Influência da madeira no sabor do vinho
Poder antioxidante e compostos fenólicos

Beatriz Matos Magalhães

Orientadores

Professora Doutora Ofélia Maria Serralha dos Anjos

Professora Doutora Maria Valme Garcia Moreno

Relatório de Estágio apresentado à Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Licenciada em Biotecnologia Alimentar, realizado sob a orientação científica da Professora Doutora Ofélia Maria Serralha dos Anjos, do Instituto Politécnico de Castelo Branco. e da Doutora Maria Valme Garcia Moreno da Universidade de Cádis | Departamento de Química Analítica

Outubro de 2025

Dedicatória

Texto (opcional)

Agradecimentos

Gostaria de começar por agradecer à minha coordenadora, que aceitou o desafio e me deu oportunidade de realizar o meu estágio num espaço acolhedor, fornecendo todos os recursos e espaço necessário para a realização do projeto.

Agradeço a todos os meus amigos , especialmente ao meu grupo dos últimos três anos, a Famelga, que me acompanhou mesmo nos momentos difíceis. Agradecimento especial à minha colega que foi de Erasmus comigo, pelo apoio e pelos momentos mais descontraídos no meio de tanta pressão. Este percurso não teria sido o mesmo sem vocês.

À minha família, a minha gratidão pelo suporte emocional e financeiro durante todos estes anos. Saber que me apoiavam foi essencial para não perder o foco.

Agradeço também ao IPCB e à Escola Superior Agrária pela formação académica fornecida ao longo dos anos, essencial para a concretização deste relatório.

Um agradecimento especial à Doutora Maria Valme Moreno, pelo acompanhamento constante e apoio além do contexto académico. Foi como uma segunda mãe para mim, o que facilitou o percurso.

Este relatório de estágio é o reflexo do trabalho desenvolvido e do apoio de muitas pessoas. A todos, o meu sincero agradecimento.

O estágio foi realizado no âmbito do programa Erasmus+ que apoia financeiramente a mobilidade de estudantes para diversas instituições europeias. Este financiamento contribui para despesas associadas à estadia e à formação no estrangeiro. O estágio decorreu na Universidad de Cádiz, em Espanha, apoiado pelo programa Erasmus+.

Resumo

O presente relatório pretende descrever a influência da madeira de carvalho nos vinhos, utilizando métodos diversos para o poder antioxidante e avaliação dos seus compostos fenólicos. Foram usados os seguintes métodos: IPT, IFC para os fenóis e FRAP, ABTS e DPPH para a atividade antioxidante e UHPLC para os compostos fenólicos, com recurso a análises de dados para perceber como diferentes fatores na madeira iriam influenciar e mudar as características do produto final.

Verificou-se como diferentes fatores, o tipo de madeira, o nível de tosta, o vinho utilizado e o tempo de envelhecimento, podem alterar os resultados. Realizaram-se 3 passos que consistiram numa análise dos dados utilizados, uma correlação entre os diferentes métodos e análises Cluster e Fatorial. Nesta última análise foram precisas análises separadas e uma em conjunto dos métodos e compostos para perceber também se haveria diferenças significativas entre eles. Os resultados mostraram diferenças claras entre os vinhos, com o PX a apresentar valores mais elevados de IPT e maior resposta no ABTS, enquanto o Oloroso apresentou maior atividade no IFC, FRAP e DPPH, refletindo diferenças na matriz vínica e na eficiência de extração de compostos fenólicos da madeira. O UHPLC confirmou maior libertação de compostos fenólicos pela *Quercus robur* e evidenciou a influência da tosta na formação de compostos aromáticos como vanilina e furfurais.

Em conjunto, estas análises proporcionam uma compreensão integrada de como a madeira influencia a estabilidade química e a potencial qualidade final do vinho, destacando a importância da seleção da madeira, do nível de tosta e do tempo de envelhecimento na otimização do produto.

Palavras-chave

Atividade antioxidante, Compostos fenólicos, Madeira de carvalho, Vinho

Abstract

This report aims to describe the influence of oak wood on wines, using various methods to assess antioxidant power and evaluate their phenolic compounds. The following methods were used: IPT, IFC for phenols and FRAP, ABTS, and DPPH for antioxidant activity, and UHPLC for phenolic compounds, along with data analyses to understand how distinct factors in the wood would influence and change the characteristics of the final product.

It was observed how distinct factors: the type of wood, the toasting level, the wine used, and the aging time can alter the results. Three steps were conducted, consisting of an analysis of the data used, a correlation between the different methods, and Cluster and Factorial analyses. In the latter analysis, separate analyses and a combined analysis of the methods and compounds were required to also determine whether there would be significant differences between them. The results showed clear differences between the wines, with the PX exhibiting higher IPT values and a stronger response in ABTS, while the Oloroso showed greater activity in IFC, FRAP, and DPPH, reflecting differences in the wine matrix and the efficiency of phenolic compound extraction from the wood. UHPLC confirmed a higher release of phenolic compounds by *Quercus robur* and highlighted the influence of toasting on the formation of aromatic compounds such as vanillin and furfurals.

Together, these analyses provided an integrated understanding of how wood influences the chemical stability and potential final quality of the wine, highlighting the importance of wood selection, toast level, and aging time in optimizing the product.

Keywords

Antioxidant power, phenolic compound, oak wood, wine

Índice geral

1. Introdução 1
2. Influência da madeira na composição do destilado 1
3. Determinação de atividade antioxidante e CFT 4
3.1 Determinação da atividade antioxidante 4
3.1.1 ABTS 4
3.1.2 DPPH 5
3.1.3 FRAP 5
3.2 Teor de Compostos fenólicos 5
4. Material e Métodos 6
4.1 Amostragem 6
4.2 Determinação do Índice de Polifenóis totais e Teor de Compostos fenólicos 7
4.2.1 Índice de Polifenóis Totais 7
4.2.2 Follin-Ciocalteu 7
4.3 Capacidade antioxidante 8
4.3.1 ABTS 8
4.3.2 DPPH 8
4.3.3 FRAP 9
4.4 Análise por Cromatografia Líquida de Ultra-Alto Desempenho 9
4.5 Análise de Dados 10
5. Resultados e Discussão 10
5.1 Análise dados 10
5.1.1 Teor de Polifenóis totais 10
5.1.2 Atividade Antioxidante 12
5.1.3 Identificação e quantificação por Cromatografia Líquida de Ultra-Alto Desempenho 13
5.2 Correlação entre os parâmetros 16
5.3 Análise Cluster e Fatorial 17
6. Conclusão 26
7. Referências Bibliográficas 27
Anexo I – Tabelas 30
Anexo II – Figuras 31

Índice de figuras

Figura 1 - Processo de formação de barris 2

Figura 2 - Compostos de maior interesse libertados pela madeira durante o processo de envelhecimento, comuns no género *Quercus* 3

Figura 3 - Matriz de correlação para os parâmetros avaliados em amostras de extratos de madeiras 16

Figura 4 - Análise cluster realizada ao conjunto de amostras em relação ao poder antioxidante 18

Figura 5 – Gráfico de análise de componentes principais aplicada aos métodos em amostras de extratos de madeira 19

Figura 6 – Análise Cluster realizada ao conjunto de amostras com todos os fatores analisados (poder antioxidante e compostos fenólicos)..... 20

Figura 7 – Gráfico de análise de componentes principais aplicada aos métodos e compostos fenólicos em amostras de extratos de madeira 21

Figura 8 – Análise Cluster realizada ao conjunto de amostras em relação aos compostos fenólicos. 23

Figura 9 - Gráfico de análise de componentes principais aplicada aos compostos fenólicos em amostras de extratos de madeira 24

Figura 10 – Análise Cluster aplicada a todas as variáveis utilizadas 25

Lista de tabelas

Tabela 1 - Caracterização das amostras utilizadas neste estudo …… 6

Tabela 2 - Teor de polifenóis totais na madeira (Media e desvio padrão) de cada amostra . 10

Tabela 3 - Atividade antioxidante na madeira (Media e desvio padrão) de cada amostra … 12

Tabela 4 – Concentração dos compostos fenólicos encontrados na madeira (Media e desvio padrão) de cada amostra através de UHPLC (ácido gálico; 5-hidroximetilfurfural; furfural; protocatequina e vanilina) …… 14

Tabela 5 – Concentração dos compostos fenólicos encontrados na madeira (Media e desvio padrão) de cada amostra através de UHPLC (siringaldeído; ácido elágico; catequina; ácido cafeico e ácido sinápico) …… 14

Tabela 6 – Concentração dos compostos fenólicos encontrados na madeira (Media e desvio padrão) de cada amostra através de UHPLC (ácido siringico; epigalocatequina; epicatequina e coniferaldeído) …… 15

Lista de abreviaturas, siglas e acrónimos

QR TM PX 12 meses – *q.robur* , tostado médio , Pedro Ximénez

QR TM OLO 12 meses- *q.robur*, tostado médio , oloroso

QR TM – *q.robur* , tostado médio

QA TM PX 12 meses- *q.alba*, tostado médio , Pedro Ximénez

QA TM OLO 12 meses – *q.alba*, tostado médio , oloroso

QA TM- *q.alba*, tostado médio

QA TF PX 12 meses- *q.alba*, tostado forte, Pedro Ximénez

QA TF OLO 12 meses – *q.alba*, tostado forte, oloroso

QA FT- *q.alba* , tostado forte

QA TM PX 60 meses- *q.alba*, tostado médio , Pedro Ximénez

QA TM OLO 60 meses – *q.alba* , tostado médio , oloroso

CF – compostos fenólicos

CA- compostos aromáticos

ABTS- 2,2´-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico)

DPPH- 2,2-difenil-1-picrilhidrazil

FRAP- Ferric Reducing Antioxidant Power

TPTZ- 2,4,6-tris(2-piridil)-s-triazina

UHPLC- Ultra-High Performance Liquid Chromatography

1. Introdução

A madeira é um material bastante conhecido pela sua robustez e pelo seu papel no aumento da durabilidade e na prevenção da decomposição fúngica. A madeira é por isso muito utilizada na produção de vinhos envelhecidos em barris, uma prática profundamente tradicional e enraizada até aos dias de hoje (Nikolantonaki *et al*., 2019; Aung *et al*., 2020; Gammacurta *et al*., 2020; Winstel *et al*., 2020).

Muitos dos destilados envelhecidos em barris de madeira, demonstram em si a presença de compostos voláteis extraídos da madeira durante esse processo de envelhecimento. Essas trocas, durante o processo de envelhecimento, são condicionadas por diferentes fatores, como por exemplo, a origem botânica da madeira, o volume do barril utilizado, o método de fabrico e ainda o uso anterior do próprio barril.

A complexidade dos vinhos envelhecidos vai aumentando de acordo com o período de contacto com a madeira. O frescor e fruticidade da matéria-prima vão sendo substituídos por aromas de baunilha, torrado e frutado, que estão positivamente correlacionados com a qualidade da bebida (Rodríguez Dodero *et al*., 2010; Tsakiris *et al*., 2014).

O relatório apresentado teve como lugar de trabalho a Univerdidad de Cádis, localizada em Puerto Real, Cádis, Espanha. realizado no âmbito da licenciatura em Biotecnologia Alimentar. A pesquisa foi conduzida nas instalações do Departamento de Química Analítica da Faculdade de Ciências, que dispõe de laboratórios adequadamente equipados para o desenvolvimento das atividades experimentais.

O presente trabalho tem como objetivo caracterizar a atividade antioxidante e o conteúdo fenólico de amostras de madeira de carvalho (*Quercus robur* e *Quercus alba*) utilizadas em envelhecimento de vinhos, investigando a transferência potencial de compostos da madeira para o vinho e a sua relevância para um possível estudo na estabilidade e diferenciação sensorial do produto final. Para isso, foram avaliados diferentes métodos analíticos, nomeadamente, ABTS (2,2´-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico)), DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) e FRAP (Poder Antioxidante Redutor Férrico), aplicados a extratos de madeira com potencial uso enológico, de forma a determinar o seu teor de compostos fenólicos e respetiva capacidade antioxidante.

2. Influência da madeira na composição do destilado

Desde os tempos antigos que os barris têm armazenado e envelhecido não só vinhos, mas também outros alimentos líquidos. A madeira de carvalho e castanheiro

são as mais utilizadas nesta tarefa por conta da sua resistência, flexibilidade e impermeabilidade relativa. O envelhecimento de destilados e vinhos em barris de madeira, especialmente carvalho (*Quercus* spp.), é considerada uma prática enológica tradicional e ancestral que continua, nos dias de hoje, a desempenhar um papel fundamental na qualidade do produto final (Del Alamo-Sanza & Nevares, 2018).

O papel da madeira no processo pode ser dividido em 3 fatores, haver a transferência de compostos responsáveis pelo aroma e adstringência, a interação desses compostos extraídos com os do destilado (alterando as propriedades químicas e sensoriais) e ainda a oxidação de certos compostos por ação do oxigénio atmosférico, passado pelos poros da própria madeira (DeConinck *et al.*, 2006; Cerdán & Ancín-Azpilicueta, 2006; Jordão *et al.*, 2008; Izquierdo-Cañas *et al.*, 2016).

A madeira de carvalho é valorizada pela sua robustez estrutural, bem como pela sua capacidade de transferir compostos voláteis e fenólicos para o líquido, contribuindo para a complexidade aromática, equilíbrio e estabilidade oxidativa do produto final.

Durante a produção dos barris, a madeira é submetida a tratamentos térmicos, como a queima, que promovem a degradação de componentes estruturais como hemiceluloses e lenhina. Este processo dá origem a compostos como furfural, 5 hidroximetilfurfural, vanilina, siringaldeido e ácidos fenólicos, que são transferidos gradualmente para a bebida durante o período de envelhecimento (Tarko, Krankowski, & Duda-Chodak, 2023; Cernîsev, 2017; Marchal *et al.*, 2011). Estes compostos são responsáveis por aromas característicos como baunilha, tostado, especiarias e notas doces, que influenciam significativamente o perfil sensorial de vinhos e destilados. Adicionalmente, afetam a estrutura, acidez e adstringência do produto (Spaho *et al.*, 2019; Eliseev *et al.*, 2021). Os compostos aromáticos principais encontrados nos destilados são os aldeídos, álcoois e ésteres, sendo afetados pela variedade das uvas.

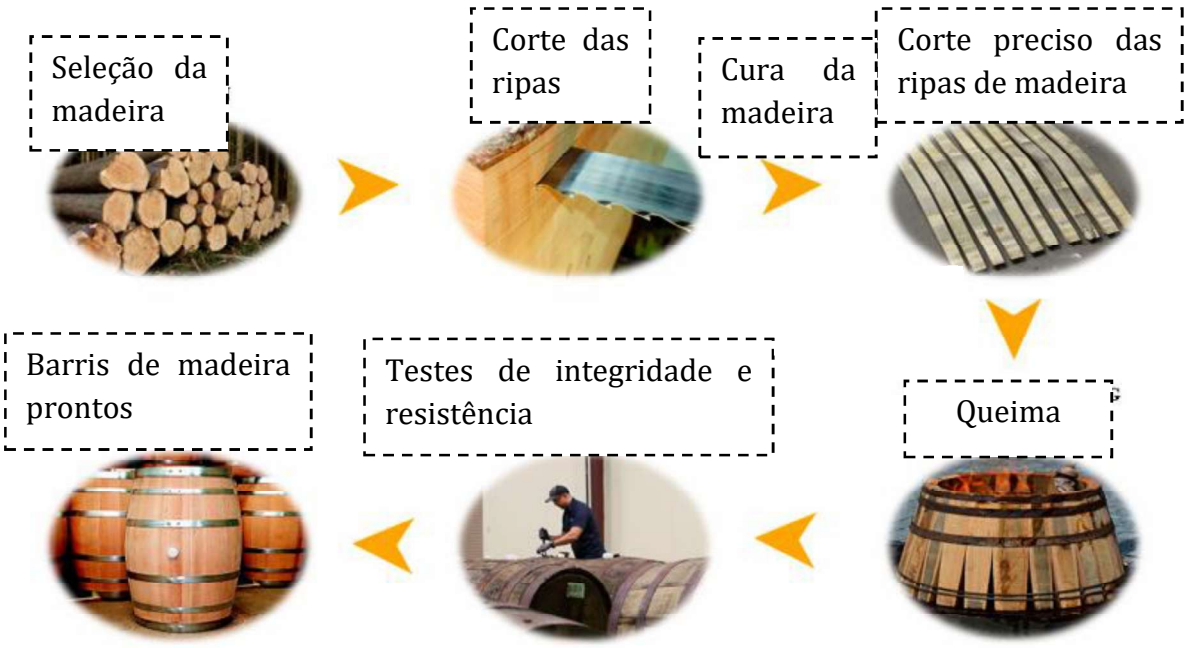


Figura 1 — Processo de formação de barris (adaptado de Carpena *et al.*, 2020).

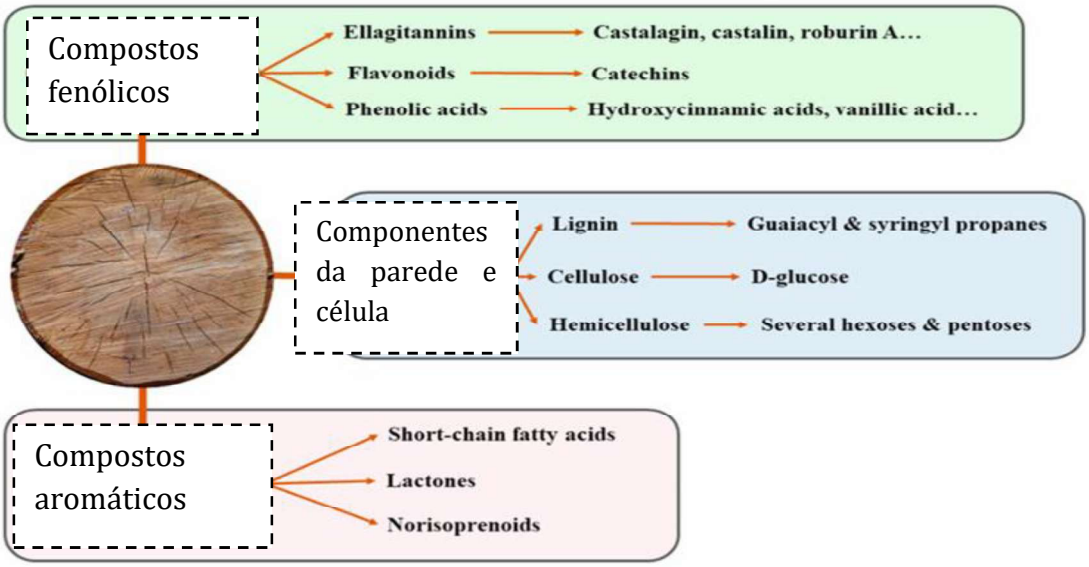


Figura 2 — Compostos de maior interesse libertados pela madeira durante o processo de envelhecimento, comuns no género *Quercus* (adaptado de Carpena *et al*., 2020)

O tratamento térmico dos barris, e consequente degradação da lenhina, resulta numa transferência de certos compostos para o destilado. No caso da vanilina e do siringaldeído aparecem nos destilados pela degradação da lenhina e o ácido vanílico e siríngico são os produtos da oxidação desses mesmos aldeídos (Spaho *et al*., 2019). Ainda se podem formar outros ácidos como o gálico e elágico pela hidrólise de taninos (Tarko *et al*., 2023; Cernîsev, 2017; Viriot *et al*., 1993). O furfural e os seus derivados vão resultar da degradação da hemicelulose, no entanto eles podem ser encontrados nos vinhos sem envelhecimento por causa de processos de destilação (Briones *et al*., 2012; Spaho, 2017).

Todas as reações são fundamentais para a formação e libertação de compostos fenólicos e aromáticos, que se combinarão com polifenóis e terpenos presentes no vinho, contribuindo para a complexidade dos seus aromas e sabores (Black *et al*., 2015; Comuzzo & Battistutta, 2018).

Além do efeito sensorial, a madeira influência a composição polifenólica da bebida. Os polifenóis são compostos bioativos de elevada importância, não só pela sua ação antioxidante, mas também pela sua influência na cor, estrutura e longevidade do vinho. A quantidade e o tipo de fenóis presentes no produto final dependem de diversos fatores, como a espécie de carvalho utilizada (*Quercus alba, Quercus robur, Quercus petraea*), o grau de tosta aplicada ao barril, o tempo de envelhecimento e as condições de armazenamento (Gammacurta *et al*., 2020; De Simon *et al*., 2003).

Os ácidos gálico e elágico têm um papel fundamental no perfil aromático do destilado, podendo a sua presença indicar o envelhecimento nos barris, fornecendo

ainda informação como a viscosidade e/ou a textura particularmente o ácido gálico (Spaho *et al*., 2019).

A avaliação da composição fenólica e da atividade antioxidante em vinhos e destilados envelhecidos é, portanto, essencial para compreender os efeitos do contato com a madeira. Métodos analíticos como ABTS, DPPH, FRAP e Folin-Ciocalteu permitem quantificar a capacidade antioxidante e o teor de compostos fenólicos presentes, fornecendo indicadores úteis da qualidade, estabilidade oxidativa e potencial de conservação do produto (Singleton & Rossi, 1965; Prior, Wu, & Schaich, 2005; Bai *et al*., 2018). O ensaio ABTS avalia a neutralização de radicais catiónicos, enquanto o DPPH mede a atividade sequestradora de radicais livres. O método FRAP determina o poder redutor férrico e o Folin-Ciocalteu quantifica o conteúdo fenólico total, servindo como referência para caracterizar a complexidade química e o perfil antioxidante.

3. Determinação de atividade antioxidante e teor de compostos fenólicos totais.

3.1 Determinação da atividade antioxidante

3.1.1 ABTS

O método ABTS (2,2´-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico)) é amplamente utilizado para a quantificação da capacidade antioxidante de amostras, devido à formação do radical catiónico $ABTS^{+}$. Este radical é formado através da oxidação do ABTS com um agente apropriado, formando uma cor azul-esverdeada intensa, cuja intensidade de absorbância é medida por espectrofotometria (Zhao *et al*., 2024).

A presença de compostos fenólicos ou outros dadores de eletrões reduz o $ABTS^{+}$ à sua forma incolor, permitindo a avaliação da capacidade antioxidante por meio da diminuição da absorbância. Este método destaca-se pela elevada estabilidade do radical $ABTS^{+}$ e pela capacidade de avaliar compostos hidrossolúveis e lipossolúveis (Pinkernell Nowack, Gallard, & Von Gunten, 2000). No entanto, a reação com outros componentes pode levar a uma subestimação dos valores reais de oxidantes (Chon Salhi & Von Gunten, 2015; Walpen & Von Gunten, 2022).

Ensaios comparativos demonstraram a eficácia do ABTS na análise de agentes oxidantes como peróxido de hidrogénio (Bader Sturzenegger & Hoigné, 1988), permanganato (Song *et al*., 2021), hipoclorito de sódio (Kumar & Margerum, 1987) e ferro (Yoon & Von Gunten, 2005).

3.1.2 DPPH

O ensaio DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) avalia a capacidade dos antioxidantes em doar átomos de hidrogénio ou eletrões ao radical DPPH, promovendo a sua redução e consequente perda de cor. O radical apresenta uma coloração roxa intensa e um pico de absorbância a 515 nm. A diminuição da absorbância, após um período de incubação padronizado (aproximadamente 30 minutos), permite calcular a percentagem de inibição da atividade radicalar (Bosso *et al*., 2020; Rapa Giannetti & Boccacci Mariani, 2022).

Este método destaca-se pela sua simplicidade e rapidez, sem necessidade de instrumentação sofisticada. No entanto, a sua eficácia pode variar consoante a matriz e do tempo de reação, comprometendo a comparação entre diferentes amostras (Rácz *et al*., 2015). Tal como o ABTS, o DPPH permite avaliar a capacidade antioxidante global, embora não reflita todas as reações que ocorrem *in vivo*.

3.1.3 FRAP

O ensaio FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) quantifica a capacidade de redução de iões férricos (Fe^{3+}) a iões ferrosos (Fe^{2+}), na presença do reagente TPTZ (2,4,6-tris(2-piridil)-s-triazina). A formação do complexo Fe^{2+}- TPTZ, de coloração azul, é quantificada por espectrofotometria a 593 nm.

Este método fornece uma estimativa direta do poder redutor da amostra, correlacionando-se frequentemente com o teor de compostos fenólicos e outras moléculas redutoras. A simplicidade, reprodutibilidade e sensibilidade fazem do FRAP uma ferramenta útil na análise de produtos enológicos e extratos vegetais (Porgali & Büyüktuncel, 2012; Tuberoso *et al*., 2017).

3.2 Teor de Compostos fenólicos

A determinação do teor total de compostos fenólicos foi realizada com o reagente de Folin-Ciocalteu, método baseado numa reação redox entre os compostos fenólicos e o complexo fosfomolibdato-fosfotungstato. Esta reação forma cromóforos azulados, cuja intensidade pode ser medida a 750 nm.

Apesar de não ser específico apenas para fenóis (também reage com outros redutores), o método é amplamente utilizado por sua simplicidade, baixo custo e aplicabilidade em diferentes matrizes. O teor total de compostos fenólicos é geralmente expresso em equivalentes de ácido gálico, com base numa curva de

calibração (Singleton & Rossi, 1965; Marjoni Afrinaldi & Novita, 2015; Prior *et al*., 2005).

Este método é particularmente relevante na área enológica, uma vez que os compostos fenólicos são cruciais para a estabilidade oxidativa, perfil sensorial e capacidade antioxidante dos vinhos.

4. Material e Métodos

4.1 Amostragem

Para este trabalho foram utilizadas 11 amostras de extratos de madeira de carvalho (*Quercus* spp.) em diferentes condições de ensaio. Foram incluídas amostras de *Quercus alba* e *Quercus robur*, submetidas a níveis distintos de tosta (média e forte), envelhecidas com vinhos Pedro Ximenez e Oloroso durante períodos de 12 e 60 meses, bem como amostras sem envelhecimento. Esta amostragem permitiu comparar o impacto da espécie de carvalho, do grau de tosta, do tipo de vinho e do tempo de envelhecimento, compreendendo quais destes fatores exercem maior influência na transferência de compostos e, consequentemente, na sua qualidade final.

Tabela 1- Caracterização das amostras utilizadas neste estudo

AMOSTRA			
Tipo de madeira	Tipo de tosta	Tipo de vinho	Duração do envelhecimento
QA	TF	PX	12
QA	TF	OL	12
QA	TF		0
QA	TM	PX	12
QA	TM	OL	12
QA	TM		0
QA	TM	PX	60
QA	TM	OL	60
QR	TM	PX	12
QR	TM	OL	12
QR	TM		0

QA- *Quercus alba*; QR- *Quercus robur;* PX- Pedro Ximenez; OL- oloroso; TF- tosta forte; TM- tosta média

Para as amostras serem utilizadas na realização dos diferentes métodos, cada uma delas teve de passar por um processo de moagem, moinho ultracentrifugo, até chegarem ao ponto de pó (aproximadamente 0,5 mm). Foram então pesados 3 g de amostra e submetidos a dois ciclos de extração com uma solução de etanol: água (50:50 v/v).

No primeiro ciclo utilizou-se 30 mL da solução e no segundo 10 mL. Ambos os ciclos foram inicialmente realizados num banho de ultrassons a 60 °C durante 15 minutos. Depois disso passaram para uma centrifugação a 2000 rpm durante 5 minutos, que se separou a parte sólida da parte líquida da amostra. Feito isso os extratos líquidos foram combinados, filtrados com um filtro de 0,45 μm e armazenados e a parte sólida descartada.

4.2 Determinação do Índice de Polifenóis totais e Teor de Compostos fenólicos

4.2.1 Índice de Polifenóis totais

Para a determinação do teor de compostos fenólicos totais (TFC) pelo método do Índice de Polifenóis totais com recurso ao UV-Vis (ultravioleta-visível), usou-se um comprimento de onde de 280 nm para a referida medição (Guerrero-Chanivet *et al*., 2020). Cada amostra teve 3 replicas de ensaio e cada uma dessas, efetuou-se 3 leituras. Este procedimento foi feito para todos os processos.

As diluições utilizadas foram as seguintes:

- 0,75/100 mL para as amostras QR TM PX 12 meses e QR TM;
- 1,0/50 mL para as amostras QA TM PX 12 meses, QA TM OLO 60 meses e QA TM PX 60 meses;
- 1,0/100 mL para as amostras QR TM OLO 12 meses, QA TM OLO 12 meses, QA TM, QA TF PX 12 meses, QA TF OLO 12 meses e QATF.

4.2.2 Follin-Ciocalteu

Na realização da determinação TFC pelo método Folin-Ciocalteu usou-se espectrofotométrico com recurso ao UV-Vis. Neste método todas as amostras usaram uma diluição 0,75/5 mL (v/v), de maneira a ter valores válidos. Foi necessário 250 μL de cada amostra com 1,25 mL do reagente Folin-Ciocalteu, 12,5 mL de água ultrapura e 5 mL de uma solução de carbonato de sódio. Para ocorrer a reação as amostras tiveram de ser mantidas no escuro durante 30 minutos, passado esse tempo mediram-se a 750 nm (Valcárcel *et al*., 2022).

Convém referir que este método não é totalmente específico para compostos fenólicos. Outros compostos redutores (como ácido ascórbico e alguns açúcares) podem também reagir e interferir na medição, no entanto é um método amplamente utilizado para este fim.

Os resultados de ambos os métodos foram expressos em equivalentes de ácido gálico (mg GAE/L).

4.3 Capacidade antioxidante

4.3.1 ABTS

Neste método, a solução radical $ABTS^+$ foi preparada com persulfato de potássio e a solução diluída 1:90 mL em etanol absoluto, deixadas a repousar durante 24 horas no escuro. Para a solução, necessitou-se de 7 mM de ABTS , logo pesaram-se 0,384 g da solução de ABTS e de uma solução $K_2S_2O_8$ em H_2O a 2,45 mM, pesaram-se 0,0662 g da mesma.

Passadas as 24 horas, a solução diluída tinha de apresentar uma absorbância de 0,7 para ser utilizada, devido ao padrão de calibração com o Trolox.

Após a validação desta etapa, foram adicionados 2850 μL da mesma solução a 150 μL de cada amostra diluída. As diluições utilizadas foram as seguintes:

- 0,75/100 mL para as amostras QR TM PX 12 meses e QR TM**;**
- 1,0/100 mL para as amostras QR TM OLO 12 meses e QA TM OLO 12 meses**;**
- 1,7/100 mL para as amostras QA TF OLO 12 meses**;**
- 1,0/50 mL para as amostras QA TM**,** QA TF PX 12 meses**,** QA TM PX 12 meses**,** QA TF, QA TM OLO 60 meses e QA TM PX 60 meses**.**

Em seguida, as amostras foram mantidas no escuro por 6 minutos, para posterior medição da absorbância a 734 nm**.** A percentagem de inibição da absorbância a 734 nm é calculada e representada graficamente em função da concentração de antioxidantes e de Trolox .

4.3.2 DPPH

Neste caso, as amostras diluídas foram as mesmas utilizadas no método ABTS. No entanto, para se chegar a essa definição, foi necessário realizar um ensaio preliminar com diferentes diluições, uma vez que, neste método, é essencial selecionar a menor diluição possível que permita manter o radical livre estável, sem sofrer alteração. Isso significa que a cor da amostra não poderia apresentar tonalidade amarelada, devendo-se escolher a diluição mais baixa possível que evitasse essa interferência.

Feito esse ensaio , procedeu-se à preparação de uma solução mãe de DPPH com uma concentração de 10^{-3} M em etanol absoluto, sendo então pesados 39,4 mg de DPPH. A partir dessa solução mãe, foi feita uma diluída com concentração de 50 x 10^{-6} M, onde por isso, foram retirados 5 mL da solução mãe para um balão de 100 mL e perfeito com etanol para chegar à concentração desejada (Carmona-Jiménez *et al*., 2014).

Para a medição, utilizaram-se garrafas de topázio de 8 mL onde se colocaram 3300 uL da solução diluída e 200 μL de cada amostra. Feito isso esperou-se 4 horas com as amostras no escuro para depois serem medidas a 515 nm, uma vez que é neste comprimento de onda que o radical DPPH apresenta o pico máximo de absorção no espectro visível.

É importante referir que neste método e no anterior, foram realizados brancos reativos, constituídos por água ultrapura e pela solução reagente preparada em cada caso. Nestes dois métodos, o princípio de interpretação dos resultados difere dos restantes, pois quanto maior for a diferença entre a absorbância da amostra e a do branco, maior será o seu poder antioxidante. Consequentemente, valores mais próximos do branco indicam menor atividade antioxidante.

4.3.3 FRAP

Neste procedimento foi preciso fazer uma solução tampão a 300 mM, com um pH de 3,6 a partir de NaOH, acido acético e água ultrapura numa proporção de 10 para 1 de TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-5triazina) a 10 mM em 40 mM de HCl para 1 de uma solução a 20 mM de FeCl3 6H2O. Para estar então correta , pesaram-se 0,0312 g de TPTZ, 0,054 g de $FeCl_3$ e 323 μL de HCl a 38%, para termos a proporção de 10:1:1 (neste caso foram 100 mL de tampão, 10 mL de TPTZ e 10 mL de $FeCl_3$).

Após a validação desta etapa, foram adicionados 300 μL de cada amostra diluída e 2250 μL da solução preparada de FRAP. As diluições utilizadas foram as seguintes:

- 0,75/100 mL para as amostras QR TM PX 12 meses e QR TM**;**
- 1,0/50 mL para as amostras QA TM PX 12 meses;
- 1,0/100 mL para as amostras QR TM OLO 12 meses, QA TM OLO 12 meses, QA TM, QA TF PX 12 meses, QA TF OLO 12 meses, QA TF, QA TM OLO 60 meses e QA TM PX 60 meses**;**

Em seguida, as amostras foram mantidas no escuro por 4 minutos, para posterior medição da absorbância a 593 nm**.**

4.4 Análise por Cromatografia Líquida de Ultra-Alto Desempenho

Para identificação dos compostos nas diferentes amostras foi usada Cromatografia Líquida de Ultra-Alto Desempenho (UHPLC). Para tal análise neste equipamento as

amostras foram filtradas, com filtro de 0,2 µm para um melhor resultado. O equipamento utilizado foi um Waters Acquity UPLC equipado com um detetor íodos (DAD) e uma coluna Acquity UPLC C18 BEH (Valcárcel et al., 2022).

Este método mostrou uma série de picos responsáveis pelos compostos fenólicos, que foram verificados para se conseguir encontrar cada composto pelo seu tempo de retenção e pelo formato do pico, o mais semelhante ao de controlo de cada composto. Teve-se em atenção também o comprimento de onda a que normalmente cada composto seria esperado, sendo isso 280 nm para a maioria deles, retirando o siringaldeido, ácido cafeico, ácido sinápico e coniferaldeido encontrados a 320 nm e o ácido elágico encontrado a 255 nm.

Feito esse passo de os identificar, mediram-se as áreas dos picos importantes, que com a ajuda da reta de calibração correspondente a cada composto (Tabela A1.1, Anexos I), foram levados então ao programa Statgraphics para análises posteriores.

4.5 Análise de dados

Para esta análise foi necessário o uso de Excel, onde para cada método se efetuou uma reta de calibração usando padrões em diferentes concentrações (Figura A2.1-A2.5, Anexos II).

Tendo as retas de calibração, foram colocadas as concentrações de cada amostra e respetivas réplicas, que foram então usadas para a média e desvio padrão (Tabela 4, 5 e 6). No caso do DPPH e ABTS, o cálculo foi diferente usando uma equação já predefinida. Os resultados foram descritos como média±desvio padrão para demonstrar o ponto central dos dados e a sua homogeneidade.

Além disso, ainda foi utilizado o programa Statgraphics 19-X64 (Statgraphics Technologies, Inc., The Plains, VA, USA) para as análises de Cluster e fatorial (Guerrero-Chanivet *et al*., 2024).

5. Resultados e Discussão

5.1 Análise de dados

5.1.1 Teor de polifenóis totais

Na análise de dados feita (Tabela 2 e 3), observa-se uma grande variabilidade para cada amostra com as respetivas replicas, revelando heterogeneidade nas amostras. As amostras incluídas nas tabelas pertencem a um conjunto mais vasto de amostras.

Tabela 2- Teor de polifenóis totais na madeira (Media e desvio padrão) de cada amostra

Madeira	Tostado	Vinho	Meses	IPT (mg GAE/L)	Follin-Ciocalteu (mg GAE/L)
QA	TM		0	1176,7±12,3	1227,8±14,0
QA	TM	PX	12	678,8±3,6	706,9±4,8
QA	TM	OL	12	1193,4±9,9	1410,2±9,1
QA	TF		0	1267,6±5,1	1047,6±14,1
QA	TF	PX	12	1229,9±14,2	1153,0±9,5
QA	TF	OL	12	828,5±5,7	1222,8±16,4
QR	TM		0	2573,8±23,9	2414,3±44,6
QR	TM	PX	12	2134,1±23,3	2101,8±19,0
QR	TM	OL	12	1105,6±4,3	1632,3±48,7
QA	TM	OL	60	952,6±10,4	862,8±1,8
QA	TM	PX	60	985,7±7,3	766,1±6,8

QA- *Quercus alba*; QR- *Quercus robur*; TM- tosta média; TF- tosta forte; PX- Pedro Ximenez; OL- Oloroso

Relativamente ao método de IPT (Tabela 2), em relação ao desvio padrão, verificou-se que, entre as amostras QATM, a QATM sem envelhecimento foi a que apresentou maior heterogeneidade. No grupo das amostras QATF, a amostra QATFOL foi a que apresentou maior variabilidade. No caso das QRTM, a amostra QRTM sem envelhecimento foi a mais heterogénea. Por fim, entre as amostras envelhecidas durante 60 meses, a QATMOL foi a que apresentou uma maior heterogeneidade.

No grupo das amostras QATM pode-se observar um aumento das concentrações para as amostras com Oloroso, possivelmente por ser um vinho oxidativo e rico em compostos aromáticos e aldeídos, favorecendo as reações de oxidação e condensação com os compostos fenólicos provenientes da madeira (Valcárcel-Muñoz et al., 2022).

Em termos de concentração de polifenóis totais, as amostras sem qualquer tempo de envelhecimento apresentam os valores mais elevados. Em comparação com amostras com outros vinhos , as de Pedro Ximenez são as que apresentam um índice mais elevado na maioria das amostras. Tal acontece pela sua elevada concentração de polifenóis (Chaves *et al*., 2007; Ruiz *et al*., 2010; Herrera *et a*l., 2020).

No método de IFC, a maior heterogeneidade foi observada nas amostras QATM, QATFOL12, QRTMOL12 e QATMPX60. As amostras com Oloroso foram as que apresentaram os valores mais elevados relativo aos compostos fenólicos na madeira QA, ao passo que na madeira QR ocorreu o efeito inverso, o que prova que diferentes tipos de madeira podem influenciar o comportamento fenólico do vinho (García Moreno *et al*., 2021).

De modo geral, embora os métodos IPT e IFC estejam relacionados, o IPT é mais sensível aos compostos aromáticos e aos taninos, o que explica como é que as amostras de Pedro Ximenez apresentam valores mais elevados, devido aos seus compostos fenólicos complexos (Valcárcel-Muñoz *et al*., 2022). O IFC reflete o poder redutor total, por conseguinte, as amostras de Oloroso apresentam os valores mais elevados, devido à presença de fenóis oxidados e de outros compostos redutores, que serão formados durante o processo de envelhecimento (Nunes *et al*., 2017; LaquiEstaña *et a*l., 2018).

5.1.2 Atividade antioxidante

Tabela 3 - Atividade antioxidante dos extratos de madeira (Media e desvio padrão) das diferentes amostras analisadas

Madeira	Tostado	Vinho	Meses	FRAP (mg GAE/L)	DPPH (%inibição)	ABTS (%inibição)
QA	TM		0	545,0±6,7	62,9±1,0	57,5±0,7
QA	TM	PX	12	315,8±0,4	11,6±0,2	15,4±0,4
QA	TM	OL	12	737,2±3,1	30,1±1,0	18,2±0,3
QA	TF		0	598,2±4,4	47,1±0,3	32,8±1.0
QA	TF	PX	12	548,2±4,0	64,2±0,4	46.5±0,4
QA	TF	OL	12	733,8±0,9	47,9±0,1	35.7±0,4
QR	TM		0	972,0±0,6	32,8±0,3	19,8±0,5
QR	TM	PX	12	851,9±8,9	29,8±2,0	21,6±0,5
QR	TM	OL	12	618,1±9,4	22,8±0,2	11,3±0,2
QA	TM	OL	60	556,0±4,4	28,3±1,3	20,5±0,7
QA	TM	PX	60	521,4±0,9	20,4±0,9	30,6±0,6

QA- *Quercus alba*; QR- *Quercus robur*; TM- tosta média; TF- tosta forte; PX- Pedro Ximenez; OL- Oloroso

No método FRAP, as amostras revelaram-se mais homogéneas, no entanto as que apresentaram maiores diferenças foram as QATM sem envelhecimento, QATF sem envelhecimento, QRTMOL12 e QATMOL60. Em termos de concentrações verifica-se a mesma variação que no IFC, pois ambos são sensíveis à capacidade redutora da amostra. No processo de envelhecimento do Oloroso, os compostos fenólicos oxidados vão aumentar a capacidade redutora da amostra, sendo por isso detetada nos dois métodos (Danilewicz, 2015). No caso do vinho Pedro Ximenez, o processo oxidativo vai permitir adquirir uma maior complexidade aromática e de polifenóis como resultado de diferentes modificações na composição química, quer através de reações nas

condições de armazenamento quer através de interações com a madeira (Ortega *et al*., 2008).

No método DPPH, as concentrações de percentagem de inibição verificaram-se mais elevadas nas amostras sem envelhecimento, indo ao encontro de que os compostos fenólicos proveem das madeiras e que se encontram livres, não oxidados e por isso com uma maior reatividade. Estes valores vão ao encontro ao estudo realizado por Wang *et al* (2022) onde é observado que durante o processo de envelhecimento, a oxidação e polimerização dos compostos vai resultar em estruturas mais complexas e menos ativas com o radical DPPH, comportamento característico de vinhos envelhecidos.

Por fim no método ABTS, as concentrações de percentagem de inibição revelaram-se mais elevadas em amostras envelhecidas com o vinho Pedro Ximenez. Os compostos presentes no vinho possuem capacidade redutora significativa e contribuem para a neutralização do radical $ABTS^{+}$, podendo explicar assim o aumento aparente da atividade antioxidante neste método (Andreu-García *et al*., 2025; Wang *et al*., 2022). Além disso, o método ABTS é mais abrangente do que o DPPH, sendo sensível tanto a compostos fenólicos como a antioxidantes não fenólicos (Danilewicz, 2015).

5.1.3 Identificação e quantificação por cromatografia de Ultra-Alto Desempenho

Na Tabelas 4, 5 e 6 está representado a média e desvio padrão de vários compostos fenólicos analisados nas amostras de madeira. Em comparação com um estudo feito por Guerrero-Chanivet *et al* (2023) pode-se retirar alguma informação referente ao furfural e 5-hidroximetilfurfural, vanilina e siringaldeido.

A análise por UHPLC foi realizada num sistema Waters Acquity, em que os limites de quantificação (LQ) são determinados tendo em consideração a validação, a calibração do método e as condições instrumentais. O LQ permite determinar se um composto pode ou não ser considerado para a quantificação. Isto significa que se um composto se encontrar abaixo do limite não será quantificado. Neste caso, o método utilizado não foi suficiente para medir a concentração correta do composto, o que não implica a sua inexistência. Tal pode ser verificado nas tabelas abaixo, nas quais alguns compostos se encontram abaixo do LQ.

Embora não tenha sido calculado o LQ para cada composto no trabalho, a literatura sobre UHPLC para compostos fenólicos refere-se à existência de um limite de quantificação (LQ) abaixo do qual a quantificação se torna pouco confiável (Gültekin-Özgüven *et al*., 2015).

Tabela 4 - Concentração dos compostos fenólicos encontrados na madeira (Media e desvio padrão) de cada amostra através de UHPLC (ácido gálico; 5-hidroximetilfurfural; furfural; protocatequina e vanilina)

CÓDIGO	m	Gálico (mg/L)	5OHmetil (mg/L)	Furfural (mg/L)	Protocat (mg/L)	Vanilina (mg/L)
QATM	0	34,0±0,6	40,3±0,3	80,9±0,5	23,5±0,6	40,3±0,7
QATMPX	12	31,0±0,6	11,6±0,8	19,7±0,4	<LQ	20,7±0,1
QATMOL	12	96,4±0,6	<LQ	13,4±0,1	<LQ	13,5±0,1
QATF	0	10,0±0,0	33,6±0,2	79,8±0,4	<LQ	43,9±0,0
QATFPX	12	39,7±0,1	62,1±0,0	27,7±0,3	<LQ	27,8±0,0
QATFOL	12	66,7±1,8	<LQ	16,3±0,1	<LQ	27,6±0,6
QRTM	0	70,8±35,9	78,3±13,9	214,2±12,5	<LQ	39,9±5,1
QRTMPX	12	136,5±8,7	74,1±38,2	36,0±0,5	<LQ	31,4±0,7
QRTMOL	12	<LQ	<LQ	19,2±0,1	<LQ	29,9±0,8
QATMOL	60	21,6±0,3	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
QATMPX	60	26,2±0,7	43,2±0,9	7,7±0,3	<LQ	<LQ

QA- Quercus alba; QR- Quercus robur; TM- tosta média; TF- tosta forte; PX- Pedro Ximenez; OL- Oloroso; LQ- limite de quantificação; m – meses de envelhecimento

Tabela 5 - Concentração dos compostos fenólicos encontrados na madeira (Media e desvio padrão) de cada amostra através de UHPLC (siringaldeído; ácido elágico; catequina; ácido cafeico e ácido sinápico)

CÓDIGO	m	Siringal (mg/L)	Elágico (mg/L)	Catequina (mg/L)	Cafeico (mg/L)	Sinápico (mg/L)
QATM	0	101,6±0,8	86.1±0,1	204,7±3,2	82,1±0,1	209,2±0,6
QATMPX	12	31,7±0,2	105,1±0,5	301,4±60,5	47,0±0,0	107,8±0,3
QATMOL	12	7,7±0,0	199,5±0,1	398,0±80,1	<LQ	<LQ
QATF	0	167,6±0,3	37,8±0,1	77,5±2,6	64,5±0,1	6,8±0,1
QATFPX	12	50,9±0,2	124,3±0,3	260,2±2,8	46,2±0,3	104,6±0,5
QATFOL	12	49,4±0,5	143,2±0,1	291,9±1,9	<LQ	82,1±0,1
QRTM	0	92,0±1,0	337,3±2,3	<LQ	<LQ	<LQ
QRTMPX	12	38,9±0,2	236,5±0,6	<LQ	<LQ	90,0±0,1
QRTMOL	12	26,4±0,4	188,9±0,1	280,8±1,9	36,4±0,0	91,1±0,4
QATMOL	60	3,6±0,1	98,6±0,1	<LQ	<LQ	<LQ
QATMPX	60	<LQ	104,7±0,2	<LQ	<LQ	<LQ

QA- Quercus alba; QR- Quercus robur; TM- tosta média; TF- tosta forte; PX- Pedro Ximenez; OL- Oloroso; LQ- limite de quantificação; m – meses de envelhecimento

Tabela 6 - Concentração dos compostos fenólicos encontrados na madeira (Media e desvio padrão) de cada amostra através de UHPLC (ácido siringico; epigalocatequina; epicatequina e coniferaldeído)

CÓDIGO	m	Siringico (mg/L)	Epigalocatequina (mg/L)	Epicatequina (mg/L)	Coniferaldeido (mg/L)
QATM	0	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
QATMPX	12	22,1±0,3	<LQ	<LQ	<LQ
QATMOL	12	<LQ	126,5±4,3	<LQ	<LQ
QATF	0	108,6±0,2	<LQ	99,0±1,5	<LQ
QATFPX	12	35,1±0,3	16,5±0,9	<LQ	<LQ
QATFOL	12	26,8±0,2	<LQ	<LQ	<LQ
QRTM	0	101,9±18,0	395,6±259,0	<LQ	70,8±0,6
QRTMPX	12	46,4±0,4	835,7±21,6	<LQ	<LQ
QRTMOL	12	24,3±0,4	<LQ	<LQ	<LQ
QATMOL	60	<LQ	<LQ	35,1±20,2	<LQ
QATMPX	60	11,4±0,5	<LQ	<LQ	<LQ

QA- Quercus alba; QR- Quercus robur; TM- tosta média; TF- tosta forte; PX- Pedro Ximenez; OL- Oloroso; LQ- limite de quantificação; m – meses de envelhecimento

Pode-se observar pelas Tabelas 4, 5 e 6 que vários compostos são encontrados em maiores proporções nas amostras sem qualquer tipo de vinho. Isso deve-se ao fato de que, durante o processo de envelhecimento, o vinho não está apenas em contato com a superfície das barricas, mas na verdade penetra nos poros da madeira e extrai certos compostos dela, diminuindo assim a concentração desses compostos nas madeiras envelhecidas (García-Moreno *et al*., 2021).

Em comparação com o estudo de Guerrero-Chanivet (2023) realizado no âmbito de comparação de apenas os vinhos usados, verifica-se semelhanças em relação ao furfural, onde todas as amostras sem envelhecimento apresentam valores mais elevados tal como no estudo feito. Na comparação dos vinhos, as amostras que contém o PX apresentam maiores valores relativamente as que apresentam o OL o que se comprova também no estudo. Este caso é explicado pelo fato de que o vinho Pedro Ximenez, que penetra nos poros da madeira é muito mais rico em conteúdo fenólico do que outros vinhos Jerez, devido à alta concentração de polifenóis (Chaves *et al*., 2007; Ruiz *et al*., 2010; Herrera *et a*l., 2020).

A vanilina é originada da degradação da lignina da madeira e está intimamente relacionada ao tratamento térmico, o qual os barris são submetidos (Mosedale & Puech, 1998; Canas, 2017). Em relação ao estudo de Guerrero-Chanivet (2023) e os resultados apresentados na Tabela 4 existem concordâncias como o facto de as amostras sem envelhecimento representarem os valores mais elevados e que entre os vinhos o PX apresenta valores mais elevados em relação ao OL em qualquer das amostras.

Por último, o siringaldeido comporta-se de maneira semelhante entre as amostras e o estudo de Guerrero-Chanivet (2023). As amostras sem qualquer tipo de vinho apresentam valores mais elevados em comparação com as restantes amostras, e as amostras de PX12 apresentam valores mais elevados do que as de OL12. Referente as de 60 meses, as de PX tal como no estudo não têm um valor que possa ser quantificado.

A evolução dos compostos encontrados nas amostras é devido ao envelhecimento, vai diminuindo o valor à medida que o tempo de envelhecimento aumenta, quanto maior o tempo de permanência do vinho no barril, maior a extração dos compostos pelo vinho e consequentemente menor quantidade no barril para transferências futuras (Guerrero-Chanivet *et al.*, 2024). No caso do vinho Pedro Ximenez, têm a característica de ter uma difícil penetração nos poros do barril durante todo o processo de envelhecimento, resultando assim numa extração de compostos fenólicos mais baixa quando comparada com outros vinhos, como o Oloroso, criando assim valores mais elevados nas amostras pois permite uma maior disponibilidade dos compostos nos barris (Barquín & Liem, 2019; González-Gordon, 2005).

É preciso ressaltar um valor importante que pode ter acontecido por erro de medição durante a análise feita, pois na amostra QRTMPX12 o valor de desvio padrão é de 38,2, muito superior em comparação com as restantes amostras de PX12 e com outros valores de estudos feitos como por exemplo o de Guerrero-Chanivet (2023).

5.2 Correlação entre os parâmetros analisados

É importante referir que todos os dados utilizados para o programa Stratgraphic foram obtidos a partir de retas de calibração (Figuras A2.1- A2.5, Anexos II).

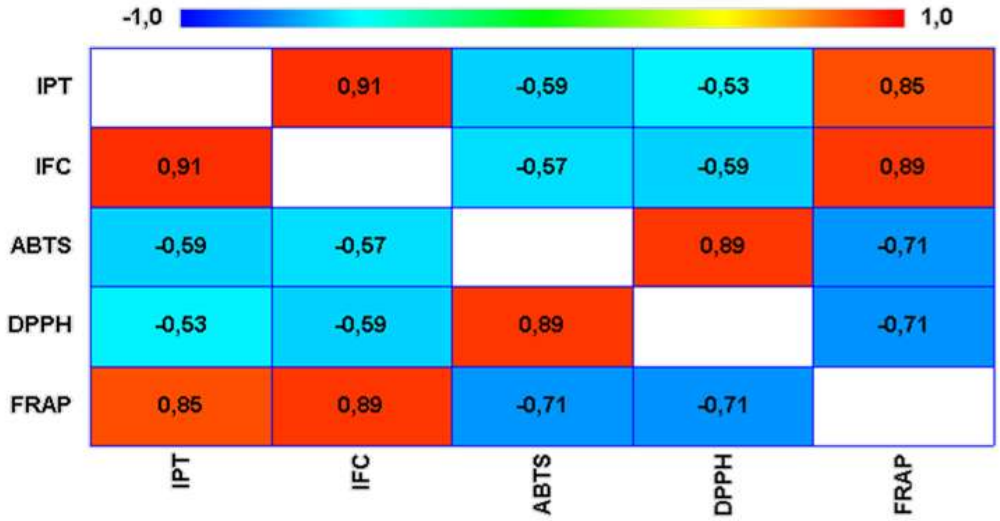


Figura 3 — Matriz de correlação para os parâmetros avaliados em amostras de extratos de madeiras. Legenda: IPT- índice de polifenóis totais; IFC- índice de Follin-Ciocalteu; ABTS -2,2´-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico); DPPH- 2,2-difenil-1-picrilhidrazil; FRAP- Ferric Reducing Antioxidant Power

A matriz de correlação apresentada na Figura 3 mostra como as variáveis IPT, IFC, ABTS, DPPH e FRAP se correlacionam entre si. Observa-se uma correlação positiva entre o IPT e IFC (0,91), indicando que os dois métodos estão alinhados. O mesmo ocorre entre o IPT e FRAP (0,85) e entre o IFC e FRAP (0,89), revelando que estes três métodos estão fortemente correlacionados positivamente.

Por outro lado, IPT apresenta correlações negativas com o ABTS (-0,59) e DPPH (-0,53), sugerindo que valores elevados de IPT estão associados a menores respostas desses métodos analíticos. De maneira semelhante, o IFC também se correlaciona negativamente com ABTS (-0,57) e DPPH (-0,59). Já o ABTS e DPPH apresentam uma correlação muito forte e positiva entre si (0,89), indicando que medem fenómenos antioxidantes muito relacionados. Tanto o método ABTS quanto o DPPH apresentaram correlação negativa com o FRAP (r = –0,71), o que reforça a ideia de que estes ensaios avaliam diferentes mecanismos de atividade antioxidante. Essa divergência está associada, em grande parte, ao modo de cálculo e ao princípio reacional de cada método.

Na matriz podem-se evidenciar dois grupos principais: um formado por IPT, IFC e FRAP, que variam positivamente entre si, e outro formado por ABTS e DPPH, que se relacionam positivamente entre si, mas inversamente com o primeiro grupo. Estes resultados podem sempre variar em consideração as amostras e o solvente de extração utilizados durante o processo, exemplo disso é o estudo feito por Rumpf *et al*. (2023), em que o FRAP e IPT apresentam uma boa correlação, mas o ABTS e DPPH já não.

5.3 Análise Cluster e Fatorial

Para todas as análises de agrupamentos por Cluster, foi utilizado um agrupamento hierárquico e uma distância euclidiana como medida de similaridade, tendo sido aplicado o método de Ward´s para a formação dos grupos. Tal permitiu identificar padrões semelhantes entre amostras com base na atividade antioxidante e nos compostos fenólicos.

O método ajuda a minimizar a variância entre as amostras e a distância euclidiana é a mais adequada para estas variâncias, daí serem os mais usados nesta tipologia de análises.

No caso das análises Fatoriais, recorreu-se ao Plot of factor loadings, que ajuda a reduzir as variâncias a 2 fatores principais, com recurso a um gráfico que relaciona as variáveis e os fatores.

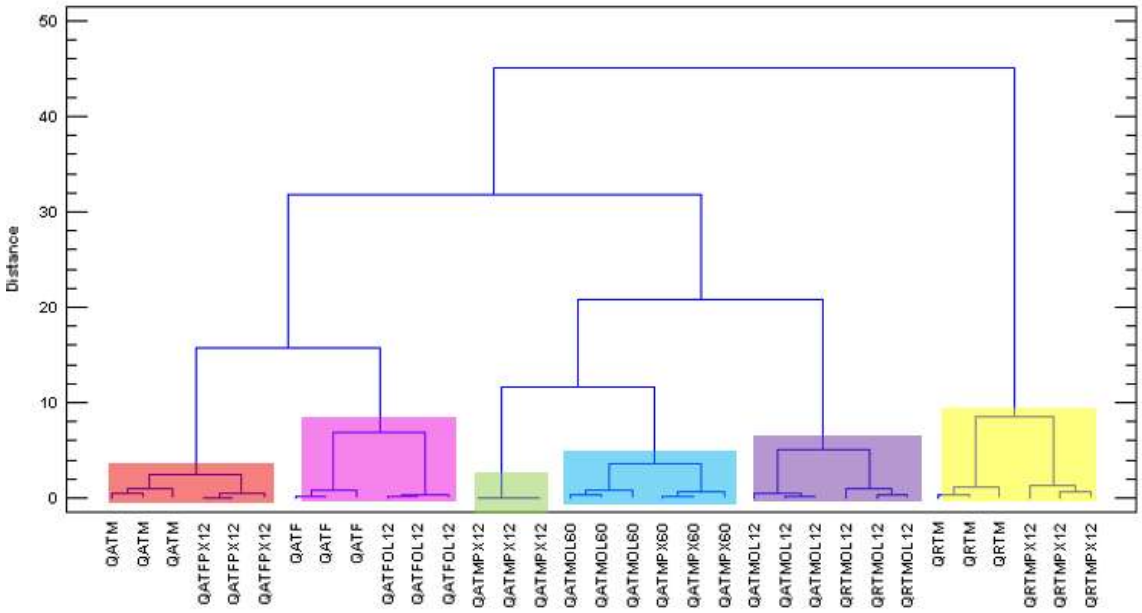


Figura 4 — Análise cluster realizada ao conjunto de amostras em relação ao poder antioxidante. Legenda: QR TM PX 12 meses - *q.robur* , tostado médio , Pedro Ximénez; QR TM OLO 12 meses- *q.robur*, tostado médio , oloroso; QR TM - *q.robur* , tostado médio; QA TM PX 12 meses- *q.alba*, tostado médio , Pedro Ximénez; QA TM OLO 12 meses - *q.alba*, tostado médio , oloroso; QA TM- *q.alba*, tostado médio; QA TF PX 12 meses- *q.alba*, tostado forte, Pedro Ximénez; QA TF OLO 12 m eses - *q.alba*, tostado forte, oloroso; QA FT- *q.alba* , tostado forte; QA TM PX 60 meses- *q.alba*, tostado médio , Pedro Ximenez; QA TM OLO 60 meses - *q.alba* , tostado médio , oloroso

A Figura 4 mostra a análise feita do poder antioxidante das amostras. Verifica-se uma grande distinção do grupo amarelo em relação aos restantes, devido à sua maior atividade antioxidante, comprovada pelos seus valores elevados de IPT, IFC e FRAP (Tabela 2 e 3). Tal pode revelar a forma como a madeira influencia as amostras, sendo evidente a sua separação na análise. A QR tem tendência a libertar compostos fenólicos diferentes e com mais concentração do que a QA, influenciando significativamente o perfil fenólico e antioxidante (Wang *et al*., 2022; Andreu-García *et al*., 2025).

Observa-se também a formação do grupo azul, composto por amostras com 60 meses, que se encontra separado das restantes amostras. Tal demonstra como o tempo de envelhecimento pode influenciar o poder antioxidante das amostras, bem como a sua menor variabilidade e capacidade antioxidante mais estável. Amostras com o vinho Pedro Ximenez e Oloroso agruparam-se, de maneira geral, próximas apesar de terem diferenças inicias na composição antioxidante, devido ao tempo de envelhecimento que conduz a uma convergência no perfil fenólico e capacidade antioxidante.(Valcárcel-Muñoz et al., 2022). Assim, verifica-se que os vinhos podem exibir comportamentos semelhantes nos métodos, mesmo que provenientes de mecanismos químicos diferentes.

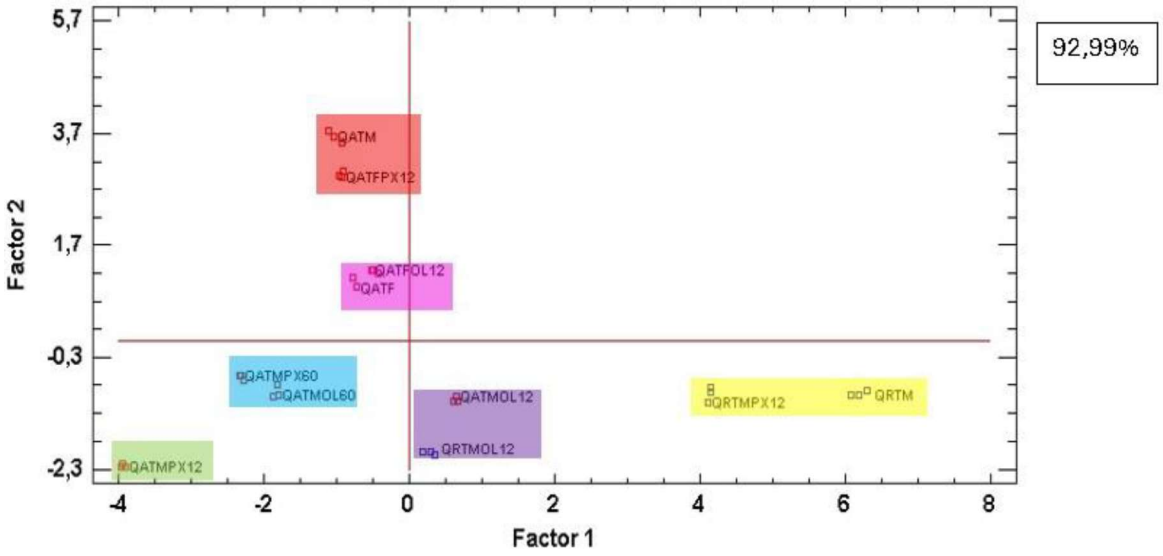


Figura 5 - Gráfico de análise de componentes principais aplicada aos métodos em amostras de extratos de madeira. Legenda: QR TM PX 12 meses - *q.robur* , tostado médio , Pedro Ximénez; QR TM OLO 12 meses- *q.robur*, tostado médio , oloroso; QR TM - *q.robur* , tostado médio; QA TM PX 12 meses- *q.alba*, tostado médio , Pedro Ximénez; QA TM OLO 12 meses - *q.alba*, tostado médio , oloroso; QA TM- *q.alba*, tostado médio; QA TF PX 12 meses- *q.alba*, tostado forte, Pedro Ximénez; QA TF OLO 12 meses - *q.alba*, tostado forte, oloroso; QA FT- *q.alba* , tostado forte; QA TM PX 60 meses- *q.alba*, tostado médio , Pedro Ximénez; QA TM OLO 60 meses - *q.alba* , tostado médio , oloroso

Na análise da Figura 5 verifica-se que o modelo explica 92,99% da variabilidade total observada. Sabe-se ainda que o fator 1 explica 56,08% da variância, sendo as amostras do grupo amarelo as que apresentam valores mais elevados dessa variância, por consequente as do grupo verde são as com valores mais baixo. Esta diferença pode ser explicada pelo tipo de madeira que foi utilizado para cada grupo, a *Quercus alba* é menos rica em termos fenólicos enquanto a *Quercus robur* é mais rica, indo ao encontro do estudo de Guerrero-Chanivet (2023).

O fator 2 apresenta uma variância de 36,91%, em que o grupo verde apresentar valores mais baixos e o grupo vermelho os valores mais elevados. A amostra QATFPX apresenta uma carga elevada em relação ao fator 2, indicando que a combinação de maior tosta e vinho PX intensifica a atividade antioxidante detetada pelos métodos. Curiosamente, a amostra QATM também apresenta carga elevada, sugerindo que o fator também capta compostos liberados pela madeira independentemente do vinho. Em contraste, a amostra QATMPX apresenta carga mais baixa, podendo ser explicada pelo facto de que o Pedro Ximenez é um vinho com difícil penetração nos poros do barril durante todo o processo de envelhecimento (Barquín & Liem, 2019; González-Gordon, 2005).

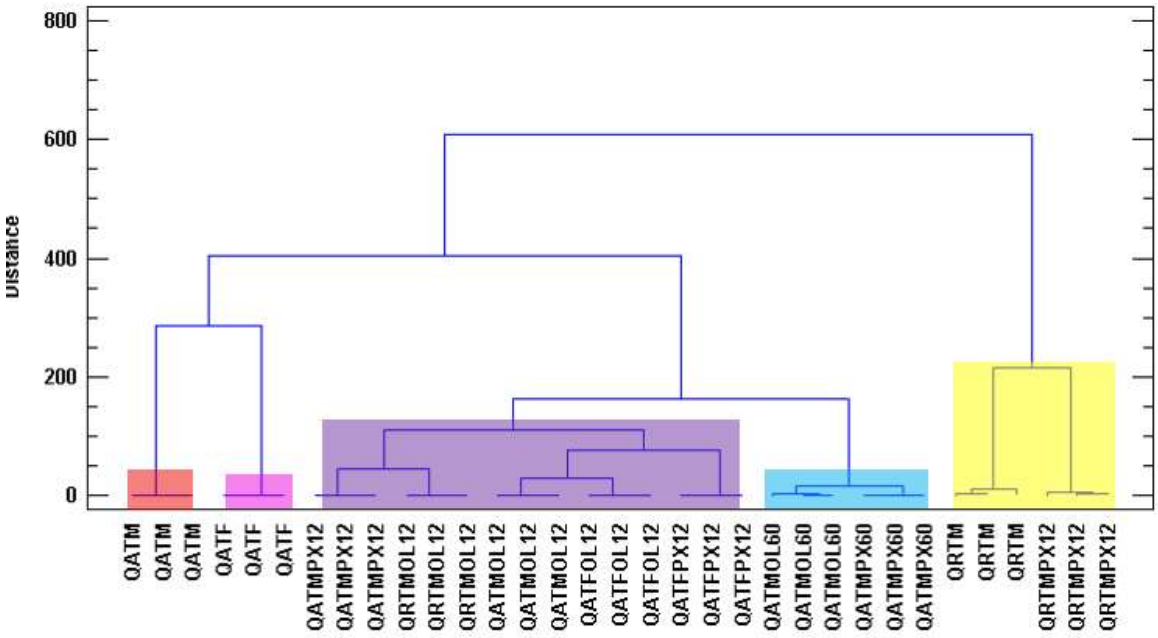


Figura 6 – Análise Cluster realizada ao conjunto de amostras com todos os fatores analisados (poder antioxidante e compostos fenólicos) Legenda: QR TM PX 12 meses – *q.robur* , tostado médio , Pedro Ximénez; QR TM OLO 12 meses- *q.robur*, tostado médio , oloroso; QR TM – *q.robur* , tostado médio; QA TM PX 12 meses- *q.alba*, tostado médio , Pedro Ximénez; QA TM OLO 12 meses – *q.alba*, tostado médio , oloroso; QA TM- *q.alba*, tostado médio; QA TF PX 12 meses- *q.alba*, tostado forte, Pedro Ximénez; QA TF OLO 12 meses – *q.alba*, tostado forte, oloroso; QA FT- *q.alba* , tostado forte; QA TM PX 60 meses- *q.alba*, tostado médio , Pedro Ximénez; QA TM OLO 60 meses – *q.alba* , tostado médio , oloroso

Na análise de cluster (Figura 6) observa-se mais uma vez a formação bem distinta do grupo amarelo, a junção de todas as amostras de 60 meses no mesmo grupo, apenas diferindo nas amostras encontradas no grupo roxo, que neste caso apresenta grande parte das amostras de 12 meses e a formação de grupos isolados das amostras QATM e QATF.

Esta análise é feita incluindo os métodos utilizados e os compostos encontrados a partir do UHPLC pois diferentes compostos fenólicos apresentam diferentes capacidades antioxidantes, então a inclusão dos dados do UHPLC permite identificar outros padrões. Assim, a Figura 6 representa os grupos de amostras que compartilham um perfil fenólico semelhante e uma capacidade antioxidante parecida, integrando uma visão da maneira que a tosta, o tipo de vinho e o tempo de envelhecimento influenciam no comportamento da madeira (Guerrero-Chanivet *et al*., 2024).

No caso do grupo amarelo, os valores de IPT, IFC e FRAP das amostras são semelhantes, tal como os valores de vanilina e de ácido elágico, sendo eles os que apresentam maior concentração entre todas as amostras. Este agrupamento pode ter surgido pela composição química da QR, que durante o processo de tosta e com o envelhecimento vai existir a hidrolise a ácido elágico. A vanilina, contribui para o aumento da absorbância no IPT (Danilewicz, 2015). No caso da amostra que contem o vinho Pedro Ximenez, a presença adicional de compostos fenólicos reforça a sua

capacidade redutora medida pelo IFC e FRAP (Wang *et al.*, 2022; Valcárcel-Muñoz *et al.*, 2022). Refletindo a interligação dos compostos fenólicos extraídos da madeira e do vinho, ajudando num maior potencial antioxidante e conteúdo fenólico total.

No grupo azul os valores de IPT e FRAP são semelhantes tal como os de ácido gálico e elágico, sendo estes compostos libertados pela madeira, produzindo assim valores semelhantes. O grupo indica que as amostras são influenciadas pelo tempo de envelhecimento (60 meses), permitindo que a madeira liberte mais compostos para a polimerização oxidativa. Além disso, a diferença dos vinhos não se revelou importante neste grupo pelo facto de que um envelhecimento prolongado promove um perfil fenólico semelhante (Aleixandre-Tudo & du Toit, 2020).

No grupo roxo observa-se a junção de grande parte das amostras de 12 meses evidenciando que diferentes tipos de madeira podem atingir níveis de atividade antioxidante semelhantes, sugerindo assim que o tempo têm grande efeito no perfil fenólico das amostras. O mesmo pode ser comprovado com o grupo azul , que agrupa as amostras de 60 meses. Sugerindo por isso, uma convergência no perfil fenólico após reações de oxidação e polimerização (Aleixandre-Tudo & du Toit, 2020).

Esta análise Cluster evidenciou que as amostras se agrupam de acordo com o tipo de madeira e o tempo de envelhecimento, confirmando que estes fatores são decisivos para a determinação do perfil fenólico e antioxidante.

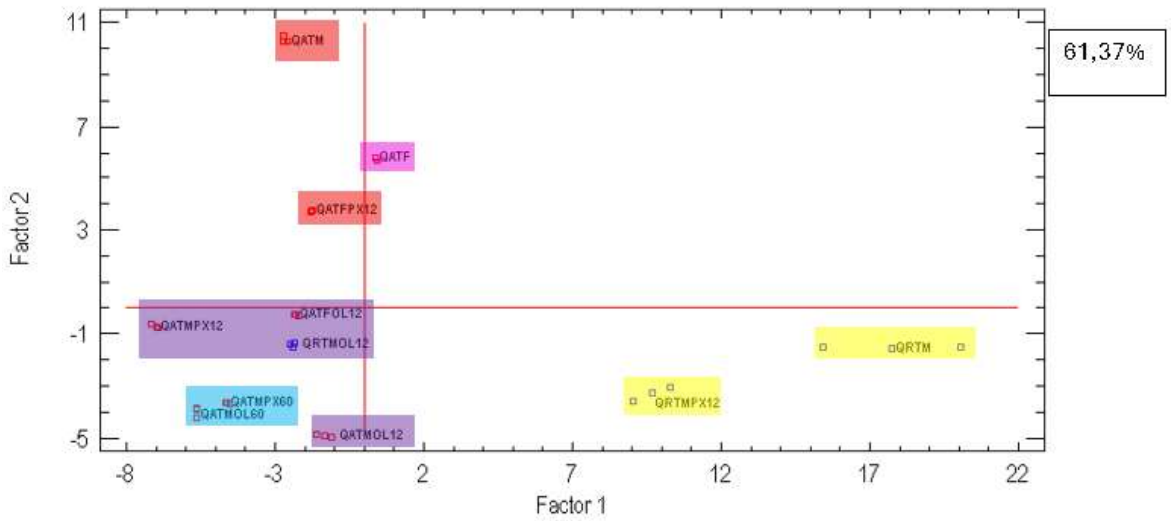


Figura 7 - Gráfico de análise de componentes principais aplicada aos métodos e compostos fenólicos em amostras de extratos de madeira. Legenda: QR TM PX 12 meses - *q.robur* , tostado médio , Pedro Ximénez; QR TM OLO 12 meses- *q.robur*, tostado médio , oloroso; QR TM - *q.robur* , tostado médio; QA TM PX 12 meses- *q.alba*, tostado médio , Pedro Ximénez; QA TM OLO 12 meses - *q.alba*, tostado médio , oloroso; QA TM- *q.alba*, tostado médio; QA TF PX 12 meses- *q.alba*, tostado forte, Pedro Ximénez; QA TF OLO 12 meses - *q.alba*, tostado forte, oloroso; QA FT- *q.alba* , tostado forte; QA TM PX 60 meses- *q.alba*, tostado médio , Pedro Ximénez; QA TM OLO 60 meses - *q.alba* , tostado médio , oloroso

Pela análise fatorial (Figura 7) verifica-se mais uma vez o afastamento do grupo amarelo em relação aos restantes. Neste caso a análise explica 61,37% da variância total dos dados, com o fator 1 a explicar 37,53% e o fator 2 a explicar 23,83% dessa variância.

Existe uma alteração da ordem das amostras em relação ao fator 2 devido à inclusão de dados referentes ao UHPLC, o que confirma que a adição deste parâmetro afeta a análise. Assim a QATM e QATFPX12 apresenta compostos fenólicos específicos, como protocatequina, ácido cafeico e valores elevados de ácido sinápico. No caso da QATF, que tem valores próximos de zero relativamente ao fator 1, verifica-se o mesmo com os compostos fenólicos, uma vez que apresenta valores elevados de compostos derivados da lenhina (vanilina e siringaldeido)(Guerrero-Chanivet *et al*., 2020). Ambas as amostras apresentam os valores de ABTS e DPPH mais elevados, remetendo assim para que no fator 2 as amostras estejam mais ligadas à sua capacidade antioxidante total.

No caso do grupo azul e da amostra QATMOL12 os valores relativos ao fator 2 são os mais baixos, uma vez que estão inversamente ligados às amostras QATM e QATF. Neste caso não apresentam protocatequina, cafeico ou sinápico, além de terem baixos valores de siringaldeído. No caso de o grupo azul, não apresentam vanilina, um composto presente nas amostras com valores elevados referentes ao fator 2.

No caso do grupo amarelo, como referido anteriormente, a presença de valores elevados de ácido elágico e gálico, provenientes de taninos da madeira (Aleixandre-Tudo & du Toit, 2020), além das concentrações altas nos métodos IPT, IFC e FRAP, separa-o totalmente dos restantes grupos. Sugerindo que o fator refletirá a capacidade antioxidante, ou seja a capacidade de neutralizar radicais específicos (Danilewicz, 2015; Valcárcel-Muñoz *et al*., 2022).

Esta distinção entre os fatores especifica como certas amostras podem apresentar valores de IPT, IFC e FRAP elevados mas sem necessariamente apresentarem de ABTS e DPPH, relacionando por isso os resultados com os compostos fenólicos específicos, o tipo de madeira, o vinho utilizado e o tempo de envelhecimento (Aleixandre-Tudo & du Toit, 2020).

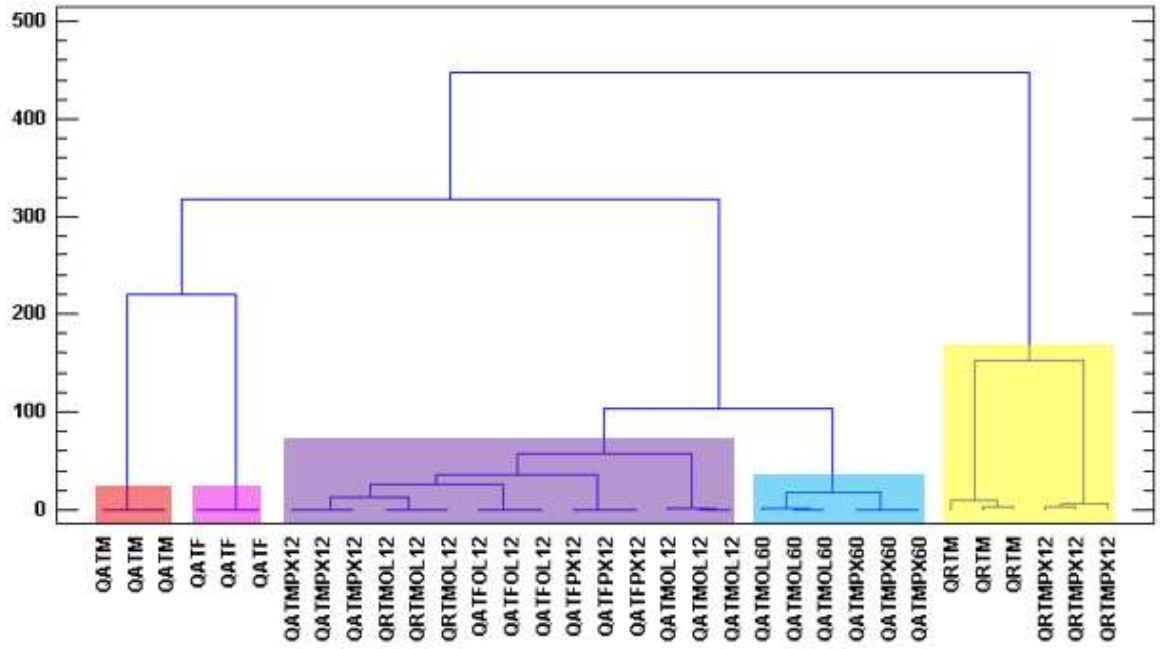


Figura 8 – Análise Cluster realizada ao conjunto de amostras em relação aos compostos fenólicos. Legenda: QR TM PX 12 meses – *q.robur* , tostado médio , Pedro Ximénez; QR TM OLO 12 meses- *q.robur*, tostado médio , oloroso; QR TM – *q.robur* , tostado médio; QA TM PX 12 meses- *q.alba*, tostado médio , Pedro Ximénez; QA TM OLO 12 meses – *q.alba*, tostado médio , oloroso; QA TM- *q.alba*, tostado médio; QA TF PX 12 meses- *q.alba*, tostado forte, Pedro Ximénez; QA TF OLO 12 meses – *q.alba*, tostado forte, oloroso; QA FT- *q.alba* , tostado forte; QA TM PX 60 meses- *q.alba*, tostado médio , Pedro Ximénez; QA TM OLO 60 meses – *q.alba* , tostado médio , oloroso

Na análise cluster (Figura 8) só de compostos verifica-se a separação da amostra QATM, do grupo vermelho, e da amostra QATF, do grupo rosa, bem como a união das amostras relativas ao tempo de 12 meses no grupo roxo, e das amostras relativas a 60 meses no grupo azul. O grupo amarelo apresenta-se separado dos restantes, tal como nas outras análises.

Esta análise não revelou diferenças significativas com a Figura 6, as amostras QATM e QATF continuam separadas das restantes, o grupo amarelo contém as mesmas amostras e as de 60 meses permanecem no mesmo grupo. Existem apenas pequenas mudanças no posicionamento das amostras dentro do grupo roxo. A posição das amostras de 60 meses pode dever-se com o facto de apresentarem quantidades reduzidas ou nulas de siringaldeido, comum em amostras de longo prazo (Guerrero-Chanivet *et al*., 2023).

A distinção das amostras sem envelhecimento QATM e QATF acontece devido a uma maior presença de compostos fenólicos simples, como ácido cafeico e sinápico, que são associados a uma atividade radicalar mais elevada (Wang et al., 2022). Em relação às madeiras envelhecidas, existe um aumento relativo de ácido elágico, gálico e vanilina, compostos derivados da degradação da lenhina durante a oxidação (Spaho *et al*., 2019). As amostras de 60 meses apresentam perfis fenólicos semelhantes por causa da oxidação que acontece, polimerização de taninos e equilíbrio químico entre fenóis

(Valcárcel-Muñoz et al., 2022), evidenciando que um envelhecimento oxidativo prolongado conduz a uma estabilidade na composição fenólica.

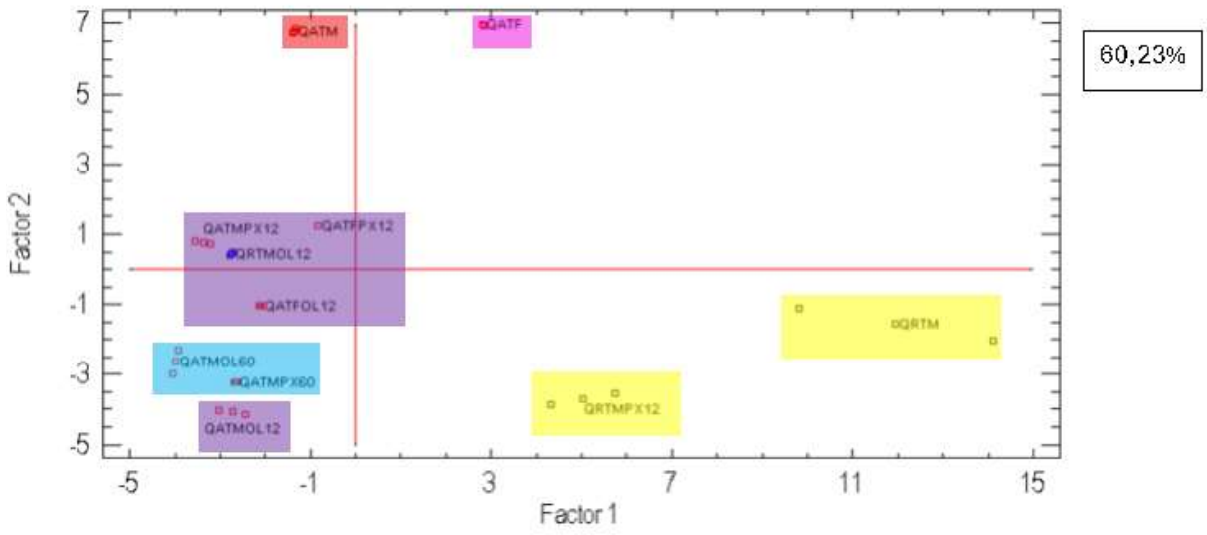


Figura 9 - Gráfico de análise de componentes principais aplicada aos compostos fenólicos em amostras de extratos de madeira. Legenda: QR TM PX 12 meses - *q.robur* , tostado médio , Pedro Ximénez; QR TM OLO 12 meses- *q.robur*, tostado médio , oloroso; QR TM - *q.robur* , tostado médio; QA TM PX 12 meses- *q.alba*, tostado médio , Pedro Ximénez; QA TM OLO 12 meses - *q.alba*, tostado médio , oloroso; QA TM- *q.alba*, tostado médio; QA TF PX 12 meses- *q.alba*, tostado forte, Pedro Ximénez; QA TF OLO 12 meses - *q.alba*, tostado forte, oloroso; QA FT- *q.alba* , tostado forte; QA TM PX 60 meses- *q.alba*, tostado médio , Pedro Ximénez; QA TM OLO 60 meses - *q.alba* , tostado médio , oloroso

Na Figura 9 observa-se que a variância desta análise de dados é de 60,23%, a mais baixa de todas, sendo que o fator 1 apresenta 33,59 % da variância e o fator 2 apresenta 26,62 % da variância. Este valor comprova que o facto de se ter realizado uma análise com apenas os dados dos compostos fenólicos provenientes de UHPCL, não altera o posicionamento das amostras em relação a uma análise feita com os dois parâmetros a serem analisados.

A QATF e QATM apresentam valores elevados do fator 2, sendo que a QATMOL12 continua a apresentar os valores mais baixos do que os registados anteriormente (Figura 7), quando a análise considerava tanto os métodos como os compostos, o que comprova que o grupo é afetado pela capacidade antioxidante. Podemos ainda salientar a ideia de que todas as amostras de Oloroso se encontram no mesmo quadrante, o que está em concordância com o estudo de Guerrero-Chanivet *et al.* (2023), os valores de furfural nestas amostras são mais baixos ou até nulos.

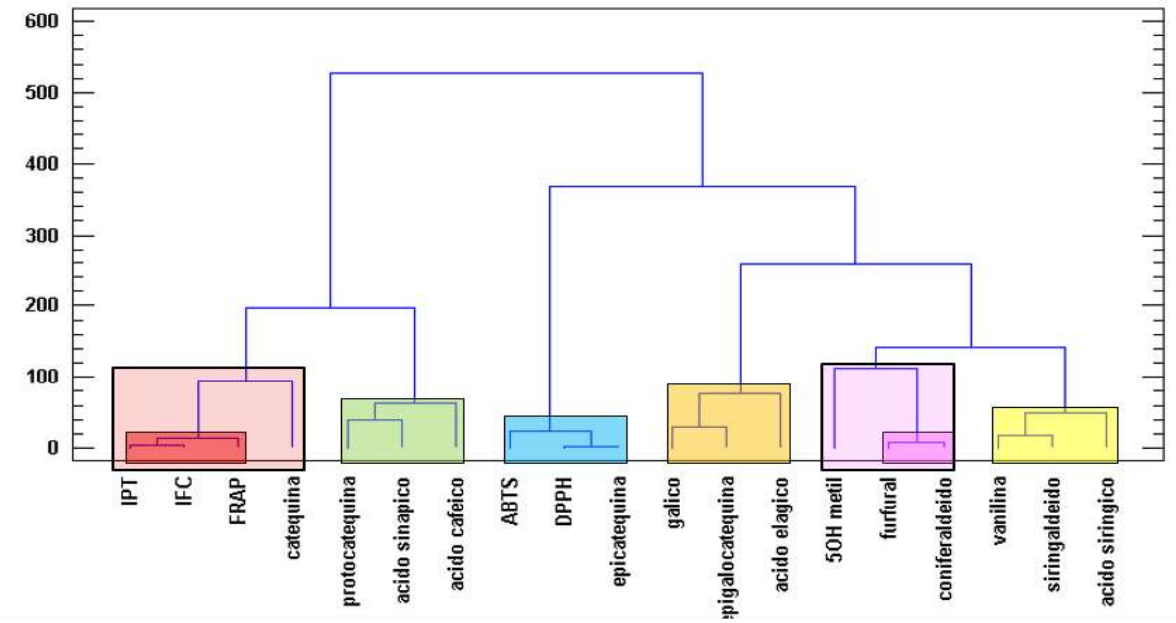


Figura 10 – Análise Cluster aplicada a todas as variáveis utilizadas

Por fim foi feita uma análise cluster (Figura 10) dos parâmetros, a fim de verificar a afinidade do IPT, IFC e FRAP, tal como a afinidade do ABTS e DPPH, conforme mencionado anteriormente (Figura 3). É importante referir o grupo amarelo, pois comprova o que foi descrito na abordagem teórica, em que a vanilina e o siringaldeido são obtidos pela degradação da lenhina, ao passo que o ácido siringico é obtido pela oxidação do siringaldeido (Spaho *et al.*, 2019).

O grupo laranja também apresenta importância nesta análise, dado conter o ácido gálico e elágico formados pela hidrólise de taninos (Tarko *et al.*, 2023; Cernîsev, 2017; Viriot *et al.*, 1993). No grupo rosa, estão presentes o furfural e o seu derivado, o que indica a degradação da hemicelulose (Briones *et al.*, 2012; Spaho, 2017). Outro aspeto a relatar é a distância existente entre os grupos amarelo e rosa ser a mais baixa, o que poderá dever-se ao facto de serem compostos mais relacionados com a degradação de compostos da madeira.

6. Conclusão

Através deste trabalho foi possível concluir que a atividade antioxidante e o conteúdo fenólico das madeiras, *Quercus robur e Quercus alba*, difere consoante o tipo de madeira, os diferentes níveis de tosta, tipo de vinho e o tempo de envelhecimento, o que influencia a estabilidade química e a libertação de compostos fenólicos. Através das análises (Correlação, Cluster e PCA) verificou-se a formação de agrupamentos consistentes, que destacam a influência da espécie e do tempo de envelhecimento na libertação de compostos fenólicos e na capacidade antioxidante. Constatou-se ainda que com a evolução do tempo de envelhecimento, os compostos fenólicos tendem a equilibrar-se devido às reações de oxidação e polimerização.

De um modo geral, a combinação das análises permitiu uma interpretação mais abrangente e coerente da evolução química das madeiras, demonstrando que o poder antioxidante resulta da interação complexa entre a composição fenólica e as transformações estruturais.

Estes resultados confirmam, portanto, que a seleção da madeira, o nível de tosta e o tempo de envelhecimento são fatores importantes a considerar para a otimizar a qualidade final dos vinhos.

7. Referências Bibliográficas

Ainsworth, E. A., & Gillespie, K. M. (2007). Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin-Ciocalteu reagent. Nature Protocols, 2(4), 875–877. https://doi.org/10.1038/nprot.2007.102

Aleixandre-Tudo, J. L., & Du Toit, W. J. (2020). Evolution of phenolic composition during barrel and bottle aging. *South African Journal of Enology and Viticulture*, *41*(2). https://doi.org/10.21548/41-2-4128

Andreu-García, P., Jiménez-Cantizano, A., Sancho-Galán, P., Amores-Arrocha, A., Durán-Guerrero, E., & Castro-Mejías, R. (2025). Volatile and phenolic profile in Pedro Ximénez sweet wines and mistelas under oxidative conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *105*(8), 4569–4585. https://doi.org/10.1002/jsfa.14208

Butrón-Benítez, D., Valcárcel-Muñoz, M. J., García-Moreno, M. V., Rodríguez-Dodero, M. C., & Guillén-Sánchez, D. A. (2024). Chemical and sensory profile of grape distillates aged in quercus alba casks previously used for sherry wine or brandy. *Molecules*, *29*(22), 5303. https://doi.org/10.3390/molecules29225303

Carmona-Jiménez, Y., García-Moreno, M. V., Igartuburu, J. M., & Garcia Barroso, C. (2014). Simplification of the DPPH assay for estimating the antioxidant activity of wine and wine by-products. *Food Chemistry*, *165*, 198–204. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.106

Carpena, M., Pereira, A. G., Prieto, M. A., & Simal-Gandara, J. (2020). Wine aging technology: Fundamental role of wood barrels. *Foods*, *9*(9), 1160. https://doi.org/10.3390/foods9091160

Danilewicz, J. C. (2015). Folin-ciocalteu, frap, and dpph• assays for measuring polyphenol concentration in white wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, *66*(4), 463–471. https://doi.org/10.5344/ajev.2015.15025

Del Fresno, J. M., Morata, A., Loira, I., Escott, C., & Suárez Lepe, J. A. (2020). Evolution of the phenolic fraction and aromatic profile of red wines aged in oak barrels. *ACS Omega*, *5*(13), 7235–7243. https://doi.org/10.1021/acsomega.9b03854

Della Pelle, F., González, M. C., Sergi, M., Del Carlo, M., Compagnone, D., & Escarpa, A. (2015). Gold nanoparticles-based extraction-free colorimetric assay in organic media: An optical index for determination of total polyphenols in fat-rich samples. *Analytical Chemistry*, *87*(13), 6905–6911. https://doi.org/10.1021/acs.analchem.5b01489

Farrag, A. F. S., Otify, A. M., Khedr, A. I. M., Misnan, N. M., Mediani, A., Wessjohann, L. A., Sharaf El-Din, M. G., & Farag, M. A. (2025). Unveiling metabolome heterogeneity in seed and husk from three cardamom species for quality control and valorization purposes of its waste products via NMR-based metabolomics in relation to in vitro biological effects. *Food Chemistry*, *480*, 143687. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2025.143687

Gammacurta, M., Waffo-Teguo, P., Winstel, D., Dubourdieu, D., & Marchal, A. (2020). Isolation of taste-active triterpenoids from *quercus robur*: Sensory assessment and identification in wines and spirit. *Journal of Natural Products*, *83*(5), 1611–1622. https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.0c00106

García-Moreno, M. V., Sánchez-Guillén, M. M., Delgado-González, M. J., Durán-Guerrero, E., Rodríguez-Dodero, M. C., García-Barroso, C., & Guillén-Sánchez, D. A. (2021). Chemical content and sensory changes of Oloroso Sherry wine when aged with four different wood types. *LWT*, *140*, 110706. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110706

González-Centeno, M. R., Chira, K., & Teissedre, P.-L. (2016). Ellagitannin content, volatile composition and sensory profile of wines from different countries matured in oak barrels subjected to different toasting methods. *Food Chemistry*, *210*, 500–511. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.139

Guerrero-Chanivet, M., Valcárcel-Muñoz, M. J., García-Moreno, M. V., & Guillén-Sánchez, D. A. (2020). Characterization of the aromatic and phenolic profile of five different wood chips used for ageing spirits and wines. *Foods*, *9*(11), 1613. https://doi.org/10.3390/foods9111613

Guerrero-Chanivet, M., García-Moreno, M. V., Valcárcel-Muñoz, M. J., & Guillén-Sánchez, D. A. (2023). Determining the impact of seasoning on the volatile chemical composition of the oak wood of different Sherry Casks® by DTD–GC–MS. *Wood Science and Technology*, *57*(4), 861–878. https://doi.org/10.1007/s00226-023-01478-2

Guerrero-Chanivet, M., Valcárcel-Muñoz, M. J., García-Moreno, M. V., Rodríguez-Dodero, M. C., & Guillén-Sánchez, D. A. (2024). Influence of the type of Sherry wine and the seasoning length of time on the organic acids, volatile compounds, and sensory profile of *Brandy de Jerez*. *Journal of Food Composition and Analysis, 125*, 105780. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2023.105780

Guerrero-Chanivet, M., García-Moreno, M. V., Valcárcel-Muñoz, M. J., & Guillén-Sánchez, D. A. (2024). Influence of the type of Sherry wine and the length of time of the seasoning on phenolic and furanic compounds and CIEL*a*b* parameters of Brandies de Jerez. *LWT*, *194*, 115815. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.115815

Guerrero-Chanivet, M., Ortega-Gavilán, F., Bagur-González, M. G., Valcárcel-Muñoz, M. J., García-Moreno, M. V., & Guillén-Sánchez, D. A. (2023). Influence of the use of sulfur dioxide, the distillation method, the oak wood type and the aging time on the production of brandies. *Current Research in Food Science*, *6*, 100486. https://doi.org/10.1016/j.crfs.2023.100486

Guerrero-Chanivet, M., Ortega-Gavilán, F., Bagur-González, M. G., Valcárcel-Muñoz, M. J., García-Moreno, M. V., & Guillén-Sánchez, D. A. (2024). Influence of oak species, toasting degree, and aging time on the differentiation of brandies using a chemometrics approach based on phenolic compound uhplc fingerprints. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *72*(4), 1959–1968. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c00501

Gültekin-Özgüven, M., Davarcı, F., Paslı, A. A., Demir, N., & Özçelik, B. (2015). Determination of phenolic compounds by ultra high liquid chromatography-tandem mass spectrometry: Applications in nuts. *LWT - Food Science and Technology*, *64*(1), 42–49. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.05.014

Jiang, L., Yin, S., Wang, G., Shao, X., Wang, Y., Li, Y., & Ding, Y. (2025). The genus Quercus: Metabolites, biological activity and mechanisms of action. *Phytochemistry Reviews*, *24*(1), 259–302. https://doi.org/10.1007/s11101-024-09935-x

Laqui-Estaña, J., López-Solís, R., Peña-Neira, Á., Medel-Marabolí, M., & Obreque-Slier, E. (2019). Wines in contact with oak wood: The impact of the variety (Carménère and Cabernet Sauvignon), format (Barrels, chips and staves), and aging time on the phenolic composition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *99*(1), 436–448. https://doi.org/10.1002/jsfa.9205

Nunes, P., Muxagata, S., Correia, A. C., Nunes, F. M., Cosme, F., & Jordão, A. M. (2017). Effect of oak wood barrel capacity and utilization time on phenolic and sensorial profile evolution of an Encruzado white wine. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *97*(14), 4847–4856. https://doi.org/10.1002/jsfa.8355

Rapa, M., Di Fabio, M., Boccacci Mariani, M., & Giannetti, V. (2025). Characterization of native sicilian wines by phenolic contents, antioxidant activity and chemometrics. *Molecules*, *30*(3), 534. https://doi.org/10.3390/molecules30030534

Rumpf, J., Burger, R., & Schulze, M. (2023). Statistical evaluation of DPPH, ABTS, FRAP, and Folin-Ciocalteu assays to assess the antioxidant capacity of lignins. *International Journal of Biological Macromolecules*, *233*, 123470. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123470

Valcárcel-Muñoz, M. J., Guerrero-Chanivet, M., Rodríguez-Dodero, C., García-Moreno, M. D. V., & Guillén-Sánchez, D. A. (2022). Analytical, chemometric and sensorial characterization of oloroso and palo cortado sherries during their ageing in the criaderas y solera system. *Foods*, *11*(24), 4062. https://doi.org/10.3390/foods11244062

Wang, C., Wang, C., Tang, K., Rao, Z., & Chen, J. (2022). Effects of different aging methods on the phenolic compounds and antioxidant activity of red wine. *Fermentation*, *8*(11), 592. https://doi.org/10.3390/fermentation8110592

Zhao, X.-N., Huang, Z.-S., Wang, L., Gao, Z., Li, Y., Liu, Q.-L., Liu, Y.-L., & Ma, J. (2024). Reflections and recommendations on the accuracy of abts colorimetric methods in environmental analysis. *ACS ES&T Water*, *4*(11), 5122–5130. https://doi.org/10.1021/acsestwater.4c00688

Zulfisa, Ulfa, F., & Marjoni, M. R. (2024). Determination of total phenolic content of ethanol extract of black turmeric rhizome (*Curcuma caesia* Roxb.) by Folin-Ciocalteu method spectrophotometrically. *International Journal of Engineering, Science and Information Technology, 4*(4), 24–28. https://doi.org/10.52088/ijesty.v4i4.561

ANEXO I - Tabelas

Tabela A1.1- reta de calibração de cada composto encontrado nas amostras

	m	**B**
Gálico	5910	966,85
5OH metil	18227	491,94
Furfural	17133	2849,7
Vanilina	11060	1741,9
Catequina	1152	305,83
Siringaldeido	8649,5	935,37
Cafeico	10191	5077,7
Sinápico	7886,4	316,33
Elágico	18979	241654
Protocatequina	3148,2	911,04
Siringico	7243,6	1518,2
Epigolacatequina	983,53	303,5
Epicatequina	1403,1	359,7
coniferaldeido	11720	649,65

ANEXO II - Figuras

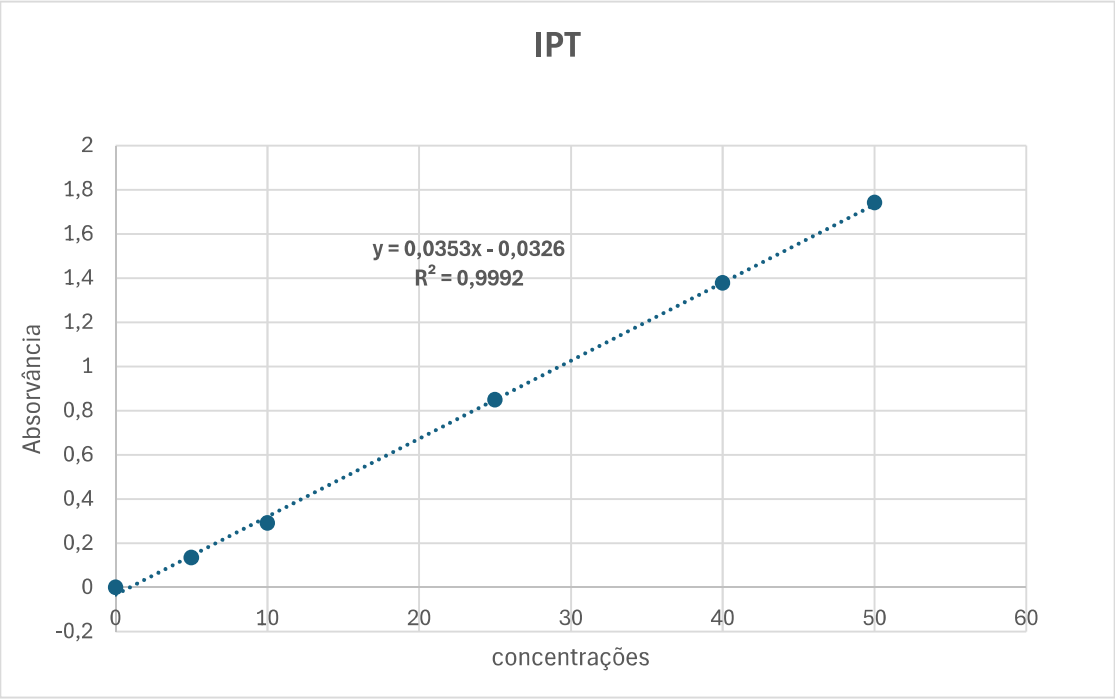


Figura A2.1 - Reta de calibração usada para determinar o Índice de polifenóis totais

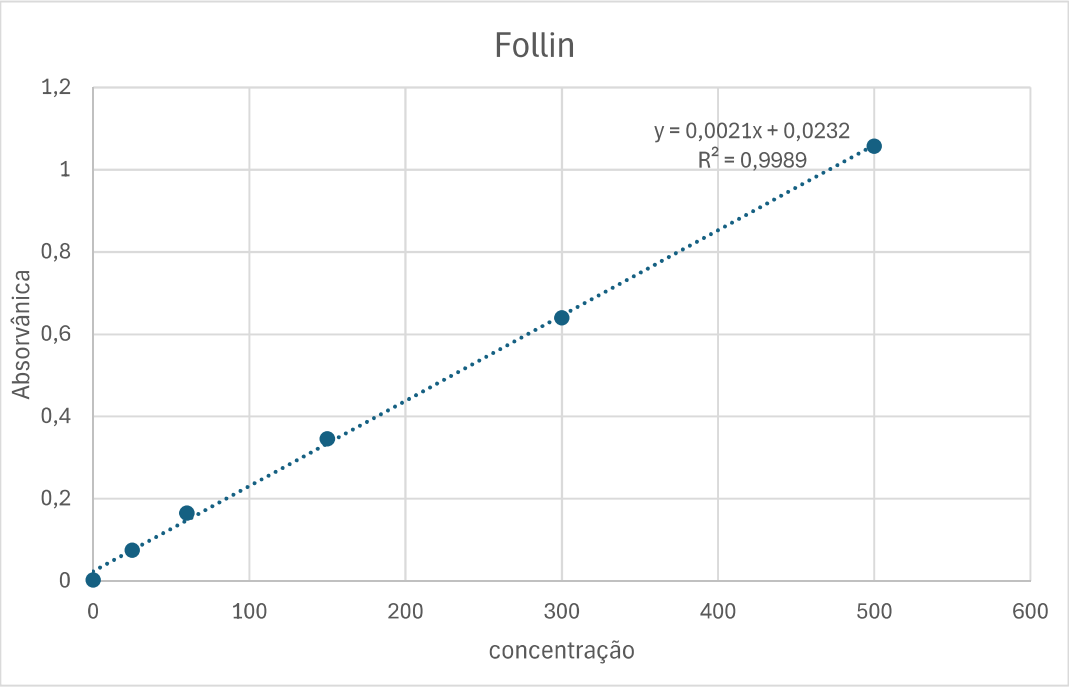


Figura A2.2 - Reta de calibração usada para determinar o Índice de Follin-Ciocalteu

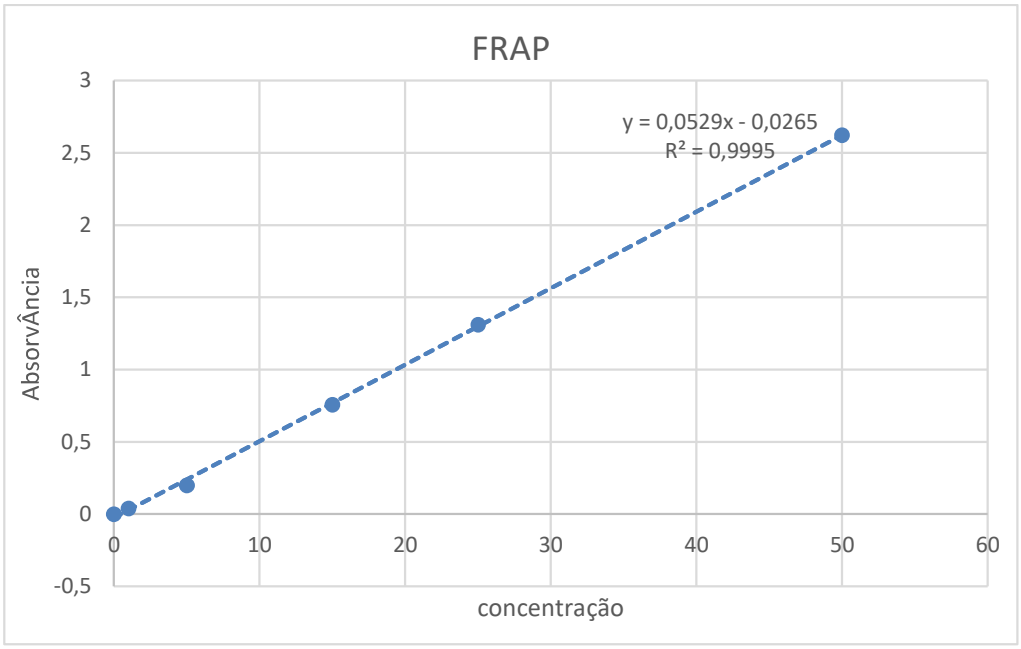


Figura A2.3 - Reta de calibração usada para determinar o poder antioxidante redutor férrico

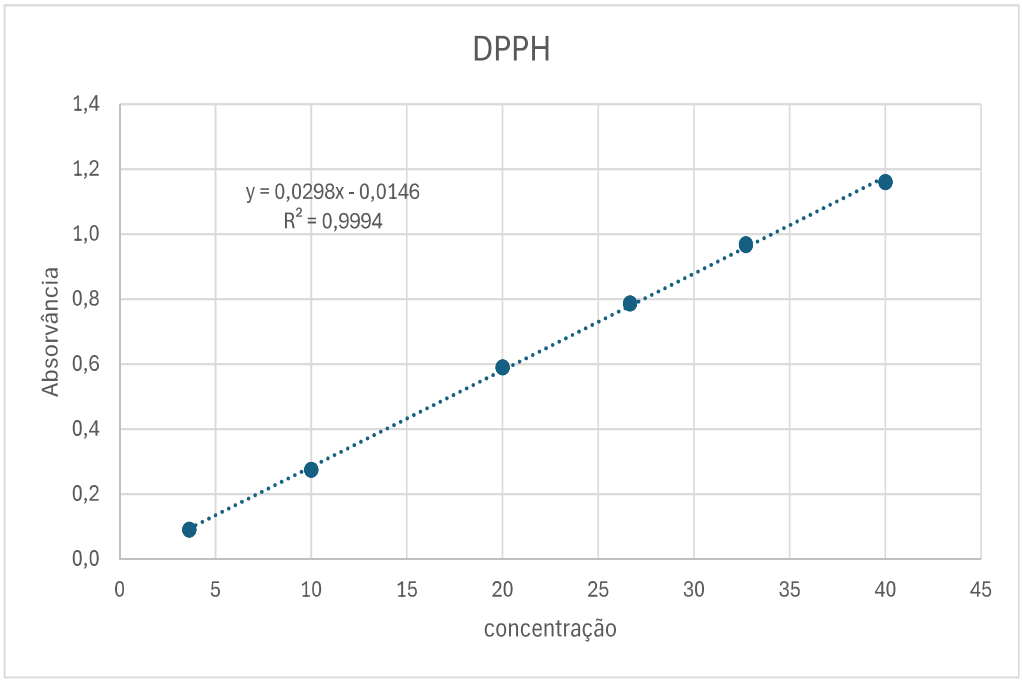


Figura A2.4 - Reta de calibração usada para determinar o 2,2-difenil-1-picrilhidrazil

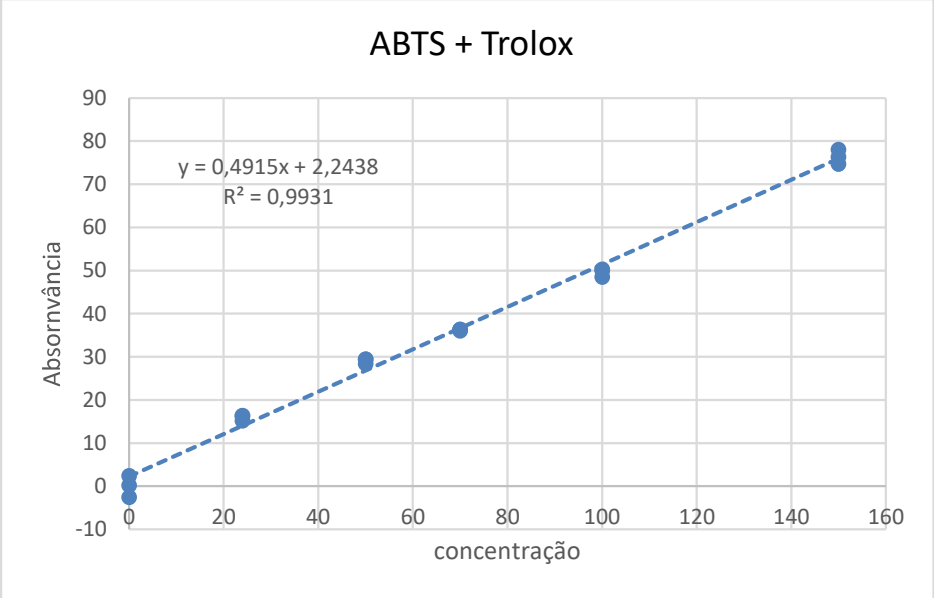


Figura A2.5 - reta de calibração TROLOX usada para a análise de 2,2´-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico)