

DM

Maturação de Castas DOP Madeira
Caracterização do Verdelho

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Anísia Tatiana Rodrigues Martins

MESTRADO EM BIOQUÍMICA APLICADA



UNIVERSIDADE da MADEIRA

A Nossa Universidade

www.uma.pt

fevereiro | 2018

Maturação de Castas DOP Madeira **Caracterização do Verdelho**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Anísia Tatiana Rodrigues Martins

MESTRADO EM BIOQUÍMICA APLICADA

ORIENTADOR

José Carlos Antunes Marques

CO-ORIENTADORA

Vanda Nulita Gomes Pereira

Dedicado à memória de José Alberto Ascensão Martins



Agradecimentos

Gostaria de começar por agradecer à minha família, em especial a minha mãe Maria José Martins e à minha irmã Fátima Martins por todo o amor, carinho e apoio incondicional nos bons e nos maus momentos que passamos juntas.

Um obrigada especial ao meu irmão José Martins e aos meus sobrinhos (Catarina, Nicklas, Patrick e Stine) também pelo amor, carinho, força e amizade e por estarem sempre presentes a alegrarem a minha vida.

Queria também agradecer às pessoas que contribuíram diretamente para a conclusão desta etapa:

Gostaria de expressar a minha gratidão ao meu orientador Professor José Carlos Marques pela oportunidade de desenvolver este trabalho, pela sua orientação e partilha de conhecimentos, permitindo-me desenvolver novas competências e com isso engrandecer a minha formação profissional e pessoal.

Queria agradecer também a minha co-orientadora, a Doutora Vanda Pereira, e também a Doutora Cristina Pereira pelo vosso apoio, disponibilidade, partilha de conhecimentos, suporte e amizade.

O meu muito obrigada aos meus colegas de laboratório: Andreia Miranda, Carolina Vieira, Isabel Freitas, Maria João Carvalho, João Leça, Qianzhu Zhao e Luís Gomes pela amizade, companheirismo e partilha constante de conhecimento.

Queria agradecer ao Instituto do Vinho, do Bordado e do Artesanato da Madeira, IP-RAM, por ceder amostras, material e espaço utilizados no decorrer deste trabalho. Agradeço em particular à Eng.^a Carlota Ferreira e Eng.^a Karina Freitas pela partilha de conhecimentos e pelo apoio prestado. Gostaria de agradecer aos funcionários do Campo Experimental do Estreito da Calheta, Dona Rosário, Dona Jacinta, Senhor Lino e em especial à Dona Purificação pela simpatia, apoio e partilha de conhecimento.

Um agradecimento especial a Eng.^a Paula Cabaço pela simpatia e incentivo para a realização deste trabalho.

Finalmente gostaria de agradecer à Universidade da Madeira e a todas as pessoas que tive a oportunidade de conhecer ao longo da minha vida académica, em especial ao Emanuel Gouveia, Catarina Cruz, Dina Henriques, Dina Maciel, Igor Afonso, Joanna Pataca, Marisa Faria, Natacha Antunes, Priscilla Figueira e Tomásia Fernandes.

Resumo

O Verdelho é uma das castas brancas mais utilizadas na produção de vinho DOP “Madeira”, embora possa ser também utilizada na produção de vinhos tranquilos. Atualmente é uma das castas selecionadas no programa de reconversão de vinhas.

Este trabalho teve como principal objetivo a caracterização da casta Verdelho durante a fase de maturação e relacionar os diferentes sistemas de condução, porta enxertos e anos de plantação com a qualidade das uvas e do vinho produzido, através de microvinificações. As uvas de 5 clones diferentes foram também caracterizadas à data da vindima. Neste estudo foram utilizadas as técnicas de cromatografia líquida e gasosa e de espectrofotometria UV-Vis, e determinados parâmetros físico-químicos básicos para a obtenção de dados referentes às concentrações de açúcares redutores, ácidos orgânicos, compostos voláteis, cor, composição polifenólica total e índice de maturação. Os dados foram analisados estatisticamente por ANOVA e PCA.

Relativamente aos fatores culturais estudados, observou-se que as vinhas em espaldeira e mais novas apresentaram cachos de dimensão e peso superiores (16-18 cm de comprimento e 450-650 g de peso) e concentração mais elevada em açúcares redutores (40-50 g/L de glucose e 25-55 g/L de frutose) ao longo da maturação, assim como de compostos voláteis carbonilo (7326,03 mg/L) à data da vindima. As uvas da espaldeira de vinhas mais velhas e da latada foram as que registaram menores dimensões e pesos. Quanto às uvas dos diferentes clones foram registadas diferenças no teor de açúcares (máx.13%), ácidos orgânicos (máx. 22%) e compostos carbonilo (máx. 66%) entre eles. A análise multivariada (PCA) veio confirmar estas diferenças. Os resultados obtidos das microvinificações demonstraram que as diferenças encontradas resultam sobretudo do processo de vinificação e não da influência dos diferentes sistemas de condução, idade das vinhas e porta enxertos.

Palavras-chave: Verdelho, Uvas, Maturação, Viticultura, Sistema de Condução, Porta Enxerto

Summary

Verdelho is one of the most commonly used white grape varieties for the production of "Madeira" PDO wine, although it can also be used for the production of table wines. It is currently one of the vine varieties selected in the vineyard reconversion program.

This work had as its main objectives the characterization of Verdelho grapes during the maturation stage and to establish a relationship between the different systems of vine conduction, rootstocks and years of plantation with the quality of the grapes and the wine produced, through microvinifications. The grapes of 5 different clones were also characterized at the time of harvest. Liquid and gas chromatography and UV-Vis spectrophotometry techniques were used, as well as certain basic physico-chemical parameters, to obtain the data on concentrations of reducing sugars, organic acids, volatile compounds, colour, total polyphenolic composition and index of ripeness. Data were statistically analysed by ANOVA and PCA.

Regarding the cultural factors studied, it was shown that the younger vineyards in espalier presented grape bunches of larger size and weight (16-18 cm in length and 450-650 g in weight) and higher concentration in reducing sugars (40-50 g/L in glucose and 25-55 g/L in fructose) throughout its maturation, as well as volatile carbonyl compounds (7326.03 mg/L) at the time of harvest. The grapes of older vines in espalier and of the trellising system registered smaller dimensions and weights. As for the grapes of the different clones, differences in the sugar content (up to 13%), organic acids (up to 22%) and carbonyl compounds (up to 66%) were observed. A multivariate analysis (PCA) confirmed these differences. The results obtained from the microvinifications showed that the differences found resulted mainly from the vinification process and not from the influence of the different systems of conduction, age of the vines and rootstocks.

Keywords: Verdelho, Grapes, Ripening, Viticulture, Conduction System, Rootstock

Índice

PARTE I - INTRODUÇÃO	1
1. VITICULTURA.....	2
1.1. A videira.....	3
1.2. Ciclo de vida	5
1.3. Sistemas de condução.....	8
1.4. Porta enxertos.....	11
1.5. Verdelho e a sua cultura	12
2. A MATURAÇÃO DA UVA	13
2.1. O bago de uva	14
2.2. Evolução dos açúcares	17
2.3. Evolução dos ácidos orgânicos	18
2.4. Evolução dos compostos fenólicos.....	20
2.5. Evolução dos compostos voláteis.....	21
3. REGIÃO DEMARCADA DA MADEIRA	22
4. OBJETIVOS E ENQUADRAMENTO	23
PARTE II - EXPERIMENTAL	25
5. ACOMPANHAMENTO DA MATURAÇÃO E COMPARAÇÃO DE CLONES.	26
5.1. Amostras	26
5.2. Parâmetros físico-químicos básicos	28
5.3. Ácidos orgânicos e açúcares redutores.....	28
5.3.1. Reagentes e padrões	28
5.3.2. Preparação de amostras	29
5.3.3. Análise por HPLC-PDA	29
5.4. Determinação da composição volátil	30
5.4.1. Reagentes e padrões	30
5.4.2. Preparação das amostras.....	30
5.4.3. Análise por HS-SPME/GC-MS	30
5.5. Determinação do índice polifenólico total (IPT).....	31
5.5.1. Reagentes e padrões	31
5.5.2. Preparação das amostras.....	31
5.5.3. Determinação do índice polifenólico total pelo método de Folin-Ciocalteu.....	32
5.6. Determinação do índice de maturação fenólica pelo método ITV	32
5.6.1. Reagentes	32
5.6.2. Preparação das amostras.....	32
5.6.3. Determinação do índice de maturação fenólica.....	33
5.7. Análise e tratamento de dados	33
6. MICROVINIFICAÇÃO DAS UVAS DE DIFERENTES PARCELAS	33
6.1. Amostras	33
6.2. Ácidos orgânicos, açúcares redutores, glicerol e etanol.....	34
6.2.1. Reagentes e padrões	34
6.2.2. Preparação das amostras.....	34
6.2.3. Análise por HPLC-PDA/RI.....	34
6.3. Determinação da composição volátil	35
6.3.1. Reagentes e padrões	35
6.3.2. Preparação das amostras.....	35
6.3.3. Análise por HS-SPME/GC-MS	35
6.4. Determinação da cor pelos métodos Glories e CIELab	36
6.4.1. Preparação de amostras	36
6.4.2. Análise por espectrofotometria ultravioleta-visível	36
6.5. Determinação do índice polifenólico total.....	36

6.5.1. Reagentes e padrões	36
6.5.2. Determinação do índice polifenólico total pelo método de Folin-Ciocalteu.....	37
6.6. Análise e tratamento de dados	37
PARTE III - RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
7. RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
7.1. Acompanhamento da maturação das uvas	40
7.2. Comparação de clones	56
7.3. Microvinificação das uvas de diferentes parcelas	66
PARTE IV - CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS.....	79
8. CONCLUSÕES	80
9. PERSPECTIVAS FUTURAS.....	82
10. REFERÊNCIAS	83
11. APÊNDICE.....	89

Lista de Figuras

Figura 1: Esquema de uma videira, adaptado de Hamman (6).	4
Figura 2: Ciclo de crescimento e reprodutivo da videira, no hemisfério norte, adaptado de Moreno (7).....	5
Figura 3: Estados fenológicos (8).....	6
Figura 4: Exemplos de tipos de sistema de condução figura adaptada de Puckette (11).	9
Figura 5: Sistema de condução em latada (a) e em espaldeira (b).	10
Figura 6: Casta Verdelho.	13
Figura 7: Evolução do bago de uva (1).	15
Figura 8: Constituição anatómica de um bago de uva, adaptado de Jackson (25).	15
Figura 9: Pontos de amostragem, talhões 1A, 1B, 1C e 12.	26
Figura 10: Registo fotográfico da maturação de cachos representativos de cada talhão em estudo.	41
Figura 11: Evolução da largura e comprimento dos cachos durante a fase de maturação.	42
Figura 12: Evolução do peso médio dos cachos ao longo da maturação.	43
Figura 13: Peso de um bago (a) e volume de 100 bagos (b).	44
Figura 14: Evolução da soma total dos açúcares analisados (glucose e frutose) (a) e °Brix (b) das uvas ao longo da maturação.....	45
Figura 15: Evolução do conteúdo de glucose e de frutose no decorrer da maturação.	46
Figura 16: Evolução da soma total dos ácidos orgânicos analisados (a) e da medição de pH (b) das uvas ao longo da maturação.....	47
Figura 17: Evolução dos ácidos tartárico (a), málico (b), sucínico (c) e cítrico (d) ao longo da maturação..	49
Figura 18: Comparação da concentração total das diferentes famílias de compostos voláteis identificados no início do “pintor” (a) e na semana da vindima (b).....	50
Figura 19: Evolução do índice total de polifenóis ao longo da maturação.	52
Figura 20: Evolução do índice de maturação fenólica durante a maturação.....	53
Figura 21: Análise multivariada dos dados obtidos para as uvas dos diferentes talhões em estudo, por PCA aplicada aos diferentes parâmetros químicos determinados. (a) PC1 vs. PC2 e (b) PC1 vs. PC3	54

Figura 22: Comparação das concentrações de glucose e frutose e da soma entre as duas dos cinco diferentes clones ((a) (b) - Letras iguais correspondem a amostras que não são significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)).	58
Figura 23: Comparação das concentrações das concentrações dos ácidos orgânicos identificados e a soma destes dos diferentes clones ((a) - Letras iguais correspondem a amostras que não são significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)).	59
Figura 24: Comparação das somas das concentrações das diferentes famílias de compostos voláteis identificados nos diferentes clones de Verdelho.	61
Figura 25: Comparação dos valores obtidos para o índice de polifenóis totais (a) e para índice maturação de fenólica (b) dos diferentes clones de Verdelho.	62
Figura 26 Análise multivariada dos dados obtidos para as uvas dos diferentes clones de Verdelho em estudo obtidos por PCA aplicada aos diferentes parâmetros químicos determinados. (a) PC1 vs. PC2 e (b) PC1 vs. PC3.	63
Figura 27: Evolução da soma total dos açúcares redutores e ácidos orgânicos identificados das 3 microvinificações em estudo.	67
Figura 28: Comparação dos açúcares redutores (a) e ácidos orgânicos (b) das três microvinificações em estudo na etapa M0 ((a) (b) - Letras iguais correspondem a amostras que não são significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)).	68
Figura 29: Comparação dos açúcares redutores (a) e ácidos orgânicos (b) das três microvinificações em estudo na etapa MAF ((a) (b) (c) - Letras iguais correspondem a amostras que não são significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)).	69
Figura 30: Comparação dos resultados da % de etanol (a) das concentrações (b) de glicerol presentes no MAF ((a) - Letras iguais correspondem a amostras que não são significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)).	70
Figura 31: Comparação dos açúcares redutores (a) e ácidos orgânicos (b) das três microvinificações em estudo na etapa VF ((a) (b) - Letras correspondem a amostras que não são significativamente diferentes ($p \geq 0,05$)).	70
Figura 32: Comparação das somas das concentrações das diferentes famílias de compostos voláteis identificados na etapa M0 (a) e na etapa VF (b).	72

Figura 33: Evolução do índice de polifenóis totais ao longo do processo de vinificação das 3 microvinificações em estudo ((a) (b) (c) - Correspondem a amostras que não são significativamente diferentes ($p \geq 0,05$)).	73
Figura 34 - Sistema de coordenadas tridimensionais das coordenadas L^* , a^* e b^* do método CIELab.	75
Figura 35: Evolução das coordenadas C^* (a) e h^* (b) ao longo do processo das 3 microvinificações em estudo.	76
Figura 36: Evolução do A_{420} ao longo do processo das 3 microvinificações em estudo.	78

Lista de Tabelas

Tabela 1: Condições favoráveis e limitantes ao longo do ciclo de vida da videira (1).	7
Tabela 2: Espécies utilizadas como porta enxerto.	11
Tabela 3: Fatores para uma boa maturação de acordo com a parte do bago em que ocorrem (1).	14
Tabela 4: Percentagem de peso fresco dos compostos químicos presentes na película, polpa e grainha de um bago de uva (26).	16
Tabela 5: Castas recomendadas e autorizadas para DOP Madeira.	23
Tabela 6: Compostos voláteis correspondentes aos parâmetros químicos diferenciadores da maturação.	55
Tabela 7: Compostos voláteis correspondentes aos parâmetros químicos diferenciadores da latada em relação as espaldeiras.	56
Tabela 8: Peso por bago e volume de 100 bagos das uvas dos Clones de Verdelho.	57
Tabela 9: °Brix e pH das uvas dos Clones de Verdelho.	57
Tabela 10: Concentrações obtidas de ácido cítrico nas uvas dos Clones de Verdelho.	60
Tabela 11: Número total de compostos voláteis identificados e a soma total das suas concentrações das uvas dos clones de Verdelho.	60
Tabela 12: Parâmetros que diferenciam os clones 1 e 5 do clone3 de acordo com a análise estatística PCA.	64
Tabela 13: Parâmetros que diferenciam os clones 1 do clone 5 de acordo com a análise estatística PCA.	65
Tabela 14: Parâmetros que diferenciam os clones 4 do clone 5 de acordo com a análise estatística PCA.	66
Tabela 15: °Brix e potencial alcoólico do mosto das microvinificações dos diferentes talhões.	66
Tabela 16: Comparação do ΔE^* dos diferentes talhões para as e tapas M0 e VF.	77

Lista de abreviaturas

a^* – Componentes de cor verde/vermelho

A_{420} – Índice de “*Browning*”

AOAC – Association of Official Analytical Chemists (Associação dos Químicos Analíticos Oficiais)

b^* – Componentes de cor azul/amarelo

C^* – Cromaticidade

CI – Color intensity (Intensidade de cor)

DOP – Denominação de origem protegida

DVB/CAR/PDMS – Divinilbenzeno/Carboxeno/Polidimetilsiloxano

GC-MS – *Gas chromatography-mass spectrometry* (Cromatografia gasosa espectrometria de massa)

h^* – Tonalidade (Matriz)

HPLC – *High performance liquid chromatography* (Cromatografia líquida de alta resolução)

HS-SPME – *Headspace solid-phase micro-extraction* (Extração em fase sólida em espaço de cabeça)

IGP – Indicação geográfica protegida

IPT – Índice polifenólico total

IR – *Infrared* (Infravermelho)

ITV - Índice de maturação fenólica, pelo método estabelecido pelo Instituto Técnico da Vinha e do Vinho (*Institut Technique de la Vigne et du Vin*, ITV)

IVBAM, IP-RAM – Instituto do Vinho, do Bordado e do Artesanato da Madeira, Instituto Público da Região Autónoma da Madeira

M0 – Mosto inicial

MAF – Mosto antes da fortificação

MIF – Mosto no início de fermentação, após 24 horas

OIV – *Organisation Internationale de la Vigne et du Vin* (Organização Internacional da Vinha e do Vinho)

PDA – *Photodiode array* (Varrimento por fotodíodos)

R^2 – Coeficiente de correlação

RAM – Região Autónoma da Madeira

TIC – *Total ion count* (Contagem total de iões)

t_o – Tonalidade

UV-vis – Ultravioleta-Visível

VAF – Vinho antes da filtração

VF – Vinho após filtração

ΔE^* – diferenças colométricas

%*Ye* – Percentagem de amarelo

%*Re* – Percentagem de vermelho

%*Bl* – Percentagem de azul

Nota Bibliográfica

Anísia Tatiana Rodrigues Martins natural do Funchal, com licenciatura em Biologia pela Universidade da Madeira, em 2013, realizou um estágio profissional de 9 meses como técnica superior em Biologia e áreas afins, na direção de serviços da Vitivinicultura do Instituto do Vinho, Bordado e do Artesanato da Madeira, Instituto Público da Região Autónoma da Madeira (IVBAM, IP-RAM) sob a orientação da Engenheira Bella Karina Freitas. O estágio proporcionou-lhe a oportunidade de conhecer a realidade da viticultura na Madeira, encontrando-se altamente motivada a construir uma carreira na investigação da área de vitivinicultura.

Comunicações em Poster:

Martins, A., Pereira, V., Pereira, A.C., Marques, J.C. Caracterização química de clones Verdelho usados na produção de vinho DOP “Madeira”. XX ENCONTRO LUSO-GALEGO DE QUÍMICA, Bragança, Portugal, 9-11 novembro, 2016.

PARTE I
INTRODUÇÃO



1. VITICULTURA

Viticultura é a cultura da vinha para a produção de uvas, aliando a tradição à inovação utilizando os conhecimentos de várias ciências como a botânica, a bioquímica, a meteorologia e a pedologia. Trata-se de uma cultura milenar de grande importância na história de muitos povos e acredita-se que esta teve origem nos povos do Neolítico que habitavam na atual zona do Uzbequistão, Afeganistão e Caxemira, à cerca de 10 mil anos atrás, que se propagou pela Europa com a migração destes povos para o Ocidente (1). Atualmente a cultura da vinha desempenha um papel importante a nível económico em todo o mundo. De acordo com a Organização Internacional da Vinha e do Vinho (OIV) a área atual cultivada em vinha deverá atingir os 7 534 000 ha e os países que apresentam maior área de vinha são a Espanha, França e a China (2). A cultura da vinha em Portugal data-se muito antes da sua formação. Os povos Ibéricos que habitavam a sul do território cultivavam vinhas e existem registos da introdução de novas castas e comercialização de vinho por parte de comerciantes Fenícios, Gregos e Celtas. A viticultura em território português, teve o seu maior desenvolvimento com a conquista Romana (210 anos a.C.), com a introdução de castas vindas do Mediterrâneo, novas práticas culturais (tipos de poda e de condução de vinha) e novas técnicas enológicas. Também e na idade média com a fundação do reino de Portugal e com o crescente interesse da ocupação e do arroteamento de terras, muitas foram doadas a ordens religiosas que as utilizaram para o cultivo de vinhas a semelhança do que ocorreu em outras regiões vitícolas (1).

Nos séculos XII e XIII, o vinho constituía o principal produto agrícola de exportação em Portugal (1) e atualmente continua a desempenhar um papel marcante representando 15% de toda produção agrícola, colocando o país entre os que mais produzem vinho (3). A inovação da viticultura é importante e fundamental para um aumento da competitividade e por consequência o incremento do desenvolvimento do sector. A viticultura de precisão surge nos anos 90 na Austrália em resposta a um mercado exigente e numa forma de reduzir os custos de produção, de aumentar o valor do produto final e de reduzir o impacto ambiental da cultura, acompanhando a tendência mundial da inovação e das novas tecnologias. Atualmente esta vertente já chegou à Europa, aos Estados Unidos da América e à América do Sul (4). A viticultura de precisão alia o conhecimento científico e as novas tecnologias ao “*Know how*” e tem uma ação mais precisa e rigorosa, com intuito de obter uma vindima otimizada e de qualidade. Esta tem em conta as necessidades específicas da vinha desde as reservas de água da planta, o perfil e drenagem do solo, a orientação do declive, a exposição solar, as

características específicas das castas, o clima e entre outros fatores, permitindo assim o ajuste dos tratamentos fitossanitários e as práticas culturais para uma melhor produtividade e qualidade.

1.1. A videira

A videira (*Vitis vinifera* L.) é uma das plantas mais cultivadas do mundo e desempenha um papel importante a nível económico. É uma planta trepadeira que a nível sistemático, pertence à Ordem Vitales, à família das Vitaceas, ao género *Vitis*. O género *Vitis*, a que a videira pertence, caracteriza-se por possuir espécies trepadeiras lenhosas de tronco retorcido e ramos flexíveis com gavinhas e inflorescências sempre opostas a uma folha. As folhas possuem forma variada de margens sempre lobadas e ligeiramente dentadas e com coloração que pode variar em diferentes tons verdes (1). Uma característica específica das espécies deste género é o tipo de inflorescências com posição ereta e com flores de coloração esverdeada e geralmente pentâmeras, hermafroditas ou polígamas dioicas, as suas pétalas são fundidas formando uma caliptra e possuindo nectários na base do ovário que funcionalmente não produzem néctar, mas sim uma fragrância suave para atrair os insetos polinizadores (5). A videira na base do seu recetáculo possui 5 nectários, que produzem um aroma marcante embora à partida a sua polinização seja exclusiva ou essencialmente anemófila (1). Caracteristicamente este género encontra-se dividido em dois subgéneros, *Vitis* e *Muscadinia*. O subgénero *Vitis*, era anteriormente designado por *Euvitis*, engloba todas as espécies do género a exceção de duas espécies *Vitis rotundifolia* M. e a *Vitis popenoei* F. (5). O subgénero *Vitis* é constituído por três troncos: o tronco americano, que inclui a maior parte dos porta enxertos utilizados na viticultura, o tronco asiático e o tronco euro-asiático a que pertencem todas as espécies europeias de videiras (1).

A videira é uma liana, em que a sua parte aérea é constituída por um tronco que se ramifica em um número variável de braços, que por sua vez se ramificam em diversos crescimentos lenhificados, ilustrado na Figura 1. A videira possui uma grande capacidade de alongamento que em meios favoráveis ao seu crescimento pode atingir mais de 20 metros. O tronco e os braços encontram-se cobertos por uma camada de tecidos morta, o ritidoma que se separa facilmente em fitas. No que se refere às raízes de uma videira adulta, estas podem atingir os 6-7 m de profundidade e em alguns casos os 12-15 m.

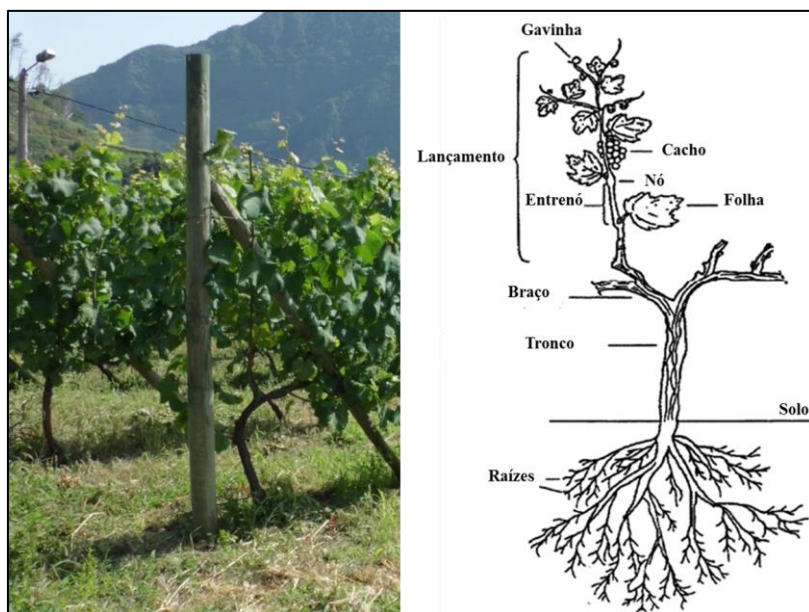


Figura 1: Esquema de uma videira, adaptado de Hamman (6).

As folhas da videira são geralmente inteiras, constituídas pelo limbo e pelo pecíolo com duas estípulas pequenas na base, porém em algumas variedades podem apresentar folhas que não são verdadeiramente inteiras. Nas variedades de folhas inteiras, as folhas podem ser trilobadas ou quinquelobadas e no limbo destas podemos observar 5 nervuras principais que se iniciam na inserção peciolar que se dividem em nervuras secundárias e terciárias. Relativamente à disposição espacial das folhas ao longo do sarmento é dística, alternando de 180° ao longo deste. Relativamente à flor da videira, esta possui entre 4 a 5 mm de comprimento, 5 pétalas e uma coloração verde. Os bagos da *Vitis vinifera* encontram-se organizados em cachos, estes até o estado fenológico, o “pintor”, aumentam de volume devido ao crescimento celular e durante a maturação aumentam devido à hidratação e acumulação de hidratos de carbono. O tamanho, o peso e a forma dos cachos e bagos podem variar entre as diferentes variedades, servindo de característica de identificação. Porém, estas características também podem variar devido as condições nutritivas e ambientais interanuais. Em média o tamanho dos cachos nas variedades silvestres é de 6 cm, nas restantes variedades os cachos médios rondam os 12 a 18 cm e os cachos com tamanho considerável podem atingir os 24 cm. O peso médio de um cacho de uvas usados para a produção de vinho encontra-se entre 100 a 150 g e 250 a 350 g e as variedades de uva de mesa apresentam cachos maiores que podem atingir cerca de 1 kg, por exemplo a variedade Moscatel de Alexandria.

1.2. Ciclo de vida

O maior período de crescimento da videira ocorre da primavera para o outono, seguido de um período de repouso durante o inverno, isto é, a Videira passa anualmente pelos seguintes estados fenológicos: desenvolvimento vegetativo, floração, frutificação, senescência e queda da folha, repouso ou dormência.

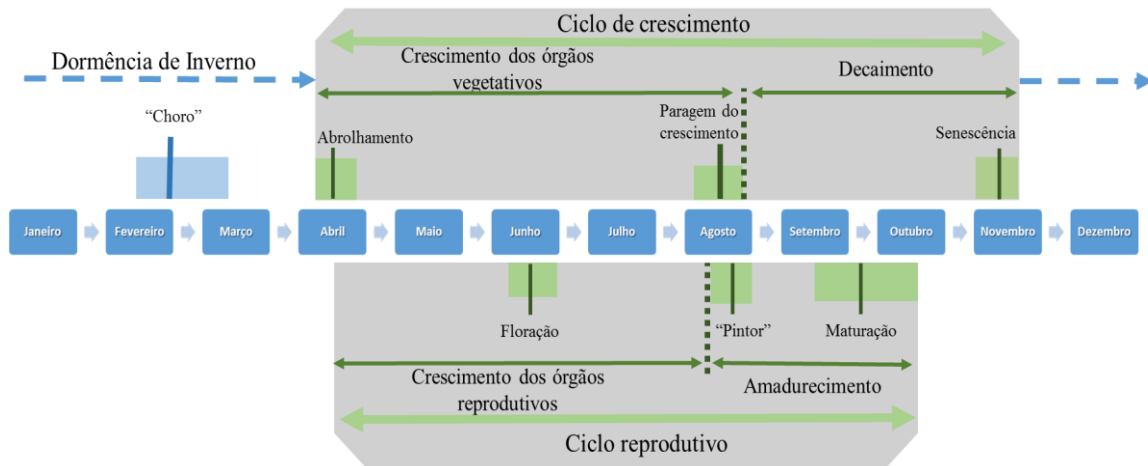


Figura 2: Ciclo de crescimento e reprodutivo da videira, no hemisfério norte, adaptado de Moreno (7).

O ciclo de vida da videira, que se encontra exemplificado no esquema da Figura 2 pode ser influenciado por vários fatores externos e internos à planta, sendo a temperatura e humidade do solo os fatores que desempenham um papel importante no início da atividade vegetativa (1). A videira apresenta como fatores externos, que influenciam o desenvolvimento da planta ao longo do seu ciclo de vida a temperatura, nutrientes e humidade dos solos; a luz solar (intensidade da radiação e fotoperíodo) e a intensidade do vento. E como fatores internos da planta o seu património genético, o número e idade das folhas presentes na videira, o vigor induzido pelo porta enxerto, o teor de azoto presente na planta e o seu equilíbrio hormonal (1, 7). As práticas agrícolas desempenhadas pelo viticultor também representam uma importante influência no ciclo de vida, que vão desde a intensidade, tipo e data da poda e da fertilização, das intervenções em verde como o desladrão, a despona, a desfolha e entre outros.

A atividade vegetativa inicia-se muito antes do abrolhamento, cerca de duas semanas antes, ocorre a exsudação, popularmente conhecido pelo “Choro” da videira, em que acontece a eliminação de um fluido constituído por água, substâncias minerais e orgânicas, evidenciando na sua constituição os tartaratos, as gomas, as substâncias azotadas e a glucose, através das feridas resultantes dos cortes

de poda. Esta eliminação ocorre devido ao aumento da atividade radicular e ao aumento da temperatura do solo, ocorrendo a hidrólise do amido acumulado (1). O abrolhamento acontece no início do ciclo de vida da videira, ocorrendo então o crescimento celular onde a planta utiliza a água e os nutrientes acumulados nas raízes durante o inverno para se desenvolver. O abrolhamento é induzido pelo aumento das temperaturas primaveris, superiores a 10°C, e por estímulos hormonais, no gomo é eliminado o ácido abscísico que é um inibidor da germinação, e as citocininas sintetizadas nas raízes que promovem a rebentação dos gomos (1). O abrolhamento inicia-se na Primavera e prolonga-se até o estado fenológico “pintor” que ocorre no início do Verão. Durante a fase de abrolhamento ocorre uma intensa atividade de divisão e alongamento celular dos ápices vegetativos, pelo desenvolvimento em espessura do câmbio e a formação e desenvolvimento das folhas, gavinhas e inflorescências (1).

Tendo em conta os diferentes fenómenos que ocorrem durante o ciclo de vida da videira, Baggio-line caracterizou 14 estados fenológicos, 12 dos quais, à exceção do “pintor” e da maturação, sucedem durante o crescimento celular. Na Figura 3 podemos observar os diferentes estados.

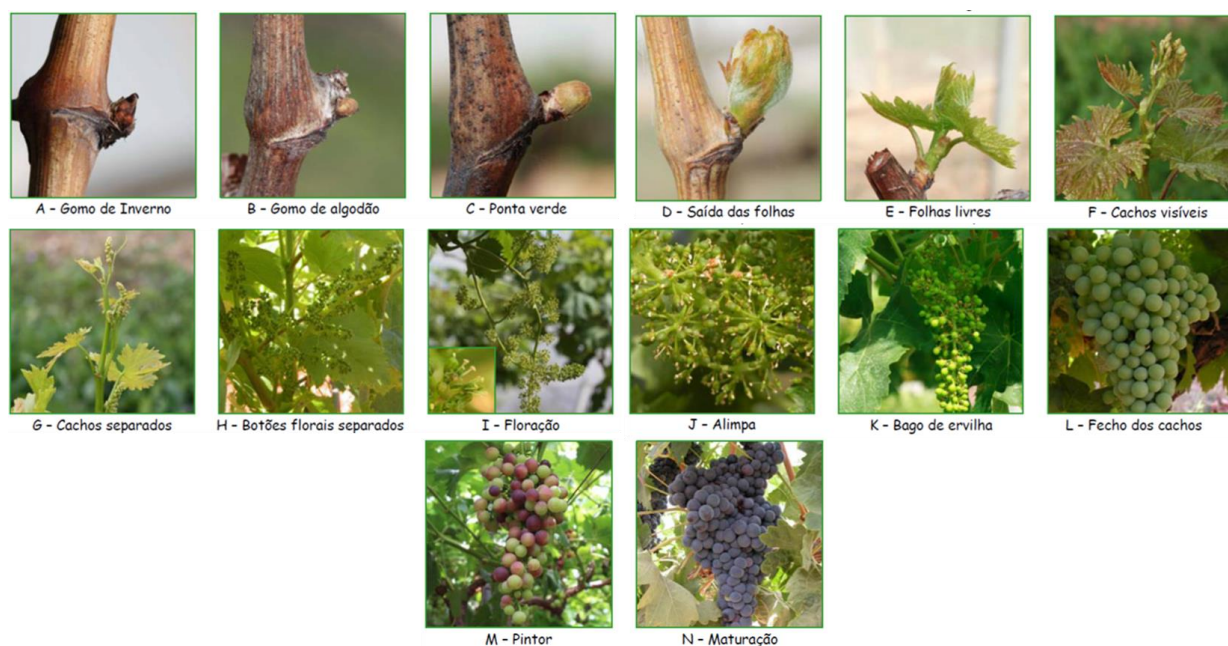


Figura 3: Estados fenológicos (8).

Durante o crescimento vegetativo ocorre uma diminuição da atividade, o que pode levar à paragem do crescimento dos lançamentos durante o “pintor” e conseqüentemente os bagos passam a ser os recetores prioritários de todos os produtos resultantes da fotossíntese, permitindo assim que não ocorra atrasos na maturação (9). A formação dos bagos inicia-se durante a fertilização, que está

dividida em quatro fases: crescimento herbáceo, “pintor”, maturação e sobrematuração (7). O bago durante o crescimento herbáceo contém clorofila e contribui ativamente para a fotossíntese, atuando como órgão verde. Este possui aspeto herbáceo verde e de consistência dura, a concentração dos açúcares no bago é baixa e a dos ácidos orgânicos começam a se acumular e atingem o seu máximo perto da fase o “pintor” (7). No “pintor” ocorre o início da alteração da cor dos bagos para a cor típica da variedade, estes perdem o aspeto herbáceo, incham e tornam-se elásticos e há um aumento de volume (1). Nem todas as uvas alteram de coloração no mesmo momento, este processo pode demorar cerca de 2 semanas, em que o bago perde a clorofila e ocorre a formação dos pigmentos responsáveis por esta mudança (7). Nas castas brancas a cor altera progressivamente para uma coloração amarela devido a síntese de flavonoides e nas castas tintas alteram para uma coloração rosada devido a síntese das antocianinas (1). Durante o “pintor” ocorre a acumulação dos açúcares redutores e a diminuição considerável dos ácidos orgânicos na polpa do bago e no final desta fase as grainhas encontram-se perfeitamente formadas e capazes de germinar e de dar origem a uma nova planta, tendo assim atingido a sua maturidade fisiológica (7).

Durante a maturação ocorre a formação dos principais compostos com elevado impacto na qualidade das uvas e por consequência na dos vinhos, influenciando significativamente as condições em que esta ocorre e a sua.(10). Durante a maturação ocorre um conjunto de reações físicas e bioquímicas que incluem: o acumular de compostos voláteis e fenólicos, a diminuição da adstringência e adstringência dos taninos, a acumulação de açúcares redutores e de potássio e a diminuição dos ácidos orgânicos nos bagos (1). Ocorre também o crescimento da película que comparativamente ao crescimento da polpa é consideravelmente menor, o que pode vir a proporcionar a abertura de microfissuras, tornando o bago mais suscetível ao aparecimento de podridões nesta fase (1).

Tabela 1: Condições favoráveis e limitantes ao longo do ciclo de vida da videira (1).

	Abrolhamento	Floração e Vingamento	Pintor	Maturação
Período do ano	Entre Março e Abril	Entre Maio e Junho	Fim de Julho e Agosto	Fim de Agosto e Setembro
Temperaturas ótimas	Superior a 10°C	De 18°C a 20°C	Superior a 25°C e inferior a 35°C	Superior a 10°C e inferior a 32°C
Condições favoráveis	Aumento da temperatura e de água no solo	Existência de água no solo, exposição solar	Elevada exposição solar	
Condições limitantes	Ocorrência de geadas	Ocorrência de precipitação e ventos abundantes	Ocorrência de precipitação abundante	

Uma vindima de qualidade ocorre quando as uvas atingem o ponto ótimo de maturação em que se atinge a concentração máxima de açúcares redutores, a concentração ideal de ácidos orgânicos e de compostos fenólicos (1). Uma boa maturação não depende só do grau de acumulação dos compostos químicos da uva e do volume dos bagos, depende também do tipo de produção que o viticultor pretende (1). Após a maturação, as uvas entram na fase da sobrematuração em que estas se tornam cada vez mais vulneráveis, sendo sobretudo influenciada pelo meio envolvente. Nesta fase ocorre o aumento da concentração de açúcares devido a evaporação da água presente na polpa e a combustão de alguns ácidos orgânicos devido à respiração e o bago perde consistência ficando enrugado (7). O estudo e compreensão de cada fase do ciclo de vida da videira através da quantificação dos fatores favoráveis e limitantes é uma ferramenta importante para o viticultor, uma vez que permite garantir uma vindima de qualidade através da previsão da data de vindima por forma a ajustar os tratamentos e as práticas culturais para um crescimento mais sustentável e saudável para a planta.

1.3. Sistemas de condução

A videira durante os primeiros anos possui um tronco suficientemente flexível, que permite o ajuste da sua posição de acordo com a forma de condução desejável, em função das condições ecológicas. A condução da videira é determinada pela forma, direção e posicionamento do tronco, dos braços e dos sarmentos originados nos gomos deixados durante a poda (1). A escolha do tipo de sistema de condução tem em conta fatores como a exposição solar, a temperatura, a existência de ventos fortes, a proximidade do mar (maresia) e as próprias necessidades da casta. Um bom conhecimento do terreno e da zona que o rodeia são determinantes para uma plantação e produção sustentável e de qualidade. Uma boa escolha do sistema de condução permite:

- ✓ melhor exposição solar tornando a fotossíntese mais eficiente;
- ✓ redução do custo da mão-de-obra, possibilitando um aumento do lucro com a produção bem como a sua valorização;
- ✓ ciclo de vida mais previsível, sem atrasos e o desenvolvimento equilibrado da planta;
- ✓ amenização do impacto de doenças fúngicas e de pragas (possibilitando uma aplicação mais fácil e eficiente de tratamentos);
- ✓ melhoria do arejamento e diminuição da humidade no ar.

Existem vários tipos de sistema de condução, como podemos observar alguns exemplos na Figura 4.

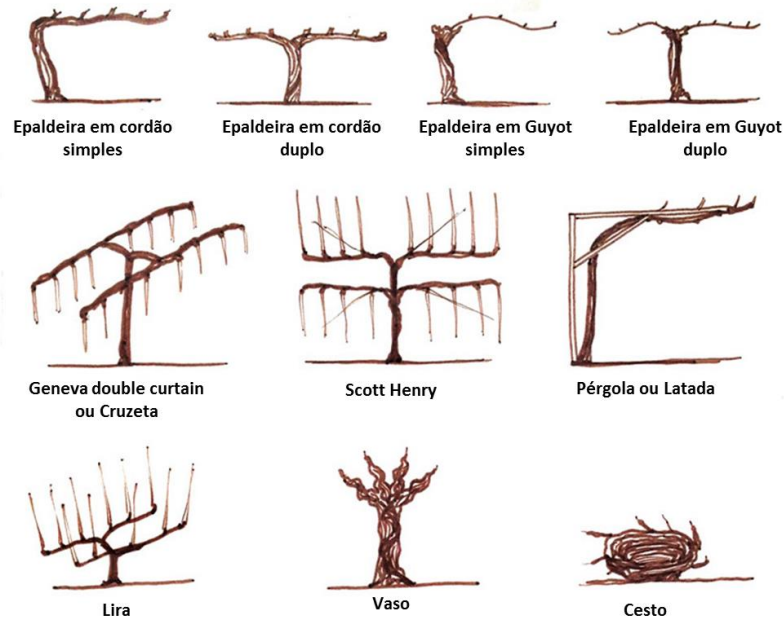


Figura 4: Exemplos de tipos de sistema de condução figura adaptada de Puckette (11).

Os tipos de sistemas de condução utilizados na região vitivinícola da Madeira variam entre a latada, espaldeira e no chão:

- **Latada**

O sistema de condução latada, também conhecido por pérgula, trata-se do sistema mais antigo e mais utilizado na viticultura madeirense, onde o crescimento da videira é direcionado numa rede de arames suportados por estruturas verticais, de ferro ou de madeira, a 1 ou 2 m do solo (Figura 5a). Este sistema facilita a adaptação a terrenos íngremes e permite um melhor aproveitamento do terreno, sendo possível a plantação de outras culturas por baixo da latada, como a plantação da batata, do feijão, da fava ou do tremçoço. Este sistema de condução apresenta grande expressão vegetativa e induz uma elevada produtividade, resultando numa boa rentabilidade económica (1).



Figura 5: Sistema de condução em latada (a) e em espaldeira (b).

Como principais desvantagens deste sistema de condução são apontadas os elevados custos para a instalação e manutenção dos materiais de suporte, as dificuldades nas práticas culturais e na mecanização da colheita, pouca exposição solar, suscetibilidade a doenças fúngicas devido ao pouco arejamento devido a disposição do cacho por baixo da área foliar (1, 12).

- **Espaldeira**

Nas últimas décadas este tipo de condução tem vindo a se tornar um dos mais utilizados na região. Tendo sido introduzido pela primeira vez nos anos 70, embora somente na década de 90 é que se tornou popular na viticultura madeirense (13). A espaldeira consiste na orientação do crescimento da videira na vertical com o auxílio de fios de arame horizontais, onde são atados os ramos e varas, suportados por um sistema de sustentação que é formado por dois postes verticais externos e um número variado de internos. A poda é efetuada de forma que a zona de produção fique a 1 a 1,20 m do chão dependendo do local de plantação ser exposto frequentemente a ventos (1) (Figura 5b). A forma como se encontra orientado o crescimento da videira permite a mecanização da poda e da colheita e possibilitando que a sua instalação, manutenção e tratamentos sejam mais fáceis, acessíveis e menos dispendiosos do que ocorre com o sistema de condução em latada (1, 12). Esta disposição permite uma melhor distribuição dos produtos da fotossíntese, mais propriamente os açúcares, e uma melhor exposição solar o que vem a influenciar na maturação (1, 12)

- **No chão**

O outro sistema de condução que se pode encontrar na região é o crescimento da vinha conduzido pelo chão, como podemos encontrar em algumas zonas da ilha, mas com maior expressão no Porto Santo. Este tipo de crescimento é característico em zonas de baixa a moderada fertilidade,

expostas a ventos fortes e/ou marítimos. Esta proximidade ao solo favorece a existência de um microclima que beneficia a maturação das uvas (1).

1.4. Porta enxertos

O porta enxerto estabelece a ligação entre o solo e a parte enxertada, desempenhando um papel importante em relação a adaptação ao meio (14) e a resistência a pragas como a filoxera (15, 16). A sua utilização na viticultura iniciou-se nos finais do século XIX devido a introdução da filoxera na França em 1863 (1) e a sua rápida dispersão pela Europa.

Numa mesma planta encontramos dois tipos distintos de informação genética, do porta enxerto e do enxerto. O porta enxerto desenvolve a função de sistema radicular do enxerto e a interação entre os dois resultará num perfil comportamental que irá ser determinante na relação entre a planta e o tipo de solo, exposição solar, tipo de poda, tipo de sistema de condução que irá influenciar o vigor, a produtividade e maturação da casta enxertada. Magalhães (1) refere que a interação destes dois tipos de informação genética resulta numa elevada gama de possibilidades de escolha de porta enxertos de acordo do que é pretendido pelo viticultor/produtor. Estima-se que a nível global são produzidas 77.181.122 toneladas por ano de porta enxertos para a vinha por propagação clonal, com o objetivo de melhorar o vigor da casta enxertada e a resistência a doenças e pragas (como exemplo os nemátodos e a filoxera), aumentar a tolerância à seca, ao excesso de sal, a solos ácidos e a clorose férrica (17). As espécies descritas na Tabela 2 são as utilizadas para a produção de porta enxertos e para melhorar a sua eficiência muitas vezes são combinadas entre si para dar origem a porta enxertos mais adaptados às limitações da casta e da região de plantio pretendida (17).

Tabela 2: Espécies utilizadas como porta enxerto.

Espécies de porta enxertos
<i>Vitis aestivalis</i> M.
<i>Vitis berlandieri</i> P.
<i>Vitis labrusca</i> L.
<i>Vitis rotundifolia</i> M.
<i>Vitis rupestris</i> S.
<i>Vitis vinifera</i> L.
<i>Vitis vulpina</i> L.

Na região vitícola da Madeira a praga de filoxera surgiu no ano de 1872 (13) que dado a ineficácia dos tratamentos como consequência levou a enxertia em videiras americanas. Os porta enxertos mais utilizados na região correspondem a híbridos de *Vitis berlandieri* P. e de *Vitis rupestris* S. e o 99 Richter (R99) e o 1103 Paulsen (1103P) (13).

- **99 Richter (R99)**

Este porta enxerto encontra-se adaptado a solos secos e de baixa fertilidade, possui uma boa resistência aos nemátodos fitopatogénicos do género *Meloidogyne* e apresenta um comportamento vigoroso resistente a secura e sensível a humidade e falta de potássio no solo, induzindo uma elevada produção de uvas com elevados teores de açúcares do enxerto (1). Não é aconselhado em solos com reação ácida e com texturas que permitam pouco arejamento (altos teores de limo no solo) e por induzirem elevadas produtividades em solos um pouco mais férteis resultando em mostos de menor qualidade (1).

- **1103 Paulsen (1103P)**

É geneticamente semelhante ao R99 embora apresente valores de produtividade inferiores. Encontra-se bem-adaptado a regiões secas e quentes e de solos pouco férteis e é relativamente tolerante à humidade, a deficiências de magnésio e à reação ácida do solo. Com estas características induz ao enxerto uma produtividade média alta (1).

1.5. Verdelho e a sua cultura

O Verdelho é uma casta *Vitis vinifera* L. recomendada para a produção de vinho com denominação de origem protegida (DOP) “Madeira”. É uma das castas brancas mais importantes cultivadas na Madeira, produzindo vinhos meio-seco com 1.5 a 2.5° Baumé (1, 18). Esta casta geralmente é cultivada em altitudes de cerca de 400 m, possui folhas de tamanho médio e de cor verde escura com cinco lóbulos. Os seus cachos são pequenos com bagos obovoides, médios, com película espessa (Figura 6) e possui uma grande sensibilidade ao Oídio. Da casta Verdelho são produzidos mostos com potencial alcoólico que varia entre 10 a 12% e com uma acidez marcante. Por ser uma casta que apresenta índices de produção baixos é importante estudar os clones e o seu comportamento vitícola (1). Brazão & Aguiar (19) referem que esta casta tradicionalmente na região é conduzida em latada a cerca de 1,5 a 2 m do chão, embora maioritariamente nas novas plantações são conduzidas em espaldeira.



Figura 6: Casta Verdelho.

O seu cultivo na Madeira tem vindo a aumentar na última década (13) devido à versatilidade das suas uvas, que podem ser utilizadas tanto na produção de vinho de mesa branco como de vinho Madeira, e também devido a programas de financiamento europeu direcionado para a reestruturação e conversão e plantação de novas vinhas.

2. A MATURAÇÃO DA UVA

A maturação da uva é um processo que engloba reações físicas e bioquímicas, que nem sempre ocorrem em paralelo, atingindo os pontos ótimos em momentos diferentes tornando a sua definição difícil. Esta inicia-se no início do estágio o “pintor” e termina quando o bago atinge o auge de maturação. A maturação é uma fase que pode ser definida três aspetos (1, 20-22):

- ✓ a fisiológica, que corresponde ao momento em que a grainha do bago atinge a capacidade de germinação;
- ✓ a industrial, definida pelo valor máximo da relação entre os açúcares acumulados no bago e a sua acidez total e quando o bago atinge maior peso;
- ✓ a tecnológica, que corresponde ao instante em que o bago atinge as condições ótimas para o uso ou consumo deste e que nem sempre corresponde à maturação fisiológica ou à industrial.

A evolução da maturação encontra-se diretamente relacionada com a qualidade do bago e a sua composição química que é influenciada pela acumulação de compostos e pelo aumento do volume do bago que ocorrem ao longo da evolução. A qualidade do bago pode ser influenciada por fatores que são determinantes na evolução da maturação tais como o tipo de casta, fatores genéticos, condições

climatéricas e geográficas, técnicas culturais e dos tratamentos efetuados (1). Estes são decisivos na escolha da data de vindima. A relação entre a concentração açúcares e os ácidos orgânicos na composição dos bagos é determinante para a qualidade e escolha da data da vindima. Segundo Magalhães (1), existem vários fatores que influenciam uma boa maturação de acordo com a parte do bago em que ocorrem, tais como a acumulação de compostos fenólicos e voláteis, entre outros (Tabela 3)

Tabela 3: Fatores para uma boa maturação de acordo com a parte do bago em que ocorrem (1).

Película	Acumulação de compostos aromáticos e fenólicos
	Diminuição da adstringência e secura dos taninos
	Aumento da extração de antocianinas por hidrólise das paredes
Polpa	Acumulação de açúcares
	Diminuição da acidez
	Acumulação de potássio
	Solubilização de polissacáridos
Grainha	Coloração castanha
	Diminuição da adstringência

Para o acompanhamento da maturação, com o intuito de definir a data de vindima, são tradicionalmente utilizados parâmetros para o controlo, tais como os açúcares através do °Brix e o potencial alcoólico, o peso do bago e a densidade do mosto (21). Atualmente, outros compostos são tidos também em análise, nomeadamente os compostos fenólicos e terpénicos (23).

2.1. O bago de uva

O crescimento do bago da uva inicia-se no vigamento e prolonga-se até à maturação, onde ocorre o aumento do peso, volume e diâmetro do bago (1), tal como representado na Figura 7. Este crescimento divide-se duas fases. A primeira fase corresponde a fase herbácea que ocorre até o estágio “pintor” e que dura em média 5 a 6 semanas. Nesta fase o bago apresenta um aspeto herbáceo com elevada dureza, cor verde devido a presença de clorofila e o crescimento deve-se à divisão e expansão celular. A segunda fase corresponde a fase translúcida, com duração média de 2 a 4 semanas onde o bago altera a sua coloração para um tom amarelado nas castas brancas devido à síntese de flavonas ou tom rosado nas tintas devido à síntese de antocianinas. O bago abranda o seu crescimento e o crescimento celular na polpa termina e esta torna-se mais líquida devido a hidrólise dos pectatos

levando ao aumento da elasticidade do bago. A nível da grainha ocorre uma diminuição do estímulo hormonal e estas atingem o seu tamanho máximo e inicia-se a síntese e a acumulação dos compostos fenólicos e voláteis (1) (24).

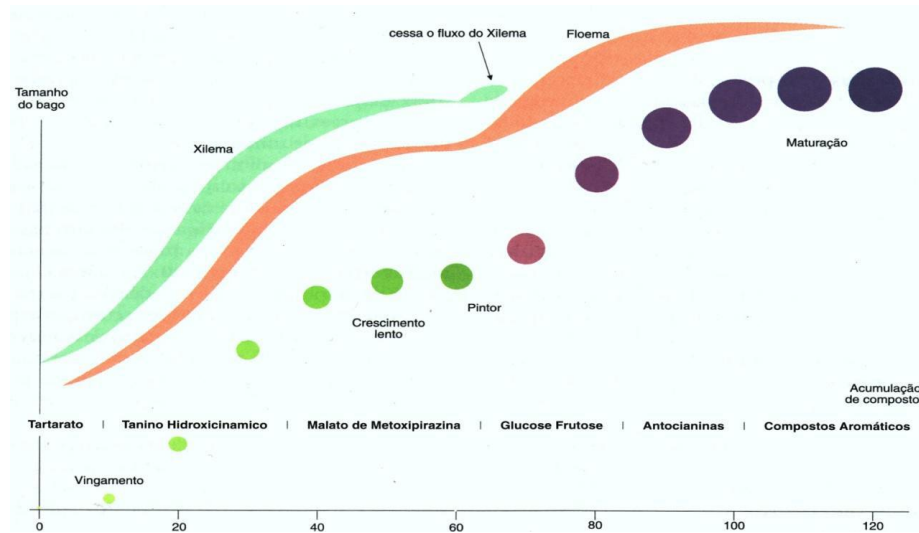


Figura 7: Evolução do bago de uva (1).

Os bagos relativamente a forma podem assumir formas desde esférica, ovoide, elipsoide, cilíndrica e arqueada, e quanto ao peso estes podem variar entre 0,5 até 7 g. Em relação ao tamanho este varia de acordo com as características da variedade cultivar, pelo estado de nutrição, fertilidade e stress hídrico da videira (1).

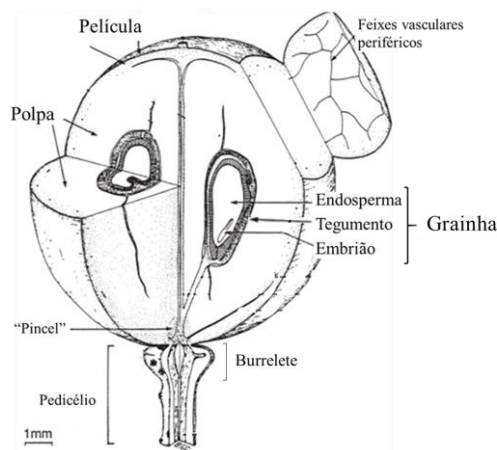


Figura 8: Constituição anatómica de um bago de uva, adaptado de Jackson (25).

Anatomicamente o bago é constituído por película, polpa e grainha e este encontra-se ao pedicélio através de um burelete. A Figura 8 ilustra a constituição anatómica de um bago de uva.

A Tabela 4 ilustra, em percentagem de peso fresco, os compostos químicos presentes na película, polpa e grainha de um bago.

Tabela 4: Percentagem de peso fresco dos compostos químicos presentes na película, polpa e grainha de um bago de uva (26).

Compostos	% Peso fresco		
	Película	Grainha	Polpa
Água	78-80	25-45	78-80
Ácidos orgânicos	0,18-1,6	-	-
Taninos (Condensados)	0,4-3	4-10	-
Antocianinas	0-0,5	-	-
Compostos azotados	1,5-2	4-6,5	0,4-0,7
Minerais	1,5-2	2-4	0,08-0,28
Ceras	1-2	-	-
Compostos Voláteis	algumas µg	-	Vestígios
Compostos glicídicos	-	34-36	-
Lípidos	-	13-20	-
Oses	-	-	10-25
Polissacarídeos	-	-	0,3-0,5
Compostos Fenólicos	-	-	0,05
Vitaminas	-	-	-

A cutícula corresponde a parte mais externa que reveste o bago que se encontra protegida por uma cera cuticular, a pruína. Esta representa cerca de 8 a 20% do peso do bago e na sua constituição podemos encontrar os compostos nobres da uva que vão conferir qualidade aos vinhos, os compostos fenólicos como as antocianinas e flavonas responsáveis pela cor dos bagos, os compostos voláteis e o ácido ascórbico (vitamina C) (1). Podemos também verificar a presença de leveduras que se encontram fixadas na pruína. Relativamente à polpa, esta envolve as grainhas e corresponde a 85% do peso total do bago, possui na sua composição compostos ácidos, água, açúcares (principalmente frutose e glucose) e entre outros compostos que vão variar ao longo da maturação (1, 27). As grainhas nas uvas podem ser encontradas em número desde 1 a 4 ou nenhuma como ocorre na casta Thompson, e podem representar até 6% do peso total do bago. Também são ricas em compostos fenólicos (correspondendo 20-25% de compostos fenólicos do bago), lípidos, ácidos gordos e taninos (1).

2.2. Evolução dos açúcares

Ao longo da maturação a concentração de açúcares no bago tendem a aumentar, antes do “pintor” os açúcares são consumidos como fonte de energia para crescimento celular e para a maturação das grainhas e, após esta etapa, os açúcares passam a ser acumulados nos vacúolos das células da polpa, onde a sacarose ao chegar ao bago é hidrolisada em glucose e frutose. Estes açúcares de maior relevância da polpa correspondem a cerca de 12 a 27% do peso fresco de um bago de uva madura (1, 28, 29). O aumento da concentração de açúcares no bago ao longo da maturação é um fenómeno importante na síntese dos ácidos orgânicos, dos compostos polifenólicos, antocianinas e compostos voláteis (1). Embora em pequenas quantidades, outros açúcares são também encontrados na composição das uvas, tais como a sacarose (a menos que 0,1% em bagos maduros), arabinose, ramnose, xilose, ribose e polissacarídeos (por exemplo pentosanas, gomas, hemiceluloses, celulosas) (1, 29).

A evolução da concentração dos açúcares nas uvas encontra-se diretamente relacionada com a atividade fotossintética da videira que pode ser influenciada por diversos fatores ambientais desde a exposição solar, fotoperíodo, temperatura, água disponível no solo e fatores específicos da planta como o tipo de casta, porta enxerto, sistema de condução, vigor e práticas culturais (1).

A glucose e a frutose encontram-se uniformemente distribuídas pelo bago e no início da maturação estes são encontrados em maiores concentrações na zona da película e do interior do bago, geralmente ocorrendo em proporções semelhantes, sendo que por vezes a frutose é encontrada em maior proporção em uvas maduras (25, 29).

O mosto dispõe na sua constituição cerca de 150 a 250 g/L de concentração de glucose e frutose, que desempenham um papel importante na fermentação, nomeadamente para o crescimento das leveduras e o seu metabolismo, para a produção de álcool, no sabor do vinho a que vão dar origem atribuindo-lhe doçura (variando de acordo com o tipo de vinho pretendido) e contribuindo para a formação alguns compostos voláteis (1, 30).

A concentração de açúcares é o parâmetro mais utilizado no acompanhamento da maturação das uvas, e encontrar-se diretamente relacionada com o grau de álcool do produto final, existindo um valor mínimo para que seja assegurado uma síntese adequada de fenóis, aromas e glicerina (1, 31).

2.3. Evolução dos ácidos orgânicos

Os ácidos orgânicos presentes nas uvas possuem importantes propriedades organoléticas que virão a ter grande impacto nos vinhos (3).

Os principais ácidos orgânicos encontrados nas uvas e representando cerca de 90% da acidez total de um bago de uva são o ácido tartárico e o ácido málico que se encontram no mosto nas concentrações entre 7-10 g/L e 3-7 g/L, respetivamente. Para além do málico e do tartárico, encontramos na composição da uva, embora em menores concentrações, o ácido cítrico que no mosto pode ser encontrado nas concentrações na ordem dos 0,5 g/L correspondendo a 5-10% da acidez total deste. Para além destes, em menores concentrações, na composição das uvas podemos encontrar os ácidos sucínico, maleico, isocítrico, fumárico, glucónico, glucurónico, acético, oxálico, oxoglutarato, quinico e o xiquímico (1, 3, 29) .

A concentração de ácidos orgânicos diminui ao longo da maturação, na maioria dos frutos, devido à sua importância nas diferentes reações bioquímicas que ocorrem no processo de maturação (32). Nas uvas, no início da sua formação durante a fase herbácea, quando estas atingem cerca de metade do seu tamanho normal, ocorre um incremento do teor dos ácidos orgânicos que se encontram a ser produzidos nas folhas e acumulados nos bagos verdes, diminuindo quando é atingida a fase do “pintor” (1, 30). Os ácidos orgânicos são importantes intermediários nas diferentes vias metabólicas como a glicólise, o ciclo de Krebs, ciclo do ácido glicoxílico e a via do xikimato (29).

O teor de ácidos orgânicos presentes nas uvas maduras é influenciado por diversos fatores exógenos como a temperatura, a disponibilidade de água no solo (devido a rega ou chuva), características específicas da casta, exposição dos cachos ao sol, e tipo de sistema de condução (1). A temperatura influencia a degradação dos ácidos orgânicos (29), enquanto que a disponibilidade de água no solo vai estimular a reativação da síntese destes compostos (1).

O ácido tartárico é característico das *Vitaceae*, família das videiras. A sua síntese ocorre nos órgãos jovens e acumula-se nos bagos verdes antes da fase o “pintor”, mais propriamente na película e na zona mais externa da polpa dos bagos, podendo atingir os 15 g/L. A sua concentração mantém-se mais ou menos constante durante a maturação apesar do aumento do volume do bago, porque este ao contrário do ácido málico não é metabolizado na maturação e as variações da concentração devem-se apenas ao tipo de pH do solo e ao tipo de casta cultivada, sendo que as castas brancas possuem maior teor de ácido tartárico que castas tintas (1, 29, 33). O ácido tartárico é o ácido mais forte presente no vinho com um pK_a de 3,01 e tem grande influência no pH dos mostos e vinhos,

desempenhando um importante papel nas características organolépticas do vinho final atribuindo-lhe frescura, acidez, vivacidade e cor. Este tem um grande impacto sobre os tratamentos enológicos necessários a realizar ao mosto e aos vinhos, devido à sua importância na estabilidade química e microbiológica (33, 34).

O ácido málico é sintetizado nos órgãos jovens das plantas adultas e nos bagos verdes com clorofila e pode ainda ser resultado da oxidação dos glúcidos e acumulado nos vacúolos das células da polpa dos bagos durante a fase herbácea. Este ácido encontra-se envolvido em alguns processos importantes para a vitalidade da videira, com o início da fase do “pintor” o seu teor diminui substancialmente devido a inibição do consumo dos açúcares, este passa a ser o substituto da glucose no processo respiratório. A temperatura a que as vinhas se encontram expostas desempenha um papel importante no teor de ácido málico. Temperaturas elevadas levam a que este seja metabolizado na respiração. Assim, uvas de regiões mais quentes terão teores mais baixos de ácido málico do que as de regiões com temperaturas mais baixas. O ácido málico é muitas vezes utilizado como indicador da evolução da maturação devido a sua evolução estar diretamente interligada a evolução dos açúcares (1, 33). O teor de ácido málico é essencial para as propriedades organolépticas dos mostos e vinhos, e pode ser empregue como indicador da estabilidade microbiológica, uma vez que durante a fermentação malolática este é transformado no ácido láctico, o que leva a diminuição da acidez e em termos de sabor é mais agradável e menos herbáceo (35).

Relativamente ao ácido cítrico na videira este encontra-se em pequenas quantidades no bago e em grandes proporções na raiz. A sua síntese pode ter duas origens, na oxidação do ácido málico durante o ciclo de Krebs e na oxidação dos glúcidos durante a migração das folhas para a raiz (1). Apesar da sua utilização como acidificante no vinho ser proibida na União Europeia, este ácido em algumas regiões do mundo continua a ser utilizado como aditivo na produção de vinho para aumentar a acidez total. No entanto, a sua adição confere ao vinho sabores cítricos agressivos o que faz com que este seja utilizado com menor frequência que o ácido tartárico (33).

O ácido sucínico pode ser detetado em uvas não maduras em concentrações pequenas, embora nas variedades de uvas da espécie *V. rotundifolia* seja um dos ácidos maioritários (36). Ao longo da maturação a concentração do ácido sucínico nas uvas diminui devido a este se encontrar envolvido no metabolismo dos lípidos e no ciclo de Krebs (33). Este também é um dos subprodutos das leveduras durante a fermentação alcoólica, conferindo aos vinhos um sabor amargo-salgado que causam salivação, e devido a este facto, o sucínico não é muito utilizado como aditivo para aumentar a acidez total do vinho (30, 33).

2.4. Evolução dos compostos fenólicos

Os compostos fenólicos presentes nas uvas, durante e no final da maturação, encontram-se subdivididos em duas categorias: os fenóis simples (ácidos fenólicos e estilbenos) e flavonoides (antocianinas, taninos, flavonas e outros flavonoides), e estes têm origem no catabolismo dos açúcares (1). Os compostos fenólicos são fundamentais para a qualidade da uva, contribuindo significativamente para a cor, sabor e aroma da fruta como dos vinhos, conferindo-lhes cor, corpo, sabor e estabilidade microbiológica (29, 30). Estes compostos encontram-se diretamente relacionados com a qualidade dos atributos das castas tintas (cor) e das castas brancas (resistência a oxidação) (1). Adicionalmente, são metabolitos secundários e com uma função preponderante no crescimento, fertilidade, reprodução e na defesa (contra a herbivoria, infecções fúngicas e bacterianas e proteção da radiação UV) da videira (30).

Durante a formação do bago, logo após a floração, ocorre um aumento da composição fenólica (37, 38). A acumulação torna-se mais evidente durante a fase do “pintor” em que os bagos alteram gradualmente a sua cor com o aumento das flavonas nas castas brancas e das antocianinas nas tintas (1). Ao longo da maturação continua o aumento, embora mais lento, e na sobrematuração é registada uma ligeira diminuição do teor de compostos fenólicos (28).

A concentração e distribuição dos compostos fenólicos no bago pode variar de acordo com as características específicas da própria casta, grau de maturação, tamanho do bago, tipo de porta enxerto, o solo (disponibilidade hídrica, de minerais e compostos azotados), fatores ambientais (humidade, fotoperíodo, exposição solar e temperaturas) e práticas culturais (sistemas de condução, tipos de poda, tratamentos fitossanitários e fertilizações) (1, 37, 38). Uvas que estiveram expostas a solos excessivamente húmidos ou ricos em compostos azotados apresentam na sua composição polifenóis grosseiros, responsáveis pelo amargor e adstringência, favorecendo o estado tânico e herbáceo dos bagos. As uvas contaminadas por *Botrytis sp.* apresentam deterioração das antocianinas e flavonas depreciando a qualidade das uvas (1).

A maturação fenólica tem em consideração a concentração de compostos fenólicos nas uvas, tendo em conta a afinidade/facilidade destes compostos para a extração durante a vinificação (23) no intuito de determinar a data ideal de vindima, de forma a garantir o máximo de aproveitamento dos compostos fenólicos durante a vinificação.

2.5. Evolução dos compostos voláteis

Os compostos voláteis são características importantes associadas à qualidade da uva. Estes são sintetizados durante a maturação, onde o seu teor no bago aumenta em paralelo com a evolução dos açúcares (uvas com 9% de potencial alcoólico iniciam a acumulação de aromas característicos da casta). Os compostos voláteis encontram-se distribuídos entre a polpa e a película mas em maiores concentrações na película, mais especificamente nas células sub-epiteliais (1, 29). Kanellis e Roubelakis-Angelakis (29) descrevem que os compostos voláteis evoluem e são acumulados nos bagos e os seus precursores são sintetizados nas folhas, estes são produtos secundários do metabolismo das plantas (33). Aproximadamente, o teor de compostos voláteis num bago de uva corresponde a 0,7-1,2 g/L (1).

Os aromas podem ser primários, secundários e terciários, nas uvas apenas se encontram os aromas primários, também referidos como aromas pré-fermentativos que são maioritariamente álcoois e compostos carbonilo que tiveram origem em certos lípidos por ação de enzimas das uvas. Os aromas secundários são os que têm origem durante a fermentação e os terciários são os que ocorrem da estabilização e envelhecimento (em casco ou garrafa) dos vinhos (1).

A variação em relação à concentração, diversidade e qualidade dos compostos voláteis encontram-se relacionadas com as características específicas da casta, grau de maturação, ambiente, tipo de solo e práticas culturais exercidas durante o ciclo de vida. Uvas de zonas mais frias e com elevadas altitudes apresentam perfis voláteis mais ricos em aromas primários, mais evidentes, persistentes e com mais aromas florais comparativamente com as uvas de zonas mais quentes e secas que irão apresentar perfis com mais compostos, mas que se encontram mais suscetíveis à oxidação. Tal como uvas que resultam de más decisões a nível da escolha de condução, porta enxerto, poda, falta de tratamentos em verde, má adubação e regas mal controladas irão dar origem a vinhos grosseiros e com aroma e sabor herbáceo (1).

Entre os compostos voláteis podemos encontrar álcoois, compostos carbonilo, ésteres que podem se encontrar na forma livre (odorante) e combinados (não odorantes) e terpenóides. Relativamente a evolução dos terpenóides é observado a acumulação destes compostos antes da maturação, ocorrendo um decréscimo significativo durante a fase de sobrematuração (1, 28). No que se refere aos compostos carbonilo, responsáveis pelos aromas verdes, estes aumentam até ao início da maturação, mais precisamente até ao "pintor" e depois decrescem ao longo da maturação. Os

compostos carbonilo e os álcoois tendem a decrescer continuamente ao longo da maturação e até durante a sobrematuração, enquanto os ésteres apenas são detetados após a fase do “pintor” (39-41).

Os aromas são importantes componentes organoléticos das uvas e determinantes na qualidade dos vinhos conferindo-lhes personalidade. Estes compostos e a sua concentração são essenciais para a escolha da data da vindima, tendo em conta o tipo de vinho que é pretendido produzir (1).

3. REGIÃO DEMARCADA DA MADEIRA

O cultivo da vinha na Madeira foi introduzido na época dos descobrimentos pela ordem do Infante D. Henrique devido às boas condições que a ilha apresentava, e, sessenta anos depois do início da colonização foi atribuído um imposto sobre a cultura da vinha dada a sua importância na economia insular (42). Atualmente, para a Região Autónoma da Madeira (RAM) a vitivicultura desempenha um enorme papel a nível económico e social, uma vez que é fonte de rendimento de muitas famílias, gera emprego e trata-se de uma das exportações mais importantes para a região.

A região vitícola da Madeira, de acordo com o IVBAM, IP-RAM (43), abrange cerca de 500 ha e encontra-se subdividida entre mais de 1500 viticultores, maioritariamente distribuída em pequenos socalcos, também conhecidos como “poios”, suportados por pedras basálticas ao longo da encosta até aos 700 m de altitude. A cultura da vinha encontra-se distribuída praticamente por todos os concelhos da ilha da Madeira e do Porto Santo, sendo os seguintes concelhos com maior importância na produção vitícola: Câmara de Lobos representada com cerca de 125 ha de vinha, São Vicente com 122 ha e Santana com 82 ha.

A Região vitícola da Madeira possui duas denominações de origem protegida, “Madeira” e “Madeirense”, e uma Indicação Geográfica Protegida (IGP) “Terras Madeirenses”. Para a produção de vinho DOP "Madeira", de acordo com o decreto lei 38 de 2015 da RAM (43).

Para além das castas anteriormente mencionadas na Tabela 5 também podemos encontrar na região castas brancas como: Alicante Branco, o Arinto, o Arnsburger, Graúdo e a Tália. Como castas tintas: Aragonez, Cabernet Sauvignon, Maria Feld, Syrah, Tinta Barroca, Touriga Franca e Touriga Nacional.

Tabela 5: Castas recomendadas e autorizadas para DOP Madeira.

Uvas	Tintas	Branças
Castas recomendadas	Bastardo Malvasia Cândida Roxa (Malvasia Roxa) Tinta (Tinta da Madeira) Tinta Negra (Tinta Negra Mole) Verdelho Tinto	Folgasão (Terrantez) Malvasia fina (Boal) Malvasia Cândida Sercial Verdelho
	complexa	Babosa Malvasia Babosa Caracol
Castas autorizadas	Triunfo Deliciosa	Carão de Moça Listrão Moscatel Rio Grande Valveirinho

A viticultura regional teve uma grande evolução devido ao início da experimentação vitícola onde houve uma clara aposta na seleção de clones das variedades tradicionais da região e na introdução de castas para a produção de vinhos de mesa. Em 1984 foram iniciados três campos experimentais aos quais foram plantados uma seleção cuidadosa de material vegetativo, das castas tradicionais de vinho Madeira, com elevada qualidade a nível de produção e a nível sanitário e foram também plantadas várias castas das regiões vitícolas de Portugal continental, França, Itália e Alemanha de modo a estudar a sua adaptação à região, afim de selecionar as com melhor potencial produtivo e qualitativo (44). Esta aposta veio a dar outra dinâmica ao sector vitivinícola regional e a dar resposta a um mercado cada vez exigente.

4. OBJETIVOS E ENQUADRAMENTO

A fase de maturação da uva é das fases mais importantes para a obtenção de vinhos de boa qualidade e poucos são os estudos que incidem sobre as castas tradicionalmente cultivadas na RAM. A produção de um vinho com qualidade tem início na escolha do terreno para a plantação com as características necessárias para a produção de uvas e do vinho pretendido, ou seja, a escolha do terreno com as melhores condições edafoclimáticas para a plantação dos vinhedos, de modo a proporcionar uma boa maturação das uvas em termos físicos, químicos e sanitários.

Atualmente o mercado tem vindo a se tornar cada vez mais exigente, sendo imperativo uma melhor compreensão e caracterização da fase de maturação das castas regionais de forma a torná-la mais eficiente tendo em conta as necessidades dos viticultores de forma a adaptarem as práticas culturais exercidas sobre as vinhas, como as necessidades dos produtores de vinhos na obtenção de uvas de qualidade e com as características desejadas de acordo com o tipo de vinho pretendido.

A escolha da casta a ser utilizada para este estudo assentou na crescente procura desta nos últimos anos, em que a casta Verdelho tem vindo a ser uma das castas escolhidas no âmbito do programa de reconversão e reestruturação de vinhas aplicado à RAM, que surgiu para resolver a problemática do excesso de produção de Tinta Negra e de melhorar os vinhedos da região. Outras razões tidas em conta foram a versatilidade desta casta, como já foi anteriormente referido, uma vez que pode ser utilizada tanto na produção de vinho Madeira como de vinho de mesa, o seu índice de produção baixo e a presença de cinco clones não certificados nos campos experimentais.

Este trabalho de mestrado teve como objetivo principal acompanhar a evolução da maturação das uvas e proceder à caracterização morfológica e físico-química da casta Verdelho, tendo em conta o tipo de condução, o porta enxerto, o ano da plantação e o tipo de clone, desde o início no estado fenológico o “pintor” até quase ao final da maturação. Foi também tido em estudo a evolução dos mostos durante o processo de vinificação das diferentes variáveis em estudo. Foi efetuada também a caracterização físico-química de 5 clones não certificados e efetuou-se comparações entre estes com o intuito de ver qual produz uvas com melhores características para a produção de vinho Madeira e vinho de mesa.

PARTE II
EXPERIMENTAL



5. ACOMPANHAMENTO DA MATURAÇÃO E COMPARAÇÃO DE CLONES.

5.1. Amostras

A amostragem foi realizada no Campo Experimental do Estreito da Calheta, situado no concelho da Calheta (N 32° 44'4.42'', W 17° 11'13.20''), que se encontra sob alçada da Direção de Serviços da Vitivinicultura do IVBAM, IP-RAM e abrangeu uma área de vinhedo da casta Verdelho de 2747 m². O período de amostragem do estudo decorreu entre 10 de agosto e 22 de setembro de 2015, compreendendo o início do estado fenológico “pintor” até ao fim da maturação. Durante este período foram estabelecidos quatro talhões de amostragem. A recolha das amostras teve início uma semana após a transição de 90% de cada talhão em estudo para o estado fenológico “pintor”.

O estudo teve em consideração as variáveis: sistema de condução, latada e espaldeira; o ano de plantação, 2006 e 1995; porta enxerto, R99 e 1103P e 5 clones diferentes de Verdelho (correspondentes aos códigos M1/5, M2/2, M2/3, M2/4 e M2/5). Neste sentido, as amostragens foram efetuadas nos talhões 1A, 1B, 1C e 12 (Figura 9). A descrição de cada talhão é apresentada de seguida.

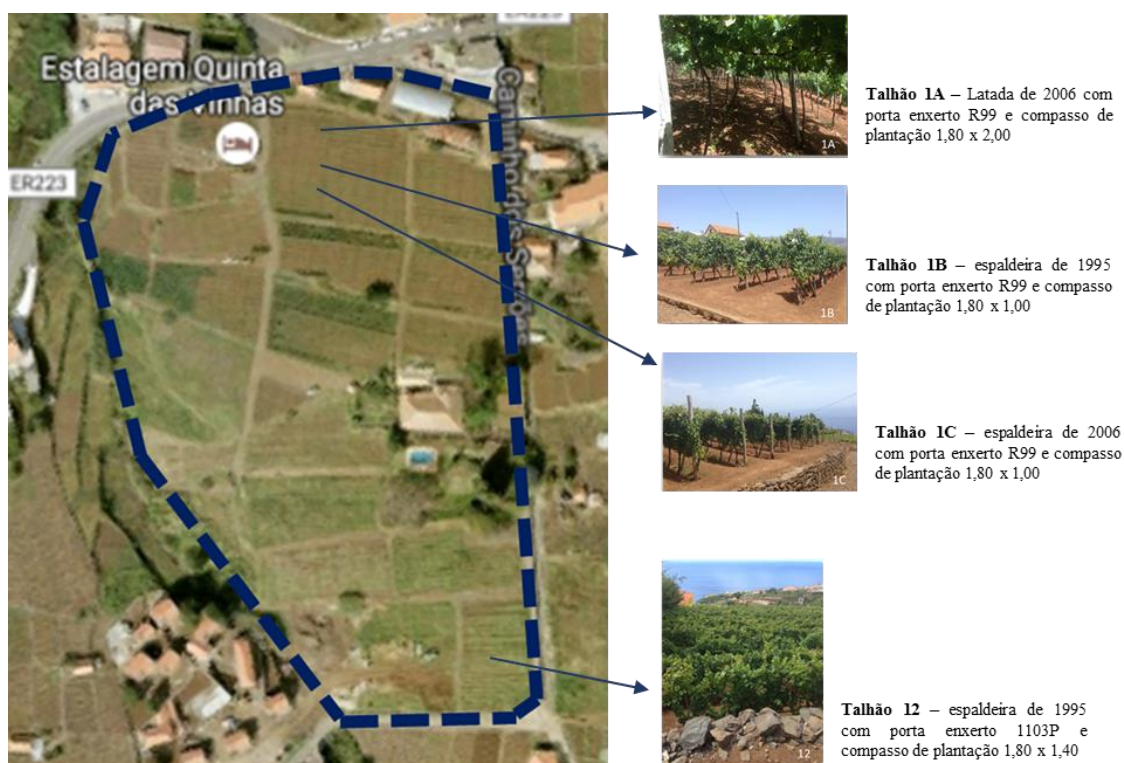


Figura 9: Pontos de amostragem, talhões 1A, 1B, 1C e 12.

➤ Talhão 1A

Este talhão é uma parcela com uma área de vinha de 435 m², disposta no sistema de condução em latada e compasso de plantação 1,80 m por 2,00 m. O seu porta enxerto é o 99 Richter (R99) e a data de plantação é de abril de 2006.

➤ Talhão 1B

Talhão com área de 403 m² de vinha, sob condução em espaldeira e data de plantação em fevereiro de 1995. A vinha apresenta um compasso de plantação de 1,80 m × 1,00 m e com porta enxerto 99 Richter (R99).

Esta parcela é composta por 5 linhas, em que cada uma corresponde a um clone diferente de Verdelho. No sentido descendente, o clone plantado na primeira linha está identificado pelo código M1/5, a segunda linha com o clone identificado como M2/2, a terceira com o clone M2/3, a quarta com o M2/4 e a quinta com clone M2/5. De modo a simplificar, os mesmos passarão a ser identificados como clone 1, clone 2, clone 3, clone 4 e clone 5, respetivamente.

➤ Talhão 1C

Neste talhão, os 752 m² de vinha foram plantados em abril de 2006 e dispostos em espaldeira, com compasso de plantação de 1,80 × 1,00 m e com porta-enxerto 99 Richter (R99).

➤ Talhão 12

Este talhão possui a vinha plantada em espaldeira numa área de 937 m². A sua data de plantação é janeiro de 1995. Esta vinha possui um compasso de plantação 1,80 × 1,40 m e um porta-enxerto diferente dos restantes, o 1103 Paulsen (1103P).

A amostragem foi cuidadosamente planeada de forma a garantir que os dados obtidos fossem representativos do estudo que se pretendia desenvolver, realizando-se da seguinte forma: foram colhidos cerca de 200 bagos de cada amostra, em intervalos de 2 linhas, não colhendo mais que 2 bagos por videira, alternando entre bagos de cachos expostos e não expostos ao sol, da face externa e interna do cacho e da parte superior perto do pedúnculo e na parte inferior do cacho; a colheita dos bagos foi efetuada com o pedicélio, de modo a não danificar o bago; não foram colhidos bagos das vinhas das linhas mais externas das parcelas, das bordaduras, e de vinhas com sinais de doença ou com excesso de vigor, conforme descrito na literatura (28); os bagos foram então aleatoriamente colhidos, mas garantindo uniformidade a nível morfológico, de modo a se obter uma amostragem homogénea relativamente a cada talhão em estudo, e assim garantir uma maior representatividade de

toda a produção. O método de amostragem baseou-se no procedimento descrito por Ivanova *et al.* (45). Todas as colheitas foram realizadas no período da manhã, até às 11h, e as amostras foram transportadas para o laboratório em mala térmica refrigerada, como recomendado na literatura (46), com o intuito de minimizar possíveis alterações a nível da sua constituição química. Uma toma de 100 bagos/amostra foi conservada no congelador a -26 °C até análise. Relativamente à amostragem dos diferentes clones, esta foi efetuada a 26 de agosto de 2015, data da vindima do respetivo talhão, colhendo 100 bagos por cada linha correspondente a cada clone, seguindo, sempre que possível, as instruções anteriormente descritas. Por outro lado, em todos os pontos de amostragem, foram também selecionados aleatoriamente 10 cachos de cada talhão para a medição das suas dimensões e massas.

5.2. Parâmetros físico-químicos básicos

De modo a acompanhar e avaliar a maturação das uvas foram determinados alguns parâmetros, nomeadamente o grau Brix (°Brix), o potencial alcoólico, o peso e a densidade de 100 bagos e a dimensão e peso dos cachos. Adicionalmente foi também efetuado o registo fotográfico da evolução dos cachos de cada talhão.

A medição do °Brix e do potencial alcoólico (%) foi efetuada no refratómetro portátil PAL-795 da Atago (Tóquio, Japão). Para tal, cerca de 50 bagos foram esmagados e o seu sumo foi lido no equipamento. Também foi feita a medição do pH, usando o medidor de pH, série 744, da Metrohm (Suíça).

Para a determinação do peso de 100 bagos, os mesmos foram pesados numa balança analítica de precisão da Mettler Toledo (Columbus, EUA) e o valor foi extrapolado para o peso de um bago. A densidade foi determinada, com o auxílio de uma proveta de 500 mL, através da diferença de volumes.

A análise morfológica dos cachos foi efetuada através da medição do seu comprimento e largura usando uma fita métrica e o peso recorrendo a uma balança de bolso comercial, estas medições foram efetuadas diretamente nos cachos sem necessidade de os destacar da vinha.

5.3. Ácidos orgânicos e açúcares redutores

5.3.1. Reagentes e padrões

O grau de pureza dos padrões usados foi cerca de 99,7%. Os padrões utilizados para a análise dos ácidos orgânicos foram os seguintes: os ácidos *L*-málico, *L*-tartárico e succínico da Merck

(Darmstadt, Alemanha), os ácidos acético e láctico da Panreac Química S.A. (Barcelona, Espanha) e o ácido cítrico da Fluka BioChemika AG (Buchs, Suíça).

Relativamente à determinação dos açúcares redutores, os padrões usados foram: *D*-glucose da Fisher Chemicals (Loughborough, Reino Unido) e *D* (-) -frutose fornecida pela Acros Organics (Geel, Bélgica).

A água ultrapura (<18MΩ.cm a 25°C) utilizada para a preparação das fases móveis foi obtida a partir de um sistema de purificação Simplicity UV da Millipore (Milford, EUA). Na preparação das fases móveis foram utilizados metanol e acetonitrilo de gradiente HPLC, ambos da Chem-Lab (Zedelgem, Bélgica), e o ácido sulfúrico provido pela Riedel-de-Haën (Hanôver, Alemanha). Todas as fases móveis foram filtradas através de um filtro de membrana de 0,20 µm da Pall (Ann Arbor, EUA).

5.3.2. Preparação de amostras

A preparação das amostras para a determinação de ácidos orgânicos e açúcares redutores baseou-se no procedimento descrito por Silva *et al.* (3). Em suma, 5 g de bagos foram esmagados, procedendo-se de seguida a uma diluição de 1:3 num tubo de centrífuga de 50 mL. A amostra foi homogeneizada num vórtex e centrifugada durante 10 min a 4000 rpm na centrifugadora Eppendorf, modelo 5702 (Hamburgo, Alemanha). O sobrenadante foi filtrado através de filtros de seringa Acrodisc® CR PTFE (0,45 µm) e de seguida analisado por cromatografia líquida de alta resolução (HPLC). O procedimento foi efetuado em duplicado para cada amostra.

5.3.3. Análise por HPLC-PDA

Os ácidos orgânicos foram analisados no cromatógrafo da Waters Alliance 2695 (Milford, EUA), equipado com um auto-injetor e um detetor de fotodíodos, Waters PDA 2475. A separação foi efetuada na coluna cromatográfica Hi-Plex H (300 mm × 7.7 mm; 8 µm) da Agilent Technologies (St. Clara, EUA). A separação cromatográfica dos ácidos orgânicos foi realizada através de uma eluição isocrática com uma fase móvel de ácido sulfúrico 0,0025 M. O fluxo foi programado para 0,6 mL/min, com o termostato da coluna a 65 °C e o volume de injeção de 10 µL. Os ácidos orgânicos foram detetados a 210 nm. Cada amostra foi injetada em duplicado. Os dados foram registados e processados pelo software *Empower Pro 5* da Waters Corporation e os picos cromatográficos foram identificados pelo tempo de retenção e através da comparação dos espectros da amostra com o espectro UV do respetivo padrão. A quantificação foi efetuada através do método de calibração

externa, entre 50-5013 mg/L para o ácido láctico; 72-7267 mg/L para o ácido málico; 100-10013 mg/L para o ácido tartárico; 10-1000 mg/L para ácido cítrico e 9 -970 mg/L para o ácido succínico. O coeficiente de variação da determinação das várias réplicas das amostras situou-se entre os 0,1 a 10%.

Relativamente aos açúcares redutores foi seguida a mesma metodologia descrita para os ácidos orgânicos, no entanto, a deteção dos compostos foi efetuada através do detetor de índice de refração, Waters 2414. Neste caso, a gama de calibração se situou entre 1,25 e 80 g/L para a frutose e 1,25 e 79.9 g/L para a glucose.

5.4. Determinação da composição volátil

5.4.1. Reagentes e padrões

O 3-octanol (99,5%) da Acros Organics foi utilizado como padrão interno. Uma solução de padrão interno de 500 mg/L foi preparada em vinho sintético contendo 6 g/L de ácido tartárico (99,5%) fornecido pela Merck, 18% de etanol (99,5%) fornecido pela Sigma-Aldrich (St. Louis, EUA) e com o pH ajustado a 3,5 com uma solução 1 M NaOH (98%) da Panreac Química S.A. No procedimento de extração foi utilizado NaCl (99,5%) também da Panreac Química S. A.

5.4.2. Preparação das amostras

As amostras foram preparadas de acordo com o protocolo proposto por Rolle *et al.* (47). Resumidamente, foram pesados 40 g de bagos, dos quais foi separada a película da polpa e as grainhas descartadas (48). Seguidamente, a polpa e a película foram trituradas, com o auxílio de uma trituradora comercial, até se obter uma mistura homogénea. A 22 mL de amostra adicionou-se 11 µL de solução de padrão interno e a mistura foi homogeneizada no vórtex. De seguida, 10 mL desta mistura foram transferidos para um vial de SPME de vidro de 20 mL contendo 2 g de NaCl, e o vial devidamente selado e a mistura homogeneizada. Cada amostra foi extraída em duplicado.

5.4.3. Análise por HS-SPME/GC-MS

A análise de compostos voláteis por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) procedeu-se através de uma micro-extração em fase sólida em espaço de cabeça (HS-SPME). Após a preparação da amostra, a fibra de SPME adsorvente bipolar Divinilbenzeno/Carboxeno/Polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS) 50/30 µm foi exposta no espaço de cabeça do vial durante 20 min a 40 °C, com agitação constante.

Os compostos foram desadsorvidos a 230 °C, por 5 minutos, no injetor do cromatógrafo gasoso TRACE GC Ultra, equipado com um auto-injetor TriPlus (em modo SPME) e acoplado a um espectrómetro de massas quadrupolo simples ISQ (em modo de ionização impacto eletrônico) da Thermo Scientific (Hudson, EUA). A separação foi feita numa coluna TG-WAXMS, 60 m × 0,25 mm e 0,50 µm de espessura do filme, também da Thermo Scientific. As injeções foram efetuadas em modo *splitless*, com fluxo constante de He de 1 mL/min. A temperatura da linha de transferência do espectrómetro de massas e da fonte de iões foram mantidas a 230 °C. A rampa de temperatura do forno foi programada para iniciar a 40 °C por 2 min, seguindo-se um aumento de 4 °C/min até os 230 °C, mantendo-se a esta temperatura por 5 min. As amostras foram analisadas em contagem total de iões (TIC), no intervalo de massa 30-300 m/z.

Os dados foram registados e processados pelo *software* Thermo Xcalibur 2.2 e a identificação dos compostos foi efetuada através da comparação dos seus espectros de massa com os de padrões autênticos, ou recorrendo às bibliotecas espectrais NIST08 e Wiley 6.0. Os índices de Kovats (KI) foram determinados usando uma mistura de n-alcenos C7 a C30 e os valores obtidos comparados com os compilados na base de dados da NIST (NIST Chemistry WebBook) (49). Foi realizada uma análise semi-quantitativa dos compostos, expressa em termos do padrão interno (3-octanol).

5.5. Determinação do índice polifenólico total (IPT)

5.5.1. Reagentes e padrões

Os reagentes utilizados na preparação das amostras foram o ácido clorídrico (37%) fornecido pela Sigma-Aldrich e o etanol (96%) fornecido pela AGA (Prior Velho, Portugal). Para a determinação do índice polifenólico total pelo método de Folin-Ciocalteu foram utilizados o carbonato de sódio, da Panreac S. A., ácido gálico e o reagente de Folin-Ciocalteu, ambos fornecidos pela Fluka Biochemika AG, todos com grau de pureza superior a 98%.

5.5.2. Preparação das amostras

As amostras foram preparadas com base no método proposto por Carrera *et al.* (50), com ligeiras alterações. Resumidamente, após a retirada das grainhas, os bagos de uva (polpa e películas) foram triturados até se obter uma mistura homogénea. Desta mistura, foi pesado 1 g à qual se adicionaram 10 mL de solvente de extração (50% (v/v) de etanol em água e pH acertado a 2 com uma solução de ácido clorídrico 1M). Após homogeneização no vórtex, esta mistura foi colocada no ultra-

sons por 6 min e seguidamente centrifugada a 4400 rpm, durante 15 min. O sobrenadante foi transferido para um vial graduado e evaporado até 1 mL em fluxo ligeiro e constante de azoto. O extrato resultante foi armazenado a -26 °C até a análise, todas as amostras foram efetuadas em triplicado.

5.5.3. Determinação do índice polifenólico total pelo método de Folin-Ciocalteu

A determinação do índice polifenólico total foi efetuada através do método de Folin-Ciocalteu, utilizando o ácido gálico como padrão de referência, adaptado da Organização Internacional da Vinha e do Vinho (OIV) (MA_E_AS2_10_INDFOL). Em suma, foram transferidos 25 µL de amostra, 2,5 mL de água destilada, 250 µL de reagente de Folin-Ciocalteu e 1 mL de solução aquosa de carbonato de cálcio a 20 % (p/v) para um balão volumétrico de 5 mL. Após perfazer o volume com água destilada, a mistura permaneceu a reagir durante 30 min, à temperatura ambiente, num local escuro. Findo o tempo de reação foi efetuada a leitura a 750 nm no espectrofotómetro UV-vis UV-2600 da Shimadzu (Quioto, Japão), utilizando água destilada como branco. As reações e as leituras foram efetuadas em triplicado. A concentração do total de polifenóis foi calculada a partir da reta de calibração $A_{750}=0,0013[GAE]+0,0458$ obtida para o ácido gálico com o coeficiente de correlação (R^2) de 0,998, na gama 25-600 mg/L, e os resultados são expressos em equivalentes de ácido gálico mg (GAE)/L.

5.6. Determinação do índice de maturação fenólica pelo método ITV

5.6.1. Reagentes

Os reagentes utilizados para a determinação do índice de maturação fenólica foram o ácido clorídrico fornecido pela Sigma-Aldrich e o etanol fornecido pela AGA.

5.6.2. Preparação das amostras

No que se refere à preparação das amostras, foi seguido o protocolo descrito por Kontoudakis *et al.* (51) com algumas modificações. Resumidamente, foram esmagados 10 g de bagos, aos quais se adicionaram 3 mL de etanol e 17 mL de uma solução de ácido clorídrico 0,1%. Deixou-se extrair durante 60 minutos, com interrupções a cada 15 minutos de 1 minuto para agitação. O macerado foi centrifugado por 15 min a 4400 rpm e o sobrenadante foi diluído de 1:100 em água destilada.

5.6.3. Determinação do índice de maturação fenólica

Para a determinação do índice de maturação fenólica, pelo método estabelecido pelo Instituto Técnico da Vinha e do Vinho (*Institut Technique de la Vigne et du Vin*, ITV), foi lida a absorvência de cada amostra a 280 nm no espectrofotómetro UV-vis. As amostras foram analisadas em duplicado, utilizando como branco a água destilada.

5.7. Análise e tratamento de dados

Os dados foram tratados recorrendo ao programa Microsoft Office Excel 2013. Foram também efetuadas análises estatísticas recorrendo ao One-way ANOVA (pelo método Holm-Sidak) software estatístico SigmaPlot 12.0 e à análise multivariada por análise de componentes principais (PCA) da plataforma computacional MatLab (versão 7.6 de Mathworks Inc.).

6. MICROVINIFICAÇÃO DAS UVAS DE DIFERENTES PARCELAS

6.1. Amostras

Com o intuito de avaliar se os diferentes sistemas de condução da vinha (latada e espaldeira), anos de plantação (2006 e 1995) e porta enxertos (R99 e 1103P) têm efeito no Vinho Madeira, procedeu-se à microvinificação das uvas recolhidas dos três dos talhões: 1A (latada de 2006), 1C (espaldeira de 2006) e 12 (espaldeira de 1995).

De cada talhão foram vindimados 6 Kg de uvas, com potencial alcoólico superior a 9,1%, medido *in situ*, e em boas condições fitossanitárias. As uvas foram prensadas manualmente e a cada 6 L de mosto resultante foram adicionados 2,4 mL de solução de metabissulfito de potássio a 15% (v/v) e 120 g de pectinas. A adição da solução de metabissulfito de potássio é importante para o controlo microbiológico e seleção de leveduras, uma vez que impede o desenvolvimento de microorganismos indesejáveis durante a fermentação (52). Por sua vez, a adição de pectinas durante este passo está relacionada com o aumento do rendimento do mosto (53). Foram efetuadas duas microvinificações de 2,5 L para cada talhão, retiradas a partir dos 6 L de mosto inicialmente prensados.

A fermentação alcoólica decorreu em frascos de vidro âmbar de 3 L em contacto com as películas e grainhas, que foram retiradas somente uma semana após a fortificação.

Durante este período a fermentação foi efetuado o controlo da densidade, do °Brix, do potencial alcoólico e da temperatura quatro vezes ao dia, de forma a acompanhar adequadamente a sua evolução. De modo a garantir que a temperatura de fermentação se mantivesse inferior a 25 °C, as garrafas foram colocadas num banho de gelo, com temperatura controlada, a cada duas horas, e posteriormente a cada uma hora quando a densidade se encontrava próxima da pretendida. Tendo em conta a densidade do mosto inicial e o estilo de vinho pretendido (meio-seco), os vinhos foram fortificados quando atingiram a densidade de 1029 Kg/m³, de acordo com a tabela de controlo de fermentação publicada pelo IVBAM, IP-RAM (54). Após a fortificação, o vinho foi filtrado a vácuo através de um filtro da PRAT DUMAS (110 mm, França). Durante o processo de microvinificação foram estabelecidos cinco pontos de amostragem: mosto após a prensa manual (M0), mosto após 24 horas (MIF), mosto antes da fortificação (MAF), vinho antes da filtração (VAF) e vinho filtrado (VF).

A análise dos ácidos orgânicos, açúcares redutores, glicerol e etanol destas amostras foram realizadas de imediato. Para as restantes análises, adicionou-se às amostras uma solução aquosa de cloreto de cálcio (CaCl₂, 800 g/L) na proporção 1:10 e as amostras foram conservadas a -26°C.

6.2. Ácidos orgânicos, açúcares redutores, glicerol e etanol

6.2.1. Reagentes e padrões

Os reagentes e padrões utilizados para a análise de ácidos orgânicos e de açúcares redutores nas amostras de mosto e de vinho encontram-se descritos na secção 5.3.1. Para a determinação do teor de etanol e de glicerol foram utilizados etanol (99,5%), fornecido pela Sigma-Aldrich (St. Louis, Estados Unidos da América), e glicerol (99,5%), da Hi-Media (Mumbai, Índia).

6.2.2. Preparação das amostras

As amostras de mostos e de vinhos resultantes do processo de microvinificação foram centrifugadas a 4000 rpm, durante 15 minutos. Após centrifugação, os sobrenadantes foram filtrados com filtros Acrodisc® CR PTFE da Waters (0,45 µm) e de seguida analisados, em duplicado.

6.2.3. Análise por HPLC-PDA/RI

A análise de açúcares redutores e de ácidos orgânicos foi efetuada por HPLC-PDA seguindo o procedimento previamente descrito na secção 5.3.3. A metodologia descrita para a determinação de açúcares redutores foi também aplicada para a análise de etanol e de glicerol, cuja a calibração foi

através do método de calibração externa, entre 0,13-25% para o etanol e 251-50234 mg/L para o glicerol.

A quantificação dos ácidos orgânicos foi efetuada através do método de calibração externa, entre 50-5013 mg/L para o ácido láctico; 72-7267 mg/L para o ácido málico; 100-10013 mg/L para o ácido tartárico; 10-1000 mg/L para ácidos cítrico e 9 -970 mg/L para o ácido succínico.

6.3. Determinação da composição volátil

6.3.1. Reagentes e padrões

Os reagentes e padrões utilizados na determinação da composição volátil das amostras de mosto e de vinho são os mesmos que os descritos na secção 5.4.1.

6.3.2. Preparação das amostras

Para a análise da composição volátil dos mostos e vinhos por HS-SPME, Procedeu-se do seguinte modo: aos 12 mL de amostra foram adicionados 6 µL de padrão interno, 3-octanol (500 mg/L em vinho sintético). Após homogeneização, foram transferidos 5 mL desta solução para um vial de SPME, contendo 3 g de cloreto de sódio, ao qual se adicionaram 5 mL de água destilada. Seguidamente, o vial foi devidamente selado e homogeneizado no vórtex.

6.3.3. Análise por HS-SPME/GC-MS

A maioria das condições cromatográficas foram mantidas semelhante ao descrito na secção 5.4.3. embora se tenham introduzido algumas alterações. A extração HS-SPME foi então efetuada pela exposição da fibra de SPME DVB/CAR/PDMS no vial durante 30 minutos, a 60 °C, com agitação constante. Os compostos foram desadsorvidos a 240°C, por 5 minutos, pela inserção da fibra do injetor do GC. A temperatura da linha de transferência e da fonte de iões foi de 230°C. A temperatura do forno foi programada para iniciar a 40 °C, por 2 minutos, seguido de um aumento de 4 °C/minuto até aos 230 °C, mantendo-se a esta temperatura durante 15 minutos. As amostras foram analisadas em modo de contagem total de iões (TIC), tendo em conta o intervalo de massa 30-300 m/z.

6.4. Determinação da cor pelos métodos Glories e CIELab

6.4.1. Preparação de amostras

As amostras foram centrifugadas a 4000 rpm, durante 15 minutos e o sobrenadante foi analisado, conforme as recomendações do método OIV (OIV-MA-AS2-07B:R2009)

6.4.2. Análise por espectrofotometria ultravioleta-visível

A determinação dos parâmetros de cor foi efetuada por espectrofotometria UV-vis, através dos métodos Glories e CIELab, indicados pela OIV (OIV-MA-AS2-07B:R2009, OIV-MA-AS2-11:R2006, respetivamente). Em ambos os métodos as análises foram efetuadas no espectrofotómetro UV-vis UV-2600 e os dados foram adquiridos através do programa UVProbe 2.42 da Shimadzu (Quioto, Japão). As leituras foram feitas em duplicado, utilizando células de quartzo com uma espessura ótica de 1 cm. Para o método Glories foram medidas as absorvências a 420, 520 e 620 nm, a partir das quais se calcularam a intensidade da cor ($CI = A_{420} + A_{520} + A_{620}$), a tonalidade ($to = A_{420}/A_{520}$) e a contribuição das componentes de cor amarelo ($\%Ye = A_{420} \times 100/CI$), vermelho ($\%Re = A_{520} \times 100/CI$) e azul ($\%Bl = A_{620} \times 100/CI$). A medição da absorvência a 420 nm permitiu ainda seguir a evolução do índice de “*Browning*” (A_{420}), importante para a caracterização da cor do vinho Madeira (55, 56). Relativamente ao método CIELab, foi efetuada a medição da transmitância na gama 380 a 780 nm, em incrementos de 5 nm. A aquisição das coordenadas L^* (Luminosidade), a^* (Componentes de cor verde/vermelho, $a^* > 0$ vermelho e $a^* < 0$ verde), b^* (Componentes de cor azul/amarelo, $b^* > 0$ amarelo e $b^* < 0$ azul) e dos parâmetros C^* (Cromaticidade, $C^* = a^{*2} + b^{*2}$) e h^* (Tonalidade, $h^* = \tan^{-1}(b^*/a^*)$) foi efetuada através do programa Color Analysis, versão 3.10, da Shimadzu (Quioto, Japão), segundo o iluminante D65 e um ângulo de incidência de 10°. A diferença de cor entre duas amostras, ΔE^* , foi calculada pela expressão: $\Delta E^* = (\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2})^{1/2}$.

6.5. Determinação do índice polifenólico total

6.5.1. Reagentes e padrões

Os compostos utilizados para a determinação do índice polifenólico total encontram-se descritos na secção 5.5.1.

6.5.2. Determinação do índice polifenólico total pelo método de Folin-Ciocalteu

Para a determinação do índice polifenólico total foi aplicado o método de Folin-Ciocalteu, descrito na secção 5.5.3.

6.6. Análise e tratamento de dados

Os dados foram tratados e analisados como se encontra descrito na secção 5.7.

PARTE III

RESULTADOS E DISCUSSÃO



7. RESULTADOS E DISCUSSÃO

7.1. Acompanhamento da maturação das uvas

O acompanhamento da maturação foi efetuado com o principal objetivo de caracterizar a casta Verdelho durante a fase de maturação, tendo em conta o tipo de sistema de condução (latada 1A e espaldeira 1C, ambas de 2006), o ano de plantação (espaldeira 1C de 2006 e espaldeira 1B de 1995) e o tipo de porta enxertos (espaldeira 1B com R99 e a espaldeira 12 com 1103P, ambas de 1995). O Verdelho, selecionado para este estudo devido à sua versatilidade, é uma casta recomendada na produção de vinhos DOP “Madeira”, vinhos DOP “Madeirense” e vinhos com IGP “Terras Madeirenses”. O acompanhamento da maturação foi realizado nas vinhas do campo experimental do Estreito da Calheta, o que proporcionou a que todas as variantes em estudo se encontrassem expostas aos mesmos fatores externos com potencial impacto no processo da maturação das uvas, de modo que a sua influência nos resultados pudesse ser minimizada. Os fatores externos como a temperatura, humidade, luz solar (exposição solar, horas luz e intensidade da radiação), disponibilidade hídrica e tipos de práticas vitícolas e tratamentos fitossanitários praticados, não foram então considerados variáveis, tendo em conta que a localização dos talhões era muita próxima.

A amostragem decorreu durante o ano vitivinícola de 2015, durante 10 de agosto a 22 de setembro em quatro talhões de amostragem, três espaldeiras (1B, 1C e 12) e uma latada (1A). Para cada uma das espaldeiras foram efetuadas um total de 4 colheitas e para a latada 5 colheitas. Esta colheita extra deveu-se ao atraso da latada na maturação das uvas. A penúltima colheita correspondeu à semana em que foi realizada a vindima e a última colheita correspondeu aos cachos que foram propositadamente deixados nas vinhas após a vindima. Relativamente à data da vindima, o critério de escolha utilizado foi o acompanhamento do potencial alcoólico, até que fosse alcançado os 8,5% mínimos (valor mínimo para uvas destinadas à produção de vinho Madeira) aliado às previsões meteorológicas relativamente à ocorrência de chuva. Este critério de escolha da data da vindima é a prática comum na região vitivinícola da Madeira e é o seguido pelo IVBAM, IP-RAM, nomeadamente nos seus campos experimentais. A data da vindima para as espaldeiras foi a 26 de agosto (correspondendo ao 21º dia de maturação), quando os valores de potencial alcoólico destas uvas se encontravam entre 9,5 e 9,9% (amostragem realizada no campo) e para a latada foi a 9 de setembro (correspondendo ao 35º dia de maturação) quando havia a previsão de chuvas fortes para o final dessa semana e as uvas já tinham alcançado o

potencial alcoólico de 8,5%. A ocorrência de chuvas fortes pode levar à diminuição do potencial alcoólico das uvas. Neste período as vinhas encontram-se em stress hídrico devido à falta de água, pois é prática comum não regar as vinhas desde a sua transição para a fase do “pintor”, com o intuito de incrementar o potencial alcoólico das uvas.

A amostragem efetuada foi realizada do modo mais homogéneo possível, de forma a eliminar variações extrínsecas à amostra, sendo efetuada sempre da mesma forma e seguindo os critérios descritos na secção 5.1.

De forma a caracterizar morfológicamente a maturação foi efetuado o registo fotográfico da evolução dos cachos ao longo da maturação e o acompanhamento das dimensões dos cachos e do volume e peso dos bagos. O **registo fotográfico**, Figura 10, é um método de monitorização muito utilizado, que permite registar as alterações a nível morfológico, sendo assim possível o registo das alterações ao longo da maturação. Com este registo foi possível registar a perda do aspeto herbáceo, o inchamento e a alteração de cor dos bagos.

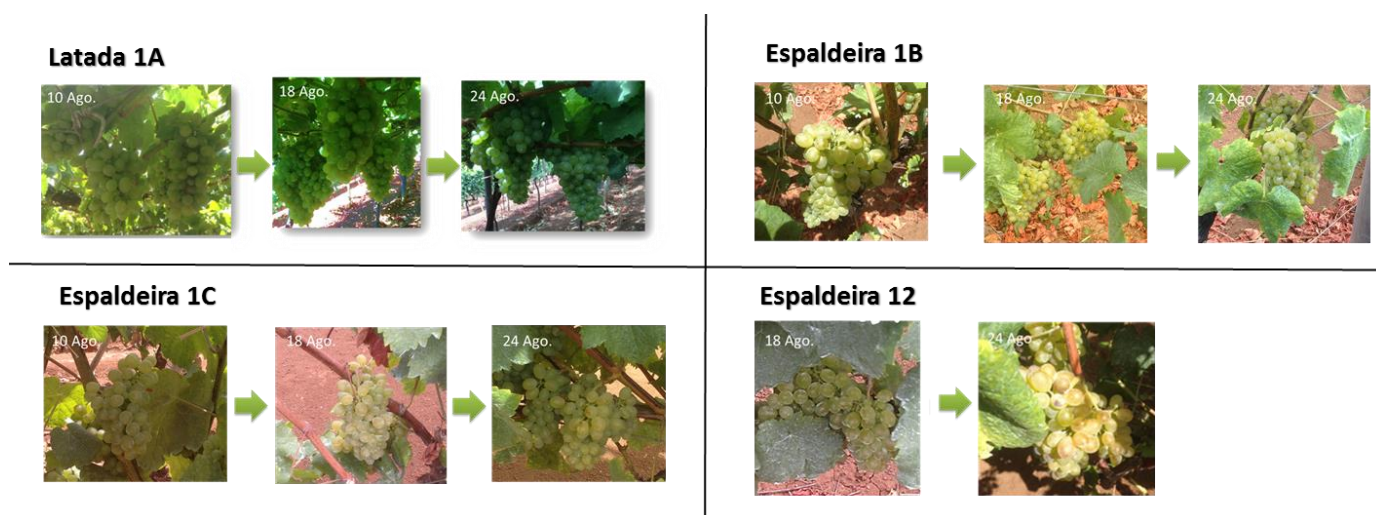


Figura 10: Registo fotográfico da maturação de cachos representativos de cada talhão em estudo.

Foi efetuado um acompanhamento das **dimensões dos cachos**, sendo medido o **comprimento**, a **largura** e o **peso** de 10 cachos representativos de cada talhão em estudo, sempre que se efetuou a amostragem.

Da análise dos dados obtidos ao longo da maturação foi observado que, em média, o talhão que apresenta cachos de maiores dimensões é a espaldeira 1C, com o ano de plantação em 2006, apresentando comprimentos médios entre os 16 a 18 cm e larguras de 11 a 13 cm ao longo da maturação. Em relação aos restantes (latada 1A e as espaldeiras 1B e 12) apresentaram cachos com

dimensões mais próximas, com o comprimento a variar em média entre os 13 e os 14 cm e a largura a variar entre os 9 e os 10 cm, no decorrer da maturação (Figura 11).

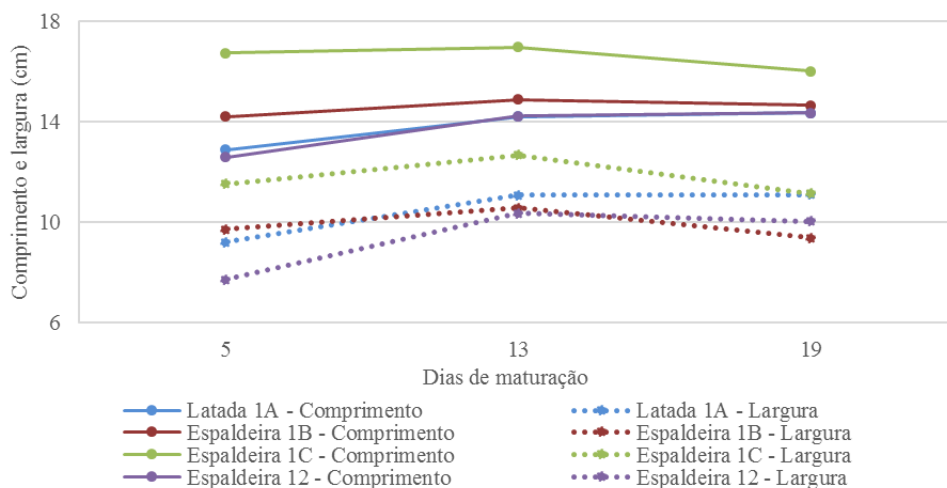


Figura 11: Evolução da largura e comprimento dos cachos durante a fase de maturação.

Em relação à medição do peso dos cachos, não foi efetuada a pesagem dos cachos da latada 1A devido às limitações do terreno, não sendo possível efetuar medições dos cachos na própria videira. Analisando os dados obtidos na pesagem dos cachos das espaldeiras ao longo da maturação, foi observado que a espaladeira 1B (com ano de plantação 1995) apresentou os cachos com peso médio mais baixo variando entre as 300 e as 550 g. Relativamente às restantes espaldeiras, a 1C (com ano de plantação 2006) e a 12 (com ano de plantação de 1995), estas apresentaram pesos com valores médios próximos no início da maturação, variando entre as 450 g e as 650 g, mas aos 19 dias de maturação verificou-se que a espaladeira 1C produziu os cachos de maior peso (peso médio de 645 g) (Figura 12).

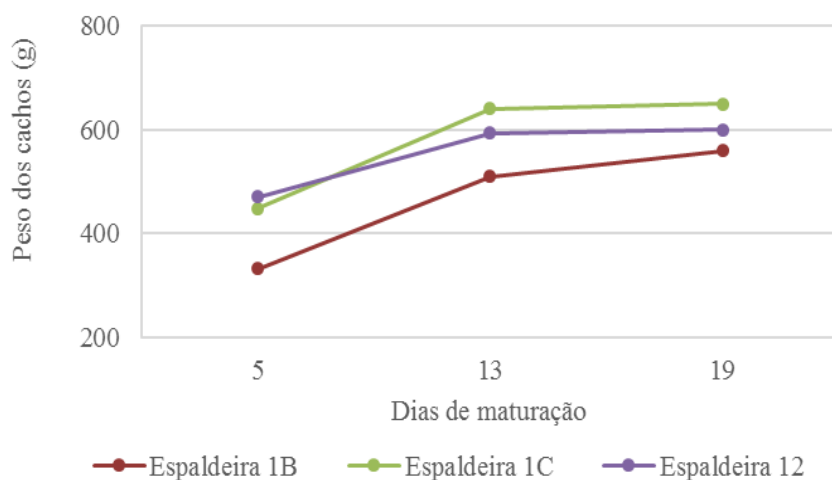


Figura 12: Evolução do peso médio dos cachos ao longo da maturação.

Comparando as uvas dos diferentes talhões com diferentes sistemas de condução, anos de plantação e porta enxertos, os dados obtidos indicam que vinhas com condução em espaldeira (espaldeira 1C em comparação à latada 1A), mais jovens (espaldeira 1C em relação à espaldeira 1B) e com porta enxerto R99 (espaldeira 1B comparando com a espaldeira 12) são as que apresentam cachos maiores e mais pesados. Tal como descrito na bibliografia (1), os resultados obtidos ao longo da amostragem demonstram que existe uma tendência para o aumento do comprimento, da largura e do peso do cachos com o decorrer da amostragem (maturação). Este aumento deve-se ao alongamento do eixo principal e dos pedicelos e ao aumento do volume e do peso dos bagos ao longo da maturação (1).

À semelhança dos resultados anteriores, em geral, a evolução do **peso** e do **volume dos bagos** ao longo da maturação, revelou uma tendência crescente, como se pode observar na Figura 13. Ao longo da maturação a espaldeira 1C foi a que apresentou valores superiores de peso por bago e volume de 100 bagos em relação à latada e às restantes espaldeiras, com a exceção do 29º dia de maturação para a espaldeira 1B. Em relação às espaldeiras 1B, 12 e à latada 1A, estas apresentaram comportamentos semelhantes entre si ao longo da maturação (Figura 13).

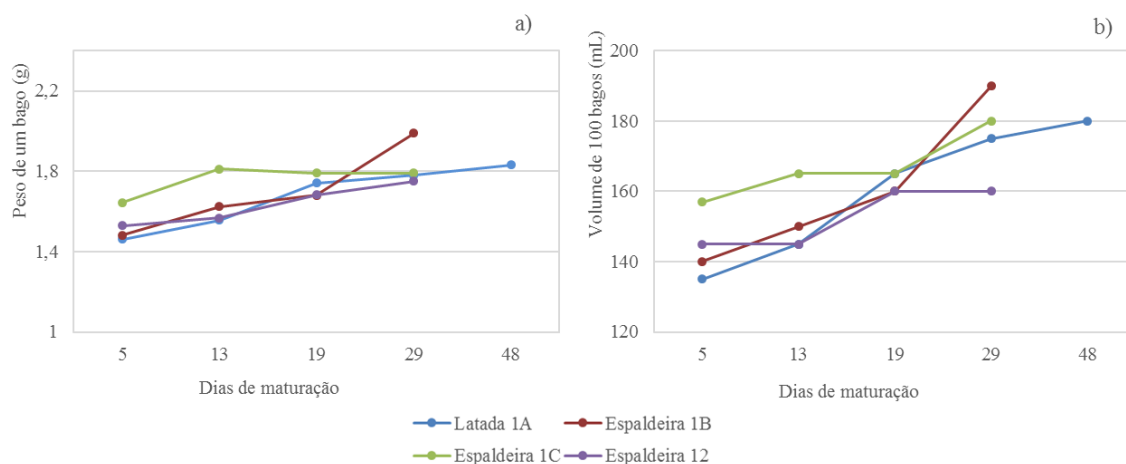


Figura 13: Peso de um bago (a) e volume de 100 bagos (b).

Comparando as uvas dos diferentes talhões em estudo, verificou-se que as uvas do talhão 1C, cujas vinhas se encontram dispostas em espaladeira e são mais jovens, foram as que apresentaram bagos mais pesados e de maior volume desde o início da maturação e até à altura da vindima. Por outro lado, as vinhas dispostas em latada (1A) e mais antigas (espaldeiras 1B e 12) apresentaram valores inferiores para estes parâmetros, ao longo do mesmo período. Em relação aos porta enxertos estudados, R99 (espaladeira 1B) e 1103P (espaladeira 12), não se verificaram importantes diferenças até a data da vindima, no entanto, ao 29º dia de maturação, uma semana após a vindima, os resultados indicam diferenças assinaláveis entre os valores obtidos para o peso de um bago e para o volume de 100 bagos registados nesta data para a espaladeira 1B com R99 (1,95 g e 190 mL, respetivamente), que foram superiores relativamente aos registados para a espaladeira 12 com 1103P (1,75 g e 160 mL, respetivamente). A tendência crescente destes parâmetros deve-se ao aumento da migração de nutrientes para os bagos ao longo da maturação, à qual se sucede a acumulação de açúcares e, conseqüentemente, o aumento do volume das células, nomeadamente dos seus vacúolos (1). Através da análise morfológica tudo parece indicar que a espaladeira mais jovem (1C) atinge a maturação mais cedo que as restantes, porque a partir do 13º dia o peso, comprimento e largura dos cachos deixam de aumentar, assim como o peso dos seus bagos. Já as uvas dos restantes talhões não parecem atingir a maturação plena à data da vindima, uma vez que o peso dos cachos e volume dos bagos destes continuam a aumentar mesmo após a data da vindima de cada talhão (21º dia de maturação para as espaldeiras e 35º dia para a latada).

A caracterização química das amostras foi efetuada através da análise de açúcares redutores, °Brix, ácidos orgânicos, pH, índice polifenólico total, maturação fenólica e compostos voláteis. Em

relação ao **total de açúcares redutores**, os resultados apontam para um aumento da sua concentração ao longo da maturação. Uma tendência semelhante foi também observada para o **°Brix**, indicativo de um aumento da quantidade de sólidos solúveis, que maioritariamente correspondem a açúcares, como pode ser verificado na Figura 14.

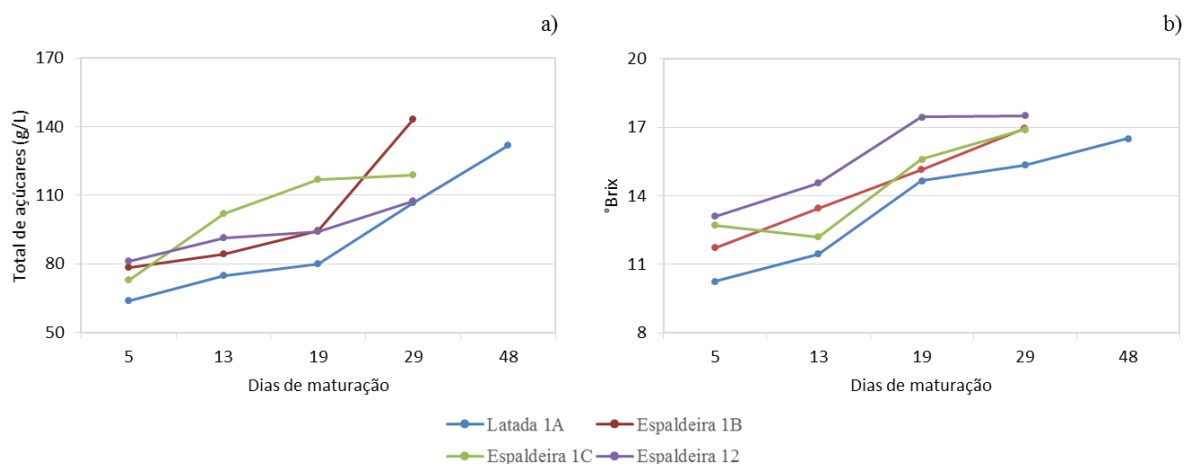


Figura 14: Evolução da soma total dos açúcares analisados (glucose e frutose) (a) e °Brix (b) das uvas ao longo da maturação.

Os açúcares redutores individualmente quantificados corresponderam à glucose e frutose, para os quais foi observado um aumento proporcional da sua concentração em todos os talhões ao longo da maturação, Figura 15. As uvas em estudo, durante a fase de maturação, apresentaram na sua constituição concentrações de glucose que variaram entre os 38 e 76 g/L e de frutose na gama de 25 a 63 g/L. A espaladeira 1C de 2006 foi o talhão que apresentou uvas com maiores concentrações de glucose e de frutose até ao 19º dia de maturação, tendo atingindo níveis de 62,22 g/L e 54,48 g/L, respetivamente. Após esta data a acumulação de açúcares estabilizou. Após o 19º dia, data da vindima das espaladeiras, verificou-se ainda o aumento dos teores de açúcares redutores das espaladeiras 1B e 12, assim como da latada 1A. Estes resultados vêm confirmar os resultados anteriormente observados, nos quais as uvas dos diferentes talhões parecem atingir o estado de maturação completa em datas diferentes.

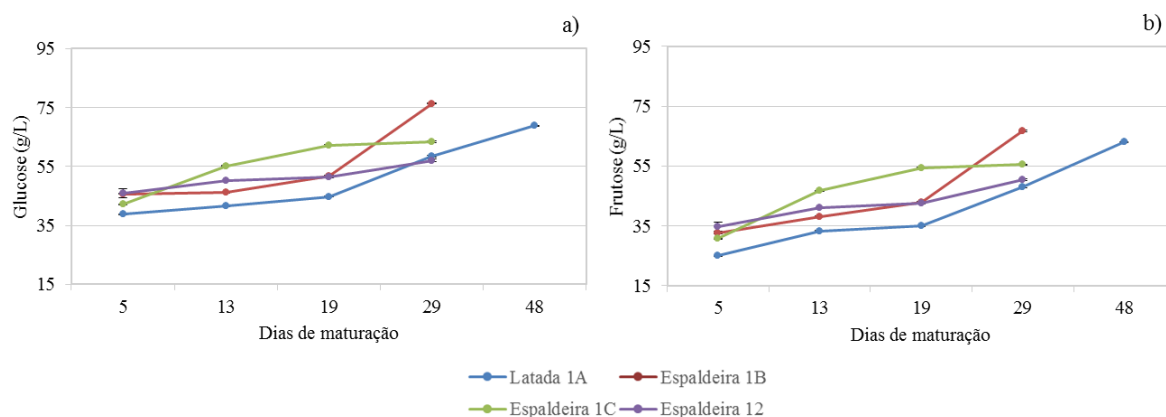


Figura 15: Evolução do conteúdo de glucose e de frutose no decorrer da maturação.

De acordo com o conhecimento empírico, as uvas das vinhas com condução em latada apresentam concentrações inferiores de açúcares quando comparadas com as uvas das vinhas com condução em espaladeira, devido à diferença de distribuição dos açúcares pela planta. No entanto, os resultados obtidos permitiram constatar que a latada 1A aparenta atingir a sua maturação completa mais tarde, com concentrações máximas de glucose e de frutose de 68,8 e 63,1 g/L, respetivamente, e °Brix máximo de 16,5°, o que indica que, no final da maturação, as uvas deste talhão não apresentam os níveis mais baixos de glucose e de frutose. Comparando as uvas das vinhas com diferentes anos de plantação, observou-se que as uvas de vinhas com ano de plantação em 2006 apresentaram concentrações mais elevadas de glucose e de frutose relativamente às uvas das vinhas de 1995, o que poderá indicar que plantas mais jovens conseguem acumular uma maior concentração de açúcares, talvez por terem maior eficiência fotossintética. Relativamente às uvas dos talhões com diferentes porta enxertos, ou seja, comparando as espaldeiras 1B (com R99) e 12 (com o 1103P), ambas com ano de plantação 1995, verificou-se que ao longo da maturação os níveis de açúcares registados eram muito próximos, à exceção do último dia de colheita, no qual as concentrações de glucose e de frutose obtidas para a espaladeira 1B foram significativamente mais elevadas (76,3 e 66,7 g/L, respetivamente).

Foram também identificados e quantificados os **ácidos orgânicos** e foi efetuada a medição do **pH** das uvas de cada talhão em estudo. A Figura 16 ilustra a evolução da soma total dos ácidos orgânicos e do pH das uvas dos diferentes talhões. Na Figura 16 é possível observar que os valores de pH variam entre 3 e 4 ao longo da maturação. Estes resultados são semelhantes aos apresentados por Zhang *et al.*(57), que descreveu uma variação dos valores de pH das uvas entre os 3,4 e os 3,9, ao longo da maturação. Não foram verificadas grandes diferenças entre os talhões em estudo, com a

exceção da latada 1A para a qual os resultados das últimas 3 colheitas foram ligeiramente inferiores aos restantes. A uniformidade de resultados poderá dever-se à fertilidade do solo, uma vez que foi efetuado o mesmo tipo de fertilização em todos os talhões, sendo que a fertilidade do solo é um dos principais fatores responsáveis pela variação do pH nas uvas (1). Regra geral, a soma total de ácidos orgânicos decresce ao longo da maturação, à exceção do aumento que ocorreu do 13º dia para 19º dia. Este aumento pode ser explicado por alterações ocorridas no meio em que as vinhas se encontram inseridas, como temperatura, humidade do meio e ocorrência de precipitação. Tendo em conta os resultados obtidos para o total de ácidos orgânicos, as uvas da latada 1A foram as que apresentaram concentrações mais elevadas de ácidos orgânicos, quando comparadas com as uvas das espaldeiras, estando em concordância com os resultados anteriormente obtidos para os açúcares. Comparando as uvas dos talhões com diferentes anos de plantação, verificou-se que as vinhas mais antigas (1B de 1995) produziram uvas com um teor total de ácidos orgânicos mais elevado. No que se refere às uvas dos talhões com diferentes porta enxertos, as do porta enxerto do tipo R99 (espaldeira 1B), em comparação ao 1103P (espaldeira 12), foram também as que apresentaram valores mais elevados.

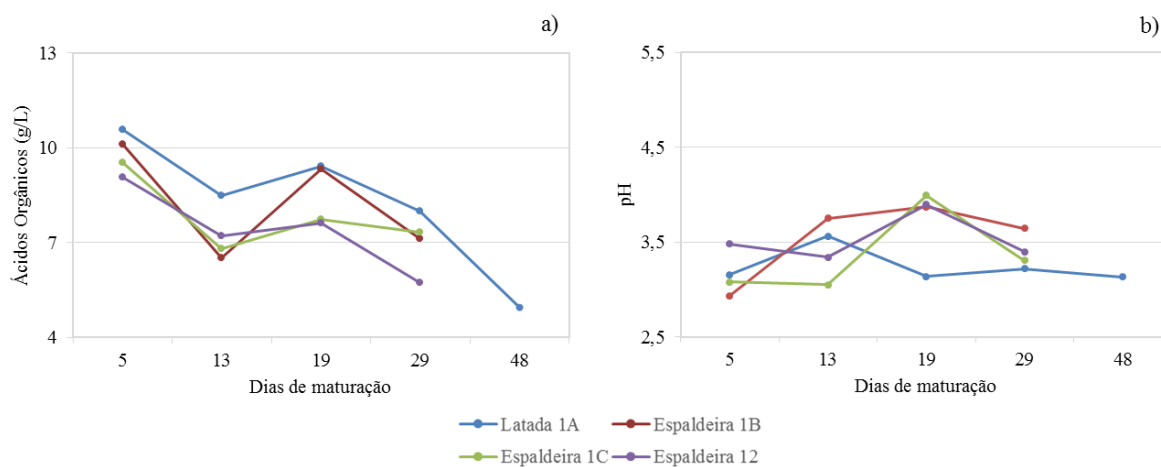


Figura 16: Evolução da soma total dos ácidos orgânicos analisados (a) e da medição de pH (b) das uvas ao longo da maturação.

Os ácidos orgânicos identificados e quantificados foram os ácidos cítrico, málico, succínico e tartárico, cujas evoluções se encontram ilustradas na Figura 17. Ao longo do período de maturação, e tal como reportado por Silva *et al.* (3), o ácido tartárico permaneceu em maiores concentrações relativamente aos restantes ácidos analisados. Em geral, ao longo da maturação, os níveis de ácido tartárico tendem a decrescer, sendo esta diminuição mais acentuada nas uvas dos talhões 1A e 12, para as quais o decréscimo é de 38,9% e de 25,3% respetivamente. Analisando os níveis deste ácido

nas uvas dos diferentes sistemas de condução (latada 1A Vs. espaldeira 1C) observaram-se diferenças ao longo do período de maturação. À data da vindima de cada talhão a concentração deste ácido era mais baixa (cerca de 38,9%) nas uvas provenientes da latada. Esta diferença também se verifica nos níveis mínimos atingidos no período estudado, 3,63 g/L para a latada 1A e 5,51 g/L para a espaldeira 1C. No que se refere à comparação dos níveis deste ácido nas uvas de vinhas com diferentes anos de plantação (espaldeira 1B Vs. 1C) verificaram-se comportamentos semelhantes ao longo da maturação, no entanto, na colheita correspondente à semana da vindima (19º dia) a espaldeira 1B apresentou concentrações superiores (6,82 g/L) de ácido tartárico. Comparando os resultados para os diferentes porta enxertos (espaldeira 12 Vs. 1B), verificou-se que a concentração do ácido tartárico na colheita correspondente à data da vindima foi 13,5% superior nas uvas da espaldeira 1B (6,82 g/L), embora tenham manifestado comportamentos semelhantes durante a maturação.

Em relação aos ácidos málico e sucínico, estes apresentaram comportamentos semelhantes em todas as amostras, que revelou uma tendência para a redução mais evidente (até cerca de 75%) das suas concentrações ao longo da maturação. A concentração registada destes ácidos nas uvas da latada 1A foi claramente superior (geralmente cerca de 1 g/L mais elevada) quando comparada com a registada para as uvas provenientes das espaldeiras em estudo sendo registados 4,45 e 2,58 g/L, respetivamente. No entanto, foi possível verificar que estes ácidos decrescem significativamente na semana após a vindima deste talhão. Relativamente ao conteúdo de ácido málico das uvas das espaldeiras, verificou-se as vinhas mais velhas e com porta enxerto R99 (espaldeira 1B) exibem valores mais elevados deste ácido (cerca de 0,5 g/L mais elevado). No que se refere aos níveis de ácido sucínico das uvas das espaldeiras em estudo, durante a maturação, estas revelaram um comportamento e concentrações muito semelhantes até a data da vindima, embora na fase final do estudo as uvas da espaldeira 12 tenham revelado um menor decréscimo, até 0,80 g/L.

De todos os ácidos identificados, o ácido cítrico foi o que ocorreu em menores concentrações, variando entre os 42,46 e os 139,43 mg/L, e os resultados obtidos não demonstraram uma tendência clara ao longo da maturação. As uvas do talhão 1A foram as que apresentaram maior teor deste ácido (até cerca de 50% superior), à exceção do 13º dia, no qual o teor de ácido cítrico das uvas da espaldeira 12 foi cerca de 36% superior (77,99 mg/L).

Da análise individual de ácidos orgânicos é evidente que as uvas provenientes da latada exibem comportamentos e concentrações diferentes das espaldeiras, que por sua vez exibem comportamentos e concentrações mais próximas entre si.

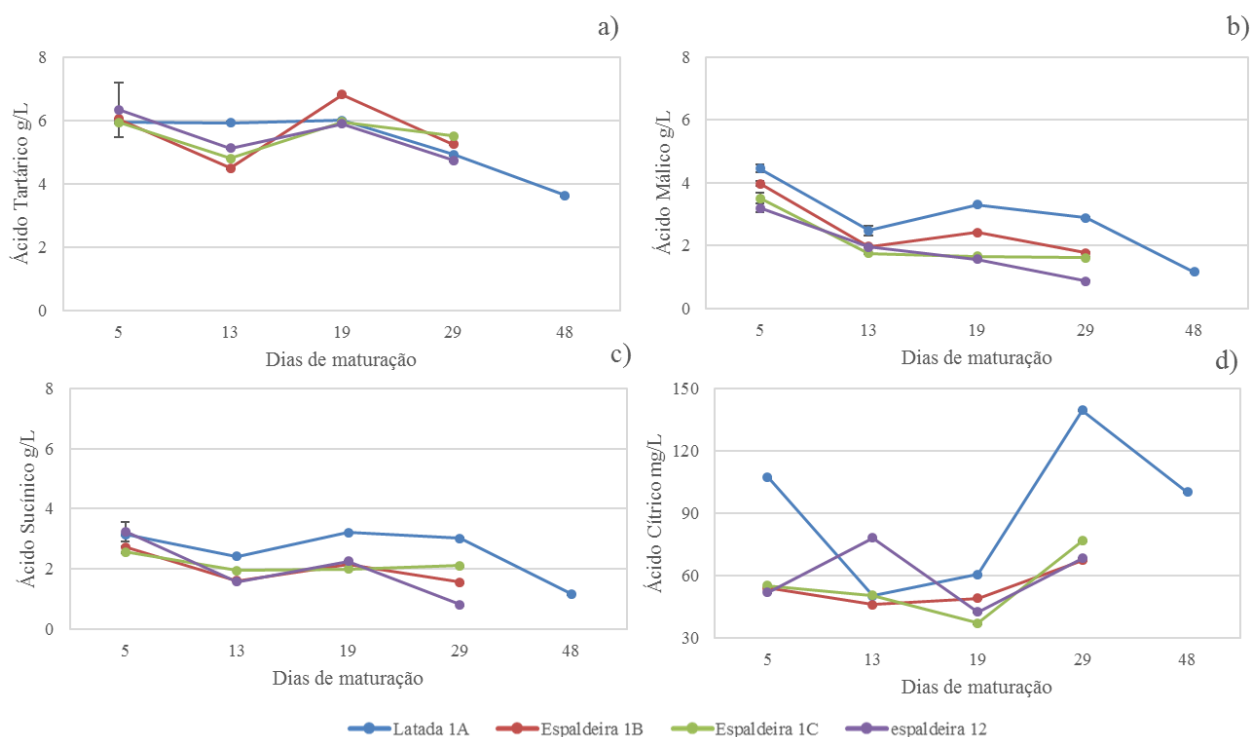


Figura 17: Evolução dos ácidos tartárico (a), málico (b), sucínico (c) e cítrico (d) ao longo da maturação.

A análise do perfil total dos **compostos voláteis** presentes nas uvas ao longo da maturação trata-se de uma importante ferramenta para a avaliação do potencial volátil e para a determinação do período de tempo necessário para que seja atingido o seu potencial máximo. Por outro lado, demonstra também uma elevada utilidade na determinação das características da variedade (58). A análise efetuada neste estudo foi realizada para dois pontos da amostragem, nomeadamente para o 5º e 19º dias no caso das espaladeiras e para o 5º e 29º dias para a latada, que em ambos os casos, correspondem à primeira semana no estado fenológico o “pintor” e à semana da vindima, respetivamente. Nesta análise foram identificados um total de 59 compostos voláteis, que após a identificação e confirmação com o auxílio do índice de Kovats, foram organizados de acordo com a sua família química, num total de cinco famílias: ácidos gordos, álcoois, compostos carbonilo, ésteres, terpenóides e outra categoria denominada “outros compostos”, na qual foram englobados os compostos que não se inseriam em nenhuma das outras famílias.

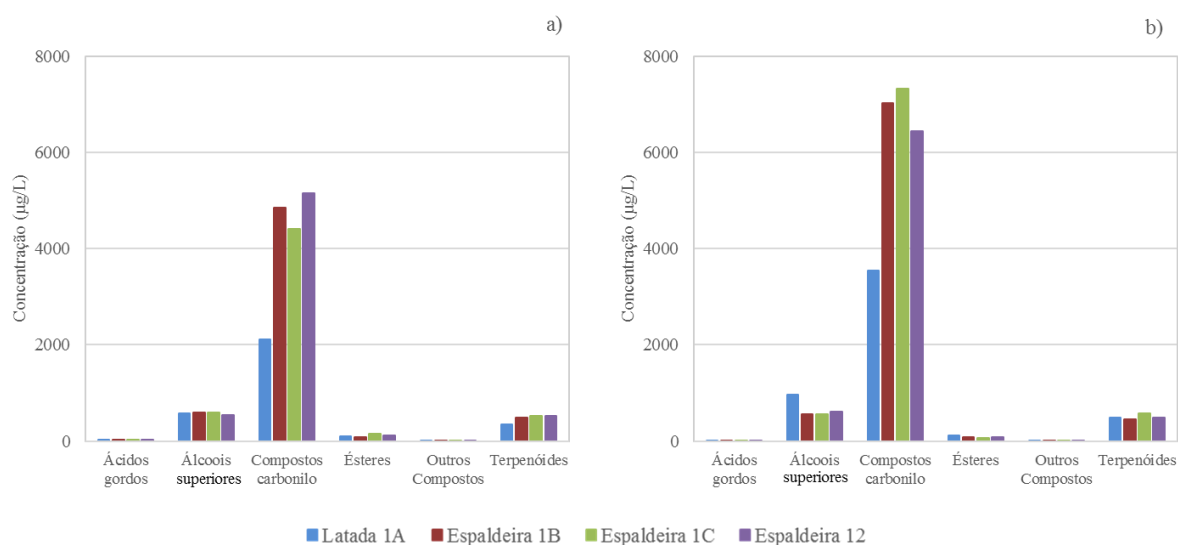


Figura 18: Comparação da concentração total das diferentes famílias de compostos voláteis identificados no início do “pintor” (a) e na semana da vindima (b).

Na Figura 18 encontram-se ilustrados o total das concentrações médias das famílias de compostos voláteis identificados nas uvas de cada talhão em estudo. Através da análise da Figura 18 é possível observar que a concentração de compostos carbonilo, responsáveis pelo aroma a verde (39), é em geral consideravelmente superior na semana em que foi efetuada a vindima, relativamente aos resultados obtidos para a amostragem da primeira semana do “pintor”. Este resultado indica que o processo de maturação das uvas influencia fortemente a produção deste tipo de compostos voláteis, aumentando em média cerca de 28% em todas as uvas das parcelas em estudo. Estes resultados encontram-se de acordo com os trabalhos realizados por Gómez *et al.* (40), Yang *et al.* (41) e Yang *et al.* (39), em que é evidenciado o aumento da concentração de compostos carbonilo com a evolução da maturação. É de salientar que o aumento da concentração destes compostos foi mais acentuado nas uvas da espaladeira 1C, corroborando os resultados obtidos anteriormente que evidenciam que as uvas deste talhão atingiram a maturação mais cedo. Outro resultado a destacar, refere-se às uvas correspondentes à latada 1A que apresentaram maior concentração de álcoois superiores após os 29º dias de maturação (cerca de 40% superior relativamente às uvas dos outros talhões).

No que se refere à comparação das concentrações de compostos terpenóides entre a latada 1A e a espaladeira 1C, ambas com o mesmo ano de plantação, foi possível observar que, tanto no 5º dia como no dia de colheita correspondente à semana da vindima (29º dia para a latada e 19º dia para as espaladeiras), as concentrações obtidas para a espaladeira 1C foram superiores (cerca de 34% e 16% superior no 5º dia e no dia correspondente à semana da vindima, respetivamente).

Analisando o perfil volátil de cada amostra das uvas de Verdelho, foi observado que em todas as amostras, de ambos os pontos de maturação, os compostos maioritários foram o hexanal e o (E)-2-hexanal com cerca de 46% e 27% de abundância, respetivamente, em todas as amostras de uvas analisadas. Estes dois compostos carbonilo encontram-se maioritariamente presentes nas películas dos bagos e são associados ao esmagamento e maceração das películas (59), sendo os principais contribuintes para o aroma herbáceo, a verde e a relva cortada (60). Para além destes, mas em percentagem de abundância muito inferior, encontram-se o terpenóide limoneno, com aroma frutado a limão, e o álcool superior 1-hexenol com aroma herbáceo (com 5,11% e 4,44% de abundância, respetivamente).

Relativamente aos **compostos fenólicos**, foram determinados o índice polifenólico total e o índice de maturação fenólica das uvas, descritos nas secções 5.5 e 5.6, respetivamente. No que se refere à medição do **índice polifenólico total** foi utilizado o método colorimétrico segundo Folin-Ciocalteu e os resultados obtidos são apresentados na Figura 19. Em geral, constatou-se que estes resultados não apresentaram uma tendência clara no decorrer da maturação. É reportado que a acumulação de compostos fenólicos ocorre desde a formação do bago até à sua maturação, no entanto, é superior durante o desenvolvimento dos bagos e menor durante a maturação (1), o que pode explicar a inexistência de uma tendência clara durante a maturação das uvas de Verdelho em estudo. A exceção foram os resultados de IPT obtidos para a espaldeira 1C que, de modo geral, mantiveram-se constantes durante a maturação, não apresentando diferenças significativas, com $p \leq 0,05$. Os resultados obtidos encontram-se na gama descrita no estudo realizado por Brighenti *et al.*, no qual foi efetuada a comparação do índice polifenólico total de castas tintas e brancas, sendo que o total de polifenóis das 11 das variedades de uvas brancas variaram entre 283,6 e 1378,3 mg(GAE)/L. Outro resultado a destacar refere-se à comparação das concentrações obtidas para as uvas da latada que, nos pontos inicial e final da maturação, foram superiores às obtidas para as uvas das espaldeiras.

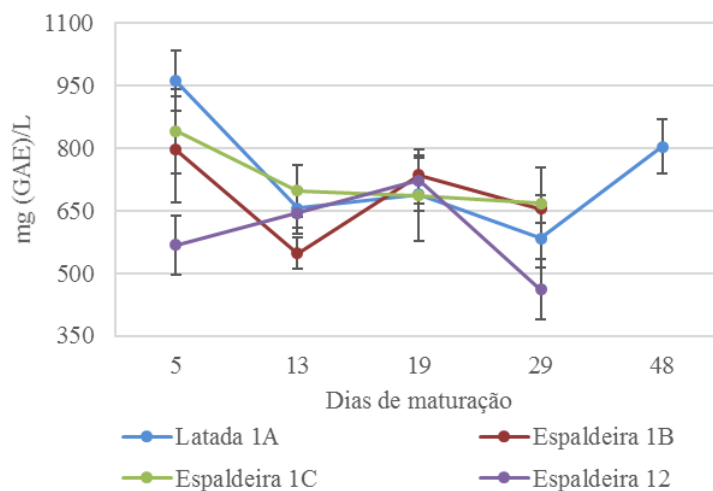


Figura 19: Evolução do índice total de polifenóis ao longo da maturação.

Em relação ao **índice de maturação fenólica**, verificou-se que os resultados variaram entre 6,17 a 20,64 (Figura 20). Comparando a evolução dos resultados obtidos para as uvas dos diferentes talhões em estudo não foi observado um comportamento linear ao longo da maturação. De modo geral, o índice de maturação das uvas das espaldeiras aumenta até a semana da vindima em cerca de 37%, exceto as uvas da espaladeira 1C, nas quais este aumento ocorre desde a fase do pintor até ao 13º dia, evidenciando novamente que as uvas deste talhão atingiram a maturação completa antes dos restantes talhões em estudo. Já as uvas da latada 1A revelaram uma diminuição contínua durante o estudo.

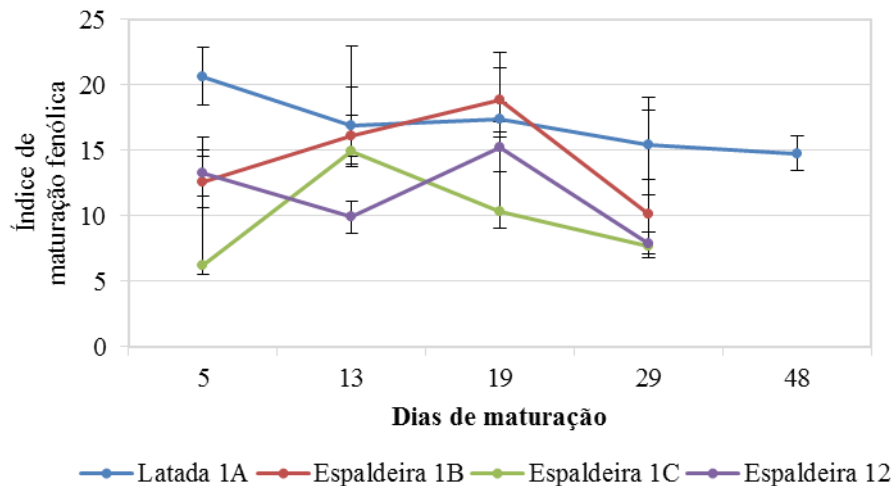


Figura 20: Evolução do índice de maturação fenólica durante a maturação.

No entanto, comparando diretamente os dois sistemas de condução, as uvas da latada 1A de 2006 foram as que apresentaram valores superiores ao longo da maturação, em comparação com as uvas da espaladeira 1C do mesmo ano de plantação. As uvas da espaladeira com maior índice de maturação fenólica foram as da 1B com ano de plantação de 1995 e com porta enxerto R99 (18,81 na semana da vindima).

Com o intuito de identificar os parâmetros que diferenciaram as uvas dos diferentes talhões, foi efetuada a análise de componentes principais (PCA). Para esta análise foram tidos em conta 72 parâmetros químicos (2 açúcares, 4 ácidos orgânicos, 5 parâmetros básicos e 59 compostos voláteis). A Figura 21 ilustra a distribuição das amostras ao longo do PC1, PC2 e PC3 e os parâmetros que contribuem para essa distribuição. O PC1 explica 41,41% da variância, enquanto que o PC2 explica 13,94% e o PC3 13,13%. Ao longo do PC1 verifica-se a clara separação entre as amostras colhidas no 5º dia de maturação e as amostras colhidas no 29º dia (que corresponde à semana da vindima da latada) e no 19º dia (que corresponde à semana da vindima das espaladeiras). Relativamente às amostras colhidas no 5º dia de maturação, não foi observada variação entre as uvas dos talhões em estudo, o que indica que no início da maturação as uvas são semelhantes, independentemente da sua origem. Grande parte da variação captada deve-se ao próprio processo de maturação (PC1), enquanto que as diferenças entre os talhões em estudo são perceptíveis apenas no PC2 e PC3.

Foram evidenciadas diferenças entre as uvas da latada 1A e as espaladeiras colhidas na semana da vindima ao longo do eixo PC2 e PC3 ((a) e (b) da Figura 21, respetivamente).

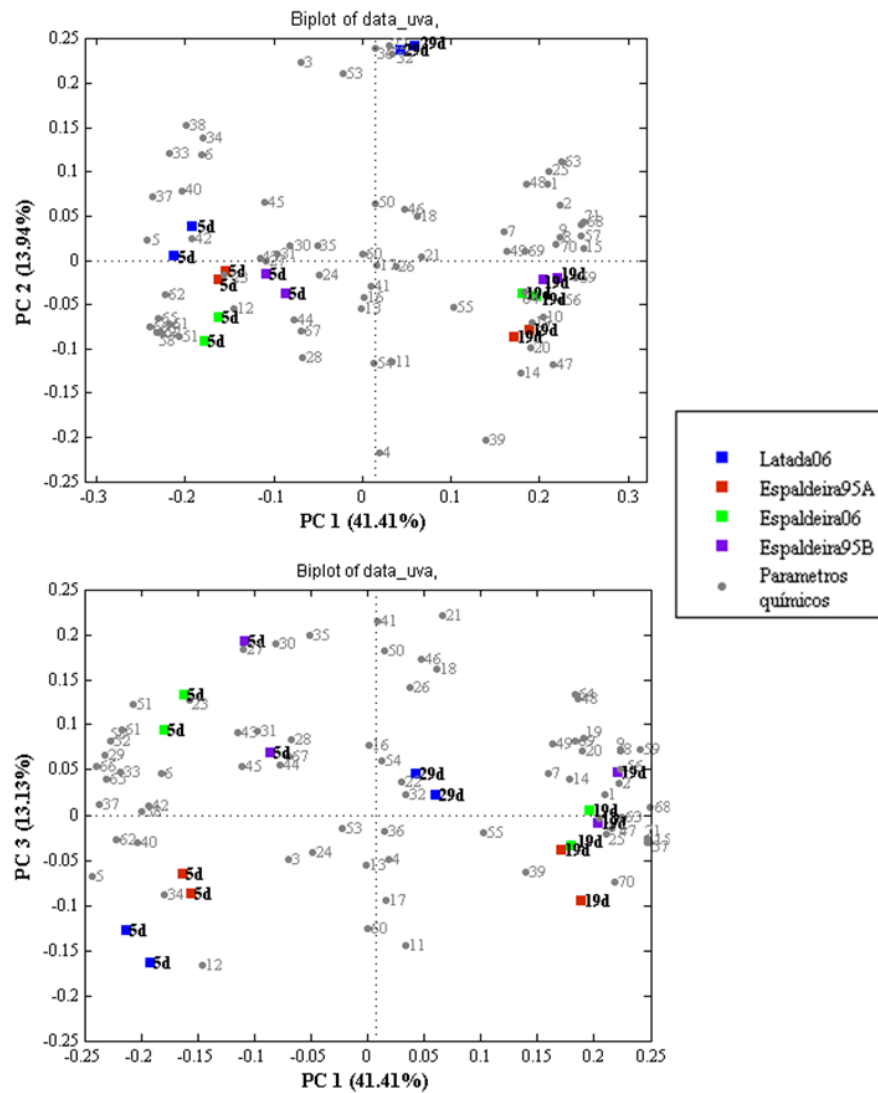


Figura 21: Análise multivariada dos dados obtidos para as uvas dos diferentes talhões em estudo, por PCA aplicada aos diferentes parâmetros químicos determinados. (a) PC1 vs. PC2 e (b) PC1 vs. PC3

Os parâmetros químicos que foram determinantes na diferenciação das amostras colhidas na semana da vindima das amostras recolhidas no início da maturação foram 22, que correspondem a 2 açúcares (concentração de glucose e de frutose), 3 parâmetros básicos ($^{\circ}$ Brix, potencial alcoólico e pH) e 17 compostos voláteis (1 ácido gordo, 4 álcoois, 5 compostos carbonilo, 2 ésteres e 5 terpenóides) (Tabela 6). Este resultado permite-nos inferir que estes podem ser indicadores da evolução da maturação para esta casta, pelo que a sua monitorização poderá contribuir para o controlo de qualidade das uvas ao longo da maturação.

A análise estatística por PCA também revelou que os parâmetros clássicos de controlo da maturação em diversas castas, como a concentração de açúcares (glucose e a frutose), o °Brix, o potencial alcoólico e o pH, são parâmetros importantes para o controlo da maturação.

Tabela 6: Compostos voláteis correspondentes aos parâmetros químicos diferenciadores da maturação.

	#	Compostos	CAS	Aroma
Ácido Gordido	71	Ácido 2-hexenóico	1191-04-4	
Álcoois	49	1-Octanol	111-87-5	Cera
	64	2,7-Dimetil-octa-2.6-dien-1-ol	22410-74-8	
	68	Álcool benzílico	100-51-6	Floral
	69	2-Feniletanol	60-12-8	Floral
Compostos Carbonilo	14	Hexanal	66-25-1	Relva
	19	2-Hexenal	505-57-7	Relva
	20	(E)-2-Hexenal	6728-26-3	Relva
	48	(Z)-2-Nonenal	60784-31-8	Gorduroso
	78	β -Ionona	79-77-6	Floral
Ésteres	56	Succinato de dietilo	123-25-1	Frutado
	59	Acetato de nerilo	141-12-8	Floral
Terpenóides	15	β -Pinoeno	127-91-3	Herbáceo
	25	Terpinoleno	586-62-9	Herbáceo
	47	Óxido linalol	78-70-6	Floral
	57	α -Humuleno	6753-98-6	Madeira
	63	7-Metil-3-metileno-6-octen-1-ol	13066-51-8	Frutado

Relativamente aos compostos voláteis, embora os ácidos gordos se encontrem em pouca abundância nas uvas (61), a análise por PCA revelou que o ácido 2-hexenóico poderá ser um composto indicador de maturação, porque em todas as amostras este composto apenas foi identificado nas amostras correspondentes à semana da vindima. Anteriormente foi referido que ao longo da maturação os compostos carbonilo tendem a aumentar e os álcoois a decrescer (39-41), já os terpenóides e ésteres tendem a se acumular mais no final da maturação (57, 62). A análise de PCA vem também revelar a importância destes compostos para a maturação das uvas e indica outros compostos que tendencialmente também desempenham um importante papel na maturação da casta Verdelho, identificados na Tabela 6.

Tabela 7: Compostos voláteis correspondentes aos parâmetros químicos diferenciadores da latada em relação as espaldeiras.

	#	Compostos	CAS	Aroma
Álcoois	34	(Z)-3-Hexen-1-ol	928-96-1	Verde
	36	2-Hexen-1-ol	928-95-0	Verde
Compostos Carbonilo	53	β -Ciclocitral	432-25-7	Herbáceo
Ésteres	22	Isovalerato de butilo	109-19-3	Frutado
	38	Butirato de Hexilo	2639-63-6	Verde

Através da análise do (b) da Figura 21 é possível observar que os parâmetros químicos importantes na diferenciação entre a latada e as espaldeiras são 6 e correspondem ao ácido cítrico e a 5 compostos voláteis (2 álcoois, 1 composto carbonilo e 2 ésteres).

7.2. Comparação de clones

Entre 1989 e 1993, foram plantados 12 clones de Verdelho com o intuito de selecionar os mais adequados, tendo em consideração os índices de produção, a acidez total e o potencial alcoólico da uva, bem como as provas organolépticas realizadas após as respetivas microvinificações. De acordo com a análise destes parâmetros selecionaram-se os 5 clones considerados neste estudo. Estes clones, detalhadamente descritos no capítulo anterior (Secção 5.1), foram provenientes da espaldeira 1B e a colheita das suas uvas foi efetuada apenas no dia da vindima, a 26 de agosto, quando estas se encontravam nas condições ótimas de acordo com os critérios utilizados pelo IVBAM, IP-RAM.

De forma a caracterizar e comparar as uvas dos 5 clones de Verdelho procedeu-se à caracterização morfológica das uvas, nomeadamente à medição do peso de um bago e do volume de 100 bagos e à caracterização química das mesmas através da análise do °Brix, pH, açúcares redutores, ácidos orgânicos, compostos voláteis, índice polifenólico total e da maturação fenólica.

Relativamente à caracterização morfológica das uvas, se encontram representados na Tabela 8 os resultados do **peso de um bago** (obtidos a partir da extrapolação dos valores da medição do peso de 100 bagos) e da medição do **volume de 100 bagos**, onde se pode observar que os bagos correspondentes ao clone 4 são os mais pesados, sendo o peso dos clones 1, 2, 5 e 3 sucessivamente menor. No que diz respeito ao volume de 100 bagos, verificou-se uma relação proporcional com o peso de um bago, sendo o volume dos bagos do clone 4 o maior e o do 3 o menor.

Tabela 8: Peso por bago e volume de 100 bagos das uvas dos Clones de Verdelho.

Amostra	Peso de um bago (g)	Volume de 100 bagos (mL)
Clone 1	1,61	136
Clone 2	1,59	129
Clone 3	1,27	117
Clone 4	1,66	138
Clone 5	1,36	120

No que se refere, aos resultados obtidos da medição do °Brix para as uvas dos diferentes clones de Verdelho foi observado que os clones 1 e 4 foram os que apresentaram maiores resultados, ambos com 15,4 °Brix, e os clones 2 e 5 os que apresentaram menores valores (ambos com valores a rondar os 14 °Brix), como podemos observar na Tabela 9. Quanto aos resultados obtidos na medição do pH das uvas notou-se que estes foram semelhantes cujos os valores rondaram os 3,29, à exceção das uvas do clone 4 que apresentou um pH de 3,77.

Tabela 9: °Brix e pH das uvas dos Clones de Verdelho.

Amostras	°Brix ± SD	pH ± SD
Clone 1	15,4 ± 0,21	3,34 ± 0,16
Clone 2	14,1 ± 0,64	3,27 ± 0,12
Clone 3	14,8 ± 0,07	3,20 ± 0,09
Clone 4	15,4 ± 0,35	3,77 ± 0,03
Clone 5	13,9 ± 0,28	3,35 ± 0,12

Através da análise dos resultados relativos à determinação dos **açúcares redutores** das uvas dos clones de Verdelho (Figura 22), observou-se que as concentrações de glucose (61,30 e 61,83 g/L) e de frutose (53,06 e 54,34 g/L) são mais elevadas nas uvas dos clones 4 e 1, respetivamente. Relativamente à soma do total destes dois açúcares (glucose + frutose), os clones 4 e 1 apresentam valores iguais a 116,36 e 114,36 g/L, respetivamente, cerca de 17% mais elevados do que nas uvas dos restantes clones. Por outro lado, as uvas dos clones 3 e 5 foram as que apresentaram concentrações menores da soma de glucose e frutose, iguais a 89,22 e 93,44 g/L, respetivamente. De acordo com a literatura (1) e com o estudo de Rolle *et al.*(47), as uvas dos clones cujo peso de um bago e o volume de 100 bagos é superior (4,1,2,5,3), demonstraram ter um teor superior da soma de glucose e frutose.

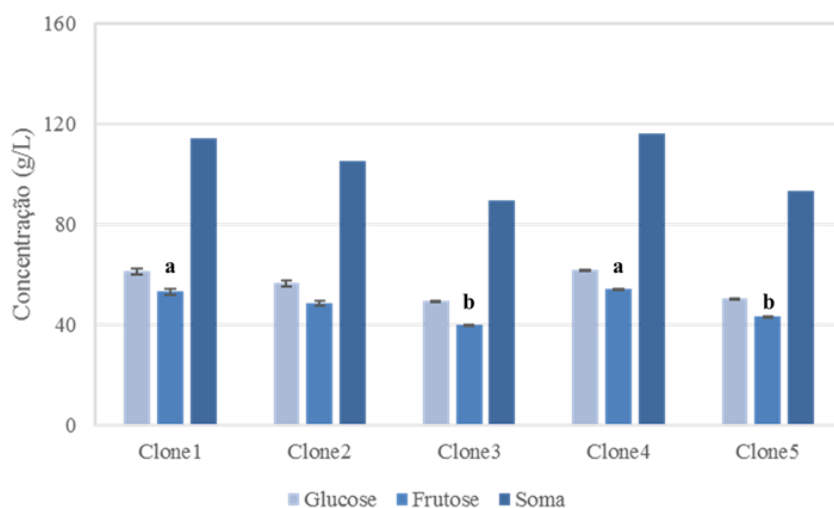


Figura 22: Comparação das concentrações de glucose e frutose e da soma entre as duas dos cinco diferentes clones ((a) (b) - Letras iguais correspondem a amostras que não são significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)).

Em relação aos **ácidos orgânicos**, foram identificados e quantificados os ácidos tartárico, málico e sucínico para as uvas dos clones para os quais foi feito o acompanhamento da maturação (Secção 7.1). Relativamente aos resultados obtidos para as uvas destes clones (Figura 23), observou-se que as uvas do clone 1 apresentam valores superiores da soma de concentrações dos ácidos orgânicos (8,27 g/L), cerca de 13% superior ao valor obtido para os restantes clones. Por outro lado, os valores mais baixos do total de ácidos orgânicos, 6,40 g/L e 6,04g/L, foram verificados nas uvas dos clones 2 e 5, respetivamente.

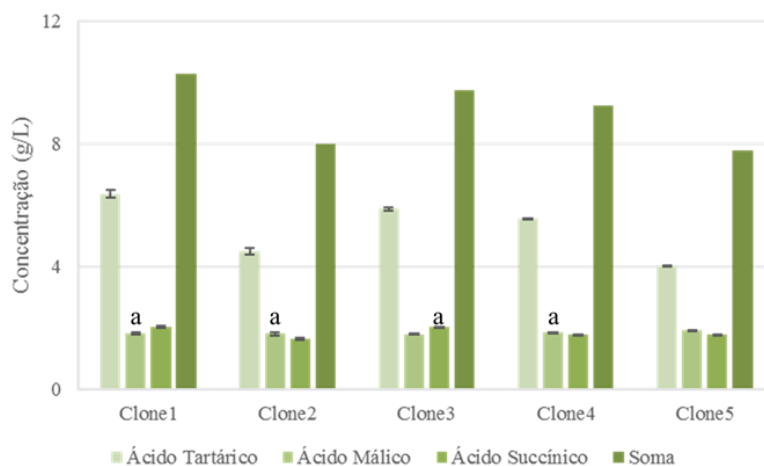


Figura 23: Comparação das concentrações dos ácidos orgânicos identificados e a soma destes dos diferentes clones ((a) - Letras iguais correspondem a amostras que não são significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)).

Tendo em conta as concentrações dos diferentes ácidos orgânicos nas uvas dos diferentes clones de Verdelho em estudo, o ácido tartárico é o que apresenta maiores concentrações em comparação aos restantes ácidos orgânicos analisados. O clone cujas uvas apresentaram maior teor deste composto foi o clone 1 com 6,37 g/L, sendo este valor cerca de 22% mais elevado em comparação com os outros clones. As uvas dos clones 2 e 5 foram as que apresentaram menores teores deste ácido orgânico com concentrações de 4,51 g/L e 4,03 g/L, respetivamente. Como referido anteriormente, a variação dos níveis do ácido tartárico nas uvas deve-se à ação de fatores ambientais como a temperatura e a disponibilidade hídrica. Esta hipótese pode ser descartada em relação às vinhas a partir das quais se obtiveram as uvas em estudo, uma vez que estas se encontram no mesmo local e expostas às mesmas variações ambientais, permitindo aferir que as diferenças observadas entre os clones se devem a diferenças específicas dos clones.

Em relação ao teor de ácido málico nas uvas dos clones de Verdelho em estudo, não se observaram diferenças significativas ($p \leq 0,05$), sendo que as concentrações nos diferentes clones variaram entre os 1,81 e 1,92 g/L. De acordo com Magalhães (1), as uvas analisadas encontravam-se maduras no momento da colheita, uma vez que apresentam teores de ácido málico de 1 a 2 g/L. As concentrações deste ácido variam ao longo da maturação das uvas devido à inibição do consumo de açúcares no início da maturação, sendo que neste momento o ácido tartárico passa a ser consumido para a obtenção de energia como substituto da glucose na respiração (1, 63). A ocorrência de concentrações não significativamente diferentes do mesmo nas uvas analisadas pode indicar que não

existem diferenças em termos do metabolismo de obtenção de energia nas uvas dos diferentes clones em estudo.

Comparando as concentrações de ácido succínico obtidas para as uvas, verificou-se que os clones 1 e 3 foram os que apresentaram teores mais elevados deste ácido, com valores médios de 1,64 g/L, sendo que estes não apresentam diferenças significativas entre si ($p > 0,05$), enquanto que as uvas do clone 2 apresentaram um menor teor deste ácido (1,32 g/L).

De todos os ácidos identificados e quantificados nas amostras em estudo, o cítrico é o menos abundante na constituição das uvas dos clones. Analisando os resultados obtidos (Tabela 10), observou-se que as uvas do clone 4 foram as que apresentaram maiores concentrações deste ácido (0,06 g/L) e as uvas dos clones 3 e 1 apresentam concentração inferiores iguais a 0,03 e 0,04 g/L, respectivamente.

Tabela 10: Concentrações obtidas de ácido cítrico nas uvas dos Clones de Verdelho.

Amostras	Ácido Cítrico	±	SD
Clone 1	0,04	±	0,00
Clone 2	0,05	±	0,00
Clone 3	0,03	±	0,00
Clone 4	0,06	±	0,00
Clone 5	0,05	±	0,00

A análise do perfil total dos **compostos voláteis** é também uma importante ferramenta na comparação de clones e de variedades de uvas. O perfil volátil total das uvas dos diferentes clones de Verdelho foi analisado e na Tabela 11 podemos observar o número de compostos identificados e a soma das concentrações do total dos compostos voláteis de cada clone. O clone 3 foi o que apresentou maior número de compostos e menor soma de concentrações do total de compostos voláteis.

Tabela 11: Número total de compostos voláteis identificados e a soma total das suas concentrações das uvas dos clones de Verdelho.

Amostra	Nº de compostos	Soma das concentrações do total de compostos voláteis ($\mu\text{g/L}$)
Clone 1	59	2328,8
Clone 2	65	2329,0
Clone 3	69	1678,1
Clone 4	64	2019,2
Clone 5	65	2351,9

Após a identificação e confirmação com o índice de Kovats, os compostos voláteis foram organizados de acordo com a sua família química, num total de cinco famílias, nomeadamente a dos ácidos gordos voláteis, álcoois superiores, compostos carbonilo, ésteres, terpenóides. Adicionalmente, numa categoria denominada de 'outros compostos', englobaram-se os compostos que não se inseriam em nenhuma das outras famílias, semelhante ao efetuado com os compostos do acompanhamento da maturação das uvas (Secção 7.1).

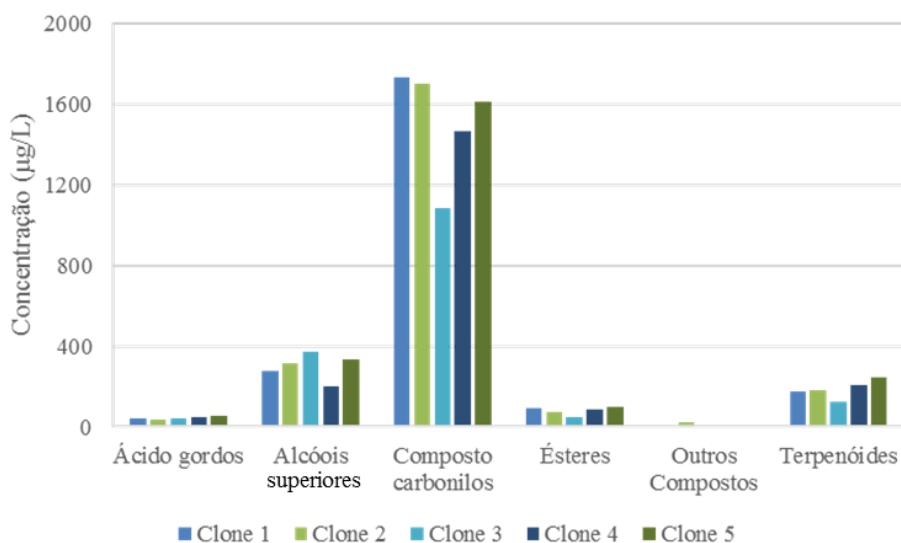


Figura 24: Comparação das somas das concentrações das diferentes famílias de compostos voláteis identificados nos diferentes clones de Verdelho.

Na Figura 24 encontram-se ilustrados os resultados da soma total das concentrações médias das famílias de compostos voláteis identificados para as uvas de cada clone de Verdelho em estudo. Tendo em análise os resultados obtidos é possível observar que as uvas dos clones 1 e 2 foram as que apresentaram maiores concentrações de compostos carbonilo, cerca de 19% superiores aos outros clones. Como já foi evidenciada anteriormente a relação entre os compostos carbonilo e a evolução da maturação (Secção 7.1), podemos aferir que as uvas destes clones se encontravam mais maduras em comparação aos outros clones à data da vindima. Outro resultado a salientar trata-se das concentrações dos álcoois superiores das uvas do clone 3 que foram cerca de 24% mais elevadas em comparação aos resultados obtidos pelas uvas dos outros clones e da concentração dos compostos carbonilo das uvas do mesmo clone, cerca de 66% inferior. À semelhança do que se verificou nos voláteis do acompanhamento

da maturação as uvas, que apresentaram maiores concentrações de álcoois superiores, as uvas do clone 3 foram também as que obtiveram menores concentrações de compostos carbonilo.

Analisando o perfil total de voláteis das uvas dos clones em estudo, os compostos maioritários foram os mesmos resultantes da análise das uvas do acompanhamento da maturação: dois compostos carbonilo, o hexanal e (E)-2-hexanal, o álcool superior 1-hexenol e o terpenóide limoneno com cerca de com cerca de 34, 26, 5 e 4% de abundância, respectivamente.

Tendo em consideração os resultados obtidos para o **índice de polifenóis totais** das uvas dos clones de Verdelho em estudo, ilustrados na Figura 25, as uvas dos clones 1 e 4 foram as que obtiveram valores superiores de IPT (674 e 606 mg (GAE)/L, respectivamente) e o clone 5 foi o que apresentou menor concentração, com 418 mg (GAE)/L.

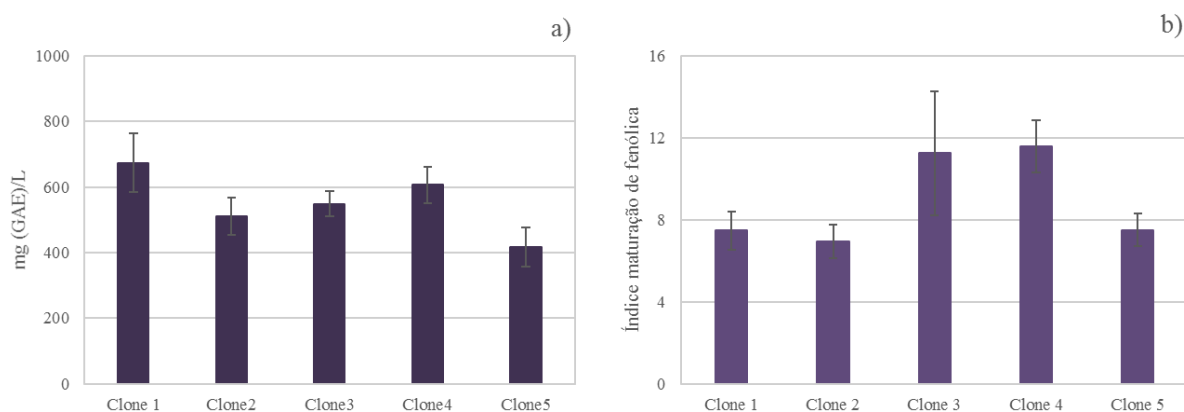


Figura 25: Comparação dos valores obtidos para o índice de polifenóis totais (a) e para índice maturação de fenólica (b) dos diferentes clones de Verdelho.

Na Figura 25 podemos ainda analisar os **índices de maturação fenólica** obtidos para as uvas dos clones em estudo, sendo que as que apresentaram maior capacidade de cedência de compostos fenólicos durante a vinificação foram as uvas dos clones 3 e 4, com índices de maturação a rondar os 11,41 (cerca de 36% mais elevado) e as uvas com menor capacidade de cedência correspondem às do clone 2 (índice de 6,94). Os valores obtidos para os diferentes clones em estudo mostraram ser significativamente diferentes ($p \leq 0,05$) quer ao nível do IPT e do índice de maturação fenólica.

Com o intuito de testar a utilidade dos dados obtidos em relação à diferenciação e identificação dos parâmetros que distinguem os clones de Verdelho em estudo, foi efetuada a análise estatística por **PCA**. Nesta análise foram tidos em conta 81 parâmetros químicos (2 açúcares, 4 ácidos orgânicos, 5 parâmetros e 69 compostos voláteis), sendo que na Figura 26 estão reunidos os parâmetros que contribuem para a diferenciação e a distribuição das amostras ao longo da PC1, PC2 e PC3. O PC1

explica 34,22% da variância, enquanto que o PC2 e o PC3 explicam 29,54% e 13,02%, respetivamente.

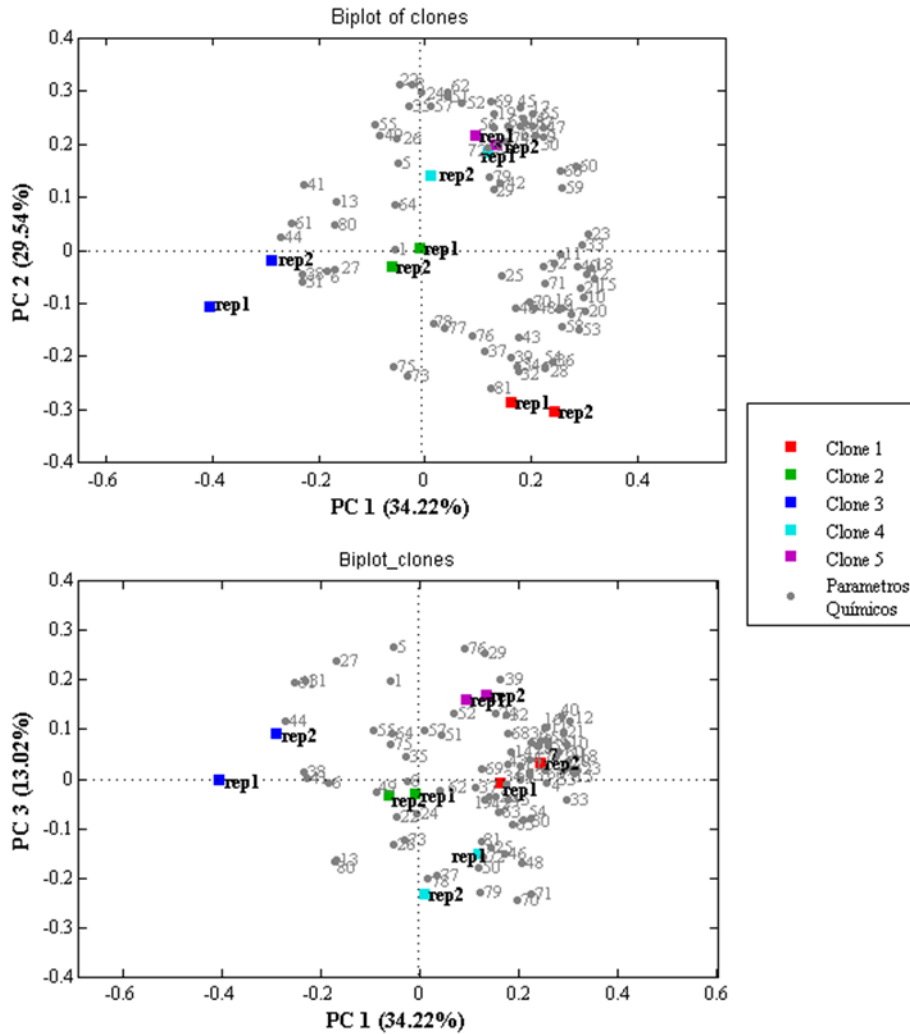


Figura 26 Análise multivariada dos dados obtidos para as uvas dos diferentes clones de Verdelho em estudo obtidos por PCA aplicada aos diferentes parâmetros químicos determinados. (a) PC1 vs. PC2 e (b) PC1 vs. PC3.

Pela análise do PC1, verificou-se ao longo deste eixo uma clara separação das uvas dos clones 1 e clone 5 do clone 3 e os parâmetros químicos determinantes na diferenciação dos clones 1 e 5 foram 32, correspondendo a dois açúcares (glucose e frutose) e 30 compostos voláteis (9 álcoois superiores, 10 compostos carbonilo, 6 ésteres e 5 terpenóides) (Tabela 12), que se encontram em maiores concentrações nas uvas destes clones. No que diz respeito aos parâmetros que diferenciam as uvas do

clone 3 dos 1 e 5 identificaram-se 6 compostos voláteis (1 álcool superior, 2 compostos carbonilo e 1 terpenóides) que se encontram em concentrações mais elevadas nas uvas do primeiro (Tabela 12).

Tabela 12: Parâmetros que diferenciam os clones 1 e 5 do clone3 de acordo com a análise estatística PCA.

	Clone 1 e 5		Clone 3	
	#	Compostos	#	Compostos
Álcoois	28	1-Hexanol	41	2- Etil-1hexanol
	30	(Z)-3-Hexen-1-ol		
	33	Ciclohexanol		
	48	(E)-2-Octen-1-ol		
	66	Álcool benzílico		
	67	2-Feniletanol		
Compostos Carbonilo	3	1-Penten-3-ona	6	(E)-2-Pental
	4	Hexanal		
	11	2-Hexenal		
	12	(E)-2-Hexenal		
	20	Octanal		
	21	4-Octen-3-ona		
	36	4-Etil-2-Hexinal		
Ésteres	16	Isovalerato de butilo	31	Nonanal
	17	Acetato de Hexilo		
	40	Butirato de (E)-2-hexenilo		
	47	Acetato de Isobornilo		
	53	Succinato de dietilo		
	58	Acetato de Benzilo		
Terpenóides	10	Limoneno	44	Óxido linalol
	15	γ -Terpineno		
	18	p-Cimeno		
	54	α -Humuleno		
	59	Geranial		

No que se refere ao PC2 (Figura 26), observou-se que ao longo deste eixo é possível diferenciar as uvas dos clones 1 das do clone 5, sendo que as uvas do clone 1 se distinguem das do clone 5 por apresentarem valores mais elevados em 10 parâmetros químicos, correspondendo ao parâmetro básico IPT, à concentração de 2 ácidos orgânicos (ácido tartárico e sucínico) e a 7 compostos voláteis (3 álcoois, 1 composto carbonilo, 2 ésteres e 1 terpenóide) que se encontram descritos na Tabela 13. As uvas do clone 5 diferenciam-se das do clone 1 devido a 23 parâmetros

diferenciadores (Tabela 13), em que as uvas do clone 5 obtiveram valores mais elevados comparativamente ao clone 1, nomeadamente ao nível da concentração do ácido málico e de 22 compostos voláteis (1 ácido gordo, 5 álcoois, 8 compostos carbonilo, 2 ésteres e 4 terpenóides).

Tabela 13: Parâmetros que diferenciam os clones 1 do clone 5 de acordo com a análise estatística PCA.

	Clone 1		Clone 5	
	#	Compostos	#	Compostos
Álcoois			22	2-Heptanol
	28	1-Hexanol	30	(Z)-3-Hexen-1-ol
	32	2-Hexen-1-ol	62	2,7-Dimetil-octa-2.6-dien-1-ol
	39	6-Metil-5-Hepten-2-ol	63	(E)-3,7-dimetil-2,6-octadien-1-ol
			67	2-Feniletanol
Compostos Carbonilo			6	(E)-2-Pental
			9	Heptanal
			14	(Z)-4-Heptanal
	36	4-Etil-2-Hexinal	24	2,3-Octanediona
			26	(Z)-2-Heptenal
			45	(Z)-2-Nonenal
			49	β -Ciclocitral
		51	2-Decenal	
Ésteres	34	Butirato de Hexilo	17	Acetato de Hexilo
	37	Octanoato de Etilo	57	Acetato de nerilo
Terpenóides			8	Mirceno
			19	Terpinoleno
	54	α -Humuleno	55	(-)- α -terpineol
			65	Geranil acetona
Ácidos gordos			69	Ácido 2-hexenóico

Analisando a Figura 26 (b) é possível observar a diferenciação das uvas do clone 4 em relação ao clone 5, corroborada por 5 parâmetros químicos em relação ao clone 4 correspondendo à concentração dos açúcares glucose e frutose, ao °Brix, ao potencial alcoólico e à medição de pH, enquanto que as uvas do clone 5 são diferenciadas por 7 parâmetros químicos comparativamente ao clone 4, correspondendo a 7 compostos voláteis (2 álcoois, 4 compostos carbonilo e 1 terpenóide), conforme descrito na Tabela 14.

Tabela 14: Parâmetros que diferenciam os clones 4 do clone 5 de acordo com a análise estatística PCA.

	#	Compostos
Álcoois	29	(E)-3-Hexen-1-ol
	39	6-Metil-5-Hepten-2-ol
Compostos Carbonilo	1	Pentanal
	6	(E)-2-Pentenal
	27	6-Metil-5-hepten-2-ona
	31	Nonanal
Terpenóides	5	β -Pinoeno

No que se refere à análise PCA relativa às uvas do clone 2, constatou-se que os resultados obtidos para os 81 parâmetros químicos analisados não forneceram informação suficiente para diferenciar as uvas deste clone e, relação às uvas dos restantes clones de Verdelho.

7.3. Microvinificação das uvas de diferentes parcelas

Com o intuito de um trabalho mais completo a nível da caracterização da casta Verdelho foram efetuadas microvinificações das uvas de 3 dos 4 talhões em que foram realizadas as colheitas de uvas durante o acompanhamento da maturação, como descrito na Secção 6.1. Apenas foram microvinificadas as uvas dos talhões da latada 1A e das espaldeira 1C e 12. A microvinificação foi realizada em duplicado para cada talhão.

O processo de microvinificação foi cuidadosamente efetuado sob as mesmas condições de forma a minimizar a sua influência no processo. As amostras foram recolhidas durante 6 fases do processo de microvinificação, como se encontra acima referido na Secção 6.1.

O **°Brix** e respetivo **potencial alcoólico** foram medidos após o esmagamento das uvas de cada talhão em estudo, os resultados obtidos encontram-se descritos na Tabela 15, onde observou-se que o mosto das espaldeiras foram as que apresentaram valores superiores em comparação ao mosto da latada.

Tabela 15: °Brix e potencial alcoólico do mosto das microvinificações dos diferentes talhões.

Amostra	°Brix	Potencial alcoólico (%)
Latada 1A	16,6	9,1
Espaldeira 1C	18,3	10
Espaldeira 12	18,4	10,1

Em relação aos resultados obtidos para a soma total dos **açúcares redutores** e dos **ácidos orgânicos**, que se encontram ilustrados na Figura 27, foi possível observar que tanto as espaladeiras (1C e 12) como a latada (1A) apresentaram comportamentos muito semelhantes ao longo do processo de microvinificação. Apesar da concentração dos açúcares ser inferior na latada na fase inicial (M0), esta tende a se aproximar dos valores obtidos para as espaladeiras ao longo do processo de vinificação. Permitindo-nos assim constatar que as diferenças observadas dependem sobretudo do processo de vinificação e não dos diferentes sistemas de condução, idade das vinhas e porta enxertos.

Tendo em análise os resultados obtidos para a soma total das concentrações dos açúcares redutores ao longo do processo de microvinificação, observou-se que esta diminui ao longo do tempo e que é mais acentuada nas primeiras etapas correspondentes à fermentação (diminuição de cerca de 49% entre a etapa M0 e a MAF). Esta diminuição ocorre devido ao consumo dos açúcares por parte das leveduras como fonte de energia (64). Esta diminuição estabiliza após a fortificação.

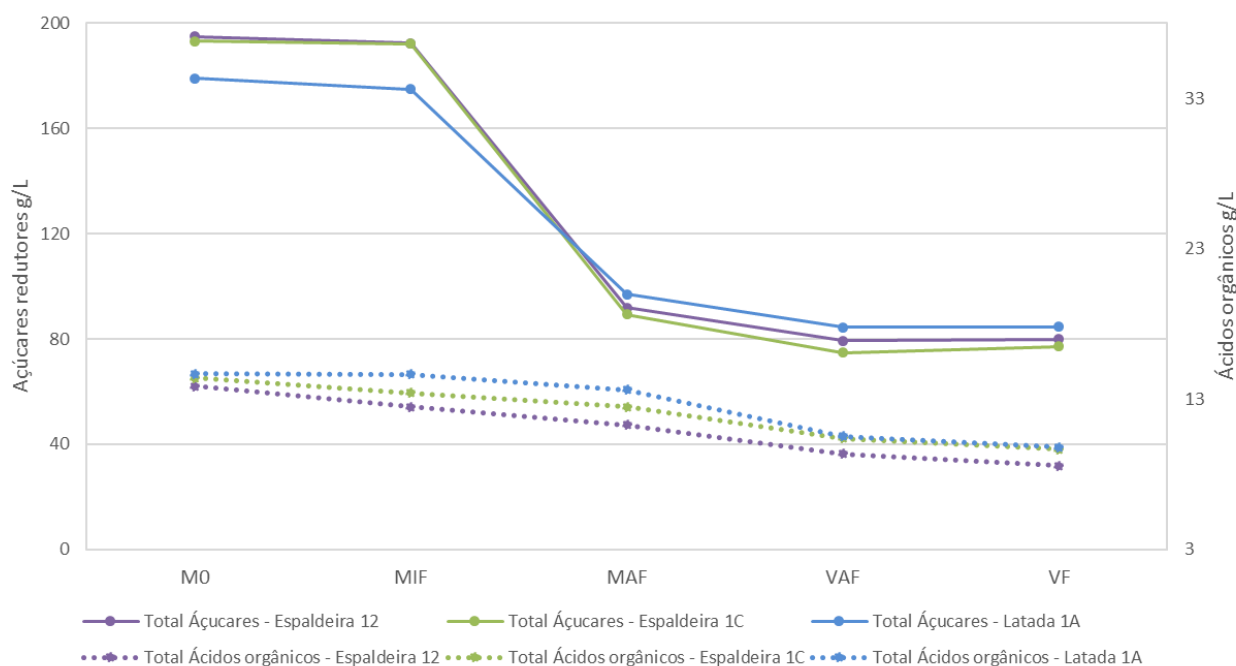


Figura 27: Evolução da soma total dos açúcares redutores e ácidos orgânicos identificados das 3 microvinificações em estudo.

No que se refere à soma total dos **ácidos orgânicos**, observou-se que ao longo da microvinificação ocorreu um decréscimo das concentrações, sendo menos acentuado em relação aos açúcares redutores durante a fermentação. Esta diminuição deve-se a precipitação de alguns dos ácidos orgânicos ao longo do processo. Tendo em comparação o vinho da latada 1A durante as

primeiras etapas da microvinificação, observou-se que os resultados da soma total dos ácidos orgânicos deste foram superiores as concentrações dos vinhos das espaldeiras. Outro resultado a salientar refere-se a soma total dos ácidos orgânicos do vinho da espaldeira 1C com ano de plantação 2006, que foi superior em relação ao vinho da espaldeira 12 de 1995.

As três microvinificações em estudo foram então comparadas em três etapas do processo de vinificação: mosto inicial (M0) obtido após a prensa manual, mosto antes da fortificação (MAF) e o vinho após a filtração (VF). Foram analisados a composição e concentração de açúcares redutores e de ácidos orgânicos. Também a concentração de **glicerol** e percentagem de **etanol** foram analisadas apenas para a etapa MAF. A Figura 28 ilustra a comparação da etapa M0 para as três microvinificações em estudo em relação aos açúcares redutores e aos ácidos orgânicos. Analisando os resultados obtidos para os açúcares redutores observou-se que os M0 das espaldeiras apresentaram valores não significativamente diferentes e superiores aos M0 correspondente a latada, com valores médios de 106,29 g/L de glucose e 87,83 g/L de frutose.

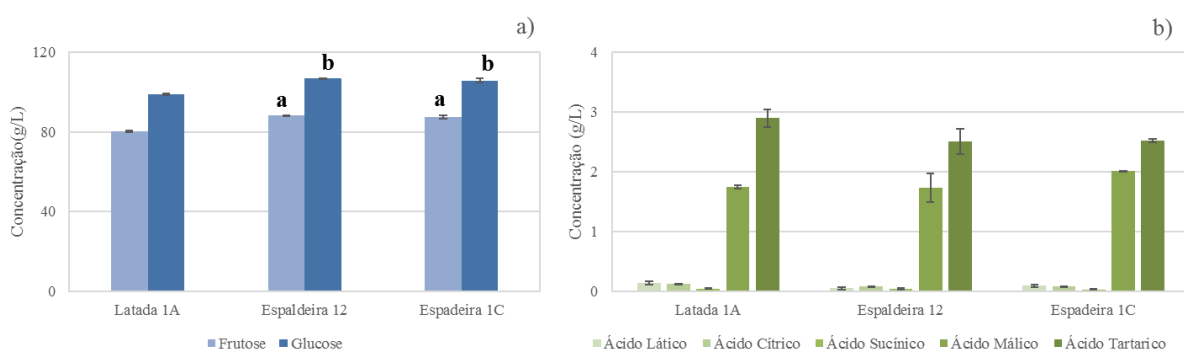


Figura 28: Comparação dos açúcares redutores (a) e ácidos orgânicos (b) das três microvinificações em estudo na etapa M0 ((a) (b) - Letras iguais correspondem a amostras que não são significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)).

Relativamente aos ácidos orgânicos, foram identificados e quantificados os ácidos cítrico, málico, succínico, láctico e tartárico. Tendo em análise os resultados ilustrados na Figura 28, observou-se que o M0 da latada foi a que apresentou maiores teores de ácido cítrico, succínico e málico (0,27, 3,15 e 2,88 g/L, respetivamente). No que se refere ao ácido tartárico as espaldeiras (1C e 12) apresentaram concentrações relativamente superiores em comparação com a latada (8,85 g/L para as espaldeiras e 8,30 g/L para a latada).

Tendo em análise os resultados obtidos relativamente às concentrações dos açúcares redutores, ácidos orgânicos, glicerol e da % de etanol para o MAF, ilustrados nas Figura 29 e Figura 30,

verificou-se que em termos dos teores de glucose tanto a latada como as espaldeiras apresentaram teores não significativamente diferentes ($p \leq 0,05$) com concentrações médias a rondar os 56,98 g/L. Desta forma os resultados evidenciam que a concentração de glucose não é influenciada pelos diferentes sistemas de condução e porta enxertos, variando sobretudo devido ao processo de vinificação.

Relativamente aos teores de frutose, a latada 1A apresentou teores 10% mais elevadas do que as apresentadas pelas espaldeiras.

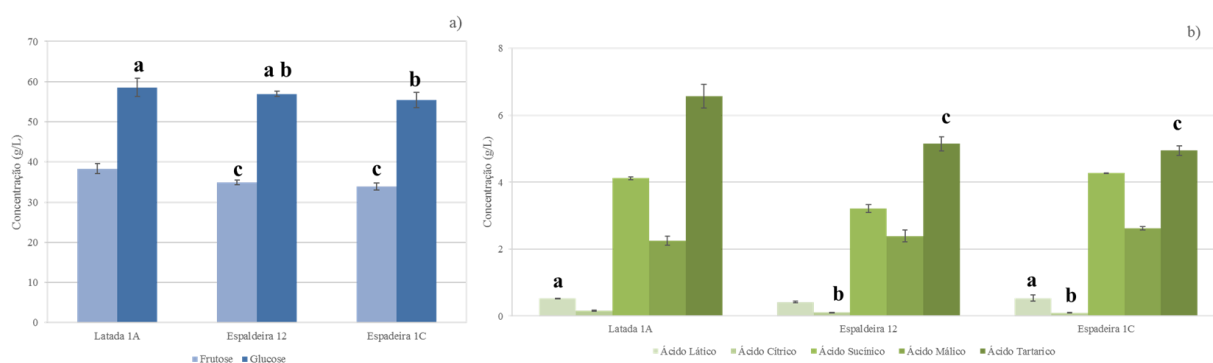


Figura 29: Comparação dos açúcares redutores (a) e ácidos orgânicos (b) das três microvinificações em estudo na etapa MAF ((a) (b) (c) - Letras iguais correspondem a amostras que não são significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)).

No que se refere aos resultados obtidos para os ácidos orgânicos, notou-se que o MAF da latada 1A apresentou teores superiores de ácido tartárico, cerca de 23% superior em comparação às concentrações obtidas pelos MAF das espaldeiras. Outro resultado a destacar trata-se das concentrações obtidas pelo MAF da espaldeira 1C para os ácidos succínico e málico, cujos teores foram superiores em relação aos outros MAF (com as concentrações de 4,27 e 2,62 g/L, respetivamente sendo 14 e 11% superiores em comparação aos outros MAF).

Foi efetuada a comparação dos resultados obtidos da **% de etanol** e da concentração de **glicerol** apenas nesta etapa, uma vez que estes resultados se devem apenas à fermentação e não pela adição álcool. Comparando assim, os resultados obtidos nesta etapa, ilustrados na Figura 30, observou-se que os resultados obtidos tanto para a % de etanol como para a concentração de glicerol das espaldeiras não apresentaram diferenças significativas entre si ($p \leq 0,05$), com valores médios a atingirem os 7,67% de etanol e 5,32 g/L de glicerol. Comparando os resultados das espaldeiras com a latada é clara a diferença entre os MAF, com as espaldeiras a apresentarem resultados 53% mais

elevados de % de etanol e 20 % em relação à concentração de glicerol. Esta diferença pode ser explicada pelas diferenças de concentração de açúcares apresentadas no M0, em que as espaldeiras apresentaram maior potencial alcoólico.

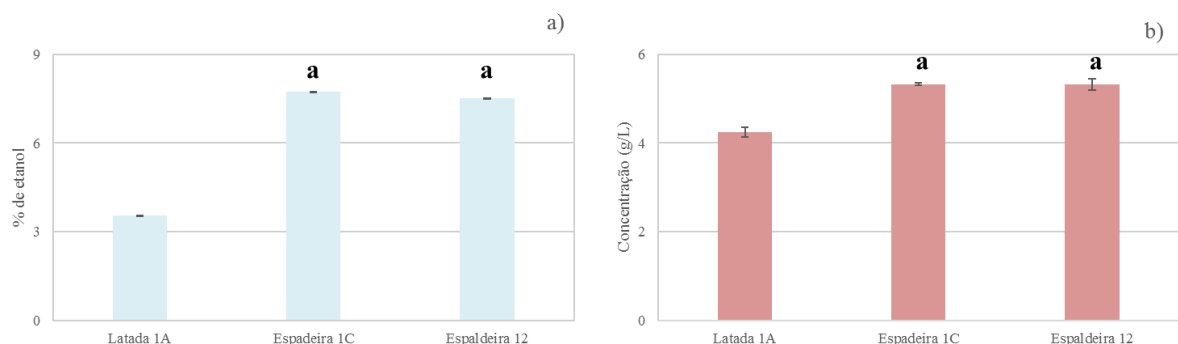


Figura 30: Comparação dos resultados da % de etanol (a) das concentrações (b) de glicerol presentes no MAF ((a) - Letras iguais correspondem a amostras que não são significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)).

Tendo em análise a última etapa da microvinificação, correspondendo ao VF, a Figura 31 ilustra a comparação dos valores obtidos de ácidos orgânicos e açúcares redutores. Comparando os resultados obtidos para as concentrações de glucose e frutose, a latada 1A apresentou resultados ligeiramente superiores aos obtidos no VF das espaldeiras em estudo, 14% e 8% mais elevados respectivamente.

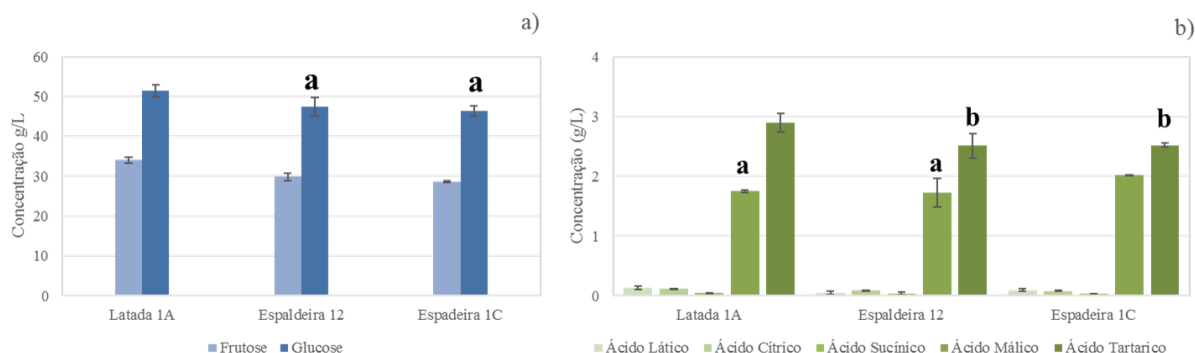


Figura 31: Comparação dos açúcares redutores (a) e ácidos orgânicos (b) das três microvinificações em estudo na etapa VF ((a) (b) - Letras correspondem a amostras que não são significativamente diferentes ($p \geq 0,05$)).

Comparando os resultados obtidos para os ácidos orgânicos nesta etapa da microvinificação, observou-se que o VAF da latada 1A apresentou concentrações superiores para todos os ácidos analisados com a exceção do ácido málico (com teores 47% mais elevados de ácido lático, 34% de

ácido cítrico e 13% para os ácidos succínico e tartárico). No que se refere ao ácido málico, o VAF da espaladeira 1C apresentou valores 14% superiores em comparação aos resultados obtidos para os MAF da espaladeira 12 e da latada 1A. É de salientar que os resultados obtidos para este ácido na espaladeira 1C e na latada 1A não apresentaram diferenças significativas entre si ($p \leq 0,05$) (com concentrações de 1,73 e 1,74 g/L, respetivamente).

A análise do **perfil volátil** é umas das análises usadas para a caracterização de vinhos, sendo que alguns dos compostos identificados por esta funcionam como indicadores de que tipo de uva e ou tipo de vinho (65). Para este estudo foi efetuada a análise do perfil volátil das etapas M0 e VF, e na realização desta foram identificados 75 compostos voláteis para M0 e 72 compostos para o VF. Os compostos identificados foram organizados de acordo com a sua família química, num total de oito famílias correspondentes: ácidos gordos, álcoois superiores, compostos carbonilo, ésteres, terpenóides, furanos, piranos, norisoprenoides, e numa categoria denominada “outros compostos” onde que foram organizados os compostos que não se inseriam em nenhuma das outras famílias.

Tendo em análise a Figura 32 , que ilustra as diferenças entre etapas M0 e VF da soma total das concentrações de cada família química dos compostos identificados, observa-se que ao longo da vinificação ocorreram alterações nas concentrações totais das famílias identificadas, registou-se um aumento dos ácidos gordos, álcoois superiores e ésteres e a diminuição dos compostos carbonilo. Estas diferenças entre as duas etapas analisadas devem-se ao processo fermentativo e encontram-se de acordo com o que é descrito na bibliografia consultada (66-68).

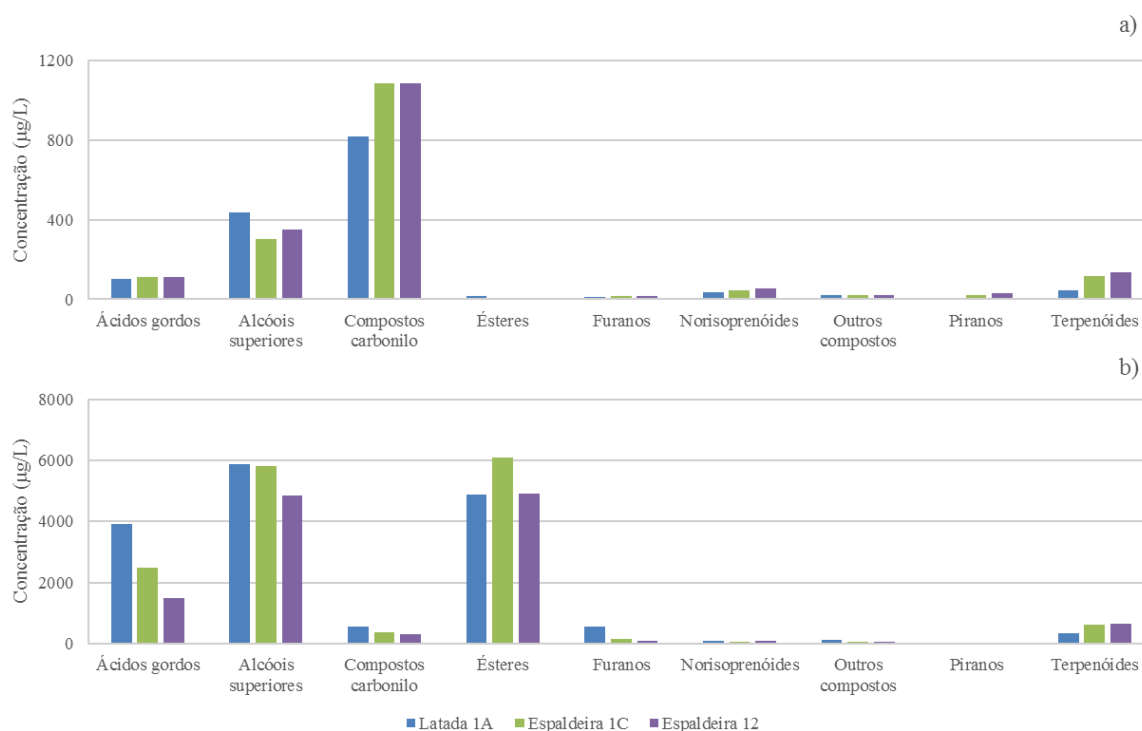


Figura 32: Comparação das somas das concentrações das diferentes famílias de compostos voláteis identificados na etapa M0 (a) e na etapa VF (b).

Comparando as microvinificações em estudo, observou-se que a latada 1A apresentou menores concentrações de compostos carbonilo cerca de 25% inferior ao observado nas espaladeiras (concentrações de 820,2 µg/L para a latada e 1085,8 µg/L valor médio para as espaladeiras) para a etapa M0, evidenciando mais uma vez o atraso da maturação das uvas da latada 1A descrito na secção 7.1. O mesmo não é observado na etapa VF, em que a latada 1A é a que apresenta maiores concentrações de compostos carbonilo. Outro resultado a destacar trata-se da concentração dos ésteres, em que a espaladeira 1C apresentou valores 20% superiores aos resultados da latada 1A e a espaladeira 12. O VF da latada 1A foi a que apresentou um maior aumento de concentração relativamente aos ácidos gordos, apresentando concentrações de 101,46 µg/L para o M0 e 3806,03µg/L para o VF. A latada 1A correspondeu ao VF com concentração mais elevada de ácidos gordos em comparação aos outros VF (cerca de 49% mais elevado). Analisando os resultados obtidos pelas espaladeiras na etapa VF relativamente aos compostos terpenóides observou-se que estas apresentaram concentrações 47% mais elevadas em comparação com a latada 1A.

Para todas as amostras recolhidas ao longo da microvinificação foi efetuado a análise ao **índice de polifenóis totais** (Figura 33). Os resultados obtidos permitiram observar que ao longo da

vinificação efetuada até a etapa VAF ocorre um aumento do índice de polifenóis, sendo este cerca de 2,6 vezes maior entre o MAF e o VAF. Este aumento registado ocorreu devido à adição de etanol ao mosto para a interrupção da fermentação, que pela sua afinidade química com os compostos polifenólicos, facilita assim a extração destes compostos das películas para o mosto (45). Após a filtração do vinho, em comparação com a etapa anterior, registou-se uma diminuição do índice de polifenóis totais, que pode ser devido ao método utilizado para a filtração do vinho.

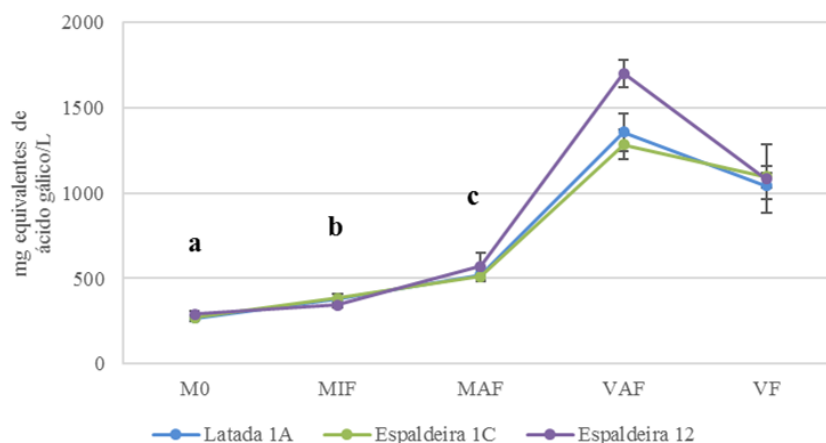


Figura 33: Evolução do índice de polifenóis totais ao longo do processo de vinificação das 3 microvinificações em estudo ((a) (b) (c) - Correspondem a amostras que não são significativamente diferentes ($p \geq 0,05$)).

Tendo em análise os resultados expressos na Figura 33, observa-se que ao longo da vinificação das três microvinificações os resultados obtidos para cada etapa foram muito próximos, à exceção da espaladeira 12 que na etapa VAF apresentou índice de polifenóis totais 22% mais elevados. Esta proximidade entre os resultados obtidos para as três microvinificações longo do processo de vinificação vem corroborar a constatação de que as diferenças observadas dependem sobretudo do processo de vinificação e não dos diferentes sistemas de condução, idade das vinhas e porta enxertos.

A evolução da **cor** foi também acompanhada ao longo do processo de microvinificação e para tal foram utilizados dois métodos colorimétricos, o Glories e o CIELab. O método Glories trata-se de uma análise de rotina simples amplamente utilizada pelos produtores de vinho (69) enquanto o método CIELab é o mais utilizado e recomendado na indústria alimentar, sendo o método oficial recomendado pela OIV (70, 71). Para a realização deste trabalho, foi selecionado o método CIELab pela sua precisão na medição da cor e por ser uma boa ferramenta na caracterização e diferenciação

de vinhos (55, 56, 69), enquanto o método Glories foi utilizado para a determinação do índice de “*Browning*” e confirmação dos resultados obtidos através do CIELab.

Na Tabela A, da Secção 11 referente ao apêndice, encontram-se representadas as coordenadas cromáticas obtidas através do método CIELab (a^* , b^* e L^*) para cada talhão em estudo ao longo do processo de microvinificação. No que se refere aos valores de L^* , expressos em percentagem, estes variaram entre os 72% e os 95% e apresentaram tendências semelhantes em todas as microvinificações em estudo. A evolução dos resultados de L^* indicam opacidade das amostras diminuem até a etapas MAF e que após a fortificação esta aumenta (valores de L^* diminuíram cerca de 21% para todas as microvinificações), isto ocorre possivelmente devido à precipitação de alguns compostos. devido até a etapa MAF. Os valores obtidos para a coordenada a^* corresponderam a valores superiores a zero, tendo variado entre as 0,18 e as 21,1 unidades de CIELab, indicando assim a predominância de componentes vermelhos em relação aos componentes verdes. Tal como ocorreu para a coordenada L^* , as três microvinificações em estudo voltaram a apresentar um comportamento semelhante com os valores de a^* a diminuírem ao longo da fermentação. Em média os valores diminuíram cerca de 4 valores, chegando a rondar as 0 unidades de CIELab (cerca de 94%), indicando-nos que ao longo da fermentação ocorre a diminuição dos componentes vermelhos. Os valores de a^* após a fortificação aumentaram em média 17 valores (aumento de 98,5%). Relativamente à coordenada b^* os valores obtidos variaram entre as 12,4 e as 74,0 unidades de CIELab, evidenciando a predominância de componentes amarelos. Os valores da coordenada b^* variaram entre as 12,4 e as 74 unidades de CIELab e houve uma diminuição média de 12,7 unidades de CIELab (cerca de 48%) no início da microvinificação que corresponde à fermentação. Após a fortificação, esta coordenada, apresentou um aumento de 54,33 unidades de CIELab em média o que corresponde a um aumento de 80%. A coordenada b^* apresentou valores superiores à coordenada a^* , correspondendo à predominância de componentes amarelos em relação aos vermelhos. Estes resultados são coerentes com o tipo de uva em estudo (variedade branca) e encontram-se de acordo com os valores da bibliografia (55, 56).

As coordenadas L^* , a^* e b^* correspondem a três eixos de um sistema de coordenadas tridimensionais, como se encontra representado na Figura 34. Neste gráfico é possível visualizar, para cada um dos talhões, que existem diferenças entre as diversas etapas do processo de vinificação. Verifica-se que os valores representativos das etapas MIF, MAF e VAF encontram-se agrupados na mesma zona do gráfico, apresentando assim menores diferenças entre si. Por outro lado, é possível observar uma maior diferença entre as coordenadas de cor deste conjunto nas etapas M0 e VF. Analisando a etapa M0, verifica-se que a espaladeira 1C é a que mais se distancia relativamente aos

restantes talhões em estudo. Na etapa VF é observada diferenças entre os três, a latada 1A, espaldeira 1C e a espaldeira 12.

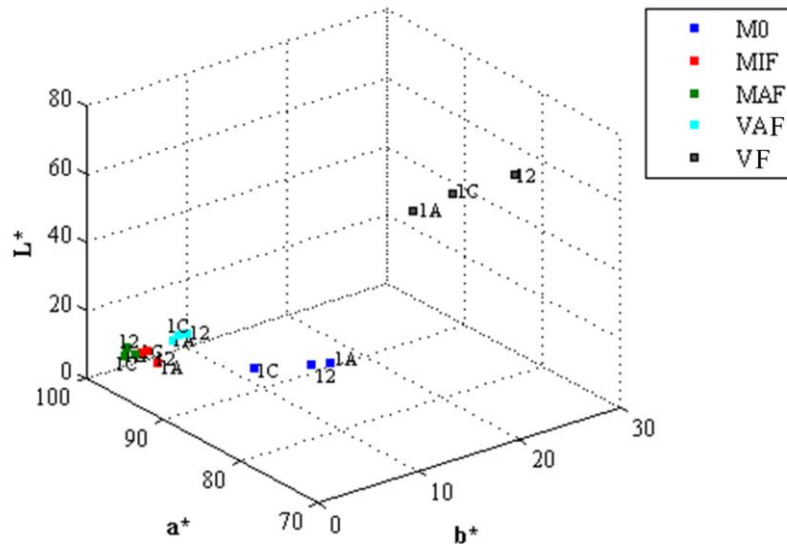


Figura 34 - Sistema de coordenadas tridimensionais das coordenadas L^* , a^* e b^* do método CIELab.

Verificou-se ainda que os três talhões em estudo apresentaram comportamento semelhante na evolução das coordenadas L^* , a^* e b^* durante a microvinificação, não sendo possível observar nenhuma tendência de acordo com o tipo de sistema de condução, idade das vinhas e porta enxerto, à semelhança dos resultados anteriores obtidos para o total de açúcares e ácidos orgânicos e índice de polifenóis totais, evidenciando que as diferenças observadas são dependentes sobretudo do processo de vinificação.

Os resultados obtidos pelo método de Glories, representados na Tabela B da Secção 11 no apêndice, estão de acordo com os resultados obtidos pelo método de CIELab. Ao longo da vinificação, as amostras apresentaram resultados mais elevados de Ye (%) (valores variando entre os 55 a 68%), em comparação com os resultados obtidos para Re (%) e Bl (%) (com valores a variarem 24 a 29% e 6 a 16%, respetivamente).

Tendo como base as coordenadas obtidas pelo CIELab é possível determinar os valores para a cromaticidade (C^*), Tonalidade (h^*) e total de diferenças colométricas (ΔE^*) que atribuem características cromáticas aos vinhos (55). A C^* fornece informação quantitativa sobre a vivacidade da cor, mais propriamente em relação à intensidade da cor, enquanto a h^* atribui informação qualitativa que permite distinguir a cor em relação a uma escala de cor cinzenta com a mesma

luminosidade (55, 70). Analisando as coordenadas C^* e h^* ao longo da microvinificação (Figura 35) foi observado um comportamento semelhante entre as vinificações dos três talhões, com exceção das etapas M0 e VF, nas quais se conseguem observar diferenças. Em termos estatísticos, na etapa M0 os valores obtidos demonstraram que o mosto da latada 1A e da espaladeira 12 não são significativamente diferentes entre si e diferentes da espaladeira 1C ($p \leq 0,05$). Relativamente à etapa correspondente ao VF, esta apresenta valores que demonstraram existir semelhanças significativas entre as espaladeiras 1C e 12 e entre a espaladeira 1C e a latada 1A e diferenças significativas entre a latada 1A e a espaladeira 12 ($p \leq 0,05$). A coordenada C^* apresenta valores que variam entre 12,4 e 77 unidades de CIELab durante a microvinificação. Os resultados obtidos demonstram um decréscimo de C^* entre o mosto prensado (M0) e o mosto no início da fermentação (MIF), seguido de uma estabilização entre as etapas MIF e MAF (valores médios entre 14,51 e 13,86 respetivamente). Após a fortificação foi observado um aumento de 80,36% (valores médios de 23,99 para VAF e 70,52 para VF) na cromaticidade que poderá ser devido a uma maior extração dos compostos polifenólicos devido à adição do etanol. Relativamente a h^* , os valores obtidos variaram entre 1,29° e 1,56° ao longo da microvinificação, tendo sido registado um aumento da tonalidade em média de 0,14° (9,1%) durante a fermentação e uma diminuição após a fermentação, em média de 0,24° (18%).

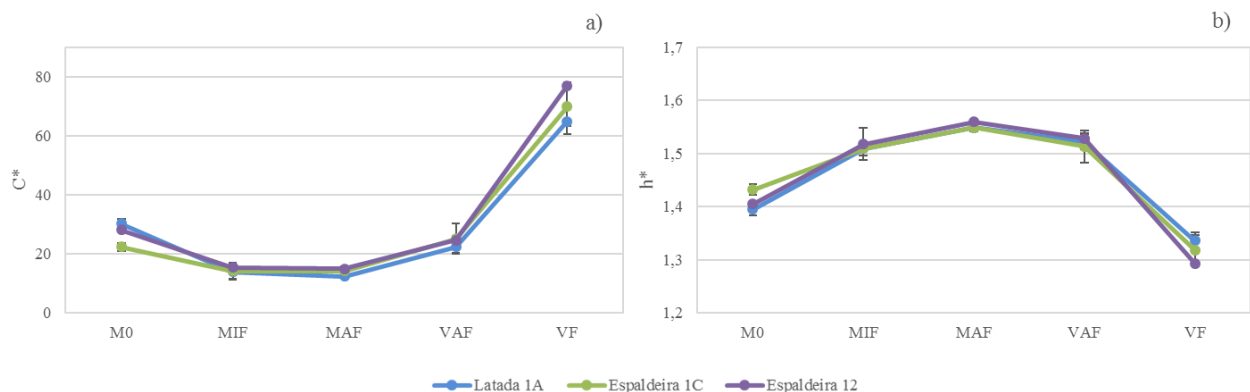


Figura 35: Evolução das coordenadas C^* (a) e h^* (b) ao longo do processo das 3 microvinificações em estudo.

Os dados obtidos pelo método Glories para a tonalidade (t_0) e intensidade da cor (I_c) encontram-se de acordo com os dados obtidos pelo método CIELab (Figura A, Secção 11, Apêndice). O cálculo do ΔE^* permite medir as diferenças detetáveis pelo olho humano. A bibliografia indica-nos que para que duas amostras sejam facilmente distinguíveis estas têm que apresentar um ΔE^* igual

ou superior a 1 unidade CIELab. Numa prova sensorial, no entanto, tendo em conta que a cor do vinho é observada dentro de um copo de vidro, implica que haja um aumento do ΔE^* mínimo de 5 valores para ocorrer a distinção (69, 72). Na tabela 16, encontram-se os valores de ΔE^* calculados para os diferentes talhões em estudo para as etapas M0 e VF.

Tabela 16: Comparação do ΔE^* dos diferentes talhões para as e tapas M0 e VF.

ΔE^*		Latada 1A	Espaladeira 1C
M0	Espaladeira 1C	10,4	-
	Espaladeira 12	2,6	7,8
VF	Espaladeira 1C	6,5	-
	Espaladeira 12	13,5	8

Em relação aos mostos da etapa M0 do processo de microvinificação, todos são possíveis de distinguir pelo olho humano visto que todos apresentam um ΔE^* superior a 1 unidade CIELab, mas numa prova sensorial apenas as diferenças entre a latada 1A e a espaladeira 1C e entre ambas as espaladeira 1C e 12 serão perceptíveis. No que se refere à etapa VF, todos os vinhos apresentam um ΔE^* superior a 5 sendo então, possível a distinção entre os mesmos.

O índice de "Browning" (A_{420}) é determinado através da absorvância obtida aos 420 nm e esta foi seguida ao longo do processo de vinificação dos três talhões em estudo. não tendo sido observadas diferenças entre estes, à exceção das etapas M0 e VF, à semelhança de outras variáveis colométricas. Os valores de A_{420} variaram entre 0,19 e 1,41, demonstrando que, tendencialmente, estes valores diminuem durante a fermentação cerca de 61% e após a fortificação tendem a aumentar cerca de 67% (Figura 36).

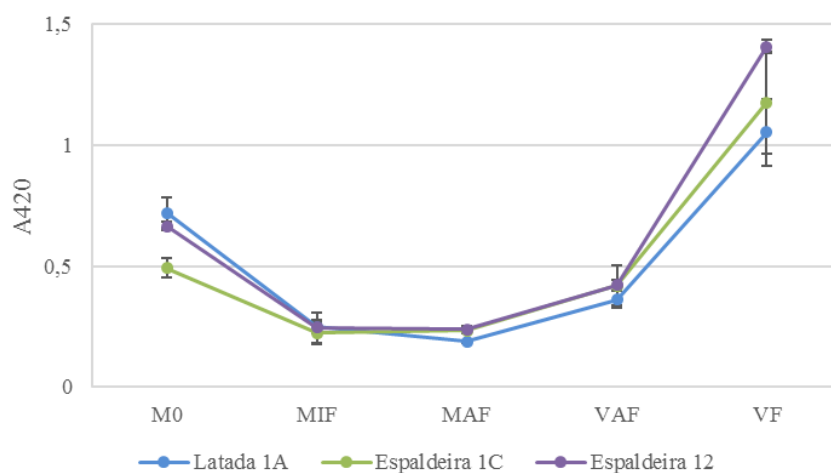


Figura 36: Evolução do A_{420} ao longo do processo das 3 microvinificações em estudo.

Em termos estatísticos os resultados obtidos na etapa M0 demonstraram que os valores da latada 1A e da espaladeira 12 não são significativamente diferentes entre si e diferentes da espaladeira 1C ($p \leq 0,05$). Na etapa VF, os resultados obtidos de A_{420} para o vinho da latada 1A apresentam diferenças significativas em relação aos do vinho da espaladeira 12 e que os vinhos das espaladeiras 1C e 12 e entre a espaladeira 1C e a latada 1A não são significativamente diferentes ($p \leq 0,05$).

PARTE IV

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS



8. CONCLUSÕES

Este trabalho teve como principal objetivo estudar a casta Verdelho durante a maturação e tentar estabelecer uma relação entre diferentes fatores culturais e a qualidade das suas uvas e respetivos vinhos Madeira. As uvas de cinco clones diferentes desta casta foram igualmente caracterizadas.

No que **se refere ao acompanhamento da maturação das uvas**, este estudo pretendeu comparar a evolução da maturação de diferentes sistemas de condução (latada vs. espaldeira), anos de plantação (1995 vs. 2006) e porta enxertos (R99 vs. 1103P), e com as análises efetuadas foi possível observar que:

- Vinhas com **sistema de condução em espaldeira** demonstraram melhores resultados em termos de tamanho do cacho, peso e volume de bagos. Foram as que apresentaram maiores teores de glucose e frutose e de compostos voláteis da família dos compostos carbonilo. Sendo que estas características resultam numa vindima com uma boa produção e rendimento, vindo assim confirmar a preferência dos viticultores por este sistema de condução. Os resultados obtidos demonstraram que as uvas destas vinhas atingiram a maturação completa mais cedo que as outras.
- Vinhas com **sistema de condução em latada** apresentaram uvas com maiores teores de ácidos orgânicos e maior índice de maturação fenólica, que poderão originar mostos ricos em acidez, com maior estabilidade microbiológica e mais ricos em polifenóis. As uvas deste tipo de sistema de condução apresentaram menores teores de glucose e frutose e demoraram mais tempo a atingir os valores de potencial alcoólico mínimo recomendado (9%) para a vindima, cerca de uma semana depois das uvas das vinhas em espaldeira.
- Vinhas **mais jovens** (plantadas em 2006) apresentaram cachos de maiores dimensões e peso, bagos com maior volume, com teores mais elevados de açúcar (frutose e glucose). Estes resultados podem ser devidos a uma maior eficiência fotossintética em comparação às vinhas 10 anos mais velhas (plantadas em 1995).
- Os diferentes **porta enxertos** diferiram somente nos ácidos orgânicos, compostos voláteis carbonilo e no índice de maturação, que foram superiores nas vinhas com o porta enxerto R99.

Neste trabalho foram também comparados, à data da vindima, as uvas de **clones de Verdelho** e os resultados obtidos demonstraram que:

- Os clones **1** e **4** foram os que apresentaram melhores resultados em termos de peso e volume de bagos, maior °Brix, elevados teores de glucose e frutose e maior índice total de polifenóis, indicadores duma boa qualidade das uvas. E o que faz diferenciar um do outro é que o clone **1** apresentou maior teor em compostos voláteis e em ácidos orgânicos e o clone **4** maior índice de maturação e maior teor de ácido cítrico.
- Os clones **2** e **5** foram os que apresentaram resultados menores em °Brix, teores de glucose, frutose e de ácidos orgânicos.

Relativamente à comparação das **microvinificações de Verdelho**, os resultados obtidos demonstraram que as diferenças observadas advêm sobretudo do processo de vinificação e não da influência dos diferentes sistemas de condução, idade das vinhas e porta enxertos.

9. PERSPETIVAS FUTURAS

Como trabalho futuro considera-se importante prolongar este estudo por pelo menos mais uma época vitícola, de forma a comparar e confirmar as diferenças observadas durante a realização desta Tese de Mestrado. Pretende-se também realizar a caracterização de outras castas vitícolas DOP Madeira. Neste sentido, acredita-se que no futuro seria relevante estudar a casta Tinta Negra, numa perspetiva de valorização e com o intuito de encontrar soluções para o atual problema de escoamento das uvas desta casta.

10. REFERÊNCIAS

1. Magalhães N. Tratado de Viticultura - A videira, a vinha e o "terroir". Lisboa: Chaves Ferreira Publicações; 2008.
2. OIV. International Organisation of Vine and Wine. Disponível em : <http://www.oiv.int/2017> Consultado a: 16 de Março de 2017.
3. Silva LR, Queiroz M. Bioactive compounds of red grapes from Dão region (Portugal): Evaluation of phenolic and organic profile. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2016;6:315-21.
4. Lopes C. Viticultura de precisão. Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa; 2009.
5. Jackson RS. 2 - Grape species and varieties. *Wine Science (Fourth Edition)*. San Diego: Academic Press; 2014. p. 21-67.
6. Hamman Jr. R, Larsen H J. *The Colorado grape growers guide*. University CS, 1998.
7. Moreno JP. Chapter 1 - The Vine. *Enological Chemistry*. San Diego: Academic Press; 2012. p. 1-11.
8. Estados fenológicos da vinha (segundo Baggiolini). Estação de avisos agrícolas do Algarve: Direcção de Serviços de Agricultura e Pescas / Divisão de Sanidade Vegetal. 2011. Disponível em: http://www.drapalg.min-agricultura.pt/downloads/servicos/Avisos_agricolas/Fenologia_Vinha.pdf. Consultado a: 19 de Dezembro de 2016.
9. Castellarin SD, Matthews MA, Di Gaspero G, Gambetta GA. Water deficits accelerate ripening and induce changes in gene expression regulating flavonoid biosynthesis in grape berries. *Planta.* 2007;227:101-12.
10. dos Santos TP, Lopes CM, Rodrigues ML, de Souza CR, Ricardo-da-Silva JM, Maroco JP, et al. Effects of deficit irrigation strategies on cluster microclimate for improving fruit composition of Moscatel field-grown grapevines. *Sci Hort.* 2007;112:321-30.
11. Puckette M, Hammack M. *Illustrated Grape Vine Training Methods*: Wine Folly; 2016. Disponível em: <http://winefolly.com/review/grape-vine-training-methods-illustration/>. Consultado a: 1 de Fevereiro de 2017
12. Chaves ES. Influência do sistema de condução do vinhedo no índice de polifenóis totais, teor de antocianinas e intensidade de cor de uvas Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera* L.): Universidade Federal de Santa Catarina; 2005.

13. Freitas BKO. A região demarcada da Madeira - Características e património vitícola. Seminário "Viticultura Atlântica construir o futuro"; Açores, Ilha do Pico; 2011.
14. Sampaio T. Using rootstocks to manipulate vine physiological performance and mediate changes in fruit and wine composition: Universidade do Estado de Oregon; 2007.
15. McKenry MV, Luvisi D, Anwar SA, Schrader P, Kaku S. Eight-year nematode study from uniformly designed rootstock trials in fifteen table grape vineyards. *Am. J. Enol. Vitic.* 2004;55:218-27.
16. Pinkerton JN, Vasconcelos MC, Sampaio T, Shaffer RG. Reaction of grape rootstocks to ring nematode *Mesocriconema xenoplax*. 2005.
17. Warschefsky EJ, Klein LL, Frank MH, Chitwood DH, Londo JP, von Wettberg EJB, et al. Rootstocks: Diversity, domestication, and impacts on shoot phenotypes. *Trends Plant Sci.* 2016;21:418-37.
18. Lopes MS, Sefc KM, Eiras DE, Steinkellner H, Machado MLC, Machado AC. The use of microsatellites for germplasm management in a Portuguese grapevine collection. *Theor Appl Genet.* 1999;99:733-9.
19. Brazão JA. Estudo da influencia do tipo de poda sobre o rendimento e qualidade da casta Verdelho. III Jornadas Técnicas vitivinícolas Canarias; Tenerife, Canarias. 2000.
20. González-San José ML, Barren LJR, Junquera B, Robredo LM. Application of principal component analysis to ripening indices for wine grapes. *J. Food Compos. Anal.* 1991;4:245-55.
21. Pérez-Magariño S, González-San José ML. Polyphenols and colour variability of red wines made from grapes harvested at different ripeness grade. *Food Chem.* 2006;96:197-208.
22. Hidalgo L. Tratado de viticultura generale. 2.^a ed. 1999.
23. Tomaz FON. Estudo da evolução dos compostos da uva ao longo da maturação em clima semi-árido: Castas Cabernet Sauvignon, Aragonez e Alicante Bouschet. Universidade Técnica de Lisboa em parceria com Universidade do Porto; 2013.
24. Dokoozlian NK. Grape berry growth and development. In: California Uo, editor. In: Cristensen, PL (ed), Raisin production manual. Oakland: Agriculture & Natural resources; 2000.
25. Jackson RS. 3 - Grapevine Structure and Function. *Wine Science (Fourth Edition)*. San Diego: Academic Press; 2014. p. 69-141.
26. da Silva JMR. Composição da uva, do mosto e do vinho. In: Enologia LFL-Sd, editor. Apontamentos do 100º Curso intensivo de vinificação: Instituto Superior de Agronomia - Universidade Técnica de Lisboa; 2006.

27. Mendes JL, Lopes S, Prozil S, Evtuguin D, Cruz-Lopes L. Caracterização Química do Folhelho Branco e do Folhelho Tinto Proveniente de Castas Típicas da Região do Dão. Instituto Politécnico de Viseu. 2014;46:19-32.
28. Carvalheira J. Fases de maturação da uva. *Enovitis*. 2006:50.
29. Kanellis A.K. Grape. In: Seymour G.B. TJE, Tucker G.A., editor. *Biochemistry of Fruit Ripening*: Springer, Dordrecht; 1993.
30. Jackson RS. 6 - Chemical Constituents of Grapes and Wine. *Wine Science (Fourth Edition)*. San Diego: Academic Press; 2014. p. 347-426.
31. Medina-Plaza CdS, Fernández-Escudero JA, Barajas JA, Medrano E, Rodríguez-Mendez G, Rodríguez-Mendez ML. Array of biosensors for discrimination of grapes according to grape variety, vintage and ripeness. *Anal. Chim. Acta*. 2016;947:16-22.
32. Chitarra MIF, Chitarra AB. *Fisiologia e manuseio. Pós-colheita de frutas e hortaliças*. Lavras: UFLA; 2005.
33. Pereira V. *Efect of Estufagem process on the chemical constituents of Madeira wines*: Universidade da Madeira; 2011.
34. Miranda A. *Olfactory perception threshold assessment of volatile acidity in Madeira wine*: Universidade da Madeira; 2015.
35. Segundo MA, Rangel AOSS. Kinetic determination of l(-)malic acid in wines using sequential injection analysis. *Anal. Chim. Acta*. 2003;499:99-106.
36. Lamikanra O, Inyang ID, Leong S. Distribution and effect of grape maturity on organic acid content of red Muscadine grapes. *J. Agric. Food Chem.* 1995;43:3026-8.
37. Kennedy JA, Matthews MA, Waterhouse AL. Effect of maturity and vine water status on grape skin and wine flavonoids. *Am. J. Enology Vitic.* 2002;53:268-74.
38. Montealegre RR, Peces RR, Vozmediano JLC, Gascueña JM, Romero EG. Phenolic compounds in skins and seeds of ten grape *Vitis vinifera* varieties grown in a warm climate. *J. Food Compos. Anal.* 2006;19:687-93.
39. Yang C, Wang Y, Wu B, Fang J, Li S. Volatile compounds evolution of three table grapes with different flavour during and after maturation. *Food Chem*. 2011;128:823-30.
40. Gómez E, Martínez A, Laencina J. Changes in volatile compounds during maturation of some grape varieties. *J. Sci. Food Agric.* 1995;67:229-33.
41. Yang C, Wang Y, Liang Z, Fan P, Wu B, Yang L, et al. Volatiles of grape berries evaluated at the germplasm level by headspace-SPME with GC-MS. *Food Chem*. 2009;114:1106-14.

42. Tavares J. Subsídios para o estudo da vinha e do vinho na região da Madeira. Funchal. Portugal. 1953.
43. IVBAM,IP-RAM. Vinho Madeira: Instituto do Vinho, do Bordado e do Artesanato da Madeira. Disponível em: <http://www.ivbam.gov-madeira.pt/home-1052.aspx>2009. Consultado a: 16 de Março de 2017.
44. Brazão J. A viticultura na Região Autónoma da Madeira sua evolução e situação actual. II Jornadas Técnicas Vitivinícolas Canarias; Tenerife, Canarias1998.
45. Ivanova V, Stefova M, Vojnoski B, Dornyei A, Mark L, Dimovska V, et al. Identification of polyphenolic compounds in red and white grape varieties grown in R. Macedonia and changes of their content during ripening. *Food Res Int.* 2011;44:2851-60.
46. Liang N-N, Zhu B-Q, Han S, Wang J-H, Pan Q-H, Reeves MJ, et al. Regional characteristics of anthocyanin and flavonol compounds from grapes of four *Vitis vinifera* varieties in five wine regions of China. *Food Res Int.* 2014;64:264-74.
47. Rolle L, Torchio F, Giacosa S, Segade SR. Berry density and size as factors related to the physicochemical characteristics of Muscat Hamburg table grapes (*Vitis vinifera* L.). *Food Chem.* 2015;173:105-13.
48. Rolle L, Giordano M, Giacosa S, Vincenzi S, Segade SR, Torchio F, et al. CIEL*a*b* parameters of white dehydrated grapes as quality markers according to chemical composition, volatile profile and mechanical properties. *Anal. Chim. Acta.* 2012;732:105-13.
49. NIST Chemistry WebBook. NIST Standard Reference Database Number 69. Gas Chromatography. 2008. Disponível em: <http://webbook.nist.gov/chemistry/>. Consultado a: 13 de Julho de 2017
50. Carrera C, Ruiz-Rodríguez A, Palma M, Barroso CG. Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from grapes. *Anal. Chim. Acta.* 2012;732:100-4.
51. Kontoudakis N, Esteruelas M, Fort F, Canals JM, de Freitas V, Zamora F. Influence of the heterogeneity of grape phenolic maturity on wine composition and quality. *Food Chem.* 2011;124:767-74.
52. Rizzon LA, Zanús MC, Manfredini S. Como Elaborar Vinho de Qualidade na Pequena Propriedade. Agropecuária EBDP. Brasil: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento; 1994.
53. Jacob N. Pectinolytic Enzymes. In: Singh nee' Nigam P. PA, editor. *Biotechnology for Agro-Industrial Residues Utilisation*. Dordrecht: Springer; 2009.
54. Santos JAS. O Adegueiro - E a sua intervenção no vinho generoso da Madeira: IVBAM; 1991.

55. Carvalho MJ, Pereira V, Pereira AC, Pinto JL, Marques JC. Evaluation of wine colour under accelerated and oak-cask ageing using CIELab and chemometric approaches. *Food Bioprocess Tech.* 2015;8:2309-18.
56. Pereira V, Albuquerque F, Cacho J, Marques JC. Polyphenols, antioxidant potential and color of fortified wines during accelerated ageing: The Madeira wine case study. *Molecules.* 2013;18:2997-3017.
57. Zhang P, Fuentes S, Siebert T, Krstic M, Herderich M, Barlow EWR, et al. Terpene evolution during the development of *Vitis vinifera* L. cv. Shiraz grapes. *Food Chem.* 2016;204:463-74.
58. Coelho E, Rocha SM, Delgadillo I, Coimbra MA. Headspace-SPME applied to varietal volatile components evolution during *Vitis vinifera* L. cv. 'Baga' ripening. *Anal. Chim. Acta.* 2006;563:204-14.
59. Slegers A, Angers P, Ouellet É, Truchon T, Pedneault K. Volatile compounds from grape skin, juice and wine from five interspecific hybrid grape cultivars grown in Québec (Canada) for wine production. *Molecules.* 2015;20: 10980-1016.
60. Wu Y, Duan S, Zhao L, Gao Z, Luo M, Song S, et al. Aroma characterization based on aromatic series analysis in table grapes. *Sci. Rep.* 2016;6:31116.
61. Yuan F, Qian MC. Development of C13-norisoprenoids, carotenoids and other volatile compounds in *Vitis vinifera* L. Cv. Pinot noir grapes. *Food Chem.* 2016;192:633-41.
62. Kalua CMeB. Evolution of volatile compounds during the development of Cabernet Sauvignon grapes (*Vitis vinifera* L.). *J Agric Food Chem.* 2009; 57:3818–3830.
63. Soyer Y, Koca N, Karadeniz F. Organic acid profile of Turkish white grapes and grape juices. *J. Food Compos. Anal.* 2003;16:629-36.
64. Ribéreau-Gayon P. Handbook of Enology: The microbiology of Wine and vinifications. 2ª Edição; 2006.
65. Polaskova P, Herszage J, Ebeler SE. Wine flavor: Chemistry in a glass. *Chem. Soc. Rev.* 2008;37:2478-89.
66. Moreno JP. Chapter 4 - Composition of Wine. *Enological Chemistry.* San Diego: Academic Press; 2012. p. 41-52.
67. Jackson RS. 7 - Fermentation. *Wine Science (Fourth Edition).* San Diego: Academic Press; 2014. p. 427-534.
68. Pereira V, Cacho J, Marques JC. Volatile profile of Madeira wines submitted to traditional accelerated ageing. *Food Chem.* 2014;162:122-34.

69. Pérez-Magariño S, González-Sanjosé ML. Application of absorbance values used in wineries for estimating CIELAB parameters in red wines. *Food Chem.*. 2003;81:301-6.
70. Sant'Anna V, Gurak PD, Marczak LDF, Tessaro IC. Tracking bioactive compounds with colour changes in foods – A review. *Dyes and Pigments*. 2013;98:601-8.
71. OIV. Détermination des caractéristiques chromatiques selon CIElab (Résolution Oeno 1/2006). OIV. 2006;Méthode OIV-MA-AS2-11.
72. Negueruela AI, Echávarri JF, Ayala F, Lomas AM. Colimetria en vinos. *Zubía monográfico*. 1995;7:151-66.

11. APÊNDICE

Tabela A: Enumeração dos parâmetros químicos usados na análise por PCA.

Maturação da uva		Comparação de clones	
#	Parâmetro Químico	#	Parâmetro Químico
1	Glucose	1	Pentanal
2	Frutose	2	3-Cloro-2-etil-1-propeno
3	Ácido Cítrico	3	1-Penten-3-ona
4	Ácido Tartárico	4	Hexanal
5	Ácido Málico	5	β -Pino
6	Ácido Succínico	6	(E)-2-Pentenal
7	Ácido Láctico	7	1-Penten-3-ol
8	°Brix	8	Mirceno
9	palc.(%)	9	Heptanal
10	pH	10	Limoneno
11	ITV	11	2-Hexenal
12	IPT	12	(E)-2-Hexenal
13	Pentanal	13	1-Pentanol
14	Hexanal	14	(Z)-4-Heptanal
15	β -Pino	15	γ -Terpineno
16	Mirceno	16	Isovalerato de butilo
17	Heptanal	17	Acetato de Hexilo
18	Limoneno	18	p-Cimeno
19	2-Hexenal	19	Terpinoleno
20	(E)-2-Hexenal	20	Octanal
21	γ -Terpineno	21	4-Octen-3-ona
22	Isovalerato de butilo	22	2-Heptanol
23	Acetato de Hexilo	23	(Z)-2-Penten-1-ol
24	p-Cimeno	24	2,3-Octanediona
25	Terpinoleno	25	Acetato de (E)-2-Hexenilo
26	Octanal	26	(Z)-2-Heptenal
27	4-Octen-3-ona	27	6-Metil-5-hepten-2-ona
28	2-Heptanol	28	1-Hexanol
29	Acetato de (Z)-3-Hexenilo	29	(E)-3-Hexen-1-ol
30	(Z)-2-Heptenal	30	(Z)-3-Hexen-1-ol
31	6-Metil-5-hepten-2-ona	31	Nonanal
32	1-Hexanol	32	2-Hexen-1-ol
33	(E)-3-Hexen-1-ol	33	Ciclohexanol
34	(Z)-3-Hexen-1-ol	34	Butirato de Hexilo
35	Nonanal	35	(E,E)-2,4-Hexadienal
36	2-Hexen-1-ol	36	4-Etil-2-Hexinal
37	Hexanoato de Butilo	37	Octanoato de Etilo

38	Butirato de Hexilo	38	2-Octenal
39	Tetrahidrolinalool	39	6-Metil-5-Hepten-2-ol
40	Octanoato de Etilo	40	Butirato de (E)-2-hexenilo
41	2-Octenal	41	2- Etil-1hexanol
42	p-Cimeno	42	Disulfito dialflico
44	Butirato de (E)-2-hexenilo	43	2,4 Heptadienal
45	2- Etil-1hexanol	44	Óxido linalol
46	Disulfito dialflico	45	(Z)-2-Nonenal
47	Decanal	46	1-Octanol
48	Linalool	47	Acetato de Isobornilo
49	(Z)-2-Nonenal	48	(E)-2-Octen-1-ol
50	1-Octanol	49	β -Ciclocitral
51	Acetato de Isobornilo	50	1-Nonanol
52	Hexanoato de hexilo	51	2-Decenal
53	(E)-2-Octen-1-ol	52	Fenilacetaldeído
54	β -Ciclocitral	53	Succinato de dietilo
55	1-Nonanol	54	α -Humuleno
56	2-Decenal	55	(-)- α -terpineol
57	Succinato de dietilo	56	4-(1,1-Dimetiletil)-Ciclohexanona
58	α -Humuleno	57	Acetato de nerilo
59	4-(1,1-Dimetiletil)-Ciclohexanona	58	Acetato de Benzilo
60	Acetato de nerilo	59	Geranial
61	Acetato de Benzilo	60	1-Decanol
62	Geranial	61	7-Metil-3-metileno-6-octen-1-ol
63	1-Decanol	62	2,7-Dimetil-octa-2.6-dien-1-ol
64	7-Metil-3-metileno-6-octen-1-ol	63	(E)-3,7-dimetil-2,6-octadien-1-ol
65	2,7-Dimetil-octa-2.6-dien-1-ol	64	Ácido Hexanoico
66	(E)-3,7-dimetil-2,6-octadien-1-ol	65	Geranil acetona
67	Ácido Hexanoico	66	Álcool benzílico
68	Geranil acetona	67	2-Feniletanol
69	Álcool benzílico	68	β -Ionona
70	2-Feniletanol	69	Ácido 2-hexenóico
71	β -Ionona	70	Glucose
72	Ácido 2-hexenóico	71	Frutose
		72	Ácido Cítrico
		73	Ácido Tartárico
		74	Ácido Málico
		75	Ácido Succínico
		76	Ácido Láctico
		77	°Brix
		78	palc.(%)
		79	pH
		80	I.T.V.
		81	I.T.P

Tabela B: Valores médios das coordenadas do método CIELab.

Amostras		L^*	$\pm SD$	a^*	$\pm SD$	b^*	$\pm SD$
Latada 1A	M0	76,88 ^(a)	2,19	4,65 ^(c)	0,58	27,74 ^(d)	1,53
	MIF	93,22 ^(b)	0,14	0,82	0,14	15,42	2,62
	MAF	95,00	0,26	0,18	0,12	14,98	0,06
	VAF	89,33	0,76	1,07	0,44	24,57	1,95
	VF	72,08	1,99	21,13	2,32	73,96 ^(f)	3,61
Espaladeira 1C	M0	75,30	0,65	5,28	0,15	29,68	0,28
	MIF	91,78	3,40	0,88	0,49	13,83	1,29
	MAF	95,27	0,40	0,27	0,02	12,37 ^(e)	0,76
	VAF	90,22	0,48	1,09	0,27	22,26	1,50
	VF	77,22	0,39	15,08	0,39	63,00 ^{(f) (g)}	1,03
Espaladeira 12	M0	82,14 ^(a)	1,41	3,10 ^(c)	0,41	22,13 ^(d)	1,28
	MIF	93,94 ^(b)	1,22	0,91	0,34	14,20	2,68
	MAF	93,97	0,14	0,33	0,06	14,21 ^(e)	1,00
	VAF	89,01	1,50	1,56	1,06	25,03	5,10
	VF	75,39	3,24	17,59	3,61	67,59 ^(g)	6,00

(a) (b) (c) (d) (e) (f) (g) - Letras iguais correspondem a amostras que não são significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)**Tabela C:** Valores médios de %Ye, %Re e %Bl do método Glories.

Amostras		%Ye	$\pm SD$	%Re	$\pm SD$	%Bl	$\pm SD$
Latada 1A	M0	55,32	0,19	28,67	0,08	16,01	0,11
	MIF	59,60	5,56	26,93	1,80	13,47	3,76
	MAF	66,62 ^(a)	0,20	24,20 ^(b)	0,06	9,18 ^(c)	0,14
	VAF	63,74	0,28	25,22	0,09	11,04	0,37
	VF	65,14 ^(d)	0,16	28,22	0,11	6,64 ^(g)	0,05
Espaladeira 1C	M0	54,97	0,20	28,74	0,13	16,29	0,07
	MIF	64,54	0,34	25,78	0,25	9,68	0,16
	MAF	65,00 ^(a)	1,92	24,48 ^(b)	0,60	10,51 ^(c)	1,33
	VAF	64,17	1,34	24,99	0,04	10,83	1,31
	VF	65,00 ^{(d) (e)}	0,17	28,56 ^(f)	0,02	6,44 ^{(g) (h)}	0,18

Espaladeira 12	M0	55,15	0,36	28,69	0,10	16,16	0,26
	MIF	63,89	3,40	25,67	1,06	10,44	2,34
	MAF	70,93	1,14	22,07	0,54	6,99	0,60
	VAF	65,16	0,18	24,21	0,19	10,63	0,37
	VF	65,30 ^(e)	0,05	28,43 ^(f)	0,14	6,26 ^{(g) (h)}	0,09

(a) (b) (c) (d) (e) (f) (g) (h) - Letras iguais correspondem a amostras que não são significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)

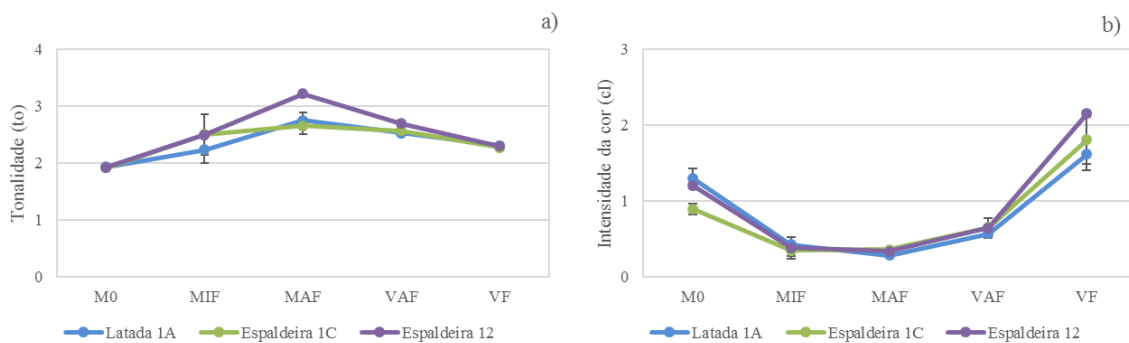


Figura A: Evolução das coordenadas to (a) e Ic (b) ao longo do processo das 3 microvinificações em estudo.