

**U. PORTO**



**FACULDADE DE FARMÁCIA  
UNIVERSIDADE DO PORTO**

**Perfil fenólico como parâmetro de distinção das castas  
da região do Dão**

Ângela Sofia Carvalho Sousa

Dissertação do 2º Ciclo de Estudos Conducente ao Grau de Mestre em Controlo de  
Qualidade – Área de Especialização em Água e Alimentos

Trabalho realizado sob a orientação do Prof. Doutor Luís Manuel Lopes Rodrigues da  
Silva, Coorientação do Prof. Doutora Paula Cristina Branquinho de Andrade

Outubro, 2015



É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA DISSERTAÇÃO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.



## **AGRADECIMENTOS**

Com o fim deste trabalho, não podia deixar de agradecer a colaboração e disponibilidade de todas as pessoas que de uma forma ou de outra contribuíram para a realização deste trabalho, sem as quais o mesmo não seria possível. Por isso quero expressar a todos a minha gratidão e reconhecimento:

Ao Doutor Luís Manuel Lopes Rodrigues da Silva, dirijo o meu agradecimento pela orientação desta dissertação e disponibilidade com que me recebeu desde o início. Pelos ensinamentos e confiança transmitidos ao longo deste trabalho. Muito obrigada.

À Professora Doutora Paula Cristina Branquinho de Andrade pela coorientação desta dissertação. Por me ter permitido a realização deste trabalho no laboratório de farmacognosia, pelo apoio e incentivo ao meu crescimento científico e pela disponibilidade mostrada em todas as ocasiões. Obrigada.

À Fátima Fernandes devo um especial obrigada, antes de mais por desde logo se mostrar disponível para me acolher e orientar no laboratório. Por toda a paciência, simpatia, carinho e dedicação que demonstrou comigo, por todos os ensinamentos que me transmitiu, pela forma incansável com que me acompanhou ao longo deste ano, e pronta colaboração em todas as minhas dúvidas, tornando tudo mais fácil. Um muito, muito obrigada.

À Professora Doutora Patrícia Carla Ribeiro Valentão, expresse o meu agradecimento pelos conhecimentos científicos que me transmitiu. Pela sua pronta colaboração em todas as minhas dificuldades. Muito obrigado.

A todos os membros do laboratório não posso deixar de expressar o meu agradecimento pela forma acolhedora com que me receberam, pela simpatia que demonstraram e pela disposição com que sempre se disponibilizaram para me ajudar. À Mariana, Sara, Andreia, Clara, Maria e Rui um especial obrigada pela paciência, preocupação, pelo carinho, com que me acolheram e por me deixarem à vontade e sempre se mostrarem disponíveis em tudo.

Ao engenheiro João Paulo Gouveia e engenheiro Pedro Prata pela ajuda na obtenção das amostras e a colaboração no processo de controlo de maturação e amostragem.

Aos meus pais e irmãos que sempre me apoiaram nesta jornada e em toda a minha vida, possibilitando todos os meios necessários para que fosse possível a mais esta etapa. Pelo amor e apoio incondicional que sempre me transmitiram. A eles devo tudo o que sou.

À Cristina, amiga de todas as horas, que sempre esteve do meu lado em todos os momentos ao longo do mestrado, pela partilha, força, companheirismo, pelas horas de trabalho e de diversão passadas juntas, nestes dois anos em especial, mas também em todos os momentos da minha vida. Sem ela tudo seria muito mais difícil. Obrigada.

À Cátia, embora mais distante, sei que está sempre lá e sempre me apoiou nesta jornada, como tem feito ao longo dos últimos anos de amizade. Obrigada.

À Rosa, “companheira de piso”, à Joana, à Cátia, à Cláudia, à Rita, companheiras de turma que se tornaram amigas, obrigada por todos os momentos passados nestes dois anos, pela companhia ao almoço, pelas pausas para o café, pelas brincadeiras e gargalhadas, pelas dúvidas partilhadas, obrigada a todas, ajudaram a que tudo fosse mais fácil.

A toda a minha família e amigos, que sempre me demonstraram apoio e me fizeram acreditar que seria possível em especial à minha avó e as minhas tias Céu e Lili.

E finalmente a todos aqueles que não mencionei o nome mas que contribuíram direta ou indiretamente para a concretização deste trabalho, a todos o meu muito obrigado.

## RESUMO

O setor vitivinícola apresenta um papel de elevada importância na economia nacional, sendo um dos principais setores da agricultura portuguesa. Os vinhos produzidos em Portugal são de excelente qualidade e conhecidos em todo o mundo, os fatores que mais contribuem para esse reconhecimento são as castas e as condições edafoclimáticas.

As uvas são um dos frutos mais cultivados em todo o mundo. Do ponto de vista químico, elas são ricas em açúcares, compostos voláteis, ácidos orgânicos e compostos fenólicos. Estes últimos são importantes devido à influência que exercem na qualidade dos vinhos e às suas propriedades benéficas para a saúde humana, tais como propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, além disso, desempenham funções no crescimento, fertilidade e reprodução da planta.

Os principais compostos fenólicos encontrados nas uvas caracterizam-se como ácidos fenólicos, flavonoides e estilbenos. Dentro dos flavonoides, destacam-se os flavonóis (quercetina-3-O-galactósido e o canferol-3-O-glucósido), flavanóis (epicatequina e a catequina) e antocianinas (malvidina-3-O-glucósidos e a peonidina-3-O-glucósido).

Portugal é um país com uma vasta gama de castas autóctones, porém grande parte delas é pouco utilizada na produção de vinho, não se conhecendo as suas características químicas e qualidades sensoriais. Assim sendo, revela-se de extrema importância a avaliação do perfil fenólico das uvas tendo em vista a sua utilização e valorização enológica.

Neste contexto, o objetivo deste trabalho consistiu na avaliação do perfil fenólico por HPLC/DAD de 11 castas tintas e 3 brancas, colhidas na região demarcada do Dão ao longo do seu período de maturação.

Nas castas estudadas foram identificados um total de 22 compostos fenólicos, repartidos por 14 não corados e 8 corados. O ácido caftárico e a epicatequina foram os compostos não corados encontrados em maior quantidade nas castas brancas e tintas. Relativamente aos compostos corados, a malvidina-3-O-glucósido e a peonidina-3-O-glucósido foram as antocianinas maioritárias nas 11 castas tintas estudadas. A casta Trincadeira foi a que apresentou um maior conteúdo em fenóis não corados e antocianinas. A casta Terrantez foi a casta branca que apresentou maior conteúdo em compostos fenólicos.

De um modo geral, as castas tintas estudadas apresentaram um aumento dos compostos fenólicos corados ao longo da maturação, e uma diminuição dos compostos não corados. As castas brancas apresentaram um aumento do teor de compostos fenólicos ao longo da maturação.

As castas estudadas apresentaram teores elevados em compostos fenólicos, sugerindo potencial enológico, necessitando de mais investigação a nível da sua composição

química, propriedades sensoriais e capacidade produtiva, de modo a potenciar a sua valorização enológica.

Palavras- Chave: *uvas, castas inexploradas, região do Dão, antocianinas, compostos fenólicos não corados.*



## ABSTRAT

The Portuguese oenological sector is very important for the economy being of the main sectors of the national agriculture. The wines produced in Portugal have excellent quality and are known worldwide. The most important factors for this evaluation are the varieties and edapho-climatic conditions.

The grape is one of the best known and cultivated fruits in the world. Grapes are rich in sugars, volatile compounds, organic acids and phenolic compounds. The latter are important due their influence on wine quality and health benefit effects, like antioxidant and anti-inflammatory capacities, furthermore, they play an important role in plant growth, fertility and reproduction of the plant, in addition their influence on wine quality.

The main phenolic compounds found in grapes are distributed among phenolic acids, stilbenes and flavonoids. Among flavonoids highlight the flavanols (quercetin-3-O-galactoside and Kaempferol-3-O-glucoside), flavonols (epicatechin and catechin) and anthocyanins (malvidin-3-O-glucoside and peonidin-3-O-glucoside).

Portugal is a country with several autochthonous grape varieties, but many of them are not used in winemaking, due to lack of knowledge on their chemical characteristics and sensorial qualities. Therefore, it is extremely important to evaluate the phenolic profile of grapes in order to enhance their oenological value.

In this context, the aim of this study was to evaluate the phenolic profile by HPLC/DAD of 11 red grape varieties and 3 white grape varieties collected from Dão region, throughout the ripening.

In the studied grapes were identified a total of 22 phenolic compounds, distributed by 14 non-coloured and 8 coloured phenolic compounds. The caftaric acid and epicatechin were the main non-coloured phenolic compounds. In relation to coloured compounds, malvidin-3-O-glucoside and peonidin-3-O-glucoside were found in higher amounts in the 11 red grape varieties studied herein. Trincadeira was the red grape variety with higher contents in non-coloured and coloured phenolic compounds. On the other hand, Terrantez was the richest white grape variety in non-coloured phenolic.

In a general way, the red grapes, showed an increase in coloured and a decrease in the non-coloured phenolic compounds during the ripening. The with grapes studied showed an increase in phenolic compounds during ripening.

The studied varieties showed higher levels of phenolics suggesting, oenological potential, requiring more research concerning chemical composition, sensorial properties and capacity of production, in order to enhance their oenological appreciation.

Key-words: *grape, underexplored grapes, Dão region, anthocyanins, non-coloured phenolic compounds.*

# ÍNDICE

<b>AGRADECIMENTOS</b> .....	<b>I</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>III</b>
<b>ABSTRAT</b> .....	<b>V</b>
<b>ÍNDICE</b> .....	<b>VII</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	<b>IX</b>
<b>ÍNDICE DE TABELAS</b> .....	<b>XI</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b> .....	<b>XIII</b>
<b>I. INTRODUÇÃO TEÓRICA</b> .....	<b>1</b>
1.1. INTRODUÇÃO.....	1
1.2. PRODUÇÃO DE VINHO EM PORTUGAL .....	2
1.2.1. Principais castas portuguesas .....	3
1.2.2. DESIGNAÇÕES OFICIAIS .....	5
1.3. REGIÕES VITIVINÍCOLAS PORTUGUESAS.....	6
1.3.1. Região demarcada do Dão .....	8
1.3.2. Castas do Dão.....	9
1.4. UVA – ESTRUTURA E COMPOSIÇÃO FÍSICA.....	10
1.4.1. Engaço .....	10
1.4.2. Bago .....	11
1.4.2.1. Sementes .....	12
1.4.2.2. Película .....	12
1.4.2.3. Polpa.....	13
1.5. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DAS UVAS E MOSTOS.....	13
1.5.1. Água .....	13
1.5.2. Teores principais de açúcares nas uvas.....	13
.....	15
1.5.3. Compostos fenólicos .....	15
1.5.3.1. Não Flavonoides .....	17
1.5.3.1.1. Ácidos fenólicos .....	17
1.5.3.1.2. Estilbenos .....	19
1.5.3.2 Flavonoides.....	20
1.5.3.2.1. Flavonóis.....	21
1.5.3.2.2. Flavanóis.....	22
1.5.3.2.3. Antocianinas .....	26
1.6. MATURAÇÃO DA UVA.....	28

1.6.1. Fases de desenvolvimento da uva .....	29
1.6.1.1. Fase herbácea .....	29
1.6.1.2. Pintor.....	29
1.6.1.3. Fase de maturação.....	30
1.6.1.4. Fase de sobrematuração.....	30
1.6.2. Aspectos que influenciam a maturação.....	31
1.7. EVOLUÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS AO LONGO DA MATURAÇÃO.....	31
1.8. GRAU DE MATURAÇÃO.....	33
1.8.1. Maturação fisiológica.....	33
1.8.2. Maturação industrial.....	34
1.8.3. Maturação aromática.....	34
1.8.4. Maturação fenólica .....	34
<b>II. OBJETIVOS.....</b>	<b>36</b>
<b>III. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>37</b>
3.1. SUBSTÂNCIAS DE REFERÊNCIA E REAGENTES.....	37
3.2. AMOSTRAGEM .....	37
3.3. DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS CORADOS E NÃO CORADOS .....	38
3.3.1. Extração .....	38
3.3.2. Análise dos compostos fenólicos por HPLC-DAD .....	39
3.3.2.1. Antocianinas.....	39
3.3.2.2. Fenóis não corados .....	40
3.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	40
<b>IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>42</b>
4.1. COMPOSTOS FENÓLICOS NAS UVAS TINTAS.....	42
4.1.1. Compostos fenólicos não corados .....	42
4.1.2. Antocianinas.....	59
4.1.3. Análise de componentes principais .....	62
4.1.3.1. Análise de componentes principais das uvas tintas .....	63
4.2. COMPOSTOS FENÓLICOS NAS UVAS BRANCAS .....	64
4.2.1 Compostos fenólicos não corados .....	65
4.2.2 Análise de componentes principais das uvas brancas .....	70
<b>V. CONCLUSÕES.....</b>	<b>72</b>
<b>VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>73</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Regiões vitivinícolas portuguesas.....	8
<b>Figura 2.</b> Estrutura do engaço.....	11
<b>Figura 3.</b> Corte do bago da uva.....	12
<b>Figura 4.</b> Estrutura dos principais açúcares da uva. ....	15
<b>Figura 5.</b> Estrutura geral do fenol (A) e ácido fenólico (B). ....	17
<b>Figura 6.</b> Estruturas dos principais ácidos benzóicos das uvas. ....	18
<b>Figura 7.</b> Estruturas dos principais ácidos hidroxicinâmicos das uvas. ....	18
<b>Figura 8.</b> Estruturas dos derivados dos ácidos hidroxicinâmicos das uvas.....	19
<b>Figura 9.</b> Estrutura química do resveratrol.....	20
<b>Figura 10.</b> Estrutura geral dos flavonoides. ....	21
<b>Figura 11.</b> Estrutura dos principais flavonóis das uvas e vinhos. ....	22
<b>Figura 12.</b> Estrutura química de um flavanol. ....	23
<b>Figura 13.</b> Estrutura flavanóis monoméricos das uvas <i>Vitis vinifera</i> .....	24
<b>Figura 14.</b> Estrutura química da proantocianidinas B1. ....	26
<b>Figura 15.</b> Estrutura das proantocianidinas A2. ....	26
<b>Figura 16.</b> Estrutura química das antocianidinas. ....	27
<b>Figura 17.</b> Estrutura química das antocianinas.....	28
<b>Figura 18.</b> Evolução do tamanho dos bagos ao longo das fases de maturação da uva .....	29
<b>Figura 19.</b> Evolução dos compostos fenólicos ao longo da maturação.....	33
<b>Figura 20.</b> Perfil cromatográfico dos compostos fenólicos não corados da casta Rufete (T1) obtido por HPLC-DAD. Detecção a 280, 320 e 350 nm. (1) ácido gálico; (2) ácido <i>trans</i> -cafeoil tartárico; (3) ácido <i>trans-p</i> -cumaroil-tartárico; (4) catequina; (5) epicatequina; (6) ácido <i>p</i> -cumárico; (7) epicatequina-3-galható; (8) miricetina-3- <i>O</i> -glucósido; (9) resveratrol-3- <i>O</i> -glucósido; (10) quercetina-3- <i>O</i> -galactósido; (11) quercetina-3- <i>O</i> -rutinósido; (12) quercetina-3- <i>O</i> -glucósido; (13) canferol-3- <i>O</i> -glucósido; (14) isoramnetina-3- <i>O</i> -glucósido.....	43
<b>Figura 21.</b> Teor médio de compostos fenólicos não corados nas castas tintas colhidas no período T4 .....	45
<b>Figura 22.</b> Evolução do teor de compostos fenólicos não corados ao longo da maturação. ....	58
<b>Figura 23.</b> Perfil cromatográfico das antocianinas da casta Rufete (T1) obtido por HPLC-DAD. Detecção a 50 nm (15) delphinidina-3- <i>O</i> -glucósido; (16) cianidina-3- <i>O</i> -glucósido; (17) petunidina-3-	

O-glucósido; (18) peonidina-3-O-glucósido; (19) malvidina-3-O-glucósido; (20) petunidina-3-O- <i>p</i> -cumaroilglucósido; (21) peonidina-3-O- <i>p</i> -cumaroilglucósido; (22) malvidina-3-O- <i>p</i> -cumaroilglucósido.....	59
<b>Figura 24.</b> Teor médio em antocianinas presentes nas castas tintas colhidas na data T4.....	61
<b>Figura 25.</b> Evolução do teor de compostos fenólicos corados ao longo do tempo de maturação..	62
<b>Figura 26.</b> Projeção das diferentes castas tintas (A) (variáveis: Alvarelhão (Alv), Baga (Bag); Cidreiro (Cid); Coração de galo (CorG); Cornifesto (Corn); Monvedro (Mon); Negro mouro (NegM); Rufete (Ruf); Touriga fêmea (TouF); Touriga nacional (TouN); Trincadeira (Trinc) e dos componentes, compostos fenólicos no plano composto por as componentes principais PC1 e PC2 representando 56,60% do total e variância para a composição em compostos fenólicos. ....	64
<b>Figura 27.</b> Teor médio de compostos fenólicos não corados nas castas brancas estudadas colhidas no T4 .....	66
<b>Figura 28.</b> Evolução do teor de compostos fenólicos não corados ao longo do tempo de maturação.....	70
<b>Figura 29.</b> Projeção das diferentes castas brancas (A) (variáveis: Luzidio (Luz); Uva cão (UvaC) e Terrantez (Ter) e dos componentes, compostos fenólicos no plano composto por as componentes principais PC1 e PC2 representando 100% do total e variância para a composição em compostos fenólicos. ....	71

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Principais castas produzidas nas diferentes regiões vitivinícolas portuguesas .....	3
<b>Tabela 2.</b> Castas recomendadas e autorizadas para a região demarcada do Dão .....	10
<b>Tabela 3.</b> Data da recolha das amostras.....	37
<b>Tabela 4.</b> Caracterização das castas utilizadas neste estudo. ....	38
<b>Tabela 5.</b> Compostos fenólicos da casta Touriga nacional ao longo da maturação .....	47
<b>Tabela 6.</b> Compostos fenólicos da casta Trincadeira ao longo da.....	48
<b>Tabela 7.</b> Compostos fenólicos da casta Monvedro ao longo da maturação.....	49
<b>Tabela 8.</b> Compostos fenólicos da casta Rufete ao longo da maturação .....	50
<b>Tabela 9.</b> Compostos fenólicos da casta Touriga fêmea ao longo da maturação .....	51
<b>Tabela 10.</b> Compostos fenólicos da casta Alvarelhão ao longo da maturação .....	52
<b>Tabela 11.</b> Compostos fenólicos da casta Coração de galo ao longo da maturação .....	53
<b>Tabela 12.</b> Compostos fenólicos da casta Cornifesto ao longo da maturação .....	54
<b>Tabela 13.</b> Compostos fenólicos da casta Cidreiro ao longo da maturação .....	55
<b>Tabela 14.</b> Compostos fenólicos da casta Baga ao longo da maturação .....	56
<b>Tabela 15.</b> Compostos fenólicos da casta Negro mouro ao longo da maturação .....	57
<b>Tabela 16.</b> Compostos fenólicos da casta Terrantez ao longo da maturação .....	67
<b>Tabela 17.</b> Compostos fenólicos da casta Luzidio ao longo da maturação .....	68
<b>Tabela 18.</b> Compostos fenólicos da casta Uva cão ao longo da maturação .....	69





## **LISTA DE ABREVIATURAS**

DO – denominação de origem

DOC – denominação de origem controlada

DOP – denominação de origem protegida

HBA – ácidos hidroxibenzóicos

HCA – ácidos hidroxicinâmicos

HPLC – cromatografia líquida de alta eficácia

IG – indicação geográfica

IGP – indicação geográfica protegida

Mhl – milhões de hectolitros

PC - componente principal

PCA - análise de componentes principais

pH – potencial do hidrogénio

UV – ultravioleta

UVA – raios ultravioleta A

UVB – raios ultravioleta B

VQPRD - vinho de qualidade produzido em região determinada



# I. INTRODUÇÃO TEÓRICA

## 1.1. INTRODUÇÃO

A uva é um dos frutos mais produzidos a nível mundial, principalmente devido à sua utilização para a produção de vinho. Ela é definida como o fruto produzido pela videira *Vitis vinifera*, sendo originária do Cáucaso, e posteriormente difundida por toda a costa mediterrânea. Em termos físicos as uvas são compostas pelo engaço, bago, película, polpa e grainhas (Garcia, 2004; Guerra *et al.*, 2009; Xu *et al.*, 2010; Llobera *et al.*, 2007). Após o esmagamento e prensagem, as uvas dão origem ao mosto, que será transformado em vinho após a fermentação alcoólica (Garcia, 2004).

Ao longo dos séculos foram selecionadas milhares de variedades de *V. vinifera*, especialmente variedades destinadas à produção de vinhos (Guerra *et al.*, 2009). Atualmente, as uvas cultivadas em todo o mundo, pertencem essencialmente a quatro tipos, europeu (*Vitis vinifera L.*), americano (*V. labrusca* e *V. vinifera L.*), muscadino (*V. rotundifolia michx*) e amurensis (*V. amurensis*). A *V. vinifera* é a única espécie utilizada a nível mundial na indústria do vinho, representando 71% da produção total de uvas (Garcia, 2004; Yang *et al.*, 2009).

Portugal é um dos países com maior número de castas autóctones, cerca de 250, estando esta diversidade centrada especialmente no norte do país. Contudo, verifica-se uma tendência de abandono de muitas castas por parte dos viticultores, optando apenas pelo cultivo de uma parte das castas existentes, o que representa uma verdadeira ameaça ao património varietal do país (Costa, 2015; Carneiro *et al.*, 2015).

Este fruto é muito apreciado devido à sua elevada composição fenólica. Sendo que a maior parte dos polifenóis constituintes das uvas são encontrados nas sementes, e na película. A sua composição fenólica é influenciada por diversos fatores, nomeadamente as condições ambientais e o grau de maturação, sendo por isso aspetos a ter em conta na produção de vinhos (Pérez-Magarino *et al.*, 2004). Desta forma o conhecimento da composição das uvas em termos químicos é importante para a valorização deste produto, e pela influência que exercem nas propriedades sensoriais dos vinhos (Shrikhande, 2000). A existência de um perfeito conhecimento deste fruto aliado às tecnologias de vinificação, permite a elaboração de vinhos de qualidade excepcional (Guedes *et al.*, 1997). Contudo, a qualidade dos vinhos produzidos a partir de determinada casta não depende apenas do seu potencial enológico e composição química, mas também da sua adaptação à região vitivinícola em que está inserida (Pereira, 2010).

Assim sendo, com o presente trabalho pretendeu-se estudar um conjunto de castas que têm pouca expressão na produção de vinho do Dão, existindo fundamentalmente nas vinhas mais antigas, este desinteresse por algumas castas ocorreu de forma empírica sem qualquer evidência científica documentada. O estudo da composição fenólica das 14 castas provenientes da região do Dão tem como objetivo de aumentar o conhecimento sobre castas e tentar promover a sua valorização para a produção de vinhos, uma vez que este tipo de compostos são extremamente importantes para a obtenção de vinhos de qualidade superior.

## **1.2. PRODUÇÃO DE VINHO EM PORTUGAL**

Nos últimos anos, a produção anual de vinho no mundo rondou cerca de 267 a 300 milhões de hectolitros (Mhl). A União Europeia (EU) foi responsável pela produção total de 60%, sendo a Itália, França e Espanha os maiores produtores. Contudo, em países como os EUA, Argentina, China e Austrália a produção de vinho tem vindo a aumentar nos últimos anos, correspondendo a cerca de 64 Mhl por ano (Spanghero *et al.*, 2009; Kammerer *et al.*, 2004; Prozil *et al.*, 2012).

A Europa é a região do mundo com maior produção de vinho devido às condições edafoclimáticas típicas e mais favoráveis para o cultivo de uvas. A precipitação é também um fator atmosférico central visto que regula a humidade do solo e o potencial hídrico da videira. Para o crescimento/aparecimento do fruto é necessária uma temperatura cerca de 10° C sendo precedida preferencialmente por um período de frio moderado, condições típicas de alguns países europeus (Fraga *et al.*, 2014).

A vitivinicultura é um dos setores mais importantes da agricultura nacional e Portugal apresenta uma produção de vinho anual de cerca de 7 milhões de hectolitros, ocupando assim o 10º e o 5º lugar no ranking mundial e Europeu, respetivamente (Prozil *et al.*, 2012). Em Portugal o consumo de vinho está ligado às refeições, sendo o acompanhamento predileto de muitos portugueses para a degustação das iguarias nacionais. Segundo estatísticas recentes, Portugal encontra-se entre os países que apresentam maior consumo de vinho, com um consumo anual cerca de 4.600 Mhl de vinho e um consumo per capita que ronda os 42 litros (OIV, 2014).

O consumo de vinho a nível mundial situa-se entre os 234,4 e 243,1 Mhl. A Europa continua a ser o continente com maior consumo, cerca de 155,8 Mhl (OIV, 2014).

### 1.2.1. Principais castas portuguesas

As castas são distinguíveis entre si pela morfologia dos seus órgãos, das folhas novas, das folhas adultas e dos seus cachos. Cada região vitivinícola contribui para a personalidade de cada casta, graças às suas características edafoclimáticas, apresentando variações consideráveis de região para região (Pereira, 2010).

A nível nacional existem diversas castas brancas e tintas utilizadas para a produção de vinho, estando divididas em castas autorizadas e recomendadas conforme a região (Tabela 1). As castas recomendadas são as mais importantes na região e por isso as mais utilizadas. As castas autorizadas têm vindo a desaparecer na região, praticamente só existem nas vinhas mais antigas. Estas foram perdendo preponderância, mas podem ser utilizadas para a produção de vinho numa determinada região (Portaria n.º 413/2001; Silva *et al.*, 2007).

**Tabela 1.** Principais castas produzidas nas diferentes regiões vitivinícolas portuguesas (Infovini, 2014).

	<b>Castas Brancas</b>	<b>Castas tintas</b>
<b>Vinhos Verdes</b>	Alvarinho; Avesso; Azal; Loureiro; Trajadura	Borraçal; Espadeiro; Vinhão
<b>Trás-os-Montes</b>	Fernão Pires; Malvasia fina; Rabo de ovelha	Aragonez; Touriga franca;
	Siria; Verdelho; Viosinho	Turiga nacional; Trincadeira
<b>Douro</b>	Cercial; Malvasia fina; Moscatel; Rabo de ovelha	Aragonez; Rufete; Tinta barroca; Tinto cão
	Siria; Verdelho; Viosinho	Touriga nacional; Touriga franca;
<b>Bairrada</b>	Arinto; Bical; Cercial; Fernão Pires; Rabo de ovelha	Tincadeira; Vinhão
		Alfrocheiro; Baga; Jaen; Rufete;
<b>Dão</b>	Bical; Cercial; Encruzado; Malvasia fina	Touriga nacional
		Cercial; Aragonez; Jaen; Rufete; Tinto cão;
<b>Beira interior</b>	Arinto; Bical; Cercial; Fernão Pires; Fontecal;	Touriga nacional
	Malvasia fina; Rabo de ovelha; Siria	Aragonez; Rufete; Touriga franca;
<b>Lisboa</b>	Arinto; Fernão Pires; Malvasia fina;	Touriga nacional
	Rabo de ovelha	Aragonez; Rufete; Touriga franca; Touriga nacional
<b>Tejo</b>	Arinto; Fernão Pires; Rabo de ovelha	Alfrocheiro; Aragonez; Baga; Castelão;
<b>Península de Setúbal</b>		Touriga nacional; Trincadeira
	Arinto; Fernão Pires; Moscatel; Siria	Castelão; Moscatel Galego roxo;
<b>Alentejo</b>		Trincadeira
	Antão Vaz; Rabo de ovelha; Siria	Alfrocheiro; Aragonez; Moreto; Tinta caíada;
<b>Algarve</b>		Tincadeira; vinhão
	Arinto; Malvasia fina; Siria	Castelão; Tinta negra
<b>Madeira</b>	Cercial; Malvasia fina; Terrantez; Verdelho	Tinta negra
<b>Açores</b>	Arinto; Fernão Pires; Malvasia fina;	
	Terrantez;	
	Verdelho	

Dentro da categoria de autorizadas, podemos destacar algumas das castas que são mais comuns em Portugal por se distribuírem um pouco por todo o país.

A **Touriga nacional** é considerada uma das principais castas tintas, graças ao seu elevado valor enológico em zonas quentes. Esta casta possui uma elevada intensidade de cor e um aroma bastante complexo. Sendo considerada uma “casta-piloto” conduzindo à produção de vinhos de elevada qualidade. Ela caracteriza-se por apresentar pouca produção, bagos pequenos, arredondados e pouco uniformes, a película é grossa e rica em compostos corados, dando aos vinhos cores intensas. A polpa por sua vez é rija, não corada, muito suculenta, apresentando um sabor muito peculiar.

O vinho produzido a partir desta casta é caracterizado pelo seu aroma macio, a lembrar frutos silvestres com elevada capacidade de envelhecimento. Quimicamente, no que respeita ao aroma, a Touriga nacional possui concentrações mais elevadas de terpenos livres (150 µg/L), apresentando maior teor em  $\beta$ -damascona e norisoprenoides, comparativamente a outras castas. A acidez natural do mosto é conferida essencialmente pelos ácidos málico e tartárico, apresentando valores altos (4,5 – 6,0 g/L) (Böhm, 2007; Borges, 2012). Todas estas características permitem produzir vinhos equilibrados, com boa graduação alcoólica, aroma e sabor inconfundíveis (Böhm, 2007).

A **Touriga Franca** tem como particularidade a resistência do cacho ao calor permitindo a maturação da uva sem grandes danos, e possui elevada intensidade corante. O vinho produzido a partir dela apresenta aroma intenso com toque floral, contudo em condições edafoclimáticas menos favoráveis verifica-se uma acentuada queda da qualidade do vinho. Do ponto de vista químico, esta casta caracteriza-se por uma acidez mediana essencialmente devida ao ácido tartárico. Relativamente aos precursores de aroma, é uma casta rica em terpenos livres, sendo equivalente à Touriga nacional no que respeita ao teor em norisoprenóides (Böhm, 2007).

**Trincadeira** é uma das castas com maior distribuição pelas zonas vitivinícolas portuguesas, caracteriza-se por apresentar um cacho fechado, sendo a última casta a perder as folhas, tem também o perigo de excesso de produção. Os seus cachos têm fraca capacidade de se conservarem sãos até atingirem a maturação. A qualidade dos vinhos produzidos a partir de trincadeira depende muito do seu ambiente, uma vez que esta é uma casta utilizada em muitas regiões vitivinícolas, podendo produzir uvas de elevada qualidade para a produção de vinho (Böhm, 2007; Santos, 2007). No que respeita à caracterização química, esta casta possui uma acidez média, derivada essencialmente do ácido tartárico, apresenta cor granada intensa graças aos seus teores em antocianinas. Em termos aromáticos é constituída por um elevado número de terpenos, tais como linalol e  $\beta$ -damascenona, mas também por norisoprenoides (Böhm, 2007).

O **Alfrocheiro** está distribuído por diferentes regiões vitivinícolas, sobretudo no Alentejo e Dão. Esta é uma planta com sensibilidade ao escaldão, devendo evitar-se o excesso de produção nos primeiros anos de vida, pois pode comprometer o desempenho da planta ao longo da sua vida útil. Morfologicamente caracteriza-se por apresentar um cacho pequeno e compacto. O vinho produzido com uvas Alfrocheiro é de elevado potencial, equilibrado em termos de acidez, evoluindo rapidamente com a idade. A sua qualidade depende sempre da região, os vinhos produzidos com uvas da região do Dão apresentam uma boa capacidade de envelhecimento. Do ponto de vista aromático, apresentam valores elevados de terpenos, sendo que as castas produzidas no Alentejo apresentam valores mais elevados comparativamente a outras regiões. Esta casta apresenta uma acidez média (Böhm, 2007; Borges, 2012).

A casta **Aragonez** encontra-se também distribuída por diversas regiões vitivinícolas de norte a sul de Portugal. Esta casta possui uma grande variabilidade de qualidade enológica e intensidade de cor conforme a região de produção. Os seus vinhos são bastante corados e aromaticamente intensos, apresentam um elevado potencial de envelhecimento. Esta casta apresenta uma acidez média, é também uma casta rica em terpenos e norisoprenoides (Böhm, 2007).

A casta **Arinto** é considerada uma das castas brancas de maior valor enológico, morfológicamente é facilmente reconhecível pela desorganização da vegetação, possui folhas e cachos grandes, e caracteriza-se por ser a última casta a abrolhar (Böhm, 2007; Genisheva, 2007). Os seus vinhos são de elevada qualidade e com boa capacidade de envelhecimento. Do ponto de vista químico, apresenta um mosto de acidez elevada. A sua cor é pouco intensa e apresenta níveis elevados de terpenos livres (Böhm, 2007).

### 1.2.2. DESIGNAÇÕES OFICIAIS

Com a entrada de Portugal na União Europeia (EU), surgiu a obrigação de algumas alterações na designação dos vinhos produzidos (Climaco *et al.*, 2007).

A **denominação de origem** (DO) está relacionada com a originalidade e individualidade dos vinhos, estando associada a uma determinada região. Ou seja, denominação de origem é o nome de uma região ou de um determinado local que serve para designar um produto, cuja qualidade e características se devem essencialmente ou exclusivamente ao meio geográfico em que estão inseridos. Para a obter esta designação exige-se que o vinho seja produzido com uvas pertencentes à espécie *V. vinifera*, e a sua produção deve ocorrer única e exclusivamente na área geográfica, que o irá denominar. Desta forma, para a

atribuição da DO a um vinho, este deve cumprir estes requisitos referidos (Regulamento CE nº 49/2009).

Para a obtenção desta designação, todas as etapas de elaboração do vinho sofrem um controlo rigoroso. Assim, são verificados diversos elementos, tais como as castas utilizadas, o método de vinificação, as características organoléticas, o modo de preservar, entre outras (IVV, 2014).

As regras para a atribuição desta designação têm como objetivo proteger os interesses legítimos dos consumidores e produtores, bem como garantir o bom funcionamento dos mercados, e a promoção de produtos de qualidade (Regulamento CE nº 49/2009).

A DO pode ser dividida em duas designações, a **denominação de origem protegida** (DOP) e a **denominação de origem controlada** (DOC).

A DOP é adotada para vinhos com denominação de origem, aos quais é conferida proteção, para tal é elaborado um pedido de proteção do nome que deve cumprir os requisitos estabelecidos por lei. A DOC refere-se aos vinhos que são provenientes de regiões produtoras mais antigas e por isso possuem legislação própria, evitam a utilização de DOP (Regulamento CE nº 49/2009; Regulamento CE nº 2081/92).

Também pode ser atribuída aos vinhos a **indicação geográfica** (IG), que é a indicação relativa a uma região ou local que serve para designar o produto que deverá ser originário dessa região, e possuir qualidade, reputação ou outras características que sejam atribuídas a essa mesma região geográfica. Para atribuição desta designação a um vinho, pelo menos 85% das uvas utilizadas para a sua produção devem ser provenientes exclusivamente dessa área geográfica, e também a produção do vinho deve aí ocorrer (Regulamento CE nº 49/2009). A indicação geográfica protegida (IGP) serve para designar vinhos com IG que se integra num registo comunitário único e lhes confere proteção de acordo com a regulamentação (Regulamento CE nº 49/2009).

De entre as designações oficiais também é atribuída aos vinhos a designação de **vinho de qualidade produzido em região determinada** (VQPRD), esta designação engloba todos os vinhos com a designação DOC (Vinho verde, 2014).

### **1.3. REGIÕES VITIVINÍCOLAS PORTUGUESAS**

Em Portugal existe uma vasta gama de vinhos, estes são classificados de acordo com a região onde são produzidos, Portugal possui 14 diferentes regiões vitivinícolas (Figura 1). O clima, o solo de Portugal, e as castas fazem dos vinhos portugueses como sendo dos mais famosos e considerados por muitos especialistas como os de melhor qualidade.



Portugal possui uma vasta gama de vinhos, tais como o vinho verde caracterizado pela sua frescura e o vinho do Porto considerado um vinho generoso (Climaco *et al.*, 2007).

O clima é um dos fatores mais importantes na produção de vinho e que mais condiciona as suas características e qualidades. Apesar de ser um país pequeno, existe uma diferença considerável entre o clima das diferentes regiões vitivinícolas permitindo a obtenção de vinhos de diferentes características. Particularmente na região do Dão, o clima é húmido durante o inverno sendo seco no verão (Climaco *et al.*, 2007).

As regiões vitivinícolas portuguesas podem ser divididas essencialmente em dois grandes grupos: as regiões que sofrem uma influência dos ventos marítimos, mais ou menos acentuada, que inclui as regiões dos vinhos verdes, Bairrada, Península de Setúbal. E o grupo das regiões mais quentes, ao abrigo da influência atlântica, incluindo as regiões do Douro, Trás-os-Montes, Dão, Beira interior, Távora e Varosa, Tejo, Alentejo e Algarve (Climaco *et al.*, 2007).

A região vitivinícola do vinho verde é a maior do país, e os seus vinhos são caracterizados por serem tipicamente acidulados, leves e mediantemente alcoólicos. Por sua vez, a região da Bairrada foi uma das primeiras regiões nacionais a explorar os vinhos espumantes, as suas uvas são caracterizadas por elevada acidez e baixo teor de açúcar (Böhm, 2007). A região da Península de Setúbal caracteriza-se pelos seus aromas florais nos vinhos brancos e pelos sabores suaves e a especiarias nos vinhos tintos. Destaca-se nesta região o vinho elaborado a partir da casta moscatel, sendo um dos mais antigos e famosos vinhos a nível mundial (Infovini, 2014; IVV, 2014).

Dentro das regiões com influência atlântica, podemos destacar a região do Douro onde se produz o famoso vinho do Porto, conhecido em todo o mundo. As castas cultivadas nesta região não são célebres pela elevada produção, sendo esta uma das regiões mais ricas em castas autóctones (Böhm, 2007).

A região de Trás-os-Montes é caracterizada por se situar numa região de altitude elevada e que atravessa verões com temperaturas muito elevadas, por sua vez, o Alentejo é uma das maiores regiões vitivinícolas portuguesas. Esta região caracteriza-se pelas suas largas planícies, produzindo-se aqui vinhos brancos ligeiramente ácidos e com aromas a frutos tropicais e vinhos tintos encorpados ricos em taninos (Infovini, 2014; IVV, 2014).

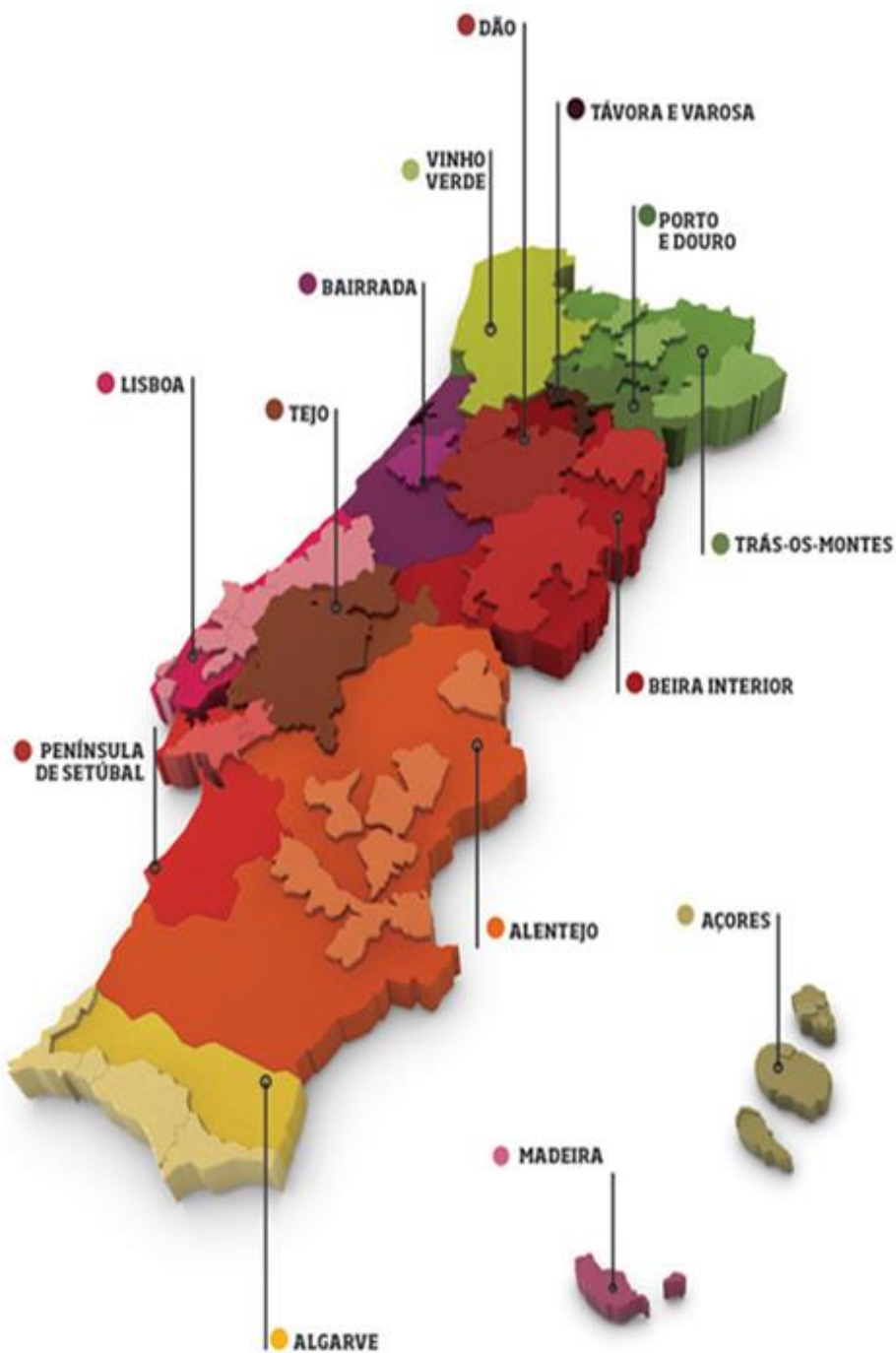


Figura 1. Regiões vitivinícolas portuguesas (Wines of Portugal, 2014).

### 1.3.1. Região demarcada do Dão

A região do Dão é uma das regiões com tradições vitivinícolas importantes, situada no centro-norte de Portugal, na região da Beira Alta. Onde as condições geográficas são excelentes para a produção de vinho (Valentão *et al.*, 2007). Esta região está rodeada

pelas serras do Caramulo, Montemuro, Buçaco e Estrela, que constituem uma importante barreira aos ventos e às massas húmidas.

Na Região do Dão, as vinhas estão situadas ente os 400 e os 700 metros de altitude, esta é uma região montanhosa com solos predominantemente xistosos ou graníticos de pouca profundidade, os quais são maioritariamente húmidos e férteis. A nível climatérico esta região apresenta um clima temperado apesar de ter Invernos frios e chuvosos e verões quentes e secos, por influência do atlântico e do interior (Valentão *et al.*, 2007).

A região dos vinhos do Dão é caracterizada pelos seus vinhos brancos bastante aromáticos, frutados e equilibrados, por sua vez os vinhos tintos são encorpados, aromáticos, tornando-se mais complexo após o envelhecimento em garrafa (CRVD, 2014; Infovini, 2014).

Dentro das diferentes castas do Dão, a Touriga nacional é a mais importante para a produção de vinhos tintos DOC Dão, sendo responsável pelo prestígio e qualidade que estes vinhos ganharam ao longo dos tempos (Valentão *et al.*, 2007).

### **1.3.2. Castas do Dão**

Na Tabela 2 podemos observar as castas recomendadas e autorizadas para a região do Dão. Dentro das castas recomendadas para a região do Dão, as variedades tintas mais utilizadas são o Jean, Alfrocheiro e a Touriga nacional. As castas brancas mais utilizadas são a Malvazia-fina, Bical e o Encruzado (Pereira, 2010).

A Touriga nacional é a casta mais importante desta região. Esta é considerada uma casta nobre e muito apreciada em Portugal. Inicialmente era apenas cultivada na região do Dão, atualmente, está expandida por outras regiões vitivinícolas como o Douro e Alentejo (Silva *et al.*, 2005).

**Tabela 2.** Castas recomendadas e autorizadas para a região demarcada do Dão (CVRD, 2014).

\*a sublinhado as castas utilizadas neste trabalho

	<b>Recomendadas</b>	<b>Autorizadas</b>
<b>Castas tintas</b>	Alfrocheiro; <u>Alvarelhão</u> ; Aragonez; Bastardo; Jean; <u>Rufete</u> ; Tinto cão; <u>Touriga nacional</u> ; <u>Trincadeira</u> .	Água-santa; <u>Baga</u> cabernet-sauvignon; Campanário; Castelão; <u>Cidreiro</u> ; <u>Coração de galo</u> ; <u>Cornifesto</u> ; Malvasia preta; Marufo; <u>Monvedro</u> ; <u>Negro mouro</u> ; Pilongo; Pinot-noir; Tinta carvalha; <u>Touriga fêmea</u> .
<b>Castas brancas</b>	Barcelo; Bical; Cerceal branco; Encruzado; Malvasia fina; Rabo de ovelha; <u>Terrantez</u> ; <u>Uva cão</u> ; Verdelho.	Alicante branco; Arinto do interior; Assaraky; Dona branca; Esganoso; Fernão Pires; Jampal; <u>Luzido</u> ; Malvasia fina roxa; Malvasia rei; Pinot-blanc; Siria; Semillon; Tália; Tamarez; Verdial branco.

## 1.4. UVA – ESTRUTURA E COMPOSIÇÃO FÍSICA

A videira tem como fruto a uva, que é um cacho constituído por bagos redondos. As uvas são organizadas em grupos, onde cada bago está ligado à haste pelo pedúnculo. A estrutura depende do tamanho da haste, quando esta é comprida, os bagos estão distanciados uns dos outros, quando a haste é curta, os bagos encontram-se todos muito próximos.

As condições ambientais e os fatores genéticos caracterizam a formação e o crescimento do fruto, por isso são características que vão influenciar o seu desenvolvimento e a sua composição (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998).

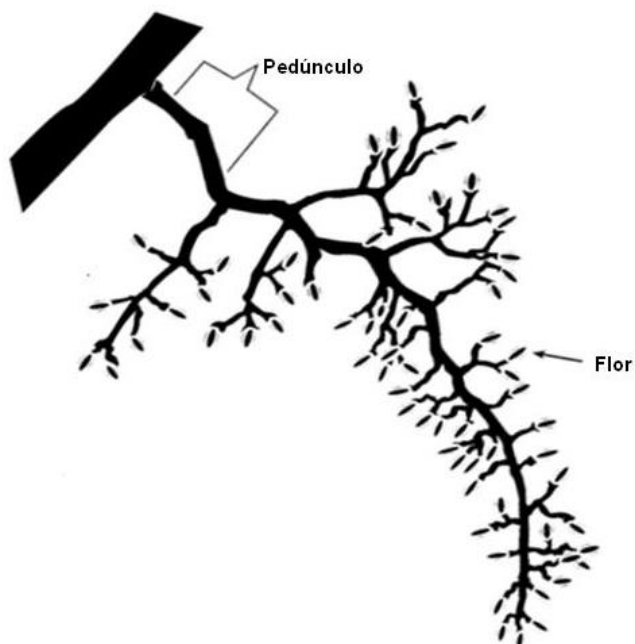
O cacho da uva é constituído pelos bagos e o pelo talo ramificado, a sua cor varia conforme a casta da uva, enquanto que a pigmentação da polpa é diferente. Desta forma a uva é então constituída por duas partes distintas, o engaço que corresponde à parte lenhosa, e os bagos que correspondem à parte carnuda (Mendes, 2008; Lozano, 2013).

### 1.4.1. Engaço

O engaço (Figura 2) é o primeiro subproduto obtido no processo de vinificação, é um resíduo lenho celulósico renovável, não sendo competitivo com os produtos alimentares (uva) (Prozil *et al.*, 2012).

O engaço é um constituinte muito importante da videira, pois determina a estrutura do cacho, representando cerca de 3 a 9% do seu peso total. Ele é constituído por um eixo

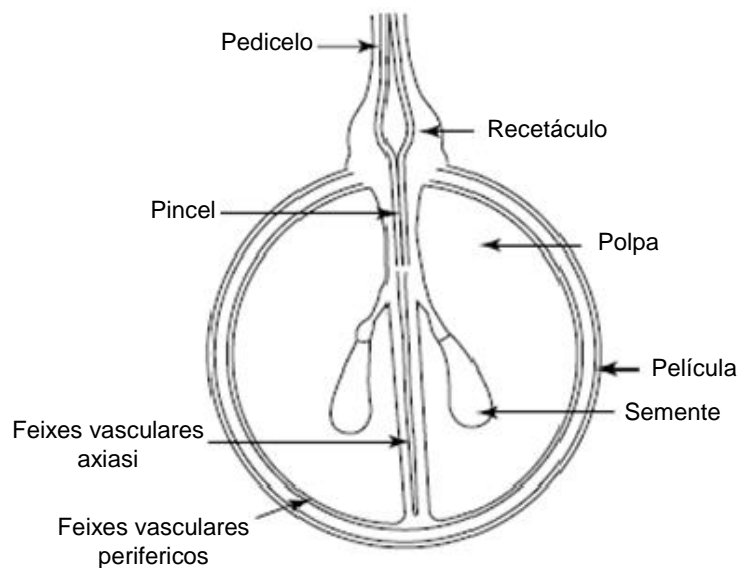
principal que está ligado ao pedúnculo e por ramificações mais pequenas, que suportam os bagos e são responsáveis por fornecer-lhes água e sais minerais (Mendes, 2008).



**Figura 2.** Estrutura do engaço (adaptado de Dokoozlin, 2000).

#### **1.4.2. Bago**

Cada bago (Figura 3) da uva é constituído por um conjunto de tecidos, designados por pericarpo, que envolvem as sementes e representam 91 a 97 % do peso total do cacho da uva. O pericarpo é dividido em exocarpo (película), mesocarpo (polpa) e endocarpo (parte que protege as sementes) (Mendes, 2008; Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998).



**Figura 3.** Corte do bago da uva (adaptado de Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998).

#### 1.4.2.1. Sementes

As sementes têm origem na fecundação dos óvulos da flor, representam cerca de 0 a 6% do peso dos bagos. As sementes são constituídas por taninos e óleos. Elas são ricas em compostos fenólicos, principalmente as oriundas de castas tintas, contêm cerca de 20 a 25% dos polifenóis totais do bago, dependendo da variedade. Durante a maturação da uva, o teor de taninos nas sementes diminui (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998).

#### 1.4.2.2. Película

A película constitui a parte exterior do bago da uva caracteriza-se por ser uma membrana heterogénea composta por cutícula, epiderme e hipoderme (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998). Dependendo do tipo de película, normalmente esta corresponde a cerca de 8 a 20% em peso do bago. Durante a maturação e desenvolvimento da uva, a cutícula desorganiza-se e a sua espessura diminui (Mendes, 2008; Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998).

A película quimicamente é constituída por celulose, ácidos orgânicos, minerais, flavonoides, aromas e taninos (Garcia, 2004).

Normalmente, o teor de açúcar nas células da pele (película) é reduzido, sendo a película especialmente rica em ácido cítrico. O ácido málico encontra-se em grande quantidade na película das uvas verdes, sendo metabolizados ao longo da maturação. Os compostos fenólicos presentes na película das uvas são essencialmente ácidos benzóicos e

cinâmicos, flavonoides e taninos. Além disso, na película (hipoderme) nas uvas tintas são encontradas as antocianinas (Ribéreau-Gayon *et al.*,1998).

### **1.4.2.3. Polpa**

A polpa é a parte mais importante do bago, representa cerca de 85 % do peso total do bago, sendo composta por células largas poligonais, de parede delgada e desorganizada durante a maturação do bago (Ribéreau-Gayon *et al.*,1998; Mendes, 2008). As diferentes zonas constituintes da polpa estão representadas na Figura 3.

Os seus constituintes principais são açúcares, principalmente a frutose e glucose. A sacarose é encontrada vestigialmente nas sementes (Ribéreau-Gayon *et al.*,1998).

## **1.5. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DAS UVAS E MOSTOS**

### **1.5.1. Água**

O teor de água presente nas uvas é pouco discutido, uma vez que a sua presença é já um dado adquirido. A água é o constituinte químico predominante nas uvas, cerca de 76 a 88% da sua composição, e conseqüentemente no mosto, desempenha um papel fundamental na definição das características básicas dos vinhos produzidos a partir dessas uvas (Ciudad *et al.*, 1990).

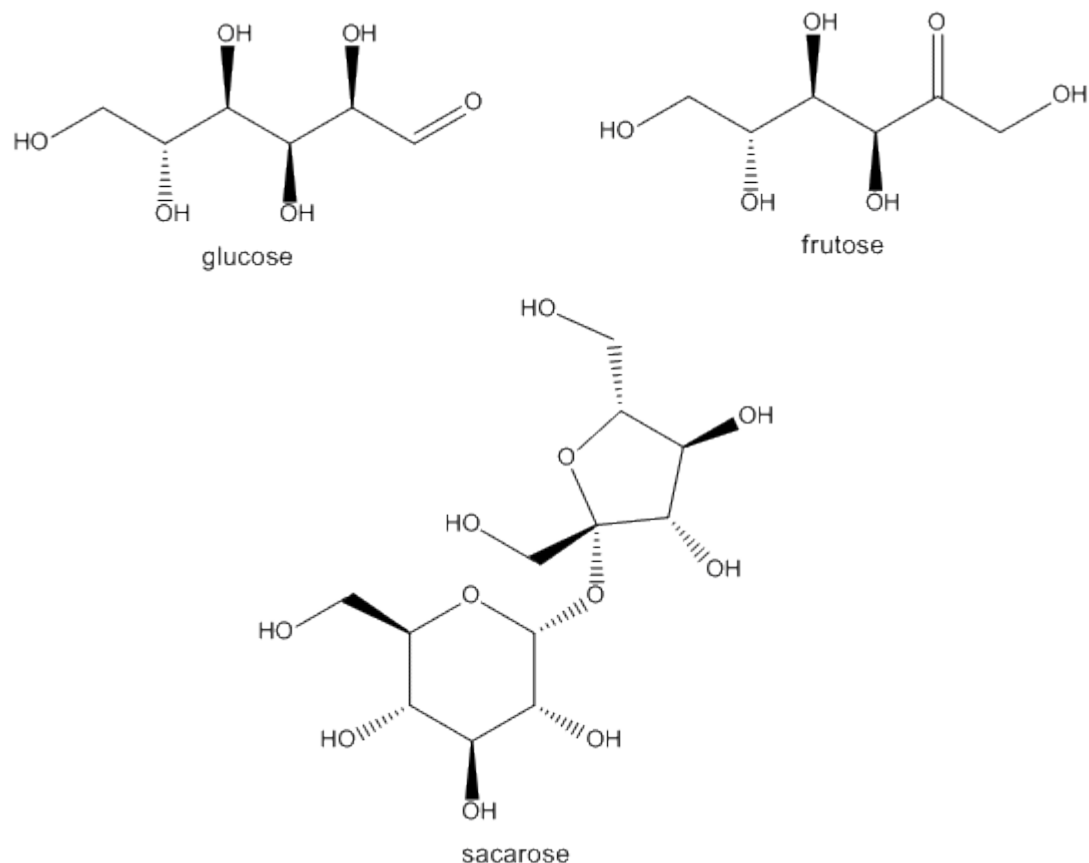
A água possui, também, um papel importante no desenvolvimento das uvas, sendo um componente fundamental em muitas reações que estão envolvidas no crescimento das uvas, bem como na fermentação e envelhecimento dos vinhos (Jackson, 1994).

### **1.5.2. Teores principais de açúcares nas uvas**

Os açúcares são uma categoria de hidratos de carbono distinguíveis pela presença de grupos hidroxilo e um grupo aldeído ou cetona (Jackson, 1994). Eles são compostos terciários constituídos por carbono, hidrogénio e oxigénio (Mendes, 2008). Os açúcares podem ligar-se entre si, formando assim polímeros, tais como as pectinas, amidos e celulose, ou ligar-se a metabolitos secundários, como as lactonas e antocianidinas para formar glicosídeos (Jackson, 1994). De acordo com o grau de polimerização podem ser classificados como monossacarídeos, dissacarídeos, trissacarídeos ou polissacarídeos (Arribas *et al.*, 2009).

As moléculas de açúcar são reativas devido ao seu carácter polifuncional, à presença do grupo carbonilo e dos radicais aldeído e cetona, tornando-se capazes de participar num grande número de reações bioquímicas, químicas e metabólicas. Estas reações desempenham um papel importante na produção do vinho, especialmente nos seus níveis de açúcar (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998). O papel dos açúcares na adega é muito importante, visto serem fontes de fermentação que dão origem à produção de álcool. Contribuem, também, para o sabor dos vinhos, conferindo-lhes doçura, que varia consoante o tipo de vinho. Eles contribuem para o aroma, devido à formação de alguns compostos voláteis (Arribas *et al.*, 2009). Desta forma, o teor de açúcar da uva é um fator importante para o crescimento das leveduras e para o seu metabolismo. A maior parte da energia metabólica da *Saccharomyces cerevisiae*, levedura principal do vinho, é derivada da glucose e da frutose, por isso é importante que a maioria dos nutrientes da uva esteja na forma de glucose e frutose, para que possa ocorrer a fermentação (Jackson, 1994). Os principais açúcares presentes na uva são a glucose e a frutose (Figura 4). Estes têm uma importância evidente na vinificação, uma vez que são transformados em álcool durante a fermentação alcoólica, por ação das leveduras (Mendes, 2008). Geralmente, durante a maturação, os teores de glucose e frutose ocorrem em proporções idênticas, enquanto que uvas demasiado maduras apresentam, por vezes maior quantidade em frutose. Geralmente, a concentração total de glucose e frutose no sumo de uvas maduras é cerca de 150 a 250 g/L. Relativamente à sacarose, raramente aparece em castas de *V. vinifera*, contudo pode constituir até 10% do teor em hidratos de carbono em não *V. vinifera*. A sacarose é transformada enzimaticamente em glucose e frutose (Jackson, 1994; Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998). Os açúcares são, ainda, precursores de ácidos orgânicos. A glucose é o precursor do ácido cítrico, málico e succínico através da via da glicólise aeróbia, e precursor do ácido tartárico pela via das pentoses. Eles são, também, precursores dos fenóis e dos aminoácidos aromáticos, tais como a tirosina, fenilalanina e triptofano (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998). Durante a fermentação alcoólica da glucose e frutose geram-se etanol e outros subprodutos. Para a produção de 1% (vol) de etanol são necessários 16,5 a 18,5 g/L de açúcar (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998).





**Figura 4.** Estrutura dos principais açúcares da uva.

### 1.5.3. Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos estão amplamente distribuídos no reino vegetal, encontrando-se em diversas frutas, legumes, flores entre outros. A uva é um dos frutos que possui maiores quantidades deste tipo de compostos (Malacrida *et al.*, 2005; Valls *et al.*, 2009). Os compostos fenólicos são metabolitos secundários, que geralmente possuem na sua estrutura pelo menos um anel aromático de benzeno, que contém no mínimo um grupo hidroxilo livre ou envolvido noutra função. Sendo a sua reatividade devida ao carácter ácido da função fenólica e ao carácter nucleófilo do anel de benzeno (Figura 5) (Malacrida *et al.*, 2005; Monagas *et al.*, 2007; Lorrain *et al.*, 2013).

De acordo com a sua estrutura, os compostos fenólicos podem ser classificados em dois grupos, os flavonoides e os não flavonoides (Malacrida *et al.*, 2005; Montealegre *et al.*, 2006; Monagas *et al.*, 2007; Xu, 2011; Pinilla *et al.*, 2012; Perestrelo *et al.*, 2012). Os flavonoides são caracterizados por possuírem dois fenóis unidos por uma estrutura de anel de carbono pirano, podendo existir de diversas formas: livre, polimerizados por outro

flavonoide, açúcares ou não flavonoides, ou então uma combinação destes. Os compostos não flavonoides são estruturalmente mais simples (Jackson, 1994).

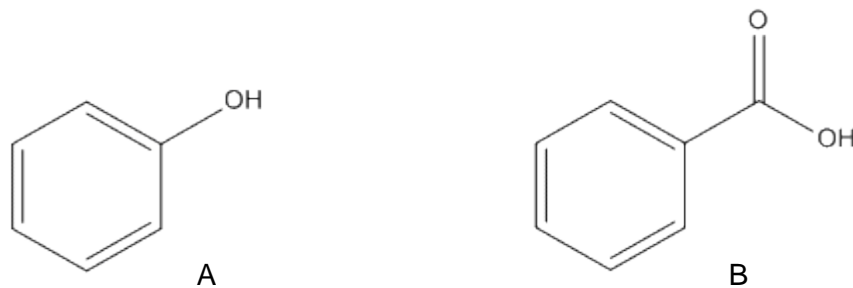
Nas uvas, os compostos não flavonoides são encontrados principalmente na polpa, enquanto que os compostos flavonoides podem encontrar-se na película, sementes e pedúnculos (Monagas *et al.*, 2007). No entanto, é na película da uva onde se encontra a maior quantidade destes compostos (Malacrida *et al.*, 2005; Montealegre *et al.*, 2006; Xu *et al.*, 2011)

A concentração de compostos fenólicos na uva depende de diversos fatores, tais como a temperatura, a variedade da videira, grau de maturação e tamanho do bago. Com o desenvolvimento do bago, há um aumento da concentração de compostos fenólicos (Montealegre *et al.*, 2006; Kennedy, 2008). Estes desempenham um papel importante no crescimento, fertilidade e reprodução das plantas e ainda em várias reações de defesa, nomeadamente proteção de radiação UV, constituem ainda componentes de base de pigmentação e aromas (Jackson, 1994; Mattivi *et al.*, 2006; Lorrain *et al.*, 2013).

A principal razão do seu estudo é devido à sua ação no vinho, uma vez que são importantes componentes no que respeita à cor, sabor, adstringência, amargor e estrutura dos mesmos, contribuindo assim para a sua qualidade (Jackson, 1994; Kennedy, 2008; Jeffery *et al.*, 2008; Pinilla *et al.*, 2012).

Nos últimos anos tem surgido um maior interesse nestes compostos, devido às suas propriedades antioxidantes e aos seus efeitos benéficos para a saúde humana, a nível da defesa contra o stress oxidativo, prevenção do cancro, das doenças cardiovasculares e das doenças neurodegenerativas e efeitos na redução do colesterol (Montealegre *et al.*, 2006; Tsao, 2010; Xu, 2011; Lorrain *et al.*, 2013).

Extratos obtidos a partir de sementes de uva têm sido usados como antioxidantes naturais, uma vez que contêm uma grande quantidade de compostos fenólicos (Baydar *et al.*, 2004). Por este motivo, tem aumentado o interesse nos derivados da uva, e a sua aplicação como suplementos nutricionais (Montealegre *et al.*, 2006; Xu, 2011).



**Figura 5.** Estrutura geral do fenol (A) e ácido fenólico (B).

### 1.5.3.1. Não Flavonoides

Os compostos não flavonoides presentes na uva incluem, principalmente os ácidos fenólicos e os estilbenos. Estes compostos fenólicos predominam nos vinhos brancos, uma vez que se encontram principalmente na polpa das uvas, e na produção de vinho branco existe pouco contacto com a película e sementes das uvas devido à ausência de maceração (Basha *et al.*, 2004; Montealegre *et al.*, 2006; Pinilla *et al.*, 2012).

#### 1.5.3.1.1. Ácidos fenólicos

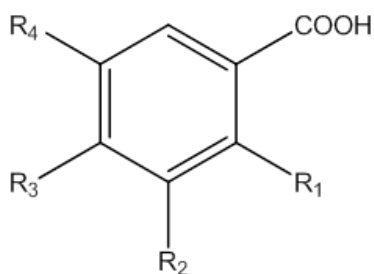
Os ácidos fenólicos podem ser divididos em dois tipos principais, os ácidos benzóicos que são constituídos por sete átomos de carbono (C6-C1) e os ácidos cinâmicos com nove átomos de carbono (C6-C3). Estes existem predominantemente sob a forma de ácidos hidroxibenzóicos (HBA) e ácidos hidroxicinâmicos (HCA), respetivamente, os quais podem ocorrer na forma livre ou hidrolisada (Tsao, 2010; Garrido *et al.*, 2013; Lorrain *et al.*, 2013). Os ácidos pertencentes a este grupo de compostos são diferenciados pela substituição do seu anel de benzeno (Lorrain *et al.*, 2013).

Existem vários tipos de **ácidos hidroxibenzóicos** na uva, e conseqüentemente no vinho, sendo os ácidos gálico, *p*-hidroxibenzóico, protocatéquico, vanílico e sirínico, os mais abundantes (Figura 6) (Monagas *et al.*, 2007; Garrido *et al.*, 2013). Estes ácidos estão maioritariamente presentes nas uvas como combinações glicosídicas e como ésteres (Mendes, 2008).

Estes ácidos aparecem em teores minoritários nos vinhos, encontrando-se em menores quantidades relativamente aos ácidos hidroxicinâmicos (Waterhouse, 2002).

O ácido gálico é considerado um dos mais importantes compostos fenólicos deste grupo, uma vez que é o precursor dos taninos hidrolisáveis e está presente na estrutura dos taninos condensados (Garrido *et al.*, 2013). Para além disso, o ácido gálico é o único que

foi encontrado no seu estado nativo nas partes sólidas das uvas, é encontrado na forma livre e na forma de éster de flavonol, sendo um composto estável durante o envelhecimento (Waterhouse, 2002; Monagas *et al.*, 2007).



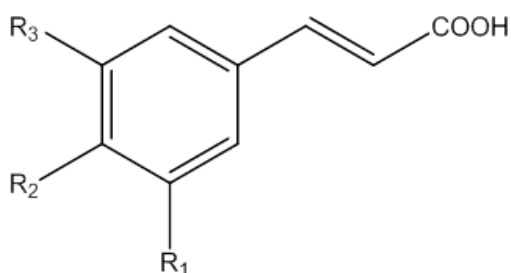
Ácidos Benzóicos	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
Gálgico	H	OH	OH	OH
<i>p</i> -Hidroxibenzoico	H	H	OH	H
Protocatéquico	H	OH	OH	H
Vanílico	H	OCH <sub>3</sub>	OH	H
Siríngico	H	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>

**Figura 6.** Estruturas dos principais ácidos benzóicos das uvas.

Os **ácidos hidroxicinâmicos** são os principais compostos fenólicos do sumo da uva e a maior classe de compostos fenólicos dos vinhos brancos. Estes compostos são também os primeiros a oxidar, e muitas vezes responsáveis pelo escurecimento dos vinhos brancos, representando um dos principais problemas destes vinhos (Waterhouse, 2002; Garrido *et al* 2013).

Estes ácidos na sua forma livre são pouco frequentes na natureza, sendo encontrados normalmente esterificados com açúcares, álcoois ou ácidos orgânicos, entre eles o ácido tartárico (Jackson, 1994).

Nas uvas e nos vinhos podem encontrar-se quatro tipos destes ácidos *p*-cumárico, ferúlico, cafeico e sinápico (Figura 7) (Waterhouse, 2002; Monagas *et al.*, 2007; Garrido *et al.*, 2013).



Ácidos hidroxicinâmicos	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
<i>p</i> -Cumárico	H	OH	H
Cafeico	OH	OH	H
Ferúlico	OCH <sub>3</sub>	OH	H
Sinápico	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>

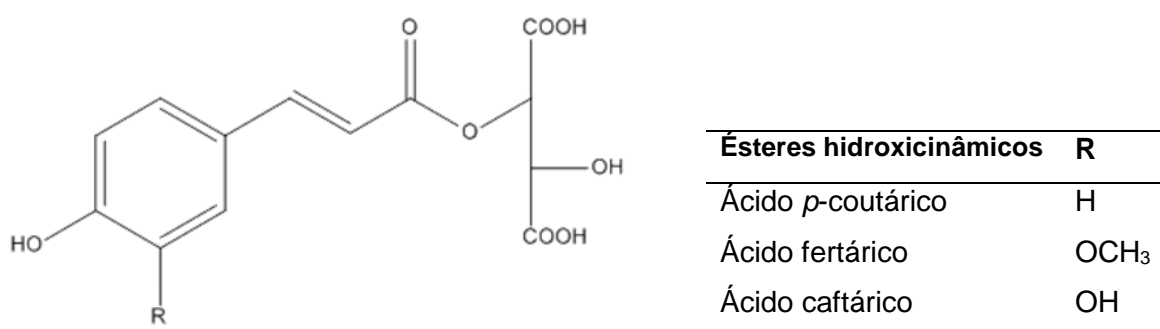
**Figura 7.** Estruturas dos principais ácidos hidroxicinâmicos das uvas.

Contudo, no bago da uva estes ácidos não são encontrados, existindo na forma de ésteres de ácido tartárico. Desta forma, os enólogos adotaram nomes triviais para estes

compostos, sendo designados como ácido *p*-cutárico, fertárico e caftárico, respetivamente (Figura 8) (Waterhouse, 2002; Monagas *et al.*, 2007).

Estes ésteres de ácido tartárico são encontrados na polpa da uva e conseqüentemente nos vinhos. Os ésteres de ocorrência natural podem sofrer hidrólise libertando os ácidos hidroxicinâmicos livres, que irão esterificar parcialmente com o etanol no vinho (Waterhouse, 2002; Garrido *et al.*, 2013).

Em termos de qualidade sensorial, os teores de ácidos hidroxicinâmicos que são encontrados nos vinhos, não apresentam características de amargura ou adstringência perceptíveis, nos níveis em que são encontrados (Waterhouse, 2002).



**Figura 8.** Estruturas dos derivados dos ácidos hidroxicinâmicos das uvas.

#### 1.5.3.1.2. Estilbenos

Os estilbenos representam outra família de polifenóis, são mais complexos, e também estão presentes nas uvas e no vinho, embora em menores quantidades. Estes compostos ocorrem naturalmente em várias famílias de plantas, além das uvas, e são consideradas uma importante fonte destas substâncias na dieta humana (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998; Arribas *et al.*, 2009). Estes compostos são sintetizados pelas plantas, na película, folhas e raízes em resposta a reações externas, nomeadamente infeções fúngicas e proteção dos raios UV (Monagas *et al.*, 2007).

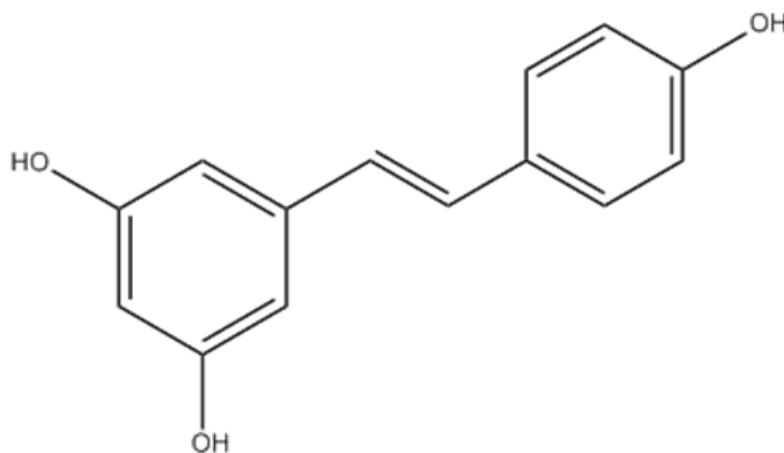
Os estilbenos aparecem nos vinhos devido ao processo de vinificação, sendo transferidos dos mostos, existindo em maior quantidade nos vinhos tintos, uma vez que existe um maior contacto com as películas (Arribas *et al.*, 2009).

Os estilbenos têm dois anéis de benzeno ligados por um etano, ou por uma cadeia de etileno, sendo o resveratrol (*trans*-3,5,4'-trihidroxi-estilbeno) o principal composto desta classe encontrado no vinho (Figura 9) (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998; Waterhouse, 2002; Xu 2011).

O resveratrol é sintetizado na película das uvas, no entanto apresenta-se em baixa concentração na polpa. Este composto pode existir em várias formas (incluindo os

isómeros *cis* e *trans*), quer na forma livre ou como derivado glucósido de ambos os isómeros (*trans*-resveratrol-3-*O*-glucósido), no entanto o isómero *cis* está ausente nas uvas. A presença de luz desencadeia a isomerização de *cis* e *trans* (Trela *et al.*,1996; Waterhouse, 2002; Arribas *et al.*, 2009; Xu, 2011).

Este polifenol tem propriedades de interesse para a saúde, tais como a diminuição da incidência de doenças cardíacas ou cancro (Arribas *et al.*, 2009).



**Figura 9.** Estrutura química do resveratrol.

### 1.5.3.2 Flavonoides

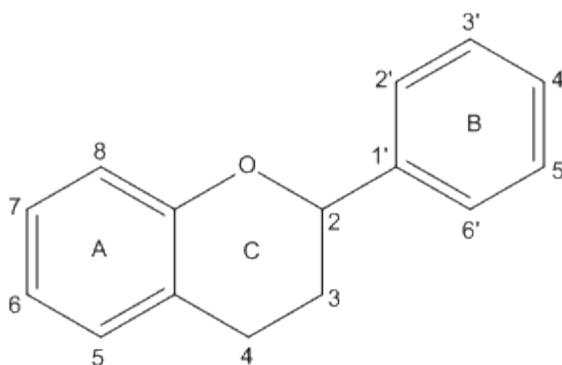
Os flavonoides são outro grupo dos compostos fenólicos presentes nas uvas, caracterizam-se estruturalmente por conter dois anéis benzénicos ligados por um grupo pirano, sendo representados pela fórmula C6-C3-C6 (Mendes, 2008; Garrido *et al.*, 2013).

Os anéis são designados como A, B e C, sendo o anel C o anel de pirano de diferentes estados de oxidação, o qual está fundido com um anel aromático (anel A) e ligado a um outro anel aromático com uma ligação simples (anel B) (Figura 10) (Waterhouse, 2002).

As diferentes classes de flavonoides vão ser definidas pelo estado de oxidação e pelas substituições no anel C (Waterhouse, 2002; Garrido *et al.*, 2013). Estas classes incluem diferentes tipos de compostos, sendo os principais flavonoides encontrados nas uvas designados como: flavonóis, flavanóis (flavan-3-óis) e antocianinas (Garrido *et al.*, 2013).

Os flavonoides podem ser encontrados na forma livre, polimerizados com outros flavonoides, açúcares ou não flavonoides, ou em combinação com estes. Os flavonoides são designados de glicósidos quando estes se encontram esterificados com açúcares (Jackson, 1994).

A maior concentração de flavonoides nas uvas verifica-se durante a floração, diminuindo com o crescimento das uvas. Nas plantas, a maior parte destes compostos existem na forma de glicosídeos (Tsao, 2010; Garrido *et al.*, 2013).



**Figura 10.** Estrutura geral dos flavonoides.

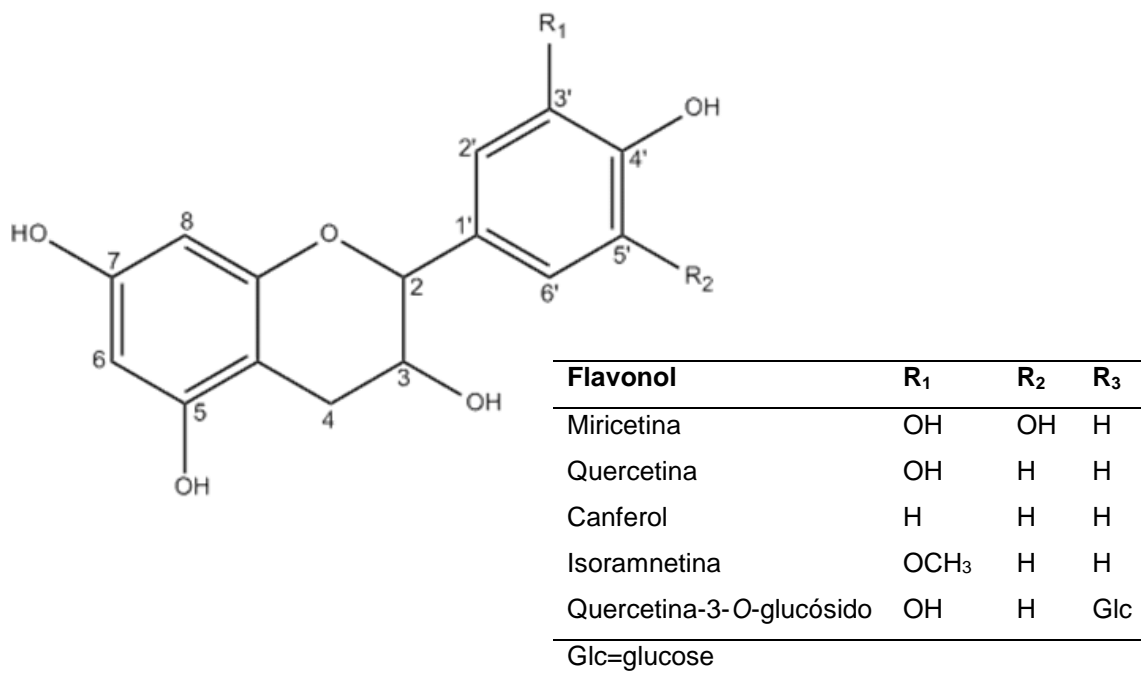
#### 1.5.3.2.1. Flavonóis

Os flavonóis estão presentes numa vasta gama de vegetais, geralmente na forma glicosídica. Nas uvas estão maioritariamente na película dos bagos (Mattice *et al* 2006). Estes compostos são pigmentos amarelos e estão localizados, principalmente nos vacúolos dos tecidos epidérmicos. Geralmente, encontram-se na forma 3-O-glucósidos das quatro agliconas principais, sendo elas a miricetina, quercetina, canferol e isoramnetina (Figura 11) (Monagas *et al.*, 2007; Castillo-Munoz *et al.*, 2009). O flavonol mais reconhecido é a quercetina-3-O-glucósido. A quercetina é a aglicona mais frequente na Natureza, e também nas uvas, enquanto no vinho o principal flavonol é a dihidroquercetina (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998).

Estes compostos estão envolvidos na proteção da planta contra os raios UV, devido à sua forte absorção de radiação UVA e UVB (Castillo-Munoz *et al.*, 2007).

Os flavonóis são antioxidantes já bem estudados, os quais possuem atividade anti-inflamatória e anticancerígena, sendo também importantes do ponto de vista nutricional, uma vez que representam uma classe de compostos bioativos amplamente distribuídos nas plantas alimentares (Mattivi *et al.*, 2006).

Relativamente à sua ação e importância nos vinhos, os flavonóis contribuem para a cor dos vinhos brancos, nos vinhos tintos realçam a sua cor devido à capacidade de funcionarem como copigmentadores das antocianinas e pigmentos vermelhos. Desempenham ainda um papel importante no sabor e saúde dos vinhos.

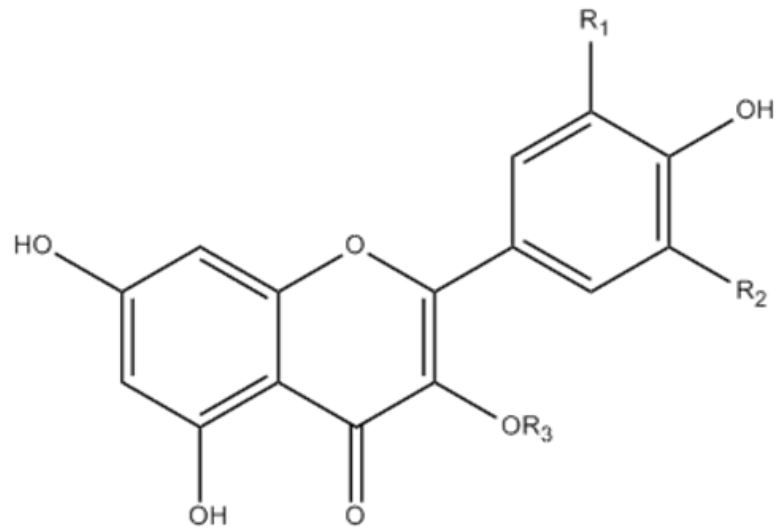


**Figura 11.** Estrutura dos principais flavanóis das uvas e vinhos.

#### 1.5.3.2.2. Flavanóis

Os flavanóis, também denominados por flavan-3-óis, são a classe de flavonoides mais abundantes nas uvas e são encontradas tanto nas sementes como na película e pedúnculo. São a forma mais reduzida dos flavonoides, uma vez que as posições 2 e 3 no anel C são saturadas. Estes compostos são encontrados em muitas frutas, nomeadamente na película das maçãs e mirtilos (Figura 12) (Waterhouse, 2002; Tsao, 2010).





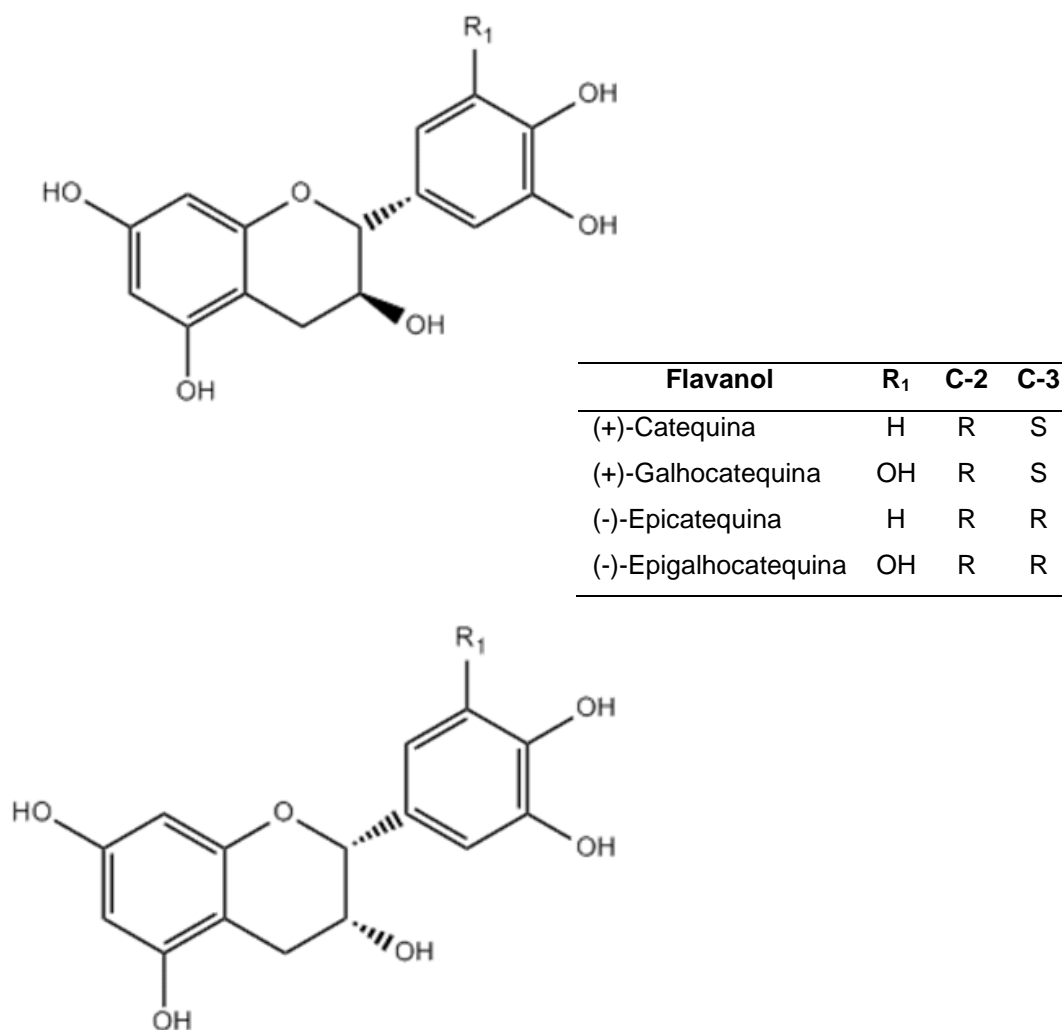
**Figura 12.** Estrutura química de um flavanol.

Estes compostos podem ser encontrados nas formas monomérica, oligomérica ou polimérica, sendo que as duas últimas são também denominadas como proantocianidinas ou taninos condensados (Monagas *et al.*, 2007).

As unidades monoméricas de flavanóis encontradas nas uvas *V. vinifera* são a (+)-catequina, (-)-epicatequina, (+)-gallocatequina e (-)-epigallocatequina. Os padrões de substituição no anel B variam entre as unidades monoméricas, sendo a (+)-catequina e a (-)-epicatequina *orto*-hidroxiladas nas posições C-3' e C-4', enquanto que as outras duas possuem um terceiro grupo hidroxilo na posição C-5' (Figura 13) (Waterhouse, 2002; Monagas *et al.*, 2007).

No vinho, os flavanóis não são encontrados na forma de glicósido, mas sob a forma de ésteres de ácido gálico. O principal flavonol é a catequina. Os níveis de flavanóis no vinho vão depender das técnicas de extração, sendo que são maiores quando se utilizam técnicas de maceração prolongada (Waterhouse, 2002).

Grande parte dos compostos fenólicos presentes no vinho tinto é derivada da condensação de flavanóis, originando assim as proantocianidinas e taninos condensados (Waterhouse, 2002).



**Figura 13.** Estrutura flavanóis monoméricos das uvas *Vitis vinifera*.

### Proantocianidinas ou taninos condensados

Grande parte dos compostos fenólicos dos vinhos tintos deriva da condensação de unidades de flavanóis, originando proantocianidinas/taninos condensados, os quais são os maiores constituintes dos vinhos (Jackson, 1994; Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998).

O termo tanino utiliza-se para identificar uma classe de compostos que são formados na uva e extraídos durante a vinificação e podem modificar quimicamente durante o processo (Scollary, 2010).

Os taninos podem ser divididos em duas classes, consoante sejam baseados em compostos flavonoides ou não flavonoides: taninos condensados ou catéquicos e taninos hidrolisáveis ou gállicos, respetivamente. Os taninos hidrolisáveis são aqueles que não existem naturalmente nas uvas, e são adicionados aos vinhos. Por sua vez, os taninos

condensados são os responsáveis pelas características organolépticas das uvas e consequentemente dos vinhos (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998 Freitas *et al.*, 2008).

Os taninos hidrolisáveis encontram-se em todas as partes do cacho e solubilizam no vinho durante a maceração (Jackson, 1994).

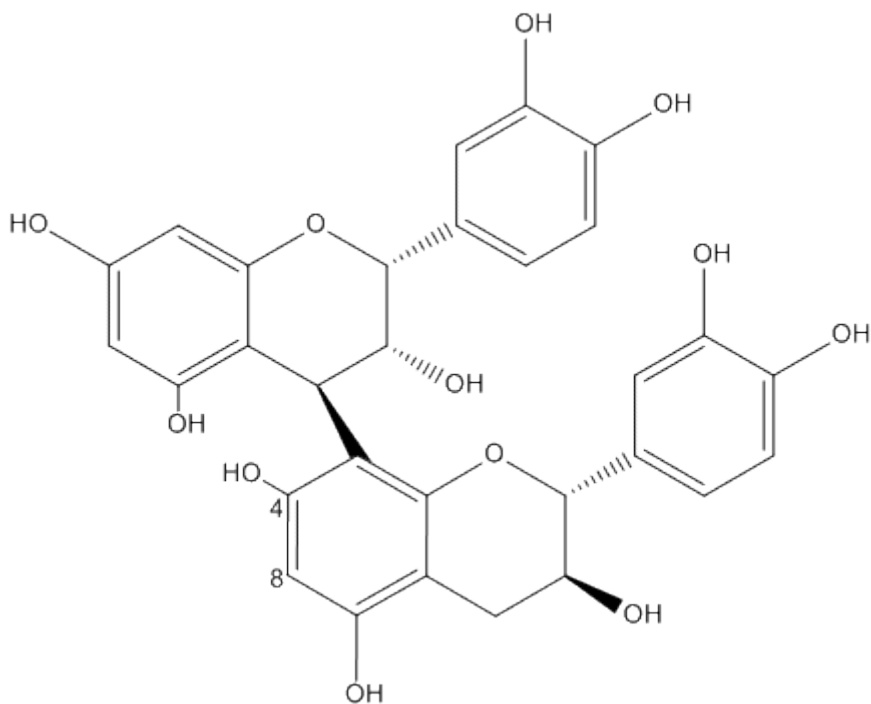
O termo proantocianidinas é utilizado para designar o grupo de taninos hidrolisáveis devido ao facto de estas libertarem antocianidinas (coloridas) quando sujeitas a determinadas condições de temperatura e acidez (Sun *et al.*, 2005).

A estrutura das proantocianidinas depende, não só da natureza da unidade de flavanóis, mas também do seu grau de polimerização. Desta forma, as proantocianidinas podem ser divididas em dois tipos A e B, tendo por base a ligação interflavânica. No que se refere ao tipo B, os seus monómeros estão ligados através de uma ligação C-4 na unidade do topo e as posições C-6 ou C-8 da unidade terminal, sendo os isómeros C-4 ou C-8 os mais comuns (Figura 14) (Waterhouse, 2002; Sun *et al.*, 2005).

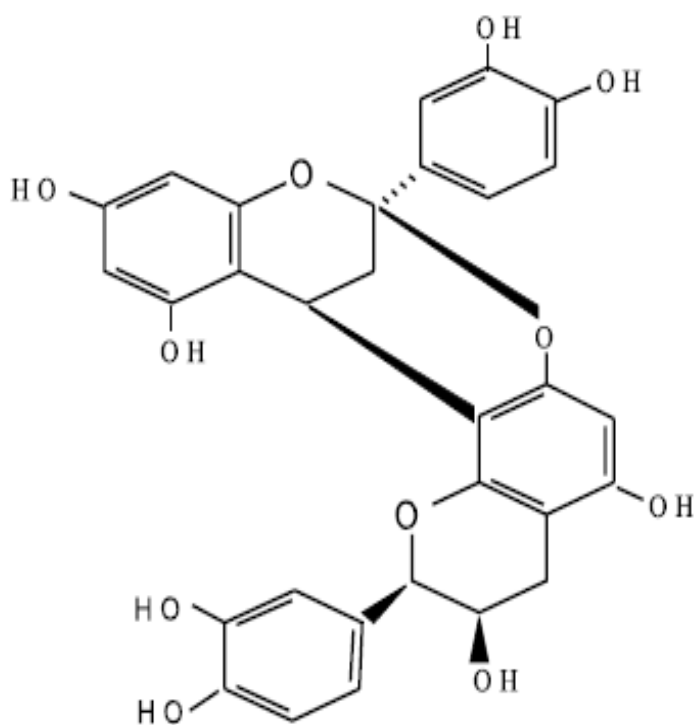
Por sua vez, as proantocianidinas do tipo A contêm ligações éter entre a posição C-2 da unidade superior e o grupo hidroxilo da posição C-5 ou C-7 da unidade inferior (Figura 15) (Waterhouse, 2002; Sun *et al.*, 2005; Monagas *et al.*, 2007).

As proantocianidinas mais comuns são a catequina e a epicatequina (Waterhouse, 2002).

As proantocianidinas apresentam elevada atividade biológica, possuindo uma grande capacidade antioxidante e anti-inflamatória (Valls *et al.*, 2009). Estes compostos desempenham, ainda um papel importante nos vinhos, uma vez que são em parte responsáveis pela adstringência, amargura e estrutura destes (Gomez-Alonso *et al.*, 2007).



**Figura 14.** Estrutura química da proantocianidinas B1.



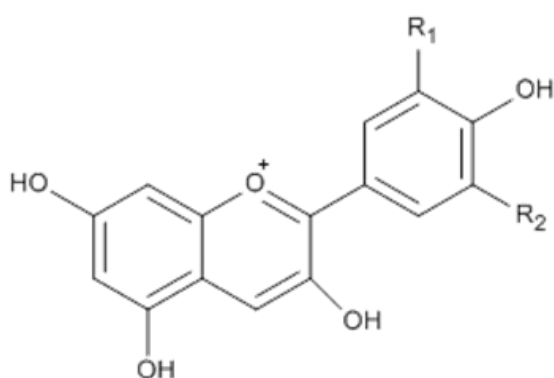
**Figura 15.** Estrutura das proantocianidinas A2.

#### 1.5.3.2.3. Antocianinas

As antocianinas são uma vasta classe de compostos pertencente à família dos polifenóis, que têm sido estudados nas últimas décadas, estão largamente distribuídos na natureza,

sendo por isso encontradas em muitos alimentos e são diretamente responsáveis pela cor das uvas (Gomez-Alonso *et al.*, 2007; Valls *et al.*, 2009). Nas videiras acumulam-se nas folhas durante o amadurecimento das uvas, estando localizadas principalmente nas películas, sendo responsáveis pela coloração dos vinhos tintos (Waterhouse, 2002; Rockenbach, 2008; Monagas *et al.*, 2007).

Comumente atribui-se o nome antocianidina (Figura 16) ao sistema flavonoide anelar, sendo a classificação das classes baseada no padrão de substituição apresentado pelo anel B, nomeadamente o número e posição dos grupos hidroxilo e metoxilo presentes. Geralmente encontram-se conjugadas com glucose, uma vez que este melhora a sua estabilidade química e a sua solubilidade em água, sendo assim denominadas de antocianinas (Jackson, 1994).

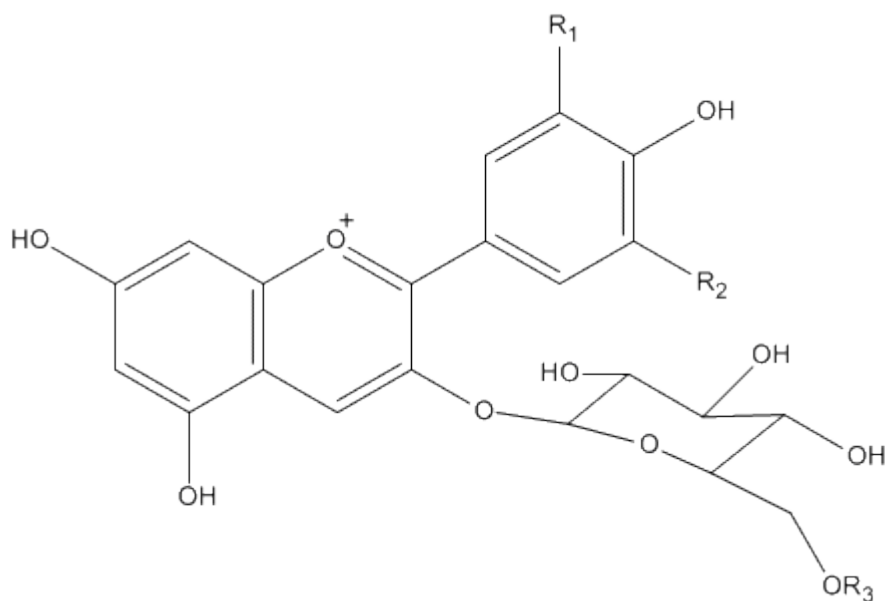


Antocianidina	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
Delfinidina	OH	OH
Cianidina	OH	H
Petunidina	OCH <sub>3</sub>	OH
Peonidina	OCH <sub>3</sub>	H
Malvidina	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>

**Figura 16.** Estrutura química das antocianidinas.

Estruturalmente, as antocianinas são heterósidos de uma unidade aglícica que é derivada do ião flavílio. As antocianinas identificadas nas uvas *V. vinifera* são: 3-O-monoglucósidos ou 3-O-acetilados monoglucósidos de cinco antocianidinas principais: delfinidina, cianidina, petunidina, peonidina e malvidina. Estas diferem umas das outras pelo número e posição dos grupos hidroxilo e metoxilo do anel B da molécula (Figura 17) (Monagas *et al.*, 2007; Valls *et al.*, 2009).

O desenvolvimento de cor nas frutas é uma característica evolutiva muito importante, bem como um fator importante que contribui para a qualidade dos frutos e o seu valor no mercado (Kayesh *et al.*, 2013). Durante o processo de vinificação, as antocianinas estão envolvidas em reações de oxidação, hidrólise e condensação, sendo responsáveis por importantes mudanças de cor do vinho (Monagas *et al.* 2007).

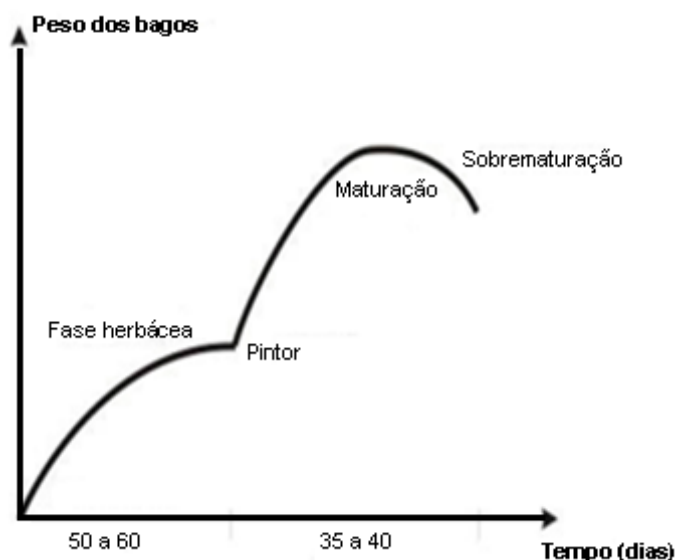


Antocianidina	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
Delfinidina	OH	OH
Cianidina	OH	H
Petunidina	OCH <sub>3</sub>	OH
Peonidina	OCH <sub>3</sub>	H
Malvidina	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>

**Figura 17.** Estrutura química das antocianinas.

## 1.6. MATURAÇÃO DA UVA

O estado de maturação e a data de colheita das uvas são dois dos fatores mais importantes na qualidade das uvas, e posteriormente na qualidade dos vinhos. A maturação pode ser definida como a idade fisiológica da uva na videira (Bisson *et al.*, 2001; Nogales-Bueno *et al.*, 2014). Sendo o resultado de todos os fenômenos fisiológicos e bioquímicos complexos, cuja intensidade e desenvolvimento adequado estão intimamente relacionados com as condições ambientais (clima, solo, etc) e com as castas. Os fatores genéticos e as condições ambientais que caracterizam a formação do bago, influenciam a sua composição e desenvolvimento ao longo da maturação (Ribéreau-Gayon, *et al.*, 2006). Durante o processo de maturação, o bago sofre um aumento do seu tamanho e volume, embora diversos órgãos constituintes da uva não aumentem o seu peso nas mesmas proporções, como por exemplo, existe um maior crescimento da polpa em relação à película. A maturação da uva compreende quatro fases distintas e bem definidas (Figura 20) (Ribéreau-Gayon, *et al.*, 2006).



**Figura 18.** Evolução do tamanho dos bagos ao longo das fases de maturação da uva (Gonçalves, 2005).

## 1.6.1. Fases de desenvolvimento da uva

### 1.6.1.1. Fase herbácea

Esta fase de maturação é a primeira fase de desenvolvimento da uva, corresponde à fase de crescimento rápido do bago. Nesta etapa de desenvolvimento, o bago é ainda verde e de consistência dura, aumentando o seu tamanho graças à multiplicação e crescimento celular (Dokoozlian, 2000; Dias, 2006). Na fase herbácea o teor em açúcares é baixo, os ácidos aumentam a sua concentração, atingindo valores máximos antes do pintor (Dokoozlian, 2000). Esta fase tem a duração média de 45 a 65 dias na maioria das variedades cultivadas (Dias, 2006).

### 1.6.1.2. Pintor

Nesta fase de desenvolvimento verifica-se uma diminuição do crescimento do bago e o aumento do seu volume, devido à dilatação das suas células (Dokoozlian 2000; Dias, 2006). Esta é a fase em que o bago começa a pintar, ou seja, é a época fisiológica da coloração da uva (Dias, 2006).

A concentração de ácidos orgânicos nos bagos aumenta, atingindo valores máximos nesta fase (Dokoozlian 2000).

O pintor caracteriza-se como sendo uma fase de mudanças rápidas, uma vez que a coloração do bago pode mudar num dia, a uva perde a clorofila devido ao aumento de ácido abscísico, que exerce influência sobre a acumulação de polifenóis. Nesta fase, o teor de açúcares aumenta rapidamente, e o bago perde o aspeto herbáceo, tornando-se elástico (Dias, 2006).

#### **1.6.1.3. Fase de maturação**

Esta fase de desenvolvimento é o período que vai desde que o bago começa a pintar até ficar maduro, esta fase pode ter a duração de 35 a 55 dias (Gonçalves 2005; Dias, 2006). Esta fase é considerada, tal como a fase do pintor, uma fase de crescimento rápido da uva, o bago cresce rapidamente devido à dilatação celular, e a película cresce menos que a polpa, resultando por vezes em fissuras no bago que o tornam suscetível ao aparecimento de doenças (Gonçalves, 2005; Dias, 2006).

Durante esta fase verifica-se uma acumulação do teor de açúcares e a diminuição dos ácidos orgânicos (Dokoozlin, 2000).

Tal como em todas as fases de maturação, são diversos os fatores que influenciam a maturação, tais como a quantidade de folhas, o grau de insulação dos bagos e a temperatura a que estão sujeitos. Desta forma, quanto mais quentes forem os dias, e o grau de insulação, maior será a acumulação de açúcares no bago. Em contrapartida, dias mais frios e com chuva resultam numa maior incidência de podridões, levando a perdas na altura da colheita (Gonçalves, 2005).

O final desta fase depende do estado de maturação pretendido para a produção de cada tipo de vinho (Dias, 2006).

#### **1.6.1.4. Fase de sobrematuração**

A sobrematuração é a última fase de desenvolvimento da uva, corresponde à fase em que a maturação foi excedida (Dias, 2006). Esta fase de maturação só se realiza em locais com climas privilegiados, e é muitas vezes levada a cabo quando se pretende que ocorra a podridão nobre (*Botrytis cinerea*) que é considerada um fator de melhoria na qualidade de alguns tipos de vinho (Dias, 2006). Nesta fase não há trocas entre a planta e o bago, existindo uma maior concentração de açúcares por perda da água devido à evaporação (Gonçalves, 2005; Dias, 2006).



### **1.6.2. Aspetos que influenciam a maturação**

O processo de maturação das uvas é influenciado por diversos fatores, a variedade, os porta-enxertos, a temperatura, a luz, são diferentes fatores que têm influência durante a maturação.

A temperatura é um dos parâmetros mais importantes da maturação da uva, o que desencadeia o seu desenvolvimento. Uma vez que a temperatura afeta a atividade fotossintética, o metabolismo e a intensidade de migrações na planta (Rodríguez *et al.*, 1995; Ribéreau-Gayon, *et al.*, 2006; Dias 2006).

A temperatura influencia diretamente a intensidade das migrações na videira, ou seja, o aumento do volume das células. Nesta fase a temperatura ideal para as necessidades da planta ronda os 20 °C. Temperaturas muito elevadas durante o dia podem alterar significativamente a acumulação de açúcares. Por sua vez durante a fase herbácea a temperatura ideal situa-se entre 20 e 25°C (Ribéreau-Gayon, *et al.*, 2006).

Elevadas temperaturas aceleram o crescimento e o amadurecimento das uvas, resultando em bagos com pH elevado, baixa acidez e com menor teor de antocianinas e precursores de aroma. Porém, noites frias associadas a elevadas temperaturas durante o dia, resultam numa diminuição do pH e na degradação dos ácidos orgânicos. Desta forma, a amplitude térmica entre o dia e a noite é muito importante durante o processo de maturação das uvas (Tomaz, 2013).

A videira, quando sujeita a temperaturas superiores a 25 °C sofre um decréscimo da fotossíntese, mesmo que haja exposição solar, e para temperaturas superiores a 30°C, o tamanho e peso dos bagos diminui, sendo que os processos metabólicos e a acumulação de açúcares podem mesmo parar (Dias, 2006; Tomaz, 2013).

Devido à dificuldade de as videiras crescerem e produzirem uvas com temperaturas inferiores a 10 °C, temperaturas superiores são conhecidas como as temperaturas ativas. Assim, existe uma forte relação entre a soma destas temperaturas ativas durante o desenvolvimento das uvas e a sua concentração de açúcar. Desta forma, esta medida possibilita a avaliação do potencial climático de um determinado local para assegurar a maturação apropriada das uvas (Ribéreau-Gayon, *et al.*, 2006).

### **1.7. EVOLUÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS AO LONGO DA MATURAÇÃO**

Os compostos fenólicos fazem parte dos principais compostos responsáveis pela qualidade das uvas, e conseqüentemente dos vinhos a que darão origem. Sendo que os polifenóis

identificados nos vinhos refletem as características do tipo de uvas que lhes deram origem (Teixeira, 2001).

A composição fenólica das uvas é influenciada por diversos factores entre os quais as castas, as condições edafoclimáticas, as práticas culturais e o grau de maturação das uvas (Pérez-Magarino *et al.*, 2004).

Os compostos fenólicos são resultado do catabolismo dos açúcares, daí estarem presentes no bago desde a sua formação, e também a sua concentração pode estar relacionada com a quantidade de açúcares na uva (Kenedy *et al.*, 2002; Dias, 2006).

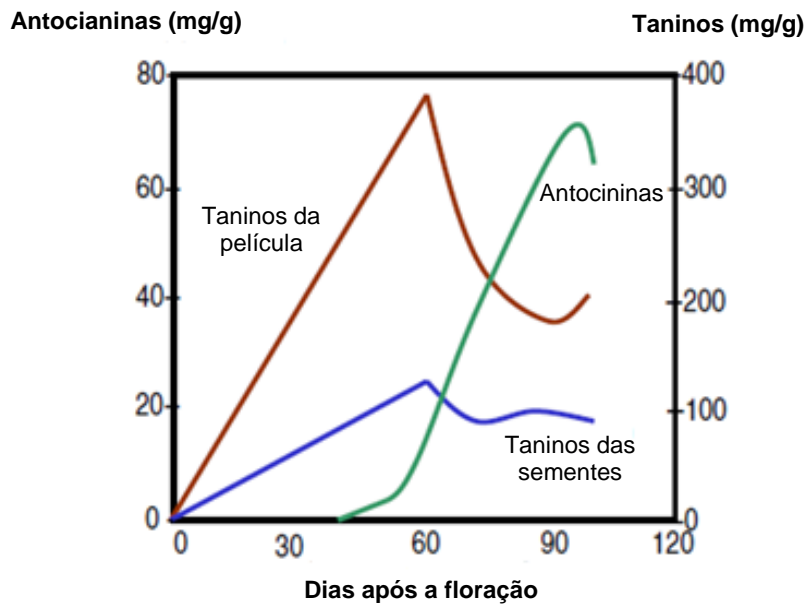
As vias biossintéticas são ativadas logo no início do desenvolvimento das uvas, conseqüentemente, a concentração total de compostos fenólicos das uvas aumenta ao longo da maturação (Ribéreau-Gayon, *et al.*, 2006).

Nas reações de catabolismos dos açúcares há a intervenção principal de duas enzimas, a fenilalanina, que tem o seu pico máximo nas sementes durante o período herbáceo, e a chalcona sintetase, que apresenta um maior teor durante a fase de maturação (Dias, 2006).

A acumulação de antocianinas nas uvas caracteriza-se por 3 fases, inicialmente, um pouco antes da fase do pintor, verifica-se um ligeiro aumento, embora ainda não seja visível a alteração da cor (Figura 21). Em seguida, ao longo da maturação, o teor de antocianinas aumenta. Na última verifica-se uma estabilização do teor de antocianinas seguida de ligeira diminuição até ao final da maturação (Ribéreau-Gayon, *et al.*, 2006; Brar *et al.*, 2008).

De uma forma geral, ao longo da maturação, o teor de taninos extraíveis nas sementes diminui, tornando assim o mosto menos herbáceo e adstringente, enquanto que o teor de polifenóis na película aumenta. No final da maturação o teor de taninos é estável, o seu máximo é alcançado antes do pintor (Figura 21) (Ribéreau-Gayon, *et al.*, 2006; Dias, 2006; Downey *et al.*, 2006).

Os factores que influenciam a acumulação destes compostos durante a maturação são diversos, tais como temperatura, precipitação, entre outros. A concentração de antocianinas é menor em zonas frias e de insolação fraca, sendo este tipo de clima desfavorável à obtenção de vinhos tintos de qualidade. Por outro lado, temperaturas muito elevadas e grandes amplitudes térmicas durante o dia favorecem a síntese de antocianinas, permitindo a obtenção de vinhos com mais cor. Desta forma, pode-se concluir que as condições edafoclimáticas, entre outros factores, determinam a acumulação de compostos fenólicos nas uvas (Ribéreau-Gayon, *et al.*, 2006).



**Figura 19.** Evolução dos compostos fenólicos ao longo da maturação (adaptado de Dias, 2006).

## 1.8. GRAU DE MATURAÇÃO

A maturação das uvas não depende apenas do desenvolvimento da planta, da acumulação de compostos químicos e do tamanho do bago. O objetivo da produção das uvas e o tipo de vinho que se pretende obter, são fatores que têm importância e influência no conceito de maturação. (Meireles, 2013; Correia, 2014). De acordo com vários autores, podemos distinguir 4 tipos de maturação (Dias, 2006; Pérez-Magarino *et al.*, 2006; Meireles, 2013).

### 1.8.1. Maturação fisiológica

A maturação fisiológica (germinação) ocorre quando as sementes estão completamente maduras e prontas a germinar, contudo têm pouca importância tecnológica, e é pouco válida para os produtores, mas é fundamental, pois nesta altura a videira já está apta a reproduzir (Gonçalves, 2005; Dias, 2006; Pérez-Magarino *et al.*, 2006; Correia, 2014). Nesta etapa, a parte de maior interesse do ponto de vista enológico é a película, como esta fase é atingida durante o período herbáceo, o seu valor comercial é baixo devido à elevada acidez e baixo teor de açúcares (Gonçalves, 2005).

### **1.8.2. Maturação industrial**

Este conceito de maturação está diretamente relacionado com a quantidade máxima de açúcares e maior peso do bago, sem decréscimo dos teores ácidos, de modo a que haja um equilíbrio. Embora sejam parâmetros importantes para a marcação da data da vindima, não se deve ter em conta apenas estes aspetos (Gonçalves, 2005; Dias, 2006; Tomaz, 2013; Nogales-Bueno *et al.*, 2014).

A maturação industrial tem que incluir a utilização que será dada às uvas, ou seja, se se pretende produzir vinhos doces ou espumantes por exemplo. No caso da obtenção de espumantes a maturação é mais lenta e as uvas são colhidas quando ainda apresentam acidez saliente (Gonçalves, 2005; Sousa, 2005).

Contudo, Blouim e Guimberteau (2000), citado por Gonçalves (2005) afirmam que os teores de açúcares e ácidos podem ser considerados como critério único para a confirmação da data de colheita com a finalidade de obter vinhos de qualidade. Porém hoje em dia os enólogos procuram também outras características nas uvas, tais como compostos fenólicos e terpénicos.

### **1.8.3. Maturação aromática**

Na maturação aromática procuram-se compostos aromáticos agradáveis e desagradáveis, sendo pretendido atingir o máximo teor de compostos aromáticos agradáveis e o mínimo de compostos aromáticos desagradáveis (Dias, 2006; Meireles, 2013).

Este tipo de maturação é difícil de determinar, sendo realizada a sua avaliação em termos de compostos aromáticos através da degustação dos bagos, com a qual se prevê a sua concentração em compostos aromáticos (Dias, 2006). Hoje em dia, já se dispõe de equipamentos sofisticados para proceder a esta avaliação de forma mais correta e precisa.

### **1.8.4. Maturação fenólica**

Tal como o próprio nome indica, este tipo de maturação tem em conta a concentração de compostos fenólicos na uva (Nogales-bueno *et al.*, 2014). A maturação fenólica avalia a acumulação das antocianinas, a variação de taninos e a cor. Estas variações são, geralmente muito heterogéneas e são influenciadas pelas condições edafoclimáticas (Gonçalves, 2005; Meireles, 2013).

Estes parâmetros são importantes para os produtores de vinho para a adequada determinação da data das vindimas (Nogales-bueno *et al.*, 2014).

Todos estes fatores e tipos de maturação referidos são importantes para se decidir a data da vindima, tendo como objetivo a produção de vinhos de qualidade, pode dizer-se que se trata da maturação enológica, isto é, a altura em que os principais componentes do bago estão na relação e concentração mais favoráveis à obtenção de um determinado tipo de vinho (Dias, 2006).

## II. OBJETIVOS

Com o presente trabalho pretende-se caracterizar o perfil fenólicos de 14 castas portuguesas provenientes da região do Dão.

Portugal possui uma vasta gama de castas autóctones, porem muitas foram abandonadas, com o passar dos anos, e encontram-se por explorar, quer em termos vitivinícolas quer em termos científicos. Sendo por isso escassa a informação científica credível a cerca de muitas castas portuguesas e das suas qualidades enológicas. Desta forma o estudo do património varietal português é de extrema importância, tendo em vista a sua valorização. Assim sendo esta dissertação teve como principais objetivos:

1. A caracterização dos compostos fenólicos não corados e antocianinas de 11 castas tintas.
2. A caracterização dos compostos fenólicos não corados de 3 castas brancas provenientes da região do Dão.
3. A determinação do perfil fenólico de 14 castas provenientes da região do Dão ao longo do período de maturação.
4. Comparação do perfil fenólico das 14 castas estudadas tendo em vista uma possível valorização enológica.

### III. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1. SUBSTÂNCIAS DE REFERÊNCIA E REAGENTES

Todas as substâncias e reagentes utilizados no trabalho tinham grau analítico adequado. A água foi desionizada num sistema Mili-Q de purificação de água (Milipore, Bedford, MA). Os reagentes metanol, acetonitrilo, ácido fórmico, ácido acético, acetato de etilo foram adquiridos na Merck (Darmstadt, Germany).

Os compostos fenólicos utilizados como referência para a identificação foram obtidos de diferentes fornecedores: os ácidos gálico, *trans*-cafeiol-tartárico (caftárico) e *p*-cumárico, a quercetina-3-*O*-glucósido e o resveratrol-3-*O*-glucósido foram adquiridos à Sigma – Aldrich (Steinheim, Germany). A delphinidina-3-*O*-glucósido, cianidina-3-*O*-glucósido, catequina-3-*O*-glucósido, malvidina-3-*O*-glucósido, petunidina-3-*O*-glucósido, peonidina-3-*O*-glucósido, petunidina-3-*O*-*p*-cumaroilglucósido, peonidina-3-*O*-*p*-cumaroilglucósido, malvidina-3-*O*-*p*-cumaroilglucósido, epicatequina, epicatequina-3-galato, isoramnetina-3-*O*-glucósido, canferol-3-*O*-glucósido, quercetina-3-*O*-galactósido, quercetina-3-*O*-rutinósido e miricetina-3-*O*-glucósido, foram adquiridos à Extrasynthèse (Genay, France).

#### 3.2. AMOSTRAGEM

Neste estudo foram utilizadas um total de 14 castas provenientes da região do Dão, sendo 11 tintas (Alvarelhão, Baga, Cidreiro, Coração de galo, Cornifesto, Monvedro, Negro mouro, Rufete, Touriga nacional, Touriga fêmea, Touriga nacional e Trincadeira) e 3 brancas (Luzidio, Uva cão, Terrantez).

A colheita das amostras foi efetuada na vinha experimental da Escola Superior Agrária de Viseu (Quinta da Alagoa), durante o mês de Setembro de 2014.

Durante este período foram efetuadas 4 amostragens, separadas temporalmente por períodos de uma semana, designadas por T1, T2, T3 e T4 (Tabela 3).

**Tabela 3.** Data da recolha das amostras.

Colheitas	
Identificação	Data
T1	01/09/2014
T2	08/09/2014
T3	15/09/2014
T4	22/09/2014

A técnica de amostragem consistiu em colher de forma aleatória 300 bagos numa parcela de terreno homogéneo, andando de um lado para o outro da linha, variando a exposição de modo a fazer a recolha do bago de forma aleatória. De modo a que a colheita fosse o mais representativa possível. Para além destes, foram colhidos separadamente 50 bagos, sendo estes levados para o laboratório da empresa Vines & wines para efetuar a avaliação da acidez total, brix e álcool provável (resultados não apresentados na dissertação).

As amostras foram imediatamente refrigeradas e mantidas ao abrigo da luz, seguidamente, foram transportados o mais rapidamente possível para o laboratório de Farmacognosia na Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto (FFUP), para se proceder à sua congelação a -20 °C.

Em seguida as amostras foram liofilizadas num liofilizador Labconco 4,5, trituradas e guardadas em local seco e ao abrigo da luz até à sua análise.

**Tabela 4.** Caracterização das castas utilizadas neste estudo.

	<b>Recomendadas</b>	<b>Autorizadas</b>
<b>Castas tintas</b>	Alvarelhão; Rufete; Touriga nacional; Trincadeira.	Baga; Cidreiro; Coração de Galo; Cornifesto; Monvedro; Negro Mouro; Touriga fêmea.
<b>Castas brancas</b>	Terrantez; Uva cão.	Luzido

### **3.3. DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS CORADOS E NÃO CORADOS**

A determinação dos compostos fenólicos foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Dópico-Garcia, *et al.*, 2008.

#### **3.3.1. Extração**

Para cada casta foi pesada uma alíquota de aproximadamente 5 g, que foi extraída num erlenmeyer com 100 mL de metanol 80%. Os frascos foram colocados numa placa de agitação durante 2h, a 300rpm, após passarem por fluxo de azoto para evitar oxidações durante a extração.

O extrato obtido foi centrifugado durante 10 min a 4000 rpm, o sobrenadante foi guardado e o pellet resultante foi novamente extraído com 100 mL de metanol 80% durante 15 min



a 300 rpm. O extrato foi centrifugado nas condições descritas anteriormente. A fração de sobrenadante obtida foi adicionada à fração anterior. O extrato foi concentrado até à secura sob condições de pressão reduzida, a uma temperatura constante de 35 °C. O resíduo resultante foi redissolvido em 50 mL de água desionizada. A amostra (50 mL) foi seguidamente aplicada na coluna para posteriormente ser aplicado em coluna Chromabond C18 SPE (70 mL/10000 mg, Macherey Nagel Duren, Alemanha), previamente acondicionada, com 20 mL de acetato de etilo, 20 mL de metanol e 20 mL de HCl 0,01N. A coluna foi lavada com 3 mL de HCl 0,01N, posteriormente foi passada a amostra. A fração de fenóis não corados foi, eluída com 20 mL de acetato de etilo (fração 1). Seguidamente, a fração de antocianinas foi eluída com 40 mL de metanol contendo 0,1% HCl (fração 2).

Ambas as frações foram concentradas até à secura sob condições de pressão reduzida, a uma temperatura de 35°C. As frações 1 e 2 foram redissolvidas com 1ml de metanol 0,1% HCl (volume reajustado conforme a amostra) e 2 mL de água acidificada (pH=2), respetivamente. Os extratos foram filtrados através de uma membrana de politetrafluoretileno (PTFE) de 0,45 µm (Millipore, Bedford, MA).

### **3.3.2. Análise dos compostos fenólicos por HPLC-DAD**

A análise dos compostos fenólicos corados e não corados por HPLC-DAD foi realizada de acordo com o método previamente descrito por Kammerer *et al.*, (2004).

#### **3.3.2.1. Antocianinas**

Os extratos foram analisados num sistema de HPLC (Gilson) usando uma coluna Spherisorb ODS2 (25,0 cm x 0,46 cm x 5 µm de tamanho de partícula Waters, Milford, MA). A fase móvel consistiu numa mistura de água/ácido fórmico/ acetonitrilo (87:10:3, v/v/v; eluente A) e água/ácido fórmico/acetonitrilo (40:10:50, v/v/v; eluente B), com o seguinte gradiente: eluição iniciou com 10% do eluente B atingindo os 25% aos 10 min, 31% aos 15 min, 40 % aos 20min, 50% aos 30 min, 100 % aos 40 min, voltando aos 10% aos 45 min, sendo o tempo total da corrida de 50 min. O fluxo de eluente utilizado foi de 0,8 mL min<sup>-1</sup>, e o volume de injeção foi de 20 µL. A deteção foi efetuada com um detetor de díodos (DAD) (Gilson).

Os dados espectrais dos picos foram recolhidos no intervalo de 200 a 600 nm. E os cromatogramas obtidos para as amostras em estudo foram registados a 500 nm, e analisados com o software Unipoint (Gilson Medical Electronics, Villiers-le-Bel, França). A identificação dos compostos fenólicos em cada extrato foi efetuada por comparação do

tempo de retenção e do espectro de absorção no UV-vis com os espectros das substâncias de referência. A quantificação foi obtida através da absorvância registada nos cromatogramas a 500 nm em relação aos padrões externos de referência.

### 3.3.2.2. Fenóis não corados

Os extratos foram analisados num sistema de HPLC (Gilson) usando uma coluna Spherisorb ODS2 (25.0 cm x 0.46 cm x 5 µm de tamanho de partícula; Waters, Milford, MA).

A fase móvel consistiu numa mistura de 2% (v/v) de ácido acético em água (eluente A), e 0,5% (v/v) de ácido acético em água e acetonitrilo (50:50, v/v) (eluente B), com o seguinte gradiente: eluição iniciou com 10% do eluente B, atingindo os 24% aos 20 min, 30% aos 40 min, 55% aos 60 min, 70% do aos 65 min, 80% aos 70 min e 100% aos 75 min, mantendo os 100% durante 5 min, e voltando aos 10% aos 82 min. O fluxo de eluente utilizado foi de 1,0 mL min<sup>-1</sup>, e o volume de injeção foi de 20 µL.

Os dados espectrais dos picos foram recolhidos no intervalo de 200 a 600 nm. A identificação foi realizada através da comparação do tempo de retenção e do espectro UV-vis de cada amostra com os espectros de substâncias de referência.

Os cromatogramas foram registados a 280, 320 e 350 nm e analisados com o software Unipoint (Gilson Medical Electronics, Villiers-le-Bel, França).

Os compostos fenólicos não corados de cada extrato foram identificados por comparação do tempo de retenção e do espectro UV-Vis de cada composto, com os das substâncias de referência. O ácido gálgico, a catequina, epicatequina e a epicatequina-3-galható foram determinados a 280nm. Os ácidos *trans*-cafeiol-tartárico (caftárico), *trans-p*-cumaroil-tartárico (coutárico) e *p*-cumárico, e o resveratrol-3-*O*-glucósido foram determinados a 320 nm. A miricetina-3-*O*-glucósido, quercetina-3-*O*-glucósido, quercetina-3-*O*-rutinósido, quercetina-3-*O*-galactósido, campeferol-3-*O*-glucósido e isoramnetina-3-*O*-glucósido foram determinados a 350 nm.

O ácido *trans-p*-cumaroil-tartárico (ácido coutárico) foi quantificado como ácido *p*-cumárico. Nas castas Alvarelhão, Touriga nacional, Rufete, Terrantez, Luzidio e Uva cão, a quercetina-3-*O*-rutinósido foi quantificada juntamente com a quercetina-3-*O*-galactósido.

## 3.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os dados estão expressos sob a forma de média +/- desvio padrão de ensaios realizados em triplicado. Aos valores das médias foi aplicado um teste Two way ANOVA,

este teste foi realizado com o programa Graph Pad Prism versão 5.0 (GraphPad Software, Inc, São Diego, CA). Valores de  $p < 0,05$  foram considerados significativamente diferentes. A análise de componentes principais (PCA) foi efetuada com recurso ao programa SPSS (versão 23.0). O PCA foi aplicado com o objetivo de reduzir o número de variáveis (22 variáveis correspondentes a cada um dos compostos fenólicos e 4 correspondentes aos tempos de colheita) para um número menor, agrupando-as. Resumindo de forma adequada a informação original, ou seja, a composição das castas em termos de compostos fenólicos. O PCA mostra as semelhanças entre as amostras projetadas no plano e faz com que seja possível identificar quais as variáveis que determinam essas semelhanças.

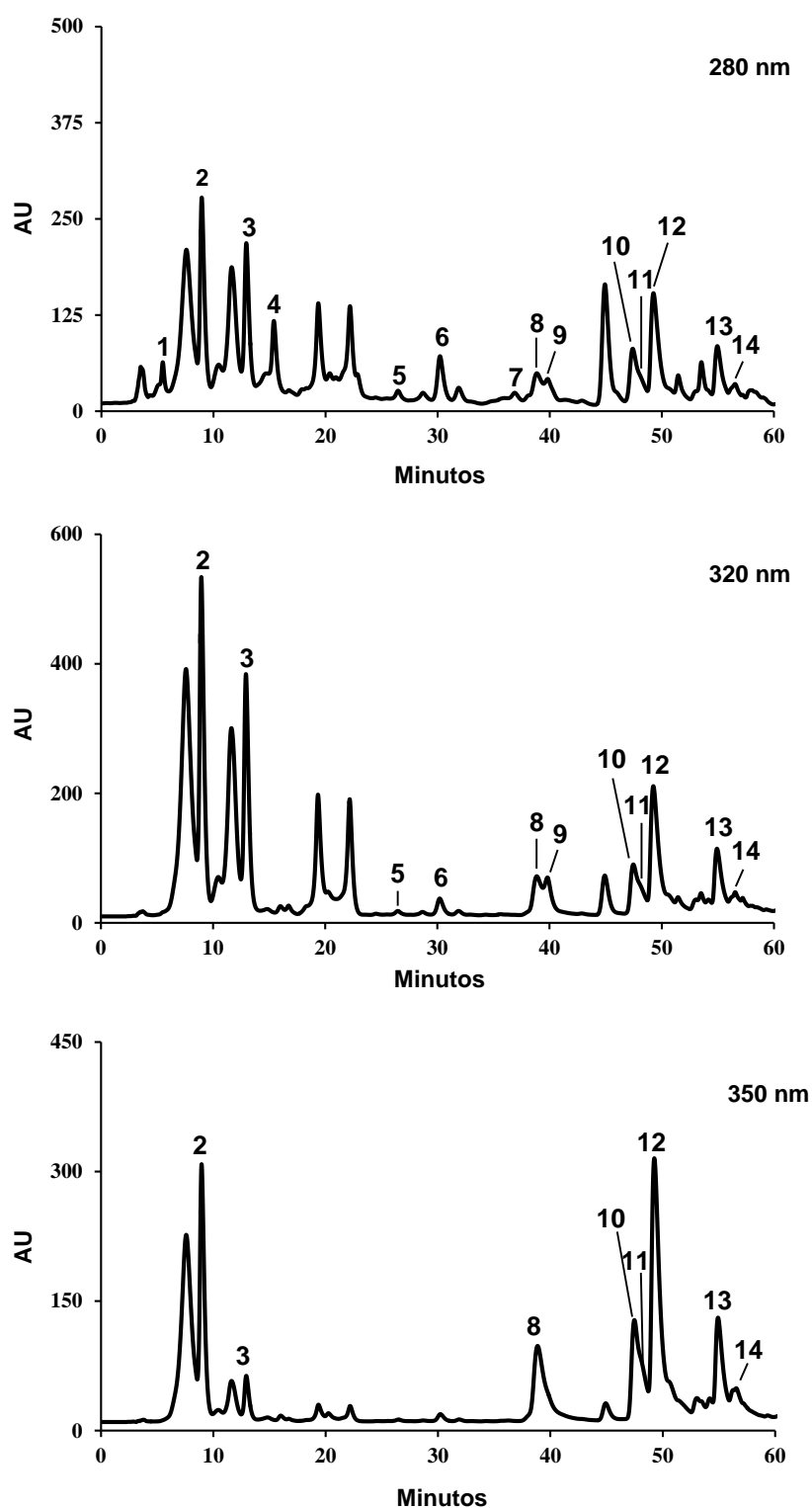
## IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. COMPOSTOS FENÓLICOS NAS UVAS TINTAS

Os compostos fenólicos são reconhecidos pelas suas funções estruturais e protetoras nas plantas. Nos vinhos, constituem um dos parâmetros de qualidade mais importante. Sendo compostos determinantes na produção de vinho, uma vez que contribuem para as propriedades organolépticas: cor, sabor, amargura e adstringência (Macheix *et al.*, 1990). Desta forma, há cada vez mais interesse por parte dos produtores de vinho no conhecimento das características das uvas, nomeadamente a sua composição fenólica, e os efeitos benéficos na saúde humana, como por exemplo a sua capacidade antioxidante e anti-inflamatória (Perez-Magarino *et al.*, 2004; Beer *et al.*, 2002; Montealegre *et al.*, 2006).

#### 4.1.1. Compostos fenólicos não corados

Os compostos fenólicos não corados presentes nas amostras de uvas foram caracterizados por HPLC/DAD, tendo-se identificado 14 compostos: ácido gálico, ácido caftarico, ácido coutárico, ácido *p*-cumárico, catequina, epicatequina e epicatequina-3-galato, resveratrol-3-O-glucósido, miricetina-3-O-glucósido, quercetina-3-O-galactósido, quercetina-3-O-rutinósido, quercetina-3-O-glucósido, canferol-3-O-glucósido, isoramnetina-3-O-glucósido (Figura 20). Todos estes compostos fenólicos foram previamente descritos em uvas (Castillo-Munoz *et al.*, 2007; Dopico-García *et al.*, 2008; Castillo-Munoz *et al.*, 2010; Perestrelo *et al.*, 2012; Menget *et al.*, 2012).



**Figura 20.** Perfil cromatográfico dos compostos fenólicos não corados da casta Rufete (T1) obtido por HPLC-DAD. Detecção a 280, 320 e 350 nm. (1) ácido gálico; (2) ácido *trans*-cafeoil tartárico; (3) ácido *trans-p*-cumaroil-tartárico; (4) catequina; (5) epicatequina; (6) ácido *p*-cumárico; (7) epicatequina-3-galhatto; (8) miricetina-3-*O*-glucósido; (9) resveratrol-3-*O*-glucósido; (10) quercetina-3-*O*-galactósido; (11) quercetina-3-*O*-rutinósido; (12) quercetina-3-*O*-glucósido; (13) canferol-3-*O*-glucósido; (14) isoramnetina-3-*O*-glucósido.

Os compostos fenólicos não corados identificados englobam várias classes: ácidos hidroxibenzóicos [1]; ácidos hidroxicinâmicos [2], [3] e [6]; estilbeno [9]; flavonóis [8], [10-14] e flavan-3-óis [4], [5] e [7].

Vários autores realizaram estudos de avaliação do perfil fenólico de castas tintas, onde identificaram diferentes classes, nomeadamente: flavonoides, flavonóis, flavanóis ácidos fenólicos e estilbenos. Os flavonóis são os compostos mais abundantes na película das uvas tintas (Borbalán *et al.*, 2003; Kozminski *et al.*, 2008; Jin *et al.*, 2009; Obreque-Slier *et al.*, 2010).

De acordo com o nosso conhecimento, este é o primeiro estudo sobre o perfil fenólico das castas Cidreiro, Coração de galo, Monvedro, Negro mouro, Touriga fêmea, Baga e Cornifesto.

Todas as castas analisadas apresentaram um perfil semelhante, observando-se, no entanto, algumas diferenças a nível quantitativo entre as diversas castas e as diferentes amostragens ao longo da maturação (Tabelas 5-15).

O ácido caftárico foi o composto maioritário em todas as castas tintas analisadas, com teores que oscilaram entre 566,7 e 4251,7 mg/Kg (expressa em matéria seca) na amostragem T4, representando entre 24% e 45% do teor total de compostos fenólicos não corados nas castas Touriga nacional e Trincadeira, respetivamente. Exceto nas castas Coração de galo, Cornifesto e Monvedro, em que se verificou que o composto maioritário foi a epicatequina, com teores que oscilaram entre 357,5 e 6372,1 mg/Kg (expressa em matéria seca), representando 10% e 75% nos teores totais em compostos fenólicos não corados nas castas Baga e Monvedro, respetivamente (Tabelas 5-15). Este resultado vai de encontro ao obtido em trabalhos anteriores, sendo reportado que o ácido caftárico e a epicatequina são os compostos fenólicos não corados presentes em maiores concentrações nas uvas tintas (Kammerer *et al.*, 2004; Montalegre *et al.*, 2006).

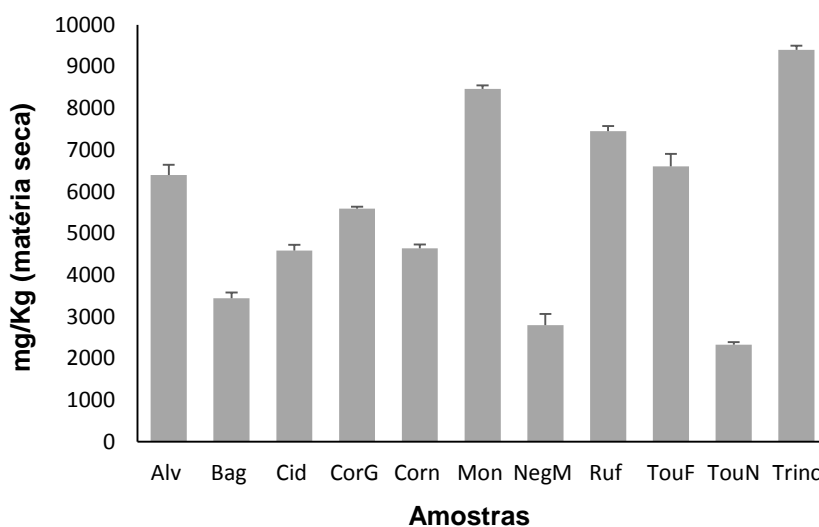
O ácido caftárico é um composto facilmente oxidável, sendo responsável muitas vezes pelo escurecimento dos vinhos, este composto é conhecido pelas propriedades adstringentes que confere às uvas e vinhos. Na saúde humana o ácido caftárico, contribui para a atividade antioxidante (Waterhouse, 2002; Garrido, 2013). A epicatequina é um composto muito importante nas uvas e conseqüentemente na estrutura dos vinhos, influenciando as suas propriedades organoléticas a nível da adstringência e amargor. A nível da saúde humana, a epicatequina tem revelado propriedades benéficas, tais como a capacidade antioxidante e inibição da proliferação celular (Singleton *et al.*, 1969; Waterhouse, 2002; Abe *et al.*, 2007).

De um modo geral, o ácido gálgico foi um dos compostos minoritários identificado nas castas estudadas, o seu teor oscilou entre 2,7 e 24,5 mg/Kg (expressa em matéria seca), representado 0,1% e 0,3% do teor total de compostos fenólicos não corados nas castas

Negro mouro e Trincadeira, respetivamente (Tabelas 5-15). Este composto é encontrado principalmente nas uvas, e destaca-se pelas suas propriedades antioxidantes (Garrido, 2013).

O resveratrol é considerado um dos principais estilbenos, é um composto muito importante devido aos seus benefícios na saúde humana, nomeadamente na prevenção de cancro e na redução de doenças cardíacas (Waterhouse, 2002; Arribas *et al.*, 2009). Este composto foi identificado em todas as castas tintas, apresentando teores que oscilaram entre 19,64 e 175,23 mg/Kg (expressa em matéria seca), representando 0,7% e 2,1% do teor total de compostos fenólicos não corados nas castas Negro mouro e Monvedro, respetivamente (Tabelas 5-15).

Do ponto de vista quantitativo, a casta Trincadeira destacou-se pelo seu maior conteúdo em compostos fenólicos não corados em T4, apresentando um teor total de 9396,75 mg/Kg (expressa em matéria seca), seguida pela casta Monvedro com 8466,24 mg/Kg (expressa em matéria seca) (Figura 21) (Tabelas 5-15).



**Figura 21.** Teor médio de compostos fenólicos não corados nas castas tintas colhidas no período T4 (Alv, Alvarelhão; Bag, Baga; Cid, Cidreiro; CorG, Coração de galo; Corn, Cornifesto; Mon, Monvedro; NegM, Negro mouro, Ruf, Rufete; TouF, Touriga fêmea; TouN, Touriga nacional; Trinc, Trincadeira).

A Touriga nacional foi a casta tinta que apresentou os teores mais baixos em compostos fenólicos não corados (2325,03 mg/Kg expressa em matéria seca) (Tabela 5) (Figura 25). Na região do Dão, esta casta tinta é a mais importante do ponto de vista enológico, sendo responsável pela produção dos melhores vinhos. Vários trabalhos foram reportados sobre

a avaliação do perfil em compostos fenólicos não corados das uvas e vinhos Touriga nacional (Paixão *et al.*, 2007; Kozminski *et al.*, 2008).

Os teores totais em compostos fenólicos não corados obtidos neste trabalho estão de acordo com diversos autores (Figueiredo-González *et al.*, 2012 a; Perestrelo *et al.*, 2012). Num estudo com uvas colhidas em diferentes estados de maturação foram reportados teores que oscilaram entre 1847,0 e 8352,2 mg/Kg (expressa em película seca) (Perestrelo *et al.*, 2012). Figueiredo-González e colaboradores (2012a) estudaram o perfil das castas Mouráton, Gran negro e Alvarelhão, e obtiveram valores que oscilaram entre 521,0 e 1769,0 mg/Kg (expressa em matéria seca). Num outro estudo realizado com 11 castas tintas provenientes da Região do Douro, foram reportados teores totais de compostos fenólicos não corados que oscilaram entre 19227,8 e 67600,4 mg/Kg (expressa em matéria seca) (Fernandes *et al.*, 2013).



**Tabela 5.** Compostos fenólicos da casta Touriga nacional ao longo da maturação (mg/Kg expressa em matéria seca).

		Touriga nacional			
		T1	T2	T3	T4
<b>Fenóis não corados</b>					
1	Ácido gálico	nd <sup>a</sup>	24,27 <sup>a</sup> (0,44)	30,39 <sup>a</sup> (1,04)	4,18 <sup>a</sup> (0,11)
2	Ácido caftarico	7164,31 <sup>a</sup> (63,42)	3604,97 <sup>b</sup> (27,02)	4934,87 <sup>c</sup> (81,93)	566,66 <sup>d</sup> (2,42)
3	Ácido coutárico	2420,14 <sup>a</sup> (17,47)	33,24 <sup>b</sup> (12,54)	726,05 <sup>c</sup> (9,50)	178,79 <sup>d</sup> (6,27)
4	Catequina	195,15 <sup>a</sup> (4,80)	112,05 <sup>b</sup> (3,75)	37,55 <sup>c</sup> (1,16)	67,80 <sup>c</sup> (0,35)
5	Epicatequina	3167,76 <sup>a</sup> (37,99)	1018,56 <sup>b</sup> (68,49)	295,09 <sup>c</sup> (12,65)	361,82 <sup>d</sup> (15,35)
6	Ácido <i>p</i> -cumárico	216,30 <sup>a</sup> (3,69)	nd <sup>b</sup>	nd <sup>b</sup>	nd <sup>b</sup>
7	Epicatequina-3-galhato	nd <sup>a</sup>	1181,53 <sup>b</sup> (5,63)	nd <sup>a</sup>	979,87 <sup>c</sup> (38,63)
8	Miricetina-3- <i>O</i> -glucósido	27,21 <sup>a</sup> (0,46)	65,21 <sup>a,b</sup> (0,21)	2,42 <sup>b</sup> (9,57)	27,88 <sup>a</sup> (0,81)
9	Resveratrol-3- <i>O</i> -glucósido	17,64 <sup>a</sup> (0,14)	29,74 <sup>a</sup> (0,10)	0,65 <sup>a</sup> (0,00)	36,61 <sup>a</sup> (0,09)
10	Quercetina-3- <i>O</i> -galactósido	531,75 <sup>a</sup> (10,93)	174,40 <sup>b</sup> (0,04)	40,27 <sup>c</sup> (9,17)	34,67 <sup>c</sup> (0,44)
11	Quercetina-3- <i>O</i> -rutinósido	nd	nd	nd	nd
12	Quercetina-3- <i>O</i> -glucósido	52,58 <sup>a</sup> (1,84)	628,81 <sup>b</sup> (3,62)	66,24 <sup>c</sup> (7,86)	66,75 <sup>a</sup> (0,01)
13	Canferol-3- <i>O</i> -glucósido	nd <sup>a</sup>	39,40 <sup>a</sup> (0,48)	6,24 <sup>a</sup> (0,10)	nd <sup>a</sup>
14	Isoramnetina-3- <i>O</i> -glucósido	nd <sup>a</sup>	121,16 <sup>b</sup> (27,09)	11,51 <sup>c</sup> (0,81)	nd <sup>a</sup>
	$\Sigma$	<b>13792,84</b>	<b>7033,34</b>	<b>6151,28</b>	<b>2325,03</b>
<b>Antocianinas</b>					
15	Delfidina-3- <i>O</i> -glucósido	244,50 <sup>a</sup> (0,76)	146,93 <sup>b</sup> (1,91)	394,06 <sup>c</sup> (0,70)	458,53 <sup>d</sup> (1,3)
16	Cianidina-3- <i>O</i> -glucósido	66,52 <sup>a</sup> (0,43)	20,47 <sup>b</sup> (0,20)	51,34 <sup>a</sup> (0,21)	155,47 <sup>c</sup> (0,0)
17	Petunidina-3- <i>O</i> -glucósido	572,84 <sup>a</sup> (43,82)	319,69 <sup>b</sup> (0,03)	741,71 <sup>c</sup> (1,28)	911,86 <sup>d</sup> (0,2)
18	Peonidina-3- <i>O</i> -glucósido	633,39 <sup>a</sup> (18,44)	182,75 <sup>b</sup> (5,51)	536,86 <sup>c</sup> (1,37)	1052,28 <sup>d</sup> (1,6)
19	Malvidina-3- <i>O</i> -glucósido	1028,56 <sup>a</sup> (7,46)	541,17 <sup>b</sup> (14,42)	1243,03 <sup>c</sup> (1,54)	1191,23 <sup>d</sup> (1,4)
20	Petunidina-3- <i>O-p</i> -cumaroilglucósido	24,90 <sup>a</sup> (0,18)	33,35 <sup>a</sup> (0,01)	88,68 <sup>b</sup> (0,01)	92,99 <sup>b</sup> (0,1)
21	Peonidina-3- <i>O-p</i> -cumaroilglucósido	68,61 <sup>a</sup> (1,80)	39,56 <sup>b</sup> (0,21)	130,12 <sup>c</sup> (0,52)	111,75 <sup>c</sup> (0,4)
22	Malvidina-3- <i>O-p</i> -cumaroilglucósido	151,71 <sup>a</sup> (0,77)	81,83 <sup>b</sup> (0,63)	208,13 <sup>c</sup> (0,12)	160,95 <sup>a</sup> (0,1)
	$\Sigma$	<b>2790,98</b>	<b>1365,75</b>	<b>3393,93</b>	<b>4134,96</b>
<b>Total</b>		<b>16583,82</b>	<b>8399,09</b>	<b>9545,21</b>	<b>6459,99</b>

Valores expressos em média (desvio padrão) de três ensaios. nd, não detetado. nq não quantificado,  $\Sigma$  soma da concentração de compostos fenólicos. Na mesma linha letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre os diferentes tempos de colheita para as quais  $p < 0,0001$ . Com as exceções: Epicatequina T3 vs T4  $p < 0,001$ ; Peonidina-3-*O-p*-cumaroilglucósido T1 vs T2 e Cianidina-3-*O*-glucósido T2 vs T3 e Isoramnetina-3-*O*-glucósido T1 vs T3; T3 vs T4  $p < 0,01$ ; Catequina T2 vs T4  $p < 0,05$ .

**Tabela 6.** Compostos fenólicos da casta Trincadeira ao longo da (maturação mg/Kg expressa em matéria seca).

		<b>Trincadeira</b>			
		<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>
<b>Fenóis não corados</b>					
1	Ácido gálico	4,92 <sup>a</sup> (0,29)	4,56 <sup>a</sup> (0,00)	13,60 <sup>a</sup> (0,85)	24,49 <sup>a</sup> (0,66)
2	Ácido caftarico	1704,54 <sup>a</sup> (81,29)	1381,57 <sup>b</sup> (47,73)	265,15 <sup>c</sup> (8,03)	4751,73 <sup>d</sup> (11,81)
3	Ácido coutárico	183,92 <sup>a</sup> (1,02)	57,04 <sup>b</sup> (5,02)	125,09 <sup>c</sup> (12,59)	361,60 <sup>d</sup> (6,03)
4	Catequina	47,06 <sup>a</sup> (4,47)	17,48 <sup>a</sup> (0,13)	nd <sup>a</sup>	285,82 <sup>b</sup> (3,19)
5	Epicatequina	565,20 <sup>a</sup> (92,93)	86,49 <sup>b</sup> (17,11)	nd <sup>c</sup>	4089,60 <sup>d</sup> (77,14)
6	Ácido <i>p</i> -cumárico	nd	nd	nd	nd
7	Epicatequina-3-galhato	nd <sup>a</sup>	328,85 <sup>b</sup> (62,63)	nd <sup>a</sup>	nd <sup>a</sup>
8	Miricetina-3-O-glucósido	37,34 <sup>a</sup> (0,67)	39,70 <sup>a</sup> (2,36)	9,57 <sup>a</sup> (0,02)	52,87 <sup>a</sup> (1,23)
9	Resveratrol-3-O-glucósido	15,71 <sup>a</sup> (0,10)	20,44 <sup>a</sup> (0,56)	nd <sup>a</sup>	78,91 <sup>b</sup> (1,27)
10	Quercetina-3-O-galactósido	120,66 <sup>a</sup> (3,90)	28,76 <sup>b</sup> (1,12)	40,27 <sup>b</sup> (9,17)	nd <sup>b</sup>
11	Quercetina-3-O-rutinósido	nd	nd	nd	nd
12	Quercetina-3-O-glucósido	167,23 <sup>a</sup> (4,57)	131,86 <sup>a</sup> (6,31)	66,24 <sup>b</sup> (7,86)	251,173 <sup>c</sup> (2,15)
13	Canferol-3-O-glucósido	nd <sup>a</sup>	9,94 <sup>a</sup> (0,19)	6,24 <sup>a</sup> (0,10)	nd <sup>a</sup>
14	Isoramnetina-3-O-glucósido	nd <sup>a</sup>	15,82 <sup>a</sup> (1,14)	11,51 <sup>a</sup> (0,81)	nd <sup>a</sup>
	$\Sigma$	<b>2846,58</b>	<b>2122,51</b>	<b>564,79</b>	<b>9396,74</b>
<b>Antocianinas</b>					
15	Delfidina-3-O-glucósido	142,85 <sup>a</sup> (1,36)	87,52 <sup>b</sup> (5,48)	136,27 <sup>a</sup> (2,89)	662,86 <sup>c</sup> (3,6)
16	Cianidina-3-O-glucósido	53,17 <sup>a</sup> (2,17)	17,06 <sup>b</sup> (0,39)	33,40 <sup>c</sup> (2,41)	117,34 <sup>d</sup> (0,2)
17	Petunidina-3-O-glucósido	293,87 <sup>a</sup> (9,25)	189,23 <sup>b</sup> (0,09)	298,74 <sup>a</sup> (4,98)	1339,71 <sup>c</sup> (6,9)
18	Peonidina-3-O-glucósido	205,91 <sup>a</sup> (26,30)	115,89 <sup>b</sup> (4,73)	233,59 <sup>c</sup> (4,26)	1133,11 <sup>d</sup> (1,7)
19	Malvidina-3-O-glucósido	443,06 <sup>a</sup> (2,53)	263,70 <sup>b</sup> (0,62)	401,20 <sup>c</sup> (5,37)	2045,84 <sup>d</sup> (11,1)
20	Petunidina-3-O- <i>p</i> -cumaroilglucósido	71,92 <sup>a</sup> (5,06)	25,04 <sup>b</sup> (0,16)	27,40 <sup>b</sup> (0,02)	123,13 <sup>c</sup> (0,3)
21	Peonidina-3-O- <i>p</i> -cumaroilglucósido	3,12 <sup>a</sup> (0,34)	14,28 <sup>a,b</sup> (0,05)	22,76 <sup>b</sup> (0,20)	235,15 <sup>c</sup> (1,4)
22	Malvidina-3-O- <i>p</i> -cumaroilglucósido	15,74 <sup>a</sup> (0,27)	39,81 <sup>b</sup> (0,66)	47,41 <sup>b</sup> (0,67)	279,70 <sup>c</sup> (0,6)
	$\Sigma$	<b>1229,64</b>	<b>752,53</b>	<b>1200,77</b>	<b>5936,84</b>
	<b>Total</b>	<b>4076,22</b>	<b>2875,04</b>	<b>1765,56</b>	<b>15225,10</b>

Valores expressos em média (desvio padrão) de três ensaios. nd, não detetado. nq não quantificado,  $\Sigma$  soma da concentração de compostos fenólicos. Na mesma linha letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre os diferentes tempos de colheita para as quais  $p < 0,0001$ . Com as exceções: Resveratrol-3-O-glucósido T3 vs T4 e Quercetina-3-O-galactósido T1 vs T3 e Quercetina-3-O-glucósido T1 vs T3 e Cianidina-3-O-glucósido T1 vs T3 e Peonidina-3-O-*p*-cumaroilglucósido T1 vs T3  $p < 0,001$ ; Ácido coutárico T2 vs T3 e Resveratrol-3-O-glucósido T1 vs T4 Quercetina-3-O-glucósido T2 vs T3 e Cianidina-3-O-glucósido T2 vs T3  $p < 0,01$ ; Ácido coutárico T1 vs T3 e Resveratrol-3-O-glucósido T2 vs T4  $p < 0,05$ .

**Tabela 7.** Compostos fenólicos da casta Monvedro ao longo da maturação (mg/Kg expressa em matéria seca).

		<b>Monvedro</b>			
		<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>
<b>Fenóis não corados</b>					
1	Ácido gálico	4,76 <sup>a</sup> (0,20)	4,21 <sup>a</sup> (0,13)	6,55 <sup>a</sup> (0,82)	6,15 <sup>a</sup> (0,01)
2	Ácido caftarico	3616,77 <sup>a</sup> (118,50)	441,24 <sup>b</sup> (0,30)	2056,05 <sup>c</sup> (400,81)	1018,98 <sup>d</sup> (23,57)
3	Ácido coutárico	1254,90 <sup>a</sup> (6,44)	22,73 <sup>b</sup> (0,59)	88,58 <sup>b</sup> (9,01)	154,23 <sup>b</sup> (8,23)
4	Catequina	667,79 <sup>a</sup> (2,00)	143,53 <sup>b</sup> (6,43)	312,18 <sup>b</sup> (49,42)	626,67 <sup>a</sup> (4,33)
5	Epicatequina	5814,04 <sup>a</sup> (409,47)	768,10 <sup>b</sup> (27,10)	2093,80 <sup>c</sup> (294,44)	6372,08 <sup>d</sup> (47,20)
6	Ácido <i>p</i> -cumárico	nd	nd	nd	nd
7	Epicatequina-3-galhato	nd <sup>a</sup>	nd <sup>a</sup>	2628,54 <sup>b</sup> (367,13)	nd <sup>a</sup>
8	Miricetina-3- <i>O</i> -glucósido	12,01 <sup>a</sup> (0,37)	27,73 <sup>a</sup> (1,97)	18,89 <sup>a</sup> (4,14)	24,34 <sup>a</sup> (0,24)
9	Resveratrol-3- <i>O</i> -glucósido	80,22 <sup>a</sup> (1,69)	77,35 <sup>a</sup> (0,79)	26,47 <sup>a</sup> (6,01)	175,23 <sup>a</sup> (0,36)
10	Quercetina-3- <i>O</i> -galactósido	158,43 <sup>a</sup> (3,40)	71,55 <sup>a</sup> (0,99)	252,30 <sup>a</sup> (43,35)	nd <sup>b</sup>
11	Quercetina-3- <i>O</i> -rutinósido	nd	nd	nd	nd
12	Quercetina-3- <i>O</i> -glucósido	150,08 <sup>a</sup> (4,24)	83,09 <sup>a</sup> (0,55)	129,03 <sup>a</sup> (24,10)	88,56 <sup>a</sup> (0,24)
13	Canferol-3- <i>O</i> -glucósido	4,81 <sup>a</sup> (0,62)	nd <sup>a</sup>	5,38 <sup>a</sup> (0,69)	nd <sup>a</sup>
14	Isoramnetina-3- <i>O</i> -glucósido	34,44 <sup>a</sup> (2,73)	nd <sup>a</sup>	12,72 <sup>a</sup> (3,05)	nd <sup>a</sup>
	$\Sigma$	<b>11798,25</b>	<b>1639,53</b>	<b>7634,49</b>	<b>8466,24</b>
<b>Antocianinas</b>					
15	Delfidina-3- <i>O</i> -glucósido	212,22 <sup>a</sup> (8,45)	27,71 <sup>b</sup> (0,13)	94,62 <sup>c</sup> (1,41)	229,03 <sup>a</sup> (0,6)
16	Cianidina-3- <i>O</i> -glucósido	58,83 <sup>a</sup> (3,77)	6,10 <sup>b</sup> (0,17)	34,39 <sup>a,b</sup> (0,09)	63,47 <sup>a</sup> (0,2)
17	Petunidina-3- <i>O</i> -glucósido	430,87 <sup>a</sup> (30,29)	67,47 <sup>b</sup> (1,55)	210,45 <sup>c</sup> (0,07)	526,81 <sup>d</sup> (0,6)
18	Peonidina-3- <i>O</i> -glucósido	783,92 <sup>a</sup> (23,45)	136,45 <sup>b</sup> (1,71)	327,85 <sup>c</sup> (4,79)	1528,61 <sup>d</sup> (2,5)
19	Malvidina-3- <i>O</i> -glucósido	1039,77 <sup>a</sup> (78,39)	161,73 <sup>b</sup> (2,08)	544,56 <sup>c</sup> (6,45)	1387,62 <sup>d</sup> (2,3)
20	Petunidina-3- <i>O-p</i> -cumaroilglucósido	25,73 <sup>a</sup> (1,66)	3,74 <sup>a</sup> (0,16)	31,26 <sup>a</sup> (0,03)	30,89 <sup>a</sup> (0,1)
21	Peonidina-3- <i>O-p</i> -cumaroilglucósido	45,91 <sup>a</sup> (0,91)	11,58 <sup>b</sup> (0,24)	42,61 <sup>a,b</sup> (1,48)	146,43 <sup>c</sup> (0,2)
22	Malvidina-3- <i>O-p</i> -cumaroilglucósido	77,39 <sup>a</sup> (0,78)	12,30 <sup>b</sup> (0,05)	79,19 <sup>a</sup> (2,66)	120,55 <sup>c</sup> (0,4)
	$\Sigma$	<b>2674,64</b>	<b>427,08</b>	<b>1364,93</b>	<b>4033,41</b>
<b>Total</b>		<b>14472,89</b>	<b>2066,61</b>	<b>8999,42</b>	<b>12499,65</b>

Valores expressos em média (desvio padrão) de três ensaios. nd, não detetado. nq não quantificado,  $\Sigma$  soma da concentração de compostos fenólicos. Na mesma linha letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre os diferentes tempos de colheita para as quais  $p < 0,0001$ . Com as exceções: Cianidina-3-*O*-glucósido T1 vs T2; T2 vs T4  $p < 0,001$ ; Catequina T3 vs T4 e Malvidina-3-*O-p*-cumaroilglucósido T1 vs T4; T3 vs T4  $p < 0,01$ ; Peonidina-3-*O-p*-cumaroilglucósido T1 vs T2  $p < 0,05$ .

**Tabela 8.** Compostos fenólicos da casta Rufete ao longo da maturação (mg/Kg expressa em matéria seca).

		<b>Rufete</b>			
		<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>
<b>Fenóis não corados</b>					
1	Ácido gálico	25,38 <sup>a</sup> (1,82)	6,35 <sup>a</sup> (0,38)	17,36 <sup>a</sup> (0,28)	15,87 <sup>a</sup> (0,04)
2	Ácido caftarico	3040,78 <sup>a</sup> (6,85)	1576,47 <sup>b</sup> (70,35)	1522,03 <sup>b</sup> (7,56)	1253,13 <sup>c</sup> (47,13)
3	Ácido coutárico	2722,44 <sup>a</sup> (13,74)	62,88 <sup>b</sup> (4,24)	184,34 <sup>c</sup> (4,17)	300,32 <sup>d</sup> (13,73)
4	Catequina	116,20 <sup>a</sup> (1,30)	64,15 <sup>a</sup> (1,17)	675,58 <sup>b</sup> (2,47)	522,57 <sup>c</sup> (11,25)
5	Epicatequina	424,39 <sup>a</sup> (25,34)	123,50 <sup>b</sup> (20,05)	3208,75 <sup>c</sup> (69,61)	3268,60 <sup>c</sup> (33,96)
6	Ácido <i>p</i> -cumárico	89,76 <sup>a</sup> (0,80)	nd <sup>b</sup>	nd <sup>b</sup>	nd <sup>b</sup>
7	Epicatequina-3-galato	343,00 <sup>a</sup> (181,53)	116,92 <sup>b</sup> (17,07)	2833,73 <sup>c</sup> (2,87)	1541,56 <sup>d</sup> (11,47)
8	Miricetina-3-O-glucósido	49,01 <sup>a</sup> (0,96)	28,50 <sup>a</sup> (0,58)	66,49 <sup>a</sup> (1,40)	82,50 <sup>a</sup> (2,35)
9	Resveratrol-3-O-glucósido	nd <sup>a</sup>	8,36 <sup>a</sup> (0,12)	17,23 <sup>a</sup> (0,36)	55,74 <sup>a</sup> (0,54)
10	Quercetina-3-O-galactósido	266,16 <sup>a</sup> (0,69)	36,85 <sup>b</sup> (1,13)	116,96 <sup>c</sup> (0,83)	64,27 <sup>b,c</sup> (1,40)
11	Quercetina-3-O-rutinósido	nd	nd	nd	nd
12	Quercetina-3-O-glucósido	356,15 <sup>a</sup> (0,58)	150,35 <sup>b</sup> (2,47)	502,69 <sup>c</sup> (10,52)	304,44 <sup>a</sup> (0,93)
13	Canferol-3-O-glucósido	42,64 <sup>a</sup> (1,36)	20,19 <sup>a</sup> (2,04)	69,89 <sup>a</sup> (0,98)	36,71 <sup>a</sup> (1,22)
14	Isoramnetina-3-O-glucósido	13,87 <sup>a</sup> (0,61)	13,35 <sup>a</sup> (0,24)	nd <sup>a</sup>	nd <sup>a</sup>
	$\Sigma$	<b>7497,98</b>	<b>2207,87</b>	<b>9215,05</b>	<b>7445,71</b>
<b>Antocianinas</b>					
15	Delfidina-3-O-glucósido	38,75 <sup>a</sup> (3,01)	9,08 <sup>b</sup> (0,06)	285,85 <sup>c</sup> (2,11)	283,56 <sup>c</sup> (0,7)
16	Cianidina-3-O-glucósido	20,76 <sup>a</sup> (0,98)	1,94 <sup>b</sup> (0,04)	73,18 <sup>c</sup> (0,18)	68,74 <sup>c</sup> (0,1)
17	Petunidina-3-O-glucósido	102,47 <sup>a</sup> (0,98)	20,76 <sup>b</sup> (0,65)	640,78 <sup>c</sup> (0,62)	511,12 <sup>d</sup> (0,2)
18	Peonidina-3-O-glucósido	112,22 <sup>a</sup> (4,26)	12,59 <sup>b</sup> (0,01)	447,01 <sup>c</sup> (1,34)	370,97 <sup>d</sup> (0,3)
19	Malvidina-3-O-glucósido	177,88 <sup>a</sup> (1,99)	52,30 <sup>b</sup> (0,90)	1387,54 <sup>c</sup> (8,61)	1095,91 <sup>d</sup> (4,6)
20	Petunidina-3-O- <i>p</i> -cumaroilglucósido	nd <sup>a</sup>	6,08 <sup>b</sup> (0,20)	49,62 <sup>c</sup> (1,28)	99,01 <sup>d</sup> (0,4)
21	Peonidina-3-O- <i>p</i> -cumaroilglucósido	4,67 <sup>a</sup> (0,15)	4,01 <sup>a</sup> (0,13)	43,66 <sup>b</sup> (0,13)	66,32 <sup>c</sup> (0,6)
22	Malvidina-3-O- <i>p</i> -cumaroilglucósido	15,61 <sup>a</sup> (0,64)	15,77 <sup>a</sup> (0,62)	141,37 <sup>b</sup> (0,28)	225,38 <sup>c</sup> (0,4)
	$\Sigma$	<b>476,42</b>	<b>122,53</b>	<b>3069,01</b>	<b>2721,01</b>
<b>Total</b>		<b>7974,40</b>	<b>2330,40</b>	<b>12284,06</b>	<b>10166,72</b>

Valores expressos em média (desvio padrão) de três ensaios. nd, não detetado. nq não quantificado,  $\Sigma$  soma da concentração de compostos fenólicos. Na mesma linha letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre os diferentes tempos de colheita para as quais  $p < 0,0001$ . Com as exceções: Ácido *p*-cumárico T1 vs T2; T1 vs T3; T1 vs T4  $p < 0,01$ ; Petunidina-3-O-*p*-cumaroilglucósido T1 vs T2  $p < 0,05$ .

**Tabela 9.** Compostos fenólicos da casta Touriga fêmea ao longo da maturação (mg/Kg expressa em matéria seca).

		Touriga fêmea			
		T1	T2	T3	T4
<b>Fenóis não corados</b>					
1	Ácido gálico	4,34 <sup>a</sup> (0,36)	9,63 <sup>a</sup> (0,38)	7,28 <sup>a</sup> (0,12)	9,95 <sup>a</sup> (0,03)
2	Ácido caftarico	5059,95 <sup>a</sup> (62,75)	4352,09 <sup>b</sup> (20,87)	1807,16 <sup>c</sup> (61,12)	2573,72 <sup>d</sup> (70,39)
3	Ácido coutárico	3921,59 <sup>a</sup> (248,77)	144,07 <sup>b</sup> (8,13)	36,76 <sup>c</sup> (6,06)	107,21 <sup>b,c</sup> (20,89)
4	Catequina	28,33 <sup>a</sup> (4,24)	nd <sup>a</sup>	12,10 <sup>a</sup> (0,84)	232,95 <sup>b</sup> (1,28)
5	Epicatequina	86,33 <sup>a</sup> (1,43)	1083,74 <sup>b</sup> (101,24)	nd <sup>a</sup>	1785,44 <sup>c</sup> (45,10)
6	Ácido <i>p</i> -cumárico	nd	nd	nd	nd
7	Epicatequina-3-galható	87,67 <sup>a</sup> (2,15)	nd <sup>a</sup>	nd <sup>a</sup>	1347,61 <sup>b</sup> (102,20)
8	Miricetina-3-O-glucósido	78,73 <sup>a</sup> (0,59)	42,98 <sup>a</sup> (0,98)	57,93 <sup>a</sup> (0,88)	52,12 <sup>a</sup> (60,09)
9	Resveratrol-3-O-glucósido	30,61 <sup>a</sup> (0,22)	34,91 <sup>a</sup> (0,57)	34,38 <sup>a</sup> (0,59)	88,38 <sup>a</sup> (0,72)
10	Quercetina-3-O-galactósido	256,08 <sup>a</sup> (1,95)	78,62 <sup>b</sup> (0,03)	209,73 <sup>a</sup> (1,34)	74,22 <sup>b</sup> (0,42)
11	Quercetina-3-O-rutinósido	84,07 <sup>a</sup> (2,00)	nd <sup>a</sup>	nd <sup>a</sup>	nd <sup>a</sup>
12	Quercetina-3-O-glucósido	69,39 <sup>a</sup> (1,13)	299,02 <sup>b</sup> (4,58)	231,60 <sup>b</sup> (0,01)	306,55 <sup>b</sup> (0,90)
13	Canferol-3-O-glucósido	29,22 <sup>a</sup> (1,06)	19,43 <sup>a</sup> (0,35)	15,03 <sup>a</sup> (0,90)	nd <sup>a</sup>
14	Isoramnetina-3-O-glucósido	64,35 <sup>a</sup> (5,33)	48,91 <sup>a</sup> (2,32)	54,22 <sup>a</sup> (0,36)	24,62 <sup>a</sup> (0,38)
	$\Sigma$	<b>9800,66</b>	<b>6113,40</b>	<b>2466,19</b>	<b>6602,77</b>
<b>Antocianinas</b>					
15	Delfidina-3-O-glucósido	41,45 <sup>a</sup> (1,30)	4,06 <sup>b</sup> (0,05)	33,81 <sup>c</sup> (0,93)	223,36 <sup>d</sup> (0,2)
16	Cianidina-3-O-glucósido	4,82 <sup>a</sup> (0,27)	6,43 <sup>a</sup> (0,04)	5,78 <sup>a</sup> (0,34)	45,64 <sup>b</sup> (0,2)
17	Petunidina-3-O-glucósido	133,95 <sup>a</sup> (1,22)	22,12 <sup>b</sup> (0,51)	121,44 <sup>c</sup> (1,98)	580,37 <sup>d</sup> (1,3)
18	Peonidina-3-O-glucósido	84,14 <sup>a</sup> (0,28)	3,97 <sup>b</sup> (1,03)	124,21 <sup>c</sup> (0,47)	549,74 <sup>d</sup> (0,2)
19	Malvidina-3-O-glucósido	508,62 <sup>a</sup> (3,20)	74,12 <sup>b</sup> (0,80)	453,79 <sup>c</sup> (6,74)	1608,09 <sup>d</sup> (9,3)
20	Petunidina-3-O- <i>p</i> -cumaroilglucósido	54,04 <sup>a</sup> (2,08)	12,85 <sup>b</sup> (0,55)	43,13 <sup>c</sup> (1,06)	134,37 <sup>d</sup> (1,3)
21	Peonidina-3-O- <i>p</i> -cumaroilglucósido	12,76 <sup>a</sup> (0,69)	7,62 <sup>a</sup> (0,04)	31,29 <sup>b</sup> (0,75)	96,40 <sup>c</sup> (0,5)
22	Malvidina-3-O- <i>p</i> -cumaroilglucósido	108,82 <sup>a</sup> (7,11)	54,71 <sup>b</sup> (0,56)	176,26 <sup>c</sup> (5,63)	466,45 <sup>d</sup> (2,1)
	$\Sigma$	<b>948,60</b>	<b>185,88</b>	<b>989,71</b>	<b>370,05</b>
	<b>Total</b>	<b>10749,26</b>	<b>6299,28</b>	<b>3455,90</b>	<b>10306,82</b>

Valores expressos em média (desvio padrão) de três ensaios. nd, não detetado. nq não quantificado,  $\Sigma$  soma da concentração de compostos fenólicos. Na mesma linha letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre os diferentes tempos de colheita para as quais  $p < 0,0001$ . Com as exceções: Delfinidina-3-O-glucósido T1 vs T3 e Quercetina-3-O-galactósido T2 vs T3  $p < 0,01$ ; Ácido coutárico T2 vs T3  $p < 0,05$ .

**Tabela 10.** Compostos fenólicos da casta Alvarelhão ao longo da maturação (mg/Kg expressa em matéria seca).

		<b>Alvarelhão</b>			
		<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>
<b>Fenóis não corados</b>					
1	Ácido gálico	2,94 <sup>a</sup> (0,96)	8,04 <sup>a</sup> (0,08)	3,35 <sup>a</sup> (0,60)	3,96 <sup>a</sup> (0,08)
2	Ácido caftárico	5319,02 <sup>a</sup> (167,57)	2298,03 <sup>b</sup> (123,89)	2126,25 <sup>c</sup> (136,89)	3529,56 <sup>d</sup> (1,61)
3	Ácido coutárico	7025,84 <sup>a</sup> (34,24)	312,62 <sup>b</sup> (11,19)	121,00 <sup>c</sup> (21,49)	384,30 <sup>b</sup> (229,67)
4	Catequina	831,28 <sup>a</sup> (22,54)	nd <sup>b</sup>	170,31 <sup>c</sup> (18,59)	136,19 <sup>c</sup> (0,33)
5	Epicatequina	6833,60 <sup>a</sup> (100,43)	320,04 <sup>b</sup> (14,78)	1270,18 <sup>c</sup> (11,92)	1379,19 <sup>d</sup> (11,36)
6	Ácido <i>p</i> -cumárico	nd	nd	nd	nd
7	Epicatequina-3-galato	nd <sup>a</sup>	nd <sup>a</sup>	782,91 <sup>b</sup> (40,51)	nd <sup>a</sup>
8	Miricetina-3-O-glucósido	nd <sup>a</sup>	14,12 <sup>a</sup> (0,36)	23,60 <sup>a</sup> (2,79)	21,34 <sup>a</sup> (0,09)
9	Resveratrol-3-O-glucósido	44,19 <sup>a,b</sup> (1,27)	6,48 <sup>b</sup> (0,56)	38,49 <sup>a,b</sup> (5,63)	125,29 <sup>a</sup> (0,45)
10	Quercetina-3-O-galactósido	806,52 <sup>a</sup> (10,81)	197,54 <sup>b</sup> (0,42)	534,86 <sup>c</sup> (73,39)	239,24 <sup>b</sup> (0,15)
11	Quercetina-3-O-rutinósido	nd	nd	nd	nd
12	Quercetina-3-O-glucósido	854,52 <sup>a</sup> (4,85)	327,75 <sup>b</sup> (0,95)	723,85 <sup>c</sup> (103,24)	487,39 <sup>d</sup> (0,08)
13	Canferol-3-O-glucósido	34,88 <sup>a</sup> (3,73)	13,10 <sup>a</sup> (0,35)	43,87 <sup>a</sup> (6,11)	18,38 <sup>a</sup> (0,32)
14	Isoramnetina-3-O-glucósido	72,63 <sup>a</sup> (0,31)	91,00 <sup>a</sup> (0,02)	73,94 <sup>a</sup> (6,94)	71,12 <sup>a</sup> (1,06)
	$\Sigma$	<b>21825,41</b>	<b>3588,71</b>	<b>5912,61</b>	<b>6395,95</b>
<b>Antocianinas</b>					
15	Delfidina-3-O-glucósido	90,03 <sup>a</sup> (3,64)	30,34 <sup>b</sup> (0,17)	74,54 <sup>c</sup> (0,33)	121,64 <sup>d</sup> (0,7)
16	Cianidina-3-O-glucósido	76,51 <sup>a</sup> (1,18)	32,81 <sup>b</sup> (0,79)	96,08 <sup>c</sup> (1,02)	141,75 <sup>d</sup> (0,2)
17	Petunidina-3-O-glucósido	144,3 <sup>a</sup> (1,34)	76,62 <sup>b</sup> (0,19)	172,24 <sup>c</sup> (0,33)	277,17 <sup>d</sup> (0,2)
18	Peonidina-3-O-glucósido	822,61 <sup>a</sup> (6,10)	319,31 <sup>b</sup> (0,37)	599,14 <sup>c</sup> (3,78)	1181,92 <sup>d</sup> (1,5)
19	Malvidina-3-O-glucósido	480,52 <sup>a</sup> (0,32)	188,59 <sup>b</sup> (0,07)	325,78 <sup>c</sup> (1,15)	570,67 <sup>d</sup> (0,6)
20	Petunidina-3-O- <i>p</i> -cumaroilglucósido	19,70 <sup>a</sup> (0,35)	nd <sup>b</sup>	8,04 <sup>c</sup> (0,18)	9,59 <sup>c</sup> (0,0)
21	Peonidina-3-O- <i>p</i> -cumaroilglucósido	41,88 <sup>a</sup> (0,0)	21,43 <sup>b</sup> (1,18)	35,90 <sup>c</sup> (0,20)	71,54 <sup>d</sup> (0,1)
22	Malvidina-3-O- <i>p</i> -cumaroilglucósido	32,74 <sup>a</sup> (0,22)	10,99 <sup>b</sup> (0,25)	16,25 <sup>c</sup> (0,09)	30,05 <sup>a</sup> (0,00)
	$\Sigma$	<b>1708,29</b>	<b>680,09</b>	<b>1327,97</b>	<b>2404,33</b>
<b>Total</b>		<b>23533,71</b>	<b>4268,81</b>	<b>7240,58</b>	<b>8800,29</b>

Valores expressos em média (desvio padrão) de três ensaios. nd, não detetado. nq não quantificado,  $\Sigma$  soma da concentração de compostos fenólicos. Na mesma linha letras, diferentes correspondem a diferenças significativas entre os diferentes tempos de colheita para as quais  $p < 0,0001$ . Com as exceções: Ácido caftárico, T1 vs T2 e Catequina T2 vs T3,  $p < 0,001$ ; Catequina T2 vs T4 e Quercetina-3-O-glucósido  $p < 0,01$ ; Epicatequina T3 vs T4 e Quercetina-3-O-glucósido T1 vs T3  $p < 0,05$ .

**Tabela 11.** Compostos fenólicos da casta Coração de galo ao longo da maturação (mg/Kg expressa em matéria seca).

		Coração de galo			
		T1	T2	T3	T4
<b>Fenóis não corados</b>					
1	Ácido gálico	127,91 <sup>a</sup> (4,30)	17,17 <sup>a</sup> (0,19)	10,74 <sup>a</sup> (0,53)	16,39 <sup>a</sup> (0,06)
2	Ácido caftarico	11082,45 <sup>a</sup> (148,58)	4337,40 <sup>b</sup> (60,29)	2635,41 <sup>c</sup> (40,10)	3330,50 <sup>d</sup> (12,90)
3	Ácido coutárico	3826,78 <sup>a</sup> (140,83)	1584,90 <sup>b</sup> (1,35)	297,17 <sup>c</sup> (13,17)	180,75 <sup>c</sup> (10,58)
4	Catequina	2544,02 <sup>a</sup> (53,72)	349,46 <sup>b</sup> (3,45)	191,12 <sup>c</sup> (1,11)	246,81 <sup>b,c</sup> (0,32)
5	Epicatequina	20779,11 <sup>a</sup> (310,77)	1889,71 <sup>b</sup> (79,62)	1583,82 <sup>c</sup> (132,04)	1119,01 <sup>d</sup> (9,59)
6	Ácido <i>p</i> -cumárico	19,28 <sup>a</sup> (0,22)	nd <sup>a</sup>	nd <sup>a</sup>	nd <sup>a</sup>
7	Epicatequina-3-galhato	nd <sup>a</sup>	nd <sup>a</sup>	1210,47 <sup>b</sup> (48,47)	nd <sup>a</sup>
8	Miricetina-3-O-glucósido	20,05 <sup>a</sup> (0,27)	18,86 <sup>a</sup> (0,01)	19,25 <sup>a</sup> (0,10)	36,34 <sup>a</sup> (0,06)
9	Resveratrol-3-O-glucósido	27,32 <sup>a</sup> (0,15)	17,00 <sup>a</sup> (0,21)	87,91 <sup>a</sup> (1,38)	37,92 <sup>a</sup> (0,06)
10	Quercetina-3-O-galactósido	1132,61 <sup>a</sup> (1,42)	440,51 <sup>b</sup> (0,51)	719,41 <sup>c</sup> (1,88)	88,01 <sup>d</sup> (1,05)
11	Quercetina-3-O-rutinósido	nd <sup>a</sup>	nd <sup>a</sup>	56,23 <sup>a</sup> (4,04)	16,79 <sup>a</sup> (0,25)
12	Quercetina-3-O-glucósido	905,34 <sup>a</sup> (12,61)	444,03 <sup>b</sup> (2,22)	1272,50 <sup>c</sup> (51,72)	459,92 <sup>b</sup> (6,16)
13	Canferol-3-O-glucósido	34,91 <sup>a</sup> (0,80)	19,71 <sup>a</sup> (0,14)	154,42 <sup>b</sup> (0,94)	21,81 <sup>a</sup> (0,56)
14	Isoramnetina-3-O-glucósido	31,82 <sup>a</sup> (1,60)	17,02 <sup>a</sup> (0,04)	92,92 <sup>a</sup> (0,38)	38,49 <sup>a</sup> (0,31)
	Σ	<b>40531,60</b>	<b>9129,35</b>	<b>8331,37</b>	<b>5592,74</b>
<b>Antocianinas</b>					
15	Delfidina-3-O-glucósido	16,43 <sup>a</sup> (0,56)	53,40 <sup>a</sup> (1,43)	169,17 <sup>a</sup> (1,56)	141,44 <sup>a</sup> (0,7)
16	Cianidina-3-O-glucósido	27,72 <sup>a</sup> (0,03)	58,11 <sup>a</sup> (0,69)	20,98 <sup>a</sup> (0,78)	111,47 <sup>a</sup> (0,0)
17	Petunidina-3-O-glucósido	56,25 <sup>a</sup> (0,47)	107,40 <sup>a</sup> (1,31)	435,31 <sup>a</sup> (7,28)	310,62 <sup>a</sup> (0,2)
18	Peonidina-3-O-glucósido	233,68 <sup>a</sup> (1,13)	1868,69 <sup>b</sup> (2164,66)	81,45 <sup>a</sup> (7,92)	703,36 <sup>a</sup> (0,8)
19	Malvidina-3-O-glucósido	138,29 <sup>a</sup> (1,37)	220,32 <sup>a</sup> (0,11)	408,45 <sup>a</sup> (39,28)	730,21 <sup>a</sup> (1,5)
20	Petunidina-3-O- <i>p</i> -cumaroilglucósido	nd <sup>a</sup>	nd <sup>a</sup>	77,53 <sup>a</sup> (0,71)	47,19 <sup>a</sup> (0,0)
21	Peonidina-3-O- <i>p</i> -cumaroilglucósido	4,24 <sup>a</sup> (0,07)	7,43 <sup>a</sup> (0,03)	58,68 <sup>a</sup> (0,55)	48,00 <sup>a</sup> (0,1)
22	Malvidina-3-O- <i>p</i> -cumaroilglucósido	4,54 <sup>a</sup> (0,06)	3,64 <sup>a</sup> (0,07)	87,26 <sup>a</sup> (6,41)	159,52 <sup>a</sup> (0,2)
	Σ	<b>481,15</b>	<b>2318,99</b>	<b>1338,83</b>	<b>2251,81</b>
<b>Total</b>		<b>41012,75</b>	<b>11448,34</b>	<b>9670,20</b>	<b>7844,55</b>

Valores expressos em média (desvio padrão) de três ensaios. nd, não detetado. nq não quantificado, Σ soma da concentração de compostos fenólicos. Na mesma linha letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre os diferentes tempos de colheita para as quais,  $p < 0,0001$ . Com as exceções: Catequina T2 vs T3 e Peonidina-3-O-glucósido T2 vs T4  $p < 0,01$ ; Canferol-3-O-glucósido T1 vs T3; T2 vs T3; T3 vs T4,  $p < 0,05$ .

**Tabela 12.** Compostos fenólicos da casta Cornifesto ao longo da maturação (mg/Kg expressa em matéria seca).

		<b>Cornifesto</b>			
		<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>
<b>Fenóis não corados</b>					
1	Ácido gálico	28,55 <sup>a</sup> (1,40)	12,70 <sup>a</sup> (0,90)	20,98 <sup>a</sup> (3,28)	10,22 <sup>a</sup> (0,35)
2	Ácido caftarico	1633,46 <sup>a</sup> (3,52)	615,27 <sup>b</sup> (62,14)	1101,64 <sup>c</sup> (0,08)	2092,85 <sup>d</sup> (12,78)
3	Ácido coutárico	1599,84 <sup>a</sup> (66,29)	37,92 <sup>b</sup> (3,06)	248,33 <sup>c</sup> (7,56)	227,25 <sup>c</sup> (4,02)
4	Catequina	229,13 <sup>a</sup> (5,56)	nd <sup>b</sup>	1167,60 <sup>c</sup> (25,65)	173,54 <sup>a</sup> (0,70)
5	Epicatequina	288,58 <sup>a</sup> (0,40)	nd <sup>b</sup>	nd <sup>b</sup>	nd <sup>b</sup>
6	Ácido <i>p</i> -cumárico	nd <sup>a</sup>	nd <sup>a</sup>	1370,92 <sup>b</sup> (55,64)	754,96 <sup>c</sup> (21,55)
7	Epicatequina-3-galato	64,66 <sup>a</sup> (0,15)	nd <sup>a</sup>	18,32 <sup>a</sup> (0,13)	72,81 <sup>a</sup> (2,01)
8	Miricetina-3-O-glucósido	8,17 <sup>a</sup> (0,32)	nd <sup>a</sup>	46,26 <sup>a</sup> (0,33)	24,87 <sup>a</sup> (0,05)
9	Resveratrol-3-O-glucósido	8,17 <sup>a</sup> (0,32)	nd <sup>a</sup>	46,26 <sup>a</sup> (0,33)	24,87 <sup>a</sup> (0,05)
10	Quercetina-3-O-galactósido	131,32 <sup>a</sup> (149,9)	19,92 <sup>b</sup> (4,80)	132,47 <sup>a</sup> (2,23)	68,04 <sup>a,b</sup> (14,30)
11	Quercetina-3-O-rutinósido	nd	nd	nd	nd
12	Quercetina-3-O-glucósido	56,51 <sup>a</sup> (3,76)	22,70 <sup>a</sup> (12,42)	407,03 <sup>b</sup> (1,50)	304,28 <sup>b</sup> (22,80)
13	Canferol-3-O-glucósido	22,23 <sup>a</sup> (0,62)	nd <sup>a</sup>	18,34 <sup>a</sup> (0,15)	22,68 <sup>a</sup> (1,29)
14	Isoramnetina-3-O-glucósido	55,68 <sup>a</sup> (2,39)	12,81 <sup>a</sup> (5,85)	33,88 <sup>a</sup> (4,5)	14,73 <sup>a</sup> (0,01)
	$\Sigma$	<b>5812,69</b>	<b>721,32</b>	<b>13486,50</b>	<b>4639,12</b>
<b>Antocianinas</b>					
15	Delfidina-3-O-glucósido	146,49 <sup>a</sup> (2,34)	0,84 <sup>b</sup> (0,02)	132,27 <sup>c</sup> (0,16)	40,30 <sup>d</sup> (0,01)
16	Cianidina-3-O-glucósido	56,91 <sup>a</sup> (1,81)	1,96 <sup>b</sup> (0,07)	188,64 <sup>c</sup> (0,26)	109,60 <sup>d</sup> (0,3)
17	Petunidina-3-O-glucósido	349,98 <sup>a</sup> (6,23)	2,52 <sup>b</sup> (0,17)	295,03 <sup>c</sup> (0,48)	88,74 <sup>d</sup> (0,01)
18	Peonidina-3-O-glucósido	430,54 <sup>a</sup> (8,40)	2,58 <sup>b</sup> (0,22)	1461,20 <sup>c</sup> (6,42)	857,55 <sup>d</sup> (6,52)
19	Malvidina-3-O-glucósido	1276,04 <sup>a</sup> (10,72)	10,29 <sup>b</sup> (0,23)	602,36 <sup>c</sup> (3,42)	225,66 <sup>d</sup> (0,67)
20	Petunidina-3-O- <i>p</i> -cumaroilglucósido	48,19 <sup>a</sup> (3,12)	nd <sup>b</sup>	nd <sup>b</sup>	nd <sup>b</sup>
21	Peonidina-3-O- <i>p</i> -cumaroilglucósido	24,80 <sup>a</sup> (0,06)	0,90 <sup>b</sup> (0,01)	17,11 <sup>a,b</sup> (0,02)	21,00 <sup>c</sup> (0,09)
22	Malvidina-3-O- <i>p</i> -cumaroilglucósido	156,95 <sup>a</sup> (0,06)	4,66 <sup>b</sup> (0,10)	6,94 <sup>b</sup> (0,02)	6,75 <sup>b</sup> (0,17)
	$\Sigma$	<b>2489,90</b>	<b>23,75</b>	<b>2703,51</b>	<b>1349,60</b>
<b>Total</b>		<b>8302,59</b>	<b>745,07</b>	<b>10190,01</b>	<b>5988,72</b>

Valores expressos em média (desvio padrão) de três ensaios. nd, não detetado. nq não quantificado.  $\Sigma$  soma da concentração de compostos fenólicos. Na mesma linha letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre os diferentes tempos de colheita para as quais,  $p < 0,0001$ . Com as exceções: Peonidina-3-O-*p*-cumaroilglucósido T1 vs T2  $p < 0,01$ ; Peonidina-3-O-*p*-cumaroilglucósido T1 vs T4 e Quercetina-3-O-galactósido T1 vs T2; T2 vs T3  $p < 0,05$ .



**Tabela 13.** Compostos fenólicos da casta Cidreiro ao longo da maturação (mg/Kg expressa em matéria seca).

		<b>Cidreiro</b>			
		<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>
<b>Fenóis não corados</b>					
1	Ácido gálico	16,77 <sup>a</sup> (0,13)	1,91 <sup>a</sup> (0,01)	2,25 <sup>a</sup> (0,03)	2,92 <sup>a</sup> (0,05)
2	Ácido caftarico	5327,26 <sup>a</sup> (5,87)	763,57 <sup>b</sup> (31,00)	98,11 <sup>c</sup> (6,12)	2202,08 <sup>d</sup> (56,44)
3	Ácido coutárico	1751,01 <sup>a</sup> (19,33)	108,11 <sup>b</sup> (2,77)	96,72 <sup>b</sup> (11,03)	348,29 <sup>c</sup> (10,52)
4	Catequina	151,72 <sup>a</sup> (0,74)	16,61 <sup>b</sup> (1,22)	25,15 <sup>b</sup> (0,40)	135,94 <sup>a</sup> (0,80)
5	Epicatequina	574,19 <sup>a</sup> (7,95)	nd <sup>b</sup>	nd <sup>b</sup>	670,66 <sup>c</sup> (36,75)
6	Ácido <i>p</i> -cumárico	nd	nd	nd	nd
7	Epicatequina-3-galhato	nd	nd	nd	nd
8	Miricetina-3- <i>O</i> -glucósido	11,23 <sup>a,b</sup> (0,01)	4,82 <sup>b</sup> (0,08)	32,46 <sup>a</sup> (0,94)	9,21 <sup>a,b</sup> (0,30)
9	Resveratrol-3- <i>O</i> -glucósido	35,86 <sup>a</sup> (0,07)	5,31 <sup>b</sup> (0,04)	nd <sup>b</sup>	132,90 <sup>c</sup> (2,06)
10	Quercetina-3- <i>O</i> -galactósido	879,88 <sup>a</sup> (3,70)	71,71 <sup>b</sup> (19,95)	37,86 <sup>c</sup> (43,84)	539,40 <sup>d</sup> (19,80)
11	Quercetina-3- <i>O</i> -rutinósido	nd <sup>a</sup>	32,99 <sup>b</sup> (8,53)	nd <sup>a</sup>	nd <sup>a</sup>
12	Quercetina-3- <i>O</i> -glucósido	762,36 <sup>a</sup> (0,67)	240,64 <sup>b</sup> (8,56)	20,87 <sup>c</sup> (2,61)	491,48 <sup>d</sup> (15,98)
13	Canferol-3- <i>O</i> -glucósido	85,24 <sup>a</sup> (0,30)	25,09 <sup>b</sup> (8,67)	6,32 <sup>b</sup> (0,55)	16,68 <sup>b</sup> (0,26)
14	Isoramnetina-3- <i>O</i> -glucósido	39,24 <sup>a</sup> (0,12)	16,69 <sup>a</sup> (0,27)	12,10 <sup>a</sup> (1,22)	32,22 <sup>a</sup> (1,30)
	$\Sigma$	<b>9634,76</b>	<b>1287,45</b>	<b>331,84</b>	<b>4581,78</b>
<b>Antocianinas</b>					
15	Delfidina-3- <i>O</i> -glucósido	2,47 <sup>a</sup> (0,04)	8,13 <sup>b</sup> (0,01)	25,34 <sup>c</sup> (0,55)	38,54 <sup>d</sup> (0,00)
16	Cianidina-3- <i>O</i> -glucósido	3,61 <sup>a</sup> (0,14)	16,15 <sup>b</sup> (0,07)	46,73 <sup>c</sup> (0,37)	104,81 <sup>d</sup> (0,3)
17	Petunidina-3- <i>O</i> -glucósido	9,44 <sup>a</sup> (0,93)	20,71 <sup>b</sup> (0,36)	61,38 <sup>c</sup> (0,40)	84,86 <sup>d</sup> (0,00)
18	Peonidina-3- <i>O</i> -glucósido	76,84 <sup>a</sup> (0,55)	232,33 <sup>b</sup> (0,41)	397,94 <sup>c</sup> (7,28)	820,05 <sup>d</sup> (6,2)
19	Malvidina-3- <i>O</i> -glucósido	51,74 <sup>a</sup> (0,39)	101,90 <sup>b</sup> (0,04)	178,64 <sup>c</sup> (7,92)	215,79 <sup>d</sup> (0,6)
20	Petunidina-3- <i>O-p</i> -cumaroilglucósido	nd	nd	nd	nd
21	Peonidina-3- <i>O-p</i> -cumaroilglucósido	2,44 <sup>a</sup> (0,07)	9,37 <sup>b</sup> (0,02)	13,18 <sup>c</sup> (0,71)	20,09 <sup>d</sup> (0,1)
22	Malvidina-3- <i>O-p</i> -cumaroilglucósido	8,91 <sup>a</sup> (0,13)	3,90 <sup>b</sup> (0,10)	6,06 <sup>b</sup> (0,55)	6,49 <sup>a,b</sup> (0,2)
	$\Sigma$	<b>155,45</b>	<b>392,49</b>	<b>729,27</b>	<b>1290,60</b>
<b>Total</b>		<b>9790,21</b>	<b>1679,94</b>	<b>1061,11</b>	<b>5872,38</b>

Valores expressos em média (desvio padrão) de três ensaios. nd, não detetado. nq não quantificado,  $\Sigma$  soma da concentração de compostos fenólicos. Na mesma linha letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre os diferentes tempos de colheita para as quais,  $p < 0,0001$ . Com as exceções: Resveratrol-3-*O*-glucósido T1 vs T3 em que  $p < 0,001$ ; Quercetina-3-*O*-galactósido T2 vs T3 Peonidina-3-*O-p*-cumaroilglucósido T2 vs T3 e Malvidina-3-*O-p*-cumaroilglucósido T1 vs T3  $p < 0,01$ ; Resveratrol-3-*O*-glucósido T1 vs T2 Quercetina-3-*O*-rutinósido T1 vs T2; T2 vs T3; T2 vs T4,  $p < 0,05$ .

**Tabela 14.** Compostos fenólicos da casta Baga ao longo da maturação (mg/Kg expressa em matéria seca).

		<b>Baga</b>			
		<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>
<b>Fenóis não corados</b>					
1	Ácido gálico	3,26 <sup>a</sup> (0,27)	14,90 <sup>a</sup> (0,04)	11,86 <sup>a</sup> (0,67)	9,05 <sup>a</sup> (0,23)
2	Ácido caftarico	3280,94 <sup>a</sup> (17,97)	3591,78 <sup>b</sup> (12,15)	1866,57 <sup>c</sup> (41,34)	2159,51 <sup>d</sup> (78,63)
3	Ácido coutárico	176,07 <sup>a</sup> (0,11)	66,14 <sup>b</sup> (1,65)	104,28 <sup>a</sup> (9,06)	135,8 <sup>a</sup> (1,88)
4	Catequina	nd <sup>a</sup>	255,22 <sup>b</sup> (4,70)	25,41 <sup>a</sup> (1,23)	69,10 <sup>a</sup> (1,26)
5	Epicatequina	nd <sup>a</sup>	1349,07 <sup>b</sup> (15,07)	75,01 <sup>c</sup> (34,03)	357,49 <sup>d</sup> (8,43)
6	Ácido <i>p</i> -cumárico	nd	nd	nd	nd
7	Epicatequina-3-galhato	nd <sup>a</sup>	970,56 <sup>b</sup> (238,64)	nd <sup>a</sup>	403,37 <sup>c</sup> (46,39)
8	Miricetina-3-O-glucósido	15,52 <sup>a</sup> (0,79)	42,16 <sup>a</sup> (0,08)	40,99 <sup>a</sup> (0,15)	28,61 <sup>a</sup> (0,16)
9	Resveratrol-3-O-glucósido	5,12 <sup>a</sup> (0,14)	19,07 <sup>a</sup> (0,03)	23,02 <sup>a</sup> (0,12)	38,23 <sup>a</sup> (0,28)
10	Quercetina-3-O-galactósido	94,22 <sup>a,b</sup> (0,00)	167,52 <sup>b</sup> (1,16)	144,27 <sup>a,b</sup> (0,14)	73,60 <sup>a</sup> (0,46)
11	Quercetina-3-O-rutinósido	nd <sup>a</sup>	nd <sup>a</sup>	nd <sup>a</sup>	3,97 <sup>a</sup> (0,43)
12	Quercetina-3-O-glucósido	65,89 <sup>a,c</sup> (0,00)	nd <sup>a</sup>	180,47 <sup>b</sup> (1,73)	130,30 <sup>c,b</sup> (1,65)
13	Canferol-3-O-glucósido	3,11 <sup>a</sup> (0,11)	19,31 <sup>a</sup> (0,30)	15,56 <sup>a</sup> (0,67)	14,54 <sup>a</sup> (0,14)
14	Isoramnetina-3-O-glucósido	nd <sup>a</sup>	36,36 <sup>a</sup> (1,97)	35,05 <sup>a</sup> (0,98)	16,80 <sup>a</sup> (1,36)
	$\Sigma$	<b>3647,13</b>	<b>6532,09</b>	<b>2522,49</b>	<b>3440,37</b>
<b>Antocianinas</b>					
15	Delfidina-3-O-glucósido	27,06 <sup>a</sup> (2,68)	189,21 <sup>b</sup> (0,38)	197,72 <sup>b</sup> (1,76)	94,54 <sup>c</sup> (1,5)
16	Cianidina-3-O-glucósido	13,11 <sup>a</sup> (5,30)	36,28 <sup>b</sup> (0,58)	44,99 <sup>b</sup> (0,25)	37,67 <sup>b</sup> (0,1)
17	Petunidina-3-O-glucósido	103,31 <sup>a</sup> (9,17)	447,83 <sup>b</sup> (12,34)	448,97 <sup>b</sup> (0,01)	228,97 <sup>c</sup> (0,3)
18	Peonidina-3-O-glucósido	95,26 <sup>a</sup> (13,25)	518,53 <sup>b</sup> (0,20)	510,95 <sup>b</sup> (2,65)	525,66 <sup>b</sup> (4,2)
19	Malvidina-3-O-glucósido	183,22 <sup>a</sup> (7,56)	859,62 <sup>b</sup> (40,50)	828,88 <sup>c</sup> (1,67)	553,77 <sup>d</sup> (5,0)
20	Petunidina-3-O- <i>p</i> -cumaroilglucósido	nd <sup>a</sup>	10,40 <sup>a</sup> (0,26)	12,14 <sup>a</sup> (2,15)	nd <sup>a</sup>
21	Peonidina-3-O- <i>p</i> -cumaroilglucósido	nd <sup>a</sup>	10,31 <sup>a</sup> (0,47)	9,35 <sup>a</sup> (0,06)	10,47 <sup>a</sup> (0,0)
22	Malvidina-3-O- <i>p</i> -cumaroilglucósido	4,48 <sup>a</sup> (0,13)	17,39 <sup>a</sup> (0,43)	15,36 <sup>a</sup> (0,06)	11,11 <sup>a</sup> (0,1)
	$\Sigma$	<b>426,44</b>	<b>2089,57</b>	<b>2068,36</b>	<b>1461,19</b>
<b>Total</b>		<b>4073,57</b>	<b>8621,66</b>	<b>4590,89</b>	<b>4901,56</b>

Valores expressos em média (desvio padrão) de três ensaios. nd, não detetado. nq não quantificado  $\Sigma$  soma da concentração de compostos fenólicos. Na mesma linha letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre os diferentes tempos de colheita para as quais,  $p < 0,0001$ . Com as exceções: Malvidina-3-O-glucósido T1 vs T3 e Quercetina-3-O-glucósido T1 vs T3 em que  $p < 0,001$ ; Cianidina-3-O-glucósido T1 vs T2 e T1 vs T4 e Quercetina-3-O-galactósido  $p < 0,01$ ; Epicatequina T1 vs T3  $p < 0,05$ .

**Tabela 15.** Compostos fenólicos da casta Negro mouro ao longo da maturação (mg/Kg expressa em matéria seca).

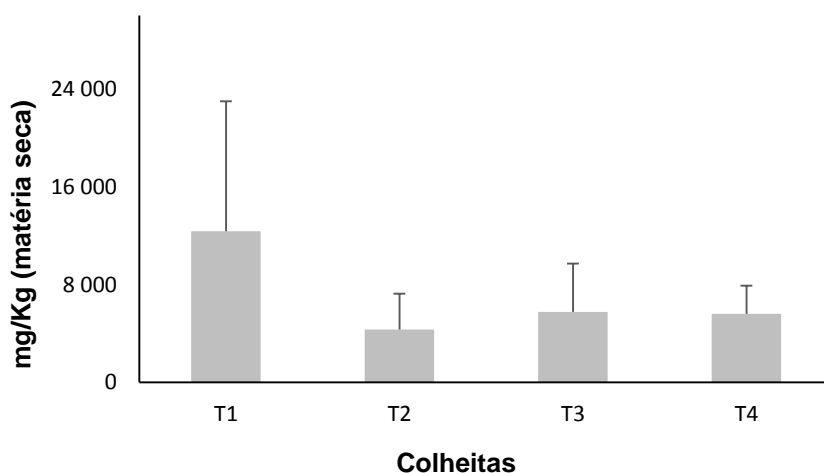
		<b>Negro mouro</b>			
		<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>
<b>Fenóis não corados</b>					
1	Ácido gálico	10,94 <sup>a</sup> (0,48)	9,24 <sup>a</sup> (0,38)	5,62 <sup>a</sup> (0,23)	2,66 <sup>a</sup> (0,05)
2	Ácido caftarico	6092,69 <sup>a</sup> (115,59)	5139,31 <sup>b</sup> (20,87)	1615,71 <sup>c</sup> (31,54)	713,35 <sup>d</sup> (1,62)
3	Ácido coutárico	1765,35 <sup>a</sup> (5,39)	93,65 <sup>b</sup> (8,13)	15,01 <sup>b</sup> (7,45)	58,01 <sup>b</sup> (1,56)
4	Catequina	454,59 <sup>a</sup> (9,24)	nd <sup>b</sup>	376,75 <sup>a</sup> (19,04)	101,38 <sup>b</sup> (3,96)
5	Epicatequina	2528,88 <sup>a</sup> (2,04)	404,39 <sup>b</sup> (14,67)	3315,53 <sup>c</sup> (397,28)	471,74 <sup>d</sup> (6,45)
6	Ácido <i>p</i> -cumárico	nd	nd	nd	nd
7	Epicatequina-3-galható	nd <sup>a</sup>	705,08 <sup>b</sup> (165,17)	1230,75 <sup>c</sup> (58,45)	968,44 <sup>d</sup> (13,02)
8	Miricetina-3-O-glucósido	22,64 <sup>a</sup> (0,64)	17,58 <sup>a</sup> (1,20)	28,85 <sup>a</sup> (1,63)	17,84 <sup>a</sup> (0,20)
9	Resveratrol-3-O-glucósido	8,85 <sup>a</sup> (0,01)	6,39 <sup>a</sup> (0,03)	104,88 <sup>a</sup> (2,08)	19,64 <sup>a</sup> (0,17)
10	Quercetina-3-O-galactósido	654,88 <sup>a</sup> (0,05)	522,59 <sup>a</sup> (6,36)	nd <sup>b</sup>	209,09 <sup>c</sup> (240,59)
11	Quercetina-3-O-rutinósido	nd	nd	nd	nd
12	Quercetina-3-O-glucósido	314,42 <sup>a</sup> (3,37)	165,12 <sup>b</sup> (1,83)	145,88 <sup>b</sup> (7,09)	222,85 <sup>a,b</sup> (1,66)
13	Canferol-3-O-glucósido	22,87 <sup>a</sup> (0,12)	9,77 <sup>a</sup> (0,12)	nd <sup>a</sup>	12,35 <sup>a</sup> (0,37)
14	Isoramnetina-3-O-glucósido	13,18 <sup>a</sup> (0,44)	5,76 <sup>a</sup> (0,15)	nd <sup>a</sup>	nd <sup>a</sup>
	$\Sigma$	<b>11889,29</b>	<b>6339,19</b>	<b>6838,98</b>	<b>2797,35</b>
<b>Antocianinas</b>					
15	Delfidina-3-O-glucósido	23,05 <sup>a</sup> (0,23)	27,27 <sup>b</sup> 1,05	64,64 <sup>c</sup> (0,16)	73,18 <sup>d</sup> (0,3)
16	Cianidina-3-O-glucósido	5,00 <sup>a</sup> (0,09)	4,13 <sup>a</sup> 0,05	14,02 <sup>b</sup> (0,07)	40,97 <sup>c</sup> (0,1)
17	Petunidina-3-O-glucósido	36,35 <sup>a</sup> (3,65)	37,98 <sup>a</sup> (1,24)	101,91 <sup>b</sup> (2,56)	125,53 <sup>c</sup> (0,6)
18	Peonidina-3-O-glucósido	27,98 <sup>a</sup> (0,40)	22,82 <sup>b</sup> (0,40)	78,45 <sup>c</sup> (0,28)	146,32 <sup>d</sup> (2,4)
19	Malvidina-3-O-glucósido	100,59 <sup>a</sup> (1,36)	122,51 <sup>b</sup> (1,50)	282,04 <sup>c</sup> (0,95)	249,39 <sup>d</sup> (3,2)
20	Petunidina-3-O- <i>p</i> -cumaroilglucósido	9,51 <sup>a</sup> (0,39)	7,40 <sup>a</sup> (0,10)	26,65 <sup>b</sup> (0,27)	14,97 <sup>c</sup> (0,1)
21	Peonidina-3-O- <i>p</i> -cumaroilglucósido	4,47 <sup>a</sup> (0,01)	4,15 <sup>a</sup> (0,09)	12,55 <sup>b</sup> (0,00)	13,83 <sup>b</sup> (0,2)
22	Malvidina-3-O- <i>p</i> -cumaroilglucósido	21,72 <sup>a</sup> (0,02)	24,50 <sup>b</sup> (0,22)	60,90 <sup>c</sup> (0,01)	28,06 <sup>d</sup> (0,4)
	$\Sigma$	<b>228,67</b>	<b>250,76</b>	<b>641,16</b>	<b>693,25</b>
<b>Total</b>		<b>12117,96</b>	<b>6589,95</b>	<b>7480,14</b>	<b>3490,60</b>

Valores expressos em média (desvio padrão) de três ensaios. nd, não detetado. nq não quantificado,  $\Sigma$  soma da concentração de compostos fenólicos. Na mesma linha letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre os diferentes tempos de colheita para as quais  $p < 0,0001$ . Com as exceções: Delfinidina-3-O-glucósido T1 vs T2  $p < 0,001$ ; Quercetina-3-O-galactósido T2 vs T4 e Malvidina-3-O-*p*-cumaroilglucósido T2 vs T4  $p < 0,01$ ; Malvidina-3-O-*p*-cumaroilglucósido T1 vs T2 e Quercetina-3-O-glucósido T1 vs T2; T1 vs T3  $p < 0,05$ .

Relativamente à influência da maturação no teor de compostos fenólicos não corados, de um modo geral, podemos observar que ocorreu uma diminuição nos teores médios ao longo do tempo de maturação (Figura 22). Entre as amostragens T1 e T2 ocorreu uma diminuição de 12354,4 para 4324,2 mg/Kg (expressa em matéria seca), representando uma diminuição na ordem dos 64% (Figura 22, Tabelas 5-15). Seguidamente, ocorreu um aumento, entre T2 e T3 e manteve-se praticamente constante entre T3 e T4 (Figura 22). Esta diminuição em T2 foi observada com todas as castas, com a exceção da Baga. A diminuição verificada foi provavelmente devida à grande precipitação que ocorreu entre os períodos T1 e T2, induzindo a um efeito de diluição a nível dos compostos fenólicos não corados (Rodriguez *et al.*, 1995; Chavarria *et al.*, 2011).

Seria de esperar um aumento do teor de compostos fenólicos não corados, uma vez que eles aumentam ao longo do tempo de maturação (Ribereau-Gayon *et al.*, 2006). Contudo, os resultados obtidos podem ser justificados pela influência das condições ambientais peculiares verificadas durante o mês da colheita (IPMA, 2015).

Num estudo levado a cabo por Ivanova *et al.*, (2011) em que estudaram duas castas tintas em diferentes estados de maturação, verificaram que o teor de flavonoides das uvas aumentou ao longo da maturação, enquanto que o teor de flavano-3-óis atingiram teores máximos na fase do pintor.



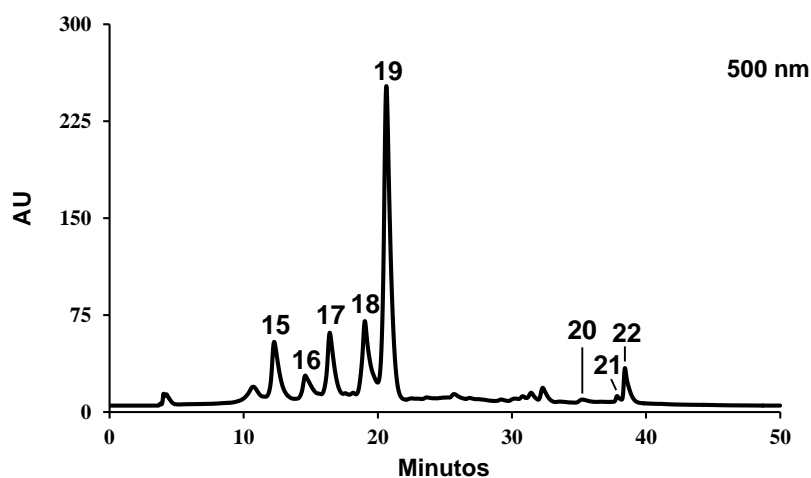
**Figura 22.** Evolução do teor de compostos fenólicos não corados ao longo da maturação.

#### 4.1.2. Antocianinas

O desenvolvimento da cor dos frutos é uma característica evolutiva importante e um fator fundamental para a sua qualidade e valor no mercado (Kashey *et al.*, 2013). As antocianinas são os polifenóis mais abundantes nas uvas tintas, sendo responsáveis pela pigmentação vermelha, roxa e azul dos bagos e, conseqüentemente, do vinho tinto. Estes compostos são de extrema importância na produção de vinhos.

Nas 11 uvas tintas analisadas por HPLC/DAD foram identificadas 8 antocianinas: delfinidina-3-*O*-glucósido [15]; cianidina-3-*O*-glucósido [16]; petunidina-3-*O*-glucósido [17]; peonidina-3-*O*-glucósido [18]; malvidina-3-*O*-glucósido [19]; petunidina-3-*O-p*-cumaroilglucósido [20]; peonidina-3-*O-p*-cumaroilglucósido [21]; malvidina-3-*O-p*-cumaroilglucósido [21] (Figura 23). Ao longo dos últimos anos várias antocianinas têm sido reportadas nas uvas (Monrad *et al.*, 2010; Garrido *et al.*, 2013; Oliveira *et al.*, 2013).

Todas as antocianinas identificadas neste trabalho já haviam sido previamente descritas em uvas (Dopico-Garcia *et al.*, 2008; Monrad *et al.*, 2010; Perestrelo *et al.*, 2012; Menget *et al.*, 2012).



**Figura 23.** Perfil cromatográfico das antocianinas da casta Rufete (T1) obtido por HPLC-DAD. Detecção a 500 nm (15) delfinidina-3-*O*-glucósido; (16) cianidina-3-*O*-glucósido; (17) petunidina-3-*O*-glucósido; (18) peonidina-3-*O*-glucósido; (19) malvidina-3-*O*-glucósido; (20) petunidina-3-*O-p*-cumaroilglucósido; (21) peonidina-3-*O-p*-cumaroilglucósido; (22) malvidina-3-*O-p*-cumaroilglucósido.

De acordo com o nosso conhecimento, este é o primeiro estudo sobre o perfil em antocianinas das castas Cidreiro, Coração de galo, Monvedro, Negro mouro, Touriga fêmea, Baga e Cornifesto.

Todas as castas tintas analisadas apresentaram um perfil de antocianinas semelhante, observando-se algumas diferenças a nível quantitativo entre as diversas castas e as datas de colheita (Tabelas 5-15).

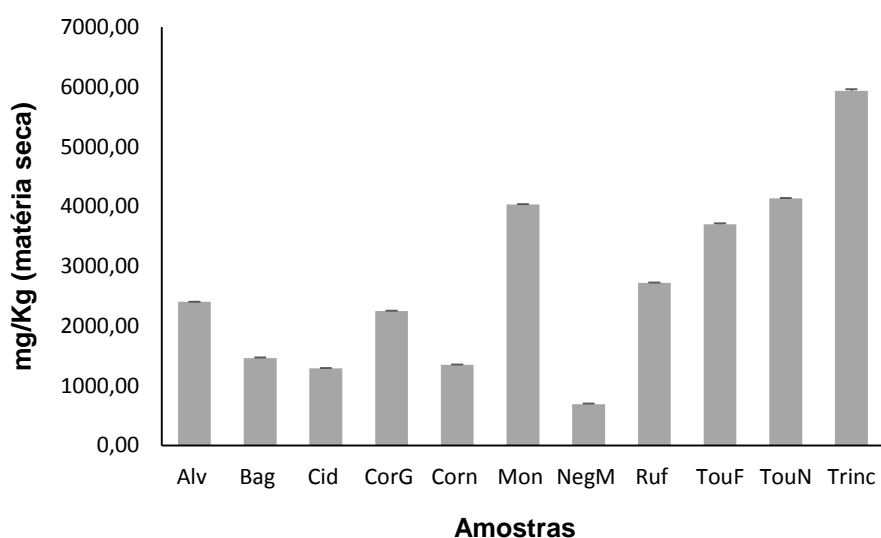
Os compostos corados maioritários foram a malvidina-3-O-glucósido, com teores médios em T4 que oscilaram entre 215,8 e 2045,8 mg/Kg (expressa em matéria seca), representando entre 16% e 39% do teor total em antocianinas nas castas Cidreiro e Trincadeira, respetivamente. A peonidina-3-O-glucósido foi o segundo maior composto, com teores que oscilaram entre 146,32 e 1528,61 mg/Kg (expressa em matéria seca), representando 21% e 37% do teor total em antocianinas nas castas Negro mouro e Monvedro, respetivamente (Tabelas 5-15).

Os resultados obtidos estão em consonância com diversos trabalhos prévios, que descreveram a malvidina-3-O-glucósido e a peonidina-3-O-glucósido como sendo os compostos maioritários em uvas *V. vinifera* (Alonso *et al.*, 2007; Novak *et al.*, 2008; Perestrelo *et al.*, 2012). No estudo efetuado por Novak e os seus colaboradores (2008) com castas provenientes da região do Dão (Alfrocheiro, Jean, Touriga nacional, Tinta roriz), verificaram que a malvidina-3-O-glucósido foi a antocianina maioritária em todas as castas estudadas.

A malvidina-3-O-glucósido e a peonidina-3-O-glucósido são importantes no que respeita à cor das uvas, e estão envolvidos em diversas reações nos vinhos. Estes compostos apresentam propriedades benéficas à saúde humana, tais como propriedades antioxidantes, anti-inflamatórios e vasodilatadores (Vian *et al.*, 2006; Monganas *et al.*, 2007).

De uma forma geral, a antocianina em menor concentração, foi a petunidina-3-O-*p*-cumaroilglucósido, com valores que oscilaram entre 9,6 e 134,4 mg/Kg (expressa em matéria seca), representando 0,4% e 3,6% do teor total de antocianinas, nas castas Alvarelhão e Touriga fêmea, respetivamente. Baixos teores também foram observados para a malvidina-3-O-*p*-cumaroilglucósido e peonidina-3-O-*p*-cumaroilglucósido (Tabelas 5-15).

Quantitativamente, a casta que apresentou maior teor de antocianinas em T4 foi a Trincadeira, com um teor de 5936,8 mg/Kg (expressa em matéria seca), seguida da Touriga nacional com um teor de 4134,9 mg/Kg (expressa em matéria seca) (Figura 24, Tabelas 5 e 15). Comparando o teor de antocianinas totais obtido para a Touriga nacional, que é conhecida por ser a casta tinta mais importante na produção de vinhos DOC Dão com as outras castas tintas, constatou-se que todas apresentaram teores de antocianinas inferiores à Touriga nacional (4134,9 mg/Kg expressa em matéria seca), exceto a Trincadeira (5936,8 mg/Kg expressa em matéria seca). Porém, todas apresentaram teores elevados (Figura 24, Tabelas 5-15).



**Figura 24.** Teor médio em antocianinas presentes nas castas tintas colhidas na data T4 (Alv, Alvarelhão; Bag, Baga; Cid, Cidreiro; CorG, Coração de galo; Corn, Cornifesto; Mon, Monvedro; NegM, Negro mouro, Ruf, Rufete; TouF, Touriga fêmea; TouN, Touriga nacional; Trinc, Trincadeira).

Os resultados obtidos neste trabalho estão de acordo com os reportados por diversos autores (Figueiredo-González *et al.*, 2012 a; Perestrelo *et al.*, 2012). Kozminski *et al.*, (2008) estudaram o teor em antocianinas nas castas Alfrocheiro, Jean, Touriga nacional e Tinta roriz proveniente da região do Dão, estes autores reportaram valores de antocianinas totais que oscilaram entre 3,41 e 7,13 mg/g (expressa em matéria seca). Num outro trabalho efetuado com uvas das castas Moratón, Alvarelhão e Gran negro, obtiveram teores totais de antocianinas entre 521 e 1769 mg/Kg (expressa em matéria seca) (Figueredo-González *et al.*, 2012).

Num outro trabalho realizado pelo nosso grupo de investigação, foram reportados teores totais de antocianinas em 29 uvas tintas provenientes da região do vinho verde, apresentando teores que oscilaram entre 160 e 11842 mg/Kg (matéria seca) (Dópio-Garcia *et al.*, 2008).

Vários fatores desempenham um papel importante na produção de uvas, nomeadamente os fatores ambientais e o grau de maturação (Pérez-Magarino *et al.*, 2004). Tal como se pode observar na Figura 25, ao longo do tempo de maturação verificou-se uma diminuição do teor em antocianinas entre T1 e T2 (de 1237,2 para 782,7 mg/Kg expressa em matéria seca). Esta diminuição ocorreu em todas as castas tintas, provavelmente devido à grande pluviosidade que se verificou neste período (IPMA, 2015). Este aumento de humidade no solo provocou um efeito de diluição a nível das antocianinas da uva e uma consequente diminuição do seu teor (Rodriguez *et al.*, 1995; Chavarria *et al.*, 2011). Entre T2 e T4

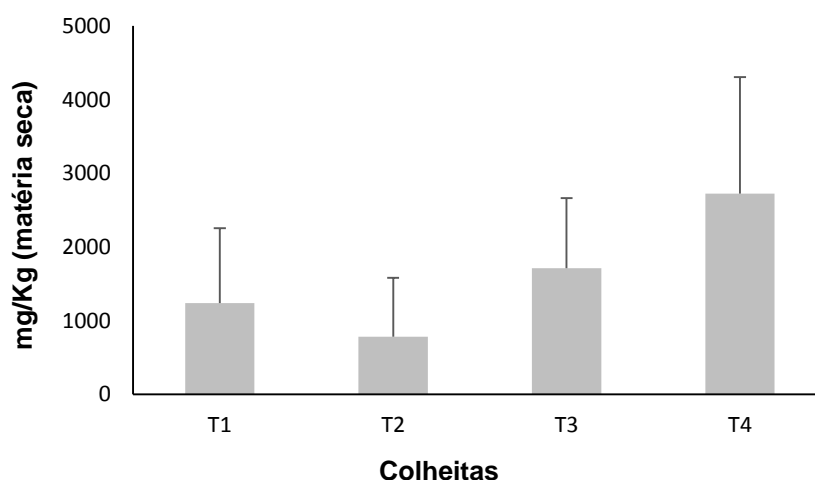
verificou-se um aumento do teor em antocianinas, apresentando um acréscimo médio na ordem dos 71% (Tabelas 5-15).

Apenas as castas Cidreiro e Negro mouro apresentaram um aumento constante do teor em antocianinas ao longo da maturação (155,5 a 1290,6 mg/Kg expressa em matéria seca na casta Cidreiro e 228,7 e 693,3 mg/Kg expressa em matéria seca, na casta Negro mouro, respetivamente), revelando uma menor suscetibilidade à presença de humidade no solo (Tabelas 5-15).

Estes resultados vão de encontro ao esperado, uma vez que o teor de matéria corante aumenta ao longo da maturação (Mateus *et al.*, 2002; Ribereau-Gayon *et al.*, 2006).

As características edafoclimáticas, a casta e o grau de maturação são fatores que estão descritos por alterarem a composição em antocianinas nas uvas (Pérez-Magarino *et al.*, 2004).

Num estudo efetuado com as castas tintas Vranec e Merlot em diferentes estados de maturação, verificou-se que o teor de antocianinas nas uvas aumentou ao longo da maturação (Ivanova *et al.*, 2011).



**Figura 25.** Evolução do teor de compostos fenólicos corados ao longo do tempo de maturação.

#### 4.1.3. Análise de componentes principais

O PCA representa um dos principais métodos estatísticos aplicados na análise de informações. Este teste estatístico permite transformar e extrair informações relevantes de dados complexos, através da combinação linear das variáveis originais, estabelecendo um



conjunto de variáveis que contém apenas as informações mais importantes, criando novos eixos no espaço multidimensional, designados por componentes principais (PC). Desta forma, cada amostra é representada por um ponto no espaço multidimensional, do qual se pode extrair informações sobre cada amostra, e sobre grupos que apresentem características semelhantes (Nascimento *et al.*, 2010; Serafim *et al.*, 2012).

Assim, o objetivo do PCA é averiguar a existência de um pequeno número de componentes principais (PC) que sejam responsáveis pela elevada variabilidade associada, neste caso, ao conteúdo total de compostos fenólicos. Por conseguinte, os componentes que revelem uma maior contribuição para determinada variável em estudo são identificados com sucesso (Serafim *et al.*, 2012).

Sendo um dos objetivos principais deste trabalho a avaliação do perfil fenólico de castas e para facilitar a interpretação do volume de informação, aplicou-se uma análise de componentes principais (PCA) aos teores de cada composto fenólico e composição total (mg/kg de expressa em matéria seca) de cada uma das castas estudadas.

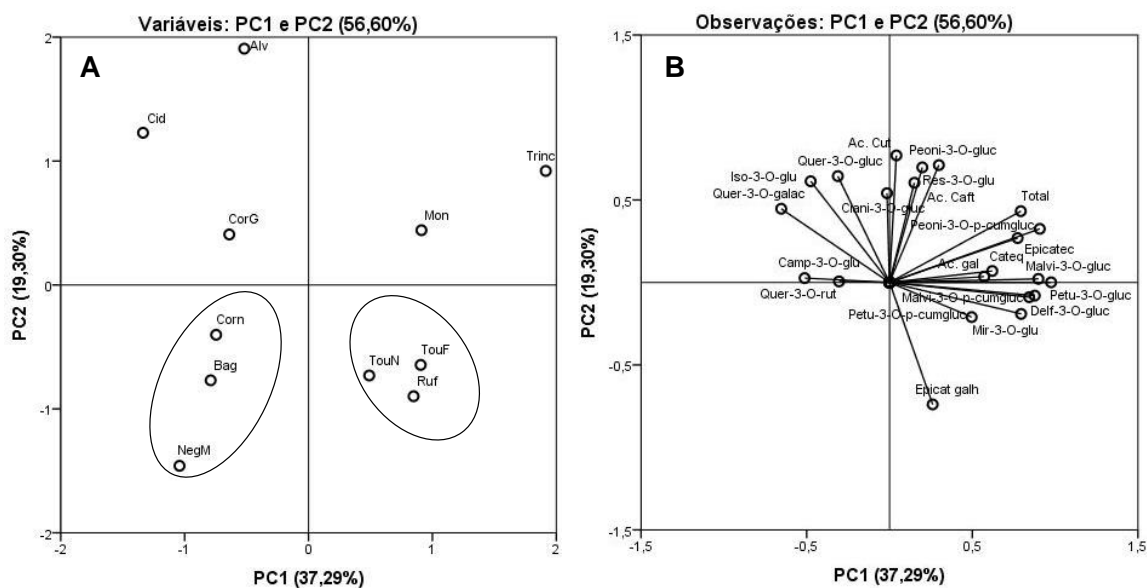
#### **4.1.3.1. Análise de componentes principais das uvas tintas**

O PCA do conjunto de dados normalizados apresentou uma variância total de 56,60%, representada por 37,29% pela componente 1 (PC1) e 19,30% pela componente 2 (PC2) (Figura 24). Como se pode observar na figura 26-A, as amostras distribuem-se claramente pelo plano.

A figura 26-A revela a existência de uma clara distinção entre as diferentes castas devido às suas localizações distintas no plano. Os indivíduos das castas Touriga nacional, Touriga fêmea e Rufete aparecem no plano positivo PC1 podendo ser agrupados, e distinguem-se dos restantes pelo seu conteúdo em antocianinas e epicatequina-3-galható (Tabelas 5, 8 e 9). Numa localização oposta, apresentam-se na parte negativa do plano PC1 e PC2 as castas Cornifesto, Baga e Negro mouro que se distinguem por serem as que apresentaram menor teor de compostos fenólicos (Tabelas 12,14 e 15).

Na parte negativa do plano PC1 e positiva do plano PC2 localizam-se as castas Alvarelhão, Coração de galo e Cidreiro, destacando-se pelo seu elevado teor em canferol-3-O-glucósido, isoramnetina-3-O-gucósido, quercetina-3-O-glucátósido, quercetina-3-O-rutinósido, quercetina-3-O-glucósido e ácido coutárico (Tabelas 10,11 e 13).

As castas Trincadeira e Monvedro aparecem na parte positiva do plano PC1 e PC2, são distinguidas das restantes pelo seu elevado conteúdo em compostos fenólicos, sendo as castas mais ricas em compostos fenólicos totais (Tabelas 5-15).



**Figura 26.** Projeção das diferentes castas tintas (A) (variáveis: Alvarelhão (Alv), Baga (Bag); Cidreiro (Cid); Coração de galo (CorG); Cornifesto (Corn); Monvedro (Mon); Negro mouro (NegM); Rufete (Ruf); Touriga fêmea (TouF); Touriga nacional (TouN); Trincadeira (Trinc) e dos componentes, compostos fenólicos (B) variáveis: ácido gálico (Ac. gal); ácido caftárico (Ac. caft); ácido coutárico (Ac. cut); catequina (Cateq); epicatequina (Epicatec); ácido *p*-cumárico (Ac. *p*-cum); epicatequina-3-galható (Epicat galh); miricetina-3-*O*-glucósido (Mir-3-*O*-gluc); resveratrol-3-*O*-glucósido (Res-3-*O*-glu); quercetina-3-*O*-galactósido (Quer-3-*O*-galac); quercetina-3-*O*-rutinósido (Quer-3-*O*-rut); quercetina-3-*O*-glucósido (Quer-3-*O*-gluc); campeferol-3-*O*-glucósido (Camp-3-*O*-gluc); isoramnetina-3-*O*-glucósido (Iso-3-*O*-glu); delfinidia-3-*O*-glucósido (Delf-3-*O*-gluc); cianidina-3-*O*-glucósido (Ciani-3-*O*-gluc); petunidina-3-*O*-glucósido (Petu-3-*O*-gluc); peonidina-3-*O*-glucósido (Peoni-3-*O*-gluc); malvidina-3-*O*-glucósido (Malvi-3-*O*-gluc); petunidina-3-*O*-*p*-cumaroilglucósido (petu-3-*O*-*p*-cum glu); peonidina-3-*O*-*p*-cumaroilglucósido (Peoni-3-*O*-*p*-coum glu); malvidina-3-*O*-*p*-cumaroilglucósido (Malvi-3-*O*-*p*-coum glu) no plano composto por as componentes principais PC1 e PC2 representando 56,60% do total e variância para a composição em compostos fenólicos.

## 4.2. COMPOSTOS FENÓLICOS NAS UVAS BRANCAS

Os compostos fenólicos das uvas brancas são pigmentos amarelos que contribuem diretamente para a cor dos vinhos brancos (Castillo-Munoz *et al.*, 2010). Nos vinhos brancos o teor de compostos fenólicos, é geralmente menor comparativamente aos tintos. Uma vez que estes compostos encontram-se em maior quantidade na película das uvas, e como normalmente na fermentação dos vinhos brancos não há contacto com as películas (vinificação de bica aberta-sem maceração), a extração destes compostos é menor (Montealegre *et al.*, 2006; Jeffery *et al.*, 2008).

Na literatura existem diversos estudos sobre o perfil fenólico de castas brancas. Diversas famílias de compostos fenólicos não corados já foram identificadas nas uvas brancas, como flavanóis, estilbenos e ácidos fenólicos (Kammer *et al.*, 2004; Montealegre *et al.*, 2006; Castillo-Munõz *et al.*, 2010; Di Lecce *et al.*, 2014). A classe mais abundante nas uvas

brancas é a dos flavonóis, nomeadamente flavano-3-óis (Castillo-Munõz *et al.*, 2010; Di Lecce *et al.*, 2014).

#### 4.2.1 Compostos fenólicos não corados

Os compostos fenólicos não corados presentes nas 3 castas brancas estudadas foram caracterizados por HPLC/DAD, tendo-se identificado 14 compostos: ácido gálgico, ácido caftárico, ácido coutárico, ácido *p*-cumárico, catequina, epicatequina e epicatequina-3-galhato, resveratrol-3-*O*-glucósido, miricetina-3-*O*-glucósido, quercetina-3-*O*-galactósido, quercetina-3-*O*-rutinósido, quercetina-3-*O*-glucósido, canferol-3-*O*-glucósido, isoramnetina-3-*O*-glucósido (Figura 20). A presença destes compostos em uvas brancas já foi reportada por diversos autores (Kammer *et al.*, 2004; Montealegre *et al.*, 2006; Castillo-Munõz *et al.*, 2010; Di Lecce *et al.*, 2014).

De acordo com o nosso conhecimento, este é o primeiro estudo sobre o perfil fenólico das castas Terrantez, Uva cão e Luzidio.

Os compostos fenólicos não corados identificados englobam várias classes: ácidos hidroxibenzóicos [1]; ácidos hidroxicinâmicos [2], [3] e [6]; estilbeno [9]; flavonóis [8], [10-14] e flavan-3-óis [4], [5] e [7].

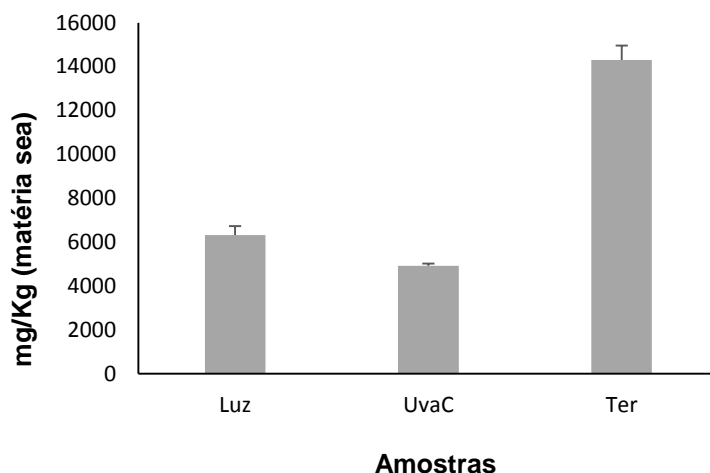
Todas as castas analisadas apresentaram um perfil semelhante, observando-se, no entanto, algumas diferenças a nível quantitativo entre as diversas castas e aos diferentes datas de colheita (Tabelas 16-18).

Nas uvas brancas, à semelhança do que se verificou nas tintas, os compostos maioritários foram o ácido caftárico e a epicatequina. Os teores de ácido caftárico em T4 oscilaram entre 1306,4 e 2997,0 mg/Kg (expressa em matéria seca), representando 9% e 61% do teor total de compostos nas castas Terrantez e Uva cão, respetivamente. A epicatequina apresentou teores entre 1357,6 e 7188,6 mg/Kg (expressa em matéria seca), representando 21% e 50% do teor total de compostos fenólicos nas castas Luzidio e Terrantez, respetivamente (Tabelas 16-18).

Num estudo efetuado com uvas da casta Alvarinho, foram reportados teores elevados em epicatequina e ácido caftárico (Di Lecce *et al.*, 2014)

O resveratrol-3-*O*-glucósido foi o composto minoritário nas castas brancas estudadas, com teores em T4 a oscilar entre 15,6 e 17,5 mg/Kg (expressa em matéria seca), representando 0,1% e 0,3% do teor total de compostos fenólicos, nas castas Terrantez e Luzidio, respetivamente. Outro composto encontrado em baixas concentrações nas uvas brancas foi o ácido gálgico (Tabelas 16-18).

Do ponto de vista quantitativo, o teor em compostos fenólicos não corados no tempo T4 variou entre 4926,9 e 14300,5 mg/Kg (expressa em matéria seca) para as castas Uva cão e Terrantez, respetivamente (Figura 27, Tabelas 16 e 18).



**Figura 27.** Teor médio de compostos fenólicos não corados nas castas brancas estudadas colhidas no T4 (Luz, Luzidio; UvaC, Uva cão; Ter, Terrantez).

Valores semelhantes foram reportados por outros autores (Perestrelo *et al.*, 2012; Fernandes *et al.*, 2013). Num trabalho levado a cabo pelo nosso grupo de investigação, foram determinados os fenóis não corados em 9 castas brancas provenientes da região do Douro, nas mesmas condições deste trabalho, e obtiveram teores totais de compostos fenólicos que oscilaram entre 14909,9 e 43199,3 mg/Kg (expressa em matéria seca) (Fernandes *et al.*, 2013). Num estudo efetuado com a casta Cercial foram descritos teores totais de compostos fenólicos não corados que oscilaram entre 2199,7 e 6265,1 mg/Kg (expressa em matéria seca) (Perestrelo *et al.*, 2012).

**Tabela 16.** Compostos fenólicos da casta Terrantez ao longo da maturação (mg/Kg expressa em matéria seca).

		Terrantez			
		T1	T2	T3	T4
<b>Fenóis não corados</b>					
1	Ácido gálico	7,50 <sup>a</sup> (0,13)	11,29 <sup>a</sup> (0,29)	13,58 <sup>a</sup> (0,44)	8,32 <sup>a</sup> (0,10)
2	Ácido caftarico	1968,50 <sup>a</sup> (22,91)	1530,83 <sup>b</sup> (6,16)	1554,61 <sup>b</sup> (5,14)	1306,42 <sup>c</sup> (22,55)
3	Ácido coutárico	3299,37 <sup>a</sup> (27,87)	655,90 <sup>b</sup> (60,10)	506,17 <sup>c</sup> (1,92)	349,60 <sup>d</sup> (0,51)
4	Catequina	267,37 <sup>a</sup> (3,85)	600,83 <sup>b</sup> (8,25)	610,22 <sup>b</sup> (18,80)	1180,60 <sup>c</sup> (5,64)
5	Epicatequina	1032,67 <sup>a</sup> (0,53)	3504,22 <sup>b</sup> (0,41)	5294,29 <sup>c</sup> (15,80)	7188,63 <sup>d</sup> (354,74)
6	Ácido <i>p</i> -cumárico	nd	nd	nd	nd
7	Epicatequina-3-galhato	415,87 <sup>a</sup> (14,90)	936,76 <sup>b</sup> (33,90)	nd <sup>c</sup>	3110,12 <sup>d</sup> (219,02)
8	Miricetina-3-O-glucósido	nd	nd	nd	nd
9	Resveratrol-3-O-glucósido	12,47 <sup>a</sup> (0,02)	15,02 <sup>a</sup> (0,02)	11,03 <sup>a</sup> (0,04)	15,58 <sup>a</sup> (0,83)
10	Quercetina-3-O-galactósido	723,93 <sup>a</sup> (1,95)	539,87 <sup>b</sup> (2,41)	589,09 <sup>b</sup> (12,05)	642,01 <sup>a,b</sup> (28,67)
11	Quercetina-3-O-rutinósido	nd	nd	nd	nd
12	Quercetina-3-O-glucósido	582,65 <sup>a</sup> (0,64)	358,48 <sup>b</sup> (0,57)	402,44 <sup>b</sup> (7,10)	463,37 <sup>a,b</sup> (27,38)
13	Canferol-3-O-glucósido	49,96 <sup>a</sup> (0,52)	34,06 <sup>a</sup> (0,72)	40,99 <sup>a</sup> (0,10)	35,82 <sup>a</sup> (0,67)
14	Isoramnetina-3-O-glucósido	22,79 <sup>a</sup> (0,62)	12,18 <sup>a</sup> (0,70)	11,40 <sup>a</sup> (1,34)	nd <sup>a</sup>
<b>Total</b>		<b>8383,08</b>	<b>8199,44</b>	<b>9033,82</b>	<b>14300,47</b>

Valores expressos em média (desvio padrão) de três ensaios. nd, não detetado. nq não quantificado,  $\Sigma$  soma da concentração de compostos fenólicos. Na mesma linha letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre os diferentes tempos de colheita para as quais  $p < 0,0001$ . Com as exceções: Quercetina-3-O-galactósido T1 vs T2  $p < 0,001$ ; Ácido coutárico T2 vs T3; T3 vs T4 e Quercetina-3-O-glucósido T1 vs T3  $p < 0,01$ ; Quercetina-3-O-galactósido T1 vs T3  $p < 0,05$ .

**Tabela 17.** Compostos fenólicos da casta Luzidio ao longo da maturação (mg/Kg expressa em matéria seca).

		<b>Luzidio</b>			
		<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>
<b>Fenóis não corados</b>					
1	Ácido gálico	37,95 <sup>a</sup> (1,26)	10,73 <sup>a</sup> (2,24)	11,23 <sup>a</sup> (0,16)	9,66 <sup>a</sup> (0,02)
2	Ácido caftarico	2730,71 <sup>a</sup> (37,11)	4992,63 <sup>b</sup> (121,03)	1653,73 <sup>c</sup> (80,84)	2617,95 <sup>d</sup> (180,88)
3	Ácido coutárico	nd <sup>a</sup>	206,71 <sup>b</sup> (21,45)	20,80 <sup>a,c</sup> (2,07)	100,61 <sup>c</sup> (13,16)
4	Catequina	196,95 <sup>a</sup> (30,62)	317,99 <sup>b</sup> (4,44)	201,67 <sup>a</sup> (0,08)	141,72 <sup>a</sup> (6,42)
5	Epicatequina	2803,22 <sup>a</sup> (30,52)	4393,62 <sup>b</sup> (140,05)	2008,72 <sup>c</sup> (44,07)	1357,61 <sup>d</sup> (34,03)
6	Ácido <i>p</i> -cumárico	nd	nd	nd	nd
7	Epicatequina-3-galato	nd <sup>a</sup>	2079,87 <sup>b</sup> (28,80)	1616,58 <sup>c</sup> (11,35)	759,26 <sup>d</sup> (54,53)
8	Miricetina-3-O-glucósido	nd <sup>a</sup>	nd <sup>a</sup>	nd <sup>a</sup>	5,79 <sup>a</sup> (1,60)
9	Resveratrol-3-O-glucósido	7,03 <sup>a</sup> (0,16)	15,40 <sup>a</sup> (0,71)	7,45 <sup>a</sup> (0,15)	17,45 <sup>a</sup> (2,54)
10	Quercetina-3-O-galactósido	1282,35 <sup>a</sup> (36,62)	944,08 <sup>b</sup> (5,60)	1062,43 <sup>c</sup> (8,79)	477,26 <sup>d</sup> (45,56)
11	Quercetina-3-O-rutinósido	nd <sup>a</sup>	38,41 <sup>a</sup> (0,51)	nd <sup>a</sup>	29,67 <sup>a</sup> (1,48)
12	Quercetina-3-O-glucósido	841,49 <sup>a</sup> (30,94)	884,12 <sup>a,b</sup> (19,75)	958,72 <sup>b</sup> (5,43)	678,73 <sup>c</sup> (66,01)
13	Canferol-3-O-glucósido	175,30 <sup>a,b</sup> (5,20)	164,25 <sup>a,b</sup> (4,32)	200,40 <sup>b</sup> (1,10)	110,47 <sup>a</sup> (10,09)
14	Isoramnetina-3-O-glucósido	24,01 <sup>a</sup> (0,62)	16,04 <sup>a</sup> (0,15)	27,04 <sup>a</sup> (2,41)	10,88 <sup>a</sup> (0,57)
<b>Total</b>		<b>8099,01</b>	<b>14063,85</b>	<b>7768,72</b>	<b>6317,06</b>

Valores expressos em média (desvio padrão) de três ensaios. nd, não detetado. nq não quantificado,  $\Sigma$  soma da concentração de compostos fenólicos. Na mesma linha letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre os diferentes tempos de colheita para as quais  $p < 0,0001$ . Com as exceções: Quercetina-3-O-galactósido T2 vs T3  $p < 0,001$ ; Ácido caftarico T1 vs T2 e Catequina T1 vs T4; T2 vs T3 e Quercetina-3-O-glucósido T1 vs T3  $p < 0,01$ ; Ácido coutárico T1 vs T4; T2 vs T4 e Campeferol-O-3-glucósido T3 vs T4  $p < 0,05$ .

**Tabela 18.** Compostos fenólicos da casta Uva cão ao longo da maturação (mg/Kg expressa em matéria seca).

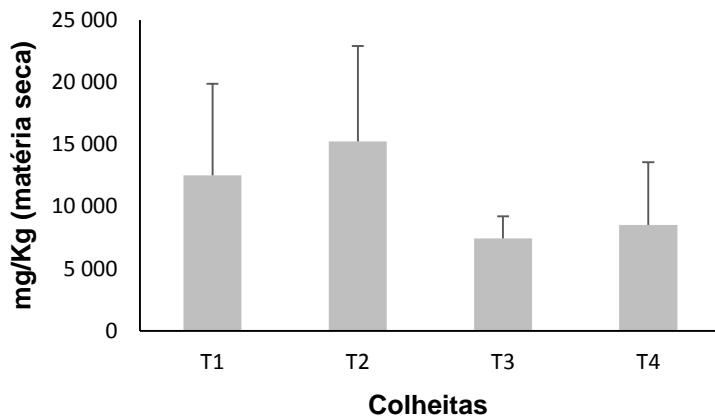
		<b>Uva cão</b>			
		T1	T2	T3	T4
<b>Fenóis não corados</b>					
1	Ácido gálico	27,63 <sup>a</sup> (0,38)	31,95 <sup>a</sup> (0,82)	13,95 <sup>a</sup> (0,94)	18,96 <sup>a</sup> (0,06)
2	Ácido caftarico	14676,48 <sup>a</sup> (61,62)	9006,33 <sup>b</sup> (46,88)	3047,52 <sup>c</sup> (146,48)	2997,00 <sup>c</sup> (1,12)
3	Ácido coutárico	5853,96 <sup>a</sup> (62,20)	1077,31 <sup>b</sup> (0,07)	78,42 <sup>c</sup> (4,22)	122,78 <sup>c</sup> (26,81)
4	Catequina	nd <sup>a</sup>	684,94 <sup>b</sup> (12,88)	182,25 <sup>c</sup> (10,04)	220,34 <sup>c</sup> (1,90)
5	Epicatequina	nd <sup>a</sup>	6211,48 <sup>b</sup> (145,21)	1509,78 <sup>c</sup> (144,27)	1567,77 <sup>c</sup> (75,05)
6	Ácido <i>p</i> -cumárico	nd	nd	nd	nd
7	Epicatequina-3-galható	nd <sup>a</sup>	5630,77 <sup>b</sup> (131,60)	476,25 <sup>c</sup> (71,94)	nd <sup>a</sup>
8	Miricetina-3-O-glucósido	nd	nd	nd	nd
9	Resveratrol-3-O-glucósido	nd	nd	nd	nd
10	Quercetina-3-O-galactósido	438,95 <sup>a</sup> (5,63)	548,60 <sup>b</sup> (5,48)	132,21 <sup>c</sup> (6,54)	nd <sup>d</sup>
11	Quercetina-3-O-rutinósido	38,14 <sup>a</sup> (0,53)	nd <sup>a</sup>	nd <sup>a</sup>	nd <sup>a</sup>
12	Quercetina-3-O-glucósido	nd <sup>a</sup>	252,75 <sup>b</sup> (2,68)	62,63 <sup>a</sup> (3,57)	nd <sup>a</sup>
13	Canferol-3-O-glucósido	nd	nd	nd	nd
14	Isoramnetina-3-O-glucósido	nd	nd	nd	nd
<b>Total</b>		<b>21035,16</b>	<b>23444,13</b>	<b>5503,01</b>	<b>4926,85</b>

Valores expressos em média (desvio padrão) de três ensaios. nd, não detetado. nq não quantificado,  $\Sigma$  soma da concentração de compostos fenólicos. Na mesma linha letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre os diferentes tempos de colheita para as quais  $p < 0,0001$ . Com as exceções: Quercetina-3-O-glucósido T3 vs T4  $p < 0,01$ ; Quercetina-3-O-glucósido T1 vs T2  $p < 0,05$ .

Relativamente ao efeito da maturação no teor de compostos fenólicos não corados nas uvas brancas, podemos observar que ocorreu um aumento de T1 para T2 (de 12505,7 para 15235,8 mg/Kg expressa em matéria seca) (Figura 28, Tabelas 16-18). Entre T2 e T3 verificou-se uma diminuição na ordem dos 49% (Tabelas 16-18), sofrendo de seguida um incremento até ao final da maturação (8514,8 mg/Kg expressa em matéria seca).

A casta Luzidio apresentou um comportamento ligeiramente diferente, incrementou de T1 para T2, posteriormente decresceu até ao final da maturação (Figura 28, Tabela 17).

Num estudo com duas castas brancas (Smederevka e Chardonnay) em diferentes estados de maturação, foram obtidos teores de compostos fenólicos aumentou ao longo da maturação (Ivanova *et al.*, 2011).

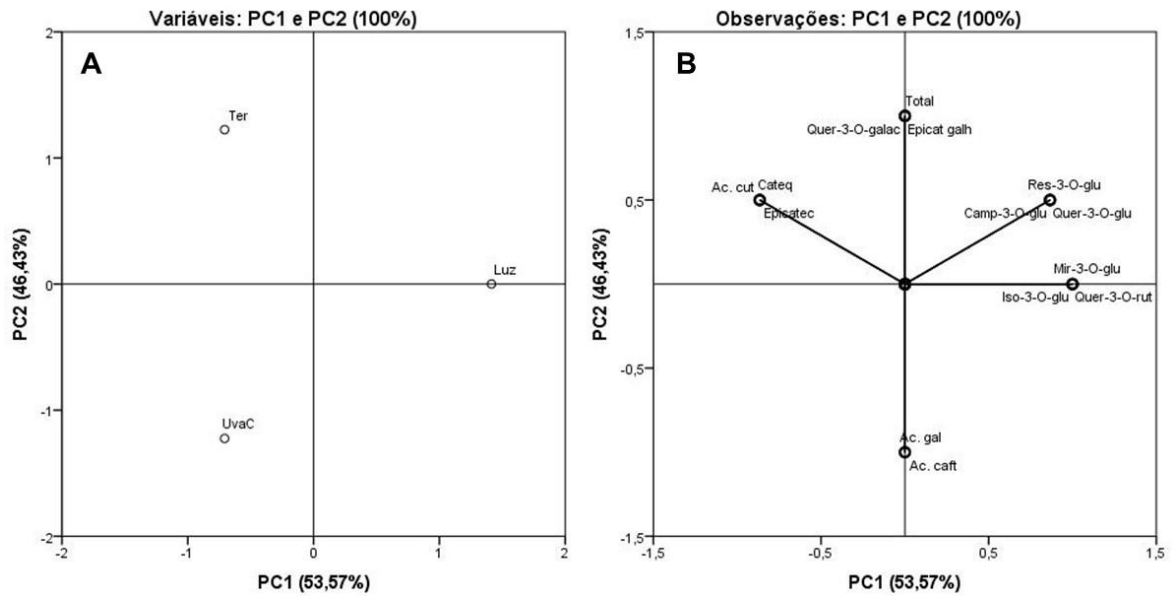


**Figura 28.** Evolução do teor de compostos fenólicos não corados ao longo do tempo de maturação.

#### 4.2.2 Análise de componentes principais das uvas brancas

O PCA do conjunto de dados normalizados apresentou uma variância total de 100%, representada por 53,57% pela componente 1 (PC1) e 46,43% pela componente 2 (PC2) (Figura 29). Através da figura 29-A pode observar-se a presença de três grupos distintos, mostrada pelas suas posições distintas no plano. Na parte negativa do plano PC1 e PC2, localiza-se a casta Uva cão e distingue-se por apresentar o menor teor de compostos fenólicos não corados (Tabela 18). Na parte negativa do plano PC1 e na parte positiva do plano PC2, apresenta-se a casta Terrantez distinguindo-se pelo seu elevado teor em compostos fenólicos, nomeadamente em ácido coutárico, catequina, epicatequina e quercetina-3-O-galactosido (Tabela 16). A casta Luzidio, apresenta-se numa localização oposta à casta Terrantez, aparecendo na parte positiva do plano PC1 e PC2, distinguindo-se das restantes castas pelo seu elevado conteúdo em miricetina-3-O-glucósido, isoramnetina-3-O-glucósido e quercetina-3-O-rutinósido (Tabela 18).





**Figura 29.** Projeção das diferentes castas brancas (A) (variáveis: Luzidio (Luz); Uva cão (UvaC) e Terrantez (Ter) e dos componentes, compostos fenólicos (B) variáveis: ácido gálico (Ac. gal); ácido caftárico (Ac. caft); ácido coutárico (Ac. cut); catequina (Cateq); epicatequina (Epicatec); ácido *p*-cumárico (Ac. *p*-cum); epicatequina-3-galhato (Epicat galh); miricetina-3-*O*-glucósido (Mir-3-*O*-gluc); resveratrol-3-*O*-glucósido (Res-3-*O*-glu); quercetina-3-*O*-galactósido (Quer-3-*O*-galac); quercetina-3-*O*-rutinósido (Quer-3-*O*-rut); quercetina-3-*O*-glucósido (Quer-3-*O*-gluc); campeferol-3-*O*-glucósido (Camp-3-*O*-gluc); isoramnetina-3-*O*-glucósido (Iso-3-*O*-glu); delphinidia-3-*O*-glucósido (Delf-3-*O*-gluc); cianidina-3-*O*-glucósido (Ciani-3-*O*-gluc); petunidina-3-*O*-glucósido (Petu-3-*O*-gluc); peonidina-3-*O*-glucósido (Peoni-3-*O*-gluc); malvidina-3-*O*-glucósido (Malvi-3-*O*-gluc); petunidina-3-*O*-*p*-cumaroilglucósido (petu-3-*O*-*p*-cum glu); peonidina-3-*O*-*p*-cumaroilglucósido (Peoni-3-*O*-*p*-coum gluc); malvidina-3-*O*-*p*-cumaroilglucósido (Malvi-3-*O*-*p*-coum gluc) no plano composto por as componentes principais PC1 e PC2 representando 100% do total e variância para a composição em compostos fenólicos.

## V. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no âmbito desta dissertação permitiram retirar as seguintes conclusões:

- Nas 14 amostras de uvas analisadas foram identificados 14 compostos fenólicos corados e 8 compostos fenólicos não corados.
- A casta Trincadeira foi a casta tinta que apresentou maior teor de compostos fenólicos corados e não corados.
- A casta Terrantez foi a casta branca que apresentou maior teor de compostos não corados.
- O ácido caftárico e a epicatequina foram os compostos fenólicos não corados majoritários nas castas tintas e brancas.
- A malvidina-3-O-glucósido e a peonidina-3-O-glucósido foram as antocianinas majoritárias em todas as castas tintas.
- Ao longo da maturação, as castas tintas e brancas apresentaram oscilações consideráveis nos teores de compostos fenólicos.
- Os teores de compostos fenólicos não corados presentes nas castas tintas diminuí drasticamente de T1 para T2, tendo incrementado ligeiramente até ao final da maturação.
- Nas castas tintas, observou-se um aumento do teor de antocianinas ao longo do tempo de maturação, exceto entre T1 e T2 em que ocorreu uma ligeira diminuição.
- Nas castas brancas, o teor de compostos fenólicos não corados diminuiu de T2 para T3, sendo que os teores máximos foram observados em T2.
- O PCA nas castas tintas permitiu o seu agrupamento conforme o teor em compostos fenólicos corados e não corados. Destacando-se as castas Trincadeira e Monvedro pelo elevado teor de compostos fenólicos totais, e as castas Touriga nacional, Touriga fêmea e Rufete pelo seu elevado teor em antocianinas.
- O PCA das castas brancas, permitiu a separação clara das amostras pela sua diferente composição em termos fenólicos.

## VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abe, L.T., Mota, R.V., Lajolo, F.M., Genoves, M.I., 2007. Phenolic compounds and antioxidant activity of *Vitis labrusca* and *Vitis vinifera* cultivars. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 27: 394-400;
- Alcalde-Eon, C., García-Estévez, I., Martín-Braz, A., Rivas-Gonzalo, J.C., Escribano-Bailón, M.T., 2014. Anthocyanin and flavonol profiles of *Vitis vinifera* L. cv Rufete grapes. *Biochemical Systematics and Ecology* 53, 76–80;
- Arribas, M.V.M., Polo, M.C., 2009. Wine chemistry and biochemistry. Springer, 735pp;
- Barros, A., Gironés-Vilaplana, A., Teixeira, A., Collado-González, J., Moreno, D.A., Gil-Izquierdo, A., Rosa, E., Domínguez-Perles, R., 2014. Evaluation of grape (*Vitis vinifera* L.) stems from Portuguese varieties as a resource of (poly)phenolic compounds: A comparative study. *Food Research International* 65, 375–384;
- Barros, E.P., Moreira, N., Pereira G.E., Leite, S.G.F., Rezende, C.M., Pinho, P.G., 2012. Development and validation of automatic HS-SPME with a gas chromatography-ion trap/mass spectrometry method for analysis of volatiles in wines. *Talanta* 101, 177–186;
- Basha, S.M., Musingo, M., Colova, V.S., 2004. Compositional differences in the phenolics compounds of muscadine and bunch grape wines. *Afr. J. Biotechnol. Full Length Research Paper*;
- Baydar, N.G., Ozkan, G., Sagdiç, O., 2004. Total phenolic contents and antibacterial activities of grape (*Vitis vinifera* L.) extracts. *Food Control* 15,335–339;
- Beer D, Joubert E, Gelderblom WCA, Manley M., 2002. Phenolic Compounds: A Review of Their Possible Role as *In Vivo* Antioxidants of Wine. *S Afr J Enol Vitic*, 23.
- Bisson L., 2001. In search of optimal grade maturity. *Practical winery and vineyard*;
- Böhm, J., 2007. Portugal vitícola, o grande livro das castas. Lisboa: Chaves Ferreira;
- Borges, P.M.M., 2012. Estudo comparativo das castas tintas nobres do dão: touriga nacional, jaen, tinta roriz e alfocheiro. Dissertação de Mestrado em Qualidade e Tecnologia Alimentar;
- Bourse, D.L., Jégou, S., Conreux, A., Villaume, S., Jeandet, P., 2010. Review of preparative and analytical procedures for the study of proteins in grape juice and wine. *Analytica Chimica Acta* 667, 33–42;
- Brar, H. S., Singh, Z., Swinny, E., 2008. Dynamics of anthocyanin and flavonol profiles in the ‘Crimson Seedless’ grape berry skin during development and ripening. *Scientia Horticulturae* 117, 349–356;
- Callejón, R.M., Troncoso, A.M., Morales, M.L., 2010. Determination of amino acids in grape-derived products: A review. *Talanta* 81, 1143–1152;
- Cao, X., Ito, Y., 2003. Supercritical fluid extraction of grape seed oil and subsequent separation of free fatty acids by high-speed counter-current chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1021, 117–124;
- Carneiro, L.C., Martins, A., Pedroso, V., Evolução do encepamento da região do dão. 1º congresso internacional dos vinhos do dão, in [www.academia-vinhaevinho.com](http://www.academia-vinhaevinho.com), consultado em 26.06.2015;
- Castillo-Munoz, N. C., Gomez-Alozo, S., Romero, E.G., Gomez, M.V., Velders, A.H., Gutierrez, I.H., 2007. Flavonol Profiles of *Vitis vinifera* Red Grapes and Their Single-Cultivar Wines. *J. Agric. Food Chem.* 55, 992-1002;

- Castillo-Munoz, N., Gómez-Alonso, G., García-Romero, E., Hermosín-Gutiérrez, I., 2010. Flavonol profiles of *Vitis vinifera* white grape cultivars. *Journal of Food Composition and Analysis* 23, 699–705;
- Castillo-Munoz, N. C., Gomez-Alozo, S., Romero, E.G., Gomez, M.V., Velders, A.H., Gutierrez, I.H., 2009. Flavonol 3-O-Glycosides Series of *Vitis vinifera* Cv. Petit Verdot Red Wine Grapes. *J. Agric. Food Chem.* 57, 209–219;
- Cecchini, F., Morassut, M., 2010. Effect of grape storage time on biogenic amines content in must. *Food Chemistry* 123, 263–268;
- Chavarria, G., Bergamaschi, H., Silva, L.C., Santos, H.P., Mandelli, F., Guerra, C.C., Flores, C.A., Tonietto, J., 2011. Relações hídricas, rendimento e compostos fenólicos de uvas Cabernet Sauvignon em três tipos de solo. *Bragantia*, Campinas, v. 70, n. 3, p.481-487;
- Ciudad, C., Regina, D., 1990. Chemical compounds of grape (*Vitis vinifera* L.) and its interaction with cyanid salts. *Agricultura tecnica (Chile)* 50, 304-309;
- Climaco, P., Silva, J.R., Laureano, O., Castro, R., Tonietto, J., 2007. Balanço energético e coeficientes culturais em *Pyrus communis* L. cv. 'Rocha'. <http://hdl.handle.net/10400.5/596>;
- Coelho, E., Rocha, S.M., Delgadillo, I., Coimbra, M.A., 2006. Headspace-SPME applied to varietal volatile components evolution during *Vitis vinifera* L. cv. 'Baga' ripening. *Analytica Chimica Acta* 563, 204–214;
- Coetzee, C., Toit, W.J., 2012. A comprehensive review on Sauvignon blanc aroma with a focus on certain positive volatile thiols. *Food Research International* 45, 287–298;
- Correia, P. T. R., 2014. A maturação fenólica em uvas tintas. Comparação de metodologias. (Dissertação) Escola de ciências e tecnologias. Universidade de Évora;
- Costa, P. Prospecção das castas antigas da região demarcada do Douro, região demarcada Távora-Varosa e região vitivinícola de Trás-os-Montes. ADVID – Associação para o desenvolvimento da viticultura Duriense, in [www.adiv.pt](http://www.adiv.pt) consultado em 26.06.2015;
- Cozzolino, D., Cynkar, W., Shah, N., Smith, P., 2011. Quantitative analysis of minerals and electric conductivity of red grape homogenates by near infrared reflectance spectroscopy. *Computers and Electronics in Agriculture* 77, 81–85;
- CVRD. 2014. Comissão Vitivinícola da Região do Dão, consultado a 28.04.2014, de vinhos do Dão: <http://www.cvrdao.pt>;
- CVRVV. 2014. Comissão de viticultura da região dos vinhos verdes. Consultado a 20.04.2014, de: <http://www.vinhoverde.pt>;
- Dias, J. P., 2006. Fases de maturação da uva. Centésimo curso intensivo de vinificação. Ministério da agricultura , do desenvolvimento rural e das pescas;
- Di Lecce, G., Arranz, S., Jáuregui, O., Tresserra-Rimbau, A., Quifer-Rada, P., Lamuela-Raventós, R. M., 2014. Phenolic profiling of the skin, pulp and seeds of Albariño grapes using hybrid quadrupole time-of-flight and triple-quadrupole mass spectrometry. *Food Chemistry* 145, 874–882;
- Dokoozlian, N., 2000. Grape berry growth and development. In: Cristensen, P.L. (ed), Raisin production manual, University of California, Agriculture & Natural resources. Oakland. 30-37 pp.
- Dopico-García, M.S., Figue, A., Guerra, L., Afonso, J.M., Pereira, O., Valentão, P., Andrade, P.B., Seabra, R.M., 2008. Principal components of phenolics to

- characterize red Vinho Verde grapes: Anthocyanins or non-coloured compounds? *Talanta* 75, 1190-1202;
- Downey, M. O., Dokoozlian, N. K., Krstic, M. P., 2006. Cultural practice and environmental impacts on the flavonoid composition of grapes and wine: A review of recent research. *Am. J. Enol. Vitic.* 57:3;
- Dziadas, M., Jelen, H.H., 2010. Analysis of terpenes in white wines using SPE–SPME–GC/MS approach. *Analytica Chimica Acta* 677, 43–49;
- Fenoll, J., Manso, A., Hellin, P., Ruiz, L., Flores, P., 2009. Changes in the aromatic composition of the *Vitis vinifera* grape Muscat Hamburg during ripening. *Food Chemistry* 114, 420–428;
- Fernandes, L., Casal, S., Cruz, R., Pereira, J.A., Ramalhosa, E., 2013. Seed oils of ten traditional Portuguese grape varieties with interesting chemical and antioxidant properties. *Food Research International* 50, 161–166;
- Fernandes, F., Ramalhosa, E., Pires, P., Verdial, J., Valentão, P., Andrade, P., Bento, A., Pereira, J.A., 2013. *Vitis vinifera* leaves towards bioactivity. *Industrial Crops and Products* 43, 434– 440;
- Figueiredo-González, M., Martínez-Carballo, E., Cancho-Grande, B., Santiago, J.L., Martínez, M.C., Simal-Gándara, J., 2012 a. Pattern recognition of three *Vitis vinifera* L. red grapes varieties based on anthocyanin and flavonol profiles, with correlations between their biosynthesis pathways. *Food Chemistry* 130, 9–19;
- Figueiredo-González, M., Simal-Gándara, J., Boso, S., Martínez, M.C., Santiago, J.L., Cancho-Grande, B., 2012 b. Anthocyanins and flavonols berries from *Vitis vinifera* L. cv. Brancellao separately collected from two different positions within the cluster. *Food Chemistry* 135, 47–56;
- Flamini, R., Mattivi, F., Rosso, M.D., Arapitsas, P., Bavaresco, L., 2013. Advanced knowledge of three important classes of grape Phenolics: anthocyanins, stilbenes and flavonols. *Int. J. Mol. Sci.* 14, 19651-19669;
- Fraga, H., Malheiro, A.C., Moutinho-Pereira, J., Santos, J.A., 2014. Climate factors driving wine production in the Portuguese Minho region. *Agricultural and Forest Meteorology* 185, 26– 36;
- Freitas, V. A. P., Glories, Y., Bourgeois, G., Vitry, C., 1998. Characterisation of oligomeric and polymeric procyanidins from grape seeds by liquid secondary ion mass spectrometry. *Phytochemistry*, Vol. 49, No.5, pp.1435-1441;
- Garcia, A.F., 2004. Automatización de una planta vinificadora. Universidade Rovira e Virgili;
- Garrido, J., Borges, F., 2013. Wine and grape polyphenols — A chemical perspective. *Food Research International*;
- Gazzola, D., Vincenzi, S., Gastaldon, L., Tolin, S., Pasini, G., Curioni, A., 2014. The proteins of the grape (*Vitis vinifera* L.) seed endosperm: Fractionation and identification of the major components. *Food Chemistry* 155, 132–139;
- Genisheva, Z., 2007. Caracterização aromática varietal das castas brancas recomendadas para a produção de vinho verde. Dissertação de mestrado em engenharia biológica;
- Gonçalves, B., 2005. Avaliação da utilização do processo de passificação parcial para aumentar a quantidade de açúcares em uvas da variedade cabernet sauvignon. Ministério da educação secretaria de educação profissional e tecnológica centro federal de educação tecnológica de bento Gonçalves curso superior de tecnologia em viticultura e enologia;

- Gomez-Alonso, S., Garcia – Romero, E, Hermosin-Gutierrez, I., 2007. HPLC analysis of diverse grape and wine phenolics using direct injection and multidetection by DAD and fluorescence. *Journal of Food Composition and Analysis* 20, 618–626;
- Gomez, F.J.V., Monasterio, R.P., Vargas, V.C.S., Silva, M., 2012. Analytical characterization of wine and its precursors by capillary electrophoresis. *Electrophoresis*, 33, 2240–2252;
- Guedes, P., Pina, C., Santos, C., Santos, S., Vasconcelos, I., Cabral, L., Viera, M., Hogg, T., 1997. Caracterização química e sensorial de vinhos provenientes de castas nobres da região do Douro;
- Guerra, C.C., Mandelli, F., Tonietto, J., Zanus, M.C., Camargo, U.A., 2009. Conhecendo o essencial sobre uvas e vinhos. Embrapa Uva e Vinho. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. ISSN 1516-8107;
- <http://kitchakcellars.blogspot.pt> consultado a 08.08.2014;
- <http://wine.wsu.edu/research-extension/2007/07/grape-and-wine-phenolics-a-primer/> consultado a 20.06.2014;
- Infovini. 2014. Infovini. Consultado a 25.04.2014, de o portal do vinho português: <http://www.infovini.com>;
- IPMA, 2015. Boletim climatológico mensal Portugal continental. Setembro 2014. Instituto Português do mar e da Atmosfera, I.P.
- IVV. 2014. IVV. Consultado a 25.04.2014, de instituto da vinha e do vinho: <http://www.ivv.min-agricultura.pt>;
- Jackson, R. S., 1994. *Wine science: principles, practice, perception*. Copyright by Elsevier Science 2ª Ed;
- Jeffery, D.W., Parker, M., Smith, P.A., 2008. Flavonol composition of Australian red and white wines determined by high-performance liquid chromatography. Australian Wine Research Institute;
- Kammerer, D., Claus, A., Carle, R. Schieber, A., 2004. Polyphenol screening of pomace from red and white grape varieties (*Vitis vinifera* L.) by HPLC-DAD-MS/MS. *J. Agric. Food Chem.* 52, 4360–4367;
- Kayesh, E., Shangguam, L., Korir, N.K., Sun, X., Bilkish, N., Zhang, Y., Han, J., Song, C., Cheng, Z.M., Fang, J., 2013. Fruit skin color and the role of anthocyanin. *Acta Physiol Plant* 35, 2879–2890;
- Kennedy, J. A., Matthews, M. A., Waterhouse, A. L., 2002. Effect of maturity and vine water status on grape skin and wine flavonoids. *Am. J. Enol. Vitic.* 53:4;
- Kennedy, J.A., 2008. Grape and wine phenolics: Observations and recent findings. *Cien. Inv. Agr.* 35(2): 107-120;
- Kozminski, P., Oliveira-Brett, A.M., 2008. Anthocyanin monitoring in four red grape skin extract varieties using RP-HPLC-ED. *Analytical Letters*, 41, 662–675;
- Lee, K.R., Kim, S.H., SamGo, Y., Jung, S.M., Roh, K.H., Kim, J.B., Suh, M.C., Lee, S., Kim, H.U., 2012. Molecular cloning and functional analysis of two FAD2 genes from American grape (*Vitis labrusca* L.). *Gene* 509, 189–194;
- Lee, J., Schreiner, R.P., 2010. Free amino acid profiles from ‘Pinot noir’ grapes are influenced by vine N-status and sample preparation method. *Food Chemistry* 119, 484–489;
- Llobera, A., Canellas, J.C., 2007. Dietary fibre content and antioxidant activity of Manto Negro red grape (*Vitis vinifera*): pomace and stem. *Food Chemistry* 101, 659–666;

- Lorrain, B., Ky, I., Pechamat, L., Teissedre, P.L., 2013. Evolution of Analysis of Polyphenols from Grapes, Wines, and Extracts. *Molecules*, 18, 1076-1100;
- Lozano, J.S., 2013. Tendencias innovadoras de la uva de mesa en la region de murcia. Escola Técnica superior de engenharia agronómica de Cartagena;
- Luque-Rodríguez, J.M., Loque de Castro, M.D., Pérez- Juan, P., 2005. Extraction of fatty acids from grape seed by superheated hexane. *Talanta* 68, 126–130;
- Macheix J-J, Fleuriet A, Billot J., 1990. Phenolic compounds in fruit processing. In *Fruit Phenolics*, 295-358.
- Malacrida, C.R., Motta, S., 2005. Compostos fenólicos totais e antocianinas em suco de uva. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 25(4): 659-664;
- Marques, A.P., Leitão, M.C., Romão, M.V.S., 2008. Biogenic amines in wines: Influence of oenological factors. *Food Chemistry* 107, 853–860;
- Martin, D.M., Bohlmann, J., 2004. Identification of *Vitis vinifera* (L.)-a-terpineol synthase by in silico screening of full-length cDNA ESTs and functional characterization of recombinant terpene synthase. *Phytochemistry* 65, 1223–1229;
- Mateus, N., Machado, J.M., Freitas, V., 2002. Development changes of anthocyanins in *Vitis vinifera* grapes grow in the Douro valley and concentration in respective wines. *J Sci Food Agric* 82, 1689–1695;
- Mato, I., Suarez-Luque, S., Huidobro, J.F., 2005. A review of the analytical methods to determine organic acids in grape juices and wines. *Food Research International* 38, 1175–1188;
- Mattivi, F., Guzzon, R., Vrhovsek, U., Stefanini, M., Velasco, R., 2006. Metabolite Profiling of Grape: Flavonols and Anthocyanins. *J. Agric. Food Chem.* 54, 7692-7702;
- Meireles, A. M. P. L., 2013. Controlo de maturação e clarificação do mosto. (Dissertação) Faculdade de ciências do Porto;
- Mendes, B., Gonçalves, J., Câmara, J.S., 2008. Effectiveness of high-throughput miniaturized sorbent- and solid phase microextraction techniques combined with gas chromatography–mass spectrometry analysis for a rapid screening of volatile and semi-volatile composition of wines—A comparative study. *Talanta* 88, 79– 94;
- Mendes, J.A.S., 2008. Estudo sobre a composição química e possíveis aplicações do folhelho de uva. Universidade de Aveiro Departamento de Química;
- Mendes-Pinto, M.M., 2009. Carotenoid breakdown products the—norisoprenoids—in wine aroma. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 483, 236–245;
- Mesão Frio, 2015. Disponível em <http://www.mesaofrio.com.pt> consultado a 16.09.2015;
- Ministério da agricultura, do desenvolvimento rural e das pescas. Portaria n.o 413/2001 de 18 de Abril. *Diário da república* — I Série-B, nº 91;
- Monagas, M., Bartolomee, B., Gomez – Cordovees, C., 2007. Updated Knowledge About the Presence of Phenolic Compounds in Wine. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45:85–118;
- Montealegre, R.R., Peces R.R., Vozmediano, J.L.C., Gascuen, J.M., Romero, E.G., 2006. Phenolic compounds in skins and seeds of ten grape *Vitis vinifera* varieties grown in a warm climate. *Journal of Food Composition and Analysis* 19, 687–693;
- Nascimento, J.A., Dionísio, A.G.G., Nascimento, E.C.L., Freitas, S.K.B., Araújo, M.C.U., 2010. Análise screening de vinhos empregando um analisador fluxo-batelada, Espectroscopia UV-Vis e quimiometria. *Química Nova*, 33, 351-357;

- Nogales-Bueno, J., Hernandez-Hierro, J.M., Rodríguez-Pulido, F.J., Heredia, F. J., 2014. Determination of technological maturity of grapes and total phenolic compounds of grape skins in red and white cultivars during ripening by near infrared hyperspectral image: A preliminary approach. *Food Chemistry* 152, 586–591;
- Noguerol-Pato, R., González-Barreiro, C., Cancho-Grande, B., Santiago, J.L., Martínez, Simal-Gándara, J., 2012. Aroma potential of Brancellao grapes from different cluster positions. *Food Chemistry* 132, 112–124;
- Nonier, M.F., Gaulejac, N.V., Vivas, N., Vitry, C., 2004. Characterization of carotenoids and their degradation products in oak wood. Incidence on the flavour of wood. *C. R. Chimie* 7, 689–698;
- Novak, I., Janeiro, P., Seruga, M., Oliveira-Brett, A.M., 2008. Ultrasound extracted flavonoids from four varieties of Portuguese red grape skins determined by reverse-phase high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. *analytica chimica acta* 630, 107–115;
- Obrique-Slier, E., Pena-Neira, A., López-Solís, R., Zamora-Marín, F., Silva, J.R.D., Laureano, O., 2010. Comparative Study of the Phenolic Composition of Seeds and Skins from Carménère and Cabernet Sauvignon Grape Varieties (*Vitis vinifera* L.) During Ripening. *J. Agric. Food Chem.* 58, 3591–3599;
- OIV, 2014. Compendium of international methods of wine and must analysis. International organization of vine and wine. V1, Paris;
- OIV. International Organisation of vine and wine. State of the vitiviniculture world market. Consultado a 30.08.2014 de: <http://www.oiv.int>;
- Oliveira, J.M.M., 2000. Aromas varietais e de fermentação determinantes da tipicidade das castas loureiro e alvarinho. Universidade do minho. Escola de engenharia, departamento de engenharia biológica;
- Oliveira J, Silva MA, Parola AJ, Mateus N, Brás NF, Ramos MJ., 2013. Structural characterization of A-type linked trimeric anthocyanin derived pigment occurring in a young Port wine. *Food Chemistry*.
- Oszmianski, J., & Lee, C. Y., 1990. Isolation and HPLC Determination of Phenolic Compounds in Red Grapes. *American Journal of Enology and Viticulture*, 41(3), 204-206.
- Paixão, N., Perestrelo, R., Marques, J.C., Camara, J.S., 2007. Relationship between antioxidant capacity and total phenolic content of red, rose and white wines. *Food Chemistry* 105, 204–214;
- Palma, M., Barroso, C.G., 2002. Ultrasound-assisted extraction and determination of tartaric and malic acids from grapes and winemaking by-products. *Analytica Chimica Acta* 458, 119–130;
- Panceri, C.P., Gomes, T.M., Gois, J.S., Borges, D.L.G., Bordignon-Luiz, M.T., 2013. Effect of dehydration process on mineral content, phenolic compounds and antioxidant activity of Cabernet Sauvignon and Merlot grapes. *Food Research International* 54, 1343–1350;
- Pinilla, O.M., Lapuente, L.M., Guadalupe, Z., Ayestaran, B., 2012. Sensory profiling and changes in colour and phenolic composition produced by malolactic fermentation in red minority varieties. *Food Research International* 46, 286–293;
- Pereira, A.C.G.M., 2010. O justo valor do activo biológico “a vinha” na região demarcada do dão. Mestrado em Finanças Empresariais. Instituto politécnico de Viseu. Escola Superior de Tecnologia e Gestão de Viseu;



- Perestrelo, R., Lu, Y, Santos, S.A.O., Silvestre, A.J.D., Neto, C.P., Câmara, J. S., Rocha, S. M., 2012. Phenolic profile of Sercial and Tinta Negra *Vitis vinifera* L. grape skins by HPLC–DAD–ESI-MS Novel phenolic compounds in *Vitis vinifera* L. grape. *Food Chemistry* 135, 94–104;
- Pérez-Magarino, S., Jose, M. L. G., 2004. Evolution of flavanols, anthocyanins, and their derivatives during the aging of red wines elaborated from grapes harvested at different stages of ripening. *J. Agric. Food Chem.* 52, 1181-1189;
- Prozil, S.O., Evtuguin, D.V., Lopes, L.P.C., 2012. Chemical composition of grape stalks of *Vitis vinifera* L. from red grape pomaces. *Industrial Crops and Products* 35, 178–184;
- Rapp, A., Mandery, H., 1986. Wine aroma. *Experientia* 42;
- Regulamento (CE) N° 2081/92 de 14 de Julho de 1992;
- Regulamento (CE) N° 491/2009 de 25 de Maio de 2009;
- Reis, C.H., 2008. Vinho, Gastronomia e Saude. Editora da universidade do Porto, 1ª Edição;
- Ribéreau-Gayon, P.R., Glories, Y., Maujean, A., Dubourdiu, D., 1998. *Traité d' enologie. 2. Chime du vin stabilisation et traitements.* Dunod, Paris, 508 pp;
- Ribéreau-Gayon, P., Dubourdiu, D., Donèche, B., Lonvaud, A., 2006. *Handbook of Enology Volume 1 The Microbiology of Wine and Vinifications 2nd Edition.* John Wiley & Sons, Ltd ISBN: 0-470-01034-7;
- Rigou, P., Triay, A., Razungles, A., 2012. Influence of volatile thiols in the development of blackcurrant aroma in red wine . *Food Chemistry* 142, 242–248;
- Rizzon, L.A., Sganzerla, V.M.A., 2007. Tartaric and malic acids in the must grapes of Bento Gonçalves-RS, Brazil. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.37, n.3, p. 911-914;
- Robinson, A.L., Boss, P.K., Solomon, P.S., Trengove, R.D., Heymann, H., Ebeler, S.E., 2013. *Origins of Grape and Wine Flavor. 2 Part 1. Chemical Components and Viticultural Impacts;*
- Rockenbach, I.I., 2008. Compostos fenólicos, ácidos graxos e capacidade antioxidante do bagaço da vinificação de uvas tintas (*Vitis vinifera* L. e *Vitis labrusca* L.). Universidade federal de santa catarina centro de ciências agrárias departamento de ciência e tecnologia de alimentos programa de pós-graduação em ciência dos alimentos;
- Rodríguez, S. A., José, L. G., 1995. Influencia climática en la maduración de la uva: estudo de cultivares de la rioja y de madrid. *Zubia monografico* 7, 79-102;
- Sánchez-Palomo, E., Díaz-Maroto, M.C., Pérez-Coello, S.M., 2005. Rapid determination of volatile compounds in grapes by HS-SPME coupled with GC–MS. *Talanta* 66, 1152–1157;
- Santos, M.F.C., 2007. Influência do sistema de condução nos prejuizos resultantes da traça-da-uva e da podridão-cinzenta nas castas Syrah e Trincadeira. Mestrado em Viticultura e Enologia - Instituto Superior de Agronomia. <http://hdl.handle.net/10400.5/537>;
- Schumacher, R.L., Gardin, J.P.P., Colimo, A. G. S.C., Bettoni, J.C., Messerschmidt, L., 2012. Compostos nitrogenados do vinho: fatores envolvidos na formação de aminoácidos e amins biogênicas. *Evidência, Joaçaba* v. 12 n. 2, p. 137-154;
- Scollary, G. R., 2010. Tannin reviw. *Grape and wine research and development corporation*, p. 1-132.

- Sefton, M.A., Francis, I.L., Williams, P.J., 1993. The Volatile Composition of Chardonnay Juices: A Study by Flavor Precursor Analysis. *Am. J. Enol. Vitic.*, Vol. 44;
- Serafim, F.A.T., Silva, A.A., Galimaro, C.A., Franco, D.W., 2012. Comparação do perfil químico entre cachaças de um mesmo vinho destiladas em alambiques e em colunas. *Quimica Nova*, 35, 1412-1416;
- Shrikhande, A.J., 2000. Wine by-products with health benefits. *Food Research International* 33, 469-474;
- Silva, B.M., Silva, L.R., Valentão, P., Seabra, R.M., Andrade, P.B., Trujillo, M.E., Velázquez, E., 2007. HPLC Determination of Free Amino Acids Profile of Dão Red Wine: Effect of *Dekkera bruxellensis* Contamination. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 30: 1371–1383;
- Silva, L.R., Andrade, P.B., Valentão, P., Seabra, R.M., Trujillo, M.E., Velázquez, E., 2005. Analysis of non-coloured phenolics in red wine: Effect of *Dekkera bruxellensis* yeast. *Food Chemistry* 89, 185–189;
- Singleton VL, Essau P. *Phenolic Substances in Grapes and Wine, and their Significance*. Academic Press, New York. 1969.
- Sousa, S.I., 2005. *Espumante: o prazer é todo seu*. São Paulo: Marco zero. ISBN: 85-279-0384-9;
- Spanghero, M., Salem, A.Z.M., Robinson, P.H., 2009. Chemical composition, including secondary metabolites, and rumen fermentability of seeds and pulp of Californian (USA) and Italian grape pomaces. *Animal Feed Science and Technology* 152, 243–255;
- Styger, G., Prior, B., Bauer, F.F., 2011. Wine flavor and aroma. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 38, 1145–1159;
- Sun, B., Spranger, M.I., 2005. Review: quantitative extraction and analysis of grape and wine proanthocyanidins and stilbenes. *Ciência Téc. Vitiv.* 20 (2), 59-89;
- Teixeira, A. M. M., 2001. Estudo da complexação do cobre (II) com compostos fenólicos da uva e do vinho. (Dissertação) Faculdade de Farmácia da universidade do Porto;
- Tomaz, F. O. N., 2013. Estudo da evolução dos compostos da uva ao longo da maturação em clima semi-árido. Castas Carbenet Sauvignon, Aragonez e Alicante Bouschet. (Dissertação) Instituto superior de agronomia universidade tecnica de lisboa. Faculdade de ciencia da universidade do Porto;
- Trela, B. C., Waterhouse, A.L., 1996. Resveratrol: Isomeric Molar Absorptivities and Stability. *J. Agric. Food Chem.* 44, 1253-1257;
- Tsao, R., 2010. Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Nutrients* 2, 1231-1246;
- Valentão, P., Seabra, R.M., Lopes, G., Silva, L.R., Martins, V., Trujillo, M.E., Velazquez, E., Andrade, P.B., 2007. Influence of *Dekkera bruxellensis* on the contents of anthocyanins, organic acids and volatile phenols of Dão red wine. *Food Chemistry* 100, 64–70;
- Valls, J., Millán, S., Martí, M.P., Borrás, E., Arola, L., 2009. Advanced separation methods of food anthocyanins, isoflavones and flavanols. *Journal of Chromatography A*, 1216, 7143–7172;
- Vilanova, M., Genisheva, Z., Bescansa, L., Masa, A., Oliveira, J.M., 2012. Changes in free and bound fractions of aroma compounds of four *Vitis vinifera* cultivars at the last ripening stages. *Phytochemistry* 74, 196–205;
- Waterhouse, A.L., 2002. Wine Phenolics. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 957: 21–36;

- Wines of Portugal. 2014. Wines of Portugal. Consultado a 25.04.2014, de: <http://www.winesofportugal.info.pt>;
- Xu, C., Zhang, Y., Cao, L., Lu, J., 2010. Phenolic compounds and antioxidant properties of different grape cultivars grown in China. *Food Chemistry* 119, 1557–1565;
- Xu, Y., 2011. Identifications of Polyphenols and Quantification of Anthocyanidins in Grapes and Grape-derived Products;
- Yang, C., Wang, Y., Liang, Z., Fan, P., Wu, B., Yang, L., Wang, Y., Li, S., 2009. Volatiles of grape berries evaluated at the germplasm level by headspace-SPME with GC-MS. *Food Chemistry* 114, 1106–1114;
- Zhang, H., Fan, P., Liu, C., Wu, B., Li, S., Liang, Z., 2014. Sunlight exclusion from Muscat grape alters volatile profiles during berry development. *Food Chemistry* 164, 242–250;