1 IDENTIFICAÇÃO TENTATIVA DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS PRESENTES EM ESPUMANTE MOSCATEL	27
4.1.1 Cromatografia Gasosa Monodimensional acoplada a Detector de Espectrometria de Massas	27
4.1.2 Cromatografia Gasosa Bidimensional Abrangente acoplada com Espectrometria de Massas por Tempo de Voo.....	36
4.2 ANÁLISE DOS COMPONENTES PRINCIPAIS APLICADA AOS DADOS OBTIDOS POR CROMATOGRAFIA GASOSA MONODIMENSIONAL E BIDIMENSIONAL	44

4.2.1	Análise dos Componentes Principais aplicada aos dados obtidos por Cromatografia Gasosa Monodimensional acoplada com Espectrometria de Massas.....	44
4.2.2	Análise dos Componentes Principais aplicada aos dados obtidos por Cromatografia Gasosa Bidimensional Abrangente acoplada a Detector de Espectrometria de Massas por Tempo de Voo.....	50
5.	RESUMO DOS PRINCIPAIS RESULTADOS.....	56
6.	CONCLUSÃO.....	61
7.	PRODUÇÃO CIENTÍFICA.....	63
8.	SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS.....	63
9.	REFERÊNCIAS.....	64
	ANEXO I. Identificação positiva e tentativa dos compostos voláteis do <i>headspace</i> de 24 espumantes Moscatéis e um vinho Moscato Giallo, obtidos pelo emprego de HS-SPME e 1D-GC/qMS (coluna cromatográfica de 60 m). Condições cromatográficas no item 3.3.....	69
	ANEXO II. Percentuais relativos de áreas normalizadas dos componentes voláteis do <i>headspace</i> de 24 espumantes Moscatéis e um vinho Moscato Giallo empregando HS-SPME e 1D-GC/qMS (coluna cromatográfica de 60 m). Condições cromatográficas no item 3.3.....	71
	ANEXO III. Composição qualitativa e semi-quantitativa do <i>headspace</i> do espumante Moscatel “a” empregando HS-SPME e GC×GC/TOFMS.....	75
	ANEXO IV. Cromatograma dos compostos voláteis do espumante Moscatel nacional “o”.....	83
	ANEXO V. Cromatograma dos compostos volátil do espumante Moscatel nacional “i”.....	84

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Etapas para produção de espumante Moscatel	5
Figura 2. Evolução do consumo de espumantes do Rio Grande do Sul e importados desde 1993 até 2011	6
Figura 3. Transformação do ácido sórbico por bactéria láctica em vinhos e espumantes	12
Figura 4. Representação de um gráfico de escores (A) que diz respeito às amostras 1, 2, 3 e 4 e seu respectivo gráfico de pesos (B) relacionado às variáveis D, E, F, G que diferenciam as amostras 1, 2, 3 e 4	18
Figura 5. Cromatograma representativo do perfil volátil de um espumante Moscatel nacional completo (“espumante a”) em (A), dividido e ampliado em três partes, de acordo com o tempo de retenção dos compostos voláteis tentativamente identificados: (B) de 0 a 15 min; (C) de 15 a 30 min; (D) de 30 a 48 min. As condições para a extração dos compostos encontram-se no item 3.2. As condições cromatográficas para esta análise em coluna de 30 metros estão descritas no item 3.3	28
Figura 6. Cromatograma representativo do perfil volátil de um espumante Moscatel nacional completo (“espumante a”) em (A), dividido e ampliado em três partes, de acordo com o tempo de retenção dos compostos voláteis tentativamente identificados: (B) de 0 a 15 min; (C) de 15 a 30 min; (D) de 30 a 48 min. As condições para a extração dos compostos encontram-se no item 3.2. As condições cromatográficas para esta análise em coluna de 60 metros estão descritas no item 3.3	29
Figura 7. Análise semi-quantitativa dos compostos voláteis dos espumantes Moscatéis conforme os grupos de compostos (ésteres, ácidos, álcoois, terpenos, fenóis, cetonas, norisoprenóides e outros). Descrição da análise semi-quantitativa no item 3.3 para a coluna DB-5 de 60 m. Vinhos “b” e “c” são espumantes estrangeiros e “y” corresponde a um vinho Moscato estrangeiro, sendo os demais espumantes Moscatéis, todos brasileiros	34
Figura 8. Diagrama de cores correspondente aos compostos voláteis extraídos por HS-SPME de espumante Moscatel nacional (espumante “a”) obtido por HS-SPME-GC×GC/TOFMS. Compostos majoritários deste espumante: acetato de etila (1), 3-metil-1-butanol (2), hexanoato de etila (3), ácido hexanoico (4), 1-octanol, ácido sórbico, sorbato de etila, linalol (5), hotrienol (6), feniletanol (7), óxido de nerol (8), succinato de dietila (9), α -terpineol (10), octanoato de etila (11), ácido octanoico (12), ácido decanoico (13), decanoato de etila (14). Condições cromatográficas estão descritas no item 3.3 e a numeração dos picos cromatográficos não diz respeito às numerações de componentes de tabelas deste trabalho ..	37
Figura 9. Separação cromatográfica de quatro componentes voláteis (succinato de dietila (1), α -terpineol (2), octanoato de etila (3), ácido octanoico (4)) de vinho espumante Moscatel nacional (espumante “a”) apresentada em porção ampliada do cromatograma obtido por 1D-GC/qMS (separação parcial dos compostos em (A)) e por GC×GC/TOFMS (separação quase completa dos compostos em (B))	38
Figura 10. Partes de diagramas de cores da composição volátil do vinho espumante Moscatel, que apresentam co-eluições na primeira dimensão de (A) feniletanol (1, $IR_{cal} = 1119$) com mircenol (2, $IR_{cal} = 1121$), (B) succinato de etila (3, $IR_{cal} = 1181$) e um éster (4, $IR_{cal} = 1184$), (C) citronelol (5, $IR_{cal} = 1230$) e nerol (6, $IR_{cal} = 1230$), (D) um terpeno (7, $IR_{cal} = 1257$) e acetato de 2-feniletila (8, $IR_{cal} = 1257$)	40

Figura 11. Comparação do espumante “d” com o espumante “u”, na qual em (A) observa-se o cromatograma dos picos modulados dos íons extraídos (íon 56 para 1-octanol e íon 59 para óxido de *cis*-linalol), bem como parte do diagrama de cores que mostra os picos cromatográficos de dois componentes voláteis do espumante Moscatel “d”: 1-octanol ($^1t_R= 11,41$ min e $^2t_R = 3,92$ s) e óxido de *cis*-linalol ($^1t_R= 11,48$ min e $^2t_R = 4,12$ s) e em (C) observa-se um cromatograma semelhante ao (A), só que neste caso o 1-octanol apresenta-se em menor concentração do que o óxido de *cis*-linalol, sendo este o espumante Moscatel “u”. (B) cromatograma monodimensional do espumante “d” com os espectros de massas obtidos experimentalmente (B1) e da literatura (B2). (D) cromatograma monodimensional do espumante “u” com os espectros de massas obtidos (D1) e da literatura (D2)41

Figura 12. Coeluição do sorbato de etila (1) ($^1t_R= 12,18$ min e $^2t_R = 4,76$ s) com linalol (2) ($^1t_R= 12,25$ min e $^2t_R = 4,04$ s) na primeira dimensão e separação destes compostos na segunda dimensão. Ao lado cromatograma monodimensional com espectros de massas obtidos experimentalmente para a mistura dos dois componentes (A) e do composto tal reportado na literatura científica (B)42

Figura 13. Diagrama de cores demonstrando a distribuição estruturada das classes de compostos voláteis de vinhos Merlot obtido com um conjunto de colunas DB-Wax (polar) × DB-17ms (polaridade média).....43

Figura 14. Diagrama de cores que demonstra a distribuição pouco estruturada das classes de compostos voláteis de espumante Moscatel “a” obtido com o conjunto de colunas apolar × mediamente polar. Demais condições cromatográficas estão descritas no item 3.3.....44

Figura 15. Gráficos resultantes da análise dos componentes principais a partir das áreas cromatográficas normalizadas percentuais relativas dos compostos voláteis dos espumantes Moscatéis (A) distinção entre as amostras “o”, “s” e as demais e (B) relação entre os terpenos e as amostras de espumantes46

Figura 16. Gráficos resultantes da análise dos componentes principais a partir das áreas cromatográficas normalizadas percentuais relativas dos compostos voláteis dos espumantes Moscatéis (A) distinção entre as amostras “v”, “d”, “t” e “x” das demais e (B) relação entre os álcoois e as amostras vinho espumante Moscatel48

Figura 17. Gráficos resultantes da análise dos componentes principais a partir das áreas cromatográficas normalizadas percentuais relativas dos compostos voláteis dos espumantes Moscatéis (A) distinção entre a amostra “i” das demais amostras (B) relação entre os ésteres e as amostras vinho espumante.49

Figura 18. Gráficos resultantes da análise dos componentes principais a partir das áreas cromatográficas normalizadas relativas de alguns ésteres e terpenos voláteis dos espumantes Moscatéis que apresentaram as maiores razões de Fisher (A) distinção das amostras “i”, “o”, “s” em relação às demais e (B) relação entre os compostos voláteis com maior razão de Fisher e as amostras vinho espumante53

Figura 19. Gráficos resultantes da análise dos componentes principais a partir das áreas cromatográficas normalizadas relativas de terpenos voláteis dos vinhos espumantes Moscatéis (A) distinção entre as amostras “f”, “o” e “z” e as demais e (B) relação entre os terpenos com maior razão de Fisher e as amostras vinho espumante55

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela I. Comparativo de comercialização de espumantes por empresas do Rio Grande do Sul e importados nos últimos anos	7
Tabela II. Vinho e espumantes adquiridos no mercado nacional e importado para estudo de compostos voláteis por HS-SPME e cromatografia gasosa	21
Tabela III. Classificação das vinícolas quanto à produção própria ou terceirizada do espumante Moscatel nacional	26
Tabela IV. Compostos voláteis tentativamente identificados do espumante Moscatel nacional “a” e importado “b” empregando-se HS-SPME e 1D-GC/qMS (condições experimentais nos itens 3.2 e 3.3, respectivamente), apresentados de acordo com sua ordem de eluição nas colunas DB-5 de 30 m e 60 m	30
Tabela V. Pesos obtidos na PCA conforme o grupo de compostos voláteis (terpenos, álcoois e ésteres majoritários) em espumantes Moscatéis analisados por 1D-GC/qMS	47
Tabela VI. Pesos obtidos na PCA feita com os compostos voláteis tentativamente identificados, em vinhos espumantes Moscatéis analisados por GC×GC/TOFMS, cujas razões de Fisher foram maiores do que 16.000	53
Tabela VII. Pesos obtidos na PCA feita com as áreas cromatográficas normalizadas dos terpenos tentativamente identificados em vinhos analisados por GC×GC/TOFMS, cujas razões de Fisher foram maiores do que 1.000	54

ABREVIACÕES

ABE	Associação Brasileira de Enologia
DVB/PDMS	Divinilbenzeno podimetilsiloxano
DB-5	Coluna capilar de fase estacionária composta por 5% fenilmetilpolisiloxano e 95% de dimetilpolisiloxano
DB-WAX	Coluna capilar de fase estacionária composta por polietileno glicol
¹ D	Primeira dimensão
² D	Segunda dimensão
GC	Cromatografia gasosa (do inglês, <i>gas chromatography</i>)
GC/qMS ou 1D-GC/MS	Cromatografia gasosa monodimensional acoplada à espectrometria de massas (do inglês, <i>gas chromatography with mass spectrometry</i>)
GC×GC	Cromatografia gasosa bidimensional abrangente (do inglês, <i>comprehensive two-dimensional gas chromatography</i>)
GC×GC/TOFMS	Cromatografia gasosa bidimensional abrangente acoplada à espectrometria de massas por tempo-de-voo (do inglês, <i>comprehensive two-dimensional gas chromatography with time-of-flight mass spectrometric detector</i>)
GC-O	Cromatografia gasosa e olfatometria (do inglês, <i>gas chromatography - olfactometry</i>)
HS-SPME	Microextração em fase sólida no modo <i>headspace</i> (do inglês, <i>headspace solid phase micro extraction</i>)
IBRAVIN	Instituto Brasileiro do Vinho
ICP-MS	Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (do inglês, <i>inductively-coupled plasma mass spectrometry</i>)
RI	Índice de retenção (do inglês, <i>retention index</i>)
LLE	Extração líquido-líquido (do inglês, <i>liquid-liquid extraction</i>)
LTPRI	Índices de retenção com programação linear de temperatura (do inglês, <i>linear temperature programmed retention indices</i>)
MEPS	Microextração por sorvente empacotado (do inglês, <i>micro extraction by packed sorbent</i>)
m/z	Razão massa/carga
PCA	Análise de componentes principais (do inglês, <i>principal component analysis</i>)
PDMS	Podimetilsiloxano
SBSE	Extração por sorção com barra magnética (do inglês, <i>stir bar sorptive extraction</i>)
SPE	Extração em fase sólida (do inglês, <i>solid phase extraction</i>)
SPME	Microextração em fase sólida (do inglês, <i>solid phase micro extraction</i>)
TIC	Cromatograma de corrente iônica total (do inglês, <i>total ion current chromatogram</i>)
¹ t _R	Tempo de retenção na primeira dimensão
² t _R	Tempo de retenção na segunda dimensão

RESUMO

O espumante Moscatel é conhecido por sua tipicidade aromática e se destaca dos demais também pela sua importância econômica e social na região sul do Brasil, entretanto, não há relatos na literatura científica sobre os componentes voláteis do *headspace* deste vinho. Este trabalho caracterizou qualitativamente os compostos voláteis de 24 espumantes Moscatéis brasileiros de várias procedências (52,4% das vinícolas que têm produção própria de vinho e 26,5% do total de vinícolas da região Sul) através de microextração em fase sólida (SPME) e cromatografia gasosa monodimensional (1D-GC) e bidimensional abrangente (GC×GC) com detectores de espectrometria de massas, tendo-se verificado um perfil volátil semelhante para estas bebidas, o que demonstrou a homogeneidade do produto nacional no conjunto de amostras analisado. As classes predominantes foram ésteres e ácidos, seguidas de terpenos e álcoois, dos quais se destacam 17 compostos majoritários. O uso de análise de componentes principais apontou caminhos para a discriminação entre as amostras de espumantes devido à presença de compostos específicos, os quais poderão ser potenciais marcadores de qualidade em estudos futuros, relativamente à variedade ou região de produção destes vinhos. Várias co-eluições verificadas na 1D-GC foram resolvidas por GC×GC, sendo o número de componentes tentativamente identificados por GC×GC aproximadamente cinco vezes maior do que na monodimensional.

ABSTRACT

Moscatel sparkling wine is known for its typical aroma and stands out among other sparkling wines also because of its economic and social importance in the South region of Brazil, even though there are no reports in the scientific literature related to its volatile compounds. Solid phase microextraction (SPME), one-dimensional gas chromatography (1D-GC) and comprehensive two-dimensional gas chromatography (GC×GC) with mass spectrometric detector has been used to qualitatively characterize the volatile compounds of 24 Brazilian Moscatel sparkling wines (52,4% of the wineries that produce their own wine and 26,5% of the total of wineries of the Southern region). Results have shown a similar volatile profile for the sparkling wines investigated and this demonstrates that the national product is homogeneous in this regard for this set of samples under study. Predominant classes were ésters and acids, followed by terpenes and alcohols and 17 compounds were considered the major ones. Principal component analysis has pointed out ways to discriminate among sparkling wine samples due to the presence of specific compounds, which may be considered potential markers for variety, region or for quality control of wine production in future studies. Several co-elutions found in 1D-GC were resolved by GC×GC, while the number of tentatively identified components was five times higher in the two-dimensional technique when compared to 1D-GC.

1. INTRODUÇÃO

A comercialização de vinhos espumantes elaborados no Rio Grande do Sul é responsável por cerca de 90% da produção nacional de vinhos e representa um nicho de mercado em franca expansão, tendo mostrado um crescimento de 12% em 2010. Neste mesmo ano, a comercialização dos espumantes Moscatéis teve um incremento de 17%, o que pode ser atribuído à tipicidade e intensidade aromática deste espumante, que encontra grande aceitação junto ao consumidor brasileiro¹. O processo de elaboração de espumante Moscatel teve sua origem no processo Asti da região do Piemonte, na Itália e é resultado de uma única fermentação alcóolica do mosto de uvas da variedade Moscato.

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. O espumante Moscatel se destaca devido ao seu intenso aroma frutado e floral^{2,3}, entretanto, apesar de suas características diferenciadas e importância econômica, poucos estudos relacionados ao seu aroma têm sido feitos⁴⁻⁶. Técnicas analíticas vêm sendo desenvolvidas e aprimoradas para a realização de estudos sobre o aroma de diferentes produtos da indústria vinícola^{7,8}. Alternativas complementares à técnica clássica de extração líquido-líquido (do inglês *liquid-liquid extraction*, LLE), bem como à extração em fase sólida (do inglês, *solid phase extraction*, SPE) têm sido utilizadas para a extração de compostos voláteis provenientes desta indústria. Uma das mais amplamente empregadas é a técnica de microextração em fase sólida no modo *headspace* (HS-SPME, do inglês *headspace solid phase micro extraction*)⁸. *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 fechado⁹.

Diversas investigações referentes à caracterização do perfil aromático de vinhos e espumantes¹⁰⁻¹⁴, bem como sobre o uso do perfil volátil de vinhos para sua diferenciação varietal e verificação de autenticidade têm sido realizadas^{15,16}. A composição do aroma do vinho e, portanto, sua qualidade, é influenciada por muitos fatores tais como a variedade de uva, as condições edafoclimáticas (condições de clima e solo) e o processo de vinificação¹⁵. Muitos processos de produção são trabalhosos e caros e ficam sujeitos à adulteração ou reprodução, o que é mais uma razão para a crescente demanda por estudos sobre a qualidade destas bebidas e investigação de sua autenticidade^{16,17}. A identificação de componentes do aroma de vinhos e

também a determinação da quantidade relativa de cada componente podem ser ferramentas úteis na diferenciação de vinhos varietais e para a fixação de critérios de autenticidade e qualidade, visando à melhoria da qualidade dos vinhos, bem como visando evitar fraudes relacionadas a misturas com vinhos de menor custo ou relativas à origem da bebida¹⁶.

Apesar da importância econômica e social dos espumantes na região sul do Brasil e da necessidade de caracterização destes produtos, poucos estudos foram realizados para elucidar os componentes voláteis presentes no *headspace* destes vinhos. Este é o primeiro trabalho de caracterização química de compostos voláteis de espumante Moscatel, que visa informar quem são os principais componentes voláteis destes vinhos, bem como apontar semelhanças e diferenças entre estas bebidas, avaliando vinhos de diferentes procedências, através de análise qualitativa dos mesmos. Além deste trabalho, apenas outra investigação sobre mudança do perfil de compostos voláteis durante o processo de produção de vinho espumante Moscatel vem sendo desenvolvido por Soares e *et al*¹⁸.

A cromatografia gasosa acoplada ao detector de espectrometria de massas (do inglês, *gas chromatography with mass spectrometry*, 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 (1D-GC/MS)^{13,14,19-21}. Nos últimos anos, a cromatografia gasosa bidimensional abrangente acoplada a detector de espectrometria de massas por tempo de voo (GC×GC/TOFMS, do inglês, *comprehensive two-dimensional gas chromatography with time-of-flight mass spectrometric detector*) tem sido também empregada, gerando resultados superiores, devido à sua melhor capacidade de pico, sensibilidade, seletividade e resolução^{10,11,15,22,23}. Além disso, o uso de cromatografia gasosa, tanto monodimensional quanto bidimensional, combinada com análise de componentes principais (do inglês *principal component analysis*, PCA) vem sendo constantemente explorado em estudos relacionados a voláteis de bebidas, como por exemplo, diferenciação entre vinhos brancos^{21,24}, caracterização do perfil volátil de vinhos Merlot brasileiros¹⁵ e no estudo de autenticidade e adulteração de vinhos do gelo¹⁷.

1.1 OBJETIVO GERAL

Esta dissertação visa investigar a composição qualitativa dos componentes voláteis de vinhos espumantes Moscatéis, a fim de abrir perspectivas para a descoberta de uma possível assinatura química, bem como de marcadores de qualidade e/ou de origem para estes vinhos. Para tanto, empregou-se microextração em fase sólida no modo *headspace* (HS-SPME) e os recursos da cromatografia gasosa monodimensional com detector de espectrometria de massas quadrupolar, (1D-GC/qMS) e da cromatografia gasosa bidimensional abrangente com detector de espectrometria de massas por tempo-de-voe (GC×GC/TOFMS), juntamente com análise de componentes principais.

1.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

- Analisar os compostos voláteis dos espumantes Moscatéis brasileiros procedentes da região sul do Brasil, utilizando HS-SPME, 1D-GC/qMS.
- Analisar os compostos voláteis de dois espumantes Moscatéis e um vinho Moscato Giallo procedentes da Itália, utilizando HS-SPME, 1D-GC/qMS.
- Analisar, de modo preliminar, os compostos voláteis dos espumantes Moscatéis tanto nacionais quanto importados por GC×GC/TOFMS.
- Caracterizar qualitativamente a composição da fração volátil de vinhos espumantes Moscatéis de origem nacional e importada.
- Investigar semelhanças e diferenças dos voláteis do *headspace* destes espumantes através de inspeção manual dos cromatogramas e também através do emprego de análise de componentes principais (PCA).
- Investigar potenciais componentes voláteis marcadores dos espumantes Moscatéis nacionais e também para espumantes produzidos apenas com uva Moscato Giallo e para espumantes produzidos apenas com uva Moscato Bianco.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 ESPUMANTE MOSCATEL

O processo de vinificação dos espumantes Moscatéis brasileiros gera um produto muito semelhante ao elaborado na região do Piemonte, na Itália, chamado de processo Asti. O primeiro espumante Moscatel elaborado na Serra Gaúcha em Garibaldi, chamado Asti Spumanti Martini, foi lançado no mercado brasileiro em 1978. O consumo de espumante Moscatel cresceu desde então e, principalmente nos últimos anos, tem experimentado um significativo crescimento, de forma que a região produtora, na Serra Gaúcha, segue investindo na comercialização do mesmo²⁵.

A lei nº 10.970, de 12 de novembro de 2004 define como vinho Moscato espumante ou Moscatel espumante o vinho cujo anidrido carbônico (CO₂) provém da fermentação em recipiente fechado, de mosto ou de mosto conservado de uva Moscatel, resultante de um processo com pressão mínima de quatro (4) atmosferas a 20°C e com um teor alcoólico de 7 a 10% (v/v), e no mínimo 20 g de açúcar remanescente²⁶.

O vinho Moscatel espumante é resultado de uma única fermentação alcoólica do mosto de uva da variedade Moscato, sendo que outros processos de fabricação de espumantes (*Champenoise* e *Charmat*) empregam duas etapas de fermentação. Durante a única fermentação do processo de vinificação do espumante Moscatel, parte do processo ocorre em tanque aberto e a parte final em tanque fechado. Na verdade, o processo *Asti*, que se utilizava, era o chamado *Sistema Mensio*, reconhecido internacionalmente como o sistema mais tradicional para elaborar espumantes com este perfil aromático³. A **Figura 1** mostra as etapas envolvidas no processo de elaboração do espumante Moscatel. A elaboração dos vinhos espumantes Moscatéis brasileiros é feita com base nesse *Sistema Mensio* com algumas adaptações, conforme se descreve no texto a seguir. Inicialmente, obtém-se um mosto límpido e de qualidade, a partir de uvas Moscatéis bem maduras (Moscato branco, principalmente). O passo a seguir é refrigerá-lo a 0 ou -1 °C para evitar que se inicie a fermentação. Posteriormente, são adicionadas as leveduras para dar início à fermentação alcoólica à temperatura ambiente. Após os teores de nitrogênio terem diminuído por volta de 30,0%, devido à ação das leveduras, o suco é centrifugado ou filtrado, colocado novamente no tanque aberto e inoculado para fermentar até uma graduação alcoólica próxima de 6,0-7,0%. O produto dessa etapa pode ser armazenado a 0°C e transposto para a próxima etapa em lotes, que serão dimensionados de acordo com a capacidade do tanque da próxima etapa.

Adicionam-se novamente leveduras para a etapa realizada em tanques fechados de aço inoxidável de paredes espessas (autoclaves), os quais permitem o aprisionamento do gás carbônico a altas pressões em temperaturas que variam de 14 a 18°C. As válvulas são fechadas até se obter cerca de cinco (5) atmosferas de pressão e 7 a 9% de álcool. Neste ponto, a fermentação é interrompida através da redução brusca da temperatura (até 0 °C) e da filtração esterilizante (no caso específico deste trabalho, membrana com porosidade de 0,45 µm) - restando cerca de 65 a 75 gramas de açúcar por litro - natural do mosto - que irá contribuir para a doçura do espumante. Eventualmente, após a filtração, pode-se adicionar açúcar para elevar sua concentração para cerca de 70 a 80 g L⁻¹. A seguir, em condições controladas de pressão e temperaturas próximas de 0°C, é realizado o engarrafamento e, na sequência, a rotulagem³.

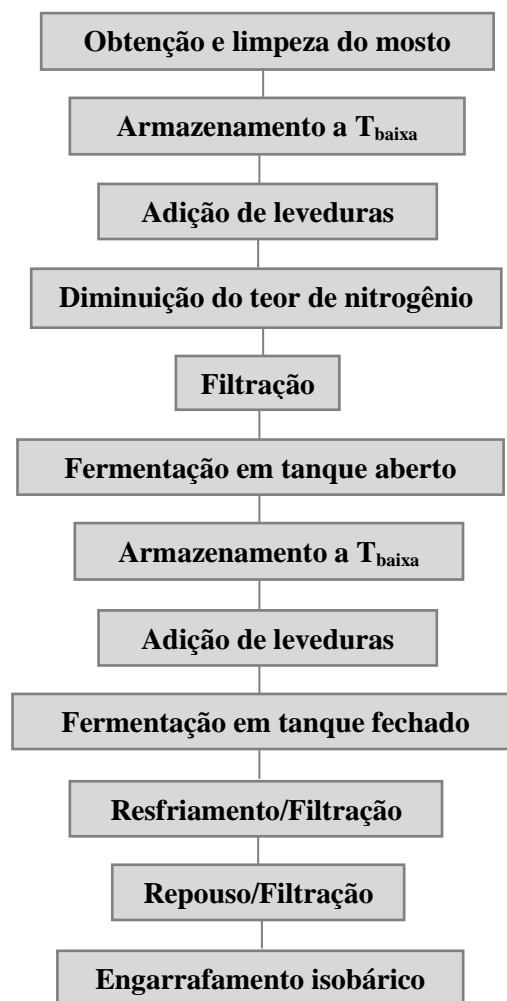


Figura 1. Etapas para produção de espumante Moscatel (modificado da referência³). T_{baixa}: temperatura baixa

A **Figura 2** mostra a evolução significativa dos volumes de comercialização de espumantes do tipo clássico (*nature, brut, demi-sec*, etc. obtidos dos métodos *Champenoise* e *Charmat*) e do espumante Moscatel tanto nacional quanto importado.

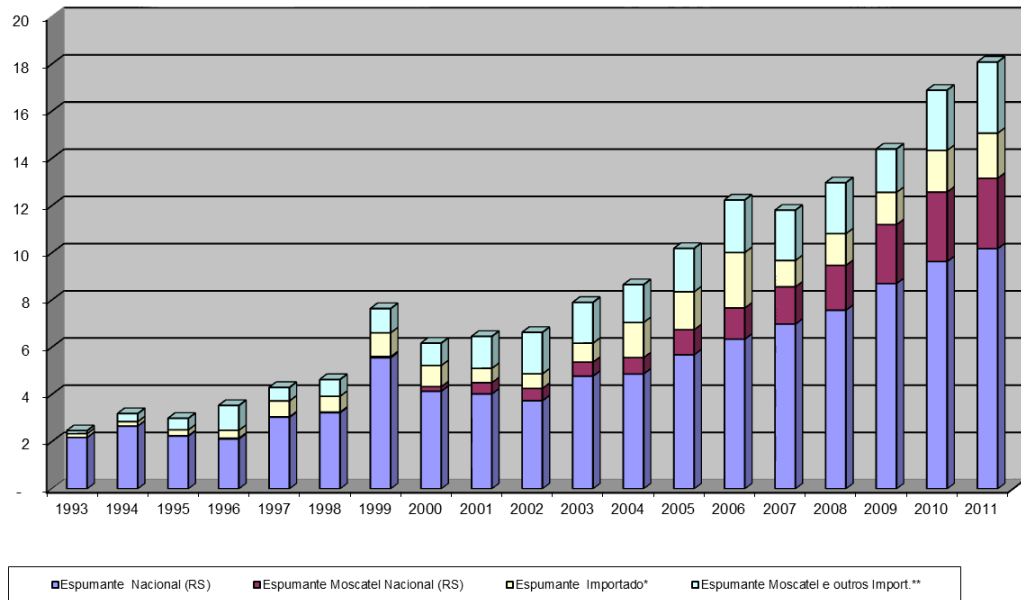


Figura 2. Evolução do consumo de espumantes do Rio Grande do Sul e importados desde 1993 até 2011²⁷.

O espumante das uvas Moscato se destaca, nos últimos anos, de forma progressiva e representa em 2011 vinte e três por cento do total das vendas de espumantes de empresas do Rio Grande do Sul, ajudando a consolidar e divulgar sua boa imagem, conforme mostra a **Tabela I**. Aproximadamente 53% dos espumantes Moscatéis comercializados em 2011 no Brasil tiveram a produção de uva e processo de vinificação terceirizados, estando estas empresas terceirizadas localizadas no Rio Grande do Sul, conforme informações do coordenador do setor de estatística do Instituto Brasileiro do Vinho²⁸. Os espumantes produzidos em outros estados não foram catalogados pelo IBRAVIN até o momento, visto que a produção destes vinhos em outros locais ainda não é expressiva no cenário nacional^{27,28}.

Tabela I. Dados comparativos de comercialização de espumantes por empresas do Rio Grande do Sul e importados nos últimos anos²⁷.

	2007	2008	2009	2010	2011	Varição 2011/2010
Espumante Nacional (RS)	6.981.055	7.568.336	8.701.308	9.630.730	10.175.819	5,7%
Espumante Moscatel Nacional (RS)	1.579.358	1.900.957	2.495.693	2.944.643	2.987.683	1,5%
Total Nacional (litros)	8.642.387	9.540.131	11.197.001	12.575.373	13.163.502	4,7%
Percentual Nacional em relação ao total geral	72,70%	73,15%	77,78%	74,46%	72,79%	
Espumante Importado*	1.116.918	1.344.998	1.366.865	1.766.741	1.909.089	8,1%
Espumante Moscatel e outros Import.**	2.128.094	2.157.072	1.832.770	2.547.512	3.011.109	18,2%
Total Importado (litros)	3.245.012	3.502.070	3.199.635	4.314.253	4.920.198	14,0%
Percentual Importado em relação ao total geral	27,30%	26,85%	22,22%	25,54%	27,21%	
Total Geral	11.887.399	13.042.201	14.396.636	16.889.626	18.083.700	7,1%
* NCM 22041010 ** NCM 22041090	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	

2.2 AROMAS

A qualidade dos vinhos espumantes, em geral, é grandemente influenciada por componentes que lhe conferem o *flavour*. O *flavour* se caracteriza como uma sensação complexa, que envolve sabor e aroma²⁹. O aroma de vinhos espumantes é determinado por compostos voláteis percebidos pelo olfato, enquanto o gosto está relacionado às sensações do paladar. Centenas de compostos de diferentes classes químicas, presentes em diferentes concentrações são os responsáveis por este *flavour*. Tais compostos são provenientes da uva e dos processos fermentativos³⁰. O conhecimento dos compostos responsáveis pelo *flavour* do vinho espumante auxilia no controle de qualidade destes produtos, bem como na otimização das condições de produção do mesmo. Além disso, a composição volátil pode representar uma impressão digital de uma determinada variedade de uva e pode ser usada para diferenciar vinhos da mesma variedade proveniente de diferentes regiões ou para distinguir variedades de uva. No caso dos produtos brasileiros, não existem estudos detalhados sobre os compostos voláteis dos mesmos, apesar da importância destes vinhos para a sustentação deste setor¹.

O aroma^{31,32} pode ser definido como a sensação resultante dos 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 na qual uma substância odorífera é detectada por 50% dos avaliadores sensoriais³³.

O aroma, a depender de sua origem, pode ser classificado em quatro categorias distintas: varietal e pré-fermentativo, considerados aromas primários, fermentativo (aroma secundário) e pós-fermentativo (aroma terciário)³³⁻³⁵.

O **aroma varietal** é característico da variedade de uva e depende também do tipo de solo, do clima, da fitotecnia (estudo das plantas), do estado sanitário e do grau de maturação da uva. Um exemplo disso é um estudo da concentração dos terpenos em uvas, onde se observou um aumento dessa concentração durante o período de maturação das uvas. As uvas de castas Moscatel maduras apresentavam seis vezes mais linalol, cinco vezes mais α -terpineol e quatro vezes mais nerol do que as uvas não maduras⁵.

O aroma varietal pode ser composto por substâncias que passam para o vinho sem transformações e que lhe transmitem tipicidade e por substâncias precursoras de aroma, isto é, aquelas que são sujeitas à transformação durante a fermentação e conservação, com consequente liberação de aroma^{34,36}. A uva Moscatel, uma das poucas uvas aromáticas, contém precursores de aromas como os ácidos graxos e conjugados de cisteína, glicosídeos, carotenóides e compostos fenólicos, com potencialidade para originar compostos aromáticos. Estes precursores são substâncias não voláteis 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^{32,33,35}.

O **aroma pré-fermentativo**, proveniente das uvas, se revela durante o processamento da 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^{32,33}. Estes compostos apresentam um aroma herbáceo e têm um limiar de percepção relativamente baixo. A título de exemplo, os limiares de percepção do hexanol e do (*E*)-2-hexenal, são de cerca de 4 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 17 $\mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente³⁷.

O **aroma fermentativo** se origina 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, como por exemplo, condições de anaerobiose, temperatura baixa durante a fermentação e clarificação do mosto são fatores favoráveis à formação de ácidos graxos voláteis e seus ésteres, os quais conferem importante característica aromática. Os constituintes enquadrados neste grupo são os mais abundantes, sendo

majoritariamente responsáveis pela qualidade aromática final e pelo caráter vinoso da bebida³³. Entre estes compostos estão os álcoois superiores, ácidos voláteis e ésteres e, em menor extensão, aldeídos e cetonas³⁴.

O **aroma pós-fermentativo** é formado durante o processo de envelhecimento do vinho. No caso do vinho espumante Moscatel pode-se dizer que esta etapa pouco contribui para o aroma, pois esses espumantes são bebidas que devem ser apreciadas ainda jovens.

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 uvas³⁵. Os terpenos são compostos formados basicamente de unidades de isopreno (2-metil-1,3-butadieno) e são de grande importância no que diz respeito à fragrância floral e também frutada dos vinhos, pois, além de estarem em grande quantidade no vinho, possuem baixos limiares de percepção³⁸. No entanto, os mais interessantes do ponto de vista olfativo são os álcoois monoterpênicos, como o linalol, geraniol, nerol, α -terpineol, citronelol e trienol^{33,35}. Em especial, geraniol, nerol e o linalol conferem um agradável aroma floral ao vinho, sendo encontrados principalmente nas uvas da variedade Moscatel. Por outro lado, os dióis terpênicos não apresentam propriedades olfativas de interesse, embora possam atuar como precursores de compostos odoríferos. O espumante Moscatel também contém ésteres que podem contribuir significativamente para o aroma frutado desta bebida, pois as concentrações em que estão presentes nestes produtos são, frequentemente mais altas do que seu valor olfativo limiar³⁹.

2.3 CONSERVANTES EM VINHOS E ESPUMANTES

Os conservantes têm o objetivo de prolongar a vida de prateleira dos alimentos, controlando os fatores que provocam a deterioração dos mesmos. O princípio básico da conservação química reside na inibição da oxidação dos componentes alimentares que são passíveis dessa reação em presença do oxigênio. Os principais agentes químicos que estão relacionados à produção de vinho são dióxido de enxofre (SO₂), ácido sórbico (ácido *trans,trans*-2,4-hexadienoico) e ácido ascórbico (vitamina C). O ácido ascórbico é comumente usado apenas em vinhos brancos. Esses conservantes podem ser divididos em dois grupos: agentes antimicrobianos e agentes antioxidantes⁴⁰.

2.3.1 Agentes Antioxidantes

O agente antioxidante mais comumente utilizado na produção de vinhos é o dióxido de enxofre e outro agente que também pode ser empregado é o ácido ascórbico. No vinho, o dióxido de enxofre tem sido utilizado desde a Idade Média. Praticamente todo tipo de produção de vinho utiliza dióxido de enxofre.

O SO_2 e também as formas iônicas (SO_3^{-2} e HSO_3^-) agem na inibição da oxidação não enzimática de açúcares e aminoácidos que é seguida pelo escurecimento dos tecidos vegetais. A inibição deste processo é causada pela reação dos sulfitos com os grupos carbonílicos dos açúcares, bloqueando a formação de polímeros⁴¹. Estas espécies também inibem a oxidação enzimática, que resulta no escurecimento dos produtos; inibem o crescimento de microorganismos em produtos alimentares, principalmente as bactérias, e em concentrações mais elevadas, também mofo e várias espécies de leveduras. O mecanismo exato deste processo de inibição ainda não é conhecido⁴². O SO_2 , SO_3^{-2} e HSO_3^- também agem como agentes antioxidantes por reação direta com o oxigênio dissolvido ou reduzindo os produtos de oxidação, tais como peróxido de hidrogênio ou quinonas⁴³.

O dióxido de enxofre, embora apresente um conjunto de propriedades que nenhuma outra substância possui, tem seu uso estritamente regulamentado (devido a características sensoriais negativas e problemas alergênicos). O Ministério da Agricultura estabelece que o limite máximo de dióxido de enxofre é de 350 mg L^{-1} para o espumante Moscatel brasileiro⁴⁴. Em função desses efeitos indesejáveis, têm sido investigados vários compostos alternativos, que permitam a estabilização dos vinhos e garantam a sua qualidade final. A liozima é uma enzima, com atividade bactericida e que não apresenta qualquer toxicidade para o ser humano, extraída da albumina do ovo e que já é utilizada há vários anos nas indústrias farmacêuticas e agroalimentar. Recentemente, descobriu-se a sua utilidade no controle da atividade anti-bacteriana no vinho⁴⁵.

2.3.2 Agentes Antimicrobianos

Os microorganismos podem interferir no sabor e aroma, além de causar danos econômicos. Um dos melhores métodos para preservar o vinho de deterioração microbiana é a filtração estéril, que impede leveduras e bactérias de estarem no frasco onde se encontra o vinho. O dióxido de enxofre e o ácido sórbico são agentes químicos utilizados no vinho como uma alternativa à filtração, ou como uma segunda medida, em combinação com a filtração.

O ácido sórbico e os sorbatos são eficazes contra inibição de leveduras e mofo. O ácido sórbico é um ácido graxo insaturado e por causa da baixa solubilidade em água, o agente

comercial empregado, na maioria das vezes, é o sorbato de potássio. O limiar de gosto de ácido sórbico no vinho é de cerca de 300 a 400 mg L⁻¹. Usualmente, adiciona-se 200 a 1000 mg L⁻¹ de sorbato em vários alimentos como laticínios, carnes, refrigerante, produtos de padaria e doces. Para vinhos e espumantes brasileiros o limite máximo é 200 mg L⁻¹ de ácido sórbico⁴⁴. Entretanto, ácido sórbico deve ser empregado sempre em conjunto com outro produto antibacteriano, como por exemplo o dióxido de enxofre, pois suficientemente eficientes quando utilizados isoladamente. Em vinho, os sorbatos são usados principalmente em vinhos doces e semidoces para evitar fermentação na garrafa⁴⁶. Embora o sorbato seja adicionado como um estabilizante, em certas condições, os vinhos que contêm o ácido sórbico podem ser considerados como instáveis. Isto se deve ao fato de o ácido sórbico em vinho poder sofrer transformações através de duas vias principais:

- formação de sorbato de etila: esterificação direta com o álcool do vinho para formar sorbato de etila.
- formação de 2-etóxi-hexa-3,5-dieno: reação do ácido sórbico na presença de bactérias lácticas.

A formação de sorbato de etila pode resultar da adição de ácido sórbico aos vinhos espumantes e pode conferir um odor desagradável ao produto, quando presente em níveis significativos. O mau cheiro deste éster é descrito como de aipo com abacaxi, apresentando um limiar de percepção de 0,3 mg L⁻¹ em 10% solução alcóolica⁴⁷. O ácido sórbico protege o vinho das leveduras, mas não tem efeito sobre a atividade das bactérias lácticas, por exemplo, visto que estas bactérias podem metabolizar o ácido sórbico e produzir 2-etóxi-3,5-hexadieno. Esse composto tem um cheiro muito desagradável de folhas de gerânio com um limiar de percepção de menos de 1 µg L⁻¹³⁵. Todas as espécies de bactérias lácticas que ocorrem em vinho parecem ser capazes de causar esta reação. A utilização de ácido sórbico deve, portanto, ser limitada a vinhos doces, em conjunto com uma dose suficiente de SO₂ para impedir qualquer atividade bacteriana. Um estudo⁴⁸ da decomposição de ácido sórbico por bactérias mostrou que a primeira molécula a ser produzida foi o correspondente álcool, 2,4-hexadienol-1 (**Figura 3**). O rearranjo desta molécula em um meio ácido provoca uma mudança na posição das ligações duplas e na função álcool, produzindo 3,5-hexadienol-2. Na presença de etanol é então produzido o composto 2-etóxi-3,5-hexadieno.

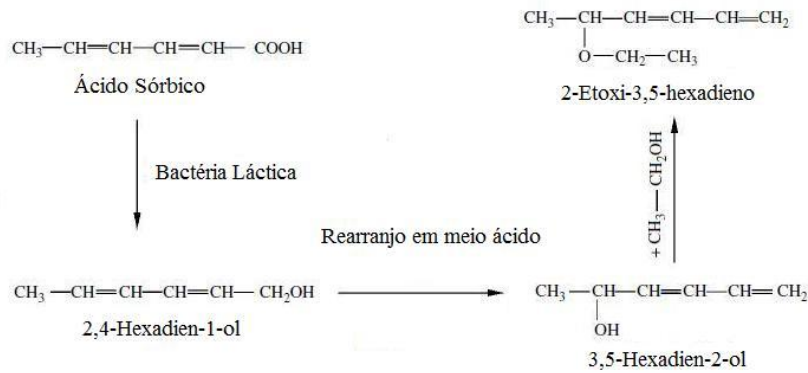


Figura 3. Transformação do ácido sórbico por bactéria láctica em vinhos e espumantes³⁷.

2.4 TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO E ANÁLISE

2.4.1 Técnicas de extração de voláteis em vinho

A extração líquido-líquido (LLE, do inglês *liquid-liquid extraction*) pode ser considerada como uma técnica clássica de extração de compostos voláteis de vinho e a extração em fase sólida (SPE, do inglês *solid phase extraction*), que começou a ser empregada na década de 80, surgiu como uma técnica complementar à LLE⁴⁹. Outras técnicas, como a extração/destilação simultâneas⁵⁰ e extração via *headspace* estático e *headspace* dinâmico, na forma conhecida como *purge and trap*, também podem ser empregadas⁵¹. De uma forma geral, pode-se mencionar vários inconvenientes para as técnicas de extração convencionais, como por exemplo, uso de grande quantidade de solventes na LLE, possibilidade de perdas de analitos advindas da etapa de concentração da amostra na SPE, baixa sensibilidade no que se refere às técnicas de *headspace* estático e emprego de equipamento especial para *headspace* dinâmico. Alternativas complementares às técnicas de extração como a LLE e a SPE têm sido investigadas, a fim de encontrar técnicas que proporcionem maior rapidez, simplicidade, utilização de pouco ou nenhum solvente e a possibilidade de automatização de todo processo de extração^{8,52}.

Algumas técnicas mais modernas para a extração de compostos voláteis de vinhos podem ser citadas, como a microextração em fase sólida (SPME, do inglês *solid phase micro extraction*), a extração por sorção com barra magnética (do inglês *stir bar sorptive extraction*, SBSE) e a microextração por sorvente empacotado (do inglês *micro extraction by packed sorbent*, MEPS).

Andujar-Ortiz e *et al*⁴⁹ compararam LLE e SPE com SPME e concluíram que as técnicas clássicas foram os procedimentos mais adequados para a extração de 30 compostos

representativos do aroma de vinho sintético, porém apresentam algumas desvantagens como tratamento da amostra mais prolongado e trabalhoso, bem como o uso de solvente orgânico. Na LLE, os analitos são extraídos da amostra aquosa através do emprego de um solvente orgânico que não é solúvel, ou pelo menos é moderadamente solúvel, em água. A partição dos analitos ocorre de acordo com os seus coeficientes de distribuição entre as fases orgânica e aquosa. A LLE de compostos voláteis em vinhos é geralmente realizada com diclorometano, que é um solvente orgânico tóxico⁵³. A SPE que é uma técnica bem mais recente do que a LLE, que utiliza um polímero sorvente para extrair compostos de amostras líquidas. Antes da introdução da amostra no cartucho que contém material sorvente, este é condicionado com um solvente orgânico. A amostra é introduzida no cartucho e os compostos são retidos no polímero. Após o procedimento de lavagem com solvente para retirada dos interferentes, os analitos são eluídos da fase estacionária com outro solvente⁵⁴. A SPE, de forma semelhante à LLE, também requer uma etapa posterior de concentração para eliminar o excesso de solvente. Durante esta etapa, pode ocorrer perda de compostos voláteis e semi-voláteis com pontos de ebulição inferiores à temperatura utilizada para a evaporação do solvente. As limitações da SPE e da LLE, que incluem a realização de várias etapas, perdas durante a evaporação e risco de contaminação, levaram ao desenvolvimento de técnicas miniaturizadas como a SPME, SBSE e MEPS^{8,52}.

A SBSE é feita através do uso de uma barra de agitação magnética recoberta por um polímero sorvente, que pode ser mergulhada na amostra líquida ou no caso da extração de compostos voláteis, esta pode ser mantida no *headspace* do frasco que contém a amostra. Os analitos podem ser desorvidos termicamente no injetor do cromatógrafo ou através do uso de uma pequena quantidade de solvente. Perestrelo⁵⁵ relata que a SBSE apresenta maior sensibilidade do que a SPME para os compostos voláteis selecionados para confecção de vinho sintético, porém, atualmente, o revestimento de polidimetilsiloxano (PDMS) é a única fase extratora disponível comercialmente.

Na SPME, uma fibra de sílica protegida no interior de uma agulha é recoberta com uma fase extratora (filme polimérico). Esta técnica se baseia na cinética de transferência de massa e nos princípios termodinâmicos que descrevem o equilíbrio de partição do analito entre as fases. A SPME, da mesma maneira que a SBSE, envolve dois processos: a sorção dos compostos voláteis da amostra no filme que recobre a fibra e a desorção térmica dos compostos no injetor do cromatógrafo. Para extração apenas dos compostos voláteis, a fibra é exposta ao *headspace* (HS) da amostra, a uma determinada temperatura (HS-SPME)⁵⁶. A natureza química dos analitos determina o tipo de fase sorvente que deve ser utilizada. Atualmente, vários tipos de fases

estacionárias estão disponíveis comercialmente com diferentes espessuras e polaridades. A disponibilidade de fibras com diferentes polaridades oferece vantagens como seletividade, possibilidade de maior recuperação de analitos específicos e redução da extração de interferentes⁵⁷. A SPME é uma técnica que não emprega solvente, é rápida, facilmente acoplada à cromatografia gasosa e apropriada para análise direta de matrizes complexas⁴⁹. Mendes e *et al*⁷ demonstraram que tanto a SPE quanto a SPME podem ser usadas para determinação qualitativa e quantitativa de compostos orgânicos voláteis e semi-voláteis em vinhos, já a MEPS mostrou-se menos eficiente para a extração desses componentes. MEPS é uma miniaturização da SPE na qual o material sorvente é empacotado como se fosse um cartucho de SPE, o qual é adaptado em uma seringa. Os cartuchos de MEPS utilizam um volume de eluição total de alguns microlitros, já SPE requer volumes de mililitros. Este volume de eluição é tal que pode facilmente ser injetado diretamente em um sistema cromatográfico, sem concentração da amostra. Automatização completa da preparação da amostra e análise da amostra extraída pode ser facilmente alcançada utilizando-se um amostrador automático convencional. A MEPS também requer menos volume de amostra do que a técnica convencional SPE. Essa é uma técnica com grande potencial, porém ainda precisa de aprimoramento. A revisão de Jeleń e *et al*⁸ sobre técnicas de microextração em alimentos apresenta a SPME como uma técnica promissora para a extração de voláteis de bebidas alcólicas e como a mais usada para a análise de vinhos nos últimos cinco anos.

2.4.2 Técnicas de análise de voláteis em vinho

A Cromatografia Gasosa (do inglês, *gas chromatography*, GC) é uma técnica físico-química de separação que permite a análise de compostos voláteis, transportados por uma fase móvel, a partir das diferentes interações dos analitos com uma fase estacionária, bem como a sua identificação e quantificação, quando da utilização de um sistema apropriado de detecção⁵⁸. A literatura científica mostra que a GC com detector quadrupolar de espectrometria de massas (do inglês, *quadrupole mass spectrometry detector*, qMS) tem sido extensamente empregada para a análise de compostos voláteis em vários tipos de vinhos e espumantes^{14,19,21}, devido a sua resolução, sensibilidade e pelas informações estruturais fornecidas pelo detector. A despeito do amplo emprego da GC, são observadas várias co-eluições cromatográficas na análise de compostos voláteis em vinhos, 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.

A utilização de recursos para melhorar a resolução da GC já atingiu, em alguns casos, o limite máximo de aperfeiçoamento. A cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GC×GC, do inglês *comprehensive two-dimensional gas chromatography*;) é uma ferramenta analítica que apresenta um potencial superior para separar os componentes de amostras complexas, os quais são submetidos à análise em duas dimensões, segundo diferentes mecanismos de separação em cada coluna (uma convencional e outra curta, do tipo que é empregado para cromatografia rápida). A natureza abrangente desta técnica de separação é garantida pela eluição de todas as bandas cromatográficas da primeira dimensão e seu ingresso na segunda coluna. Diferentes mecanismos de interação analito-fase estacionária para cada uma das colunas podem propiciar a eluição estruturada dos componentes da amostra, de acordo com as distintas propriedades físico-químicas dos mesmos, podendo ocorrer o alinhamento de compostos pertencentes a séries homólogas no plano de separação, o que facilita e aumenta a confiabilidade da identificação destes compostos. Em uma coluna apolar, por exemplo, os compostos serão separados de acordo com a sua volatilidade e para uma coluna polar ou mediantemente polar, a seletividade se baseia primordialmente em interações intermoleculares do tipo π - π , ligações de hidrogênio, van der Waals entre outras⁵⁹. Welke e *et al*¹⁵ testaram diferentes conjuntos de colunas para análise de voláteis de vinhos base *Chardonnay* e observaram uma melhor separação quando da utilização de uma coluna polar na primeira dimensão (¹D) e uma coluna de polaridade média na segunda dimensão (²D). O modulador criogênico, que fica situado no início da segunda coluna, causa uma compressão da banda cromatográfica que elui da primeira coluna, de forma a “fatiar” o pico cromatográfico em intervalos regulares, propiciando um aumento de sensibilidade. Weldegergis e *et al*¹⁰ utilizaram HS-SPME-GC×GC/TOFMS para a investigação detalhada de voláteis de *Pinotage* sul-africanos. Esta abordagem permitiu a identificação de um número muito maior de compostos em comparação com a análise por cromatografia gasosa monodimensional (1D-GC): 48 compostos foram identificados usando-se padrões, enquanto que mais 158 compostos foram tentativamente identificados usando-se uma combinação de dados de índice de retenção (RI) e espectros de massa obtidos por deconvolução espectral³⁷.

2.5 TÉCNICAS DE ANÁLISE ESTATÍSTICA

A caracterização de alimentos e bebidas com base na composição volátil pode ser usada como uma ferramenta para proteger consumidores e/ou indústrias de fraudes⁶⁰⁻⁶². No caso dos vinhos e espumantes, a identificação dos compostos voláteis pode também ser útil para a diferenciação desta bebida com base nas diferentes cultivares de uvas utilizadas para sua elaboração^{63,21} local em que as uvas foram cultivadas^{23,64} e também com base nas variantes utilizadas na produção do vinho⁶⁵. Na literatura científica existem alguns exemplos de diferenciação de vinhos com base na composição volátil dos mesmos, através da 1D-GC^{12,21}. Recentemente, foi publicado um trabalho que utiliza dados de análise de voláteis de vinhos por GC×GC associados a métodos quimiométricos para diferenciação de vinhos de acordo com a cultivar de uva utilizada para sua elaboração¹⁵.

O gerenciamento de um grande número de dados gerados por análises químicas de matrizes complexas implica no desafio de verificar quais variáveis contêm as informações mais relevantes. A redução de variáveis realizada através de critérios objetivos permite a construção de gráficos bidimensionais que contêm maior quantidade de informação e pode ser alcançada através de métodos estatísticos. Esses métodos aplicados a problemas químicos são conhecidos como métodos quimiométricos. A importância da Quimiometria para os laboratórios modernos de Química cresceu com a capacidade dos instrumentos analíticos de produzirem conjuntos de dados cada vez maiores e mais complexos e com a evolução dos computadores, que permitem o rápido tratamento destes dados. A GC×GC é uma das técnicas analíticas em que a quantidade de dados e sua representação gráfica é muito maior do que a que se obtém com a técnica monodimensional, o que torna mais difícil a interpretação destas informações. Por outro lado, o aumento de informação obtido na GC×GC pode ser vantajoso, quando se objetiva conhecer em maior detalhe a composição da amostra e/ou buscar diferenças e semelhanças entre amostras de distintas procedências ou processos de produção, entre outros aspectos, tendo em vista que a técnica bidimensional proporciona a separação e identificação/quantificação de um número maior de componentes. Nestes casos, o uso de ferramentas quimiométricas pode ser conveniente, dada a complexidade dos resultados obtidos, de forma a tornar o tratamento destes dados mais rápido e objetivo comparativamente ao tratamento manual^{66,67}.

2.5.1 Análise dos Componentes Principais

A análise de componentes principais (PCA, do inglês, *principal component analysis*) é um dos métodos estatísticos mais empregados para evidenciar similaridades ou diferenças entre amostras em um determinado conjunto de dados⁶⁸. Além disso, também pode ser usada para julgar a importância das próprias variáveis originais escolhidas, ou seja, as variáveis originais com maior peso na combinação linear dos primeiros componentes principais, que são as mais importantes do ponto de vista estatístico. Em linhas gerais, os dados são alinhados em uma matriz D , que é formada por $m \times n$ elementos (m linhas correspondentes às amostras e n colunas correspondentes às variáveis). As n variáveis originais geram, através de suas combinações lineares, n componentes principais, cuja principal característica, além da ortogonalidade, é que são obtidos em ordem decrescente de máxima variância, ou seja, a componente principal 1 detém mais informação estatística do que a componente principal 2, que por sua vez contém mais informação estatística do que a componente principal 3 e assim por diante. Desta forma, é comum obter-se em apenas duas ou três das primeiras componentes principais mais do que 90% das informações mais relevantes. O agrupamento das amostras define a estrutura dos dados através de gráficos de escores (do inglês: *scores*) e pesos (do inglês: *loadings*), que são as componentes principais (PC), nas quais os dados são projetados (**Figura 4**). Os escores fornecem a composição das PC em relação às amostras, enquanto os pesos fornecem essa mesma composição em relação às variáveis. Como as PC são ortogonais, é possível examinar as relações entre amostras e variáveis através dos gráficos dos escores e dos pesos⁶⁹.

Existem softwares computacionais de estatística que fazem todas as operações necessárias à obtenção de componentes principais, como é do caso Statistica utilizado neste estudo. O procedimento matemático para obtenção dos componentes principais é encontrado na literatura científica, havendo inclusive publicações específicas voltadas para a área da Química^{70,71}.

A **Figura 4** exemplifica, de forma genérica, a representação gráfica obtida a partir de uma PCA. As amostras 1 e 2 que se encontram no segundo quadrante se diferenciam das amostras 3 e 4 que se localizam no quarto quadrante. O PC1 explicou 94,29% e o PC2 5,71% da variabilidade do sistema. Ao relacionar o gráfico de escores (A) com o gráfico de pesos (B) observa-se que as amostras 3 e 4 apresentam uma afinidade maior com a variável F que também se encontra no quarto quadrante. Por outro lado, as variáveis D e E se encontram no terceiro quadrante e apresentam uma relação maior com as amostras 3 e 4 do que com as amostras 1 e 2. Logo, as amostras 1 e 2 não tem praticamente nenhuma relação com a variável F (localizada no

quadrante oposto as amostras 1 e 2) e uma boa relação com a variável G que também está localizada no segundo quadrante.

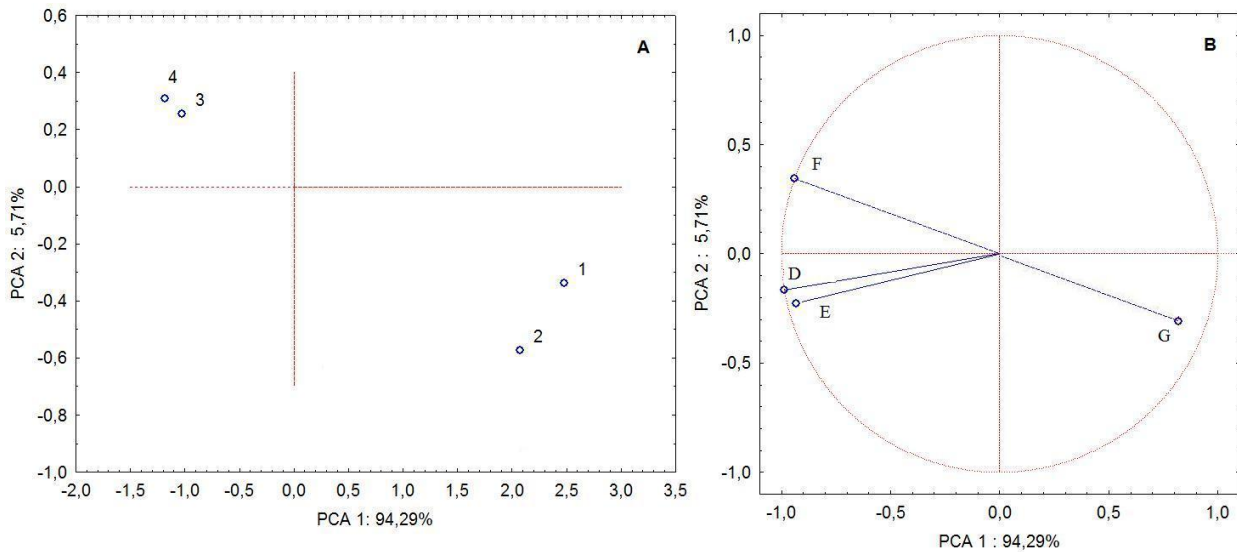


Figura 4. Representação de um gráfico de escores (A) que diz respeito às amostras 1, 2, 3 e 4 e seu respectivo gráfico de pesos (B) relacionado às variáveis D, E, F, G que diferenciam as amostras 1, 2, 3 e 4.

O uso de cromatografia gasosa monodimensional (1D-GC) combinada com PCA vem sendo constantemente explorado em estudos de bebidas, como por exemplo, diferenciação entre vinhos Madeira (Portugal)²¹, vinhos do Piemonte (Itália)⁷² e vinhos brancos (Fernão-Pires e Arinto)²³ e estudo de autenticidade e adulteração da composição volátil de vinhos doces¹⁷. Um exemplo de PCA aplicada a dados obtidos através da GC×GC em amostras de vinho foi recentemente publicado e diz respeito à caracterização do perfil volátil de vinhos Merlot brasileiros¹⁵, contudo não se tem muitas publicações nessa área ainda⁷³.

2.5.2 Razão de Fisher

A seleção das variáveis mais discriminantes para um determinado conjunto de amostras é uma etapa preliminar usada na análise multivariada, particularmente, quando o número de variáveis independentes é relativamente pequeno em relação ao número de variáveis dependentes. Por estes motivos, é necessário utilizar um procedimento para selecionar as variáveis que apresentam maior variação entre as diferentes classes de amostras⁷⁴. A razão de Fisher pode ser utilizada para selecionar as variáveis mais discriminantes no que diz respeito a grupos de amostras^{75,76}. Ela é definida como a variação de um parâmetro relacionado a um determinado composto entre as diversas amostras analisadas, dividida pela soma da variação

deste mesmo parâmetro relacionado a este composto, dentro de uma mesma classe de compostos. Com a utilização deste critério é possível maximizar a variância entre as classes e ao mesmo tempo minimizar a variância entre os compostos das amostras pertencentes à mesma classe⁷⁷. Essa ferramenta é de grande importância para a GC×GC, pois pode facilitar a investigação dos compostos mais relevantes e mostrar quais são os mais discriminantes em um determinado grupo de amostras.

A variação entre diferentes classes (σ_A^2) é calculada através da equação (1):

$$\sigma_A^2 = \frac{\sum(\bar{x}_i - \bar{x})^2 n_i}{(k-1)} \quad (1)$$

onde: n_i = número de medições de um dado parâmetro de um determinado composto na classe i , \bar{x}_i = média de um parâmetro de um determinado composto na classe i , \bar{x} = média geral de um parâmetro de um determinado composto (considerando todas as classes), k = número de classes.

A variação dentro de uma classe (σ_B^2) é calculada através da equação (2):

$$\sigma_B^2 = \frac{\sum(\sum(\bar{x}_{ij} - \bar{x})^2) - (\sum(\bar{x}_i - \bar{x})^2 n_i)}{(N - k)} \quad (2)$$

onde: \bar{x}_{ij} = média do número de i medições de um dado parâmetro relativas a um determinado composto da classe j e N = número total de amostras.

A razão de Fisher é então calculada como a razão entre as duas variâncias:

$$\text{Razão de Fisher} = \frac{\sigma_A^2}{\sigma_B^2} \quad (3)$$

Na literatura científica foram encontrados dois estudos sobre vinhos utilizando a razão de Fisher. Welke e *et al*¹⁵ conseguiu, através dessa ferramenta, reduzir a dimensionalidade dos dados obtidos por GC×GC de forma que foi possível diferenciar vinhos elaborados a partir de cinco cultivares de uvas. Bailey e *et al*⁷⁸ utilizaram a razão de Fisher para diferenciar amostras de vinho analisadas por cromatografia líquida bidimensional abrangente (LC×LC, do inglês *comprehensive two-dimensional liquid chromatography*). Os autores concluíram que esta ferramenta quimiométrica é útil para determinar as regiões mais importantes do cromatograma para a diferenciação de grupos de amostras. Desta maneira, apenas os compostos situados nas regiões significativas são quantificados, o que reduz o tempo do tratamento de dados gerados na análise de amostras complexas, como é o caso do vinho.

3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.1 REAGENTES E MATERIAIS

Os solventes utilizados, hexano e etanol grau para análise (PA) da Quimex (São Paulo, SP, Brasil), foram bidestilados e armazenados em frascos âmbar. Os padrões de alcanos lineares desde o nonano (C₉) até o tetracosano (C₂₄), com grau de pureza acima de 98%, foram adquiridos da Aldrich (Milwaukee, WI, EUA), onde n em C_n indica o número de carbonos na molécula do alcano linear. O padrão interno utilizado foi o pentadecano (C₁₅), também da Aldrich. O cloreto de sódio grau PA da Merck (Darmstadt, Alemanha) foi previamente seco em estufa a 150°C por 2 h e armazenado em dessecador. A fibra utilizada para HS-SPME foi a divinilbenzeno podimetilsiloxano (DVB/PDMS) de 65µm fornecida pela Supelco (Bellefonte, PA, EUA), conforme trabalho anterior¹⁸.

3.2 PREPARAÇÃO E EXTRAÇÃO DA AMOSTRA

Os vinhos espumantes em estudo foram obtidos de diversas vinícolas do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná, através da Associação Brasileira de Enologia (ABE). Duas outras amostras (b, c) de espumantes, importados da região do Piemonte na Itália, também foram incluídas neste estudo, as quais foram doadas pelas próprias vinícolas produtoras. Além dos 24 espumantes Moscatéis, analisou-se também um vinho Moscatel importado (y) adquirido na Itália. As amostras foram selecionadas por amostragem convencional (doações recebidas da ABE, Embrapa e importadoras), conforme mostra a **Tabela II**. As amostras (750 mL de cada vinho espumante investigado) foram armazenadas à temperatura ambiente até a etapa de degaseificação, sendo posteriormente congeladas para evitar a perda de voláteis até sua análise cromatográfica.

Tabela II. Vinho e espumantes adquiridos no mercado nacional e importado para estudo de compostos voláteis por HS-SPME e cromatografia gasosa.

vinho espumante	variedade de uva*	local de cultivo da uva	produção do vinho	localização da vinícola
a	MB, MG	Serra de Garibaldi	Terceirizada	RS
b	MB	Colinas do Monferrato (Piemonte)	Própria	Itália
c	MB	Região do Piemonte	Própria	Itália
d	MB	NI	NI	RS
e	MB, MG, MA	Caxias do Sul e Monte Belo	Própria	RS
f	MG	NI	NI	RS
g	MB, MG, MA	Serra Gaúcha	Própria	RS
h	MB	NI	Própria	SC
i	MB, MG	Garibaldi, Farroupilha e São Jorge	Própria	RS
j	MB	Veranópolis e Bento Gonçalves	Própria	RS
k	MB, MA, R2	Serra Gaúcha	Terceirizada	RS
l	R2, MB	Região de Farroupilha	Própria	RS
m	MB, MG	Dois Lajeados - Serra Gaúcha	Terceirizada	PR
n	MG, MA	NI	NI	RS
o	MG	Canela	Própria	RS
p	MB, MG	Garibaldi, Farroupilha, S. Jorge	Terceirizada	RS
q	MB	Flores da Cunha e Farroupilha	NI	RS
r	MB	Região de Farroupilha	Própria	RS
s	MB	NI	Terceirizada	RS
t	MB, MG, R2	Paraí e Farroupilha	Terceirizada	RS
u	MB	Vinhedos San Felício	NI	RS
v	NI	Serra Gaúcha	NI	RS
z	MG	Bento Gonçalves e Pinto Bandeira	Terceirizada	RS
x	MB	Caxias do Sul e Flores da Cunha	Terceirizada	RS
y***	MG	Trentino (Piemonte)	Própria	Itália

*MB – Moscato bianco, MG – Moscato giallo, MA – Malvazia, R2 – Moscato R2; **NI – não informado

*** vinho Moscato Giallo italiano

Todas as amostras de espumante Moscatel foram submetidas ao processo de degaseificação à baixa temperatura, a fim de evitar a perda de componentes voláteis por ocasião da abertura da garrafa de espumante e também para evitar a interferência do dióxido de carbono no ambiente onde ocorre a extração dos voláteis através da 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 (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.

Na etapa da HS-SPME dos compostos voláteis do espumante Moscatel, dois (2) mL de amostra com padrão interno (pentadecano, concentração de 10 mg L⁻¹) foram transferidos para frasco de vidro incolor de 10 mL, provido de tampa vazada, com septo revestido com teflon (Supelco, Bellefonte, PA, EUA). Os frascos fechados, contendo as amostras ficaram por cerca de 30 min em um bloco termostático, fabricado no Instituto de Física da UFRGS, sob temperatura constante de 40°C (± 0,9). 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, a mesma foi inserida no pórtico do injetor do cromatógrafo para realizar a dessorção térmica dos compostos voláteis, tendo-se empregado um insersor de vidro (*liner*) apropriado para SPME. A temperatura utilizada para a dessorção térmica da fibra foi 250°C e o tempo de dessorção térmica da fibra foi de cinco (5) minutos.¹⁹

As melhores condições de extração foram estabelecidas na dissertação de Soares *et al*¹⁸, na qual a fibra DVB/PDMS foi escolhida como o melhor revestimento para extração dos compostos de interesse (monoterpenos). A extração foi realizada a 40°C durante 30 min com dois (2) ml de amostra e 0,6 g de NaCl, tanto para as análises por GC/qMS, quanto por GC×GC/TOFMS. As extrações foram realizadas em triplicata para cada tipo de vinho espumante Moscatel.

3.3 ANÁLISES CROMATOGRÁFICAS

Os compostos voláteis do *headspace* das amostras de espumante foram analisados empregando-se um cromatógrafo gasoso com detector quadrupolar de espectrometria de massas (GC/qMS) da marca Shimadzu (Quioto, Japão), modelo QP2010, equipado com uma coluna

capilar de fase estacionária apolar (95% de metil-polisiloxano e 5% de grupos fenila, DB-5; 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm; J&W Scientific, EUA). A coluna capilar de fase estacionária polar (poletileno glicol, DB-WAX; 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm; J&W Scientific) também foi empregada. As temperaturas do injetor, detector e interface foram de 250°C. Em uma primeira análise iniciou-se com o forno a 60°C, com taxa de aquecimento de 3°C min⁻¹ até 140°C e posteriormente, com taxa de aquecimento de 20°C/min, até a temperatura final de 240°C. Na análise realizada em coluna de mesma fase estacionária, mas de 60 m de comprimento, optou-se por utilizar uma temperatura inicial de 45°C durante 5 minutos e, passado esse tempo, a taxa de aquecimento foi de 3°C min⁻¹ até 180°C e posteriormente, a taxa de aquecimento foi de 20°C min⁻¹, 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 45 a 450 uma, sendo a análise realizada no modo impacto eletrônico, com 70 eV para a energia do feixe de elétrons e a voltagem foi de 1250 V.

A análise semiquantitativa dos analitos foi realizada pelo método da normalização interna, considerando-se o somatório das áreas normalizadas dos componentes presentes no *headspace* dos vinhos como sendo 100 %. A área normalizada de cada analito foi calculada através da divisão da área cromatográfica de cada pico pela área do padrão interno⁷⁹. Não foram considerados os diferentes fatores de resposta de cada componente do *headspace* dos vinhos.

Quando os compostos voláteis do *headspace* das amostras foram analisados por um cromatógrafo gasoso bidimensional Agilent 6890N (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, EUA) com um detector espectrométrico de massas Pegasus, do tipo tempo de voo (Leco Corporation, St. Joseph, MI, EUA), utilizou-se um amostrador automático CTC CombiPAL (CTC Analytics, Zwingen, Suíça). O sistema GC (Agilent 6890 N) contém um forno para a coluna secundária e um modulador térmico com quatro jatos, do tipo quadjet, sendo que os dois jatos quentes empregam nitrogênio gasoso aquecido pelo próprio bloco do modulador e os dois jatos frios usam gás nitrogênio, 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 foi utilizado como gás de arraste com um fluxo constante de 0,8 mL min⁻¹. A fase estacionária utilizada na primeira dimensão (¹D) foi uma DB-5 (60 m × 0,25 mm × 0,25 µm) e na segunda dimensão (²D) foi uma DB-17ms (50% de metil-polisiloxano e 50% de grupos fenila, DB-5; 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, voltagem do detector de 1750 V, faixa de varredura de massas de 45 a 450 m/z e taxa de aquisição de 100 Hz.

A análise estatística dos dados de GC×GC levou em consideração os dados brutos, tendo as áreas cromatográficas sido normalizadas pela área do padrão interno, pois se pretende tratar os dados da forma mais simplificada possível a fim de minimizar o tempo de tratamento de dados e diminuir sua complexidade.

Os processos de identificação positiva e tentativa em GC/qMS foram sempre levados a cabo em duas colunas capilares - uma apolar e outra polar - conforme consta na descrição acima. No caso da GC×GC/TOFMS, os tempos de retenção nas duas dimensões foram levados em consideração para identificações positivas e tentativas.

A identificação positiva dos compostos acetato de isoamila e de hexila, hexanoato de etila, linalol, α -terpineol, octanoato de etila foi feita através da análise cromatográfica de soluções hexânicas dos mesmos, nas mesmas condições empregadas para análise dos voláteis de vinho e posterior comparação dos tempos de retenção destes padrões, com aqueles dos componentes desconhecidos do *headspace* do vinho. Os espectros de massa obtidos experimentalmente para os padrões também foram comparados com os dos voláteis do vinho, bem como com os espectros de massas das bibliotecas NIST versão 107 e Wiley versão 229. Este procedimento foi realizado em uma coluna apolar (DB-5; 30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m) e em uma coluna polar de polietileno glicol (DB-WAX; 30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m).

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 para os componentes voláteis dos vinhos espumantes Moscatéis com aqueles reportados na literatura^{80,81}, empregando-se as duas fases estacionárias citadas anteriormente e descritas para uso em 1D-GC/qMS, conforme a fórmula a seguir⁸²:

$$LTPRI = 100n + 100 \left(\frac{t_{R_x} - t_{R_n}}{t_{R_{(n+1)}} - t_{R_n}} \right) \quad (4)$$

Onde: $t_{R(x)}$ é o tempo de retenção do composto desconhecido (x); $t_{R(n)}$ é o tempo de retenção do alcano linear que é menos retido pela fase estacionária do que o composto x ; $t_{R_{(n+1)}}$ é o tempo de retenção do alcano linear que é mais retido do que o composto x .

Os espectros de massas dos compostos voláteis dos vinhos também foram comparados aos espectros de bibliotecas comerciais de espectros de massas NIST versão 107 e Wiley versão 229, considerando-se um valor mínimo de similaridade espectral de 80% para as análises

realizadas no GC/qMS e 75% para as análises realizadas no GC×GC/TOFMS. Nas análises de GC/qMS e GC×GC/TOFMS foram considerados detectados os picos cromatográficos, cuja relação sinal/ruído foi maior do que 0,7 e 150 respectivamente.

Para alguns compostos detectados foi identificada apenas a classe química dos mesmos através da comparação de espectros de massas obtidos com aqueles das bibliotecas citadas.

3.4 ANÁLISE DOS COMPONENTES PRINCIPAIS

A análise de componentes principais (PCA) foi realizada utilizando-se os dados de 1D-GC empregando-se o software Statistica (versão 7.1, Statsoft, Tulsa, Oklahoma, EUA, 2005). Foram adotados dois procedimentos: 1º) as áreas cromatográficas normalizadas de todos os componentes voláteis dos vinhos foram submetidas à PCA e 2º) as áreas cromatográficas normalizadas de onze compostos majoritários do *headspace* dos vinhos foram separadas em três grupos, de acordo com suas classes químicas (ésteres, álcoois e terpenos) a fim de serem empregadas para fins estatísticos.

Os dados obtidos através da GC×GC foram adquiridos e processados pelo programa LECO ChromaTOF versão 4.22. A razão de Fisher foi calculada através deste programa para selecionar os compostos voláteis mais discriminantes entre os espumantes Moscatéis nacionais e importados. Os compostos voláteis em ordem decrescente da razão de Fisher foram exportados pelo programa ChromaTOF para o Excel (versão 2010), onde foram organizados em uma matriz contendo 355 colunas (analitos) e 24 linhas (amostras) para obter as diferenças e semelhanças entre os espumantes Moscatéis e outra matriz contendo 355 analitos e 10 amostras para diferenciar os espumantes produzidos com uva Moscato Giallo dos produzidos com Moscato Bianco. Foram considerados os compostos que apresentaram maior razão de Fisher, até o ponto em que se observou uma queda nos valores da razão de Fisher. Posteriormente, a matriz contendo os dados de área cromatográfica de cada composto volátil foi utilizada na PCA que foi feita no programa Statistica.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A **Tabela III** apresenta os dados obtidos a partir da relação de vinícolas que, segundo a IBRAVIN, comercializaram este espumante em 2011, bem como informações que foram coletadas a partir do contato direto com essas vinícolas. A comercialização de espumante Moscatel tanto importada quanto nacional é monitorada pela IBRAVIN. Observou-se que a maioria delas (44) terceirizam a produção do espumante Moscatel e 21 vinícolas produzem esse espumante para a própria vinícola e também para suas parceiras. Uma minoria não informou a situação da vinícola quanto à produção própria ou terceirizada. Essa pesquisa indicou que 11 das vinícolas que tiveram seus espumantes analisados produzem o próprio espumante comercializado e seis (6) delas tem produção terceirizada. Sendo assim, 52,4 % das vinícolas que têm produção própria de vinho foram analisadas (11 de 21 vinícolas), o que corresponde a 13,3% do total de vinícolas do país. De forma geral, considerando-se produção própria, terceirizada e não informada, 26,5% dos vinhos espumantes brasileiros da variedade Moscato foram investigados em relação aos seus componentes voláteis (22 de 83 vinícolas).

Tabela III. Classificação das vinícolas quanto à produção própria ou terceirizada do Espumante Moscatel nacional.

Espumante Moscatel Nacional*	nº de Vinícolas	nº de Vinícolas Analisadas
Produção terceirizada	44	6
Produção própria	21	11
Produção NI**	18	5
Total	83	22

*Comercializados em 2011 segundo a IBRAVIN

**NI - não informado

4.1 IDENTIFICAÇÃO TENTATIVA DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS PRESENTES EM ESPUMANTE MOSCATEL

4.1.1 Cromatografia Gasosa Monodimensional acoplada a Detector de Espectrometria de Massas

Primeiramente, foi feita análise dos compostos presentes no *headspace* dos espumantes Moscatéis brasileiros e importados em uma coluna DB-5 com comprimento de 30 metros e com temperatura inicial de análise 60°C, o que permitiu a identificação tentativa de 32 compostos no somatório de todas as 24 amostras analisadas, empregando-se 1D-GC/qMS. A **Figura 5** mostra o cromatograma dos compostos voláteis extraídos por HS-SPME do espumante “a”. Este espumante foi escolhido como representativo dos 24 espumantes investigados neste trabalho, visto que a maior parte (64,00 % em número de compostos e 83,00 % em área) dos componentes voláteis dos 24 espumantes estão presentes no seu *headspace*. As duas primeiras colunas da **Tabela IV**, correspondente ao cromatograma da **Figura 5**, apresenta a relação destes compostos e, quando possível, a descrição dos seus odores. Em um segundo momento foi feita análise do *headspace* dos espumantes Moscatéis brasileiros e importados, empregando cromatografia monodimensional com uma coluna DB-5 de 60 metros para que os resultados da cromatografia monodimensional pudessem ser comparados com os resultados da cromatografia gasosa bidimensional abrangente, onde também se utilizou uma DB-5 de 60 m como coluna na primeira dimensão (**Figura 6**).

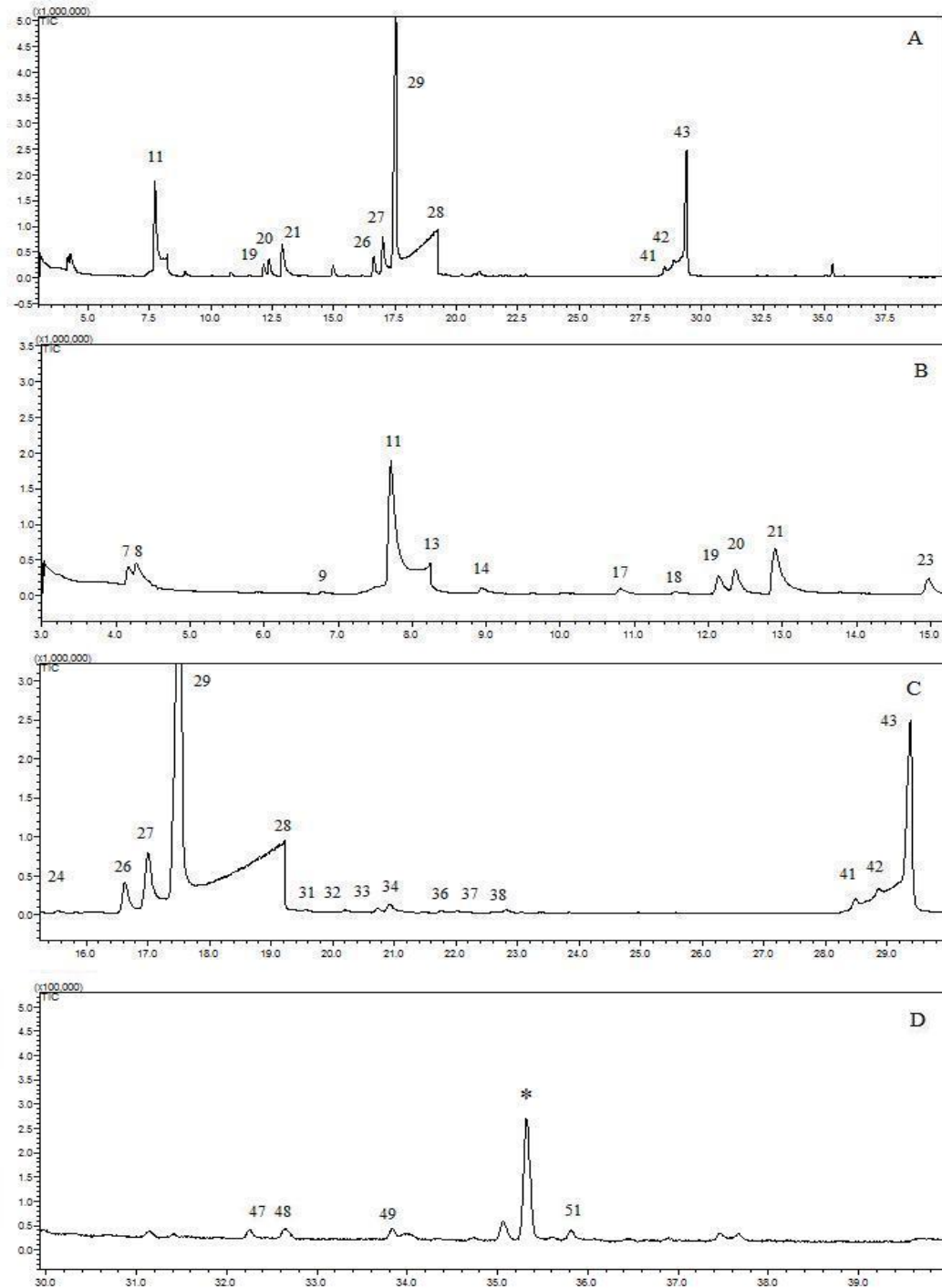


Figura 5. Cromatograma representativo do perfil volátil de um espumante Moscatel nacional (espumante “a”) completo em (A), dividido e ampliado em três partes, de acordo com o tempo de retenção dos compostos voláteis tentativamente identificados: (B) de 0 a 15 min; (C) de 15 a 30 min; (D) de 30 a 48 min. Os picos de 1 a 6 não estão apresentados neste cromatograma, pois nestas condições experimentais, os mesmos eluíram antes do corte do solvente. O pico * em D é o padrão interno. Os compostos 10, 12, 15, 16, 22, 25, 30, 35, 39, 40, 44, 45, 46 não estão presentes neste espumante. As condições para a extração dos compostos encontram-se no item 3.2 e as condições cromatográficas para esta análise em coluna de **30 metros** estão descritas no item 3.3.

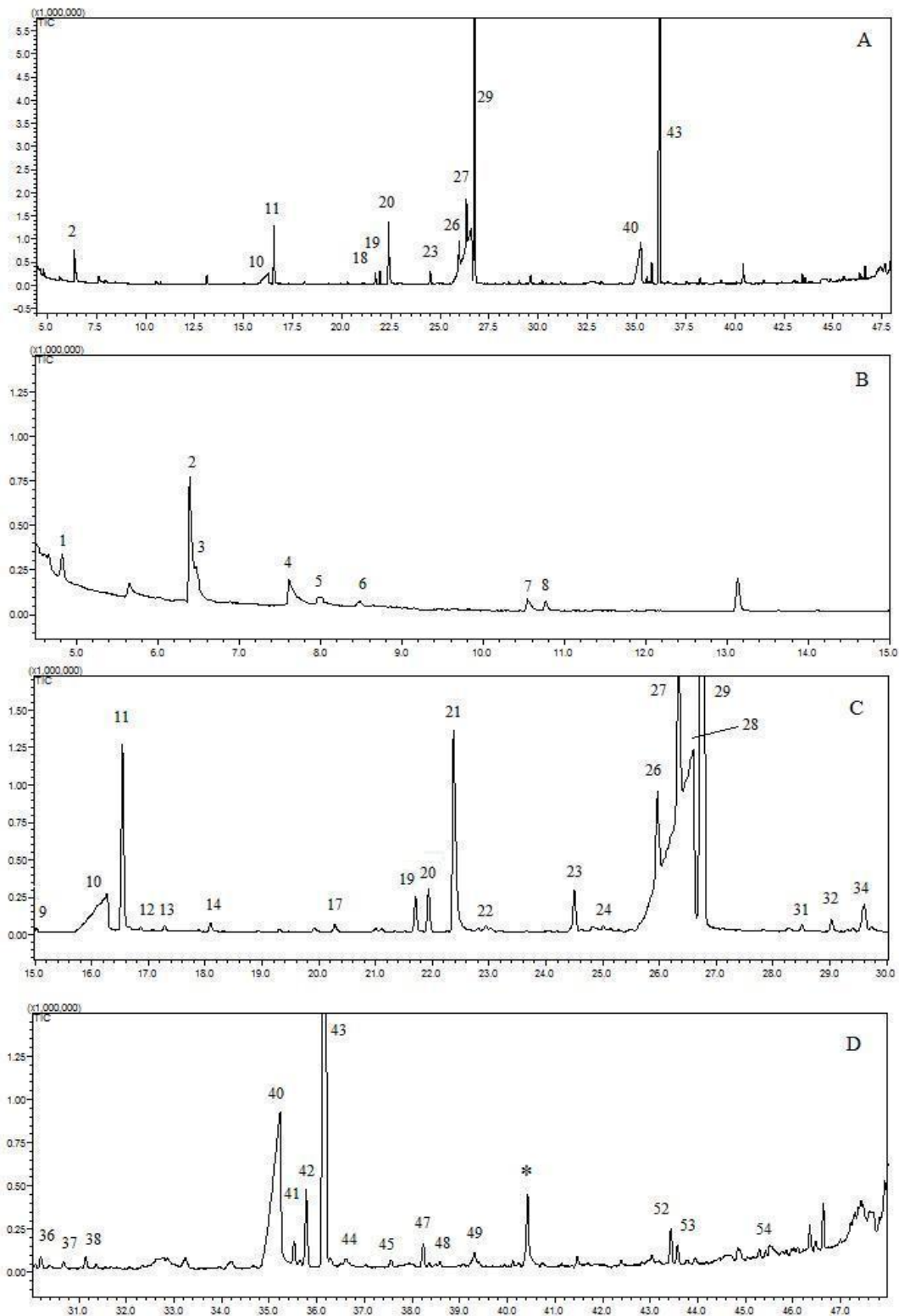


Figura 6. Cromatograma representativo do perfil volátil de um espumante Moscatel nacional completo (espumante “a”) em (A), dividido e ampliado em três partes, de acordo com o tempo de retenção dos compostos voláteis tentativamente identificados: (B) de 0 a 15 min; (C) de 15 a 30 min; (D) de 30 a 48 min. O pico * em D é o padrão interno. Os compostos 15, 16, 18, 25, 33, 35, 39, 46, 50 não estão presentes nesse espumante. As condições para a extração dos compostos encontram-se no item 3.2 e as condições cromatográficas para esta análise em coluna de **60 metros** estão descritas no item 3.3.

Tabela IV. Compostos voláteis tentativamente identificados do espumante Moscatel nacional “a” e importado “c” empregando-se HS-SPME e 1D-GC/qMS (condições experimentais nos itens 3.2 e 3.3, respectivamente), apresentados de acordo com sua ordem de eluição nas colunas DB-5 de 30 m e 60 m.

Nº	Composto (aroma)	espumante	espumante	espumante	LTPRI Cal. _{DB-5}	LTPRI _{Lit.} (43)	LTPRI Cal. _{WAX}	LTPRI _{Lit.}
		nacional (%)	importado (%)	nacional (%)				
	coluna	DB-5 30 m	DB-5 30 m	DB-5 60 m				
1	acetato de etila ^b			0,37	659			
2	metil 1-butanol ^b			1,62	731	740	1212	1213 ⁸³
3	metil 2-butanol ^b			0,17	735	748		
4	2,3-butanodiol ^b			0,45	789	793	1548	1542 ⁸⁴
5	butanoato de etila ^b			0,17	803	804	1055	1047 ⁸⁵
6	lactato de etila ^b		1,93	0,05	816	798	1350	1353 ⁸⁶
7	1-hexanol ^b frutado	1,36	2,02	0,14	882	870	1358	1358 ⁸⁷
8	acetato de isoamila ^a frutado (pêra/banana)	2,59	0,92	0,11	885	881	1124	1125 ^{86,88}
9	terpeno ^c	0,16	0,62	0,05	971			
10	ácido hexanoico ^b			2,01	994	997	1860	1861 ⁸⁹
11	hexanoato de etila ^a frutado(abacaxi/banana)	11,44	6,08	2,58	1002	997	1236	1236 ⁸⁸
12	<i>ni</i>		<i>0,19</i>		<i>1008</i>			
13	acetato de hexila ^a frutado (maçã/cerveja)	0,31	0,04	0,07	1015	1011	1276	1275 ^{86,88}
14	2-etil-1-hexanol ^b (herbáceo)	0,69		0,13	1030	1030	1496	1492 ⁸⁹
15	<i>terpeno</i>		<i>0,06</i>		<i>1030</i>			
16	<i>ni</i>		<i>0,31</i>		<i>1045</i>			
17	óxido de <i>cis</i> -linalol ^b (pinheiro)	0,66	0,95	0,13	1073	1067	1446	1453 ⁹⁰

Nº	Composto (aroma)	espumante nacional (%)	espumante importado (%)	espumante nacional (%)	LTPRI Cal.DB-5	LTPRI _{Lit.} (43)	LTPRI Cal.WAX	LTPRI _{Lit.}
	coluna	DB-5 30 m	DB-5 30 m	DB-5 60 m				
18	óxido de <i>trans</i> -linalol ^b (pinheiro)	0,19	0,38		1190	1084		
19	linalol ^a floral amadeirado (rosas)	1,42	0,20	0,47	1102	1095	1556	1555 ⁹¹
20	hotrienol ^b floral (tília, planta)	2,07	1,58	0,58	1107	1104	1619	1620 ⁸⁶
21	feniletanol ^b floral amadeirado (rosa e mel)	6,84	7,87	3,33	1116	1106	1919	1922 ⁹²
22	ácido 2-etil-hexanoico ^b			0,05	1124	1122	1962	1950 ⁹³
23	óxido de nerol ^b	1,58	3,30	0,64	1154	1154	1472	1464 ⁹⁴
24	ocimeno ^b	0,18	0,37	0,04	1165	1155		
25	<i>terpeno</i> ^c		0,10		1175			
26	succinato de dietila ^b (floral e frutado)	2,90	3,58	5,06	1185	1179	1685	1687 ⁹⁵
27	α -terpineol ^a floral (lírio do Vale)	5,70	4,89	7,16	1192	1186	1700	1700 ⁹⁶
28	ácido octanoico ^b			10,46	1199	1193	2076	2076 ⁸⁶
29	octanoato de etila ^a frutado	40,29	43,85	31,36	1201	1196	1439	1436 ⁸⁶
30	citronelol			0,06	1229	1225		
31	ni	0,13		0,09	1235			
32	éster ^c	0,25	0,10	0,16	1246			
33	<i>terpeno</i> ^c	0,31	0,39		1255			
34	acetato de 2-etilfenila ^b (frutado)	0,82	0,14	0,57	1258	1258	1822	1815 ⁹²
35	<i>terpeno</i> ^c		0,07		1267			
36	éster ^c	0,18		0,13	1272			

Nº	Composto (aroma)	espumante nacional (%)	espumante importado (%)	espumante nacional (%)	LTPRI Cal.DB-5	LTPRILit. (43)	LTPRI Cal.WAX	LTPRILit.
	coluna	DB-5 30 m	DB-5 30 m	DB-5 60 m				
37	vitispirano ^b floral/frutado (cânfora, eucalipto)	0,10	0,60	0,11	1276	1272		
38	éter de etil geranila ^b	0,19		0,14	1289	1297		
39	<i>terpeno</i> ^c		<i>0,15</i>		1290			
40	ácido decanoico ^b			6,60	1375	1366	2286	2282 ⁹⁷
41	ni	0,59	0,24	0,28	1384			
42	9-decenoato de etila ^b	0,38	0,16	0,96	1390	1389	1695	1689 ⁹⁸
43	decanoato de etila ^b frutado (laranja)	17,59	16,46	25,50	1399	1395	1643	1645 ⁹⁹
44	ni			0,13	1400			
45	ni			0,17	1407			
46	<i>ni</i>		<i>0,18</i>		<i>1429</i>			
47	octanoato de isoamila ^b	0,08	0,08	0,31	1448	1442	1661	1655 ¹⁰⁰
48	geranil acetona ^b	0,14	0,15		1454	1453		
49	ni	0,12	0,11	0,29	1474			
50	<i>terpeno</i> ^c		<i>0,10</i>		<i>1476</i>			
51	éster ^c	0,11		0,12	1536			
52	laurato de etila ^b			0,43	1595	1591	1849	1850 ⁹²
53	ni			0,50	1599			
54	éter de octila ^b			0,14	1668	1668		

^a compostos positivamente identificados através de injeção de padrões; ^b compostos tentativamente identificados através da comparação de LTPRI e espectros de massas dos componentes do vinho com dados da literatura; ^c compostos tentativamente identificados através da comparação de espectros de massas dos componentes do vinho com aqueles de bibliotecas comerciais de espectros de massas; ni – composto não identificado. *Os nomes em itálico indicam compostos que estão presentes apenas nos espumantes estrangeiros.* Os componentes numerados de 1 a 6 não foram detectados e separados quando da utilização da coluna de 30 m, pois sua eluição ocorreu antes do corte de solvente. Condições cromatográficas estão descritas no item 3.3. Celas vazias indicam que o composto não foi detectado dentro das condições de análise.

No espumante “a” da **Figura 5** foi feita a detecção de 30 compostos, 22 identificados (6 positivamente e 16 tentativamente) e para 5, apenas a classe química do componente foi designada. Para o mesmo espumante (**Figura 6**) utilizando-se uma coluna de mesma fase estacionária, porém com maior comprimento (60 metros) foi feita a detecção de 43 compostos, 33 identificados (6 positivamente e 27 tentativamente) e para quatro, apenas a classe química do componente foi designada. Não foi possível identificar os seis componentes restantes. A análise dos compostos voláteis permitiu a identificação tentativa de 66 compostos (somatório dos componentes de todas as amostras analisadas) e separação dos ésteres de seus ácidos correspondentes, como por exemplo, ácido decanoico (40) e decanoato de etila (43), que não haviam sido separados na coluna DB-5 de 30 metros. Não é possível fazer uma comparação direta sobre a eficiência cromatográfica das duas colunas, visto que a temperatura inicial da coluna DB-5 de 30 m, na qual foram feitas as análises preliminares, foi de 60 °C, ao passo que na coluna DB-5 de 60 m, esta temperatura foi de 45 °C. Entretanto, apesar da impossibilidade de uma comparação direta, é interessante observar a capacidade superior de separação da coluna mais longa, na qual vários pares de componentes foram separados, tendo co-eluído parcial ou totalmente na coluna de 30 m: 1-hexanol (9) e acetato de isoamila (10), linalol (28) e hotrienol (29), bem como para terpinoleno (25) e citrionelol (50) (**Anexos I e II**). A menor temperatura inicial empregada na coluna de 60 m, bem como uma melhor escolha do tempo de corte de solvente, possibilitaram a verificação da presença dos seguintes compostos: acetato de etila (1), 3-metil-1-butanol (2), 2-metil-1-butanol (3), 2,3 butanodiol (4) e butanoato de etila (5) (**Figura 6 e Tabela IV**), os quais não haviam sido percebidos nas análises anteriores.

Os compostos acetato de isoamila (10) e de hexila (18), hexanoato de etila (15), linalol (28), α -terpineol (44), octanoato de etila (45) foram positivamente identificados através da injeção de padrões e posterior comparação dos dados de retenção e espectros de massa destes padrões com aqueles encontrados para compostos voláteis de vinho. Os espumantes Moscatéis brasileiros investigados neste trabalho, utilizando-se coluna DB5 de 60 m, apresentam a seguinte composição, de acordo com o percentual relativo de área cromatográfica das classes de seus componentes: ésteres (22,72 a 74,14%), ácidos (13,21 a 35,50%), álcoois (5,01 a 19,80%), terpenos (6,19 a 16,84%) e em menor quantidade norisoprenóides, cetonas, fenóis entre outros, conforme mostra a **Figura 7**.

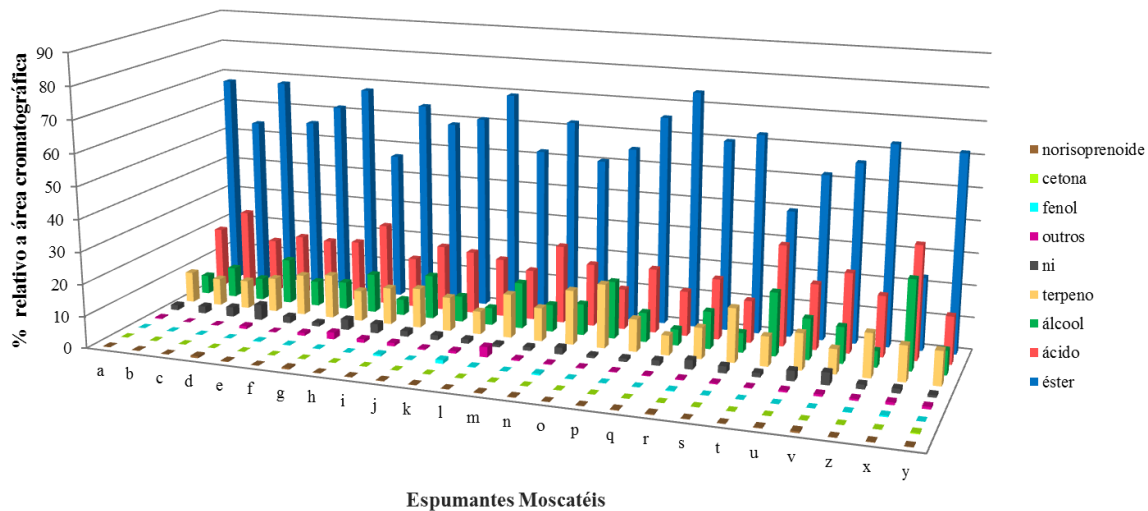


Figura 7. Análise semi-quantitativa dos compostos voláteis dos espumantes Moscatéis conforme os grupos de compostos (ésteres, ácidos, álcoois, terpenos, fenóis, cetonas, norisoprenóides e outros). Descrição da análise semi-quantitativa no item 3.3 para a coluna DB-5 de 60 m. Vinhos “b” e “c” são espumantes estrangeiros e “y” corresponde a um vinho Moscato estrangeiro, sendo os demais espumantes Moscatéis, todos brasileiros.

Os compostos majoritários presentes no *headspace* dos espumantes, tanto nacionais quanto importados e analisados em uma coluna DB-5 de 60 m, são acetato de etila (0,16 a 4,67%), 3-metil-1-butanol (0,60 a 10,60%), ácido hexanoico (0,95 a 3,89%), hexanoato de etila (0,33 a 3,72%), 1-octanol (nd a 1,39%), ácido sórbico (nd a 4,16%), sorbato de etila (nd a 10,20%), linalol (0,07 a 5,46%), hotrienol (0,32 a 5,32), feniletanol (2,06 a 24,92%), óxido de nerol (0,37 a 2,14%), succinato de dietila (1,30 a 12,31%), α -terpineol (4,73 a 11,83), octanoato de etila (4,64 a 34,49%), ácido octanoico (2,02 a 18,57%), ácido decanoico (5,43 a 18,81), decanoato de etila (6,01 a 35,92%). Porém apenas os espumantes “d” e “v” apresentam o composto 1-octanol, os espumantes “i” e “q” apresentam ácido sórbico e sorbato de etila, sendo que o ácido sórbico também está presente no espumante “s”. As amostras que não possuem esses compostos majoritários apresentam “nd” (não detectado) no lugar do percentual de área. Os compostos majoritários foram selecionados, após o cálculo da média das áreas percentuais relativas de cada componente, levando-se em consideração todas as amostras. Os compostos com área relativa percentual média superior a 1% foram considerados majoritários. Compostos minoritários (área < 0,15%) como furfural, 2-heptanol, 1-heptanol, ácido 2-etil-hexanoico, *cis*-verbenol, *cis*-ocimenol, ácido de 2-etil-hexanoico, octanoato e decanoato de propila foram detectados em uma ou duas amostras, conforme **Anexo II**. Também foram feitas análises do

headspace dos espumantes Moscatéis brasileiros e importados em uma coluna DB-WAX que confirmaram a identificação tentativa de 38 compostos (**Tabela IV** e **Anexo I**). Essas análises foram feitas com coluna de 30 metros e a temperatura inicial de 45°C.

É interessante observar que os perfis cromatográficos dos vários vinhos espumantes Moscatéis brasileiros apresentam notável semelhança entre si, mostrando os mesmos componentes majoritários e praticamente a mesma composição de acordo com o percentual relativo de área cromatográfica das classes de seus componentes nas várias amostras investigadas (**Figura 7**). Este fato pode servir como indicativo de homogeneidade da composição volátil destes Moscatéis, de forma a conferir a estes produtos uma assinatura volátil que possa servir para o controle de qualidade das vinícolas. De acordo com dados estatísticos da IBRAVIN, já mencionados anteriormente, os espumantes submetidos a esta investigação representam 26,5% dos espumantes Moscatéis nacionais comercializados em 2011. Além disso, foram analisados 52,4% dos espumantes Moscatéis de vinícolas nacionais que têm produção própria de espumante e que os comercializaram em 2011.

A semelhança entre a composição dos voláteis dos vinhos espumantes brasileiros e estrangeiros também é evidente pelo que é apresentado na **Tabela IV**. Os componentes que foram detectados apenas no espumante Moscatel estrangeiro “c” foram escritos em itálico na **Tabela IV** e são compostos minoritários, muitos não identificados ou com identificação apenas da classe química. Conforme o **Anexo II**, foram detectados 8 compostos a mais no espumante importado “c” e 4 compostos a menos no espumante importado “b” em relação ao espumante nacional “a” (escolhido como representativo do conjunto de 22 espumantes nacionais), sendo que em área percentual essa diferença entre os espumantes é baixa. Apenas 0,94% da área percentual do espumante “b” e 1,74% para o espumante “c” correspondem a compostos que foram detectados apenas nos espumantes importados. A semelhança do vinho Moscato (amostra “y”) com os espumantes Moscatéis também pode ser observada a partir da **Figura 7** e do **Anexo II**, onde se verifica que foram detectados cinco (5) compostos a menos que no *headspace* deste vinho do que no do espumante “a” e 2,46% da área percentual corresponde a compostos detectados apenas no *headspace* do vinho Moscato.

A literatura científica não apresenta nenhum estudo sobre a composição volátil de espumante Moscatel, porém Selli e *et al*⁶ observaram que β -damascenona, hexanoato e butanoato de etila, acetato de isoamila e de 2-feniletila, linalol, geraniol e 2-feniletanol são compostos aroma ativos no vinho Moscatel de Bornova (Turquia). Esses compostos também estão presentes nos espumantes desse estudo e possivelmente são alguns dos responsáveis pelo aroma dos

mesmos. Em um trabalho futuro pretende-se realizar análises por cromatografia gasosa e olfatométrica (GC-O, do inglês, *gas chromatography – olfactometry*) para a confirmação dos compostos aroma ativos desses espumantes Moscatéis. A GC-O é utilizada para identificar os compostos voláteis que contribuem significativamente para o aroma dos vinhos, empregando o nariz humano como detector. A avaliação olfativa dos compostos eluídos da coluna é feita por avaliadores treinados, que, ao detectar um aroma, assinalam o início e fim do mesmo, assim como sua intensidade, através de um sistema de registro¹⁰¹.

4.1.2 Cromatografia Gasosa Bidimensional Abrangente acoplada com Espectrometria de Massas por Tempo de Voo

Os resultados da GC×GC/TOFMS demonstram o potencial desta técnica aplicada ao vinho espumante Moscatel, justificando o interesse pela técnica neste estudo. A análise do espumante “a” (**Figura 8**) por GC×GC resultou em 271 compostos detectados, dos quais 151 foram tentativamente identificados e para 73, apenas a classe química do componente foi designada, sendo que para 47 componentes, não foi possível completar o processo de identificação. O número de compostos tentativamente identificados por GC×GC é cinco vezes superior ao que foi observado por 1D-GC (33 componentes tentativamente identificados para o espumante “a”).

Em uma análise semi-quantitativa dos cromatogramas, verificou-se que, para as 24 amostras em estudo, os 17 componentes majoritários foram acetato de etila (1), 3-metil-1-butanol (2), hexanoato de etila (3), ácido hexanoico (4), 1-octanol, ácido sórbico, sorbato de etila, linalol (5), hotrienol (6), feniletanol (7), óxido de nerol (8), succinato de dietila (9), α -terpineol (10), octanoato de etila (11), ácido octanoico (12), ácido decanoico (13), decanoato de etila (14), sendo o 1-octanol, ácido sórbico e sorbato de etila identificados como majoritários em poucas amostras, conforme citado anteriormente na análise monodimensional. A **Figura 8** corresponde ao diagrama de cores do espumante “a”, no qual 14 destes compostos majoritários presentes no *headspace* dos espumantes Moscatéis analisados podem ser observados. No **Anexo III** estão listados todos os compostos voláteis detectados no espumante “a” com seus respectivos índices de retenção. A comparação dos resultados obtidos por 1D-GC e por GC×GC mostra que os dados resultantes da técnica bidimensional confirmam os 17 compostos majoritários anteriormente verificados por 1D-GC.

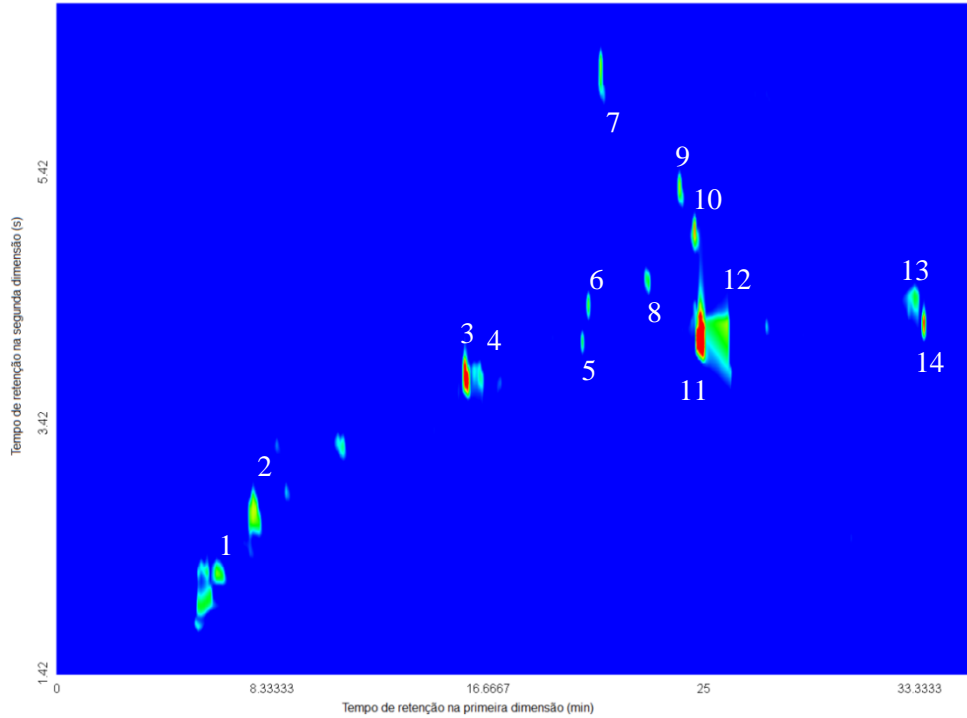


Figura 8. Diagrama de cores correspondente aos compostos voláteis extraídos por HS-SPME de espumante Moscatel nacional (espumante “a”) obtido por GC×GC/TOFMS. Compostos majoritários deste espumante: acetato de etila (1), 3-metil-1-butanol (2), hexanoato de etila (3), ácido hexanoico (4), 1-octanol, ácido sórbico, sorbato de etila, linalol (5), hotrienol (6), feniletanol (7), óxido de nerol (8), succinato de dietila (9), α -terpineol (10), octanoato de etila (11), ácido octanoico (12), ácido decanoico (13), decanoato de etila (14). Condições cromatográficas estão descritas no item 3.3 e a numeração dos picos cromatográficos não diz respeito às numerações de componentes de tabelas deste trabalho.

A presença de pico cromatográfico distorcido por cauda (**Figura 9A e 9B**) indica a presença de compostos polares na 1D-GC, conforme **Figura 9A**, onde se verifica a cauda concernente ao pico do ácido octanoico, que se estende aos picos dos compostos numerados de 1 a 3. Embora esses compostos apresentem baixa qualidade nos seus espectros de massas e tempos de retenção distorcidos, os mesmos foram tentativamente identificados e suas áreas foram consideradas para uma estimativa de semi-quantificação, tanto em 1D-GC, como em GC×GC. Contudo, através da GC×GC a separação entre o ácido octanoico e seu éster foi superior, bem como a separação destes relativamente aos outros componentes (1 e 2) que co-eluíram parcialmente nas condições cromatográficas empregadas em 1D-GC, como pode ser verificado na **Figura 9A**. É interessante observar que em 1D-GC/qMS a ordem de eluição entre o ácido octanoico e seu éster parece ter se invertido, quando se observa os cromatogramas das **Figuras 5 e 6**, entretanto, uma cuidadosa verificação destes cromatogramas e suas condições experimentais

mostra que o ácido octanoico começa a eluir antes do seu éster em ambos os cromatogramas, mas na **Figura 6** o éster elui em um tempo de retenção maior, pois a coluna cromatográfica é mais longa (60 m) e temperatura inicial de análise (45 °C) foi menor do que no caso do cromatograma da **Figura 5** (coluna de 30 m, temperatura inicial 60 °C). Contudo, em ambos os casos, a eluição do ácido octanoico se estende por um período grande de tempo de retenção, devido a sua polaridade, co-eluindo parcialmente com seu éster. Trata-se, portanto, de um pico cromatográfico, cujo formato anômalo propicia esta aparente inversão nos tempos de retenção.

A presença de ácidos no aroma de vinhos é normalmente indesejável, pois estes compostos são conhecidos por conferirem um odor desagradável ao produto³⁴. No entanto, o α -terpineol está associado a aromas frutados, cítricos, florais e doces^{34,102}; o succinato de dietila apresenta aromas frutados, florais e adocicados^{34,103} e o octanoato de etila lembra aromas frutados (pera, abacaxi, banana, morango), frescos e adocicados¹⁰⁴ contribuindo positivamente para o aroma do espumante.

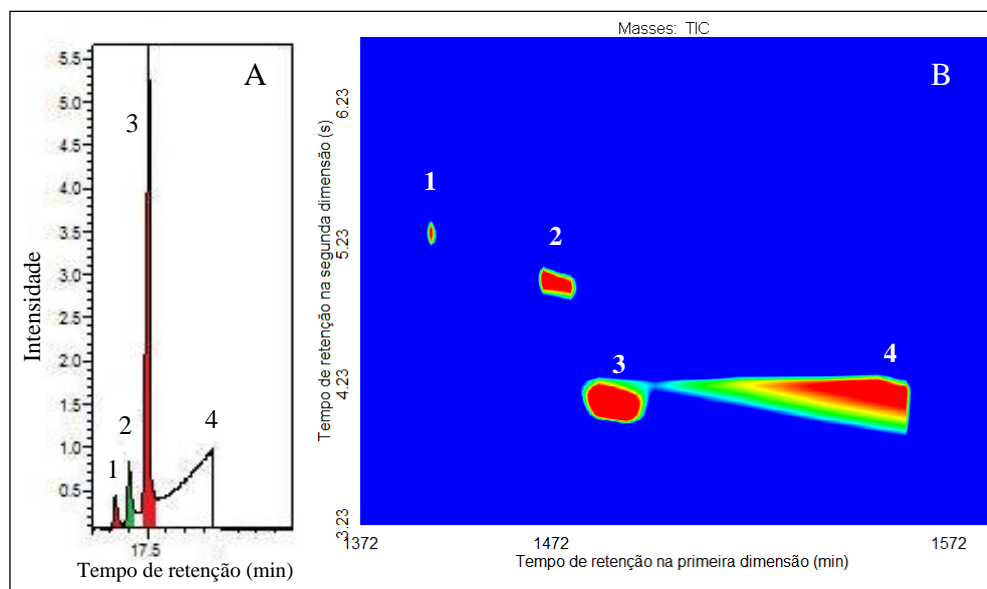


Figura 9. Separação cromatográfica de quatro componentes voláteis (succinato de dietila (1), α -terpineol (2), octanoato de etila (3), ácido octanoico (4)) de vinho espumante Moscatel nacional (espumante “a”) apresentada em porção ampliada do cromatograma obtido por 1D-GC/qMS (separação parcial dos compostos em (A)) e por GCxGC/TOFMS (separação quase completa dos compostos em (B)).

Nos **Anexos II e III**, é possível verificar que todos os quatro componentes voláteis - succinato de dietila, α -terpineol, octanoato de etila e ácido octanoico - foram encontrados em todos os 24 vinhos investigados, tanto em 1D-GC/qMS, como por GCxGC/TOFMS, sendo

componentes majoritários (40,5 (\pm 7,9) % em área cromatográfica relativa). Entretanto, no vinho espumante “k” não foi possível calcular a área cromatográfica de ácido octanoico, quando do uso da 1D-GC/qMS, devido à co-eluição acentuada deste e do octanoato de etila.

Outras co-eluições foram observadas na primeira dimensão (¹D), dentre as quais, algumas foram resolvidas na segunda dimensão (²D), o que pode ser verificado na **Figura 10**: feniletanol (1) e mircenol (2), succinato de etila (3) e um éster (4), citronelol (5) e nerol (6), um terpeno (7) e acetato de 2-feniletila (8). Os números entre parênteses designam os picos cromatográficos destes compostos na **Figura 10**. Vários dos componentes presentes nestas co-eluições contribuem positivamente para o aroma do espumante. O mircenol (2) é um álcool monoterpênico que apresenta aroma floral refrescante¹⁰⁵. O feniletanol (1), álcool com aroma de pétalas de rosa e mel, proporciona leve queimação quando degustado e está presente em boa parte das essências naturais de flores e frutos, como por exemplo, em óleo essencial de rosa¹⁰⁶. O succinato de etila confere aromas frutados, florais e adocicados^{34,103}, e o acetato de 2-feniletila apresenta aroma de rosas^{34,35}. O pico cromatográfico correspondente à coeluição nerol/citronelol apresenta uma área percentual menor (< 0,02%) que as demais aqui citadas, como por exemplo, feniletanol/mircenol (~ 3,0%) e succinato de etila/éster (~ 2,5%), porém não é, por isto, menos importante. O álcool monoterpênico citronelol (5) apresenta um aroma cítrico, que lembra o aroma de limão verde e se destaca também por seu baixo limiar de percepção nos vinhos (18 $\mu\text{g L}^{-1}$)³⁴. O nerol (6) é também um álcool monoterpênico de aroma floral e contribui de forma relevante para o aroma das castas Moscatel³³. A co-eluição do nerol com citronelol também foi observada por Soares e *et al*¹⁸. Um estudo que empregou α -L-ramnospiranosidase (Rha, EC 3.2.1.40), enzima de importância considerável em tecnologia de alimentos para melhoria do aroma de vinhos, mostos, sucos de fruta e outras bebidas alcoólicas, utilizou essa enzima para aumentar o aroma de uma solução de vinho contendo precursores aromáticos extraídos a partir de peles de uvas Moscato. Com o estudo desta enzima foi possível verificar um aumento no teor de terpenos totais de cerca de 2,3 vezes, sendo o acréscimo de citronelol em maior extensão, seguido do nerol, geraniol e linalol¹⁰⁷.

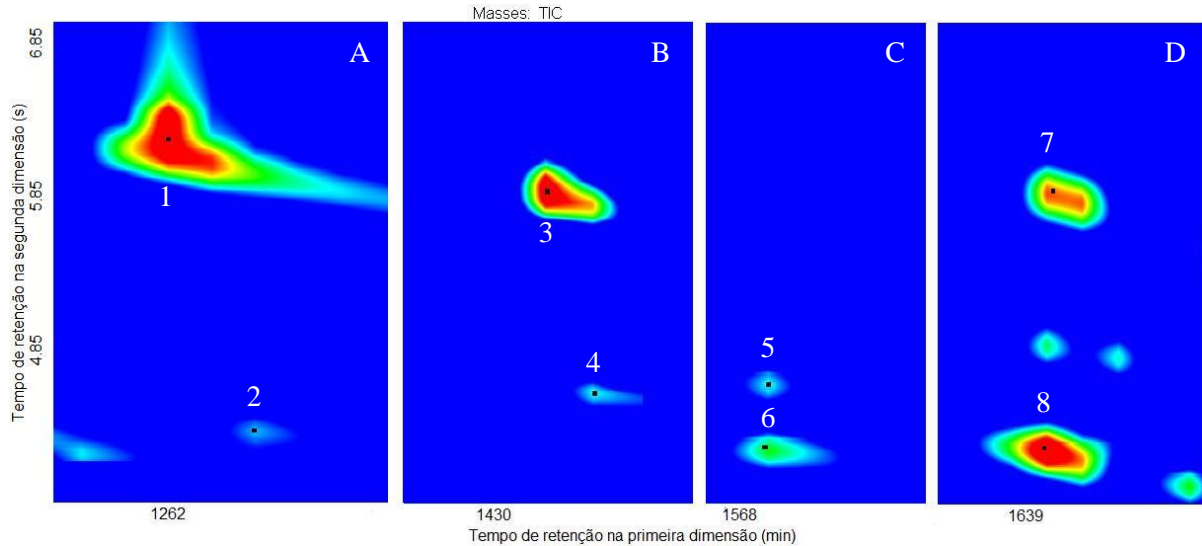


Figura 10. Partes de diagramas de cores da composição volátil do vinho espumante Moscatel, que apresentam co-eluições na primeira dimensão de (A) feniletanol (1, $IR_{cal} = 1119$) com mircenol (2, $IR_{cal} = 1121$), (B) succinato de etila (3, $IR_{cal} = 1181$) e um éster (4, $IR_{cal} = 1184$), (C) citronelol (5, $IR_{cal} = 1230$) e nerol (6, $IR_{cal} = 1230$), (D) um terpeno (7, $IR_{cal} = 1257$) e acetato de 2-feniletila (8, $IR_{cal} = 1257$).

Outras coeluições merecem destaque, como por exemplo, a coeluição do 1-octanol (1) e do óxido de *cis*-linalol (2). Alguns espumantes (“d” e “v”) apresentaram maior concentração de 1-octanol, o que prejudicou a identificação do óxido de *cis*-linalol. Um exemplo disto pode ser observado na **Figura 11** onde o espumante “d” (**Figura 11A**) apresenta maior concentração de 1-octanol em relação ao espumante “u” (**Figura 11C**), sendo que o 1-octanol no espumante “u” só foi identificado através da GC×GC. Em outros casos, o 1-octanol é quem está em menor concentração e não é detectado na 1D-GC. O aroma do 1-octanol foi reportado por Chin *et al*¹⁰⁸ no estudo da composição volátil de vinhos Merlot através de análise por GC-O e GC×GC/TOFMS como sendo um aroma de queijo e leite. O óxido de *cis*-linalol é um monoterpene com aroma de pinheiro, que segundo Ribéreau-Gayon *et al.*⁴, pode ser formado facilmente pela oxidação do linalol. Durante a oxidação também pode ocorrer a formação do óxido de *trans*-linalol.

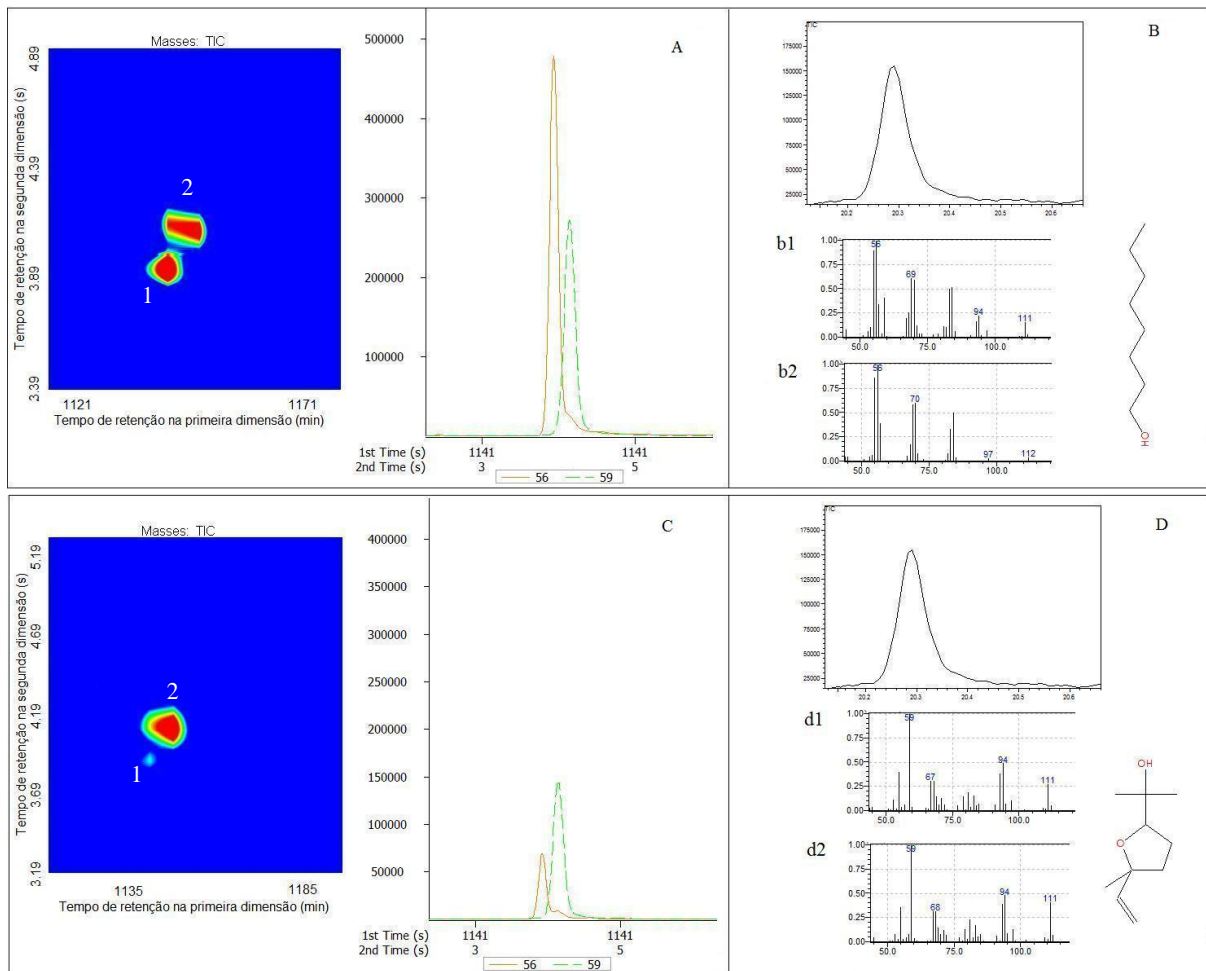


Figura 11. Comparação do espumante “d” com o espumante “u”, na qual em (A) observa-se o cromatograma dos picos modulados dos íons extraídos (íon 56 para **1-octanol** e íon 59 para **óxido de *cis*-linalol**), bem como parte do diagrama de cores que mostra os picos cromatográficos de dois componentes voláteis do espumante Moscatel “d”: 1-octanol ($^1t_{R}= 11,41$ min e $^2t_{R}= 3,92$ s) e óxido de *cis*-linalol ($^1t_{R}= 11,48$ min e $^2t_{R}= 4,12$ s) e em (C) observa-se um cromatograma semelhante ao (A), só que neste caso o 1-octanol apresenta-se em menor concentração do que o óxido de *cis*-linalol, sendo este o cromatograma correspondente ao espumante Moscatel “u”. (B) cromatograma monodimensional do espumante “d” com os espectros de massas obtidos experimentalmente (b1) e da literatura (b2). (D) cromatograma monodimensional do espumante “u” com os espectros de massas obtidos (d1) e da literatura (d2).

A co-eluição do sorbato de etila (1) e do linalol (2) na 1D , no espumante “i”, onde o sorbato de etila encontra-se em maior concentração do que o linalol, impede a identificação e quantificação individualizada desses compostos por cromatografia monodimensional (**Figura 12**). O linalol é um terpeno cujo aroma floral corresponde ao das rosas. A literatura apresenta os terpenos como compostos com características organolépticas ativas em limiares de percepção baixos, sendo o linalol, nerol, geraniol e α -terpineol os principais compostos aroma-ativos do

vinho Moscatel. Outros compostos como hotrienol e óxido de nerol também contribuem para o aroma dos vinhos, enquanto outros óxidos de terpenos, como os óxidos de linalol são praticamente inodoros¹⁰⁷.

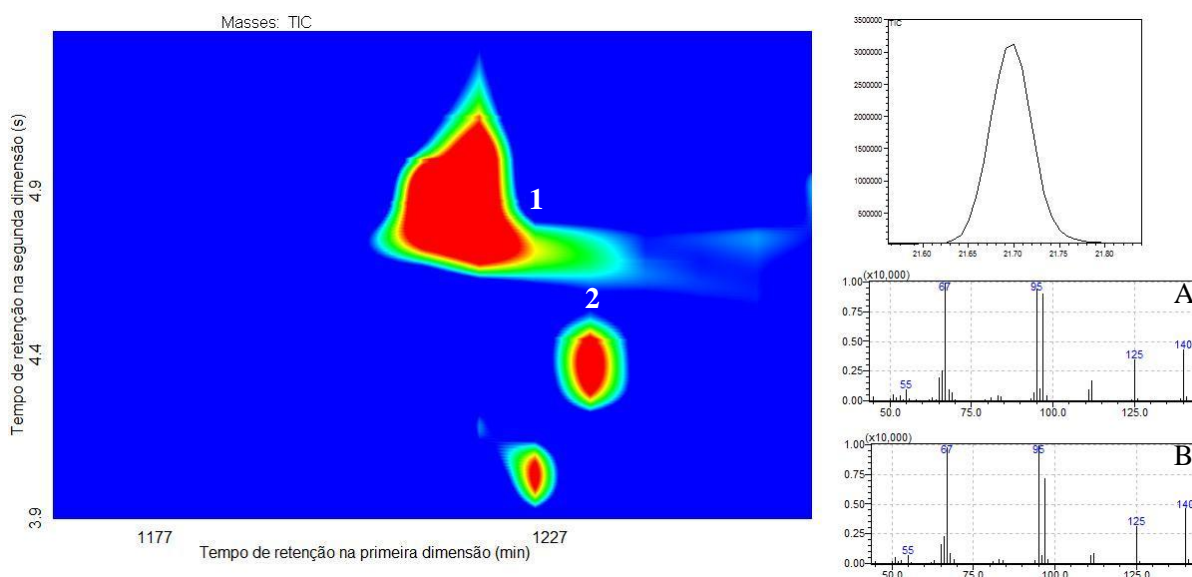


Figura 12. Coeluição do sorbato de etila (1) ($^1t_R = 12,18$ min e $^2t_R = 4,76$ s) com linalol (2) ($^1t_R = 12,25$ min e $^2t_R = 4,04$ s) na primeira dimensão e separação destes compostos na segunda dimensão. Ao lado cromatograma monodimensional estão os espectros de massas obtidos experimentalmente em 1D-GC para a mistura dos dois componentes (A) e do composto sorbato de etila reportado na literatura científica^{80,81} (B).

O estudo de Welke e *et al*¹⁵ apresentou o efeito de estruturação de diferentes classes de compostos voláteis (ésteres, álcoois, ácidos, aldeídos e cetonas, tióis e lactonas) no espaço de separação bidimensional, para os vinhos elaborados a partir das uvas *Chardonnay*, ao se utilizar do conjunto de colunas polar (DB-Wax) × medianamente polar (DB-17ms). O emprego do conjunto de colunas apolar (DB-5) × medianamente polar (DB-17ms) no estudo dos voláteis de 24 espumantes Moscatéis não evidenciou um efeito de estruturação tão pronunciado para as diferentes classes químicas de compostos presentes no *headspace* destes vinhos. A **Figura 13** mostra um diagrama de cores obtido para compostos voláteis de vinho *Chardonnay* e a eluição das diferentes classes de compostos químicos em regiões distintas do espaço bidimensional, ao passo que na **Figura 14** observa-se as regiões nas quais as classes álcool, ácido, éster e terpeno, encontradas no *headspace* do espumante Moscatel “a”, eluíram. Neste caso, embora exista uma nítida separação entre álcoois e ácidos, estes últimos eluem na mesma região dos ésteres. O succinato de etila é o único éster que elui em um 2t_r maior (acima da região assinalada para os

terpenos), o que provavelmente é devido a sua maior polaridade, já que possui dois grupos carboxilato na sua estrutura. O uso de uma fase estacionária apolar na ¹D favorece a eluição dos componentes em ordem crescente de tempo de retenção, enquanto que na ²D, a o aumento da polaridade devido à presença de 50 % de grupos fenila na fase estacionária não é suficiente para proporcionar uma separação eficiente entre ácidos e ésteres, ao ponto de serem delimitadas regiões distintas para cada uma destas duas classes.

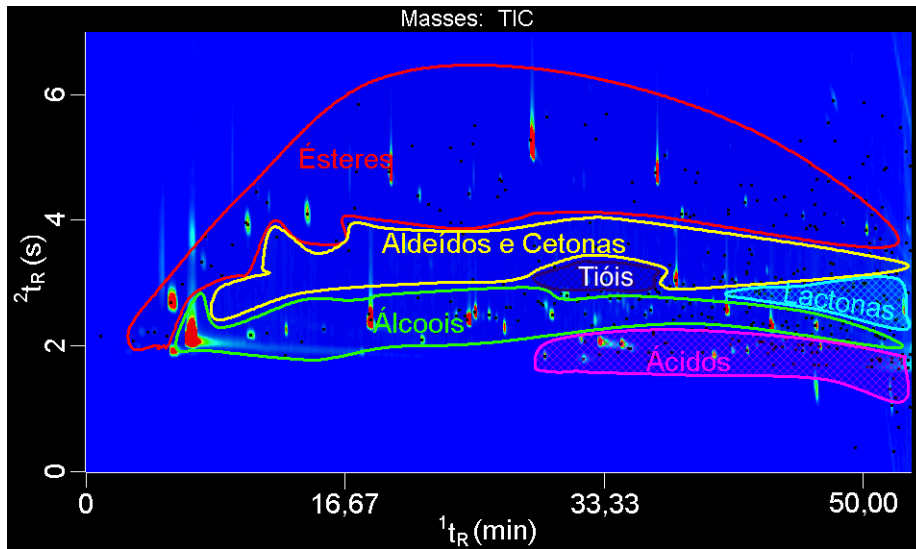


Figura 13. Diagrama de cores demonstrando a distribuição estruturada das classes de compostos voláteis de vinhos Merlot obtido com um conjunto de colunas DB-Wax (polar) × DB-17ms (polaridade média)¹⁵.

A eluição dos álcoois não ocorreu de forma estruturada e os mesmos estão localizados majoritariamente no início do diagrama. Entretanto, o 2-fenil etanol elui em um ²t_R maior do que os demais álcoois, provavelmente por causa de sua maior polaridade, devida ao anel benzênico. Os terpenos majoritários (linalol, hotrienol, óxido de nerol e α-terpienol) estão localizados numa mesma região indicada na **Figura 14**, porém outros terpenos estão localizados ao longo do diagrama. O emprego do conjunto de colunas empregado por Welke et al¹⁵ não foi possível neste trabalho, devido à indisponibilidade de uso destas colunas no equipamento no período em que esta investigação foi realizada.

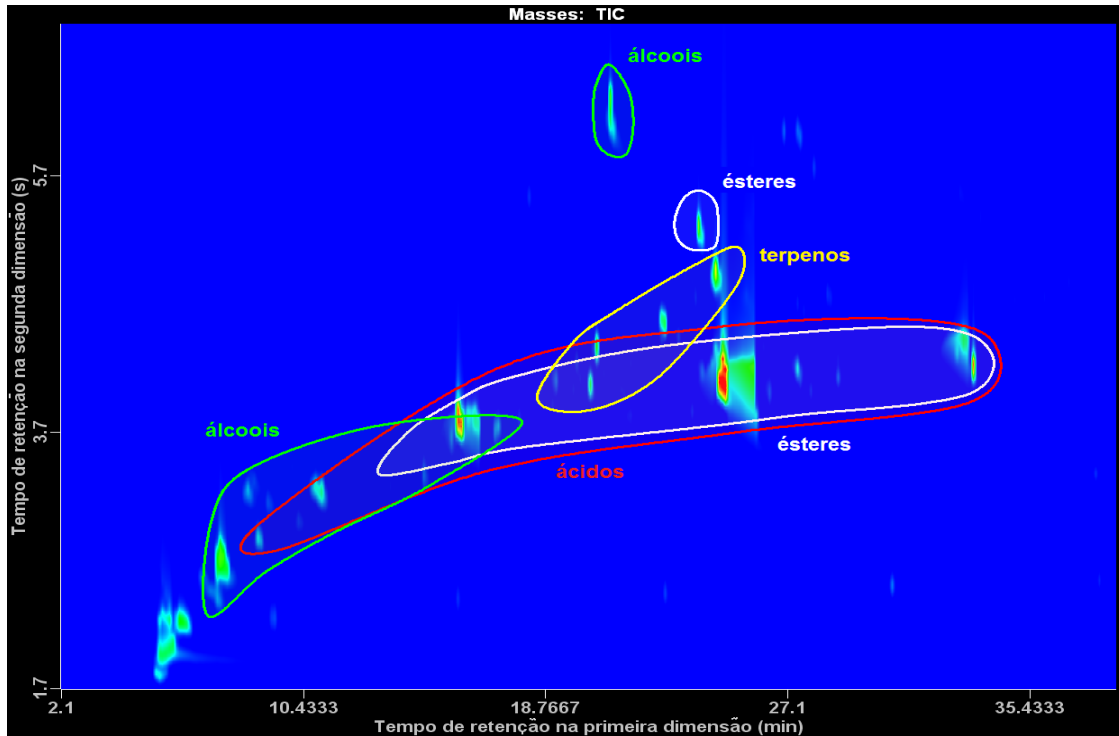


Figura 14. Diagrama de cores que demonstra a distribuição das classes de compostos voláteis do espumante Moscatel “a” obtido com o conjunto de colunas apolar × mediamente polar. Demais condições cromatográficas estão descritas no item 3.3.

4.2 ANÁLISE DOS COMPONENTES PRINCIPAIS APLICADA AOS DADOS OBTIDOS POR CROMATOGRAFIA GASOSA MONODIMENSIONAL E BIDIMENSIONAL

4.2.1 Análise dos Componentes Principais aplicada aos dados obtidos por Cromatografia Gasosa Monodimensional acoplada com Espectrometria de Massas

A PCA foi aplicada para que se pudesse visualizar similaridades e diferenças entre as amostras e também na busca de redução da dimensionalidade dos dados para um número menor de componentes principais, já que o número de compostos voláteis detectados (somatório dos componentes presentes em todos os espumantes moscatéis analisados) foi de 102, sendo 66 identificados (6 positivamente e 60 tentativamente), para 16 apenas a classe química foi designada com base nos seus espectros de massas e 20 não foram identificados. A possibilidade de encontrar marcadores de qualidade para os vinhos espumante Moscatéis é de extremo interesse para a indústria vitivinícola, visto que traria uma alternativa simples para controle de qualidade destes produtos. A descoberta de componentes marcadores de origem também seria útil para o processo de indicação de origem geográfica destas bebidas, valorizando estes

Moscatéis no mercado nacional e internacional¹⁶. Entretanto, independente da descoberta de marcadores de qualidade e/ou de origem, a caracterização dos compostos voláteis dos espumantes Moscatéis brasileiros é, por si só, um ganho de informação científica e tecnológica, visto que só existe um estudo publicado sobre este tema na literatura científica¹⁸.

Em um primeiro momento, todos os componentes voláteis dos vinhos foram submetidos à PCA, entretanto, já que o tipo de uva e o processo de vinificação são os mesmos para todos os Moscatéis em estudo, não se verificou a presença de componentes que pudessem trazer uma diferenciação entre as amostras, através desta abordagem, quando apenas 27,3% da variabilidade foi explicada pela PCA. Em uma segunda etapa, dos 17 compostos majoritários, onze compostos majoritários (linalol, α -terpineol, hotrienol, óxido de nerol, 1-hexanol, 1-octanol, feniletanol, sorbato de etila, hexanoato, octanoato e decanoato de etila) do *headspace* dos vinhos foram separados em três grupos, de acordo com suas classes químicas (ésteres, álcoois e terpenos), antes da PCA. O demais compostos majoritários foram desconsiderados na PCA, os ácidos por não contribuírem positivamente para o aroma do vinho, o acetato e o succinato de etila por apresentarem menor área percentual e não contribuírem significativamente para diferenciação dos espumantes. A escolha destes compostos se deve também a sua reconhecida importância para o aroma dos vinhos³⁴. A análise dos componentes principais destes subgrupos de dados gerou uma matriz de dados para cada classe de compostos (melhor combinação linear dos parâmetros originais) e esta matriz permitiu que fossem verificadas as principais fontes de variabilidade entre as amostras, de forma que se pudesse estabelecer relação entre vinhos espumantes e os compostos voláteis, que são os principais contribuintes para a variância do sistema. Em uma análise de componentes principais, o agrupamento das amostras define a estrutura dos dados através de gráficos de escores e pesos, cujos eixos são as PC, nos quais os dados são projetados. Os escores fornecem a composição das PC em relação às amostras de espumantes, enquanto os pesos fornecem essa mesma composição em relação aos compostos majoritários. Essa PCA foi realizada com os resultados das análises cromatográficas em coluna DB-5 de 30 metros, e, posteriormente, as análises com coluna DB-5 de 60 metros confirmaram os resultados.

Os quatro **terpenos majoritários** (linalol, α -terpineol, hotrienol, óxido de nerol) e os 24 objetos (espumantes nacionais e importados) submetidos à PCA mostraram que os espumantes “o” e “s” se diferenciaram dos demais, sendo que o espumante “s” foi separado pelo PC1 e o “o” foi mais influenciado pelas variáveis relacionadas ao PC2. Os **Anexos II e IV** mostram a tabela dos compostos voláteis do espumante “o” e seu respectivo cromatograma. O primeiro

componente principal (PC1) explica 54,21% e o segundo componente principal (PC2) explica 31,79% da variação deste conjunto de dados, resultando um total de 86,00% da variabilidade do sistema. As projeções das amostras ao longo das direções identificadas pelos dois primeiros PC constam da **Figura 15**.

O peso de cada variável original do PC pode ser investigado, visto que o valor do seu peso fornece uma indicação de quais compostos químicos seriam responsáveis pela diferença dos vinhos “o” e “s”. A **Figura 15B** mostra a relação correspondente entre as variáveis e as amostras de vinho espumante. Os pesos do α -terpineol (0,98), linalol (0,80) do hotrienol (0,75) mostram que estes três voláteis contribuíram majoritariamente para o PC1, sendo o peso do óxido de nerol (-0,92) de grande influência para o PC2. Os demais pesos para a PC1 e PC2 encontram-se na **Tabela V**. Conforme a literatura, esses espumantes que se destacaram do grande grupo apresentam provavelmente uma nota floral mais intensa devido à maior concentração dos terpenos citados³⁴.

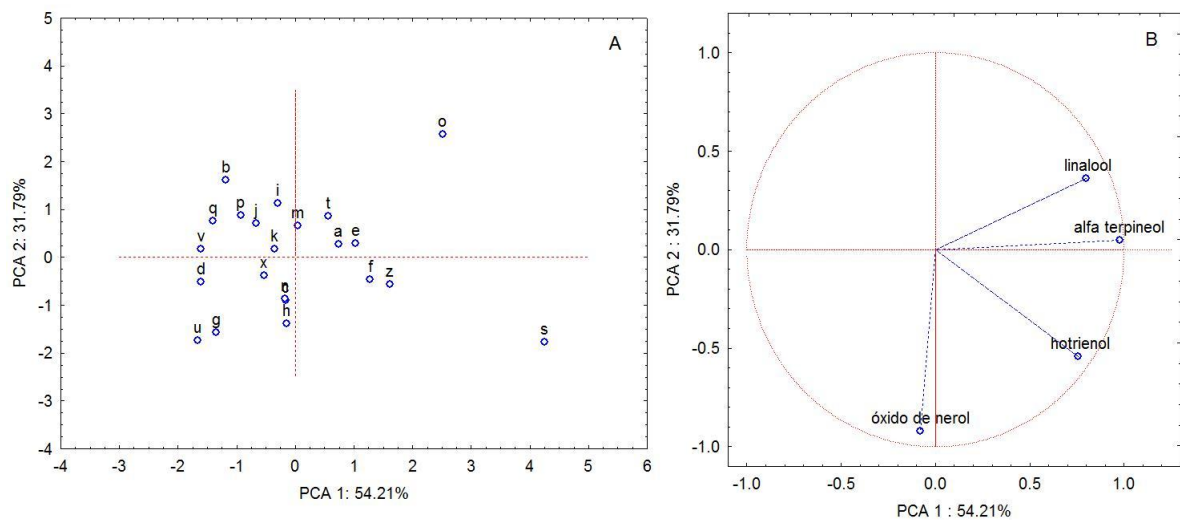


Figura 15. Gráficos resultantes da análise dos componentes principais a partir das áreas cromatográficas normalizadas percentuais relativas dos compostos voláteis dos espumantes Moscatéis (A) distinção entre as amostras “o”, “s” e as demais e (B) relação entre os terpenos e as amostras de espumantes.

A aplicação da PCA às áreas cromatográficas percentuais referentes aos três **álcoois majoritários** (1-octanol, 1-hexanol, feniletanol) das amostras e aos 24 objetos (espumantes nacionais e importados) resultou na diferenciação de quatro amostras de vinho: “d” e “v” foram separados pelo PC1, enquanto os vinhos “t” e “x” foram mais influenciados pelas variáveis relacionadas ao PC2. Os dois componentes principais extraídos da análise explicaram 98,99% da

variância total dos dados. O PC1 explicou 66,66% e o PC2 32,33% da variação no conjunto de dados. As projeções dos valores dos primeiros PC das amostras são mostradas na **Figura 16A e Tabela V**.

Tabela V. Pesos obtidos na PCA conforme o grupo de compostos voláteis (terpenos, álcoois e ésteres majoritários) em espumantes Moscatéis analisados por 1D-GC/qMS.

Composto	PC1	PC2
terpenos		
linalol	0,80	0,36
hotrienol	0,75	-0,54
óxido de nerol	-0,08	-0,92
α -terpineol	0,98	0,05
álcoois		
1-hexanol	-0,98	-0,14
1-octanol	-0,98	-0,09
feniletanol	0,24	-0,97
ésteres		
hexanoato de etila	-0,84	0,16
sorbato de etila	0,60	-0,58
octanoato de etila	-0,88	-0,20
decanoato de etila	0,50	-0,75

O peso das variáveis originais para 1-hexanol (-0,98) e 1-octanol (-0,99) contribuíram significativamente para o PC1, enquanto feniletanol (-0,97) apresentou grande influência no PC2, explicando a maior parte da variabilidade deste componente. A **Figura 16B** mostra a relação correspondente entre os álcoois e os espumantes. Os álcoois 1-octanol e 1-hexanol estão localizados no terceiro quadrante (PC1 e PC2 negativos), o que é coerente com a localização dos espumantes “v” e “d”. As áreas cromatográficas relativas percentuais destes dois álcoois são maiores nestes vinhos do que nos demais Moscatéis estudados.

O feniletanol está localizado no segundo quadrante (PC1 positivo, PC2 negativo) da **Figura 16B**, em conformidade com o que ocorre com os vinhos espumantes “t” e “x”. As áreas percentuais relativas do 2-fenil etanol nestes dois vinhos espumantes estão entre as maiores observadas para os 24 vinhos. Os álcoois 1-octanol e 1-hexanol se caracterizam por um aroma frutado e o 2-fenil etanol se caracteriza por um aroma floral³⁴. Possivelmente os espumantes “v”

e “d” se diferenciam dos espumantes “t” e “x” por um aroma mais frutado, enquanto os dois últimos apresentam um aroma mais floral⁷.

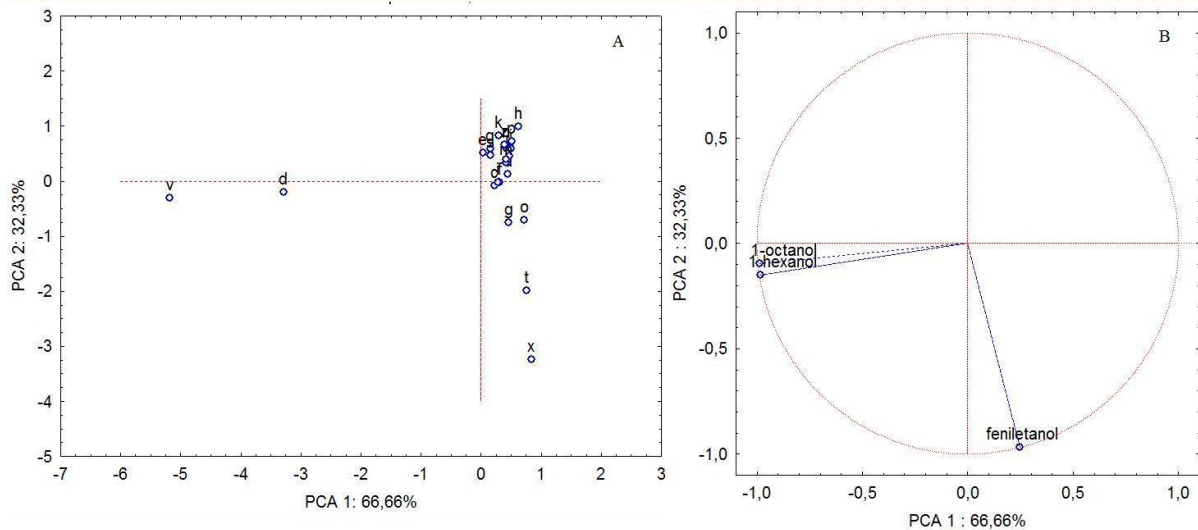


Figura 16. Gráficos resultantes da análise dos componentes principais a partir das áreas cromatográficas normalizadas percentuais relativas dos compostos voláteis dos espumantes Moscatéis (A) distinção entre as amostras “v”, “d”, “t” e “x” das demais e (B) relação entre os álcoois e as amostras vinho espumante Moscatel.

Quatro variáveis analíticas normalizadas (áreas cromatográficas relativas dos **ésteres majoritários**: hexanoato, octanoato, decanoato e sorbato de etila) de 24 espumantes (objetos) foram submetidas à PCA. Os dois fatores extraídos da análise (PC) explicaram 75,54% da variância total dos dados. O PC1 explicou 52,43% e o PC2 23,11% da variação observada no conjunto de dados. As projeções das amostras ao longo das direções identificadas pelos dois primeiros PC constam da **Figura 17**. O PC1 apresentou como principais influências as variáveis originais octanoato de etila e hexanoato de etila, cujos coeficientes que definem seus pesos são -0,88 e -0,84, respectivamente conforme a **Tabela V**.

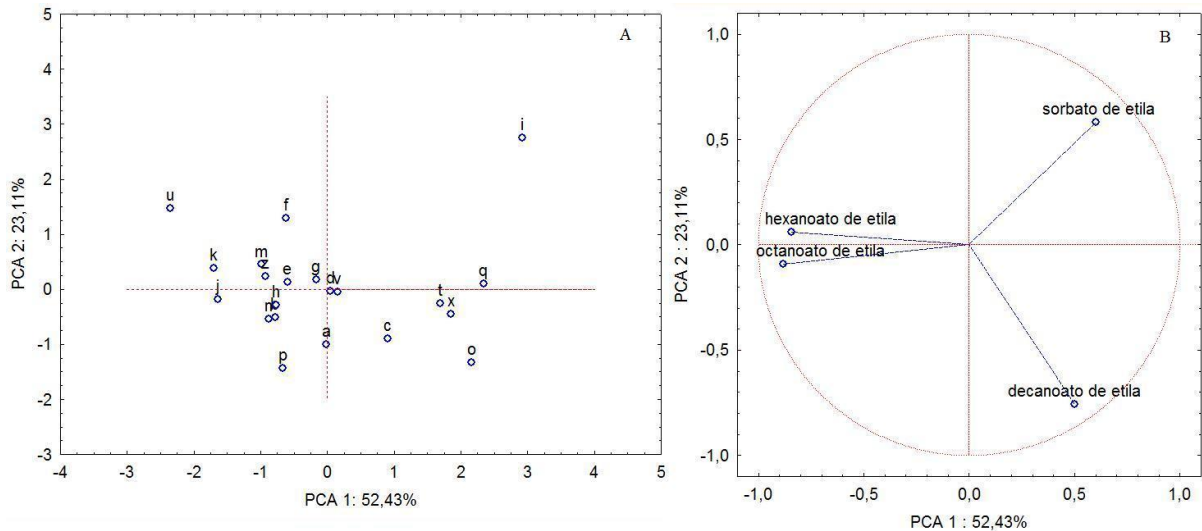


Figura 17. Gráficos resultantes da análise dos componentes principais a partir das áreas cromatográficas normalizadas percentuais relativas dos compostos voláteis dos espumantes Moscatéis (A) distinção entre a amostra “i” das demais amostras (B) relação entre os ésteres e as amostras vinho espumante.

Os compostos voláteis sorbato de etila (0,60;-0,58) e decanoato de etila (0,50;-0,75) são importantes em ambos componentes, PC1 e PC2. A **Figura 17B** mostra a relação correspondente entre os ésteres e os espumantes e nela é possível verificar a distinção do espumante “i”, localizado no primeiro quadrante (PC1 e PC2 negativos). Os **Anexos II** e **V** mostram a tabela dos compostos e cromatograma do espumante “i”, respectivamente o sorbato de etila encontra-se localizado no mesmo quadrante, o que é um requisito para verificação de sua relação com o espumante “i”. Além disso, este é um dos componentes majoritários do espumante “i”. Um estudo realizado por De Rosa e *et al*⁴⁷ mostra um aumento na concentração de sorbato de etila em vinho empumante, com o passar do tempo de prateleira. Após seis meses formou-se 0,5 mg L⁻¹ de sorbato de etila quando adicionou-se 100 ppm de ácido sórbico (sorbato de potássio) e quando se adicionou 200 ppm, formou-se 0,8 mg L⁻¹ de sorbato de etila. No entanto, após doze meses, essas concentrações passaram para 1 mg L⁻¹ e 1,65 mg L⁻¹ de sorbato de etila, respectivamente. O sorbato de etila se forma devido à adição de ácido sórbico, o qual reage com o álcool etílico do espumante, a partir de uma reação de esterificação (item 2.3.2). Sugere-se, a partir dos dados da literatura, a hipótese de que esse composto possa prejudicar o aroma do espumante “i”, pois com 0,3 mg L⁻¹ de sorbato de etila em uma solução alcólica 10% esse éster apresenta um odor desagradável que lembra aipo com abacaxi⁴⁷.

A inspeção visual dos cromatogramas obtidos por HS-SPME-1D-GC/qMS mostrou a homogeneidade da assinatura volátil dos 24 vinhos espumantes Moscatéis investigados

(nacionais e estrangeiros) e uma similaridade dos mesmos com o vinho da uva Moscato Giallo importado (vinho “y” da **Tabela II**). Esse resultado já foi apresentado anteriormente na **Figura 7**. As PCA mostradas a partir de compostos majoritários como terpenos, álcoois e ésteres confirmam esta homogeneidade entre os vinhos investigados neste trabalho, visto que, em grande parte os vinhos não se distinguiram entre si pela presença de compostos voláteis específicos. Entretanto, as PCA apontaram algumas diferenças entre vinhos específicos como “o” e “s” devido aos componentes α -terpineol, hotrienol e óxido de nerol; vinhos “d” e “v” devido aos álcoois 1-hexanol e 1-octanol; vinhos “t” e “x” devido ao 2-fenil etanol e vinho “i” pela presença de sorbato de etila.

A busca de componentes voláteis característicos de determinados vinhos pode ser verificada na literatura científica, como por exemplo o vinho, *Cabernet Sauvignon* analisado por Tao e *et. al.*²⁰ que apresentou óxido de *cis*-linalol (os autores não reportam se é o composto *cis*- ou *trans*-, mas pelo LTPRI apresentado, deduz-se que é o isômetro *cis*-), citronelol, geraniol, [*E*]-nerolidol e [*E,E*]-farnesol como terpenos característicos desse vinho.

Foi interessante observar que os vinhos espumantes Moscatéis estrangeiros (“b” e “c”) não se distinguiram dos vinhos nacionais através de sua composição volátil, característica que é um dos aspectos importantes relacionados à qualidade dos vinhos^{7,34}. Esta constatação foi feita tanto por inspeção visual dos dados apresentados na **Tabela IV** e no **Anexo II**, bem como pelos resultados dos PCA. A caracterização do perfil volátil dos espumantes Moscatéis brasileiros e estrangeiros pode auxiliar a aprimorar o conhecimento sobre estes vinhos, de forma a estabelecer critérios mais específicos relativos à qualidade dos mesmos. Além disso, um maior esclarecimento relativo aos compostos voláteis de vinhos espumantes Moscatéis nacionais e estrangeiros pode auxiliar a indústria nacional a melhor contextualizar a qualidade do perfil volátil de seus espumantes Moscatéis, já que as indústrias buscam nichos de mercado tanto no país, como fora dele.

4.2.2 Análise dos Componentes Principais aplicada aos dados obtidos por Cromatografia Gasosa Bidimensional Abrangente acoplada a Detector de Espectrometria de Massas por Tempo de Voo

A PCA foi utilizada para visualizar as possíveis semelhanças e diferenças entre os espumantes Moscatéis elaborados por diferentes vinícolas, empregando-se os dados obtidos por GC×GC/TOFMS e pelas razões de Fisher calculadas a partir das áreas cromatográficas

normalizadas dos componentes voláteis dos vinhos. Os dados dos espumantes obtidos através da GC×GC/TOFMS foram organizados em uma matriz composta por 355 colunas (analitos) e 24 linhas (amostras), a qual continha os valores de área cromatográfica normalizada de cada composto volátil em cada amostra. Considerando-se que o número de amostras foi relativamente pequeno quando comparado ao número de variáveis (compostos voláteis), uma redução do número de variáveis foi necessária antes da aplicação da técnica estatística multivariada (PCA), a qual foi efetuada através do emprego das razões de Fisher, que foram calculadas através do software ChromaTOF. Em função disso, os espumantes foram agrupados em classes, sendo que cada vinícola define uma classe. As variáveis (compostos voláteis) foram ordenadas de acordo com a sua contribuição (valor da razão de Fisher) para a diferenciação dos espumantes produzidos em localidades distintas, sendo todos produzidos pelo mesmo processo e utilizando uvas da variedade Moscato. Quanto maior o valor da razão de Fisher, maior é a contribuição que um dado composto volátil exerce para a diferenciação dos espumantes. Devido ao grande número de dados gerados pela GC×GC, o tratamento de dados foi detalhado apenas para um vinho (espumante “a”), cujos dados são apresentados no **Anexo II**. Sendo assim para o tratamento estatístico foram usados os dados brutos, sem identificação tentativa de todos os compostos em todas as amostras. Apenas os componentes de maior razão de Fisher é que foram avaliados quanto a sua identidade, comparativamente à análise cromatográfica do espumante “a”. Os 20 compostos com os maiores valores de razão de Fisher (>10.000) foram utilizados em uma primeira PCA. Estes dados foram exportados pelo programa ChromaTOF para o Excel e resultaram em uma PCA que explicou apenas 43% da variabilidade dos dados.

Tendo em vista que os ésteres, álcoois e terpenos foram importantes nas PCA realizadas com dados de 1D-GC/qMS (item 4.2.1), foram selecionados **oito analitos (ésteres e terpenos)** de 24 amostras, para os quais foram obtidos os maiores valores de razão de Fisher (**Tabela VI**). A razão de Fisher não aponta álcoois como compostos discriminantes para diferenciação de espumantes Moscatéis, considerando-se as áreas normalizadas de todos os componentes voláteis obtidas por GC×GC. A PCA das áreas cromatográficas normalizadas dos álcoois 1-hexanol, 1-octanol e 2-fenil etanol obtidas por 1D-GC mostrou que estes componentes apontaram diferenças para quatro vinhos espumantes Moscatéis (**Figura 16**), entretanto, tanto o 1-octanol, como o 2-fenil etanol co-eluem com outros componentes em 1D-GC, o que pode mascarar seu papel real no perfil cromatográfico dos compostos voláteis. O 1-octanol co-elui com o óxido de *cis*-linalol e o 2-fenil-etanol com o mircenol. Quanto ao 1-hexanol, observou-se que as amostras que possuem maior área cromatográfica de 1-octanol também são as que apresentam maior área

cromatográfica do 1-hexanol e não se observa co-eluição desse composto com nenhum outro componente, tanto por 1D-GC quanto por GC×GC.

A distribuição dos espumantes no PCA, considerando-se apenas os analitos que apresentaram maiores razões de Fisher, se manteve a mesma da PCA anterior, onde se empregou 20 componentes, porém 66,8% da variabilidade dos dados foi explicada por estes analitos (**Figura 18**). O resultado obtido na PCA com os dados de GC×GC confirmam, em parte, aqueles obtidos pela cromatografia monodimensional. Os pesos do terpeno 1 (-0,94), terpeno 2 (-0,92) e nerol (-0,87) mostram que estes três voláteis contribuíram majoritariamente para o PC1, sendo o peso do sorbato de etila (-0,94) e de um éster não identificado (-0,90) de grande influência para o PC2. O espumante “i” se diferenciou do grande grupo devido principalmente ao composto sorbato de etila (-0,94) como apresentado anteriormente, através dos dados obtidos pela cromatografia monodimensional. Os espumantes “o” e “s” se diferenciaram dos demais espumantes devido aos compostos terpênicos. No entanto, esses compostos não foram os terpenos majoritários que diferenciaram esses mesmos espumantes na cromatografia monodimensional. Na PCA com os dados da GC×GC, as diferenças foram observadas por compostos selecionados pela razão de Fisher que estão presentes nos espumantes em nível de traços. Alguns desses compostos coeluíram com outros na 1D-GC, como é o caso do nerol ($IR_{cal.}=1228$) que co-eluiu com o citronelol ($IR_{cal.}=1228$), terpeno 1 ($IR_{cal.}=1172$) que coeluiu com epóxi-linalol ($IR_{cal.}=1172$) e terpeno 3 ($IR_{cal.}=1257$) que coeluiu com o acetato de 2-feniletila ($IR_{cal.}=1257$). A existência destas co-eluições na 1D-GC pode resultar em atenuação da influência de um composto característico de um determinado vinho, já que sua área cromatográfica é medida juntamente com o outro componente que elui juntamente com ele. Estes fenômenos de co-eluição podem, portanto, mascarar a real influência de um componente volátil sobre a composição de um vinho.

O terpeno 2, evidenciado como composto significativo para a diferenciação dos espumantes na cromatografia bidimensional foi detectado na cromatografia monodimensional, porém não foi um dos compostos majoritários dos espumantes Moscatéis. O éster não identificado e o limoneno presentes nesta PCA não foram detectados na cromatografia monodimensional e seus percentuais de área no vinho Moscatel “a” é 0,14% e 0,20%, respectivamente, o que ilustra a contribuição minoritária em termos de área cromatográfica. O 2-furoato de etila também é composto minoritário na 1D-GC e não se observou uma relação desse composto com a diferenciação dos espumantes Moscatéis pela cromatografia monodimensional. O 2-furoato de etila está presente apenas nos espumantes “f”, “g”, “p”, “u” e “x” (**Anexo II**).

Tabela VI. Pesos obtidos na PCA feita com os compostos voláteis tentativamente identificados, em vinhos espumantes Moscatéis analisados por GC×GC/TOFMS, cujas razões de Fisher foram maiores do que 16.000.

Composto	LTPRI _{cal}	LTPRI _{lit}	PC1	PC2	observação
éster	1364		-0,23	-0,90	nd na 1D-GC
nerol	1228	1226	-0,87	0,32	co-elui com citronelol
terpeno 1	1172		-0,94	0,26	co-elui com epóxi-linalol
terpeno 2	1268		-0,92	0,24	minoritário na 1D-GC
limoneno	1028	1031	0,32	-0,02	nd na 1D-GC
2-furoato de etila	1056	1045	0,36	0,27	minoritário na 1D-GC
terpeno 3	1257		-0,51	-0,46	co-elui com acetato de 2-feniletila
sorbato de etila	1068	1089	-0,22	-0,94	diferencia espumante “i” na 1D-GC

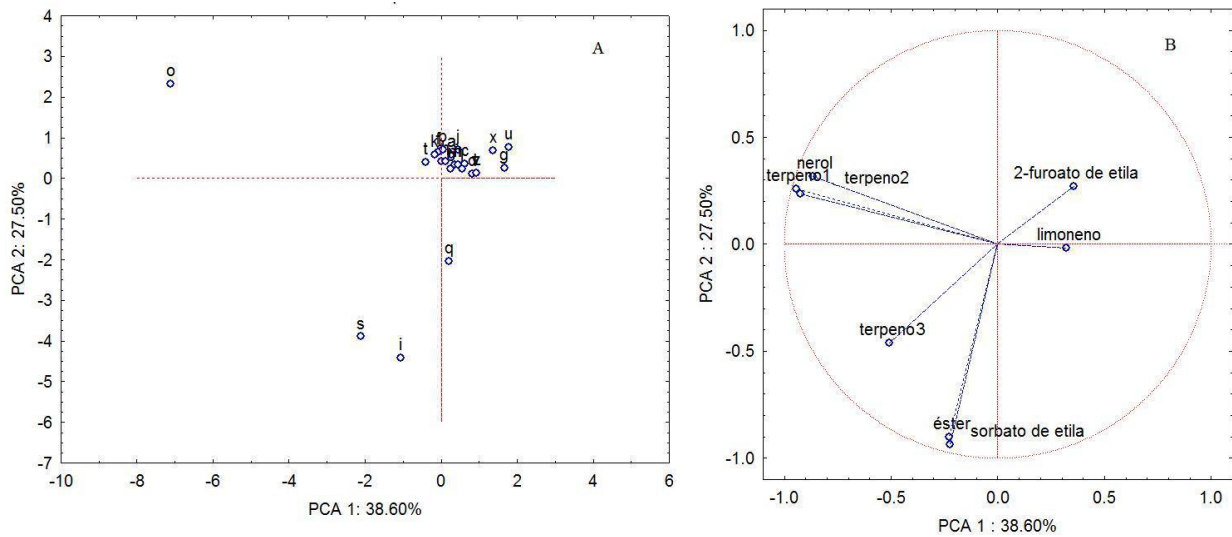


Figura 18. Gráficos resultantes da análise dos componentes principais a partir das áreas cromatográficas normalizadas de alguns ésteres e terpenos voláteis dos espumantes Moscatéis que apresentaram as maiores razões de Fisher (A) distinção das amostras “i”, “o”, “s” em relação às demais e (B) relação entre os compostos voláteis com maior razão de Fisher e as amostras vinhos espumantes.

A PCA também foi utilizada para visualizar as possíveis semelhanças e diferenças entre os espumantes Moscatéis elaborados apenas com uvas Moscato Bianco ou apenas com uvas Moscato Giallo, a partir dos dados obtidos por GC×GC/TOFMS, considerando-se os maiores valores de razão de Fisher para os componentes voláteis.

Uma matriz contendo **11 analitos** (terpenos com valores de razão de Fisher maior que 1.000: linalol, hotrienol, terpeno 1, terpinoleno, terpeno 2, *cis*-3,7-dimetil-2,6-octadien-1-ol, terpeno 3, terpeno 4, terpeno 5, nerol, éter de etil geranila) de 10 amostras foi montada dividindo-se o grupo em duas classes: Bianco (7 espumantes: “b”, “c”, “h”, “j”, “q”, “r” e “x”) e Giallo (3 espumantes: “f”, “o” e “z”). A PCA explicou 84,59% da variabilidade dos dados (**Tabela VII e Figura 19**). Os pesos da maioria dos terpenos mostram que estes voláteis contribuíram majoritariamente para o PC1, sendo o peso de dois terpenos de grande influência para o PC2. Os espumantes “f”, “o” e “z”, circulos pela linha pontilhada na **Figura 19**, destacam-se dos demais por serem espumantes Moscatéis produzidos com uvas Moscato Giallo. Não foi verificada a presença de terpenos característicos apenas de uma variedade e não da outra, entretanto, observou-se que os espumantes de uva Moscato Giallo apresentam maior área cromatográfica de terpenos voláteis do que os espumantes da uva Moscato Bianco.

É interessante destacar que a maioria dos terpenos para os quais foram obtidos valores altos de razão de Fisher também são reportados na literatura científica como compostos que contribuem positivamente para o aroma do vinho^{109,110}.

Tabela VII. Pesos obtidos na PCA feita com as áreas cromatográficas normalizadas dos terpenos tentativamente identificados em vinhos analisados por GC×GC/TOFMS, cujas razões de Fisher foram maiores do que 1.000.

Composto (odor)	LTPRI _{cal}	LTPRI _{lit}	PC1	PC2	observações
linalol	1102	1100	-0,86	-0,47	co-elui com sorbato de etila
hotrienol	1106	1101	-0,77	0,34	
terpeno 3	1257		-0,85	0,26	co-elui com acetato de 2-fenil etila
terpinoleno	1089	1099	-0,91	0,15	minoritário na 1D-GC
terpeno 2	1268		-0,92	0,07	minoritário na 1D-GC
<i>cis</i>-3,7-dimetil-2,6-octadien-1-ol	1257	1259	-0,85	-0,49	nd na 1D-GC
terpeno 1	1171		-0,96	-0,26	co-elui com epóxi-linalol
terpeno 4	1254		-0,19	0,92	nd na 1D-GC
terpeno 5	1353		-0,51	0,70	nd na 1D-GC
nerol	1230	1227	-0,81	-0,55	co-elui com citrionelol
éter de etil geranila	1288	1297 ¹¹¹	-0,50	0,58	minoritário na 1D-GC

Alguns compostos selecionados pela razão de Fisher co-eluíram na cromatografia monodimensional, como por exemplo, o terpeno 3 com acetato de 2-fenil etila e o terpeno 1 com o epóxi-linalol, além do linalol com o sorbato de etila e do nerol com o citrionelol que são

componentes apresentados na PCA resultante dos dados de GC×GC (**Figura 18**). Alguns compostos são minoritários na 1D-GC, como é o caso do terpinoleno, terpeno 2, éter de etil geranila. Outros componentes não foram detectados devido a sua baixa concentração no espumante, como é o caso do *cis*-3,7-dimetil-2,6-octadien-1-ol, terpeno 4 e 5. Estas constatações demonstram a importância da GC×GC/TOFMS para a classificação desses espumantes.

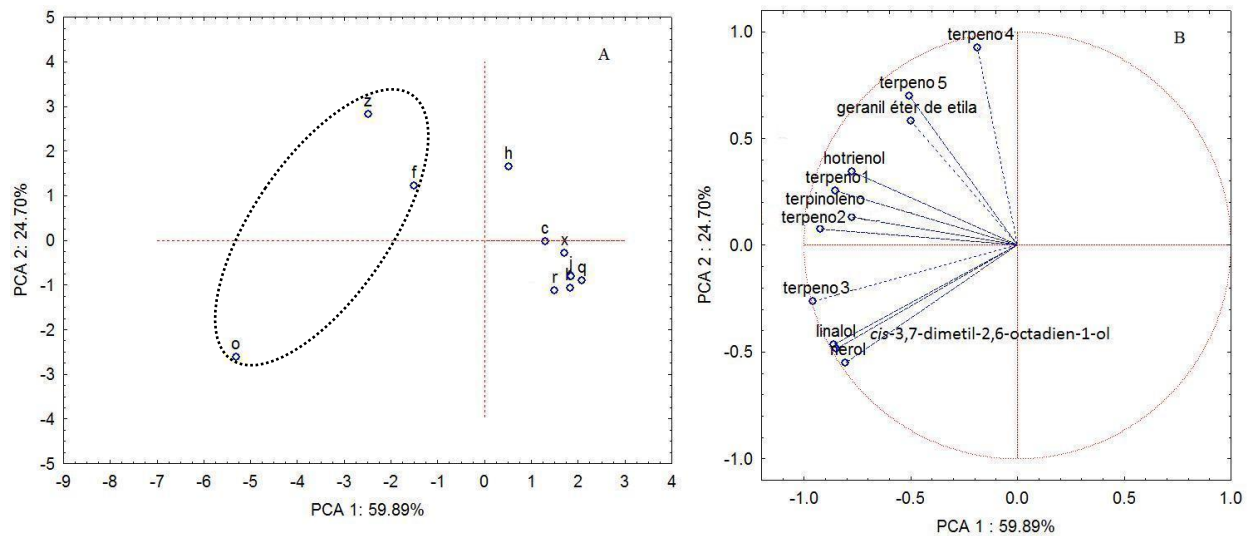


Figura 19. Gráficos resultantes da análise dos componentes principais a partir das áreas cromatográficas normalizadas de terpenos voláteis dos vinhos espumantes Moscatéis (A) distinção entre as amostras “f”, “o” e “z” e as demais e (B) relação entre os terpenos com maior razão de Fisher e as amostras vinho espumante.

O número de amostras investigado para verificar semelhanças e dessemelhanças de vinhos espumantes provenientes de uvas Moscato Giallo e Bianco foi pequeno e, portanto, os resultados mostram apenas tendências relativamente à importância dos componentes voláteis para a caracterização destes vinhos e distinção entre eles. Assim, é necessário um número maior de amostras para que seja possível tecer considerações mais definitivas a respeito das diferenças na composição volátil destes dois tipos de bebidas. Entretanto, a **Figura 19** mostra uma tendência que pode ser confirmada futuramente em estudo que leve em consideração um número maior de amostras.

Aceto e *et al*¹¹² realizaram uma PCA para estudar a procedência de espumantes Moscatéis a partir da análise de lantanídeos por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (do inglês, *inductively-coupled plasma mass spectrometry*, ICP-MS) e também puderam observar que para validar estes resultados, espumantes de outras áreas e de diferentes uvas devem ser incluídos na análise. Caso os espumantes de outras áreas e de diferentes uvas

apresentem um padrão claramente distinto, poder-se-á observar uma definição de procedência ou de varietais nos espumantes estudados.

Por fim, as vantagens da cromatografia bidimensional sobre a cromatografia monodimensional para este estudo foram apresentadas através dos compostos em menor concentração detectados pela GC×GC e das co-eluições resolvidas pela segunda dimensão. Esses resultados podem ser aperfeiçoados tendo-se um maior controle sobre a produção das amostras e agrupando-se à pesquisa outros tipos de espumantes, como por exemplo, espumantes produzidos pelo método *Charmat* e *Champenoise*. No entanto, a cromatografia monodimensional pode ser aplicada pelas vinícolas, nos casos em que a uma análise menos detalhada seja suficiente como uma técnica de rotina de controle de qualidade do espumante devido ao seu menor custo e maior praticidade, tanto de análise, quanto de tratamento de dados. É importante, entretanto, a ciência de que a 1D-GC pode induzir a erros qualitativos e quantitativos e que, seus resultados não refletem a real composição do *headspace* dos vinhos espumantes Moscatéis. Havendo necessidade de uma análise detalhada dos componentes voláteis de espumantes Moscatéis, a GC×GC/TOFMS deve ser a técnica a ser escolhida.

5. RESUMO DOS PRINCIPAIS RESULTADOS

✓ Resultados relativos aos resultados obtidos por 1D-GC/qMS:

- O espumante “a” foi considerado representativo de todos os espumantes nacionais, pois 64% dos componentes voláteis (83% em área) de todos os vinhos foram detectados nele, quando se utilizou uma coluna DB5 de 30 m. Dos 30 compostos detectados no headspace deste vinho, 22 foram identificados (6 positivamente e 16 tentativamente) e para 5, apenas a classe química do componente foi designada.

- Os compostos acetato de isoamila (10) e de hexila (18), hexanoato de etila (15), linalol (28), α -terpineol (44), octanoato de etila (45) foram positivamente identificados pela 1D-GC.

- Para o mesmo espumante “a”, utilizando-se uma coluna DB5 de 60 m, foi feita a detecção de 43 compostos, 33 identificados (6 positivamente e 27 tentativamente) e para quatro, apenas a

classe química do componente foi designada. Não foi possível identificar os seis componentes restantes.

- O número de compostos voláteis detectados foi de 102 (somatório dos componentes presentes em todos os espumantes moscatéis analisados) sendo 66 identificados (6 positivamente e 60 tentativamente) e 16 tentativamente identificados apenas com base nos seus espectros de massas e 20 não identificados em coluna DB5 de 60 m.

- A identificação tentativa de 38 compostos voláteis dos vinhos espumantes Moscatéis foi realizada através da determinação experimental de LTPRI em coluna de 30 m de polietileno glicol (Tabela IV e Anexo I).

- A separação dos ésteres de seus ácidos correspondentes, como por exemplo, ácido decanoico (40) e decanoato de etila (43), que não haviam sido separados na coluna DB-5 de 30 m, foi possível na coluna de 60 m. As temperaturas iniciais empregadas nas colunas de 30 m (60 °C) e de 60 m (45 °C) foram diferentes, não permitindo comparação direta entre as condições cromatográficas de ambos os casos.

- Os espumantes Moscatéis brasileiros investigados neste trabalho, utilizando-se coluna DB5 de 60 m, apresentam a seguinte composição, de acordo com o percentual relativo de área cromatográfica das classes de seus componentes: ésteres (22,72 a 74,14%), ácidos (13,21 a 35,50%), álcoois (5,01 a 19,80%), terpenos (6,19 a 16,84%) e em menor quantidade norisoprenoides, cetonas, fenóis entre outros.

- Os 17 compostos majoritários presentes no *headspace* dos espumantes, tanto nacionais quanto importados e analisados em uma coluna DB-5 de 60 m, são acetato de etila (0,16 a 4,67%), 3-metil-1-butanol (0,60 a 10,60%), ácido hexanoico (0,95 a 3,89%), hexanoato de etila (0,33 a 3,72%), 1-octanol (nd a 1,39%), ácido sórbico (nd a 4,16%), sorbato de etila (nd a 10,20%), linalol (0,07 a 5,46%), hotrienol (0,32 a 5,32), 2-fenil etanol (2,06 a 24,92%), óxido de nerol (0,37 a 2,14%), succinato de dietila (1,30 a 12,31%), α -terpineol (4,73 a 11,83), octanoato de etila (4,64 a 34,49%), ácido octanoico (2,02 a 18,57%), ácido decanoico (5,43 a 18,81), decanoato de etila (6,01 a 35,92%).

- Os espumantes “d” e “v” foram os únicos onde o composto 1-octanol foi detectado; ácido sórbico e sorbato de etila foram encontrados somente nos espumantes “i” e “q”, sendo que o ácido sórbico também está presente no espumante “s”.
- Os perfis cromatográficos dos compostos voláteis dos vinhos espumantes Moscatéis estudados (26,5% dos espumantes Moscatéis nacionais comercializados e 52,4% dos espumantes Moscatéis de vinícolas nacionais que tem produção própria de espumante – dados de 2011) apresentaram notável semelhança no que diz respeito à presença dos principais componentes majoritários.
- Oito (8) compostos a mais foram detectados no espumante importado “c” e quatro (4) compostos a menos no espumante importado “b” em relação ao espumante nacional “a”, sendo que em área percentual essa diferença entre os espumantes é baixa: 0,94% da área percentual do espumante “b” e 1,74% para o espumante “c”. Cinco (5) compostos voláteis, representando 2,46 % de área cromatográfica relativa aos componentes do *headspace* do vinho Moscato (amostra “y”) não foram detectados no vinho espumante Moscatel “a”.

✓ **Resultados relativos aos resultados obtidos por GC×GC/TOFMS:**

- O número de compostos tentativamente identificados por GC×GC para o espumante Moscatel “a” é cinco vezes superior ao de compostos tentativamente identificados por 1D-GC: 271 compostos detectados, dos quais 151 foram tentativamente identificados e para 73, apenas a classe química do componente foi designada, sendo que para 47 componentes, não foi possível completar o processo de identificação.
- Os mesmos 17 componentes majoritários dos 24 vinhos espumante Moscatel verificados através de análise por 1D-GC/qMS foram também tentativamente identificados por GC×GC/TOFMS: acetato de etila (1), 3-metil-1-butanol (2), hexanoato de etila (3), ácido hexanoico (4), 1-octanol, ácido sórbico, sorbato de etila, linalol (5), hotrienol (6), 2-fenil etanol (7), óxido de nerol (8), succinato de dietila (9), α -terpineol (10), octanoato de etila (11), ácido octanoico (12), ácido decanoico (13), decanoato de etila (14), sendo o 1-octanol, ácido sórbico e sorbato de etila identificados como majoritários em poucas amostras, conforme citado anteriormente na análise monodimensional.

- As co-eluições de 16 compostos voláteis de vinhos espumantes Moscatel observadas em 1D-GC/qMS que foram resolvidas no sistema GC×GC/TOFMS estão citadas a seguir (entre parênteses a contribuição do(s) componente(s) em termos de aroma e percentual relativo de área cromatográfica no espumante “a”):

- succinato de dietila (frutado, floral e adocicado, 1,89%), α -terpineol (frutado, cítrico, floral e doce, 3,58%), octanoato de etila (frutado como pera, abacaxi, banana, morango, fresco e adocicado, 5,86%), ácido octanoico (odor indesejável, 28,80 %);
- 2-fenil etanol (pétalas de rosa e mel, 2,92) e mircenol (floral refrescante 0,05);
- succinato de etila (aromas frutados, florais e adocicados, 1,89) e um éster (0,58%);
- citronelol (cítrico, limão verde, limiar de percepção em vinhos de $18 \mu\text{g L}^{-1}$) e nerol (floral, ambos correspondem a $< 0,02\%$);
- um terpeno e acetato de 2-fenil etila (aroma de rosas, ambos correspondem a $\sim 1,18\%$);
- 1-octanol (queijo e leite) e óxido de *cis*-linalol (aroma pinheiro, ambos correspondem a $\sim 0,9\%$ no espumante “d”);
- linalol (rosas) e sorbato de etila (ambos correspondem a $\sim 10,0\%$ no espumante “i”);

- A distribuição de componentes voláteis de grupos químicos como álcoois, ésteres, terpenos, ácidos, etc, no conjunto de colunas apolar × polar não resultou em distribuição destes componentes da forma organizada como já reportado na literatura para matriz semelhante, quando do uso de conjunto de colunas polar × apolar.

- A inspeção visual dos cromatogramas obtidos por HS-SPME-1D-GC/qMS, bem como a análise semi-quantitativa dos componentes voláteis mostrou a homogeneidade da assinatura volátil dos 24 vinhos espumantes Moscatéis investigados (nacionais e estrangeiros) e uma similaridade dos mesmos com o vinho da uva Moscato Giallo importado.

✓ **Resultados relativos aos resultados obtidos com aplicação de PCA aos dados de 1D-GC/qMS e GC×GC/TOFMS:**

- Os quatro terpenos majoritários do *headspace* dos vinhos (**linalol, α -terpineol, hotrienol, óxido de nerol**) e os 24 objetos (espumantes nacionais e importados) submetidos à PCA mostraram que os espumantes “o” e “s” se diferenciaram dos demais, sendo que o espumante “s” foi separado pelo PC1 e o “o” foi mais influenciado pelas variáveis relacionadas ao PC2, sendo que foi possível explicar 86,00% da variabilidade do sistema com estas duas PC. Os pesos do α -terpineol (0,98), linalol (0,80) do hotrienol (0,75) mostram que estes três voláteis contribuíram majoritariamente para o PC1, sendo o peso do óxido de nerol (-0,92) de grande influência para o PC2.

- A aplicação da PCA às áreas cromatográficas percentuais referentes aos três álcoois majoritários (**1-octanol, 1-hexanol, 2-fenil etanol**) das amostras e aos 24 objetos (espumantes nacionais e importados) resultou na diferenciação de quatro amostras de vinho: “d” e “v” foram separados pelo PC1, enquanto os vinhos “t” e “x” foram mais influenciados pelas variáveis relacionadas ao PC2, sendo que foi possível explicar 98,99% da variabilidade do sistema com estas duas PC. O peso das variáveis originais para 1-hexanol (-0,98) e 1-octanol (-0,99) contribuiu significativamente para o PC1 (aroma frutado e localização coerente com os espumantes “v” e “d”), enquanto 2-fenil etanol (-0,97; floral) apresentou grande influência no PC2 (localização dos espumantes “t” e “x”).

- Quatro ésteres majoritários (**hexanoato, octanoato, decanoato e sorbato de etila**) de 24 espumantes (objetos) submetidas à PCA apresentaram a distinção do espumante “i” diretamente relacionada com o composto sorbato de etila que se forma, provavelmente, devido à adição de ácido sórbico (conservante) ao espumante.

- PCA aplicada a oito parâmetros escolhidos dos dados obtidos por GC×GC/TOFMS, como os que apresentavam maiores valores de razão de Fisher (> 16.000) mostrou que a maior parte dos componentes voláteis apontados pelo PCA dos dados de 1D-GC/qMS não se confirmaram através dos dados da cromatografia bidimensional devido à presença de co-eluições que envolveram componentes que representativos para a diferenciação entre os vinhos: 1-octanol

com óxido de cis-linalol; 2-fenil etanol com mircenol; linalol com sorbato de etila; α -terpineol com succinato de etila, octanoato de etila e ácido octanoico, etc.

- A PCA também foi utilizada para visualizar as possíveis semelhanças e diferenças entre os espumantes Moscatéis elaborados apenas com uvas Moscato Bianco ou apenas com uvas Moscato Giallo, a partir dos dados obtidos por GC×GC/TOFMS. Uma matriz contendo **11 analitos** (terpenos com valores de razão de Fisher maior que 1.000: linalol, hotrienol, terpeno 1, terpinoleno, terpeno 2, *cis*-3,7-dimetil-2,6-octadien-1-ol, terpeno 3, terpeno 4, terpeno 5, nerol, éter de etil geranila) de 10 amostras (7 espumantes Bianco: “b”, “c”, “h”, “j”, “q”, “r” e “x” ; 3 espumantes Giallo: “f”, “o” e “z”) explicou 84,59% da variabilidade dos dados diferenciando os dois grupos.

6. CONCLUSÃO

O perfil cromatográfico da fração volátil dos 24 vinhos espumantes Moscatéis, obtido por 1D-GC/qMS (coluna DB5 de 30 e 60 m), se apresentou semelhante no que diz respeito às análises qualitativa e semi-quantitativa, o que indicou homogeneidade da assinatura volátil destes Moscatéis brasileiros e estrangeiros (“b” e “c”). Os compostos voláteis de um vinho italiano de uva Moscato Giallo (“y”) também se apresentaram semelhante aos demais. A superior eficiência da GC×GC/TOFMS no que tange à seletividade, capacidade de pico, maior número de dados de retenção e resolução para este tipo específico de amostra ficou aparente através do maior número de compostos tentativamente identificados por GC×GC no espumante Moscatel “a” (aprox. cinco vezes superior ao de compostos tentativamente identificados por 1D-GC), bem como nos exemplos de separação de 16 compostos que coeluíram parcialmente na 1D-GC/qMS, os quais conferem diferentes odores ao vinho. Por outro lado, os resultados obtidos por GC×GC/TOFMS confirmaram a presença de 17 compostos voláteis majoritários nos vinhos estudados, conforme já havia sido observado por 1D-GC.

A análise de componentes principais auxiliou na verificação da presença de alguns terpenos e ésteres que foram mais característicos de determinados vinhos Moscatéis, os quais se diferenciaram dos demais devido a estes compostos. Deste modo, a PCA aplicada aos resultados de 1D-GC/qMS e GC×GC/TOFMS apontou caminhos tanto para a verificação das semelhanças como das diferenças entre os vinhos Moscatéis estudados. Procedimento semelhante foi

empregado com os dados obtidos por GC×GC, o qual também evidenciou diferenças entre os diversos vinhos fabricados, bem como entre vinhos de uvas Moscato Giallo e Moscato Bianco. Alguns dos potenciais compostos voláteis discriminantes de alguns subgrupos de vinhos entre todos os vinhos analisados, obtidos por 1D-GC, não foram confirmados pelo PCA aplicado aos dados de GC×GC/TOFMS, o que se explicou pela ocorrência de co-eluições de alguns destes compostos ou possivelmente pela sensibilidade inferior da técnica monodimensional em comparação com a bidimensional.

No âmbito da investigação feita com PCA, utilizando-se dados de 1D-GC, bem como de GC×GC percebe-se a necessidade da inclusão de um maior número de amostras de espumantes Moscatéis, juntamente com outros tipos de espumantes, de forma a tornar esta abordagem mais abrangente e representativa.

Os resultados obtidos através das análises dos compostos voláteis de vinhos Moscatéis brasileiros por GC×GC e de 1D-GC se revestem de importância para a indústria vitivinícola nacional, pois mostram um perfil volátil característico e aproximadamente homogêneo dos espumantes Moscatéis brasileiros para várias marcas comerciais. Além disso, abrem perspectivas de investigação futura para confirmação de possíveis indicadores varietais e investigação de marcadores de localização geográfica que podem ser analisados para fins não só de certificação, como de controle de qualidade. A escolha de uma técnica cromatográfica em detrimento da outra para a investigação dos compostos voláteis de vinhos espumantes Moscatéis se encontra vinculada ao objetivo da investigação, isto é, a GC×GC permite um estudo mais detalhado da composição dos voláteis dos vinhos, enquanto a 1D-GC conduz a resultados preliminares que podem satisfazer o interesse da indústria vinícola num primeiro momento.

7. PRODUÇÃO CIENTÍFICA

- ✓ Zini, C. A.; Nicolli, K. P.; Soares, R. D.; Closs, M.; Manfroi, V. Caracterização do Perfil Volátil de Espumantes Moscatéis Brasileiros através do Emprego de Microextração em Fase Sólida e Cromatografia Gasosa com Detector Espectrométrico de Massas. In: Congresso Latino-Americano de Cromatografia e Técnicas Relacionadas (COLACRO XIV), Florianópolis, Brasil, Outubro de 2012.
- ✓ Zini, C. A.; Nicolli, K. P.; Soares, R. D.; Welke, J. E.; Closs, M.; Manfroi, V. Avaliação Preliminar dos Compostos Voláteis do *Headspace* de Vinho Espumante Moscatel Brasileiro Empregando Microextração em Fase Sólida e Cromatografia Gasosa Bidimensional Abrangente. In: Congresso Latino-Americano de Cromatografia e Técnicas Relacionadas (COLACRO XIV), Florianópolis, Brasil, Outubro de 2012.
- ✓ Closs, Mayara e *et al.* Estudo Qualitativo Dos Compostos Voláteis de Espumantes Moscatéis Brasileiros através do Emprego De Microextração em Fase Sólida e Cromatografia Gasosa com Detector de Espectrometria de Massas In: Xxiv Salão de Iniciação Científica da UFRGS, Porto Alegre, Brasil, Outubro de 2012.

8. SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS

- Estudo do *headspace* de vinhos espumantes Moscatéis e outras bebidas através de cromatografia gasosa e olfatométrica;
- Estudo do *headspace* de vinhos espumantes Moscatéis juntamente com outros espumantes para definição de procedência deste espumante;
- Confecção de novas fases para fibras de SPME para análise de componentes específicos, que sejam relevantes para o aroma do vinho;
- Emprego de colunas, cuja fase estacionária é composta de líquidos iônicos, na busca de melhor separação cromatográfica, tanto na 1D-GC, como na GC×GC.

9. REFERÊNCIAS

1. Fante, J. IBRAVIN divulga balanço de comercialização em 2010; *Informativo Saca-Rolha* **2011**, 3.
2. Rizzon, L. A.; Meneguzzo, J.; Gasparin, A. Elaboração do Vinho Moscatel Espumante; *Embrapa Uvas e Vinhos* **2005**, 51, 42.
3. Giovannini, E.; Manfroi, V. *Viticultura e Enologia - Elaboração de grandes vinhos nos terroirs brasileiros*; Bento Gonçalves, **2009**, 307–321.
4. Ribèreau-Gayon, P.; Boidron, J. N.; Terrier, A. *J. Agric. Food Chem* **1975**, 23, 1042–1047.
5. Bayonov, C. L.; Cordonnier, R. E. *Ann. Technol. Agric* **1971**, 20, 347–355.
6. Selli, S.; Canbas, A.; Cabaroglu, T.; Erten, H.; Günata, Z. *Food Chem.* **2006**, 94, 319–326.
7. Mendes, B.; Gonçalves, J.; Câmara, J. S. *Talanta* **2012**, 88, 79–94.
8. Jeleń, H. H.; Majcher, M.; Dziadas, M. *Anal. Chim. Acta* **2012**, 738, 13–26.
9. Collins, C. H.; de Aquino Neto, F. R.; da Silva, J. R. P. *Química Nova* **1988**, 11, 443.
10. Weldegergis, B. T.; Villiers, A., McNeish, C.; Seethapathy, S.; Mostafa, A.; Górecki, T.; Crouch, A. M. *Food Chem.* **2011**, 129, 188–199.
11. Robinson, A. L.; Boss, P. K.; Heymann, H.; Solomon, P. S.; Trengove, R. D. *J. Chromatogr. A* **2011**, 1218, 504–17.
12. Sagratini, G.; Maggi, F.; Caprioli, G.; Cristalli, G.; Ricciutelli, M.; Torregiani, E.; Vittori, S. *Food Chem.* **2012**, 132, 1592–1599.
13. Noguero-Pato, R.; González-Barreiro, C.; Cancho-Grande, B.; Simal-Gándara, J. *Food Chem.* **2009**, 117, 473–484.
14. Rebière, L.; Clark, A. C.; Schmidtke, L. M.; Prenzler, P. D.; Scollary, G. R. *Anal. Chim. Acta* **2010**, 660, 149–57.
15. Welke, J. E.; Manfroi, V.; Zanus, M.; Lazarotto, M.; Zini, C. A. *J. Chromatogr. A* **2012**, 1226, 124–39.
16. Giraudel, J. L.; Setkova, L.; Pawliszyn, J.; Montury, M. *J. Chromatogr. A* **2007**, 1147, 241–53.
17. Rodríguez-Bencomo, J. J.; Conde, J. E.; García-Montelongo, F.; Pérez-Trujillo, J. P. *J. Chromatogr. A* **2003**, 991, 13–22.
18. Soares, R. D. Dissertação de Mestrado; UFRGS, 2012, 38–50.
19. Antalick, G.; Perello, M. C; de Revel, G. *Food Chem.* **2010**, 121, 1236–1245.
20. Tao, Y.; Li, H.; Wang, H.; Zhang, L. *J. Food Comp. Anal.* **2008**, 21, 689–694.
21. Câmara, J. S.; Alves, M. A.; Marques, J. C. *Talanta* **2006**, 68, 1512–21.
22. Cheong, K. W.; Tan, C. P.; Mirhosseini, H.; Chin, S. T.; Che Man, Y. B.; Hamid, N. S. A.; Osman, A.; Basri, M. *Food Chem.* **2011**, 125, 1481–1489.

23. Rocha, S. M.; Coelho, E.; Zrostlíková, J.; Delgadillo, I.; Coimbra, M. A. *J. Chromatogr. A* **2007**, 1161, 292–9.
24. Coelho, E.; Rocha, S. M.; Delgadillo, I.; Coimbra, M. A. *Anal. Chim. Acta* **2006**, 563, 204–214.
25. Lona, A. A. Espumante Moscatel: 30 anos de história no Brasil. *XII Congresso Brasileiro de Viticultura e Enologia* **2008**, 75.
26. Lei nº 10.970, de 12 de novembro de 2004; <http://www.receita.fazenda.gov.br/legislacao/Leis/2004/lei10970.htm>; acessado em 10/01/2013.
27. Instituto Brasileiro do Vinho; www.ibravin.org.br; acessado em 10/01/2013.
28. Comunicação por email com o coordenador do setor de Estatística do IBRAVIN, Sr. Leocir Bottega (estatistica@ibravin.org.br) contato em 15/01/2013.
29. Vannier, A.; Brun, O. X. B.; Feinberg, M. H. *Food Qual. Prefer* **1999**, 10, 101.
30. C. Lorenzo, F.; Pardo, A. Z.; Alonso, G. L.; Salinas, M. R. *Eur. Food Res. Technol.* **2008**, 227, 777.
31. Bonino, M.; Schellino, R.; Rizzi, C.; Aigotti, R.; Delfini, C.; Baiocchi, C. *Food Chem.* **2003**, 80, 125–133.
32. Moreno-Arribas, M. V.; Polo, M. C. *Wine Chemistry and Biochemistry*. 2009, 728.
33. Oliveira, J. M. M. Dissertação de Doutorado, Universidade do Minho, 2000.
34. Clarke, R. J.; Bakker, J. *Wine Flavour Chemistry*. Blackwell Publishing Ltd: Oxford, UK, 2004, 318.
35. Ribéreau-Gayon, P.; Dubourdieu, D.; Donéche, B.; Lonvaud, A. *Handbook of Enology Volume 1*. John Wiley & Sons Ltd: England, 2006.
36. Styger, G.; Prior, B.; Bauer, F. F. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol* **2011**, 38, 1145–1159.
37. Ribéreau-Gayon, P.; Glories, Y.; Maujean, A.; Dubourdieu, D. *Handbook of Enology Volume 2*. John Wiley & Sons Ltd: England, 2006.
38. McCaskill, D.; Croteau, R. *Trends Biotechnol.* **1998**, 349.
39. Etiévant, in H. M. *Volatile Compounds in Foods and Beverages*. 1991, 483.
40. Margalit, Y. *Concepts in Wine Chemistry*. J. Crum: San Francisco, 1997, 304–312.
41. McWeeny, D. J. *J. Sci. Food Agr.* **1974**, 25, 735.
42. Wedzicha, B. L. *J. Sci. Food Agr.* **1974**, 25, 803.
43. Wedzicha, B. L. *Chemistry of Sulfur dioxide in Food*. Elsevier Applied Science: London, 1984, 10, 16.
44. BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Secretaria de Inspeção de Produto Vegetal. Complementação de padrões de identidade e

- qualidade para cerveja, vinho, vinho de frutas, fermentado de cana, saquê, filtrado doce, hidromel, jерopiga, mistela, sidra e vinagre. Brasília: Imprensa Nacional, 1974, 109.
45. Amati A, A.G.; Riponi C.; Bizzarri D. Controle de la fermentation malolactique des vins: employ du lizozyne. Instituto di Industrie Agrarie. Università degli Studi di Bologna, Italia, XXV Congrès Mondial de la Vigne e du Vin, junho de 2000.
 46. Auerbach, R. C. *Wines & Vines* **1959**, 40, 26.
 47. De Rosa, T. *Am. J. Enol. Vit* **1983**, 34, 98.
 48. Crowel, E. A.; Guymon, J. F. *Am. J. Enol. Vit.* **1975**, 26, 97.
 49. Andujar-Ortiz, I.; Moreno-Arribas, M. V.; Martín-Alvarez, P. J.; Pozo-Bayón, M. A. *J. Chromatogr. A* **2009**, 1216, 7351.
 50. Shimoda, M.; Shibamoto, T.; Noble, A.C. *J. Agric. Food Chem.* **1993**, 41, 1664.
 51. Ortega-Heras, M.; González-SanJosé, M. L.; Beltrán, S. *Anal. Chim. Acta* **2002**, 458, 85.
 52. Ramos, L. *J. Chromatogr. A* **2012**, 1221, 84–98.
 53. Valero, E.; Moyano, L.; Millan, M. C.; Medina, M.; Ortega, J. M. *Food Chem.* **2002**, 78, 57–61.
 54. Simpson, N. J. K. *Solid-Phase Extraction: Principles, Techniques, and Applications*. New York, 2000.
 55. Perestrelo, R.; Nogueira, J. M. F.; Câmara, J. S. *Talanta* **2009**, 80, 622–30.
 56. Arthur, C.L.; Pawliszyn, J. *Anal. Chem* **1990**, 62, 2145.
 57. Demyttenaere, J. C. R.; Dagher, C.; Sandra, P.; Kallithraka, S.; Verhe, R. *J. Chromatogr. A* **2003**, 985, 233–246.
 58. Skoog, D.A.; Holle, F. J.; Crouch, S. R. *Princípios de Análise Instrumental*; Bookman, 2009.
 59. Zini, C. A. *Scientia Chromatographica* **2009**, 31–49.
 60. Arvanitoyannis, I. S.; Katsota, M. N.; Psarra, E. P.; Sou, E. H.; Kallithraka, S. *Trend in Food Sci. & Tech.* **2000**, 10, 321–336.
 61. Oliveira, R. C. S.; Oliveira, L. S.; Franca, A. S.; Augusti, R. *J. Food Comp. Anal.* **2009**, 22, 257–261.
 62. Cagliero, C.; Bicchi, C.; Cordero, C.; Rubiolo, P.; Sgorbini, B.; Liberto, E. *Food Chem.* **2012**, 132, 1071–1079.
 63. Jos, A., Moreno, I.; González, A. G.; Repetto, G.; Cameán, A. M. *Talanta* **2004**, 63, 377–382.
 64. Poerner, N.; Rodrigues, E.; Celso, P. G.; Manfroi, V.; Hertz, P. F. *Ciência Rural* **2010**, 40, 1186–1192.
 65. Cardeal, Z. L.; Souza, P. P. D.; Gomes, M. D. R.; Marriott, P. J. *Talanta* **2008**, 74, 793–799.

66. Pierce, K. M.; Hoggard, J. C.; Mohler, R. E.; Synovec, R. E. *J. Chromatogr. A* **2008**, 1184, 341–352.
67. Pedroso, M. P.; Ferreira, E. C.; Hantao, L. W.; Bogusz Jr., S.; Augusto, F. *J. Sep. Sci.* **2011**, 34, 1547–1554.
68. Wu, W.; Massart, D. L.; de Jong, S. *Chemom. Intell. Lab. Syst* **1997**, 36, 165.
69. Teófilo, R. F.; Ferreira, M. C. *Quim. Nova* **2006**, 29, 338–350.
70. Malinowski, E. R.; Howery, D. G. *Factor Analysis in Chemistry*; J. Sons: New York, 1980.
71. Kowalski, B. R. *Chemometrics: Mathematics and Statistics in Chemistry*; R. Company: Dordrecht, 1984.
72. Marengo, E.; Aceto, M.; Maurino, V. *J. Chromatogr. A* **2002**, 943, 123–137.
73. Bordiga, M.; Rinaldi, M.; Locatelli, M.; Piana, G.; Travaglia, F.; Coisson, J. D.; Arlorio, M. *Food chemistry* **2013**, 140, 57–67.
74. Berrueta, L. A.; Alonso-salces, R. M. *J. Chromatogr. A* **2007**, 1158, 196–214.
75. Schale, S. P.; Le, T. M.; Pierce, K. M. *Talanta* **2012**, 94, 320–327.
76. Humston, E. M.; Knowles, J. D.; Mcshea, A.; Synovec, R. E. *J. Chromatogr. A* **2010**, 1217, 1963–1970.
77. Fisher, R. A. *Ann. Eugenics* **1936**, 7, 179.
78. Bailey, H. P.; Rutan, S. C. *Anal. Chim. Acta* **2013**, 1–11.
79. Massart, D. L.; Vandeginste, B. G. M.; Buydens, S. J.; Lewi, P. J.; Smeyers-Verbeke, J. *J. Handbook of Chemometrics and Qualimetrics: Parte B*; Elsevier: Amsterdam, 1997.
80. Adams, R. P. *Identification of Essential Oil Component by Gas Chromatography/Mass Spectrometry*. Allured Publishing Corporation: Carol Stream, IL, USA, 2007.
81. Library, NIST/EPA/NIH Mass Spectral, 2005.
82. Van den Dool, H.; Kratz, P.D.; *J. Chromatogr. A* **1963**, 11, 463.
83. Fan, W.; Xu, Y.; Jiang, W.; Li, J. *J. Food Sci* **2010**, 75, S81.
84. Garcia, C.V.; Quek, S.-Y.; Stevenson, R.J.; Winz, R. A. *J. Agric. Food Chem* **2011**, 59, 8358.
85. Cullere, L.; Escudero, A.; Cacho, J.; Ferreira, V. *J. Agric. Food Chem* **2004**, 52, 1653.
86. Boido, E.; Lloret, A.; Medina, K.; Farina, L.; Carrau, F.; Versini, G.; Dellacassa, E. *J. Agric. Food Chem* **2003**, 51, 5408.
87. Sun, S.Y.; Jiang, W.G.; Zhao, Y. P. *Flavour Frag J.* **2010**, 25, 206.
88. Kourkoutas, D.; Elmore, J.S.; Mottram, D. S. *Food Chem.* **2006**, 97, 95.
89. Gurbuz, O.; Rouseff, J.M.; Rouseff, R. L. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, 54, 3990–3996.
90. Choi, H. S. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, 51, 2687.

91. Ferretti, G.; Maggi, F.; Tirillini, B. *Flavour Frag. J.* **2005**, 20, 295.
92. Vekiari, S.A.; Oreopoulou, V.; Kourkoutas, Y.; Kamoun, N.; Msallem, M.; Psimouli, V.; Arapoglou, D. *Grasas Y Aceites* **2010**, 61, 221.
93. Saidana, D.; Mahjoub, S.; Boussaada, O.; Chriaa, J.; Mahjoub, M.A.; Cheraif, I.; Daami, M.; Mighri, Z.; Helal, A. N. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* **2008**, 85, 817.
94. Blanco Tirado, C.; Stashenko, E. E.; Combariza, M. Y.; Martinez, J. R. *Journal of chromatography A* **1995**, 697, 501–512.
95. Gurbuz, O.; Rouseff, J.M.; Rouseff, R. L. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, 3990.
96. Kovats, E. *Helv. Chim. Acta* **1958**, 41, 1915.
97. Fan, W.L.; Qian, M. C. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, 54, 2695.
98. Robinson, A.L.; Ebeler, S.E.; Heymann, H.; Boss, P.K.; Solomon, P.S.; Trengove, R. D. *J. Agric. Food Chem.* **2009**, 57, 10313.
99. Dall’Asta, C.; Cirilini, M.; Morini, E.; Galaverna, G. *J. Chromatogr. A* **2011**, 1218, 7557.
100. Verzera, A.; Ziino, M.; Scacco, A.; Lanza, C.M.; Mazzaglia, A.; Romeo, V.; Concurso, C. *Food Anal. Met.* **2008**, 1, 144.
101. Taylor, A.J.; Linforth, R. *Food Flavour Technology*; Wiley-Blackwell: Singapura, 2010.
102. Klesk, K.; Qian, M.; Martin, R. R. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, 52, 5155.
103. Campo, E., Ferreira, V., Escudero, A., Marqués, C.; Cacho, J. *Anal. Chim. Acta* **2006**, 563, 180–187.
104. Moyano, L.; Zea, L.; Moreno, J.; Medina, M. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, 50, 7356–7361.
105. Su, M.; Chien, P. *Food Chem.* **2010**, 119, 923–928.
106. Hager, F. V.; Bruchhausen, P. Surmann, E. N. *Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis*. Springer, 1999, 171.
107. Spagna, G.; Barbagallo, R. N.; Martino, A.; Giorgio, P. *Enzyme and Microbial Technology* **2000**, 27, 522–530.
108. Chin, S.; Eyres, G. T.; Marriott, P. J. *J. Chromatogr. A* **2011**, 1218, 7487–7498.
109. Genovese, A.; Gambuti, A.; Piombino, P.; Moio, L. *Food Chem.* **2007**, 103, 1228–1236.
110. Aznar, M.; Arroyo, T. *J. Chromatogr. A* **2007**, 1165, 151–157.
111. van den Dool, H.; Kratz, P. D. *J. Chromatogr. A* **1963**, 11, 463–471.
112. Aceto, M.; Robotti, E.; Oddone, M.; Baldizzone, M.; Bonifacino, G.; Bezzo, G. Aceto, M. *Food Chem.* **2013**, 138, 1914–1922.
113. Welke, J. E. Dissertação de Doutorado, UFRGS, 2012.

ANEXO I. Identificação positiva e tentativa dos compostos voláteis do *headspace* de 24 espumantes Moscatéis e um vinho Moscato Giallo, obtidos pelo emprego de HS-SPME e 1D-GC/qMS (coluna cromatográfica de 60 m). Condições cromatográficas no item 3.3.

Nº	Composto	LTPRI Cal.DB-5*	LTPRI ⁸⁰ Lit	LTPRI Cal.WAX	LTPRI ¹¹³ Lit	Nº	Composto	LTPRI Cal.DB-5*	LTPRI ⁸⁰ Lit	LTPRI Cal.WAX	LTPRI ¹¹³ Lit
1	acetato de etila	659	609			31	mircenol	1122	1118		
2	3-metil-1-butanol	731	740	1212	1213	32	ácido 2-etilhexanoico	1124	1122	1962	1950
3	2-metil-1-butanol	735	735			33	octanoato de metila	1126	1127	1391	1391
4	2,3-butanodiol	793	793	1548	1542	34	<i>cis</i> -verbenol	1145	1141		
5	butanoato de etila	803	804	1055	1047	35	<i>cis</i> -ocimeno	1154	1155		
6	lactato de etila	817	798	1350	1353	36	óxido de nerol	1155	1158	1472	1464
7	furfural	835	836			37	ni	1161			
8	<i>cis</i> -3-hexenol	857	858			38	terpeno	1165			
9	1-hexanol	872	870	1358	1358	39	<i>p</i> -mentha-1,5-dien-8-ol	1168	1165	1734	
10	acetato de isoamila	877	880	1124	1125	40	epóxi-linalol	1170	1163		
11	2-heptanol	904	896			41	terpeno	1174			
12	2-eteniltetrahydro-2,6,6-trimetil-2H-pirano	970	972	1106		42	terpeno	1175			
13	1-heptanol	973	966			43	succinato de dietila	1184	1179	1685	1687
14	ácido hexanoico	997	973	1860	1861	44	α -terpineol	1191	1188	1700	1700
15	hexanoato de etila	1002	998	1236	1236	45	octanoato de etila	1199	1197	1439	1436
16	ni	1005				46	ácido octanoico	1201	1171	2076	2076
17	acetato de <i>cis</i> -3-hexenila	1009	1005			47	decanal	1206	1201		
18	acetato de hexila	1016	1009	1276	1275	48	acetato de octila	1213	1213		
19	2-etil-1-hexanol	1031	1024	1496	1492	49	ni	1220			
20	terpeno	1047				50	citronelol/nerol	1230	1225e 1229	1773e 1807	1771e 1804
21	2-furoato de etila	1055	1045			51	ni	1235			
22	óxido de <i>cis</i> -linalool	1073	1072	1446	1453	52	fenilacetato de etila	1246	1246	1791	1796
23	1-octanol	1074	1068	1564	1564	53	terpeno	1253			
24	ácido sórbico	1078	1045	2166		54	hexanoato de isoamila	1254	1249		
25	terpinoleno	1087	1088			55	terpeno	1256			
26	óxido de <i>trans</i> -linalol	1089	1086			56	acetato de 2-feniletila	1258	1258	1822	1815
27	sorbato de etila	1098	1093		1511	57	terpeno	1261			
28	linalol	1101	1096	1556	1555	58	terpeno	1267			
29	hotrienol	1105	1101	1619	1620	59	éster	1270			
30	2-feniletanol	1114	1107	1919	1922	60	ácido nonanoico	1273	1273		

Nº	Composto	LTPRI Cal.DB-5*	LTPRI ⁸⁰ Lit	LTPRI Cal.WAX	LTPRI ¹¹³ Lit	Nº	Composto	LTPRI Cal.DB-5*	LTPRI ⁸⁰ Lit	LTPRI Cal.WAX	LTPRI ¹¹³ Lit
61	ni	1274				82	acetona de geranila	1456	1453		
62	vitispirano	1280	1276			83	ni	1458			
63	éter de etil-geranila 2	1289	1297			84	ni	1475			
64	octanoato de propila	1293	1282			85	1-dodecanol	1477	1473	1974	1969
65	nonanoato de etila	1274	1270	1539	1535	86	ni	1478			
66	2,3,5,6-tetrametilfenol	1307	1319			87	decanoato de propila	1493	1493		
67	decanoato de metila	1326	1325			88	ni	1496			
68	ni	1355				89	éster	1507			
69	éster	1361				90	2,4-bis(1,1-dimetiletil)-fenol	1515	1519	2322	
70	ácido decanoico	1381	1366	2286	2282	91	éster	1536			
71	ni	1385				92	éster	1563			
72	β-damascenona	1386	1384			93	ácido laurico	1565	1566		
73	9-decenoato de etila	1389	1387	1695	1689	94	éster	1583			
74	decanoato de etila	1398	1395	1643	1645	95	laurato de etila	1596	1591	1849	1850
75	ni	1400				96	ni	1599			
76	ni	1409				97	ni	1613			
77	ni	1419				98	éster	1642			
78	ni	1433				99	éster	1650			
79	butirato de feniletila	1445	1439			100	dihidrojasmonato de metila	1660	1657		
80	octanoato de isoamila	1450	1442	1661	1655	101	éter de octila	1667	1657		
81	éster	1453				102	ni	1694			

*Esta tabela apresenta o mesmo número de compostos do Anexo II para fins de comparação. Os índices de retenção obtidos para ácidos carboxílicos, em alguns casos, afastaram-se bastante dos índices encontrados na literatura, devido à presença de cauda cromatográfica.

ANEXO II. Percentuais relativos de áreas normalizadas dos componentes voláteis do *headspace* de 24 espumantes Moscatéis e um vinho Moscato Giallo empregando HS-SPME e 1D-GC/qMS (coluna cromatográfica de 60 m). Condições cromatográficas no item 3.3.

Nº	Composto	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k	l	m	n	o	p	q	r	s	t	u	v	z	x	y	
1	acetato de etila	0,37	0,19	0,20	4,67	1,41	0,22	0,38	0,64	3,97	0,63	2,40	0,28	0,21	0,91	0,08	2,18	0,80		0,11	2,75	0,83	4,00	0,16	0,22	0,55	
2	3-metil-1-butanol	1,62	3,22	2,01	4,21	4,84	2,20	2,39	1,99	8,67	2,83	10,6	2,84	2,88	3,22	0,60	2,57	2,34	2,81	1,29	2,30	5,14	3,19	2,04	1,55	1,64	
3	2-metil-1-butanol	0,17						0,49	0,40	0,56				1,06	0,46	0,38		0,09		0,64	1,79		1,30		1,04	0,29	
4	2,3-butanodiol	0,45	0,16	0,15	0,83	0,31	0,15	0,27	0,13	0,28	0,26	0,38	0,06	0,10	0,18	0,09	0,57		0,44	0,11	0,38	0,23	0,70	0,14	0,20	0,38	
5	butanoato de etila	0,12		0,06	0,33	0,07		0,11		0,06	0,11		0,04				0,18	0,38	0,10		0,11	0,14	0,13	0,03		0,14	
6	lactato de etila	0,05	0,08	0,57	0,08	0,42	0,05	0,10	0,14	0,14	0,07	0,60	0,06	0,10			0,13		0,10		1,25	0,13		0,03	0,08	0,09	
7	furfural																									0,10	
8	cis-3-hexenol				0,28													0,32	0,07				0,23				
9	1-hexanol	0,14	0,22	0,15	2,35	0,42	0,27	0,23	0,08	0,44	0,23	0,84	0,13	0,16	0,49	0,27	0,27	0,05	0,64	0,27	0,32	0,32	1,81	0,09	0,22	0,24	
10	acetato de isoamila	0,11	0,70			0,14	0,09		0,09	0,24	0,15	0,24	0,39	0,15	0,05	0,09	0,14	0,05	0,39	0,08	0,23			0,17		0,42	
11	2-heptanol											0,05															
12	2-eteniltetrahidro-2,6,6-trimetil-2H-pirano	0,05		0,11	0,24	0,04	0,02	0,12	0,06	0,03	0,07	0,13			0,13	0,04	0,04			0,05	0,05	0,03	0,28	0,13	0,06		0,06
13	1-heptanol																	0,04									
14	ácido hexanoico	2,01	2,85	1,49	2,21	2,05	2,53	2,11	2,23	1,82	2,73	3,89	2,59	2,55	3,25	0,99	3,07	0,95	1,94	1,78	1,33	3,61	2,18	2,15	2,19	1,85	
15	hexanoato de etila	2,58	1,65	0,95	3,06	2,49	1,45	1,56	1,45	1,49	3,06	3,33	2,35	1,45	2,20	0,59	2,01	1,17	1,51	1,05	1,30	3,72	2,53	1,75	0,33	2,52	
16	ni	0,04		0,07	0,13			0,08	0,11		0,06				0,13	0,03				0,06	0,03	0,14	0,06	0,08		0,06	
17	acetato de cis-3-hexenila																									0,35	
18	acetato de hexila	0,07	0,30		0,28	0,05				0,09	0,08	0,13	0,13			0,08	0,05	0,03	2,50	0,08	0,08		0,18	0,06		0,13	
19	2-etil-1-hexanol	0,13					0,07				0,07																
20	terpeno			0,07	0,16			0,12			0,08												0,36	0,11			
21	2-furoato de etila						0,04	0,04									0,07					0,18			0,19		
22	óxido de cis linalool	0,13	0,16	0,21		0,25	0,15	0,33	0,32	0,26	0,32	0,39	0,11	0,16	0,55	0,21	0,19	0,28	0,29	0,44	0,23	0,70		0,25	0,33	0,16	

Nº	Composto	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k	l	m	n	o	p	q	r	s	t	u	v	z	x	y	
23	1-octanol				1,17																						1,39
24	ácido sórbico									3,77	0,38							4,16				0,71					
25	terpinoleno		0,08	0,03	0,21	0,07	0,02	0,13			0,05	0,13	0,07			0,02			0,03								0,05
26	óxido de <i>trans</i> linalool		0,06	0,08	0,14	0,08	0,06	0,09	0,11		0,06	0,10	0,03		0,19	0,10	0,06		0,03		0,07	0,14	0,09	0,09	0,11	0,05	
27	sorbato de etila									10,2								4,81		7,68							
28	linalol	0,47	0,56	0,07		0,51	0,64		0,34		0,57	0,61	0,46	0,31	0,50	5,46	0,48		1,55	2,03	1,21			0,87	0,14	1,66	
29	hotrienol	0,58	0,32	0,40	0,79	0,89	0,99	0,73	1,37	5,32	0,80	1,14	0,70	0,57	1,43	1,20	0,78	0,51	0,53	3,36	0,82	0,65	0,50	1,30	0,79	0,70	
30	2-feniletanol	3,33	4,95	4,37	5,29	2,19	5,31	8,99	2,09	4,42	4,68	2,69	2,39	4,34	5,41	16,6	5,78	2,28	7,76	3,82	15,0	7,08	3,83	2,63	24,9	4,82	
31	mircenol		0,03	0,06	0,16	0,07		0,13	0,05	0,04	0,04	0,13	0,05		0,06	0,03						0,15	0,06	0,04			
32	ácido 2-etilhexanoico	0,05																0,08									
33	octanoato de metila		0,03	0,05		0,07		0,05	0,04		0,02		0,05			0,03			0,04				0,05				
34	<i>cis</i> verbenol																				0,04						
35	<i>cis</i> -ocimeno			0,05																		0,44					
36	óxido de nerol	0,64	0,37	0,89	1,95	0,91	0,87	1,53	1,55	0,41	0,83	1,09	0,45	0,55	1,74	0,43	0,65	0,53	0,48	1,07	0,53	2,14	1,18	1,15	0,46	0,52	
37	ni				0,13		0,19					0,15	0,14														
38	terpeno	0,04		0,12	0,16	0,06	0,06	0,16	0,08	0,05	0,09	0,09		0,06	0,17	0,07	0,09			0,09		0,35	0,11	0,08	0,14		
39	<i>p</i> -mentha-1,5-dien-8-ol				0,05						0,04											0,07		0,10			
40	epoxilinalol				0,03		0,03	0,12				0,08	0,04		0,10	0,12			0,14	0,07			0,10	0,12	0,13		
41	terpeno				0,07							0,11															0,04
42	terpeno		0,09			0,08	0,07	0,09						0,13					0,09		0,16						
43	succinato de dietila	5,06	3,90	4,01	12,3	5,12	9,07	8,33	4,49	3,87	2,79	1,30	3,02	7,38	7,42	3,44	5,95	4,95	6,58	4,19	3,69	10,8	11,3	4,23	9,47	5,43	
44	α -terpineol	7,16	6,72	6,85	6,91	9,30	11,0	6,50	7,64	6,39	7,70	9,76	5,23	8,60	11,8	11,5	7,69	4,73	6,07	9,18	6,00	6,02	5,64	9,62	8,53	6,82	
45	octanoato de etila	31,3	23,9	24,1	17,4	32,8	34,0	17,9	25,5	18,7	30,7	31,6	34,4	29,5	20,2	29,7	30,2	23,6	17,9	18,1	6,14	27,5	17,4	27,6	4,64	29,9	
46	ácido octanóico	10,4	7,15	5,64	6,21	10,4	11,4	6,55	6,66	4,38	8,10		5,50	14,8	5,69	2,02	5,83	2,52	3,67	2,52	18,5	9,30	5,92	8,01	14,5	1,85	
47	decanal				0,03		0,02		0,04	0,09													0,07				
48	acetato de octila			0,08															0,51			0,07					
49	ni														0,04				0,16								
50	citronellol/nerol	0,06	0,09		0,15				0,08		0,07		0,06		0,12	0,45	0,10		0,43	0,15	0,17		0,08	0,08		0,16	
51	ni	0,09	0,07	0,05	0,09	0,13	0,07	0,12	0,22	0,09	0,10	0,21	0,15	0,10	0,19	0,16	0,12	0,08	0,19	0,25	0,14	0,12	0,05	0,21	0,15	0,23	
52	fenilacetato de etila	0,16	0,03	0,08	0,84	0,31	0,15	0,20	0,39	0,13	0,21	0,37	0,07	0,25	0,37	0,19	0,21	0,15	0,36	0,17	0,27	0,20	0,52	0,14	0,35		
53	terpeno				0,06		0,09				0,06	0,09			0,14	0,21	0,10	0,04	0,13		0,15						0,18

Nº	Composto	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k	l	m	n	o	p	q	r	s	t	u	v	z	x	y	
54	hexanoato de isoamila	0,04	0,05		0,07																						
55	terpeno	0,57		0,24	0,24	0,32		0,17	0,16	0,07		0,32	0,08	0,05				0,26		0,23			0,14	0,12	0,19		
56	acetato de 2-feniletila		1,58					0,79		0,41	0,38	0,72		0,65	0,47	0,50	2,54	0,68		1,15	0,65	1,22	0,11		0,93	0,43	1,31
57	terpeno	0,04	0,04					0,05	0,09				0,06			0,14	0,10		0,11	0,11	0,11				0,08	0,13	
58	terpeno	0,06		0,03						0,04						0,05				0,06	0,04				0,09	0,13	
59	éster	0,13	0,07	0,04	0,93	0,18	0,19	0,38	0,19	0,17	0,14	0,28	0,08	0,33	0,22	0,04	0,19	0,17	0,43	0,11		0,36	0,50	0,11	0,40	0,16	
60	ácido nonanoico												0,05		0,04				0,57		0,05			0,72			
61	ni		0,04	0,06	0,53		0,04	0,05																			
62	vitispirano	0,11	0,12	0,40	0,62	0,11	0,08	0,30	0,11	0,08	0,12		0,08	0,13	0,20		0,07	0,13	0,30		0,05	0,12	0,43	0,07	0,13	0,10	
63	éter de etil-geranila 2	0,14	0,11	0,08		0,10	0,10	0,05	0,15	0,07	0,15	0,09	0,11	0,09	0,17	0,13	0,10	0,10	0,10	0,27	0,18			0,43	0,07	0,58	
64	octanoato de propila	0,05																		0,09							
65	nonanoato de etila				0,69											0,03		0,04	0,69		0,04			0,78			
66	2,3,5,6-tetrametilfenol									0,06			0,06			0,08										0,09	
67	decanoato de metila			0,10				0,19					0,02								0,02						
68	ni		0,14	0,07	0,18	0,25	0,10	0,17	0,21		0,24					0,08										0,45	
69	éster									0,28								0,19		0,26	0,05						
70	ácido decanoico	6,60	12,9	9,99	10,4	6,35	5,43	17,1	6,68	10,8	8,65	11,8	10,3	7,04	10,7	9,51	11,2	6,30	12,8	8,82	11,6	6,89	16,3	8,63	18,8	10,8	
71	ni	0,28		0,08	0,75		0,07			0,05	0,24				0,11		0,20	0,09	1,02	0,14		0,49	0,52	0,10		0,29	
72	β-damascenona					0,09		0,15		0,05	0,06	0,06	0,06	0,09				0,08									
73	9-decenoato de etila	0,96	0,83	0,42	0,29	0,31	0,93	0,47	7,98	0,63	1,18	0,24	0,91	0,75	0,99	0,18	0,89	6,57	1,77	1,51	1,08	0,76	0,21	2,11	0,37	0,15	
74	decanoato de etila	25,5	16,4	35,9	14,2	16,8	20,1	16,4	22,3	18,1	20,4	11,2	26,0	20,1	16,9	17,0	22,2	30,3	24,1	28,0	20,4	6,60	17,1	23,5	6,01	19,5	
75	ni	0,13	0,11	0,16	0,48	0,09		0,50	0,08	0,33	0,24	0,10	0,09	0,28	0,39	0,10	0,21	0,22			0,17	0,31	0,48	0,07	0,61		
76	ni	0,17	0,10	0,09	0,21	0,16		0,21	0,16	0,12	0,16		0,08	0,16	0,16	0,04	0,09	0,11	0,14	0,11	0,05	0,14		0,10	0,13		
77	ni	0,03		0,06				0,05								0,07						0,07				0,12	
78	ni	0,09	0,11	0,17	0,37	0,08	0,15	0,29	0,06	0,15	0,12		0,05	0,23	0,18	0,05	0,13	0,11	0,23	0,07	0,08	0,35	0,35	0,08	0,22	0,11	
79	butirato de feniletila							0,10							0,09						0,31					0,13	
80	octanoato de isoamila	0,31	0,19	0,34		0,21	0,18	0,08	0,22	0,11	0,19	0,12	0,22	0,38	0,15	0,07	0,13	0,11	0,12	0,11	0,13	0,09		0,35		0,10	

Nº	Composto	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k	l	m	n	o	p	q	r	s	t	u	v	z	x	y
81	éster		0,04	0,06									0,04								0,05					
82	acetona de geranila			0,08				0,05											0,07		0,09	0,09				
83	ni	0,29	0,07	0,09	0,25			0,17		0,08	0,06			0,09	0,12			0,08	0,16			0,18	0,20			0,07
84	ni	0,29						0,07										0,08			0,07					
85	1-dodecanol	0,09	0,14	0,25	0,46	0,17	0,22	0,30	0,16	0,08	0,06		0,13	0,10	0,13			0,05	0,10			0,22	0,26		0,16	
86	ni				0,26			0,18		0,07	0,05			0,08					0,12			0,17	0,21			
87	decanoato de proprila																			0,05						
88	ni			0,09	0,40		0,08	0,07	0,18	0,06	0,07		0,10	0,10	0,07	0,04		0,08	0,11	0,13		0,10	0,19			0,10
89	éster							0,13		0,08				0,11												
90	2,4-bis(1,1-dimetiletil)-fenol					0,18	0,11	0,05		0,48		0,18	1,15		0,46				0,23					0,13	0,28	
91	éster	0,12						0,05		0,09	0,11		0,05	0,09			0,15				0,14		0,11			
92	éster			0,09	0,21	0,52				0,07	0,12		0,04													
93	ácido laurico		0,12	0,11				0,05	0,12	0,10		0,14	0,03	0,15		0,17	0,09	0,17		0,09	0,14			0,20		0,29
94	éster		0,19	0,15	0,18					0,13									0,22	0,18		0,24	0,32	0,13		0,12
95	laurato de etila	0,43	0,60	0,64	0,24	0,34	0,10	0,19	0,46	0,21	0,20	0,36	0,18	0,22	0,27	0,62	0,30	0,48	0,32	0,29	0,30	0,11	0,31	1,08		0,82
96	ni	0,50		0,23	0,34	0,25	0,54	0,46	0,27	0,15	0,10		0,16	0,16	0,17	0,05	0,12	0,14		0,20	0,09	0,48	0,31	0,18	0,46	0,13
97	ni					0,07	0,27		0,10				0,10				0,06	0,11				0,18	0,07		0,17	
98	éster			0,18			0,19		0,38	0,11	0,10															
99	decanoato de isoamila		0,20	0,26			0,06	0,12	0,15	0,12			0,13	0,24				0,10						0,23		
100	dihidrojasmonato de metila						0,05	0,06																		
101	éter de octila	0,14		0,14			0,09	0,16	0,45																	0,95
102	ni			0,19				0,10	0,09	0,18					0,18	0,07		0,17		0,38	0,05		0,27	0,18		0,30

ANEXO III. Composição qualitativa e semi-quantitativa do *headspace* do espumante Moscatel “a” empregando HS-SPME e GC×GC/TOFMS.

nº	composto	¹ t _R (s)	² t _R (s)	área %	IR _{cal}	IR _{lit} ⁸¹
1	éster	371	2,23	4,116	718	
2	ni	371	2,31	0,010	718	
3	ni	378	2,28	0,060	722	
4	éster	378	2,30	0,031	722	
5	éster	385	2,26	0,051	726	
6	dieno	385	2,13	0,033	726	
7	ni	392	2,26	0,037	730	
8	ni	392	2,22	0,031	730	
9	ni	406	2,33	0,088	737	
10	ni	406	2,18	0,014	737	
11	ni	413	2,36	0,020	741	
12	éster	434	2,47	0,759	753	
13	ni	434	2,84	0,114	753	
14	3-metil-1-butanol	448	2,72	7,043	760	743
15	ni	448	2,58	0,316	760	
16	2,4,5-trimetil-1,3-dioxolano	448	2,48	0,234	760	
17	ni	448	2,39	0,108	760	
18	2-metil-1-butanol	455	2,78	0,486	764	755
19	ni	455	2,87	0,008	764	
20	ácido	469	2,21	0,007	772	
21	éster	483	2,58	0,270	780	
22	acetato de isobutila	497	2,67	0,041	787	788
23	1-pentanol	497	2,69	0,006	787	772
24	2,3-butanodiol	511	3,26	3,451	795	786
25	ácido butanoico	511	2,86	0,386	795	789
26	álcool	518	2,86	0,025	799	
27	butanoato de etila	532	2,88	1,364	807	804
28	propanoato de 2-hidróxi-etila (lactato de etila)	553	3,16	2,826	818	798
29	ni	567	2,81	0,026	826	
30	ni	574	2,14	0,017	830	
31	furfural	595	4,24	0,177	841	831
32	ácido 3-metil-butanoico	602	2,99	0,124	845	848

n°	composto	¹ t _R (s)	² t _R (s)	área %	IR _{cal}	IR _{lit} ⁸¹
33	2-butanoato de etila	602	3,36	0,005	845	834
34	isovalerato de etila	616	3,02	0,147	853	851
35	ni	630	2,73	0,002	860	
36	1-hexanol	651	3,28	0,549	872	860
37	acetato de isoamila	679	3,14	0,022	887	880
38	2-heptanona	693	3,48	0,039	895	889
39	ni	693	3,85	0,010	895	
40	butanoato de propila	707	3,29	0,001	902	897
41	ni	714	3,22	0,039	905	
42	pentanoato de etila	714	3,32	0,011	905	901
43	ni	728	2,99	0,109	911	
44	etóxi-tetra-hidropirano	742	3,59	0,002	916	920
45	hexanoato de metila	763	3,51	0,034	925	927
46	butirolactona	763	6,57	0,016	925	918
47	ni	784	4,10	0,014	933	
48	ni	805	3,28	0,084	942	
49	1,1-dietóxi-3-metil-butano	833	3,03	0,002	953	959
50	ni	840	2,79	0,046	956	
51	benzaldeido	854	5,38	0,009	962	968
52	éster	868	3,77	0,004	968	
53	2-etenil-tetra-hidro-2,6,6-trimetil-2H-pirano	875	3,37	0,250	971	972
54	ni	882	5,28	0,024	973	
55	1-heptanol	882	3,62	0,017	973	967
56	1-octen-3-ol	896	3,64	0,038	979	978
57	3-metil-tio-1-propanol	910	5,11	0,006	985	982
58	di-hidro-2-metil 3(2H)-tiofenona	917	5,97	0,027	988	998
59	fenol	917	4,78	0,007	988	998
60	6-metil-5-heptenona 2	917	4,16	0,005	988	984
61	α-mirceno	924	3,36	0,007	991	990
62	ni	931	3,66	0,266	993	
63	hexanoato de etila	945	3,84	3,510	999	1003
64	ni	952	4,91	0,026	1002	
65	ni	959	3,77	0,018	1005	
66	ácido hexanoico	966	3,86	7,662	1007	1013
67	ni	966	3,83	0,210	1007	
68	acetato de (Z)-3hexen-1-ol	966	3,97	0,002	1007	1005
69	acetato de hexila	980	3,78	0,174	1012	1010

n°	composto	¹ t _R (s)	² t _R (s)	área %	IR _{cal}	IR _{lit} ⁸¹
70	2-(2-dietóxi)-etanol	980	4,72	0,006	1012	1007
71	éster	987	4,07	0,033	1015	
72	limoneno	1022	3,70	0,199	1028	1031
73	2-etil-1-hexanol	1029	3,75	0,857	1031	1028
74	eucaliptol	1036	3,91	0,023	1033	1030
75	terpeno	1043	3,65	0,007	1036	
76	2,2,6-trimetil-ciclohexanona	1043	4,41	0,002	1036	1036
77	dienal	1043	4,16	0,002	1036	
78	indano	1043	4,86	0,001	1036	1034
79	álcool	1050	5,69	0,012	1039	
80	cetona	1057	6,32	0,006	1041	
81	2-hexenoato de etila	1064	4,24	0,019	1044	1030
82	ni	1071	3,82	0,068	1047	
83	benzenoacetaldeído	1071	6,00	0,014	1047	1045
84	ni	1078	3,83	0,020	1049	
85	<i>cis</i> -ocimeno	1078	3,65	0,016	1049	1040
86	2-furoato de etila	1092	5,54	0,370	1055	1045
87	ácido	1092	3,11	0,110	1055	
88	pentanoato de 2-hidróxi-4-metiletila	1106	4,08	0,026	1060	1078
89	α -terpineno	1106	3,88	0,007	1060	1062
90	hexanolactona	1106	6,74	0,004	1060	1064
91	acetofenona	1127	6,08	0,006	1068	1078
92	éster	1134	3,88	0,018	1070	
93	lactato de isoamila	1134	4,09	0,016	1070	
94	1-octanol	1141	3,91	0,069	1073	1068
95	ni	1141	3,95	0,050	1073	
96	propanodioato de dietila	1141	5,12	0,003	1073	1068
97	óxido de <i>cis</i> -linalol	1148	4,11	0,368	1076	1070
98	ácido heptanoico	1176	3,80	0,012	1086	1083
99	terpinoleno	1183	4,04	0,023	1089	1089
100	α,α -dimetil-benzenometanol	1183	5,44	0,001	1089	1089
101	óxido de <i>trans</i> -linalol	1190	4,25	0,175	1091	1088
102	1-metil-4-(1-metil-etil)-benzeno	1190	4,64	0,006	1091	1088
103	2-nonanona	1197	4,12	0,111	1094	1090
104	hexanoato de propila	1204	3,91	0,009	1097	1091
105	benzenoato de metila	1204	5,69	0,001	1097	1092
106	(<i>Z,Z</i>)-3,6-nonadienal	1211	4,41	0,062	1099	1100
107	heptanoato de etila	1211	3,92	0,021	1099	1099

n°	composto	¹ t _R (s)	² t _R (s)	área %	IR _{cal}	IR _{lit} ⁸¹
108	linalol	1218	4,08	0,530	1102	1100
109	sorbato de etila	1218	4,75	0,011	1102	1089
110	3-(metil-tio) propanoato de etila	1218	5,32	0,005	1102	1098
111	2-nonanol	1225	3,79	0,135	1104	1100
112	hotrienol	1232	4,38	1,023	1107	1104
113	butanodioato de etilmetila	1239	5,35	0,003	1109	
114	cetona	1239	5,15	0,001	1109	
115	óxido de rosa	1246	4,16	0,091	1112	1112
116	2-etilhexanoato de etila	1246	3,74	0,004	1112	
117	acetato de heptila	1253	3,93	0,004	1114	1111
118	ni	1260	6,31	1,273	1117	
119	ácido	1260	2,82	0,042	1117	
120	fenchol	1260	4,48	0,005	1117	1111
121	feniletanol	1267	6,06	2,918	1119	1120
122	mircenol	1274	4,31	0,049	1122	1118
123	α-isoforona	1281	5,57	0,005	1124	1118
124	octanoato de metila	1288	4,00	0,144	1127	1125
125	ácido 2-etil-hexanoico	1302	3,84	0,205	1132	1123
126	(E,E)-2,6-dimetil-1,3,5,7-octatetraeno	1302	4,24	0,034	1132	1134
127	terpeno	1302	4,31	0,007	1132	
128	1-terpinenol	1316	4,48	0,006	1137	1147
129	ni	1337	4,76	0,011	1144	
130	cânfora	1344	5,42	0,010	1147	1144
131	β-terpineol	1344	4,63	0,004	1147	1159
132	éster	1358	3,86	0,004	1152	
133	cis-ocimenol	1365	4,43	0,064	1154	1155
134	óxido de nerol	1372	4,55	1,112	1157	1153
135	isoborneol	1379	4,88	0,003	1159	1156
136	trans-di-hidrocarvona	1386	5,20	0,001	1162	1186
137	trans-ocimenol	1400	4,45	0,096	1167	
138	borneol	1407	4,91	0,006	1169	1165
139	1,3-dimetóxi-benzeno	1407	6,18	0,001	1169	1164
140	terpeno	1414	3,61	0,060	1172	
141	benzoato de etila	1414	5,64	0,017	1172	1172
142	4-etilfenol	1421	5,46	0,018	1174	1168
143	1-nonanol	1421	4,05	0,011	1174	1169
144	ni	1428	3,87	0,162	1177	
145	álcool	1428	4,89	0,021	1177	

n°	composto	¹ t _R (s)	² t _R (s)	área %	IR _{cal}	IR _{lit} ⁸¹
146	β-terpineol	1428	4,44	0,008	1177	1188
147	4-terpineol	1435	4,75	0,082	1179	1175
148	terpeno	1435	4,80	0,052	1179	
149	butanodioato de dietila (succinato de dietila)	1442	5,31	1,888	1182	1179
150	éster	1442	5,35	0,006	1182	
151	éster	1449	4,19	0,579	1184	
152	ni	1449	6,46	0,012	1184	
153	3,6-dimetil-2,3,3,α,4,5,7,α-hexa-hidrobenzofurano	1456	5,06	0,006	1187	
154	fumarato de dietila	1456	4,76	0,004	1187	
155	<i>p</i> -cimen-8-ol	1463	5,51	0,003	1189	1186
156	α-terpineol	1477	4,97	3,579	1194	1193
157	terpeno	1477	5,05	0,002	1194	
158	octanoato de etila	1484	4,10	5,865	1197	1196
159	álcool	1484	4,87	0,028	1197	
160	benzoato de 2-hidróxi-metila	1484	5,91	0,014	1197	1195
161	éster	1491	4,88	0,030	1199	
162	terpeno	1498	4,82	0,026	1202	
163	safranal	1498	5,67	0,003	1202	1202
164	decanal	1512	4,24	0,005	1207	1205
165	éster	1519	4,94	0,003	1210	
166	ni	1533	5,98	0,011	1215	
167	<i>p</i> -1-mentenal 9	1547	5,31	0,031	1220	1232
168	ácido octanoico	1554	4,21	28,801	1223	1183
169	β-ciclocitral	1554	5,45	0,005	1223	1219
170	álcool	1568	4,69	0,002	1228	
171	citronelol	1575	4,37	0,011	1231	1226
172	terpeno	1575	3,91	0,009	1231	
173	nerol	1575	4,63	0,006	1231	1227
174	benzotiazol	1575	0,79	0,003	1231	1226
175	ni	1582	4,89	0,021	1233	
176	ni	1589	4,01	0,180	1236	
177	ni	1603	4,45	0,020	1241	
178	éter de metil-timol	1610	4,88	0,009	1244	1235
179	fenilacetato de etila	1617	6,05	0,681	1247	1243
180	carvona	1617	5,80	0,003	1247	1254
181	hexanoato de isopentila	1631	4,00	0,043	1252	1254
182	ni	1638	4,22	0,110	1255	

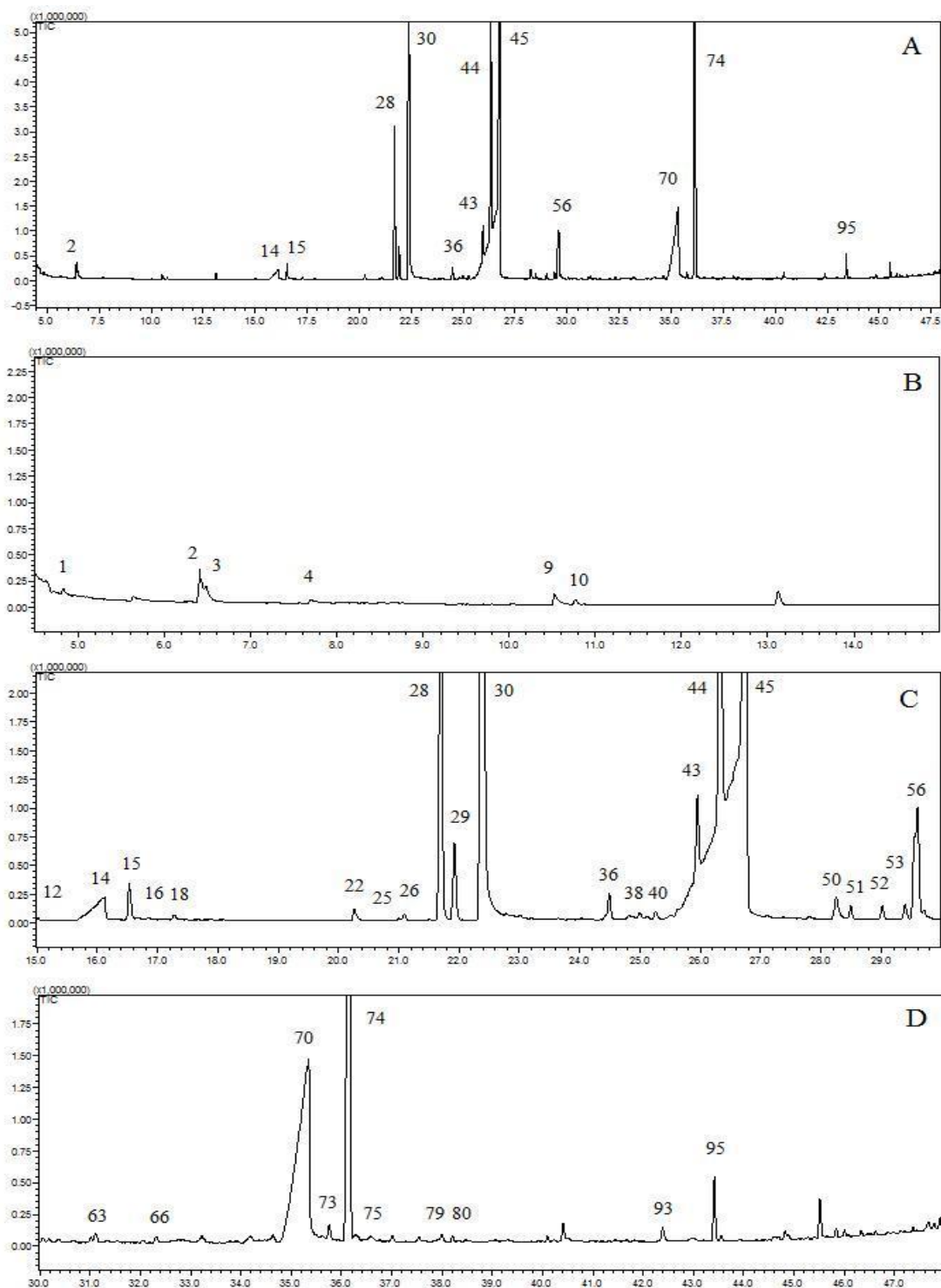
n°	composto	¹ t _R (s)	² t _R (s)	área %	IR _{cal}	IR _{lit} ⁸¹
183	acetato de 2-feniletila	1645	6,05	1,061	1257	1260
184	terpeno	1645	4,20	0,877	1257	
185	terpeno	1645	4,71	0,123	1257	
186	ni	1652	4,12	0,066	1260	
187	terpeno	1659	4,65	0,051	1262	
188	ni	1659	4,23	0,028	1262	
189	octanolactona	1659	6,75	0,017	1262	1262
190	terpeno	1673	4,02	0,040	1268	
191	maleato de dietila	1680	5,77	0,267	1270	
192	citral	1687	5,18	0,001	1273	1268
193	1-decanol	1694	4,14	0,015	1276	1268
194	éster	1701	5,24	0,012	1278	
195	2,6-dimetil-1,7-octadieno-3,6-diol	1701	5,34	0,003	1278	1274
196	ni	1708	4,78	0,097	1281	
197	ácido nonanoico	1708	4,10	0,022	1281	1273
198	4-etil-2-metóxi-fenol	1708	5,94	0,006	1281	1283
199	pentadioato de dietila	1715	5,29	0,013	1283	1281
200	ni	1722	4,30	0,022	1286	
201	éter etil geranila 2	1729	4,13	0,158	1289	1297
202	ni	1729	4,27	0,036	1289	
203	2-undecanona	1743	4,33	0,008	1294	1292
204	<i>p</i> -menta-1(7),8(10)-dienol-9	1743	5,22	0,005	1294	
205	nonanoato de etila	1750	4,11	0,012	1297	1294
206	2-undecanol	1764	4,01	0,015	1302	1311
207	undecanal	1778	4,33	0,002	1307	1296
208	ni	1785	1,37	0,018	1310	
209	terpeno	1792	5,78	0,003	1313	
210	2-metóxi-4-vinilfenol	1799	6,53	0,014	1315	1312
211	terpeno	1813	4,50	0,017	1321	
212	ni	1820	3,79	0,046	1324	
213	decanoato de metila	1827	4,18	0,015	1326	1324
214	éster	1841	5,10	0,004	1332	
215	éster	1883	4,03	0,005	1348	
216	benzenoato de 2-aminometila	1883	0,63	0,001	1348	1354
217	benzenopropoato de etila	1890	5,99	0,007	1351	1355
218	acetato de citrionelol	1897	4,36	0,001	1353	1348
219	1,2-di-hidro-1,1,6-trimetil-naftaleno	1904	5,59	0,039	1356	1354
220	nonanolactona	1932	6,65	0,035	1367	1365

n°	composto	¹ t _R (s)	² t _R (s)	área %	IR _{cal}	IR _{lit} ⁸¹
221	propanoato de 2-metil-, 3-hidróxi-2,4,4-trimetil-pentila	1953	4,82	0,004	1375	1376
222	ácido	1960	4,75	0,008	1378	
223	éster	1974	4,32	0,061	1383	
224	β-damascenona	1981	5,58	0,117	1386	1390
225	9-decanoato de etila	1988	4,40	0,113	1388	1378
226	ácido decanoico	1995	4,42	6,397	1391	1386
227	decanoato de etila	2009	4,23	0,325	1397	1397
228	éster	2009	4,85	0,002	1397	
229	ni	2023	5,38	0,044	1402	
230	decanal	2037	4,39	0,003	1408	1398
231	terpeno	2065	4,87	0,011	1419	
232	éster	2093	5,17	0,035	1431	
233	éster	2107	6,05	0,001	1436	
234	éster	2114	5,62	0,001	1439	
235	éster	2121	5,96	0,012	1442	
236	octanoato de isoamila	2135	4,13	0,031	1448	1450
237	acetona de geranila	2149	4,96	0,011	1453	1445
238	ni	2156	4,78	0,023	1456	
239	cinamato de etila	2184	6,58	0,006	1468	1460
240	decanolactona	2191	6,59	0,012	1471	1476
241	ni	2198	4,69	0,022	1473	
242	1-dodecanol	2205	4,30	0,021	1476	1473
243	decalactona	2268	0,08	0,003	1502	1493
244	álcool	2275	4,87	0,002	1505	
245	2,4-bis(1,1-dimetiletil)-fenol	2296	5,22	0,017	1514	1519
246	dodecanoato de metila	2317	4,31	0,001	1523	1524
247	éster	2345	4,85	0,043	1535	
248	<i>cis</i> -nerolidol	2345	4,59	0,001	1535	1537
249	<i>trans</i> -nerolidol	2415	4,67	0,006	1566	1569
250	ácido undecanoico	2422	4,41	0,020	1569	1561
251	1-tridecanol	2443	4,35	0,015	1578	1569
252	éster	2450	4,42	0,010	1581	
253	dodecanoato de etila	2478	4,28	0,022	1593	1591
254	éster	2492	4,60	0,015	1599	
255	eudesmol	2576	5,63	0,001	1638	1632
256	decanoato de isopentila	2590	4,26	0,003	1644	1644
257	ni	2597	5,22	0,002	1647	

n°	composto	¹ t _R (s)	² t _R (s)	área %	IR _{cal}	IR _{lit} ⁸¹
258	ni	2597	6,18	0,001	1647	
259	éter de octila	2632	3,88	0,003	1664	1657
260	terpeno	2646	5,26	0,016	1670	
261	ni	2660	4,70	0,017	1676	
262	álcool	2667	4,44	0,002	1680	
263	ni	2751	4,69	0,005	1719	
264	tetradecanoato de metila	2765	4,43	0,005	1726	1725
265	éster	2793	4,94	0,005	1739	
266	tetradecanoato de etila	2905	4,40	0,010	1792	1790
267	éster	2933	5,54	0,006	1806	
268	éster	3059	6,84	0,127	1870	
269	éster	3164	4,58	0,020	1925	
270	hexadecanoato de etila	3297	4,54	0,012	1995	1991
271	éster	3479	5,25	0,001	2095	

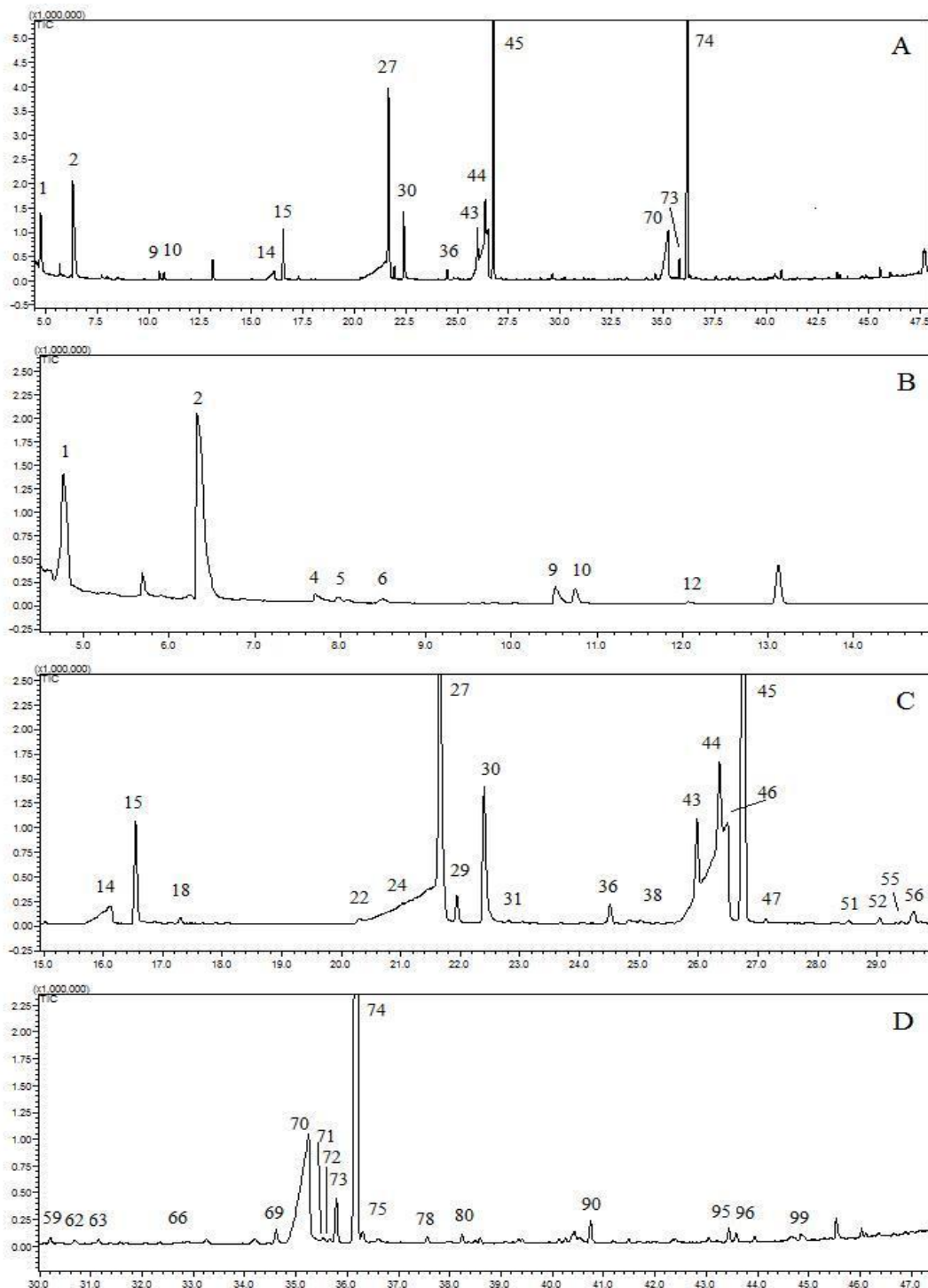
* ni – não identificado; IR_{cal} – Índice de retenção calculado; IR_{lit} – Índice de retenção informado pela literatura. Os índices de retenção de alguns ácidos ficaram distantes dos valores encontrados na literatura devido à cauda cromatográfica.

ANEXO IV. Cromatograma dos compostos voláteis do espumante Moscatel nacional “o”.



Cromatograma completo em (A) e dividido em três partes, de acordo com o tempo de retenção dos compostos voláteis tentativamente identificados: (B) de 0 a 15 min; (C) de 15 a 30 min; (D) de 30 a 48 min. As condições para a extração dos compostos encontram-se no item 3.2 e as condições cromatográficas para esta análise em coluna de 60 metros estão descritas no item 3.3. A designação dos compostos tentativamente identificados e seus respectivos números, encontra-se no Anexo I.

ANEXO V. Cromatograma dos compostos voláteis do espumante Moscatel nacional “i”.



Cromatograma completo em (A) e dividido em três partes, de acordo com o tempo de retenção dos compostos voláteis tentativamente identificados: (B) de 0 a 15 min; (C) de 15 a 30 min; (D) de 30 a 48 min. As condições para a extração dos compostos encontram-se no item 3.2 e as condições cromatográficas para esta análise em coluna de 60 metros estão descritas no item 3.3. A designação dos compostos tentativamente identificados e seus respectivos números, encontra-se no Anexo I.