Influência de diferentes aguardentes na produção de Vinho do Porto

Catarina Fernanda Carvalho Alves
Mestrado em Engenharia Agronómica
Departamento de Geociências, Ambiente e Ordenamento do Território
2021

Orientador
Jorge Bernardo Lacerda de Queiroz, Professor Auxiliar, FCUP

Supervisor
Carlos Eduardo Morais Alves, Enólogo, Sogevinus Fine Wines



Todas as correções determinadas pelo júri, e só essas, foram efetuadas.

O Presidente do Júri,

Porto, _____/_____/_____

“Para ser grande, sê inteiro: nada
Teu exagera ou exclui.

Sê todo em cada coisa. Põe quanto és
No mínimo que fazes.

Assim em cada lago a lua toda
Brilha, porque alta vive.”

Poesia dos outros Eus. Ricardo Reis

Agradecimentos

Na realização deste trabalho não poderia deixar de agradecer a todos o que fizeram parte do meu percurso ao longo desta caminhada. Com muitos altos e baixos, mas sem dúvida que estes foram os melhores anos da minha vida.

O meu primeiro agradecimento vai para o Professor Jorge Queiroz pela forma como me cativou para esta área, por ter aceite ser meu orientador, pela paciência e pelo apoio na realização deste projeto durante esta pandemia.

À Sogevinus na pessoa do Engenheiro Carlos Alves deixo o meu sincero agradecimento por me ter deixado integrar este projeto que estava a iniciar e contra todas as possibilidades aceitar um estagiário com todas as normas de segurança implantadas. À Juliana Miranda responsável do laboratório da Sogevinus que acompanhou o trabalho desenvolvido e ao Nuno Silva técnico do laboratório que sempre me ajudou em tudo o que podia.

Ao Professor Doutor Jorge Ricardo da Silva e à Joana Granja Soares do Instituto Superior de Agronomia de Lisboa agradeço a atenção, disponibilidade e prontidão no esclarecimento das minhas dúvidas em alguns protocolos, foi uma ajuda indispensável.

À Inês Cabral o meu sincero obrigado por toda a ajuda e disponibilidade para me guiar por todo o tratamento estatístico, foi a minha salvação.

A todos os meus colegas de mestrado obrigado pelo companheirismo e amizade nestes dois anos. Apesar de muitas aulas online ainda conseguimos disfrutar da companhia um dos outros e pude conhecer pessoas incríveis e muito empenhadas no sucesso. Um obrigado especial à Márcia que após uma licenciatura a aturar-me ainda embarcou comigo nestas viagens para Vairão sendo a minha parceira em todos os trabalhos que fazíamos nestes dois anos. Não podia ter pedido melhor pessoa para partilhar este caminho comigo. Ao João Pessoa obrigado pela disponibilidade em me ajudares no que podias na fase de decisão da tese e no desenvolvimento.

Ao meu ano, as BioHienas, obrigado por todos os sorrisos que partilhamos, pelas aventuras nas ruas do Porto, as noites, as músicas, os leões, a casa do povo, as sessões de estudo até de manhã, as tradições e acima de tudo às amizades para a vida. À Moutcha, minha eterna colega de quarto e da vida; à Bae K, um exemplo de pessoa, à Sisi, ao Carlitos e à minha Tati que me acompanhou a cada passo, a cada loucura e que me conhece melhor que eu mesma, obrigado pela vossa amizade e por tudo o que vivemos e ainda vamos viver.

Ao meu grupo de jovens, Grupo de Jovens em Caminhada Renascer de Vila das Aves, obrigado por serem o meu escape de todo o stress dos estudos e do dia a dia. Aqui sempre encontrei um porto seguro nestes anos que me ajudou a continuar a caminhar.

Às minhas ladies, a Bia e a Diana, que me acompanham desde a escola primária e são a prova de que quando a amizade é verdadeira e eterna, não importa a distância nem quantas vezes falamos, tudo será sempre igual e as gargalhadas serão sempre garantidas assim como as idas ao sushi. Obrigado, minhas marias por fazerem de mim quem sou.

Aos meus pais e à minha irmã, mil obrigados por todos os esforços que fizeram para eu concluir os meus estudos. Obrigado por todo o apoio nas minhas loucuras e por toda a ajuda em tudo o que sempre precisei. Sem vocês não era nada.

Ao resto da minha família, em especial aos meus avós maternos, os meus tios e a minha prima Bárbara obrigado por me acompanharem, me ajudarem e apoiarem em tudo. Aos meus avós paternos, obrigado, sei que olharam por mim aí de cima.

E por último, mas não menos importante, ao meu namorado, José Alves, mil obrigados pela tua paciência, pela motivação e por me aturares nos dias menos bons. Tens caminhado ao meu lado e me ajudado a subir sempre mais um degrau apesar das dificuldades e do desanimo que iam surgindo. Tens sido a peça essencial que faltava na minha vida e tudo o que atingir também é mérito teu! Obrigado por tudo.

Resumo

O Vinho do Porto é dos vinhos portugueses mais conceituados e conhecidos mundialmente pelas suas características únicas e excelência. A adição de aguardente em cerca de 20% do volume total do vinho interrompe a fermentação permitindo que aproximadamente metade dos açúcares iniciais sejam mantidos. Além disto a aguardente confere diversas características ao Vinho do Porto devido às interações entre os compostos de ambos. Devido a estas condições é que se torna tão importante o conhecimento dos diferentes compostos de um vinho e a influência que a aguardente pode ter nesses compostos de forma que se possa garantir um produto final com a maior qualidade possível. Diversos estudos têm vindo a ser realizados ao longo dos anos e é com o mesmo intuito que surge este projeto.

Para este trabalho estudaram-se os efeitos da adição de três aguardentes, normalmente utilizadas pela empresa na fortificação, de forma a se perceber se existem diferenças nas propriedades concedidas aos vinhos produzidos na vindima de 2020.

Estes três vinhos generosos foram avaliados quanto à sua composição, mais especificamente a intensidade da cor, por dois métodos distintos, tonalidade da cor, percentagem de diferentes cores, pH, grau Baumé, título alcoométrico volúmico total, açúcares totais, teor de SO_2, antocianinas totais e coradas, índice de ionização, fenóis totais, fenóis não-flavonóides e fenóis flavonóides tendo ainda sido realizada uma análise sensorial comparativa.

Diversas análises gerais realizadas possibilitaram a caraterização dos três vinhos uma vez que não apresentaram elevadas variações ao longo do período de análise. Apesar de alguns procedimentos realizados apresentarem resultados inesperados que não puderam ser utilizados, foi possível observar diferenças significativas entre os vinhos e entre os meses do período de análise em alguns parâmetros.

Podemos concluir que o vinho 2 apresenta características superiores nos parâmetros colorimétricos e na composição fenólica, tornando a aguardente utilizada neste vinho a mais adequada no processo de vinificação. O oposto verificou-se com o vinho 1 que apresenta os valores mais baixos para as diferentes análises.

Aa maiores diferenças em todos foram ao nível da intensidade, tonalidade e percentagens das cores enquanto as restantes análises apresentam diversas variações ao longo do período de estudo.

Palavras-chave: Aguardente, análise sensorial, antocianinas, cor, compostos fenólicos, qualidade, Vinho do Porto

Abstract

Port Wine is one of the most famous Portuguese wines known worldwide for its unique characteristics and excellence. Adding wine spirit to about 20% of the total volume of the wine stops fermentation allowing approximately half of the initial sugars to be kept. In addition, the wine spirit gives several characteristics to the Port Wine due to the interactions between the compounds of both. Given these conditions, it is so important to know the different compounds of a wine and the impact that a wine spirit can have on these compounds to guarantee a final product with the highest possible quality. Several studies have been carried out over the years and with the same purpose as this project.

For this work, three wine spirits were studied, normally used by the company in fortification, to understand if there are differences in the properties granted to the wine obtained from the 2020 vintage.

These fortified wines were analyzed in terms of composition, more specifically intensity, by two different methods, hue, percentage of different colors, pH, Baumé, total alcoholic strength by volume, total sugars, SO_2 content, total anthocyanins and stained anthocyanins, ionization index, total phenols, non-flavonoid phenols, flavonoid phenols and a comparative sensory analysis of the three wines was also performed.

Several general analyzes carried out enabled the characterization of the three wines since variations throughout the period of analysis were not dissipated. Although some procedures performed presented unexpected results that could not be used, it was possible to observe differences between the wines and between the months of the analysis period in several parameters.

We can conclude that wine 2 has superior characteristics in terms of colorimetric parameters and phenolic composition, making the wine spirit used in this wine the most suitable in the winemaking process. The opposite was found with wine 1, which presents the lowest values for the different analyses.

The biggest differences were in the level of intensity, hue, and color percentages while other parameters show differences over the studied period.

Keywords: Wine spirit, sensory analysis, anthocyanins, color, phenolic compounds, quality, Port Wine

Índice

Agradecimentos IV
Resumo VI
Abstract VII
Índice de Figuras XI
Índice de Tabelas XII
Lista de Abreviaturas XV
1. Introdução 1
1.1. História do Vinho do Porto 1
1.2. Produção 2
1.2.1. Características geográficas 2
1.2.2. Viticultura da Região do Douro 4
1.2.3. Colheita 6
1.2.4. Vinificação do Vinho do Porto 6
1.2.5. Fortificação 8
1.2.6. Envelhecimento e lotes de Vinho do Porto 9
1.2.7. Acabamento e Estabilização do Vinho do Porto 10
1.3. Características do Vinho do Porto 10
1.4. Aguardente 14
2. Revisão Bibliográfica 16
2.1. Composição fenólica dos vinhos 16
2.2. Compostos fenólicos flavonóides 18
2.2.1. Flavonóis 18
2.2.2. Flavanóis (taninos condensados ou 3-flavanóis) 18
2.2.3. Antocianinas 19
2.3. Compostos fenólicos não-flavonóides 22
3. Descrição e objetivos do trabalho 23
4. Material e Métodos 23

4.1. Uvas utilizadas e processo de vinificação 23
4.2. Análises Físico-Químicas 25
4.2.1. Análises gerais 25
4.2.2. Determinação da Intensidade e Tonalidade da cor 25
4.2.3. Determinação das antocianinas totais 27
4.2.4. Índice de Ionização 28
4.2.5. Determinação dos fenóis totais, fenóis não-flavonóides e fenóis flavonóides. 29
4.3. Análise sensorial 30
4.4. Análise química e sensorial das aguardentes 31
5. Resultados e Discussão 31
5.1. Análise química das aguardentes 31
5.2. Caracterização dos vinhos 35
5.3. Coloração dos vinhos 37
5.3.1. Intensidade de Glories e de Sudraud 37
5.3.2. Tonalidade de Sudraud 39
5.3.3. Percentagem de cores nos vinhos 40
5.3.4. Classificação CIELAB 43
5.3.5. Índice de Glories 45
5.4. Total de antocianinas 46
5.4.1. Antocianinas totais pelo método da diferença de pH e pelo índice de ionização 46
5.5. Compostos fenólicos 49
5.5.1. Compostos fenólicos não-flavonóides 49
5.5.2. Compostos fenólicos flavonóides 50
5.5.3. Fenóis totais 51
5.6. Análise sensorial da aguardente 53
5.7. Análise sensorial dos vinhos fortificados 53
6. Conclusão 55

7. Bibliografia 57

Anexos 63

Índice de Figuras

Figura 1: Região Demarcada do Douro dividida em sub-regiões. Fonte: IVDP, 2019b 2

Figura 2: Diferentes estilos de Vinhos do Porto e as respetivas colorações. Fonte: IVDP, 2019e 11

Figura 3: Esquema ilustrativo do processo decorrido desde a fermentação até ao engarrafamento dos vinhos da amostra. 24

Figura 4: Esquema ilustrativo do sistema de coordenadas CIELAB para determinação tridimensional da cor. Fonte: Casassa e Sari (2006) 27

Figura 5: Certificado de controlo de qualidade da aguardente 1 fornecido pelo IVDP. 32

Figura 6: Certificado de controlo de qualidade da aguardente 2 fornecido pelo IVDP. 33

Figura 7: Certificado de controlo de qualidade da aguardente 3 fornecido pelo IVDP. 34

Índice de Tabelas

Tabela 1: Classificação do Vinho do Porto de acordo com a sua doçura (Regulamento n.º 242/2010 de 15 de março)..... 11

Tabela 2: Intervalo de valores de L*, a* e b* estabelecidos para definir a cor de um vinho (Decreto-Lei n.º 166/86 de 26 de junho)..... 26

Tabela 3: Comparação das diversas análises iniciais e finais dos vinhos 1, 2 e 3 permitindo a sua caracterização. 36

Tabela 4: Intensidade de Glories (unidade de absorvância - u.a) dos vinhos fortificados com aguardente 1, 2 e 3 analisados mensalmente. 38

Tabela 5: Intensidade de Sudraud (unidade de absorvância - u.a) dos vinhos fortificados com aguardente 1, 2 e 3 analisados mensalmente. 39

Tabela 6: Tonalidade de Sudraud (unidade de absorvância - u.a) dos vinhos fortificados com aguardentes 1, 2 e 3 analisados mensalmente. 40

Tabela 7: Percentagem (%) de Amarelo que compõe os vinhos fortificados 1, 2 e 3 analisados mensalmente..... 41

Tabela 8: Percentagem (%) de Vermelho que compõe os vinhos fortificados 1, 2 e 3 analisados mensalmente..... 42

Tabela 9: Percentagem (%) de Azul que compõe os vinhos fortificados 1, 2 e 3 analisados mensalmente..... 43

Tabela 10: Valores mensais médios das coordenados do sistema CIELAB para os vinhos 1, 2 e 3. 44

Tabela 11: Percentagens (%) mensais do índice de Glories dos três vinhos 1, 2 e 3. 45

Tabela 12: Antocianinas totais (unidade de absorvância - u.a) calculadas por diferença de pH. 47

Tabela 13: Antocianinas totais (unidade de absorvância - u.a) calculadas pelo primeiro procedimento do índice de ionização. 49

Tabela 14: Compostos não-flavonóides (mg/l ác. gálico) dos vinhos 1, 2 e 3 analisados mensalmente. 50

Tabela 15: Compostos flavonóides (mg/l ác. gálico) dos vinhos 1, 2 e 3 analisados mensalmente 51

Tabela 16: Total de compostos fenólicos (mg/l ác. gálico) dos vinhos 1, 2 e 3 analisados mensalmente 52

Tabela 17: Análise sensorial das três aguardentes utilizadas, fornecida pelo IVDP. .. 53

Tabela 18: Resultados da análise sensorial dos vinhos 1, 2 e 3. 54

Tabela 19: Resultados da análise estatística da Intensidade de Glories entre os três vinhos nos diferentes meses. 65
Tabela 20: Resultados da análise estatística da Intensidade de Sudraud entre os três vinhos nos diferentes meses. 65
Tabela 21: Resultados da análise estatística da Tonalidade entre os três vinhos nos diferentes meses. 65
Tabela 22: Resultados da análise estatística da Percentagem de Amarelo entre os três vinhos nos diferentes meses. 66
Tabela 23: Resultados da análise estatística da Percentagem de Vermelho entre os três vinhos nos diferentes meses. 66
Tabela 24: Resultados da análise estatística da Percentagem de Azul entre os três vinhos nos diferentes meses. 66
Tabela 25: Resultados da análise estatística do Índice de Glories entre os três vinhos nos diferentes meses. 67
Tabela 26: Resultados da análise estatística de Antocianinas Totais por diferença de pH entre os três vinhos nos diferentes meses. 67
Tabela 27: Resultados da análise estatística de Antocianinas Totais pelo Índice de Ionização entre os três vinhos nos diferentes meses. 67
Tabela 28: Resultados da análise estatística de Não-Flavonóides entre os três vinhos nos diferentes meses. 68
Tabela 29: Resultados da análise estatística de Fenóis Totais entre os três vinhos nos diferentes meses. 68
Tabela 30: Resultados da análise estatística de Flavonóides entre os três vinhos nos diferentes meses. 68
Tabela 31: Resultados da análise estatística da Intensidade de Glories entre os diferentes meses para cada vinho. 69
Tabela 32: Resultados da análise estatística da Intensidade de Sudraud entre os diferentes meses para cada vinho. 69
Tabela 33: Resultados da análise estatística da Tonalidade entre os diferentes meses para cada vinho. 69
Tabela 34: Resultados da análise estatística da Percentagem de Amarelo entre os diferentes meses para cada vinho. 70
Tabela 35: Resultados da análise estatística da Percentagem de Vermelho entre os diferentes meses para cada vinho. 70
Tabela 36: Resultados da análise estatística da Percentagem de Azul entre os diferentes meses para cada vinho. 70

Tabela 37: Resultados da análise estatística do índice de Glories entre os diferentes meses para cada vinho. 71

Tabela 38: Resultados da análise estatística de Antocianinas Totais por diferença de pH entre os diferentes meses para cada vinho. 71

Tabela 39: Resultados da análise estatística de Antocianinas Totais pelo Índice de Ionização entre os diferentes meses para cada vinho. 71

Tabela 40: Resultados da análise estatística de Não-Flavonóides entre os diferentes meses para cada vinho. 72

Tabela 41: Resultados da análise estatística de Fenóis Totais entre os diferentes meses para cada vinho. 72

Tabela 42: Resultados da análise estatística de Flavonóides entre os diferentes meses para cada vinho. 72

Lista de Abreviaturas

CIE – International Commission on Illumination

H_2O – Água

ha - Hectares

HCl – Cloreto de hidrogénio

IPAC – Instituto Português de Acreditação

IVDP – Instituto dos Vinhos do Douro e Porto

LBV – Late Bottle Vintage

MSCV – Método Simplificado para a Cor do Vinho

OIV – Organização Internacional da Vinha e do Vinho (International Organisation of Vine and Wine)

RDD – Região Demarcada do Douro

rpm – rotações por minuto

SA – Sociedade Anónima

SO_2 – Dióxido de Enxofre

TAV – Título Alcoométrico Volúmico Total

UNESCO - Organização das Nações Unidas para a Educação, Ciência e Cultura

u.a. – Unidades de Absorvância

1. Introdução

O Vinho do Porto é um produto mundialmente comercializado e apreciado pelas suas características únicas. É um vinho licoroso cujo fabrico caracteriza-se pela interrupção da fermentação do mosto através da adição da aguardente vínica (IVDP, 2019a). A produção de um vinho fortificado envolve a seleção das cultivares de uvas, o tratamento e esmagamento das uvas, fermentação alcoólica, adição de aguardente e maturação em madeira ou em garrafas (Tredoux e Ferreira, 2012). As condições edafo-climáticas da Região Demarcada do Douro, as características das diferentes variedades de uvas, os métodos de vinificação e os tipos de regimes de envelhecimento aplicados proporcionam ao Vinho do Porto as suas características de estilo e qualidade tão apreciadas.

1.1. História do Vinho do Porto

O nome de Vinho do Porto provém da cidade do Porto, conhecida como a capital da região Norte e tem sido produzido durante séculos, apesar deste vinho não envelhecer nem ser engarrafado na cidade. Estes processos ocorrem na cidade de Vila Nova de Gaia que se situa na margem sul do estuário do rio Douro (Hogg, 2013). O Entreposto de Gaia foi criado em 1926 (Moreira e de Pinho, 2011) e na altura a cidade do Porto era o local de bancos, residências, escritórios ou clubes de comércio de vinho, mas não se dedicava ao armazenamento de vinho (Guichard *et al.*, 2003) o que levou as companhias ligadas ao Vinho do Porto a construir caves em Gaia para o envelhecimento dos seus vinhos. Este entreposto tornou-se a ligação entre a navegação marítima e fluvial o que facilitava a ancoragem de barcos (rabelos), que transportavam o vinho ao longo do rio Douro, e a venda para mercados internacionais. Com efeito, Gaia apresenta excelentes condições naturais para a conservação do vinho. As caves de armazenamento são construídas em terreno inclinado, menos sensível às variações diurnas de temperatura e protegido dos ventos marítimos (Moreira e de Pinho, 2011).

A exportação de vinhos diretamente da Região Demarcada do Douro (RDD) está autorizada desde 1986. Esta medida permitiu a produção de vinhos novos e diferentes. No entanto, muitos dos melhores e mais prestigiados Vinhos do Porto continuam a envelhecer no antigo Entreposto de Gaia. Os Portos estão sujeitos a um extenso conjunto de legislações. De acordo com o Decreto-Lei n.º 173/2009 de 3 de agosto, o "Instituto dos Vinhos do Douro e do Porto " (IVDP), localizado na cidade do Porto, tem como missão promover o controlo de qualidade bem como a quantidade de Vinho do Porto produzida, regulando o processo de produção e a defesa e proteção das denominações de origem Douro e do Porto e da indicação geográfica da RDD. O painel de provadores pela do IVDP

é responsável pela certificação, aprovação dos vinhos e da aguardente, bem como a concessão do selo de garantia (Moreira e de Pinho, 2011).

1.2. Produção

1.2.1. Características geográficas

As uvas utilizadas no fabrico de Vinho do Porto são produzidas na Região Demarcada do Douro a nordeste de Portugal. Esta região ocupa cerca de 250 000 ha, dos quais mais de 43 708 ha são ocupados por vinhas (IVDP, 2019b). A região centra-se no vale do Rio Douro e estende-se da vila de Barqueiros a 65 km para o interior do Porto até Espanha junto a Freixo de Espada à Cinta, a 100 km para este. A região é limitada a Oeste pelas serra do Marão e de Montemuro que retêm o ar vindo do Atlântico (Queiroz, 2002). Esta foi a primeira região demarcada e de produção controlada do mundo (Pereira, 1996; Mayson, 2019) . A sua demarcação data de 10 de setembro de 1756 e em dezembro de 2001, 24 000 ha da RDD foram classificados como Património Mundial da UNESCO, listado como sendo uma paisagem cultural em contínua evolução (Moreira e de Pinho, 2011). Cabe ao IVDP a certificação de origem dos vinhos do Douro e Porto, controlo da vindima e do envelhecimento do vinho quer este ocorra na região ou em Vila Nova de Gaia.

A RDD encontra-se dividida em três sub-regiões: Baixo Corgo, Cima Corgo e o Douro Superior (Figura 1). Destas sub-regiões o Baixo Corgo é a menos extensa, mas com maior percentagem de área plantada com vinha, o Cima Corgo é a que tem maior área de vinha plantada, enquanto que a mais extensa, o Douro Superior, apresenta vastas áreas não cultivadas (Reader e Dominguez, 2003; IVDP, 2019b)

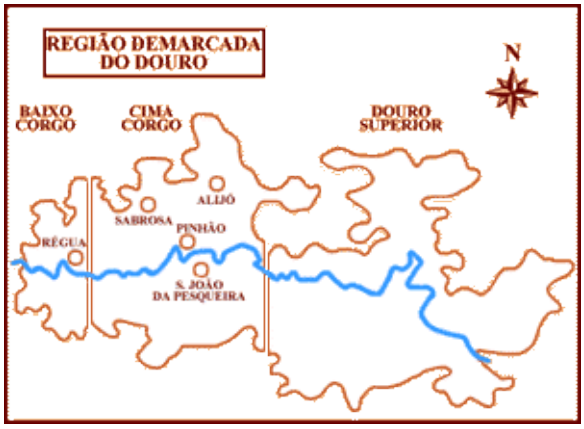


Figura 1: Região Demarcada do Douro dividida em sub-regiões. Fonte: IVDP, 2019b

O clima na região demarcada varia de um clima Atlântico nas zonas mais baixas do vale do Douro para um clima Mediterrâneo no Douro Superior (Hogg, 2013). Difere da região do Porto por ser menos húmida e com maior exposição solar e é dividida numa sucessão de terraços lineares quase verticais que caracteriza a paisagem da RDD (Moreira e de Pinho, 2011). No Inverno, a temperatura da região desce vários graus abaixo de zero, enquanto que em julho e agosto atingem-se temperaturas superiores a 40ºC (Guichard *et al.*, 2003). Este contraste ao longo do ano contribui para a produção de vinhos de qualidade, contudo, nos anos em que as condições climatéricas são mais adversas a

qualidade do produto final pode diminuir. No entanto, isto não afeta as sub-regiões da mesma forma e as adversidades numa zona podem não o ser na sub-região seguinte (Moreira e de Pinho, 2011). Além disto, a idade das vinhas é um fator importante uma vez que, vinhas velhas apresentam um sistema radicular mais desenvolvido e mais profundo que as permite resistir a condições mais adversas como um verão muito quente (Moreira e de Pinho, 2011).

No que se refere ao solo este é formado principalmente por xisto e existência de uma grande a superfície rochosa que confere excelentes propriedades para a viticultura como a infiltração de água, protege a erosão, permite a retenção de calor durante o dia e transmissão durante a noite (Andresen *et al.*, 2004; Moreira e de Pinho, 2011). Certas zonas são suplementadas com afloramentos de granito, principalmente no Douro Superior e em alguns solos aluviais férteis no Baixo Corgo (Moreira e de Pinho, 2011). Além disso, o solo da região do Douro é caracterizado por baixo conteúdo de matéria orgânica, pH ácido e baixos níveis de potássio e fósforo (Guichard *et al.*, 2003).

A sub-região do Baixo Corgo é a mais antiga da região, localiza-se mais a oeste da RDD e caracteriza-se por ter 32,2% da sua área coberta por vinha, representando cerca de 18% da área total da RDD (IVDP, 2019b). O Baixo Corgo apresenta um solo fértil e xistoso com uma grande percentagem de argila, clima moderado, de temperaturas anuais médias com picos no verão, humidade elevada e índices demográficos favoráveis (Moreira e Pinto, 2011).

A sub-região Cima Corgo localiza-se a montante da região anteriormente referida e apresenta encostas íngremes ao longo do rio Douro e as vinhas cobrem 22% desta sub-região o que corresponde a 38% da RDD (IVDP, 2019b). As maiores e mais famosas quintas situam-se no Cima Corgo e lá são produzidos vinhos dos mais distintos e de maior qualidade devido ao solo xistoso e ao clima mais hostil que geram *stress* nas vinhas diminuindo o rendimento, mas aumentando a qualidade (Moreira e Pinto, 2011).

A última sub-região, o Douro Superior, situa-se mais a este de RDD e engloba a maior porção da área da região (44%), mas é a sub-região com menor produção de vinho de toda a região, com cerca de 9,3% coberta por vinha (IVDP, 2019b). Esta sub-região é a zona mais seca com um escasso abastecimento de água e maiores flutuações de temperatura (Moreira e Pinto, 2011). A grande distância do Douro Superior à cidade do Porto e a Vila Nova de Gaia, as dificuldades de transporte e comunicação entre estas zonas e a escassez de água foram as principais razões para esta área não ter sido explorada durante vários anos. Recentemente, esta zona tem verificado uma expansão na sua exploração devido ao declive mais suave que caracteriza esta zona. As vinhas são mais facilmente mecanizadas, com custos de produção reduzidos e a elevada qualidade dos vinhos

produzidos mantém-se constante de ano para ano**.** Estas condições, combinadas com as técnicas de viticultura influenciam a qualidade dos vinhos produzidos.

De forma mais detalhada e a nível local, as parcelas de terra ocupadas com vinhas estão sujeitas a um sistema de classificação que permite a autorização para uma produção de Vinho do Porto distribuída com base na qualidade potencial. O sistema de classificação de parcelas ocorre através da atribuição de pontos com base nas variedades de uvas plantadas, declive das parcelas, tipo de solo, altitude, aspeto, produtividade, entre outros. A classificação das parcelas varia da letra A à F, nas quais as vinhas classificadas com A e B são as de maior qualidade sendo autorizadas a utilizar uma maior porção de uvas na produção de Vinho do Porto que as parcelas classificadas com as classificações mais baixas (E e F) (IVDP, 2019c). As vinhas com maior classificação situam-se a menores altitudes na zona de Cima Corgo e Douro Superior onde as uvas se adequam na produção de vinhos de elevada qualidade (*premium*) (Reader e Dominguez, 2003). A quantidade de mosto a beneficiar em cada ano depende da oferta e procura do mercado e a quantidade produzida é controlada pelo IVDP.

1.2.2. Viticultura da Região do Douro

As variedades de *Vitis vinifera* cultivadas na Região do Douro e usadas na produção de Vinho do Porto são consideradas nativas da região e só as variedades autorizadas podem ser utilizadas na produção, no entanto, pode ser concedida uma dispensa especial a uvas de vinhas velhas onde existe uma mistura de variedades na mesma parcela Portaria n.º 413/2001 de 18 de abril.

A maioria das vinhas são cultivadas em linhas horizontais, em terraços construídos à mão ou mecanicamente ou em terrenos sem terraços (Reader e Dominguez, 2003). A irrigação só é permitida se o *stress* hídrico puder causar danos a longo prazo nas vinhas, mas esta ação requer autorização prévia do IVDP (Hogg, 2013).

Das variedades autorizadas para cultivo, as seis variedades de uvas tintas autorizadas de maior importância são Touriga Nacional, Touriga Franca, Tinta Roriz, Tinta Barroca, Tinto Cão e Tinta Amarela e as variedades brancas incluem Malvasia Fina, Viosinho, Donzelinho Branco e Gouveio (Moreira e de Pinho, 2011; Taylor's, 2020).

A **Touriga Nacional** é a tradicional cultivar de *Vitis vinifera* na RDD e são uvas de grande valor e qualidade para a produção de Vinho do Porto. No entanto, representam apenas uma pequena percentagem das vinhas cultivadas, porque estas plantações foram sendo abandonadas ao longo do século XX (Moreira e de Pinho, 2011). Isto deve-se ao facto desta variedade apresentar um baixo rendimento, produção irregular e muito sensível

ao desavinho e bagoinha que originam uvas não desenvolvidas ou muito deformadas (Andresen *et al.*, 2004; Moreira e de Pinho, 2011). Estes problemas têm vindo a ser ultrapassados selecionando videiras resistentes. A Touriga Nacional tem bagos escuros, pequenos e ricos em taninos e é considerada uma das mais aromáticas da região (De Pinho *et al.*, 2007). Os vinhos produzidos apresentam uma coloração rubi com proximidades de violeta e um aroma complexo e intenso a frutos vermelhos, bagas, passas e essências florais que podem estar associadas ao elevado conteúdo de terpenóis desta casta (De Pinho *et al.*, 2007). Estas características devem-se aos diversos compostos presentes na Touriga Nacional. Na boca os vinhos são equilibrados, estruturados e ricos em taninos.

A **Touriga Franca** ou Touriga Francesa é a variedade mais amplamente cultivada e é reconhecida pela sua adaptabilidade a solos quentes e férteis. Esta variedade apresenta uma película grossa que dificulta o esmagamento. À primeira vista esta variedade não é muito apelativa ou elegante, mas é um componente importante na mistura de Vinho do Porto. Os vinhos produzidos de Touriga Franca possuem uma coloração intensa associada a um aroma complexo e frutado predominantemente frutos vermelhos, bagas e notas florais. Estes vinhos possuem um travo herbáceo combinado com uma estrutura encorpada e apresentando qualidades sensoriais muito boas (Sousa *et al.*, 2007; Moreira e de Pinho, 2011).

A **Tinta Roriz** é a segunda variedade mais cultivada e caracteriza-se por ser muito resistente ao clima quente e elevado rendimento duas a três vezes superior ao da Touriga Nacional. Esta variedade é sensível ao míldio, oídio e a doenças fúngicas e intolerante a solos com um elevado conteúdo de minerais. A sua disposição nas vinhas é de elevada importância para assegurar uma qualidade consistente que atinge o seu máximo quando as videiras carregam poucas uvas e não chove na altura da colheita (Guichard *et al.*, 2003; Sousa *et al.*, 2007; Moreira e de Pinho, 2011).

Outra variedade importante é a **Tinta Barroca**. Esta é uma variedade muito resistente ao frio e é cultivada maioritariamente em encostas a norte, resguardadas e a elevada altitude. A Tinta Barroca possui um elevado rendimento produzindo grandes cachos de uvas com elevado conteúdo de açúcar sendo normalmente usada para aumentar a qualidade de uvas amadurecidas a baixa altitude (Sousa *et al.*, 2007; Moreira e de Pinho, 2011). Esta variedade produz um vinho robusto, com um aroma floral que contrasta com vinhos com aromas frutados.

Tinto Cão é uma variedade cultivada no Douro desde o século XVI, no entanto, representa apenas uma pequena percentagem das cultivares tintas. O Tinto Cão cresce sem problemas, uma vez que, são poucas as doenças às quais estas vinhas são

suscetíveis e apesar do baixo rendimento estas vinhas são produtoras constantes. Os cachos são pequenos e soltos e com um elevado conteúdo de açúcar. Esta cultivar possui uma acidez natural que nas misturas de vinhos contribui para a longevidade e qualidade do vinho final destinado ao envelhecimento (Guichard *et al.*, 2003).

A última variedade referida é a **Tinta Amarela**, uma das mais cultivadas da região, sendo maioritariamente vinhas velhas. Não tem sido muito utilizada em novas plantações devido à sua suscetibilidade à *Botritys cinerea* em consequência da película fina dos bagos. Os vinhos desta variedade são bem estruturados com potencial de envelhecimento, apresentam cor intensa e possuem aromas agradáveis a frutos vermelhos e florais, sendo excelentes vinhos para os lotes (Sousa *et al.*, 2007; Moreira e de Pinho, 2011).

1.2.3. Colheita

A colheita é maioritariamente manual (Taylor's, 2020). As uvas são colhidas para caixas e são transportadas para adegas. As uvas são analisadas para determinação do grau de maturação através da análise de uma amostra, sendo determinados os sólidos solúveis, pH, acidez titulável e sabor. Os teores de açúcares são medidos no momento da receção na adega, tanto por motivos de gestão do processo como, nos casos em que as próprias uvas estão a ser transacionadas, de forma a ajudar a definir pagamentos (Moreira e de Pinho, 2011; Hogg, 2013). As uvas nesta fase apresentam um grau Baumé entre os 12º Bé e os 14º Bé (Moreira e de Pinho, 2011).

Na adega as uvas são transferidas para um desengaçador mecânico onde o engaço é maioritariamente removido (Moreira e de Pinho, 2011; Hogg, 2013). Em regiões quentes, o arrefecimento do mosto é frequentemente realizado pelo arrefecimento das tubagens que conduzem o mosto do desengaçador para os lagares de forma a diminuir a degradação oxidativa e o crescimento de microrganismos indesejáveis. Pelas mesmas razões, pode ser adicionado dióxido de enxofre (SO_2), como solução de metabissulfito de potássio ou como uma solução de SO_2 gasoso, em níveis entre 50 e 150 mg de SO_2 por kg de uvas e o pH pode ser ajustado pela adição de ácido tartárico (Reader e Dominguez, 2003). O pH pretendido nesta fase dependerá da natureza específica do Vinho do Porto a ser produzido.

1.2.4. Vinificação do Vinho do Porto

O Vinho do Porto é feito de uvas tintas ou brancas. Recentemente um novo estilo tem sido produzido, o vinho rosé, através de uvas tintas, doces e prensadas e após um breve período de contacto com as películas. O mosto resultante é fermentado como o vinho branco.

É na fermentação dos mostos de uvas tintas que se observa uma das grandes diferenças para uma vinificação padrão de vinho tinto. O tempo relativamente curto que decorre entre o esmagamento e a interrupção da fermentação por adição de aguardente é o único período durante o qual os compostos de cor e aromáticas podem ser extraídos da película da uva (Moreira e de Pinho, 2011; Hogg, 2013). Este período raramente é superior a 48 horas e, portanto, muito mais curto do que nas fermentações de vinhos tranquilos e o próprio meio nunca atinge a concentração de etanol de uma fermentação de vinho tranquilo (Bakker *et al.*, 1996). A fermentação do Vinho do Porto decorre até que o açúcar restante permita os níveis de doçura pretendidos no vinho final (Moreira e de Pinho, 2011).

A fermentação é normalmente espontânea por ação de leveduras existentes nas uvas (Moreira e de Pinho, 2011), contudo há vinhos cuja fermentação alcoólica ocorre pela ação de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* que provêm de mostos fermentados anteriores, não sendo necessária a sua adição para iniciar a fermentação (Hogg, 2013). As leveduras durante a transformação dos açúcares libertam dióxido de carbono que leva à formação da manta (camada de películas, grainhas e eventualmente engaço à superfície do vinho) e atingem-se temperaturas entre os 25ºC e os 30ºC (Moreira e de Pinho, 2011).

O meio clássico de produção é aquele realizado em lagares, estes têm aproximadamente 1 m de profundidade e, frequentemente, capacidade para mais de 6 000 kg de uvas. A maceração em lagares é assistida por pisa regular por operários sendo este o método preferido de fermentação de Vinhos do Porto de alta qualidade. No entanto, este procedimento tornou-se dispendioso o que o torna mais raro nos dias de hoje e é aplicado também como um atrativo turístico (Moreira e de Pinho, 2011; Hogg, 2013). São diversos os estudos que comparam os métodos atuais e modernos com a pisa tradicional e visam averiguar as principais diferenças e vantagens destes processos (Bakker *et al.*, 1996; Barbosa *et al.*, 2003). Contudo a vantagem dos lagares tradicionais para a elaboração de vinhos de alta qualidade levou as empresas a adotar um sistema mecânico que se assemelha à pisa humana e ainda a incorporação de um sistema de arrefecimento (Moreira e de Pinho, 2011; Hogg, 2013). Estes lagares mecânicos são adotados na região do Douro também, no processo de fabrico de vinhos tranquilos de alta qualidade.

Além disto, o Vinho do Porto pode ser fermentado em cubas de fermentação com sistema de arrefecimento, sendo definido pelo enólogo as diversas condições para a fermentação conforme o estilo de vinho pretendido (Moreira e de Pinho, 2011; Hogg, 2013). Estas condições incluem a temperatura de fermentação na qual se demonstrou haver uma maior extração de antocianinas e obtenção de vinhos mais escuros e de características sensoriais mais apreciadas a uma temperatura superior a 28ºC do que a 22ºC (Hogg, 2013).

Quando chega a altura de interromper a fermentação o vinho é separado da matéria sólida que é prensada para extrair o restante mosto (Moreira e de Pinho, 2011).

1.2.5. Fortificação

Para a fortificação é utilizada uma aguardente com 76-78% de volume de etanol que pode ser obtido em Portugal ou em qualquer lugar da Europa (Rogerson e De Freitas, 2002; Moreira e de Pinho, 2011). A aguardente autorizada é sujeita a parâmetros de qualidade muito rigorosos levados a cabo em laboratório e por um painel de provadores do IVDP que avaliam a turvação, cor, aroma, sabor, concentração de diversos compostos e minerais, conteúdo alcoólico, acidez total e densidade (Moreira e de Pinho, 2011) que devem estar dentro dos valores regulamentados Regulamento 84/2010, de 8 de fevereiro.

O tempo de adição da aguardente depende do tipo de vinho que se deseja produzir e da doçura final pretendida. Geralmente, o momento de adição ocorre quando aproximadamente metade do açúcar inicial foi consumido (Taylor's, 2020). Este processo para o metabolismo das leveduras devido ao elevado teor alcoólico da aguardente adicionada numa proporção de cerca de 115 l para 435 l de vinho (Moreira e de Pinho, 2011; IVDP, 2019a; Taylor's, 2020). A aguardente contém elevados níveis de álcoois superiores, ésteres e aldeído que têm um efeito direto no sabor e um efeito secundário na maturação do produto favorecendo a solubilidade de polifenóis e contribui para a precipitação de matéria insolúvel (Rogerson e De Freitas, 2002; Moreira e de Pinho, 2011).

O restante bagaço de uva é prensado e o vinho da prensagem pode ser parcialmente misturado no mosto de gota. A mistura real é normalmente realizada pela transferência simultânea de aguardente e mosto para um tanque. Posteriormente, se necessário são ajustados o pH e os níveis de etanol (Hogg, 2013).

Objetivamente, o processo de fortificação do Vinho do Porto através da aguardente é uma técnica preferencial para interromper a fermentação e para preservar os vinhos. No entanto, demonstraram ser uma fonte de voláteis, contribuindo para aromas complexos frutados, balsâmicos e apimentados (Rogerson e De Freitas, 2002).

1.2.6. Envelhecimento e lotes de Vinho do Porto

O Vinho do Porto, segundo a legislação, deve envelhecer no Douro ou em Vila Nova de Gaia, em madeira com capacidades de 600 l até 200 000 l (Reader e Dominguez, 2003; Moreira e de Pinho, 2011; Taylor's, 2020) que se mostraram ser um meio distinto para Vinho do Porto, influenciando o desenvolvimento da cor e de outros compostos fenólicos (Cutzach *et al.*, 2000; Ho *et al.*, 2001)**.** Cada vinho deve ser sujeito a aprovação pelo IVDP. Os melhores lotes de um único ano são usualmente destinados à produção de estilos de Vinho do Porto *vintage, late-bottled vintage (*LBV*)* ou colheita e os restantes destinam-se a lotes (Moreira e de Pinho, 2011). Após esta classificação, o vinho é envelhecido por um período que varia com o estilo e categoria que pode ocorrer em madeira se se pretender um envelhecimento oxidativo ou em garrafa para um envelhecimento em ambiente redutor. Este processo interfere no perfil volátil e polifenólico dos vinhos (Moreira e de Pinho, 2011).

Durante o envelhecimento a trasfega é um processo muito importante na maturação do Vinho do Porto e é realizada periodicamente em todos os vinhos antes de estes serem integrados num lote. O tamanho do recipiente de envelhecimento e o regime de arejamento durante a trasfega influenciam fortemente o estilo que se desenvolve, sendo os vinhos destinados aos Portos *ruby,* LBV e *vintage* envelhecidos em grandes balseiros, enquanto os vinhos *Tawny* envelhecem em pipas de madeira quer sejam categorizados *reserva* ou *colheita* e o vinhos LBV, *vintage* e *crusted* envelhecem posteriormente em garrafa (Moreira e de Pinho, 2011; Hogg, 2013). Em pipas os vinhos jovens com uma cor vermelha e aroma frutado evoluem para uma cor castanha-dourada e aromas a frutos secos. Em balseiros ou tonéis de grandes dimensões, os vinhos evoluem mais lentamente mantendo a sua estrutura e aromas frutados frescos (Guichard *et al.*, 2003)**.** Os vinhos que se destinam a envelhecer em garrafa são escolhidos pela sua estrutura e qualidade e após um período relativamente curto em madeira envelhecem em garrafas escuras em caves de temperatura, ventilação e humidade controladas (Moreira e de Pinho, 2011).

As práticas de lotação variam em toda a indústria, mas para os produtores que apresentam uma grande variedade de produtos e categorias, a prática geral é preparar e manter lotes de mistura, que servem como blocos de construção de lotes finais. Estes, por sua vez, são preparados a partir de outros lotes de reserva, que são efetivamente as "cores" mais básicas a partir das quais o enólogo provador constrói os lotes. As análises químicas e físicas de todos os lotes e dos vinhos que os compõem serão mantidas e ajudarão o lote a manter a consistência do começo ao fim. Isso é mais importante para elementos como a cor em produtos de grande volume. No entanto, importa sublinhar que

a grande parte da definição da composição dos lotes e dos lotes finais cabe à equipa de degustação do lote.

1.2.7. Acabamento e Estabilização do Vinho do Porto

A preparação dos Portos para engarrafamento difere pouco daquela aplicada aos vinhos de mesa onde, a grande quantidade, os vinhos mais jovens requerem uma estabilização cuidadosa para remover tartaratos, pigmentos e coloides instáveis, enquanto os estilos mais antigos e/ou premium requerem muito menos tratamento (Reader e Dominguez, 2003). Isso ocorre porque os estilos *tawny* mais antigos são naturalmente mais estáveis e o consumidor de vinhos do estilo *vintage* tem noção de que algum sedimento se forma com o tempo. Agentes e procedimentos de acabamento, centrifugação, filtração e os procedimentos de estabilização pelo frio não diferem substancialmente daqueles usados nos vinhos tranquilos. Todos os Vinhos do Porto são engarrafados na região do Douro ou em Vila Nova de Gaia e a maioria usa rolhas do tipo Bar Top ou rolhas de cortiça tradicional nos *vintage* ou em alguns LBV (Hogg, 2013).

1.3. Características do Vinho do Porto

O Vinho do Porto caracteriza-se por uma vasta diversidade de estilos de enorme riqueza e intensidade de aromas e sabores. O aspeto do vinho tinto está relacionado com o seu sabor e portanto a sua qualidade e os seus pigmentos provêm essencialmente das uvas a partir dos quais foram produzidos (Brouillard e Dangles, 1994). Segundo o Decreto-Lei n.º 166/86 de 26 de junho os vinhos atingem um teor alcoólico entre os 18 e os 22% a 20ºC com exceção dos vinhos brancos que têm um mínimo de 16,5%. Possuem uma grande diversidade de cores e doçuras que identificam os diferentes estilos de Vinho do Porto. As categorias de Vinho do Porto estão definidas legalmente e são controladas pelo Instituto de Vinho do Douro e do Porto (IVDP), garantindo o cumprimento das medidas e parâmetros de qualidade durante a produção (Hogg, 2013).

O Vinho do Porto possui diversas categorias e tipos de vinhos variando conforme a doçura, teor alcoólico e cor.

O nível de doçura do Vinho do Porto depende do momento em que é interrompida a fermentação. De acordo com o conteúdo de açúcar, o vinho pode ser classificado como muito doce, doce, meio seco, seco ou extra seco (Tabela 1) (IVDP, 2019d). Esta característica é definida durante a produção do vinho e encontra-se legislada no Regulamento n.º 242/2010 de 15 de março.

Tabela 1: Classificação do Vinho do Porto de acordo com a sua doçura (Regulamento n.º 242/2010 de 15 de março)

Doçura	Açúcares (g/l)
Extra seco	<40
Seco	40-65
Meio Seco	65-85
Doce	85-130
Muito doce ou Lágrima	>130

A gama de cores do Vinho do Porto vai desde o alourado claro ao retinto, podendo atingir todas as tonalidades intermédias como o tinto (Figura 2) (IVDP, 2019e). No que respeita aos vinhos brancos estes adquirem tonalidades como o branco-pálido, branco palha e branco dourado dependentes das tecnologias de produção como é o caso do envelhecimento em casco que se ocorrer durante muitos anos, devido à oxidação o vinho apresentará uma coloração alourada claro semelhante à do vinho tinto muito antigo.

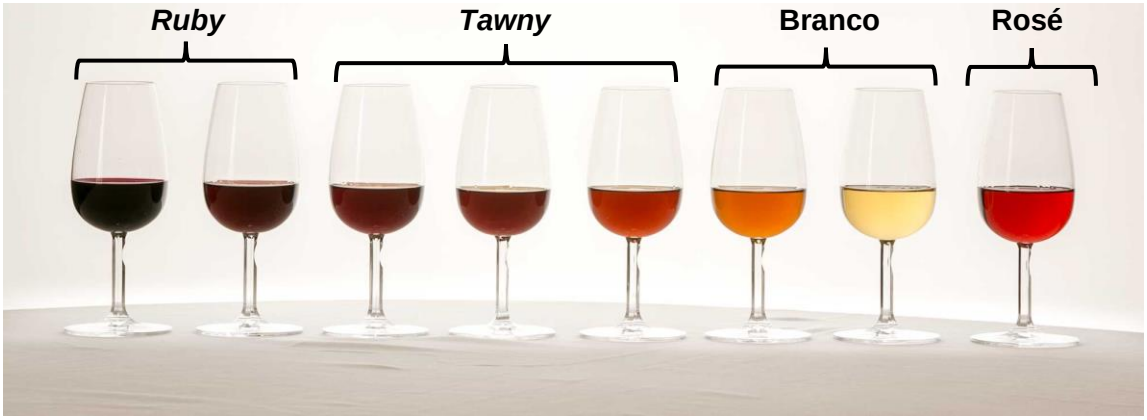


Figura 2: Diferentes estilos de Vinhos do Porto e as respetivas colorações. Fonte: IVDP, 2019e

O perfil aromático de um Porto jovem difere acentuadamente de um Porto *Tawny* envelhecido em madeira e de vinhos envelhecidos em garrafa. Os sabores típicos desenvolvidos durante o envelhecimento podem ser descritos por termos como madeirizado, queimado, frutos secos, noz e picante. O valor comercial de um Vinho do Porto está relacionado com as características aromáticas que apresenta. Estas são influenciadas pela exposição ao oxigénio, temperatura e pH.

Segundo os critérios regulamentados no Regulamento nº 242/2010 de 15 de março de 2010, os Vinhos do Porto na sua rotulagem devem conter uma das seguintes menções tradicionais: *vintage*, LBV, colheita, Indicação de Idade (10, 20, 30, 40 anos ou mais), *crusted*, reserva, *tawny*, *ruby*, branco, branco leve seco e rosé. Estas descrevem os vinhos

produzidos. Os diferentes estilos possuem propriedades únicas que os caracterizam e diferenciam dos restantes.

Num vinho ***Ruby*** o envelhecimento é realizado em condições que tornam estes vinhos encorpados, ricos em taninos, de aroma frutado e uma cor tinta intensa (Moreira e de Pinho, 2011; Hogg, 2013). Os vinhos *Ruby* envelhecem em balseiros entre 2 a 6 anos dependendo da categoria pretendida e visam manter o vigor de vinhos jovens. Neste estilo vemos classificações de *ruby* fino, reserva, LBV e *vintage* dos quais os dois últimos apresentam maior qualidade podendo ser guardados envelhecendo bem em garrafa.

Um vinho ***Tawny*** apresenta graus de maturação variáveis cujo envelhecimento ocorre em cascos ou tonéis. Os *tawny* resultam da lotação de vinhos de diferentes anos com períodos de envelhecimento distintos. Este estilo apresenta uma grande evolução da cor, podendo ter uma coloração tinto alourado, alourado ou alourado claro e aromas de frutos secos e madeira. Estas características acentuam-se com o envelhecimento normalmente entre 4 a 7 anos ou, quando categorizados com Indicação de Idade, de 10 a 40 anos ou mais e estão prontos a consumir quando engarrafados (Moreira e de Pinho, 2011; Hogg, 2013). Nos vinhos *tawny* são comercializados *tawny* finos, com Indicação de Idade, reserva e colheita. Neste estilo inserem-se as categorias de *Tawny, Tawny* Reserva, *Tawny* com Indicação de Idade (10, 20, 30 e 40 anos) e Colheita.

Um Vinho do Porto **branco** apresenta vários estilos com períodos de envelhecimento prolongados para vinhos com Indicação de Idade ou um estágio de 3 a 4 anos para vinhos classificados de lágrima, extrasseco ou branco fino. Apresentam diferentes doçuras condicionadas pelos métodos de elaboração. Este estilo mistura vinhos tradicionais e vinhos de aromas florais com um teor alcoólico mínimo de 16,5% para o caso de extra seco (Moreira e de Pinho, 2011; Hogg, 2013). Quando envelhecidos por vários anos adquirem uma coloração dourada semelhante a um *tawny* produzido a partir de vinhos tintos com vários anos, e apresenta um travo a nozes. Vinhos do Porto brancos destinados a serem bebidos jovens combinam diversos aromas a pêssego, melão, citrinos, camomila e cidreira. Em contraste, nos vinhos envelhecidos predominam aromas a frutos tropicais com toques de amêndoa e baunilha (Moreira e de Pinho, 2011).

O vinho **Rosé** apresenta uma coloração rosada resultam duma leve maceração de uvas tintas sem a promoção de fenómenos de oxidação durante a sua conservação (Moreira e de Pinho, 2011; Hogg, 2013). Ideais para consumo novos com um aroma rico com notas de cereja, framboesa e morango transmitindo uma sensação suave e agradável na boca (Moreira e de Pinho, 2011; Hogg, 2013). Estes vinhos são muito apreciados frescos, com gelos ou em *cocktails*.

Algumas menções acima referidas são atribuídas a categorias especiais do Vinho do Porto que respeitem as características físico-químicas e organoléticas regulamentadas para a denominação de origem e as regras no Regulamento n.º 242/2010 de 15 de março. Destas categorias consta o *vintage* cujos vinhos apresentam uma qualidade superior devido às suas características organoléticas excecionais, provenientes de uma só vindima, encorpados e coloração retinto intensa, aroma e paladar finos. Maturam em madeira por 2 a 3 anos antes de serem engarrafados podendo envelhecer de 10 a 50 anos ou mais (Moreira e de Pinho, 2011; Sogevinus, 2021). À medida que envelhece, conserva o rubi intenso da cor original, aromas exuberantes a frutos vermelhos e frutos silvestres e ainda o sabor a chocolate preto, tudo em equilíbrio com taninos fortes (Moreira e Pinto, 2011).

O LBV é uma versão especial de um Porto *ruby*. É envelhecido em madeira por mais tempo do que um Porto *vintage* - entre 4 e 6 anos (Moreira e de Pinho, 2011; Sogevinus, 2021). O ano da colheita é sempre indicado no rótulo e a maioria dos Portos LBV pode ser bebido assim que são comprados, mas alguns não filtrados antes do engarrafamento continuam a envelhecer bem em garrafa. Esta categoria de Vinho do Porto, provém de uma só vindima, apresenta uma cor tinta, é extremamente encorpado e rico na boca, possuindo aroma e paladar fino (Regulamento n.º 242/2010 de 15 de março; Moreira e de Pinho, 2011). Como outros vinhos com datas *vintage*, expressa o estilo e a personalidade particulares de um vinho produzido naquele ano.

Colheita ou Data de Colheita é um Vinho do Porto tinto ou branco com elevadas qualidades sensoriais e características organoléticas. Assim como o *vintage* e o LVB, a colheita é o produto de uma única colheita, mas envelhece em madeira no mínimo 7 anos. Durante a maturação em casco de carvalho, os aromas jovens, frutados e frescos mudam por oxidação para doar um bouquet em que dominam os aromas de frutas secas, torrefação, madeira e especiarias. O vinho também adquire uma sensação suave na boca (Moreira e de Pinho, 2011; Sogevinus, 2021). Os Portos Colheita podem possuir uma ampla gama de cores - do vermelho-dourado ao fulvo, dependendo da duração do envelhecimento. Duas datas aparecem no rótulo - a data da colheita e a data do engarrafamento.

Os Vinhos do Porto com indicação de idade (10, 20, 30 ou mais de 40 anos) são vinhos tinto ou branco de características organoléticas de elevada qualidade, obtidos por lotação de vinhos envelhecidos em madeira de diferentes anos. A idade indicada no rótulo corresponde à idade média aproximada dos vinhos utilizados no lote. Na boca, os vinhos são macios e bem equilibrados com um aroma persistente. A exposição gradual ao ar concentra e intensifica o caráter frutífero original dos vinhos, criando sabores complexos que lembram mel e especiarias com essências de pêssegos secos, avelãs e baunilha.

Os Portos *crusted* são vinhos de alta qualidade organolética, retintos e muito encorpados. Portos *crusted* são uma mistura de vinhos de várias colheitas, envelhecidos por um mínimo de 2 anos em madeira e depois em garrafa durante 3 anos antes de sair das caves. O Porto *crusted* é engarrafado sem colagem ou filtração e é estabelecido para amadurecer como um Porto *vintage*. Semelhante aos Portos *vintage*, eles desenvolvem uma "crosta" de sedimento na garrafa devido às suas características. O ano em que foi engarrafado deve ser indicado no rótulo. Os *crusted* têm um estilo muito mais parecido com um *vintage* do que a maioria dos Portos LBV (Moreira e de Pinho, 2011; Sogevinus, 2021).

O Porto Reserva é outra versão de qualidade com características organoléticas muito boas, apresentando um aroma e sabor provenientes de uma mistura de vinhos elaborados de uvas tintas ou brancas envelhecidas em madeira com diferentes graus de estágio. Se o vinho tinto ou branco envelhecer em madeira por mais de 6 anos, pode ser, respetivamente, denominado *tawny* ou Porto branco (Moreira e de Pinho, 2011; Sogevinus, 2021).

Embora a composição e as características sensoriais dos estilos *tawny*, *ruby* e *vintage* sejam bastante distintas, as alterações subjacentes provocadas pelos regimes de envelhecimento não são exclusivas de qualquer estilo. Os diversos componentes e aromas variam com o tempo e condições de envelhecimento destes estilos.

1.4. Aguardente

Aguardente é produzida em diferentes zonas de Portugal e da Europa. Esta provém de vinho ou borras de vinho que são armazenados em cubas e de bagaço de uva que é primeiramente colocado num silo. O vinho ou borras seguem das cubas para uma coluna de destilação enquanto o bagaço de uva no silo passa por uma banda onde são separadas as grainhas e é produzido água-pé, uma bebida alcoólica com baixo teor de álcool. A água-pé é então colocada na coluna de destilação (Longra, 2021).

Da destilação resultam como produtos finais a aguardente e ainda tartarato de cálcio, usado para produção de ácido tartárico. Depois de armazenados estes produtos são expedidos para adegas ou outros clientes (Longra, 2021).

O Vinho do Porto difere dos vinhos de mesa pela adição de aguardente (Bakker e Timberlake, 1986). A aguardente é adicionada ao Vinho do Porto quando cerca de metade dos açúcares do vinho foi metabolizado em álcool. A qualidade da aguardente é determinada pelas características sensoriais e analíticas e são estas características que condicionam a escolha da aguardente indicada para a produção de Vinho do Porto (Pissarra *et al.*, 2005). A sua qualidade é rigorosamente regulamentada pelo IVDP que desenvolve testes quantitativos e organoléticos para controlo da qualidade (Rogerson e De

Freitas, 2002). A fortificação surge como forma de melhorar a estabilidade dos vinhos e devido ao seu efeito na durabilidade deste produto (Tredoux e Ferreira, 2012).

Os compostos químicos responsáveis pelos aromas surgem da variedade da uva, da fermentação e maturação, e costumam ser categorizadas de acordo com o estágio de produção da qual são originárias. Compostos derivados das uvas são denominados compostos primários, derivados da fermentação são compostos secundários, os que se desenvolvem durante a maturação formam o "*bouquet*" terciário e, no caso de vinhos fortificados, formam-se compostos quaternários através da adição de aguardente que acrescenta aromas distintos e complexos dependendo dos compostos que constituem a aguardente e do momento da sua adição (Tredoux e Ferreira, 2012).

A aguardente cria um ambiente desfavorável à ação microbiana criando uma estabilidade nos vinhos e aumentando assim a sua durabilidade, favorecendo assim a qualidade e valor do produto com o envelhecimento. Além disto, a aguardente pode favorecer reações de oxidação que alteram as características sensoriais do vinho (Tredoux e Ferreira, 2012).

O aroma das aguardentes está relacionado com diferentes grupos de componentes como álcoois superiores, ésteres e aldeídos. Pissarra *et al.* (2005) verificaram que vinhos fortificados com aguardentes com maior conteúdo de aldeídos apresentam uma coloração e sabor mais intensos. Dos aldeídos que compõem a aguardente o acetaldeído é o que se destaca em diversos estudos como mais abundante e como precursor de diversas reações (Jurd e Somers, 1970; Somers, 1971; Rivas-Gonzalo *et al.*, 1995; Romero e Bakker, 2000; Pissarra *et al.*, 2005). Bakker e Timberlake (1986) concluíram que quanto maior a quantidade de aldeídos no Vinho do Porto, mais significativas são as reações induzidas pelo aldeído. No entanto, é possível um nível ótimo de aldeídos livres que originarão um aumento máximo da cor.

Este último depende não só da qualidade do vinho de origem, mas também no processo de destilação (Pissarra *et al.*, 2005). O acetaldeído é o composto carbónico mais importante formado durante a fermentação alcoólica e constitui cerca de 90% do conteúdo total de aldeídos (Romero e Bakker, 2000).

No vinho tinto este composto induz duas reações: o aumento da polimerização de taninos e a copolimerização entre antocianinas e taninos (Romero e Bakker, 2000; Pissarra *et al.*, 2005). Destas reações resulta um aumento inicial da intensidade da cor e a mudança de um vermelho intenso (brilhante) para um vermelho acastanhado, em simultâneo com a diminuição da concentração de antocianinas monoméricas e de compostos fenólicos, um aumento em compostos poliméricos da cor e a formação de estruturas mais estáveis que os compostos originais (Romero e Bakker, 2000).

A formação de pigmentos condensados entre antocianinas e 3-flavanois ocorre com ou sem pontes de acetil dependendo na viabilidade do acetaldeído (Romero e Bakker, 2000).

2. Revisão Bibliográfica

2.1. Composição fenólica dos vinhos

O vinho tinto possui uma composição complexa resultante da extração de uma grande variedade de compostos das películas, das grainhas e dos engaços que contribuem para as suas propriedades sensoriais e, por sua vez, para a qualidade do vinho (Timberlake e Bridle, 1976; Arnold *et al.*, 1980). Entre os vinhos tintos, o Vinho do Porto é dos que apresenta uma maior complexidade, devido à adição de aguardente vínica que aumenta o potencial do vinho para formar novos compostos (Pissarra *et al.*, 2005; Moreira e de Pinho, 2011).

Os compostos fenólicos podem ser classificados em flavonóides, com uma estrutura comum de C6-C3-C6, e em não-flavonóides (Waterhouse, 2002). Cada grupo possui diversas famílias de compostos com estrutura semelhante que conferem propriedades como coloração, aroma e sabor (Cheynier *et al.*, 2006; Moreira e de Pinho, 2011). Estes compostos localizam-se nas películas, grainhas e tecidos vasculares enquanto que os não-flavonóides encontram-se nos vacúolos da polpa (Somers e Verette, 1988). Das grainhas estes compostos são extraídos mais rapidamente em soluções com maiores concentrações de etanol (Cheynier *et al.*, 2006). Estes compostos passam por diversos processos e diferentes vias de síntese nas plantas até que são extraídos e incorporam os vinhos (Somers e Verette, 1988; Nel, 2018).

A composição fenólica dos vinhos depende da casta utilizada, da localização das vinhas, ambiente, práticas de cultivo e do processo de vinificação que determina a extração dos compostos para o mosto e as reações seguintes (Mateus *et al.*, 2002a; Cozzolino *et al.*, 2004). Os compostos envolvidos na coloração pertencem aos fenóis das plantas (Ribéreau-Gayon, 1974). Os compostos não-flavonóides consistem em ácido hidroxicinámico, ácido benzoico, taninos hidrolisáveis e estilbenos e nos flavonóides destacam-se as antocianinas, flavonóis e os flavanóis, importantes para a qualidade dos vinhos tintos (Cheynier *et al.*, 2006; Nel, 2018). Os compostos flavonóides exibem uma vasta gama de cores sendo possível encontrar flavonóides incolores, amarelos, vermelhos e azuis sob a forma de antocianinas (Cheynier *et al.*, 2006).

Além dos principais pigmentos vermelhos, as antocianinas, existem ainda diversos fenóis incolores que acompanham as antocianinas nas uvas como ácidos fenólicos,

flavanóis, flavonóis e flavanonóis (Brouillard e Dangles, 1994). Estes polifenóis contribuem para as propriedades sensoriais associadas à qualidade das frutas (Fulcrand *et al.*, 1996).

No amadurecimento das uvas ocorrem alterações na composição polifenólica e estas revelam-se preocupantes por afetarem a qualidade dos vinhos afetando principalmente proantocianidinas e antocianinas que contribuem para a astringência e amargor dos vinhos e são o pigmento responsável pela coloração, respetivamente (Mateus *et al.*, 2002a).

As propriedades químicas particulares dos pigmentos permitem muitas mudanças e estes não só lhe conferem a cor, mas também o caráter organolético. As alterações químicas nos pigmentos constituem o processo básico de envelhecimento dos vinhos tintos (Ribéreau-Gayon, 1974). As mudanças mais rápidas na composição da cor do vinho ocorrem durante o primeiro ano, quando o vinho é normalmente armazenado em grandes volumes (Somers, 1971). A evolução da cor durante a vinificação e envelhecimento de vinhos tintos resulta de alterações progressivas dos composto fenólicos extraídos das uvas, sendo que o contacto com madeira nova durante a maturação resulta na extração de mais compostos fenólicos da madeira para os vinhos (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1983; Mateus *et al.*, 2002b).

A formação de novos pigmentos resulta da interação entre antocianinas e outros compostos fenólicos, especialmente 3-flavanóis como catequinas e proantocianidinas, e além destes podem envolver reações com compostos não fenólicos como o acetaldeído ou o ácido pirúvico (Mateus *et al.*, 2002b). O aumento inicial da coloração é devido à formação de aldeídos contendo pigmentos oligoméricos que apresentam uma menor coloração em meio ácido, mas são diversos os fatores e reações que condicionam a quantidade de antocianinas e outros pigmentos nos vinho (Bakker e Timberlake, 1986).

Existem diversos métodos para obter melhor coloração e mais taninos nos vinhos como imersão a frio ou maceração a frio, que fazem com que mais cor seja libertada das peliculas das uvas, e maceração pós-fermentação, que provoca a libertação de mais taninos. A termovinificação e maceração carbónica são usadas como forma de extração de taninos e antocianinas das películas (Nel, 2018), não sendo no entanto usado em vinificação de Vinho do Porto.

2.2. Compostos fenólicos flavonóides

2.2.1. Flavonóis

Os flavonóis podem ser encontrados numa vasta gama de vegetais no entanto, nas uvas estes flavonóides representam uma pequena fração destes compostos (Cheynier *et al.*, 2006). Estes compostos desempenham um papel importante na copigmentação com as antocianinas (Andrade *et al.*, 2001; Boulton, 2001) e foram identificados diversos flavonóis na película de diversas variedade de *Vitis vinifera* (Cheynier e Rigaud, 1986; Andrade *et al.*, 2001). Existem três formas simples de flavonóis a quercetina, quempferol e miricetina que se combinam em diversas formas glicosídicas (Waterhouse, 2002). Estudos sugerem que a presença destes compostos nos bagos pode ser um indicador da exposição solar e possivelmente da qualidade (Price *et al.*, 1995; Ritchey e Waterhouse, 1999)

2.2.2. Flavanóis (taninos condensados ou 3-flavanóis)

Os taninos são um grupo heterogéneo de metabolitos polifenóis secundários presentes em diversas plantas e a sua natureza fenólica costuma causar confusão entre os taninos e os outros compostos fenólicos das plantas (Ribéreau-Gayon, 1974; Herderich e Smith, 2005). Os taninos são compostos fenólicos identificados pelas suas funções assim como a capacidade de formar ligações e precipitar proteínas e outros polímeros como polissacarídeos e são responsáveis pela astringência dos vinhos (Ribéreau-Gayon, 1974; Somers e Verette, 1988; Herderich e Smith, 2005; Cheynier *et al.*, 2006; Nel, 2018). Os taninos são formados pela polimerização de compostos fenólicos elementares (flavanóis) formando taninos hidrolisáveis e taninos condensados ou proantocianidinas.

Para a identificação de taninos nas plantas é necessário conhecer não só a sua quantidade, mas também a sua estrutura e em particular o seu peso molecular (Ribéreau-Gayon, 1974). Durante a preservação e envelhecimento, as alterações na condensação afetam a coloração dos taninos e as suas propriedades organoléticas (Ribéreau-Gayon, 1974).

Os taninos são cadeias de monómeros de comprimento variado que à medida que vão aumentando influenciam a astringência a uma certa concentração e podem formar pigmentos vermelhos em ácidos concentrados sob aquecimento oxidativo (Herderich e Smith, 2005; Cheynier *et al.*, 2006). Os taninos das uvas são incolores e sintetizados durante a formação dos bagos, mas após esmagamento começam a reagir com antocianinas formando polímeros pigmentados. Estes são mais resistentes à descoloração por SO_2 e contribuem para cerca de 90% da coloração durante os primeiros 2 anos de armazenamento (Herderich e Smith, 2005)

Os taninos podem ser divididos em duas classes de macromoléculas: taninos condensados e taninos hidrolisáveis (referidos posteriormente) (Herderich e Smith, 2005)

Taninos condensados ou proantocianidinas são considerados os taninos enologicamente relevantes provenientes das uvas e são responsáveis pela sua coloração vermelha e dos vinhos e pelo acastanhamento dos vinhos brancos (Herderich e Smith, 2005; Cheynier *et al.*, 2006). Nos vinhos encontram-se estes compostos como macromoléculas polimerizadas de subunidades de 3-flavanóis (como catequinas) e de 3,4-flavandiol (leucoantocianidinas), mas a sua composição depende se os taninos são provenientes da película, da grainha ou dos engaços divergindo no seu tamanho molecular e composição da subunidade de origem (Ribéreau-Gayon, 1974; Porter, 1988; Herderich e Smith, 2005; Cheynier *et al.*, 2006; Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006). A quantidade de taninos condensados é afetada pelas técnicas de extração destes compostos das grainhas e pelo tempo de maceração (Waterhouse, 2002). Durante um longo período de envelhecimento podem ocorrer reações, como oxidação, que fazem estes polímeros aumentar o seu tamanho molecular até que deixam de ser solúveis no vinho e acabam por precipitar formando o depósito que muitas vezes ocorre em vinhos envelhecidos. Com isto, vemos que ao longo dos anos a quantidade de fenóis do vinho diminui.

2.2.3. Antocianinas

As antocianinas são pigmentos vermelhos e azuis distribuídos nas plantas que se acumulam nos vacúolos das células epidérmicas da pelicula das uvas sendo diversas as antocianinas que surgem durante o período de maturação, das quais as principais estruturas são a malvidina, a delfinidina, a petunidina, a peonidina e a cianidina pela sua ordem de abundância (Ribéreau-Gayon, 1974; Bakker e Timberlake, 1985; Brouillard e Dangles, 1994; Mateus *et al.*, 2002a; Cheynier *et al.*, 2006; Nel, 2018).

Ao longo dos anos são diversos os estudos realizados de forma a identificar e compreender os compostos formados durante as reações com as antocianinas (Jurd, 1969; Timberlake e Bridle, 1976; Liao *et al.*, 1992; Brouillard e Dangles, 1994; Fulcrand *et al.*, 1996; Asenstorfer *et al.*, 2001; Mateus e de Freitas, 2001; Atanasova *et al.*, 2002; Mateus *et al.*, 2002b; Morata *et al.*, 2003a; Morata *et al.*, 2003b; Mateus *et al.*, 2006). Muitos dos compostos identificados são derivados da malvidina cuja estrutura possui um quarto anel resultante da ciclização entre o carbono do grupo hidroxilo e o carbono 5 do flavílio. Outros pigmentos derivam de forma semelhante e foi observado serem mais resistentes à descoloração pelo bissulfito que as antocianinas originais (Bakker e Timberlake, 1997; Mateus *et al.*, 2002b; Nel, 2018). As antocianinas surgem na forma de catiões flavílio

vermelhos que se altera com o comprimento de onda ou pela substituição do anel B do composto (Cheynier *et al.*, 2006).

As antocianinas são especificas de variedades tintas e localizam-se na película das uvas exceto em castas tintureiras que possuem coloração também na polpa (Cheynier *et al.*, 2006). A acumulação de antocianinas ocorre em três fases iniciando com um aumento lento seguido de uma acumulação acelerada estabilizando na fase antes da perda de características pós-maturação. Um longo período de maturação leva à diminuição do nível de antocianinas que leva ao encolhimento dos bagos (Mateus *et al.*, 2002a).

Bakker e Timberlake (1985) analisaram a distribuição de antocianinas nas películas das uvas de 16 cultivares nas quais foram encontradas 6 massas moleculares variantes das antocianinas principais.

A mudança na coloração dos vinhos durante a maturação está associada a reações de polimerização das antocianinas e formação de novos pigmentos mais estáveis resultantes das interações entre antocianinas e outros compostos como carboidratos, proteínas, metais e flavanóis (Fulcrand *et al.*, 1996; Mateus e de Freitas, 2001; Mateus *et al.*, 2006). A prática normal é permitir que os Vinhos do Porto jovens repousem sem serem perturbados por dois a três meses e durante este período, a coloração aumenta ao máximo e acredita-se que o efeito seja devido à formação de polímeros de antocianinas, que se ligam a outros compostos fenólicos por meio de um aldeído (principalmente acetaldeído) (Bakker e Timberlake, 1986; Reader e Dominguez, 2003). Estas mudanças nas antocianinas iniciais levam à alteração da cor sendo atingida uma coloração mais estável que passa de um vermelho violeta para tons mais alaranjados (Mateus *et al.*, 2002b; Mateus *et al.*, 2006). Uma das famílias de pigmentos derivados de antocianinas são as piranoantocianinas que contribuem para a coloração alaranjada e como esta família muitos outros pigmentos são alvo de estudo, porque surgem de reações entre piruvatos de antocianinas e vinilflavanóis (Mateus *et al.*, 2006).

A concentração de antocianinas começa a diminuir após alguns dias de contacto com as peliculas quando o rácio de conversão de antocianinas noutras moléculas excede o valor inicial de antocianinas (Cheynier *et al.*, 2006). Produtos resultantes de antocianinas durante o envelhecimento dos vinhos têm vindo a ser alvos de estudos e são classificados de pigmentos poliméricos resultantes das reações entre antocianinas e taninos. Diversos polímeros resultam diretamente destas reações ou de reações envolvendo aldeídos como o acetaldeído, mas são diversos os compostos e as reações que ocorrem nos vinhos (Cheynier *et al.*, 2006).

As antocianinas possuem diversas características químicas que influenciam a sua estrutura e consequentemente a coloração além de serem afetadas por fatores ambientais

(Brouillard e Dangles, 1994; Fulcrand *et al.*, 1996). Com o aumento do pH a absorção de ultravioleta pelos compostos aromáticos não é afetada, mas a absorção pelo heterociclo central sofre diversas alterações (Ribéreau-Gayon, 1974; Mateus e de Freitas, 2001). A um pH ácido aproximadamente 50% das antocianinas são descoloradas (Somers, 1971; Ribéreau-Gayon, 1974). A intensidade da cor e estabilidade do vinho dependem da concentração de antocianinas, mas também da copigmentação intra e intermolecular e da associação de antocianinas (Mateus *et al.*, 2002a). A copigmentação depende do pH, concentração, temperatura e estrutura das antocianinas (Mateus *et al.*, 2002a).

As antocianinas reagem com iões bissulfito formando diversos compostos e diminuindo a coloração dos vinhos (Ribéreau-Gayon, 1974). Além desta, ocorrem diversas reações entre antocianinas e outros compostos resultando na formação de pigmentos mais estáveis que estabelecem a cor do vinho numa tonalidade vermelho-tijolo (Mateus e de Freitas, 2001). Um dos principais compostos envolvido na formação de pigmentos é o ácido pirúvico que em vinhos fortificados compete com o acetaldeído pelas reações com as antocianinas sendo estas ainda alvo de estudo (Mateus e de Freitas, 2001).

Mateus *et al.* (2002a) verificaram diferenças significativas na composição de antocianinas em Touriga Franca e Touriga Nacional assim como pequenas diferenças entre anos de colheita distintos e altitudes de cultivo diferentes. Observaram ainda que as condições climáticas nas vinhas de maior altitude aparentam ser mais vantajosas, resultando numa maior acumulação de antocianinas na película da uva, especialmente para a variedade Touriga Nacional. Este resultado também foi observado nos Vinhos do Porto resultantes, que apresentaram níveis mais elevados de antocianinas quando feitos a partir de uvas cultivadas em vinhas mais altas.

2.3. Compostos fenólicos não-flavonóides

Compostos não-flavonóides são sintetizados nas películas das uvas em resposta a stresses ou a infeções microbianas causadas por patogénicos (Belajova, 2012).

Os não-flavonóides incluem compostos de ácido hidroxicinámico, ácido benzoico, taninos hidrolisáveis e estilbenos (Waterhouse, 2002; Garrido e Borges, 2013).

O ácido hidroxicinámico encontra-se em diversos frutos, mas são os principais fenóis presentes no sumo das uvas sendo predominantes nos vinhos brancos apresentando níveis inferiores nos vinhos tintos. Estes compostos sofrem oxidação rapidamente e aparecem em diferentes formas mais complexas como esteres sendo posteriormente detetados nos vinhos na forma mais simples por ação de reações de hidrolisação (Waterhouse, 2002).

Os ácidos benzoicos são os compostos em menor quantidade nos vinhos jovens surgindo após alguns meses como ácido gálico, resultante de reações de hidrolisação de outros compostos. Este composto é estável ao longo do envelhecimento dos vinhos sendo facilmente detetável em vinhos envelhecidos, principalmente vinhos tintos.

Taninos hidrolisáveis são formados por uma molécula glicosídica à qual se ligam diferentes porções fenólicas como ácido gálico e lactona. Estes não são os taninos naturais das uvas, mas são os principais taninos comerciais cuja adição aos vinhos é permitida sendo legislada. Os taninos hidrolisáveis dos vinhos provêm da madeira, mas podem ser encontrados naturalmente em diversos frutos.

Galotaninos hidrolisáveis dos vinhos foram extraídos da madeira ou adicionados aos vinhos como oenotaninos durante a vinificação normalmente de forma a remover proteínas indesejáveis (Ribéreau-Gayon, 1974; Waterhouse, 2002; Herderich e Smith, 2005). Estes compostos atingem valores muito superiores em vinhos tintos, no entanto o seu impacto sensorial ainda é alvo de controvérsia (Waterhouse, 2002).

O último composto não-flavonóide são os estilbenos. Estes apresentam menores quantidades e são produzidos pelas videiras em resposta a infeções por *Botrytis* ou outros ataques fúngicos. As diversas formas de estilbenos podem ser encontradas nos vinhos, no entanto nas uvas existem formas predominantes. Na totalidade estes compostos podem ser encontrados em maior quantidade nos vinhos tintos (Waterhouse, 2002)

3. Descrição e objetivos do trabalho

Este trabalho surgiu em conjunto com a empresa Sogevinus Fine Wines SA e incide no estudo da evolução de alguns compostos polifenólicos que contribuem para as características sensoriais como a cor, aroma e sabor de Vinhos do Porto fortificados com diferentes aguardentes durante a sua produção.

Através de métodos normalmente adotados por laboratórios de análise e outros referenciados e aplicados noutros estudos semelhantes (Pissarra *et al.*, 2005; Cruz, 2018) que serão explicados posteriormente, foram realizadas as análises dos vinhos fortificados para este estudo. Neste trabalho pretende-se avaliar os efeitos de três aguardentes diferentes nas características sensoriais do Vinho do Porto produzido na vindima de 2020. Isto é, o objetivo deste trabalho é estudar de que forma diferentes aguardentes, analisados pelo IVDP e normalmente utilizadas para fortificação pela Sogevinus, contribuem na evolução aromática e de sabor dos vinhos e para perceber como estas aguardentes interagem com os polifenóis, antocianinas e taninos, dos mostos formando novos pigmentos. Avaliando a estabilidade e intensidade da cor dos três Vinhos do Porto podemos identificar qual a melhor aguardente para o vinho que desejamos produzir.

Posto isto, foram analisados vinhos produzidos a partir do mesmo mosto que foi separado para produzir três vinhos fortificados cada um com uma aguardente diferente.

O trabalho laboratorial foi ajustado às condições e possibilidades do laboratório da empresa sendo realizadas análises mensais para determinar a coloração e a composição fenólica e antociânica dos vinhos.

De forma a complementar o estudo analítico destes vinhos foi realizada uma análise sensorial pelo enólogo da empresa responsável pelo departamento de enologia.

4. Material e Métodos

4.1. Uvas utilizadas e processo de vinificação

As uvas utilizadas para produção dos vinhos analisados foram colhidas em 2020 numa vindima manual e transportadas em contentores de 700 kg até à adega. Da totalidade de uvas recebidas foram desengaçadas e esmagadas 10 780 kg para um lagar de inox com capacidade de 12 toneladas e pisa mecânica. Este lagar foi cheio a 28 de setembro com diversas castas, sendo que do peso total 10% eram touriga nacional, 40% touriga franca, 20% tinta roriz e 30% de tinta barroca sendo 20% das uvas provenientes da Sub-região Baixo Corgo e as restantes do Cima Corgo.

Inicialmente as uvas apresentavam um grau Baumé de 12,5, densidade inicial de 1 091 g/l, teor de álcool de 12,5%, acidez total de 4,61 g (ác. tartárico)/l, pH de 3,57, sulfuroso livre de 11,5 mg/l e sulfuroso total de 24,96 mg/l. A fermentação decorreu durante 4 dias sendo realizados trabalhos de 4h com uma pausa de 2h correspondendo à pisa das uvas. Posteriormente foram realizados trabalhos de 1h30 e pausa de 2h até serem atingidos valores de grau Baumé próximos do desejado para o produto final em que os trabalhos realizados são de apenas 30min com pausas de 1h30. Neste processo não foram realizadas correções dos valores de sulfuroso. A 3 de outubro o vinho foi desencubado com uma densidade de 1 050 g/l, teor de álcool de 10,8% e grau Baumé de 10,7. De forma a interromper a fermentação, o vinho foi dividido para três cubas, e foram adicionadas as aguardentes uma a cada cuba não sendo adicionado nenhum antioxidante. O vinho permaneceu nas cubas por 2 meses sendo posteriormente engarrafado em garrafas escuras, todas iguais, e armazenado em Gaia onde é analisado (Figura 3).

As condições de armazenamento não foram controladas e desta forma as amostras estavam expostas à luz e a mudanças de temperatura. Cada vinho e a respetiva aguardente utilizada, de forma a não revelar os produtores de aguardente, foram classificados como 1, 2 e 3.

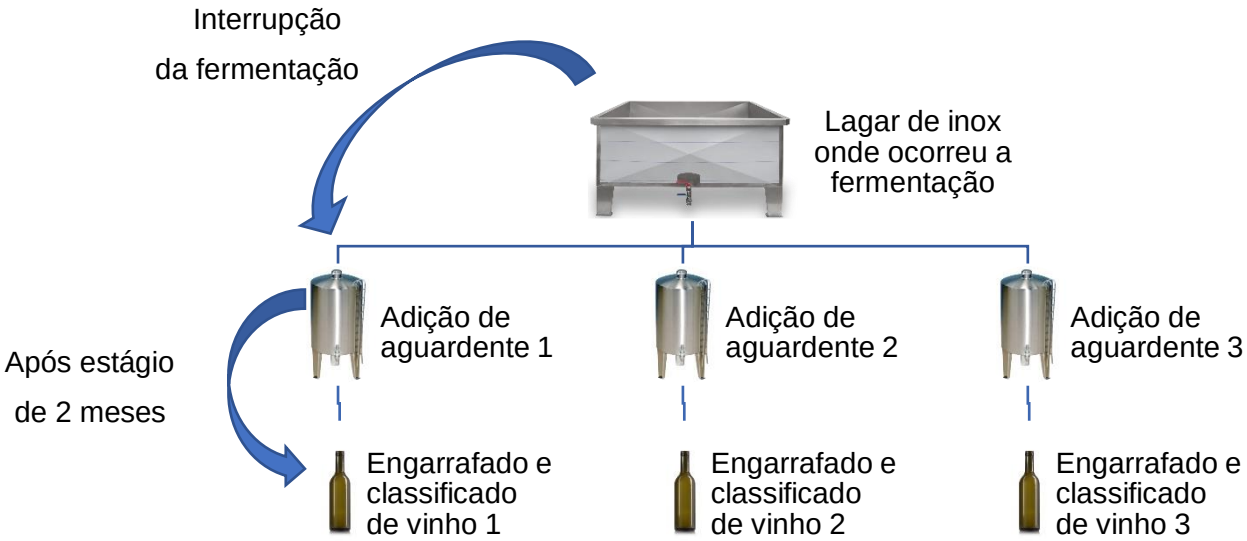


Figura 3: Esquema ilustrativo do processo decorrido desde a fermentação até ao engarrafamento dos vinhos da amostra.

4.2. Análises Físico-Químicas

No trabalho laboratorial realizaram-se análises físico-químicas aos vinhos generosos com o objetivo de avaliar a evolução destes vinhos ao longo do tempo de modo a estudar se as diferentes aguardentes influenciam de forma diferenciada o desenvolvimento destes vinhos. Para isto foram utilizados métodos recomendados pelo OIV e outros métodos aplicados pelos laboratórios de análise. Alguns destes métodos utilizados envolveram uma pesquisa aprofundada uma vez que não apresentavam uma metodologia clara.

As amostras foram analisadas mensalmente, sendo aberta uma garrafa em cada mês de análise. Este período foi definido para que se possa registar uma maior evolução ao longo do tempo tendo sido analisadas entre dezembro e agosto.

4.2.1. Análises gerais

Inicialmente foram realizadas análises gerais aos vinhos em triplicado, através do *WineScan^{TM} SO_2 da Foss*, obtendo-se os parâmetros da composição dos vinhos apresentados no anexo I (Foss, 2021). Para este estudo serão destacados e analisados os valores de grau Baumé, pH, acidez volátil, título alcoométrico volúmico total (TAV), açúcares totais (Glucose/Frutose), ácido málico, ácido tartárico, polifenóis totais pelo índice de Folin C. e o metanol. Estes valores serão utilizados para caracterizar os vinhos inicialmente e o seu estado nas análises finais.

Além destes, em cada vinho foram analisados os valores totais de sulfuroso apenas numa leitura usando um titulador *TitraLab AT1000 Series*, sendo obtidos os valores de sulfuroso total.

4.2.2. Determinação da Intensidade e Tonalidade da cor

Nesta etapa foram utilizados dois métodos que se complementam para determinação da intensidade e tonalidade da cor, assim como a composição da cor e a percentagem de vermelho devido ao catião flavílio através do índice de Glories.

O primeiro método utilizado foi o método OIV-MA-AS2-07B (OIV, 2021), que tem por base o método de Sudraud, é um método do tipo IV que consiste na leitura direta das absorvâncias nos comprimentos de onde de 420, 520 e 620 nm com uma célula de 10 mm sendo o zero feito com água desionizada. Segundo o método de Glories, devido ao estado coloidal da matéria corante não há proporcionalidade direta entre absorção e diluição e como tal deve ser usada uma célula ótica de 1 mm. Nestas medições foi utilizado um espetrofotómetro *Cecil CE 1021 1000 Series*. Os valores das absorvâncias foram ambos lidos num percurso ótico de 1 mm evitando no método de Sudraud o acerto realizado nos cálculos. A partir destas absorvâncias é possível realizar os seguintes cálculos:

A **tonalidade da cor (T)**, pelo método do OIV, de Glories e de Sudraud resulta do quociente entre duas absorvâncias:

Equação 1: $T\ (u.a) = (A_{420}/A_{520})$

Pelo método do OIV e de Glories é possível determinar a **intensidade da cor (I)**:

Equação 2: $I\ (u.a) = A_{420} + A_{520} + A_{620}$

Com o método de Glories determina-se a percentagem de amarelo (%AM), percentagem de vermelho (%VER), percentagem de azul (%AZ) e o índice de Glories (%dA):

Equação 3: $(\%AM) = \frac{A420}{I} * 100$

Equação 4: $(\%VER) = \frac{A520}{I} * 100$

Equação 5: $(\%AZ) = \frac{A620}{I} * 100$

Equação 6: $(\%dA) = \frac{A520 - \frac{A420+A620}{2}}{I} * 100$

A cor pode também ser descrita espacialmente através das coordenadas CIELAB de acordo com a *Commission Internationale de l'Éclairage* (CIE) em 1976. Estas coordenadas aproximam-se da perceção humana da cor que é definida tridimensionalmente pelas coordenadas L*, a* e b* que traduzem em luminosidade (0-100), componente vermelho (a*+)/verde (a*-) e componente azul (b*-)/amarelo (b*+) respetivamente (Figura 4). O IVDP através destes parâmetros e da legislação definiu limites para estas coordenadas sendo assim possível definir a cor dos vinhos analisados (Tabela 2).

Tabela 2: Intervalo de valores de L*, a* e b* estabelecidos para definir a cor de um vinho (Decreto-Lei n.º 166/86 de 26 de junho)

Cor	L*	a*	b*
Retinto	27,57 a 52,37	40,52 a 55,77	10,13 a 22,84
Tinto Alourado	65,00 a 88,17	11,08 a 30,27	8,94 a 21,79
Alourado	81,85 a 93,65	0,13 a 14,18	12,17 a 34,25
Branco Dourado	96,11 a 99,36	-0,23 a 1,65	2,65 a 10,24

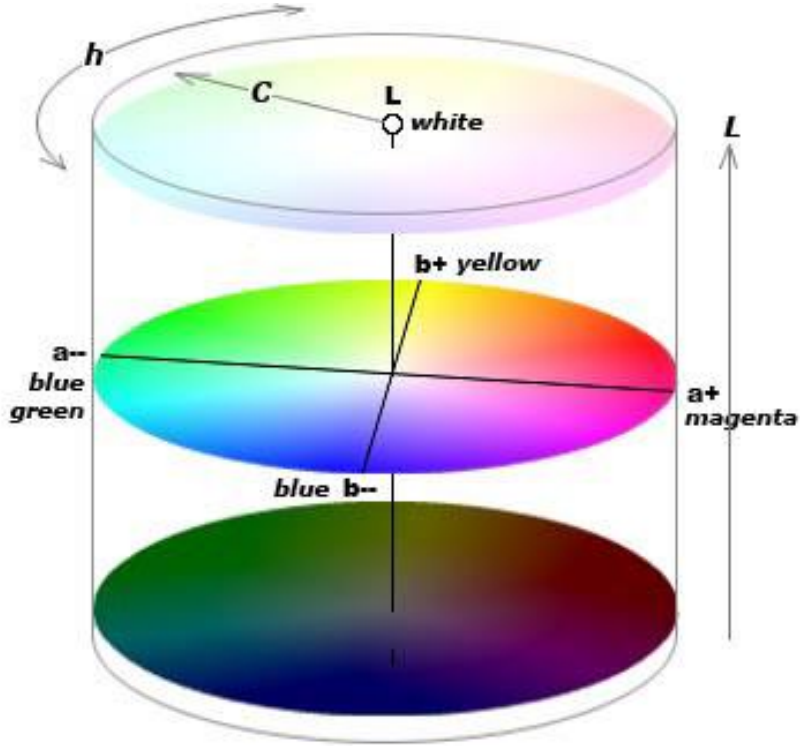


Figura 4: Esquema ilustrativo do sistema de coordenadas CIELAB para determinação tridimensional da cor.
Fonte: Casassa e Sari (2006)

Para determinação destes parâmetros são lidas as absorvâncias a 450, 520, 570 e 630 nm numa célula de 2 mm, para que através do programa *MSCV® (Método Simplificado para a Cor do Vinho)* de forma a calcular os valores das coordenadas referidos. O zero é lido com água desionizada.

4.2.3. Determinação das antocianinas totais

Para a determinação de antocianinas totais foram utilizados dois métodos que serão comparados posteriormente. Estes procedimentos realizados têm por base os métodos descritos por Ribéreau-Gayon *et al.* (2006) que se baseia nas propriedades das antocianinas variarem a coloração com a diferença de pH e do branqueamento por ação do dióxido de enxofre (SO_2). As absorvâncias foram lidas num espetrofotómetro *Cecil CE 1021 1000 Series.* O teor de antocianinas pode ser expresso sob a forma de índice – unidades de absorvância – ou em mg/dm^3 de malvidina-3-glucósido através da curva de calibração.

4.2.3.1. Método de descoloração pelo SO_2

Para cada vinho (A, B e C) foi preparado um matraz com 10 ml de vinho, 10 ml de etanol 0,1% HCl e 200 ml de HCl 2% fazendo assim a solução base. Seguidamente, preparam-se 10 tubos de Falcon para cada vinho dos quais 5 tubos (T1) contêm 4 ml de H_2O e 10 ml

da solução base e os restantes (T2) com 4 ml de bissulfito de sódio e 10 ml da solução base.

Após 20 minutos no escuro são lidas as absorvâncias a 520 nm com uma célula de 10 mm. Desta forma são lidas 5 réplicas de cada solução por cada vinho. As antocianinas totais são dadas pela seguinte equação:

Equação 7: C(mg/l) = (T1 - T2) * 875

4.2.3.2. Método de diferença de pH

Este método consiste na preparação de 10 tubos de Falcon para cada vinho dos quais cinco (T1) contêm 1 ml de vinho, 1 ml de etanol 0,1% HCl e 10 ml de solução tampão de pH 3,5. Nos restantes cinco tubos (T2) mistura-se 1 ml de vinhos, 1 ml de etanol 0,1% HCl e 10 ml de HCl 2%. A cada tubo são lidas as absorvâncias a 520 nm com uma célula de 10 mm, sendo o zero feito com água desionizada.

O valor das antocianinas totais é dado pela equação:

Equação 8: C(mg/l) = (T1 - T2) * 388

4.2.4. Índice de Ionização

Este índice define a percentagem de antocianinas livres e coradas. Este método encontra-se descrito em Ribéreau-Gayon *et al.* (2006) e foi adaptado por Glories (1978) tendo por base os estudos desenvolvidos por Somers e Evans (1974).

O valor do índice de ionização (*I*) resulta do rácio entre o vinho descolorado com um excesso de SO_2 a um pH normal (procedimento 1) e a pH 1 (procedimento 2).

4.2.4.1. Procedimento 1:

Neste procedimento foram preparados 10 tubos de Falcon para cada vinho (1, 2 e 3) dos quais cinco (d1) são preparados com 10 ml de vinho e 2 ml de água destilada sendo as absorvâncias lidas a 520 nm com uma célula de 1 mm usando um espetrofotómetro *Cecil CE 1021 1000 Series*. Os restantes tubos (d2) contêm 10 ml de vinho e 2 ml de bissulfito de sódio e as absorvâncias são lidas a 520 nm após 5 minutos com uma célula de 1 mm usando um espetrofotómetro *Cecil CE 1021 1000 Series*. Para estas leituras o zero é lido com água destilada.

Através da equação seguinte obtém-se o valor de antocianinas livres e combinadas, coradas no pH normal do vinho, que reagem com o SO_2:

Equação 9: $\Delta d\alpha = (d1 - d2) * \frac{12}{10}$

4.2.4.2. Procedimento 2:

Este procedimento consiste na preparação de 10 tubos de Falcon para cada vinho (1, 2 e 3) dos quais cinco (d1') contêm uma mistura de 1 ml de vinho e 7 ml de HCl (N/10) e 2 ml de água destilada sendo posteriormente centrifugado por 15 minutos a 7500 rpm numa centrifuga *Jouan BBVV Centrifuge*. As absorvâncias lidas a 520 nm com uma célula de 10 mm. Os restantes tubos (d2') são preparados com 1 ml de vinho e 7 ml de HCl (N/10) e 2 ml de bissulfito de sódio e centrifugado a 7500 rpm por 15 minutos numa centrifuga *Jouan BBVV Centrifuge*. As absorvâncias são lidas a 520 nm com uma célula de 10 mm. Para estas leituras o zero é lido com água destilada sendo usado um espetrofotómetro *Cecil CE 1021 1000 Series*.

Destas reações obtém-se o valor de antocianinas, que devido ao valor de pH se encontram maioritariamente coradas, através da seguinte equação:

$$\text{Equação 10: } \Delta d\gamma = (d1' - d2') * \frac{100}{95}$$

O valor do índice de ionização (Equação 11) resulta do rácio entre os valores destes dois procedimentos e varia entre 10 e 30% para vinhos jovens e com o envelhecimento aumenta para valores entre os 80 e 90%:

$$\text{Equação 11: } I = \frac{\Delta d\alpha}{\Delta d\gamma} * 100$$

4.2.5. Determinação dos fenóis totais, fenóis não-flavonóides e fenóis flavonóides.

4.2.5.1. Fenóis totais

Para a determinação dos fenóis totais foi aplicado o método normalmente utilizado nas análises laboratoriais dos vinhos e descrito por Ribéreau-Gayon (1970). Este consiste na diluição de 0,5 ml de vinho em 50 ml de água destilada e após homogeneização são lidas as absorvâncias a um comprimento de onda de 280 nm com uma célula 10 mm. Cada leitura é repetida 5 vezes para cada vinho e o zero é feito com água destilada.

O valor dos fenóis totais é obtido pelo seguinte cálculo:

$$\text{Equação 12: Fenóis totais (mg/l ác. gálhico)} = X * 100$$

Nesta expressão, 100 refere-se ao fator de diluição e X é determinado pela aplicação da curva do ácido gálhico ($Y = 0{,}038X - 0{,}0344$) em que Y é o valor da absorvância.

4.2.5.2. Fenóis não-flavonóides

A determinação dos compostos fenólicos não-flavonóides baseou-se no método de Kramling e Singleton (1969). Neste processo foram preparadas três soluções (uma para cada vinho) com 10 ml de vinho, 10 ml de uma solução de etanol a 12%, 10 ml de HCl concentrado 1:4 e 5 ml de formaldeído (8 mg/ml). Estas soluções foram filtradas com um filtro de membrana 0,45 µm e foram medidas as absorvâncias a 280 nm num espetrofotómetro *Cecil CE 1021 1000 Series* com uma célula de 1 mm, repetindo as leituras cinco vezes. Após estas medições as soluções foram borrifadas com azoto e guardadas no escuro por 72h. Passado esse período, aconselhável para vinhos tintos, as absorvâncias foram lidas cinco vezes novamente após nova filtração com um filtro de membrana 0,45 µm.

Os fenóis não-flavonóides, expressos em mg/l de ácido gálhico determina-se pela seguinte fórmula:

Equação 13: Fenóis não-flavonóides (mg/l ác. gálhico) = $X * 10$

Nesta expressão, 10 refere-se ao fator de diluição e X é determinado pela aplicação da curva do ácido gálhico ($Y = 0{,}038X - 0{,}0344$) em que Y é o valor da absorvância.

4.2.5.3. Fenóis flavonóides

Os fenóis flavonóides são obtidos pela subtração dos fenóis totais com os fenóis não-flavonóides, expresso em mg/l de ácido gálhico, que resulta da seguinte fórmula:

Equação 14: Flavonóides (mg/l ác. gálhico) = Fenóis totais – Não-flavonóides

4.3. Análise sensorial

A análise sensorial dos três vinhos foi realizada mensalmente pelo enólogo responsável pelo departamento de enologia da Sogevinus. O número de provadores teve de ser limitado devido às medidas de segurança adotadas durante a pandemia de Covid-19.

As amostras foram analisadas todos os meses com início em dezembro de 2020. Esta avaliação sensorial foi definida especificamente para este trabalho pelo enólogo da Sogevinus e consistiu na prova dos três vinhos de forma a comparar as suas semelhanças e diferenças em relação à cor, aroma e sabor como apresentado na folha de prova do anexo II. O provador encarregou-se de identificar quais os vinhos semelhantes ou indicar que todos eram diferentes acrescentando observações relevantes na avaliação dos três vinhos.

4.4. Análise química e sensorial das aguardentes

A análise das aguardentes foi realizada pelo laboratório do IVDP (L0115) e pela Câmara de Provadores (L0235) acreditados pelo IPAC. Para as aguardentes 1, 2 e 3 foram realizadas diversas análises recorrendo a diferentes métodos. Estas análises são realizadas de forma a certificar o controlo de qualidade das aguardentes a utilizar na fortificação de Vinhos do Porto.

Podemos ainda observar a análise sensorial realizada que para as três aguardentes garante que esta é própria para vinhos e que se apresenta límpida, incolor, sem defeitos percetíveis no seu aroma e sabor e com total ausência de defeitos.

5. Resultados e Discussão

Os dados apresentados a seguir foram recolhidos mensalmente de dezembro de 2020 a julho de 2021.

Para este trabalho recolheram-se dados de diferentes parâmetros de forma a tentarmos perceber se existem diferenças na evolução dos vinhos fortificados com diferentes aguardentes. De forma a analisar os dados e averiguar se existem diferenças significativas entre os dados utilizou-se uma análise One-way ANOVA através do GraphPad Prism 8.0.1. cujos valores de análise para as diferenças entre vinhos se encontram no anexo III e a diferença dos meses para cada vinho no anexo IV.

As diferenças significativas entre os vinhos no mesmo mês é apresentada pelas letras minúsculas. As letras maiúsculas indicam as diferenças significativas entre os meses de análise para os mesmos vinhos.

5.1. Análise química das aguardentes

Como apresentadas nas figuras 5, 6 e 7, as aguardentes foram analisadas pelo IVDP de forma a ser a validade a sua utilização na fortificação de Vinhos do Porto. Como podemos observar nos respetivos anexos, as três aguardentes foram sujeitas aos mesmo procedimentos de análise apresentando valores dentro do limite recomendado para todos os compostos. Destes valores não se notaram diferenças na maioria dos parâmetros, destacando-se a acidez volátil que na aguardente 1 apresenta um valor significativamente superior de 73 mg (ác. acético)/l, enquanto que a aguardente 2 e 3 têm valores muito inferiores de 23 mg (ác. acético)/l e 16 mg (ác. acético)/l respetivamente. Esta diferença pode influenciar as características dos vinhos fortificados com cada aguardente como iremos analisar posteriormente.

REPÚBLICA PORTUGUESA
AGRICULTURA

IVDP, I. P.
Instituto dos Vinhos do Douro e do Porto I.P.

Emitido em: 2020-06-02 15:26:10 (Versão 1)

N° Processo: 2020/01116/01 Data Recepção: 2020/05/12 Validade do Processo: 2021/12/31
V.Ref.: DEPOSITO B1 Lote: - Página 1 de 2

**** CERTIFICADO DE CONTROLO DA QUALIDADE ****

Produto: 03 Aguardente
Finalidade: 08 Registo de Aguardente
N° Registo: - Validade do registo: -
Cat. Produto: DO Porto - Aguardente para beneficiação e lotação

Entidade:
1

Designações

Ano/Idade: - Tipo: - Doçura: -

Resultados de Análise Laboratorial

	Designação do Parâmetro		Resultado	Unidade	Método		Data
33	2 Carbamato de Etilo		54	µg/dm³	MIVDP56-06		2020/05/22
74	2 Título Alcoométr. Vol.Bruto		77,21	% vol. (20°C)	OIVBS-06:09		2020/05/14
75	1 Acidez Total - AD		78	mg (ác.acético)/dm³alc.100%v	OIVBS-12:09		2020/05/14
76	1 Álcoois Superiores Totais		238	mg/100 cm³ álc. 100% vol.	MIVDP55-12		2020/05/26
77	1 Etanal	<LQ	9	mg/100 cm³ álc. 100% vol.	MIVDP55-12		2020/05/26
78	1 Acetato de Etilo		39	mg/100 cm³ álc. 100% vol.	MIVDP55-12		2020/05/26
79	1 Metanol		75	mg/100 cm³ álc. 100% vol.	MIVDP55-12		2020/05/26
80	1 2-Butanol		1,8	mg/100 cm³ álc. 100% vol.	MIVDP55-12		2020/05/26
81	1 1-Propanol		30	mg/100 cm³ álc. 100% vol.	MIVDP55-12		2020/05/26
82	1 Isobutanol		47	mg/100 cm³ álc. 100% vol.	MIVDP55-12		2020/05/26
83	1 Álcool Alílico		0,8	mg/100 cm³ álc. 100% vol.	MIVDP55-12		2020/05/26
84	1 1-Butanol		0,7	mg/100 cm³ álc. 100% vol.	MIVDP55-12		2020/05/26
85	1 Álcoois Amílicos		158	mg/100 cm³ álc. 100% vol.	MIVDP55-12		2020/05/26
86	1 Ácido Cianídrico		0,08	mg/dm³	MIVDP50-01	*	2020/05/25
87	1 Relação 13C/12C		-26,4	o/oo		*@	2020/06/02
88	1 Razão Isotópica (D/H) 1		103,8	p.p.m.		*@	2020/06/02
89	1 Acidez Volátil - AD		73	mg (ác.acético)/dm³alc.100%v	OIVBS-12:09		2020/05/14
90	1 Acidez Fixa - AD	<	5	mg (ác.acético)/dm³alc.100%v	OIVBS-12:09		2020/05/14
93	1 Resíduo (Reg° AD's)		1	1=típico/0=não típico	MIVDP53-01	*	2020/05/14
96	1 Rel.1-Propanol/Isobutanol		0,6		MIVDP55-12		2020/05/26
97	1 Rel.Álc.Amílicos/Isobutanol		3,4		MIVDP55-12		2020/05/26
98	1 Cálcio (Ca) - AD	<LQ	0,2	mg/dm³	MIVDP08-11		2020/05/19
99	1 Cobre (Cu) - AD		0,23	mg/dm³	MIVDP09-11		2020/05/14
100	1 Ferro (Fe) - AD	<LQ	0,10	mg/dm³	MIVDP10-12		2020/05/19
147	1 Massa Volúmica - AD		0,86692	g/cm³	OIVBS-06:09		2020/05/14
185	1 2-Metil-1-Butanol		36	mg/100cm³ álc. 100% vol.	MIVDP55-12		2020/05/26
186	1 3-Metil-1-Butanol		122	mg/100cm³ álc. 100% vol.	MIVDP55-12		2020/05/26

Resultados de Análise Sensorial

Cod	Característica	Cod	Resultado	Método	Data
01	Limpidez	01	Límpido	MIVDP101-1-13	2020/05/13
02	Cor	09	Incolor	MIVDP101-2-13	2020/05/13
04	Aroma	02	Sem defeito perceptível	MIVDP101-3-12	2020/05/13
05	Sabor	02	Sem defeito perceptível	MIVDP101-4-12	2020/05/13
06	Defeito	99	Ausente	MIVDP101-5-12	2020/05/13
10	Designação	09	Corresponde a AD própria para V.	MIVDP101-10-4	2020/05/13

Apreciações

Aprec.Laboratorial: Análise físico-química NORMAL, relativamente aos parâmetros determinados.

Apreciação Prova: Apresenta as características organolépticas previstas no Regulamento de Aguardentes.

Rua dos Camilos, 90 Tel. 254 320 130 http://www.ivdp.pt Rua de Ferreira Borges n°27 Tel. 22 207 16 00 Contribuinte
505-272 Peso da Régua Fax. 254 320 149 e-mail: ivdp@ivdp.pt 4050-253 Porto Fax. 22 207 16 99 501 176 080

IVDP-I-STP 01 24

Figura 5: Certificado de controlo de qualidade da aguardente 1 fornecido pelo IVDP.

REPÚBLICA PORTUGUESA
AGRICULTURA

IVDP, I. P.
Instituto dos Vinhos do Douro e do Porto, I.P.

Emitido em: 2020-07-29 09:44:37 (Versão 1)

Nº Processo: 2020/01723/01 **Data Recepção:** 2020/07/09 **Validade do Processo:** 2021/12/31
V.Ref.: INOX 14 **Lote:** - Página 1 de 2

****** CERTIFICADO DE CONTROLO DA QUALIDADE ******

Produto: 03 Aguardente **Finalidade:** 08 Registo de Aguardente
Nº Registo: - Validade do registo: - **Cat. Produto:** DO Porto - Aguardente para beneficiação e lotação

Entidade:

2

Designações

Ano/Idade: - **Tipo:** - **Doçura:** -

Resultados de Análise Laboratorial

Cod		Designação do Parâmetro		Resultado	Unidade	Método		Data
33	2	Carbamato de Etilo	<LQ	50	µg/dm³	MIVDP56-06		2020/07/15
74	2	Título Alcoométr. Vol.Bruto		77,15	% vol. (20°C)	OIVBS-06:09		2020/07/10
75	1	Acidez Total - AD		29	mg (ác.acético)/dm³alc.100%v	OIVBS-12:09		2020/07/14
76	1	Álcoois Superiores Totais		252	mg/100 cm³ álc. 100% vol.	MIVDP55-12		2020/07/16
77	1	Etanal	<LQ	9	mg/100 cm³ álc. 100% vol.	MIVDP55-12		2020/07/16
78	1	Acetato de Etilo		44	mg/100 cm³ álc. 100% vol.	MIVDP55-12		2020/07/16
79	1	Metanol		64	mg/100 cm³ álc. 100% vol.	MIVDP55-12		2020/07/16
80	1	2-Butanol	<LQ	0,7	mg/100 cm³ álc. 100% vol.	MIVDP55-12		2020/07/16
81	1	1-Propanol		33	mg/100 cm³ álc. 100% vol.	MIVDP55-12		2020/07/16
82	1	Isobutanol		52	mg/100 cm³ álc. 100% vol.	MIVDP55-12		2020/07/16
83	1	Álcool Alílico	<LQ	0,3	mg/100 cm³ álc. 100% vol.	MIVDP55-12		2020/07/16
84	1	1-Butanol	<LQ	0,3	mg/100 cm³ álc. 100% vol.	MIVDP55-12		2020/07/16
85	1	Álcoois Amílicos		167	mg/100 cm³ álc. 100% vol.	MIVDP55-12		2020/07/16
86	1	Ácido Cianídrico	<LQ	0,08	mg/dm³	MIVDP50-01	*	2020/07/22
87	1	Relação 13C/12C		-24,8	o/oo		*@	2020/07/28
88	1	Razão Isotópica (D/H) 1		101,0	p.p.m.		*@	2020/07/28
89	1	Acidez Volátil - AD		23	mg (ác.acético)/dm³alc.100%v	OIVBS-12:09		2020/07/14
90	1	Acidez Fixa - AD		6	mg (ác.acético)/dm³alc.100%v	OIVBS-12:09		2020/07/14
93	1	Resíduo (Reg° AD's)		1	1=típico/0=não típico	MIVDP53-01	*	2020/07/14
96	1	Rel.1-Propanol/Isobutanol		0,6		MIVDP55-12		2020/07/16
97	1	Rel.Álc.Amílicos/Isobutanol		3,2		MIVDP55-12		2020/07/16
98	1	Cálcio (Ca) - AD	<LQ	0,2	mg/dm³	MIVDP08-11		2020/07/17
99	1	Cobre (Cu) - AD	<LQ	0,05	mg/dm³	MIVDP09-11		2020/07/15
100	1	Ferro (Fe) - AD	<LQ	0,10	mg/dm³	MIVDP10-12		2020/07/17
147	1	Massa Volúmica - AD		0,86708	g/cm³	OIVBS-06:09		2020/07/10
185	1	2-Metil-1-Butanol		29	mg/100cm³ álc. 100% vol.	MIVDP55-12		2020/07/16
186	1	3-Metil-1-Butanol		138	mg/100cm³ álc. 100% vol.	MIVDP55-12		2020/07/16

Resultados de Análise Sensorial

Cod	Característica	Cod	Resultado	Método	Data
01	Limpidez	01	Límpido	MIVDP101-1-13	2020/07/14
02	Cor	09	Incolor	MIVDP101-2-13	2020/07/14
04	Aroma	02	Sem defeito perceptível	MIVDP101-3-12	2020/07/14
05	Sabor	02	Sem defeito perceptível	MIVDP101-4-12	2020/07/14
06	Defeito	99	Ausente	MIVDP101-5-12	2020/07/14
10	Designação	09	Corresponde a AD própria para V.	MIVDP101-10-4	2020/07/14

Apreciações

Aprec.Laboratorial: Análise físico-química NORMAL, relativamente aos parâmetros determinados.

Apreciação Prova: Apresenta as características organolépticas previstas no Regulamento de Aguardentes.

IVDP-I-STP 01 24

Rua dos Camilos, 90 Tel. 254 320 130 http://www.ivdp.pt Rua de Ferreira Borges n°27 Tel. 22 207 16 00 Contribuinte
505-272 Peso da Régua Fax. 254 320 149 e-mail: ivdp@ivdp.pt 4050-253 Porto Fax. 22 207 16 99 501 176 080

Figura 6: Certificado de controlo de qualidade da aguardente 2 fornecido pelo IVDP.

REPÚBLICA PORTUGUESA
AGRICULTURA

IVDP, I. P.
Instituto dos Vinhos do Douro e do Porto, I.P.

Emitido em: 2020-06-15 11:34:22 (Versão 1)

N° Processo: 2020/01244/01 **Data Recepção:** 2020/05/22 **Validade do Processo:** 2021/12/31
V.Ref.: DPTO. N° 7 **Lote:** - Página 1 de 2

****** C E R T I F I C A D O D E C O N T R O L O D A Q U A L I D A D E ******

Produto: 03 Aguardente **Finalidade:** 08 Registo de Aguardente
N° Registo: - Validade do registo: - **Cat. Produto:** DO Porto - Aguardente para beneficiação e lotação

Entidade: **3**

Designações

Ano/Idade: - **Tipo:** - **Doçura:** -

Resultados de Análise Laboratorial

Cod	Designação do Parâmetro		Resultado	Unidade	Método		Data
33 2	Carbamato de Etilo	<LQ	50	µg/dm³	MIVDP56-06		2020/05/29
74 2	Título Alcoométr. Vol.Bruto		77,46	% vol. (20°C)	OIVBS-06:09		2020/05/27
75 1	Acidez Total - AD		21	mg (ác.acético)/dm³alc.100%v	OIVBS-12:09		2020/06/02
76 1	Álcoois Superiores Totais		246	mg/100 cm³ álc. 100% vol.	MIVDP55-12		2020/06/03
77 1	Etanal	<LQ	9	mg/100 cm³ álc. 100% vol.	MIVDP55-12		2020/06/03
78 1	Acetato de Etilo		18	mg/100 cm³ álc. 100% vol.	MIVDP55-12		2020/06/03
79 1	Metanol		40	mg/100 cm³ álc. 100% vol.	MIVDP55-12		2020/06/03
80 1	2-Butanol	<LQ	0,7	mg/100 cm³ álc. 100% vol.	MIVDP55-12		2020/06/03
81 1	1-Propanol		31	mg/100 cm³ álc. 100% vol.	MIVDP55-12		2020/06/03
82 1	Isobutanol		50	mg/100 cm³ álc. 100% vol.	MIVDP55-12		2020/06/03
83 1	Álcool Alílico	<LQ	0,3	mg/100 cm³ álc. 100% vol.	MIVDP55-12		2020/06/03
84 1	1-Butanol		0,5	mg/100 cm³ álc. 100% vol.	MIVDP55-12		2020/06/03
85 1	Álcoois Amílicos		164	mg/100 cm³ álc. 100% vol.	MIVDP55-12		2020/06/03
86 1	Ácido Cianídrico		0,09	mg/dm³	MIVDP50-01	*	2020/06/09
87 1	Relação 13C/12C		-26,6	o/oo		*@	2020/06/15
88 1	Razão Isotópica (D/H) 1		104,3	p.p.m.		*@	2020/06/15
89 1	Acidez Volátil - AD		16	mg (ác.acético)/dm³alc.100%v	OIVBS-12:09		2020/06/02
90 1	Acidez Fixa - AD	<	5	mg (ác.acético)/dm³alc.100%v	OIVBS-12:09		2020/06/02
93 1	Resíduo (Reg° AD's)		1	1=típico/0=não típico	MIVDP53-01	*	2020/06/02
96 1	Rel.1-Propanol/Isobutanol		0,6		MIVDP55-12		2020/06/03
97 1	Rel.Álc.Amílicos/Isobutanol		3,3		MIVDP55-12		2020/06/03
98 1	Cálcio (Ca) - AD	<LQ	0,2	mg/dm³	MIVDP08-11		2020/06/01
99 1	Cobre (Cu) - AD	<LQ	0,05	mg/dm³	MIVDP09-11		2020/06/01
100 1	Ferro (Fe) - AD	<LQ	0,10	mg/dm³	MIVDP10-12		2020/05/27
147 1	Massa Volúmica - AD		0,86624	g/cm³	OIVBS-06:09		2020/05/27
185 1	2-Metil-1-Butanol		30	mg/100cm³ álc. 100% vol.	MIVDP55-12		2020/06/03
186 1	3-Metil-1-Butanol		134	mg/100cm³ álc. 100% vol.	MIVDP55-12		2020/06/03

Resultados de Análise Sensorial

Cod	Característica	Cod	Resultado	Método	Data
01	Limpidez	01	Límpido	MIVDP101-1-13	2020/05/25
02	Cor	09	Incolor	MIVDP101-2-13	2020/05/25
04	Aroma	02	Sem defeito perceptível	MIVDP101-3-12	2020/05/25
05	Sabor	02	Sem defeito perceptível	MIVDP101-4-12	2020/05/25
06	Defeito	99	Ausente	MIVDP101-5-12	2020/05/25
10	Designação	09	Corresponde a AD própria para V.	MIVDP101-10-4	2020/05/25

Apreciações

Aprec.Laboratorial: Análise físico-química NORMAL, relativamente aos parâmetros determinados.

Apreciação Prova: Apresenta as características organolépticas previstas no Regulamento de Aguardentes.

IVDP-I-STP 01 24

Rua dos Camilos, 90 Tel. 254 320 130 http://www.ivdp.pt Rua de Ferreira Borges n°27 Tel. 22 207 16 00 Contribuinte
505-272 Peso da Régua Fax. 254 320 149 e-mail: ivdp@ivdp.pt 4050-253 Porto Fax. 22 207 16 99 501 176 080

Figura 7: Certificado de controlo de qualidade da aguardente 3 fornecido pelo IVDP.

5.2. Caracterização dos vinhos

Os vinhos fortificados com as diferentes aguardentes foram analisados mensalmente para diferentes parâmetros. As análises gerais não apresentavam diferenças significativas ao longo dos meses como tal, foram consideradas as análises iniciais de dezembro de 2020 e as finais de julho de 2021 apresentadas na tabela 3.

Quanto ao TAV o vinho 2 apresenta uma maior percentagem de volume de 19,90% muito semelhante ao vinho 3 que apresenta 19,79% de volume de álcool. Ambos os vinhos apresentaram uma ligeira diminuição do seu teor alcoólico na análise final em julho de 2021. O vinho 1 é o que apresenta menor TAV e ao contrário dos restantes vinhos de dezembro a julho verificou-se um ligeiro aumento. Apesar das alterações no volume de álcool os vinhos respeitam os limites legislados para o Vinho do Porto (Decreto-Lei n.º 166/86 de 26 de junho).

O grau Baumé dos vinhos não se alterou significativamente durante o período de análise apresentando variações de uma centésima no caso de 1 e 3 ou não apresentam qualquer variação como o vinho 2. O mesmo acontece com pH onde o vinho 3 mantém o seu valor e se verifica um aumento de uma centésima nos vinhos 1 e 2. O vinho 2 apresenta uma maior concentração de açúcares totais (glicose e frutose) e o vinho 1 possui a menor concentração. Esta diferença manteve-se ao longo do período de análise mesmo se verificando um aumento dos açúcares totais nos três vinhos. Este aumento não era esperado uma vez que com a adição da aguardente a fermentação interrompida é e por isso não se espera uma variação. No entanto, um aumento é ainda menos esperado e pode ser devido às diversas reações que ocorrem durante o envelhecimento e às condições de armazenamento. Os valores obtidos correspondem a características de um Vinho do Porto meio-seco apesar de o vinho 2 apresentar uma concentração de açúcares já na gama de um vinho doce (IVDP, 2019d).

Relativamente à acidez volátil o vinho 1 apresenta maior acidez com uma maior diferença dos restantes vinhos sendo o vinho 3 o que tem menor acidez. Esta diferença entre os vinhos atenua-se até à última análise. A acidez inicial do vinho 1 destaca-se pela possível influência da aguardente utilizada cuja acidez é muito superior do que a de 2 e 3. Apesar das diferenças entre os vinhos, estes respeitam os valores legais estabelecidos para um vinho aguardentado (Instituto da Vinha e do Vinho, 2016).

Foi ainda analisado o conteúdo de ácido málico que se verificou ter o mesmo valor, inicialmente, para os três vinhos (1,10 g/l). Ao longo da análise o conteúdo de ácido málico diminui igualmente nos três vinhos sendo o valor final registado de 1,00 g/l. O mesmo se verificou com a concentração ácido tartárico que em dezembro era igual para todos os

vinhos verificando-se apenas uma variação no vinho 3 que não se mostra relevante. O ácido málico surge naturalmente das uvas e diminui quanto mais elevado é o estado de maturação das uvas.

Tabela 3: Comparação das diversas análises iniciais e finais dos vinhos 1, 2 e 3 permitindo a sua caracterização.

Tratamentos	Vinhos	Valores inicias (dezembro 2020)	Valores finais (julho 2021)
Título Alcoométrico Volúmico Total (TAV)/(%vol)	**1**	19,20	19,23
	2	19,90	19,89
	3	19,79	19,71
Grau Baumé (º Bé)	**1**	2,45	2,43
	2	2,56	2,56
	3	2,45	2,46
pH	**1**	3,58	3,59
	2	3,57	3,58
	3	3,59	3,59
Açúcares Totais (g/l)	**1**	81,53	82,77
	2	85,07	86,77
	3	82,70	84,27
Acidez Volátil (g (ác. acético)/l)	**1**	0,20	0,28
	2	0,15	0,26
	3	0,12	0,24
Ácido Málico (g/l)	**1**	1,10	1,00
	2	1,10	1,00
	3	1,10	1,00
Ácido Tartárico (g/l)	**1**	1,24	1,24
	2	1,24	1,24
	3	1,24	1,23
Índice de Folin	**1**	35,90	35,53
	2	39,60	37,37
	3	38,90	37,20
Metanol (g/hl)	**1**	86,06	85,11
	2	82,63	81,56
	3	84,22	84,06

O ácido tartárico é usado para corrigir a acidez dos vinhos e espera-se que durante o armazenamento este valor não diminua o que mostra que este ácido não reagiu com o potássio não existindo a formação de cristais de bitartarato de potássio.

O Índice de Folin C é superior no vinho 2 e o menor valor é relativo ao vinho 1. No período de análise este índice diminuiu para os três vinhos. Este é um valor indicativo da quantidade de polifenóis totais no vinho que mostra uma diminuição natural devido às reações que ocorrem durante o envelhecimento envolvendo os diversos compostos polifenólicos.

A concentração de metanol nos vinhos analisados é superior para o vinho 1 e o vinho 2 apresenta menores valores dos três vinhos. De dezembro a julho a concentração de metanol diminui para os três vinhos mantendo-se o valor mais elevado do vinho 1. Ao longo do período de análise os vinhos apresentam uma concentração média de SO_2 total de 20 mg/l. Os valores apresentados encontram-se dentro dos limites estabelecidos para o Vinho do Porto (Instituto da Vinha e do Vinho, 2016).

5.3. Coloração dos vinhos

Na coloração dos vinhos foram avaliadas, além da intensidade e tonalidade, a percentagem das cores correspondentes aos comprimentos de onda medidos (amarelo, vermelho e azul) e a classificação da cor segundo o CIELAB.

5.3.1. Intensidade de Glories e de Sudraud

Para determinação e avaliação da intensidade e tonalidade da cor recorreu-se ao método de Sudraud e de Glories que na intensidade diferem na inclusão das absorvâncias no comprimento de onda na região do azul, 620 nm. Nestes dois métodos o mais importante é observar se a relação de significância entre os três vinhos difere da mesma forma. A intensidade da cor traduz-se na quantidade de cor de um vinho.

Pela intensidade de Glories descrita na tabela 4 observamos que os três vinhos apresentam diferenças altamente significativas ($p < 0,0001$) entre os três vinhos em todos os meses de análise e entre os diferentes meses. O vinho 2 apresenta valores mais altos ao longo dos meses apresentando um aumento da intensidade ao longo do período de análise. O vinho 1 possui os menores valores durante o período de análise apenas não apresentando diferenças significativas do vinho 3 no mês de abril. O vinho 1 e o 3 também apresentam um aumento ao longo dos meses apesar de inferior ao verificado no vinho 2. Os valores obtidos estão entre os limites mencionados para estes métodos que devem

integrar o intervalo de 0,3 a 1,8 u.a. – unidade de absorvância (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006).

O mesmo se verifica na intensidade pelo método de Sudraud (Tabela 5). Os três vinhos apresentam diferenças altamente significativas ($p < 0,0001$) entre si em todos os meses continuando o vinho 2 a ser o que apresenta maior intensidade de cor e o vinho 1 o que apresenta menores valores. A diferença no mês de abril não se verifica podendo-se dever à percentagem de compostos na gama do azul (620 nm) que como veremos posteriormente é maior no vinho 1 durante este mês. No entanto, ao contrário do que se verifica no teste anterior o vinho 2 não apresenta diferenças significativas ao longo dos meses e os restantes vinhos apesar das diferenças entre meses estas são irregulares, sendo percetível um ligeiro aumento entre as análises iniciais e as finais.

Tabela 4: Intensidade de Glories (unidade de absorvância - u.a) dos vinhos fortificados com aguardente 1, 2 e 3 analisados mensalmente.

	1	**2**	**3**	**Sig(1)**
Dezembro	1,19 ± 0,01 c C	1,36 ± 0,01 a E	1,27 ± 0,01 b D	****
Janeiro	1,20 ± 0,01 c C	1,41 ± 0,01 a D	1,31 ± 0,01 b C	****
Fevereiro	1,27 ± 0,01 c B	1,43 ± 0,01 a C	1,34 ± 0,02 b B	****
Março	1,26 ± 0,01 c B	1,44 ± 0,01 a B	1,35 ± 0,01 b AB	****
Abril	1,31 ± 0,01 b A	1,45 ± 0,01 a B	1,32 ± 0,01 b BC	****
Maio	1,27 ± 0,00 c B	1,42 ± 0,00 a C	1,36 ± 0,00 b A	****
Junho	1,26 ± 0,01 c B	1,46 ± 0,00 a A	1,30 ± 0,00 b C	****
Julho	1,27 ± 0,01 c B	1,47 ± 0,01 a A	1,33 ± 0,01 b B	****
Sig(1)	****	****	****	

Nota: Os valores são representados com média ± desvio padrão. As diferentes letras minúsculas indicam diferenças estatisticamente significativas entre os três vinhos no mesmo mês e as letras maiúsculas indicam diferenças estatisticamente significativas entre meses para o mesmo vinho. (1) Significância do teste F: "****" - $p < 0,0001$.

Tabela 5: Intensidade de Sudraud (unidade de absorvância - u.a) dos vinhos fortificados com aguardente 1, 2 e 3 analisados mensalmente.

	1	2	3	Sig(1)
Dezembro	1,05 ± 0,01 c D	1,22 ± 0,01 a A	1,13 ± 0,00 b C	****
Janeiro	1,06 ± 0,01 c D	1,25 ± 0,01 a A	1,16 ± 0,00 b B	****
Fevereiro	1,12 ± 0,01 c B	1,26 ± 0,01 a A	1,17 ± 0,02 b AB	****
Março	1,11 ± 0,02 c BC	1,27 ± 0,01 a A	1,18 ± 0,01 b A	****
Abril	1,14 ± 0,01 c A	1,27 ± 0,01 a A	1,16 ± 0,01 b B	****
Maio	1,11 ± 0,01 c BC	1,24 ± 0,01 a A	1,18 ± 0,00 b A	****
Junho	1,10 ± 0,01 c C	1,26 ± 0,01 a A	1,13 ± 0,00 b C	****
Julho	1,10 ± 0,01 c C	1,27 ± 0,01 a A	1,16 ± 0,01 b B	****
Sig(1)	****	ns	****	

Nota: Os valores são representados com média ± desvio padrão. As diferentes letras minúsculas indicam diferenças estatisticamente significativas entre os três vinhos no mesmo mês e as letras maiúsculas indicam diferenças estatisticamente significativas entre meses para o mesmo vinho. (1) Significância do teste F: "n.s." indica diferenças não significativas; "****" - $p < 0,0001$.

5.3.2. Tonalidade de Sudraud

A tonalidade representa a evolução de uma cor até à cor laranja e este valor resulta da razão entre as absorvâncias na região do vermelho e do amarelo. Os vinhos tintos jovens devem apresentar valores de tonalidade entre os 0,5 u.a e os 0.7 u.a. (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006).

Observando a tabela 6 vemos que o vinho 1 apresenta maior tonalidade apresentando diferenças altamente significativas ($p<0,0001$) dos restantes vinhos. O vinho 2 apresenta menor tonalidade. No mês de maio e de junho não se verificam diferenças significativas entre o vinho 1 e 3. Estas diferenças de significância podem ocorrer por falhas durante o procedimento experimental e devem ser consideradas simplesmente exceções aos casos habituais.

Ao longo dos meses notam-se diferenças altamente significativas, no entanto a evolução dos valores é visivelmente irregular. O vinho 1 demonstra, apesar de algumas oscilações, uma diminuição da sua tonalidade. No vinho 2 observa-se uma evolução crescente da

tonalidade, enquanto o vinho 3 sofre várias alterações da tonalidade ao longo do período de análise finalizando com valores semelhantes aos iniciais.

Estas variações da tonalidade e intensidade podem estar relacionadas com as condições de armazenamento que afetam as reações das antocianinas, os principais responsáveis pela cor vermelha dos vinhos, dado que aumentos na temperatura durante o armazenamento levam a dissociações dos pigmentos de copigmentação formados deixando os iões flavílio sujeitos a reações que causam a sua descoloração (Brouillard e Dangles, 1994)

Tabela 6: Tonalidade de Sudraud (unidade de absorvância - u.a) dos vinhos fortificados com aguardentes 1, 2 e 3 analisados mensalmente.

	1	2	3	Sig(1)
Dezembro	0,71 ± 0,01 a A	0,60 ± 0,00 c C	0,65 ± 0,01 b BC	****
Janeiro	0,70 ± 0,01 a AB	0,61 ± 0,01 c C	0,64 ± 0,01 b BC	****
Fevereiro	0,68 ± 0,00 a B	0,60 ± 0,01 c C	0,66 ± 0,01 b B	****
Março	0,63 ± 0,02 a D	0,60 ± 0,00 b C	0,62 ± 0,01 a D	**
Abril	0,68 ± 0,00 a BC	0,62 ± 0,00 c BC	0,64 ± 0,00 b C	****
Maio	0,67 ± 0,00 a BC	0,64 ± 0,01 c A	0,66 ± 0,01 b B	****
Junho	0,67 ± 0,01 a BC	0,62 ± 0,01 b B	0,67 ± 0,01 a A	****
Julho	0,66 ± 0,01 a C	0,63 ± 0,00 c B	0,64 ± 0,01 b BC	****
Sig(1)	****	****	****	

Nota: Os valores são representados com média ± desvio padrão. As diferentes letras minúsculas indicam diferenças estatisticamente significativas entre os três vinhos no mesmo mês e as letras maiúsculas indicam diferenças estatisticamente significativas entre meses para o mesmo vinho. (1) Significância do teste F: "**" – $p < 0,01$; "****" - $p < 0,0001$.

5.3.3. Percentagem de cores nos vinhos

Devido às gamas de cores que um Vinho do Porto pode atingir, desde um branco-dourado ao retinto, os comprimentos de onde da região do amarelo, vermelho e azul são os que se mostram mais relevantes na análise da coloração. Por este motivo procedemos à análise das percentagens para cada uma destas cores que compõem os vinhos, como sugerido por Glories (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006; Glories, 1984).

Pelas tabelas 7, 8 e 9 apresentadas a seguir, vemos que a cor predominante é o vermelho correspondendo a mais de 50% da coloração dos vinhos, seguido do amarelo e o azul que apresenta menor percentagem. Relativamente à percentagem de amarelo (Tabela 7) observam-se diferenças significativas na maioria dos meses entre os vinhos 1 e 2 e entre os vinhos 2 e 3, sendo o vinho 1 o que apresenta sempre maior percentagem desta cor na sua composição. Em oposição o vinho 2 é o que possui valores mais baixos. Ao longo dos meses, apesar das variações irregulares, observam-se diferenças altamente significativas. Especificamente, vemos que o vinho 1 apresenta uma diminuição da percentagem de amarelo assim como o vinho 3. O vinho 2, de uma forma geral, manteve a sua percentagem de amarelo.

Tabela 7: Percentagem (%) de Amarelo que compõe os vinhos fortificados 1, 2 e 3 analisados mensalmente.

	1	**2**	**3**	**Sig(1)**
Dezembro	36,76 ± 0,19 a A	33,55 ± 0,04 c B	34,93 ± 0,13 b A	****
Janeiro	36,46 ± 0,17 a A	33,77 ± 0,32 c AB	34,66 ± 0,09 b AB	****
Fevereiro	35,66 ± 0,10 a B	33,29 ± 0,26 c B	34,74 ± 0,42 b AB	****
Março	34,00 ± 0,67 a D	32,88 ± 0,18 b C	33,54 ± 0,28 ab D	**
Abril	35,11 ± 0,09 a BC	33,27 ± 0,08 c BC	34,15 ± 0,10 b BC	****
Maio	34,70 ± 0,10 a CD	33,99 ± 0,22 b A	34,45 ± 0,13 a B	****
Junho	34,97 ± 0,15 a C	33,37 ± 0,20 b B	34,94 ± 0,13 a A	****
Julho	34,40 ± 0,13 a D	33,40 ± 0,06 c B	34,04 ± 0,08 b C	****
Sig(1)	****	****	****	

Nota: Os valores são representados com média ± desvio padrão. As diferentes letras minúsculas indicam diferenças estatisticamente significativas entre os três vinhos no mesmo mês e as letras maiúsculas indicam diferenças estatisticamente significativas entre meses para o mesmo vinho. (1) Significância do teste F: "**" – $p < 0,01$; "****" - $p < 0,0001$.

O contrário verifica-se relativamente à percentagem de vermelho (Tabela 8) onde o vinho 2 possui valores mais elevados ao longo do período de análise e significativamente diferentes dos vinhos 1 e 3 que, com exceção do mês de março, apresentam diferenças significativas entre si. Durante o período de análise, o vinho 1 não apresenta variação

exceto do mês de março face aos restantes que apresenta uma diferença altamente significativa. Pelo contrário, os vinhos 2 e 3 apresentam uma diminuição da percentagem de vermelho. Pelas variações observadas na intensidade e na tonalidade vemos que a diminuição da percentagem de vermelho, mesmo apresentando diferenças altamente significativas, não teve uma ação negativa nos parâmetros anteriores devido também à complexidade de compostos e reações envolvidos na coloração dos vinhos.

Tabela 8: Percentagem (%) de Vermelho que compõe os vinhos fortificados 1, 2 e 3 analisados mensalmente.

	1	**2**	**3**	**Sig(1)**
Dezembro	51,83 ± 0,17 c B	55,89 ± 0,04 a A	54,12 ± 0,10 b A	****
Janeiro	52,22 ± 0,23 c B	55,38 ± 0,25 a B	53,76 ± 0,20 b AB	****
Fevereiro	52,29 ± 0,33 c B	55,04 ± 0,32 a BC	53,03 ± 0,56 b BC	****
Março	53,68 ± 0,51 b A	54,97 ± 0,21 a C	53,94 ± 0,37 b AB	***
Abril	51,79 ± 0,10 c B	53,99 ± 0,07 a D	53,42 ± 0,10 b B	****
Maio	52,10 ± 0,14 c B	52,88 ± 0,13 a F	52,52 ± 0,08 b CD	****
Junho	51,97 ± 0,11 c B	53,32 ± 0,15 a E	52,18 ± 0,10 b D	****
Julho	51,91 ± 0,15 c B	53,19 ± 0,16 a EF	52,72 ± 0,11 b C	****
Sig(1)	****	****	****	

Nota: Os valores são representados com média ± desvio padrão. As diferentes letras minúsculas indicam diferenças estatisticamente significativas entre os três vinhos no mesmo mês e as letras maiúsculas indicam diferenças estatisticamente significativas entre meses para o mesmo vinho. (1) Significância do teste F: "***" – $p < 0,001$; "****" - $p < 0,0001$.

A percentagem de azul (Tabela 9) varia muito ao longo do período de análise. Maioritariamente o vinho 1 apresenta valores superiores. Verifica-se, de uma forma geral, diferenças estatisticamente significativas entre o vinho 1 e 2 e entre 2 e 3, havendo algumas exceções.

Durante as análises realizadas os três vinhos apresentam diferenças altamente significativas entre os diversos meses nos quais de observa um aumento da percentagem de azul.

Tabela 9: Percentagem (%) de Azul que compõe os vinhos fortificados 1, 2 e 3 analisados mensalmente.

	1	2	3	Sig(1)
Dezembro	11,41 ± 0,10 a D	10,56 ± 0,07 c G	10,94 ± 0,03 b F	****
Janeiro	11,32 ± 0,08 b D	10,85 ± 0,14 c F	11,58 ± 0,13 a E	****
Fevereiro	12,04 ± 0,27 a C	11,67 ± 0,17 b E	12,23 ± 0,15 a D	**
Março	12,32 ± 0,16 ab C	12,15 ± 0,06 b D	12,53 ± 0,17 a C	**
Abril	13,09 ± 0,16 a B	12,74 ± 0,08 b C	12,43 ± 0,02 c CD	****
Maio	13,20 ± 0,07 a B	13,13 ± 0,12 ab B	13,02 ± 0,08 b B	*
Junho	13,05 ± 0,17 b B	13,32 ± 0,14 a AB	12,89 ± 0,07 b B	***
Julho	13,69 ± 0,06 a A	13,42 ± 0,13 b A	13,25 ± 0,12 b A	***
Sig(1)	****	****	****	

Nota: Os valores são representados com média ± desvio padrão. As diferentes letras minúsculas indicam diferenças estatisticamente significativas entre os três vinhos no mesmo mês e as letras maiúsculas indicam diferenças estatisticamente significativas entre meses para o mesmo vinho. (1) Significância do teste F: "*" – $p < 0,05$; "**" – $p < 0,01$; "***" – $p < 0,001$; "****" - $p < 0,0001$.

5.3.4. Classificação CIELAB

Através do sistema de coordenadas CIELAB (Figura 4) e os intervalos de classificação definidos pelo IVDP (Tabela 2) é possível determinar a coloração dos vinhos através das suas absorvâncias em determinados comprimentos de onda. Pelos valores médios observados na tabela 10 concluímos que os três vinhos possuem uma cor retinto em todo o período de análise.

Os valores obtidos de a* são todos positivos e como tal representam a aproximação da zona do vermelho e é o vinho 2 que apresenta valores mais altos o que corresponde ao observado na percentagem de vermelho dos vinhos. Os valores de b* positivos representam uma aproximação maior da zona do amarelo do que do azul, apesar dos valores não serem muito elevados. O vinho 1 apresenta valores de b* maiores que os restantes vinhos o que indica a sua maior aproximação da região do amarelo que está de acordo com os resultados obtidos para a percentagem de amarelo.

Tabela 10: Valores mensais médios das coordenados do sistema CIELAB para os vinhos 1, 2 e 3.

		L*	a*	b*	Classificação
Dezembro	**1**	46,54	48,66	17,49	Retinto
	2	42,46	55,69	15,63	Retinto
	3	44,70	52,76	15,93	Retinto
Janeiro	**1**	46,50	50,06	17,49	Retinto
	2	41,62	55,69	17,02	Retinto
	3	43,22	52,37	15,52	Retinto
Fevereiro	**1**	44,30	49,60	16,27	Retinto
	2	40,30	53,60	14,54	Retinto
	3	42,64	51,29	15,28	Retinto
Março	**1**	44,32	49,79	13,50	Retinto
	2	40,28	53,85	12,83	Retinto
	3	42,38	50,73	12,56	Retinto
Abril	**1**	42,70	48,82	14,17	Retinto
	2	39,52	53,07	13,56	Retinto
	3	42,70	51,33	13,01	Retinto
Maio	**1**	43,40	49,10	12,25	Retinto
	2	39,86	51,25	12,76	Retinto
	3	41,66	50,33	13,36	Retinto
Junho	**1**	43,80	49,08	12,43	Retinto
	2	38,94	51,77	12,78	Retinto
	3	43,16	49,87	12,67	Retinto
Julho	**1**	43,56	49,50	12,09	Retinto
	2	38,72	51,67	13,12	Retinto
	3	41,76	50,26	11,96	Retinto

5.3.5. Índice de Glories

O índice de Glories traduz a percentagem de vermelho devido ao ião flavílio e quanto maior este valor mais dominante é o vermelho em relação à cor total do vinho. Como observamos, nos valores representados na tabela 11, a percentagem de vermelho está compreendida entre os 50% e os 60% para os três vinhos mostrando claramente a dominância do vermelho em relação à coloração total. Tal como em análises anteriormente apresentadas o vinho 2 é o que apresenta maiores valores, e o vinho 1 é o que possui menores percentagens. Os três vinhos apresentam diferenças altamente significativas ($p<0,0001$) em todos os meses de análise.

O vinho 1 registou algumas variações ao longo dos meses de análise, mas numa análise geral, não demonstrou grandes alterações ao longo do tempo, no entanto as diferenças registadas são altamente significativas. O mesmo não acontece com os vinhos 2 e 3 que durante os meses de análise mostram uma clara diminuição do índice de Glories. Estes resultados obtidos estão de acordo com os valores apresentados anteriormente.

Tabela 11: Percentagens (%) mensais do índice de Glories dos três vinhos 1, 2 e 3.

	1	**2**	**3**	**Sig(1)**
Dezembro	53,54 ± 0,31 c BC	60,53 ± 0,06 a A	57,62 ± 0,18 b A	****
Janeiro	54,25 ± 0,41 c BC	59,72 ± 0,40 a B	57,00 ± 0,33 b AB	****
Fevereiro	54,39 ± 0,60 c B	59,15 ± 0,53 a BC	55,71 ± 1,01 b BC	****
Março	56,85 ± 0,88 c A	59,04 ± 0,35 a C	57,29 ± 0,63 b AB	****
Abril	53,46 ± 0,18 c C	57,39 ± 0,12 a D	56,40 ± 0,18 b B	****
Maio	54,03 ± 0,27 c BC	55,45 ± 0,24 a F	54,81 ± 0,15 b CD	****
Junho	53,80 ± 0,20 c BC	56,22 ± 0,25 a E	54,17 ± 0,18 b D	****
Julho	53,68 ± 0,27 c BC	55,99 ± 0,29 a EF	55,15 ± 0,19 b C	****
Sig(1)	****	****	****	

Nota: Os valores são representados com média ± desvio padrão. As diferentes letras minúsculas indicam diferenças estatisticamente significativas entre os três vinhos no mesmo mês e as letras maiúsculas indicam diferenças estatisticamente significativas entre meses para o mesmo vinho. (1) Significância do teste F: "****" - $p < 0,0001$.

5.4. Total de antocianinas

Na análise de antocianinas totais e coradas foram realizadas diversas análises com o intuito de comparar diferentes métodos. Os seguintes resultados que serão analisados correspondem apenas às antocianinas totais determinadas por diferença de pH e pelo primeiro procedimento utilizado na análise do índice de ionização.

Os resultados da análise das antocianinas por descoloração pelo SO_2 e o índice de ionização não serão apresentados devido aos valores obtidos não serem coerentes com o esperado. Face a este contratempo tentamos perceber o que poderia ter originado estes erros experimentais e observamos que o reagente usado, o bissulfito de sódio, quando usado em elevados volumes, aumenta a turbidez da solução que contém o vinho a analisar, alterando as absorvâncias quando realizada a leitura. De forma a contornar este problema centrifugou-se a solução para diminuir a turbidez, no entanto, devido ao modelo antigo da centrifugadora, as soluções quando sujeitas a centrifugação os tubos de análise aquecem, destabilizando as reações. Isto gerava leituras de absorvâncias muito diferentes entre as 5 réplicas dos 3 vinhos.

Devido a estas incoerências esses valores foram excluídos desta análise. Tentaremos com os valores apresentados perceber as diferenças entre os três vinhos em análise.

5.4.1. Antocianinas totais pelo método da diferença de pH e pelo índice de ionização

As antocianinas variam conforme o teor de SO_2 e com o pH dos vinhos (Somers e Evans, 1974).

O equilíbrio de antocianinas no vinho é alterado por ação do SO_2 quando adicionado ao vinho em excesso, descolorando de imediato as antocianinas e a pouca coloração observada surge de pigmentos poliméricos que contribuem com apenas 0 a 5% da cor em vinhos jovens.

O foco nesta análise é a influência do pH na coloração. Sabe-se que a um pH<1,0 as antocianinas encontram-se totalmente coloridas na forma de flavílio o que aumenta a densidade ótica (Somers e Evans, 1974). As antocianinas totais contribuem maioritariamente para a cor vermelha e à medida que o vinho envelhece e a cor estabiliza, as antocianinas sofrem processos de copigmentação com outros compostos dando origem a pigmentos mais estáveis (Cheynier *et al.*, 2006). Devido a isto valores mais altos de antocianinas são esperáveis durante o período de análise, apresentando diminuições ao longo do tempo. O acetaldeído proveniente da aguardente contribui para estas reações.

Segundo os resultados obtidos (Tabela 12), o vinho 2 apresenta valores de antocianinas totais mais elevados e significativamente diferentes do vinho 1. Estes resultados vão ao encontro das análises realizadas à coloração.

O vinho 3 apresenta os menores valores que o vinho 2 apresentando apenas em alguns meses diferenças estatisticamente significativas do vinho 1 e do vinho 2. Apesar destas diferenças significativas variarem entre os vinhos o vinho 3 é o segundo vinho com maiores valores de antocianinas.

Nos meses de análise, os três vinhos apresentam diferenças altamente significativas, sendo visível uma clara diminuição das antocianinas com o decorrer do tempo. Isto é explicado pelas reações que naturalmente acontecem durante o envelhecimento de um vinho fortificado também por influência do acetaldeído proveniente das aguardentes utilizadas que diminui o conteúdo de antocianinas enquanto aumenta a intensidade da cor tal como verificamos (Bakker e Timberlake, 1986).

Tabela 12: Antocianinas totais (unidade de absorvância - u.a) calculadas por diferença de pH.

	1	2	3	Sig(1)
Dezembro	412,80 ± 54,60 a BC	347,00 ± 14,87 b D	352,60 ± 35,45 ab C	*
Janeiro	432,70 ± 23,42 b B	506,10 ± 24,66 a B	441,90 ± 45,44 b B	**
Fevereiro	343,50 ± 79,53 ab C	408,80 ± 50,60 a C	286,40 ± 12,53 b D	*
Março	624,70 ± 16,33 c A	718,80 ± 17,02 a A	681,10 ± 22,84 b A	****
Abril	614,70 ± 7,10 b A	720,10 ± 42,90 a A	671,50 ± 27,53 a A	***
Maio	242,70 ± 8,65 a D	255,10 ± 17,93 a E	266,70 ± 14,19 a D	ns
Junho	370,20 ± 36,57 a BC	391,70 ± 17,57 a CD	351,00 ± 21,09 a C	ns
Julho	169,40 ± 7,50 b D	208,00 ± 8,95 a E	194,70 ± 12,88 a E	***
Sig(1)	****	****	****	

Nota: Os valores são representados com média ± desvio padrão. As diferentes letras minúsculas indicam diferenças estatisticamente significativas entre os três vinhos no mesmo mês e as letras maiúsculas indicam diferenças estatisticamente significativas entre meses para o mesmo vinho. (1) Significância do teste F: "n.s." indica diferenças não significativas; "*" – $p < 0,05$; "**" – $p < 0,01$; "***" – $p < 0,001$; "****" - $p < 0,0001$.

As antocianinas totais determinadas na primeira fase do cálculo do índice de ionização foram consideradas, apesar do uso de bissulfito, uma vez que este reagente é usado em pouca quantidade e os resultados obtidos mostraram-se coerentes com o esperado. Nos resultados obtidos (Tabela 13) observa-se que o vinho 2 possui valores mais altos de antocianinas totais, significativamente diferentes do vinho 1. Este por sua vez apresenta diferenças significativas do vinho 3. O vinho 2, apesar de maioritariamente apresentar valores superior ao vinho 3, em grande parte dos meses de análise esses valores não são significativamente diferentes, mostrando a semelhança entre estes dois vinhos e o destaque face ao vinho 1.

Tal como no método anterior, ao longo dos meses verifica-se uma diminuição da quantidade de antocianinas verificando-se diferenças altamente significativas entre estes, apesar do vinho 3 ser o que apresenta menos variações.

Estes valores traduzem-se na riqueza da coloração de um vinho tinto que ao longo do tempo podem apresentar uma elevada variação dos seus compostos. O envelhecimento nos meses de análise ocorreu em garrafa, mas um envelhecimento em madeira poderia proporcionar ainda mais variações da composição dos vinhos devido a reações com o oxigénio proveniente de espaços existentes na madeira velha onde ocorreria o envelhecimento, provocando reações com as antocianinas.

O período de análise seria interessante que se estendesse até um ano, pois este é o período em que a cor aumenta até ao seu máximo e em que há um enriquecimento em acetaldeído nas condições normais de envelhecimento de um Vinho do Porto.

Tabela 13: Antocianinas totais (unidade de absorvância - u.a) calculadas pelo primeiro procedimento do índice de ionização.

	1	2	3	Sig(1)
Dezembro	0,43 ± 0,01 b A	0,53 ± 0,04 a A	0,49 ± 0,01 a A	****
Janeiro	0,42 ± 0,01 c AB	0,54 ± 0,01 a A	0,47 ± 0,04 b AB	****
Fevereiro	0,38 ± 0,04 a B	0,42 ± 0,07 a B	0,40 ± 0,03 a B	ns
Março	0,35 ± 0,02 b A	0,40 ± 0,04 a B	0,35 ± 0,01 b B	*
Abril	0,28 ± 0,03 a C	0,27 ± 0,09 a C	0,35 ± 0,05 a B	ns
Maio	0,38 ± 0,00 c B	0,42 ± 0,01 a B	0,41 ± 0,01 b B	****
Junho	0,39 ± 0,04 a AB	0,41 ± 0,05 a B	0,39 ± 0,08 a B	ns
Julho	0,29 ± 0,04 b C	0,37 ± 0,04 a BC	0,34 ± 0,01 ab B	**
Sig(1)	****	****	****	

Nota: Os valores são representados com média ± desvio padrão. As diferentes letras minúsculas indicam diferenças estatisticamente significativas entre os três vinhos no mesmo mês e as letras maiúsculas indicam diferenças estatisticamente significativas entre meses para o mesmo vinho. (1) Significância do teste F: "*" – $p < 0,05$; "**" – $p < 0,01$; "****" - $p < 0,0001$.

5.5. Compostos fenólicos

A análise dos compostos fenólicos decorreu de janeiro 2021 a julho 2021. A diferença do período de análise comparativamente aos restantes procedimentos deveu-se à falta inicial de reagentes não entregues pelos fornecedores atempadamente devido à pandemia. Destas análises foram excluídos os valores relativos ao mês de maio devido à incoerência dos resultados possivelmente por um erro experimental originando a discrepância dos valores.

5.5.1. Compostos fenólicos não-flavonóides

Os compostos fenólicos não-flavonóides incluem diversos compostos provenientes das uvas ou adquiridos durante o envelhecimento responsáveis pela estrutura dos vinhos.

Estes compostos foram analisados e podemos observar (Tabela 14) que o vinho 2 apresenta maior quantidade de não-flavonóides seguido do vinho 3. Maioritariamente estes

dois vinhos não apresentam diferenças estatisticamente significativas entre si apesar de o vinho 3 apresentar quantidades inferiores de compostos não-flavonóides.

O vinho 1 é o que possui menor riqueza de não-flavonóides apresentando diferenças altamente significativas dos restantes vinhos.

Durante os meses em que realizaram estas análises podemos ver que os três vinhos apresentam diferenças altamente significativas entre os diversos meses sendo ainda possível observar uma diminuição da quantidade de compostos ao longo do tempo.

Tendo em conta a origem comum dos três vinhos podemos admitir que a diferença que se verifica na quantidade de compostos pode estar relacionada com a composição das aguardentes adicionadas que influenciam de diferentes formas as reações condicionando a quantidade de compostos detetados na análise.

Tabela 14: Compostos não-flavonóides (mg/l ác. gálico) dos vinhos 1, 2 e 3 analisados mensalmente.

	1	2	3	Sig(1)
Janeiro	1184,00 ± 10,29 c A	1366,00 ± 13,08 a A	1271,00 ± 14,00 b A	****
Fevereiro	1101,00 ± 6,00 c B	1230,00 ± 5,71 a B	1198,00 ± 6,55 b C	****
Março	1178,00 ± 1,18 b A	1248,00 ± 7,30 a B	1239,00 ± 6,81 a B	****
Abril	1084,00 ± 3,00 b C	1196,00 ± 38,36 a C	1227,00 ± 17,20 a B	****
Junho	1094,00 ± 7,11 b BC	1151,00 ± 4,93 a D	1152,00 ± 2,29 a D	****
Julho	1012,00 ± 2,89 b D	1091,00 ± 3,90 a E	1090,00 ± 3,00 a E	****
Sig(1)	****	****	****	

Nota: Os valores são representados com média ± desvio padrão. As diferentes letras minúsculas indicam diferenças estatisticamente significativas entre os três vinhos no mesmo mês e as letras maiúsculas indicam diferenças estatisticamente significativas entre meses para o mesmo vinho. (1) Significância do teste F: "****" - $p < 0,0001$

5.5.2. Compostos fenólicos flavonóides

Os compostos flavonóides incluem uma grande variedade de compostos e proporcionam as diversas características de compõem o vinho. Estes compostos são responsáveis por grande parte das alterações que ocorrem durante o envelhecimento devido às reações químicas que estão sujeitos.

Na tabela 15 observamos que o vinho 1 e 2 apresentam, inicialmente, valores mais elevados de flavonóides sofrendo oscilações ao longo dos meses. Comparando a análise inicial com os valores obtidos na última análise observamos um aumento dos compostos flavonóides. Os vinhos 2 e 3 apresentam diferenças significativas no vinho 1, mas maioritariamente não apresentam diferenças entre si. Ambos registam um aumento dos seus flavonóides ao longo dos meses apresentando diferenças altamente significativas. O valor obtido em janeiro para o vinho 2 apresenta irregularidades podendo dever-se a erros laboratoriais.

Estes valores podem ser explicados pelas reações de pigmentos que ocorrem, isto é, a combinação de certos compostos pode gerar um aumento da absorvância, mas sob as mesmas condições outros podem não ser detetáveis (Cheynier *et al.*, 2006).

Tabela 15: Compostos flavonóides (mg/l ác. gálico) dos vinhos 1, 2 e 3 analisados mensalmente

	1	**2**	**3**	**Sig(1)**
Janeiro	122,00 ± 37.15 a B	2,00 ± 42,00 b D	66,74 ± 14,13 a D	***
Fevereiro	299,90 ± 7,21 a A	213,10 ± 4,16 b BC	194,60 ± 6,17 c B	****
Março	131,50 ± 5,58 b B	194,60 ± 13,16 a C	89,37 ± 5,26 c C	****
Abril	219,40 ± 5,77 a AB	176,70 ± 37,61 b C	89,90 ± 18,55 c C	****
Junho	193,10 ± 7,35 b B	257,30 ± 9,00 a B	201,50 ± 5,77 b B	****
Julho	264,10 ± 94,23 b A	364,60 ± 39,85 a A	260,90 ± 3,90 b A	*
Sig(1)	****	****	****	

Nota: Os valores são representados com média ± desvio padrão. As diferentes letras minúsculas indicam diferenças estatisticamente significativas entre os três vinhos no mesmo mês e as letras maiúsculas indicam diferenças estatisticamente significativas entre meses para o mesmo vinho. (1) Significância do teste F: "*" – $p < 0,05$; "***" – $p < 0,001$; "****" – $p < 0,0001$

5.5.3. Fenóis totais

Os fenóis totais (Tabela 16) dos três vinhos apresentam diferenças significativas entre si nos diversos meses. O vinho 2 registou maiores quantidades de fenóis dos três vinhos enquanto o vinho 1 é o que possui menores valores. No entanto é o único que durante os meses de análise registou uma diminuição da quantidade de fenóis relativamente ao valor inicial.

Os restantes vinhos, apesar de mostrarem algumas variações ao longo das análises apresentam um aumento da quantidade de fenóis totais. Estas diferenças entre os meses dos vinhos 2 e 3 são altamente significativas.

Os valores obtidos e a sua variação estão de acordo com os valores de flavonóides e não-flavonóides observados. Relativamente ao perfil de antocianinas, este mostra uma evolução diferente dos fenóis totais isto pode ser devido aos diversos mecanismos de copigmentação e de diversas reações que ocorrem conforme os compostos disponíveis (Bakker e Timberlake, 1986; Asen *et al.*, 1972).

Tabela 16: Total de compostos fenólicos (mg/l ác. gálico) dos vinhos 1, 2 e 3 analisados mensalmente

	1	**2**	**3**	**Sig(1)**
Janeiro	1306,00 ± 34,38 b A	1368,00 ± 32,10 a B	1337,00 ± 2,20 ab BC	*
Fevereiro	1401,00 ± 2,20 b B	1443,00 ± 3,90 a AB	1393,00 ± 2,89 c A	****
Março	1309,00 ± 5,06 c A	1443,00 ± 9,38 a AB	1328,00 ± 2,88 b C	****
Abril	1303,00 ± 3,43 c A	1373,00 ± 2,20 a B	1317,00 ± 1,86 b C	****
Junho	1287,00 ± 1,18 c A	1408,00 ± 4,32 a B	1354,00 ± 1,86 b B	****
Julho	1276,00 ± 94,93 b A	1456,00 ± 40,49 a A	1351,00 ± 2,20 b B	**
Sig(1)	***	****	****	

Nota: Os valores são representados com média ± desvio padrão. As diferentes letras minúsculas indicam diferenças estatisticamente significativas entre os três vinhos no mesmo mês e as letras maiúsculas indicam diferenças estatisticamente significativas entre meses para o mesmo vinho. (1) Significância do teste F: "*" – $p < 0.05$; "**" – $p < 0.01$; "***" – $p < 0.001$; "****" – $p < 0,0001$

5.6. Análise sensorial da aguardente

A análise sensorial das aguardentes foi disponibilizada pelos certificados de controlo de qualidade de cada aguardente, disponíveis nos anexos III – a), b) e c).

Como podemos observar na tabela 17, as três aguardentes obtiveram resultados idênticos garantindo a qualidade destas para uso na fortificação de vinhos.

Tabela 17: Análise sensorial das três aguardentes utilizadas, fornecida pelo IVDP.

	1, 2 e 3
Limpidez	Límpido
Cor	Incolor
Aroma	Sem defeito percetível
Sabor	Sem defeito percetível
Defeito	Ausente
Designação	Aguardente própria para Vinho do Porto

5.7. Análise sensorial dos vinhos fortificados

A análise sensorial foi realizada de uma forma comparativa entre os três vinhos e de modo a garantir o cumprimento das normas de segurança da empresa, estas foram apenas realizadas pelo enólogo responsável pelo departamento de enologia da Sogevinus e que salienta a realização deste estudo. Neste tipo de análises, apesar da grande experiência do enólogo, as variações observadas ao longo dos meses podem ser devido a condições físicas do provador (como obstruções nasais, distrações, diferentes condições naturais na sala de provas…).

Os resultados obtidos encontram-se apresentados na tabela 18. Relativamente à coloração vemos que os vinhos 2 e 3, maioritariamente, apresentam semelhanças. Ao longo do tempo de análise o vinho 1 foi descrito como apresentando uma menor coloração, com tons mais castanhos, tonalidade mais evoluída, menos vermelhos e uma menor intensidade na cor. No que respeita o vinho 2 este destaca-se ao longo das análises como sendo um vinho, com uma tonalidade mais fechada, com mais vermelhos, mas menos vivos. O vinho 3 é descrito com características intermédias dos três. Quanto à coloração este vinho apresenta alguns tons vermelhos e castanhos.

Estes resultados descritos vão ao encontro do que observamos através das análises da cor, da intensidade, da tonalidade e das antocianinas uma vez que são estas os

principais compostos que influenciam a cor dos vinhos. Observamos claramente um destaque do vinho 2 e 3.

O mesmo acontece com a análise do aroma. Maioritariamente vemos semelhanças entre o vinho 2 e 3. O vinho 1 ao longo do período de análise apresenta um aroma menos complexo, mais direto a fruta fresca, mostrando uma ligeira evolução ao longo do tempo havendo algumas semelhanças ao vinho 3 em certas análises. Esse vinho apresenta aromas mais frescos e primários realçando a parte vegetal da uva. O vinho 2 apresenta aromas terciários, com mais evolução, menos frescos e semelhantes a frutas maduras.

Os sabores dos vinhos apresentam semelhanças principalmente entre o vinho 1 e o vinho 3. Estes vinhos mostram-se idênticos na boca, com corpo semelhante, frescos e com taninos bem presentes. O vinho 2 difere por apresentar um maior volume na boca, com maior presença de fruta, mais taninos e possui um final mais longo.

Estas características são devidas aos diversos compostos que compõem os vinhos e que foram analisados de forma geral através da determinação dos compostos fenólicos. Os resultados obtidos no aroma e no sabor vão ao encontro dos dados obtidos havendo um destaque do vinho 2 e algumas semelhanças entre o vinho 1 e 3 que apresentam de forma geral uma menor qualidade.

Tabela 18: Resultados da análise sensorial dos vinhos 1, 2 e 3.

	Cor	**Aroma**	**Sabor**
Dezembro	2 = 3	Diferentes	2 = 3
Janeiro	Diferentes	2 = 3	1 = 3
Fevereiro	Diferentes	1 = 3	1 = 3
Março	1 = 3	1 = 3	1 = 3
Abril	2 = 3	2 = 3	1 = 3
Maio	Todos Iguais	2 = 3	Todos Iguais
Junho	Todos Iguais	1 = 3	1 = 2
Julho	2 = 3	Todos Iguais	2 = 3

6. Conclusão

A importância do Vinho do Porto no comércio nacional e internacional é inegável e a busca por um produto de maior qualidade por parte das empresas produtoras é um objetivo comum. De forma a melhorar a qualidade são realizados diversos estudos como o que se apresenta para que se perceba a influência dos diferentes compostos no produto final e assim tentar controlar o máximo de fatores possíveis para garantir a produção desejada.

A aguardente vínica tem uma composição complexa e a sua adição ao Vinho do Porto define as características finais do vinho. Desta forma, é essencial entender as relações entre o vinho e a aguardente de forma a encontrar um equilíbrio que cumpra os requisitos legais e que garanta a maior qualidade possível.

Este trabalho surge por estudo interno da empresa que pretende averiguar se três das aguardentes normalmente utilizadas na fortificação condicionam a evolução dos vinhos de diferentes formas.

Perante os resultados obtidos vemos que os diferentes vinhos apresentam evolução dos parâmetros analisados e que acima de tudo apresentam diferentes evoluções entre si. Nas análises realizadas vemos que o vinho 2, de uma forma geral se destaca, por valores superiores de coloração e compostos e por melhores características sensoriais, enquanto o vinho 1 apresenta os menores valores e o vinho 3 possui resultados intermédios. Tendo em conta o objetivo da produção de um vinho de qualidade, os três vinhos possuem todos os requisitos para originar um bom Vinho do Porto, sendo que o vinho 2 se destaca por parâmetros mais ricos que lhe conferem uma melhor estrutura e podem garantir uma melhor evolução de certas características ao longo do tempo e produzir um vinho do estilo *ruby*, por exemplo.

Perante os resultados obtidos neste trabalho, é sugerido para trabalhos futuros, análises aprofundadas dos diversos parâmetros de forma a se tentar determinar que compostos específicos estão envolvidos nas reações para percebermos quais influenciam as características dos vinhos.

Face aos procedimentos realizados, seria indispensável neste tipo de estudos analisar amostras das aguardentes utilizadas para se conhecer aprofundadamente a sua composição e realizar as análises em ambientes mais controlados e estáveis, como o ambiente em que ocorre normalmente o envelhecimento em madeira, e com equipamentos mais adequados de forma a excluirmos possíveis erros por fatores externos.

Tendo em conta que um Vinho do Porto passa por estágio em madeira seria interessante realizar este estudo nestas condições de forma a contabilizarmos também a influência do contacto com a madeira nos diferentes vinhos, não só durante o primeiro ano,

que é quando ocorrem as principais mudanças, mas durante todo o estágio até ao engarrafamento de forma a acompanharmos todas as alterações que possam ocorrer.

7. Bibliografia

Andrade, P., Mendes, G., Falco, V., Valentao, P., & Seabra, R. (2001). Preliminary study of flavonols in port wine grape varieties. *Food Chemistry, 73*(4), 397-399.

Andresen, T., De Aguiar, F. B., & Curado, M. J. (2004). The Alto Douro wine region greenway. *Landscape and urban planning, 68*(2-3), 289-303.

Arnold, R. A., Noble, A. C., & Singleton, V. L. (1980). Bitterness and astringency of phenolic fractions in wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 28*(3), 675-678.

Asen, S., Stewart, R., & Norris, K. (1972). Co-pigmentation of anthocyanins in plant tissues and its effect on color. *Phytochemistry, 11*(3), 1139-1144.

Asenstorfer, R. E., Hayasaka, Y., & Jones, G. P. (2001). Isolation and structures of oligomeric wine pigments by bisulfite-mediated ion-exchange chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49*(12), 5957-5963.

Atanasova, V., Fulcrand, H., Cheynier, V., & Moutounet, M. (2002). Effect of oxygenation on polyphenol changes occurring in the course of wine-making. *Analytica Chimica Acta, 458*(1), 15-27.

Bakker, J., & Timberlake, C. (1986). The mechanism of color changes in aging port wine. *American journal of enology and viticulture, 37*(4), 288-292.

Bakker, J., & Timberlake, C. F. (1985). The distribution of anthocyanins in grape skin extracts of port wine cultivars as determined by high performance liquid chromatography. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 36*(12), 1315-1324.

Bakker, J., & Timberlake, C. F. (1997). Isolation, identification, and characterization of new color-stable anthocyanins occurring in some red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45*(1), 35-43.

Bakker, J., Bellworthy, S., Hogg, T., Kirby, R., Reader, H., Rogerson, F., Watkins, S., & Barnett, J. (1996). Two methods of port vinification: a comparison of changes during fermentation and of characteristics of the wines. *American journal of enology and viticulture, 47*(1), 37-41.

Barbosa, A., Ferreira, A. C. S., Pinho, P., Graça, A. R., Franco, J., & Hogg, T. (2003). Determination of free and bound terpenes and norisoprenoids during alcoholic fermentation of Port wine.

Belajova, E. (2012). Determination of selected wine phenolic constituents as possible markers for differentiation of wines. *Journal of Food and Nutrition Research, 51*(2), 117-122.

Boulton, R. (2001). The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: A critical review. *American journal of enology and viticulture, 52*(2), 67-87.

Brouillard, R., & Dangles, O. (1994). Anthocyanin molecular interactions: the first step in the formation of new pigments during wine aging? *Food Chemistry, 51*(4), 365-371.

Casassa, F., & Sari, S. (2006). Aplicación del sistema Cie-Lab a los vinos tintos. Correlación con algunos parámetros tradicionales. *Revista de Enología*(5/8).

Cheynier, V., & Rigaud, J. (1986). HPLC separation and characterization of flavonols in the skins of Vitis vinifera var. Cinsault. *American journal of enology and viticulture, 37*(4), 248-252.

Cheynier, V., Duenas-Paton, M., Salas, E., Maury, C., Souquet, J.-M., Sarni-Manchado, P., & Fulcrand, H. (2006). Structure and properties of wine pigments and tannins. *American journal of enology and viticulture, 57*(3), 298-305.

Cozzolino, D., Kwiatkowski, M., Parker, M., Cynkar, W., Dambergs, R., Gishen, M., & Herderich, M. (2004). Prediction of phenolic compounds in red wine fermentations by visible and near infrared spectroscopy. *Analytica Chimica Acta, 513*(1), 73-80.

Cruz, R. M. M. d. (2018). *Estudo da influência das aguardentes na qualidade do vinho do Porto. Interação entre os compostos fenólicos do vinho e os aldeídos das aguardentes.* ISA,

Cutzach, I., Chatonnet, P., & Dubourdieu, D. (2000). Influence of storage conditions on the formation of some volatile compounds in white fortified wines (Vins doux Naturels) during the aging process. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48*(6), 2340-2345.

De Pinho, P. G., Falqué, E., Castro, M., e Silva, H. O., Machado, B., & Ferreira, A. S. (2007). Further insights into the floral character of Touriga Nacional wines. *Journal of food science, 72*(6), S396-S401.

Decreto-Lei n.º 166/86 de 26 de junho.

Decreto-Lei n.º 173/2009 de 3 de agosto.

Foss. (2021). WineScan TM Brochure. Retrieved 17.06.2021 from https://www.fossanalytics.com/en/products/winescan

Fulcrand, H., dos Santos, P.-J. C., Sarni-Manchado, P., Cheynier, V., & Favre-Bonvin, J. (1996). Structure of new anthocyanin-derived wine pigments. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*(7), 735-739.

Garrido, J., & Borges, F. (2013). Wine and grape polyphenols—A chemical perspective. *Food research international, 54*(2), 1844-1858.

Glories, Y. (1978). *Recherches sur la matière colorante des vins rouges*: Université de Bordeaux II.

Glories, Y. (1984). La couleur des vins rouges: 2e. Partie: mesure, origine et interpretation. *Connaissance de la Vigne et du Vin, 18*.

Guichard, F., Pereira, G. M., Guimaraens, D., Peixoto, F., Almeida, A. R. d., Lopes, T. S., Sandeman, G., & Carvalho, M. (2003). O Vinho do Porto.

Herderich, M., & Smith, P. (2005). Analysis of grape and wine tannins: Methods, applications and challenges. *Australian Journal of Grape and Wine Research, 11*(2), 205-214.

Ho, P., Silva, M. d. C. M., & Hogg, T. A. (2001). Changes in colour and phenolic composition during the early stages of maturation of port in wood, stainless steel and glass. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 81*(13), 1269-1280.

Hogg, T. (2013). Port. *Sweet, Reinforced and Fortified Wines: Grape Biochemistry, Technology and Vinification*, 305-317.

Instituto da Vinha e do Vinho, I. P. (2016). Portugal. Retrieved 23.10.2021 from https://www.ivv.gov.pt/np4/89/

IVDP. (2019a). Introdução. Retrieved 17.03.2021 from https://www.ivdp.pt/consumidor/swn8q-introducao

IVDP. (2019b). Região. Retrieved 05.02.2021 from https://www.ivdp.pt/consumidor/regiao-caracteristicas

IVDP. (2019c). Cultura da Vinha. Retrieved 24.01.2021 from https://www.ivdp.pt/consumidor/cultura-da-vinha

IVDP. (2019d). Doçura. Retrieved 22.01.2021 from https://www.ivdp.pt/pt/vinhos/vinhos-do-porto/caracteristicas-cor-e-docura/

IVDP. (2019e). Cor. Retrieved 08.01.2021 from https://www.ivdp.pt/pt/vinhos/vinhos-do-porto/caracteristicas-cor-e-docura/

Jurd, L. (1969). Review of polyphenol condensation reactions and their possible occurrence in the aging of wines. *American journal of enology and viticulture, 20*(3), 191-195.

Jurd, L., & Somers, T. (1970). The formation of xanthylium salts from proanthocyanidins. *Phytochemistry, 9*(2), 419-427.

Kramling, T. E., & Singleton, V. (1969). An estimate of the nonflavonoid phenols in wines. *American journal of enology and viticulture, 20*(2), 86-92.

Liao, H., Cai, Y., & Haslam, E. (1992). Polyphenol interactions. Anthocyanins: co-pigmentation and colour changes in red wines. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 59*(3), 299-305.

Longra, D. d. (2021). Processo produtivo. Retrieved 16.07.2021 from https://destilarialongra.pt/

Mateus, N., & de Freitas, V. (2001). Evolution and stability of anthocyanin-derived pigments during port wine aging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49*(11), 5217-5222.

Mateus, N., de Pascual-Teresa, S., Rivas-Gonzalo, J. C., Santos-Buelga, C., & de Freitas, V. (2002b). Structural diversity of anthocyanin-derived pigments in port wines. *Food Chemistry, 76*(3), 335-342.

Mateus, N., Machado, J. M., & de Freitas, V. (2002a). Development changes of anthocyanins in Vitis vinifera grapes grown in the Douro Valley and concentration in respective wines. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 82*(14), 1689-1695.

Mateus, N., Oliveira, J., Pissarra, J., González-Paramás, A. M., Rivas-Gonzalo, J. C., Santos-Buelga, C., Silva, A. M., & de Freitas, V. (2006). A new vinylpyranoanthocyanin pigment occurring in aged red wine. *Food Chemistry, 97*(4), 689-695.

Mayson, R. (2019). *The wines of Portugal*: Infinite Ideas.

Morata, A., Gómez-Cordovés, M., Colomo, B., & Suárez, J. (2003a). Pyruvic acid and acetaldehyde production by different strains of Saccharomyces cerevisiae: relationship with vitisin A and B formation in red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51*(25), 7402-7409.

Morata, A., Gómez-Cordovés, M., Suberviola, J., Bartolomé, B., Colomo, B., & Suárez, J. (2003b). Adsorption of anthocyanins by yeast cell walls during the fermentation of red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51*(14), 4084-4088.

Moreira, N., & de Pinho, P. G. (2011). Port wine. *Advances in food and nutrition research, 63*, 119-146.

Nel, A. P. (2018). Tannins and anthocyanins: From their origin to wine analysis-A review. *South African Journal of Enology and Viticulture, 39*(1), 1-20.

OIV. (2021). Chromatic Characteristics. *Compendium of International Methods of Analysis of Wines and Musts (2 vol.).* Retrieved 17.06.2021 from https://www.oiv.int/en/technical-standards-and-documents/methods-of-analysis/compendium-of-international-methods-of-analysis-of-wines-and-musts-2-vol#oiv-ma-as2-11

Pereira, G. M. (1996). A região do vinho do Porto: origem e evolução de uma demarcação pioneira. *Douro: estudos & documentos, vol. 1, n. º 1, 1996 (1. º), p. 177-194*.

Pissarra, J., Lourenço, S., Machado, J. M., Mateus, N., Guimaraens, D., & de Freitas, V. (2005). Contribution and importance of wine spirit to the port wine final quality—initial approach. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 85*(7), 1091-1097.

Portaria n.º 413/2001 de 18 de abril.

Porter, L. J. (1988). Flavans and proanthocyanidins. In *The flavonoids* (pp. 21-62): Springer.

Price, S., Breen, P., Valladao, M., & Watson, B. (1995). Cluster sun exposure and quercetin in Pinot noir grapes and wine. *American journal of enology and viticulture, 46*(2), 187-194.

Queiroz, J. B. L. d. (2002). Condução e relações rendimento qualidade de castas nobres do Douro.

Reader, H., & Dominguez, M. (2003). Fortified Wines Sherry, Port and Madeira. In *Fermented Beverage Production* (pp. 157-194): Springer.

Regulamento 84/2010, de 8 de fevereiro. Diário da República n.º 26/2010, Série II de 2010-02-08.: Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas - Instituto dos Vinhos do Douro e do Porto, I. P.

Regulamento n.º 242/2010 de 15 de março.

Ribéreau-Gayon, P. (1970). Le dosage des composés phénoliques totaux dans les vins rouges. *Chim. Anal, 52*(6), 627-631.

Ribéreau-Gayon, P. (1974). The chemistry of red wine color.

Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., & Dubourdieu, D. (2006). *Handbook of enology, volume 2: the chemistry of wine-stabilization and treatments* (Vol. 2): John Wiley & Sons.

Ribéreau-Gayon, P., Pontallier, P., & Glories, Y. (1983). Some interpretations of colour changes in young red wines during their conservation. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 34*(5), 505-516.

Ritchey, J. G., & Waterhouse, A. L. (1999). A standard red wine: monomeric phenolic analysis of commercial Cabernet Sauvignon wines. *American journal of enology and viticulture, 50*(1), 91-100.

Rivas-Gonzalo, J. C., Bravo-Haro, S., & Santos-Buelga, C. (1995). Detection of compounds formed through the reaction of malvidin 3-monoglucoside and catechin in the presence of acetaldehyde. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 43*(6), 1444-1449.

Rogerson, F., & De Freitas, V. (2002). Fortification spirit, a contributor to the aroma complexity of Port. *Journal of food science, 67*(4), 1564-1569.

Romero, C., & Bakker, J. (2000). Effect of acetaldehyde and several acids on the formation of vitisin A in model wine anthocyanin and colour evolution. *International journal of food science & technology, 35*(1), 129-140.

Sogevinus. (2021). Enologia Vinho do Porto. Retrieved 15.03.2021 from https://sogevinus.com/port-wine/

Somers, T. (1971). The polymeric nature of wine pigments. *Phytochemistry, 10*(9), 2175-2186.

Somers, T. C., & Evans, M. E. (1974). Wine quality: Correlations with colour density and anthocyanin equilibria in a group of young red wines. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 25*(11), 1369-1379.

Somers, T., & Verette, E. (1988). Phenolic composition of natural wine types. In *Wine analysis* (pp. 219-257): Springer.

Sousa, M., Pereira, C., Guerra, J., & Abade, E. (2007). Caracterização de castas cultivadas na Região vitivinícola de Trás-os-Montes. *Sub-regiões de Chaves, Planalto Mirandês e Valpaços. Dirección Regional de Agricultura e Pescas do Norte. Ministerio da Agricultura de Desenvolvimento Rural e das Pescas. Colecção: Uma Agricultura com Norte*, 57-58.

Taylor's. (2020). Como é feito o Vinho do Porto? Retrieved 06.01.2021 from https://www.taylor.pt/pt/o-que-e-o-vinho-do-porto/como-e-feito-o-vinho-do-porto

Timberlake, C., & Bridle, P. (1976). Interactions between anthocyanins, phenolic compounds, and acetaldehyde and their significance in red wines. *American journal of enology and viticulture, 27*(3), 97-105.

Tredoux, A., & Ferreira, A. S. (2012). Fortified wines: styles, production and flavour chemistry. In *Alcoholic Beverages* (pp. 159-179): Elsevier.

Waterhouse, A. L. (2002). Wine phenolics. *Annals of the New York Academy of Sciences, 957*(1), 21-36.

Anexos

Anexo I – Análises realizadas pelo WineScan

Specifications

Applications

		Ranges within product type*			
Components	**Unit**	**Must**	**Must under fermentation**	**Finished wine**	**comments**
Absorbance** A420 nm	Absorbance units			0.002 – 1.20	2 mm cuvette
Absorbance** A520 nm	Absorbance units			0.08 – 3.0	2 mm cuvette
Absorbance*** A620 nm	Absorbance units			0.02 – 0.40	2 mm cuvette
Alpha amino nitrogen	mg/l	35 - 280			
Ammonia	mg/l	20 - 200			
Citric acid	g/l			0.2-1	
CO_2	g/l		400 - 1200	200 - 1100	
Density	g/ml	1.05 - 1.12	0.98 - 1.10	0.98 - 1.03	
Ethanol	% Vol.	0.01 - 0.4	1.6 - 9	8 - 16	
Extract	g/l	150 - 300			
Fructose	g/l	60 - 160		0.2-10; 1 - 45	2 calibrations
Gluconic acid	g/l	0.2 - 2.5		0.2 - 1.5	
Glucose	g/l	65 - 145		0.2-6; 1 - 25	2 calibrations
Glucose/fructose	g/l	95 - 300	5 - 200	0.2-20; 20-50	2 calibrations
Glycerol	g/l	0.2 - 2.0		4-10	
Lactic acid	g/l	0.1 - 2.5		0.1-3	
Malic acid	g/l	1 - 8	1 - 5	0.1 - 4	
pH	None	2.8 - 3.9	3.2 - 3.8	2.8 - 4	
Potassium	mg/l	900 - 3000			
Reducing sugar	g/l	120 -240	5 - 200	0.5-20; 20-150	2 calibrations
Sorbic acid	mg/l			20 - 300	
Tartaric acid	g/l	5 - 8		1-4.5	
Total acidity	g/l	3 - 11	2.6 - 7.1	2-5.7	Expressed as sulphoric acid
Total polyphenols (Folin C)	None			30 - 60	
Total soluble solids	°Brix	10 - 25			
Volatile acidity	g/l	0.05 - 0.5	0.1 - 0.7	0.1 - 1.2	Expressed as acetic acid.

**Performance details are available in the application notes corresponding the components and product type.*
***Requires colour module.*

Anexo II – Ficha de Prova. A terminologia A, B e C representam os vinhos 1, 2 e 3 respetivamente.

PROVA ENSAIOS DE DIFERENTES AGAUARDENTES	
DATA	
VINHO A	
VINHO B	
VINHO C	
COR	
Todos iguais	
A igual a B	
A igual a C	
B igual a C	
Todos diferentes	
Observações	
AROMA	
Todos iguais	
A igual a B	
A igual a C	
B igual a C	
Todos diferentes	
Observações	
SABOR	
Todos iguais	
A igual a B	
A igual a C	
B igual a C	
Todos diferentes	
Observações	

Anexo III – Tabelas ANOVA de comparação dos três vinhos para os diferentes meses

Tabela 19: Resultados da análise estatística da Intensidade de Glories entre os três vinhos nos diferentes meses.

	Dezembro	Janeiro	Fevereiro	Março	Abril	Junho	Julho
F	1235,00	1226,00	177,40	334,20	740,20	3360,00	1531,00
P value	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
P value summary	****	****	****	****	****	****	****
Significant diff. among means (P < 0.05)?	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
R square	0,9952	0,9951	0,9673	0,9824	0,992	0,9982	0,9961

Tabela 20: Resultados da análise estatística da Intensidade de Sudraud entre os três vinhos nos diferentes meses.

	Dezembro	Janeiro	Fevereiro	Março	Abril	Maio	Junho	Julho
F	1642,00	1105,00	138,70	253,00	1063,00	1063,00	2327,00	1276,00
P value	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
P value summary	****	****	****	****	****	****	****	****
Significant diff. among means (P < 0.05)?	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
R square	0,9964	0,9946	0,9585	0,9768	0,9944	0,9944	0,9974	0,9953

Tabela 21: Resultados da análise estatística da Tonalidade entre os três vinhos nos diferentes meses.

	Dezembro	Janeiro	Fevereiro	Março	Abril	Maio	Junho	Julho
F	572,20	175,90	84,50	12,00	375,50	27,00	164,60	73,00
P value	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0014	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
P value summary	****	****	****	**	****	****	****	****
Significant diff. among means (P < 0.05)?	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
R square	0,9896	0,967	0,9337	0,6667	0,9843	0,8182	0,9648	0,9241

Tabela 22: Resultados da análise estatística da Percentagem de Amarelo entre os três vinhos nos diferentes meses.

	Dezembro	Janeiro	Fevereiro	Março	Abril	Maio	Junho	Julho
F	745,30	202,30	84,93	8,43	526,50	25,58	159,60	149,10
P value	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0052	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
P value summary	****	****	****	**	****	****	****	****
Significant diff. among means (P < 0.05)?	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
R square	0,992	0,9712	0,934	0,5842	0,9887	0,81	0,9638	0,9613

Tabela 23: Resultados da análise estatística da Percentagem de Vermelho entre os três vinhos nos diferentes meses.

	Dezembro	Janeiro	Fevereiro	Março	Abril	Maio	Junho	Julho
F	1550,00	251,60	57,65	15,77	818,00	52,97	188,60	107,20
P value	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0004	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
P value summary	****	****	****	***	****	****	****	****
Significant diff. among means (P < 0.05)?	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
R square	0,9961	0,9767	0,9057	0,7244	0,9927	0,8983	0,9692	0,947

Tabela 24: Resultados da análise estatística da Percentagem de Azul entre os três vinhos nos diferentes meses.

	Dezembro	Janeiro	Fevereiro	Março	Abril	Maio	Junho	Julho
F	184,80	48,95	9,62	8,84	50,74	4,84	13,35	21,14
P value	<0,0001	<0,0001	0,0032	0,0044	<0,0001	0,0287	0,0009	0,0001
P value summary	****	****	**	**	****	*	***	***
Significant diff. among means (P < 0.05)?	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
R square	0,9686	0,8908	0,6158	0,5956	0,8943	0,4466	0,6899	0,7789

Tabela 25: Resultados da análise estatística do Índice de Glories entre os três vinhos nos diferentes meses.

	Dezembro	Janeiro	Fevereiro	Março	Abril	Maio	Junho	Julho
F	1421,00	256,00	54,56	15,46	827,60	50,31	186,30	106,90
P value	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0005	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
P value summary	****	****	****	***	****	****	****	****
Significant diff. among means (P < 0.05)?	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
R square	0,9958	0,9771	0,9009	0,7205	0,9928	0,8935	0,9688	0,9469

Tabela 26: Resultados da análise estatística de Antocianinas Totais por diferença de pH entre os três vinhos nos diferentes meses.

	Dezembro	Janeiro	Fevereiro	Março	Abril	Maio	Junho	Julho
F	4,47	7,45	6,22	31,23	15,75	3,63	2,98	19,07
P value	0,0355	0,0079	0,014	<0,0001	0,0004	0,0584	0,0889	0,0002
P value summary	*	**	*	****	***	ns	ns	***
Significant diff. among means (P < 0.05)?	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	Yes
R square	0,4268	0,5539	0,509	0,8388	0,7242	0,3772	0,3319	0,7607

Tabela 27: Resultados da análise estatística de Antocianinas Totais pelo Índice de Ionização entre os três vinhos nos diferentes meses.

	Dezembro	Janeiro	Fevereiro	Março	Abril	Maio	Junho	Julho
F	22,62	32,50	1,20	6,25	2,24	112,20	0,10	7,46
P value	<0,0001	<0,0001	0,3348	0,0138	0,1496	<0,0001	0,9018	0,0078
P value summary	****	****	ns	*	ns	****	ns	**
Significant diff. among means (P < 0.05)?	Yes	Yes	No	Yes	No	Yes	No	Yes
R square	0,7903	0,8442	0,1667	0,5103	0,2714	0,9492	0,01707	0,5544

Tabela 28: Resultados da análise estatística de Não-Flavonóides entre os três vinhos nos diferentes meses.

	Janeiro	Fevereiro	Março	Abril	Maio	Junho	Julho
F	264,70	607,60	213,90	47,89	129,50	162,80	939,20
P value	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
P value summary	****	****	****	****	****	****	****
Significant diff. among means (P < 0.05)?	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
R square	0,9778	0,9902	0,9727	0,8887	0,9557	0,9644	0,9937

Tabela 29: Resultados da análise estatística de Fenóis Totais entre os três vinhos nos diferentes meses.

	Janeiro	Fevereiro	Março	Abril	Maio	Junho	Julho
F	6,63	381,50	640,50	1011,00	12,85	2340,00	11,45
P value	0,0115	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,001	<0,0001	0,0017
P value summary	*	****	****	****	**	****	**
Significant diff. among means (P < 0.05)?	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
R square	0,5251	0,9845	0,9907	0,9941	0,6817	0,9974	0,6561

Tabela 30: Resultados da análise estatística de Flavonóides entre os três vinhos nos diferentes meses.

	Janeiro	Fevereiro	Março	Abril	Maio	Junho	Julho
F	16,18	441,80	181,50	36,45	124,00	108,50	4,98
P value	0,0004	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0267
P value summary	***	****	****	****	****	****	*
Significant diff. among means (P < 0.05)?	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
R square	0,7295	0,9866	0,968	0,8587	0,9538	0,9476	0,4534

Anexo IV – Tabelas ANOVA de comparação dos diferentes meses para cada vinho

Tabela 31: Resultados da análise estatística da Intensidade de Glories entre os diferentes meses para cada vinho.

	1	2	3
F	132,00	283,70	47,87
P value	<0,0001	<0,0001	<0,0001
P value summary	****	****	****
Significant diff. among means (P < 0.05)?	Yes	Yes	Yes
R square	0,9665	0,9841	0,9128

Tabela 32: Resultados da análise estatística da Intensidade de Sudraud entre os diferentes meses para cada vinho.

	1	2	3
F	50,59	1,38	30,00
P value	<0,0001	0,2462	<0,0001
P value summary	****	ns	****
Significant diff. among means (P < 0.05)?	Yes	No	Yes
R square	0,9171	0,2323	0,8678

Tabela 33: Resultados da análise estatística da Tonalidade entre os diferentes meses para cada vinho.

	1	2	3
F	41,09	36,90	21,07
P value	<0,0001	<0,0001	<0,0001
P value summary	****	****	****
Significant diff. among means (P < 0.05)?	Yes	Yes	Yes
R square	0,8999	0,8898	0,8217

Tabela 34: Resultados da análise estatística da Percentagem de Amarelo entre os diferentes meses para cada vinho.

	1	2	3
F	29,81	185,20	37,26
P value	<0,0001	<0,0001	<0,0001
P value summary	****	****	****
Significant diff. among means (P < 0.05)?	Yes	Yes	Yes
R square	0,867	0,9759	0,8907

Tabela 35: Resultados da análise estatística da Percentagem de Vermelho entre os diferentes meses para cada vinho.

	1	2	3
F	29,81	185,20	37,26
P value	<0,0001	<0,0001	<0,0001
P value summary	****	****	****
Significant diff. among means (P < 0.05)?	Yes	Yes	Yes
R square	0,867	0,9759	0,8907

Tabela 36: Resultados da análise estatística da Percentagem de Azul entre os diferentes meses para cada vinho.

	1	2	3
F	171,70	447,80	249,40
P value	<0,0001	<0,0001	<0,0001
P value summary	****	****	****
Significant diff. among means (P < 0.05)?	Yes	Yes	Yes
R square	0,9741	0,9899	0,982

Tabela 37: Resultados da análise estatística do índice de Glories entre os diferentes meses para cada vinho.

	1	2	3
F	29,96	187,90	37,37
P value	<0,0001	<0,0001	<0,0001
P value summary	****	****	****
Significant diff. among means (P < 0.05)?	Yes	Yes	Yes
R square	0,8676	0,9763	0,891

Tabela 38: Resultados da análise estatística de Antocianinas Totais por diferença de pH entre os diferentes meses para cada vinho.

	1	2	3
F	88,28	238,80	237,70
P value	<0,0001	<0,0001	<0,0001
P value summary	****	****	****
Significant diff. among means (P < 0.05)?	Yes	Yes	Yes
R square	0,9508	0,9812	0,9811

Tabela 39: Resultados da análise estatística de Antocianinas Totais pelo Índice de Ionização entre os diferentes meses para cada vinho.

	1	2	3
F	22,46	15,20	10,70
P value	<0,0001	<0,0001	<0,0001
P value summary	****	****	****
Significant diff. among means (P < 0.05)?	Yes	Yes	Yes
R square	0,8309	0,7687	0,7007

Tabela 40: Resultados da análise estatística de Não-Flavonóides entre os diferentes meses para cada vinho.

	1	2	3
F	586,50	149,30	210,10
P value	<0,0001	<0,0001	<0,0001
P value summary	****	****	****
Significant diff. among means (P < 0.05)?	Yes	Yes	Yes
R square	0,9919	0,9689	0,9777

Tabela 41: Resultados da análise estatística de Fenóis Totais entre os diferentes meses para cada vinho.

	1	2	3
F	6,16	15,60	37,69
P value	0,0003	<0,0001	<0,0001
P value summary	***	****	****
Significant diff. among means (P < 0.05)?	Yes	Yes	Yes
R square	0,569	0,7697	0,8898

Tabela 42: Resultados da análise estatística de Flavonóides entre os diferentes meses para cada vinho.

	1	2	3
F	14,46	83,74	284,30
P value	<0,0001	<0,0001	<0,0001
P value summary	****	****	****
Significant diff. among means (P < 0.05)?	Yes	Yes	Yes
R square	0,7508	0,9458	0,9834