

Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro

**Caracterização bioquímica de uvas da Região Demarcada
do Douro**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM BIOQUÍMICA

Jessica Rodrigues Afonso

Orientador: Maria Fernanda Gil Cosme Martins
Co-orientador: Virgílio Alexandre Cardoso e Falco da Costa



Vila Real, 2019

Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro

**Caracterização bioquímica de uvas da Região Demarcada
do Douro**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM BIOQUÍMICA

Jessica Rodrigues Afonso

Orientador: Maria Fernanda Gil Cosme Martins

Co-orientador: Virgílio Alexandre Cardoso e Falco da Costa

Composição do Júri

Vila Real, 2019

Este trabalho deu origem às seguintes comunicações:

- Singh, R. K., Falco, V., Nogueira, M., Afonso, J., Cosme, F. (2018). Effect of foliar mitigation treatments on Touriga Nacional grape berry quality. XIV Encontro de Química dos Alimentos - Indústria, Ciência, Formação e Inovação, Viana do Castelo 6 - 9 de Novembro, Viana do Castelo (CP073 poster).
- Singh, R. K., Falco, V., Nogueira, M., Afonso, J., Cosme, F. (2018). Effect of foliar mitigation treatments on Touriga Nacional grape berry quality. 14º Encontro de Química dos Alimentos - Indústria, Ciência, Formação e Inovação, Viana do Castelo 6 - 9 de Novembro, Viana do Castelo (proceeding pp 217 220). ISBN: 978-989-98936-9-6.
- Singh, R. K., Falco, V., Nogueira, M., Afonso, J., Cosme, F. (2018). Effect of foliar mitigation treatments on Touriga Nacional grape berry quality. 14º Encontro de Química dos Alimentos - Indústria, Ciência, Formação e Inovação, Viana do Castelo 6 - 9 de Novembro, Viana do Castelo (CP073 pag. 129). ISBN: 978-989-98936-9-6.
- Afonso, J., Santos, T., Falco, V., Cosme, F. (2018). Estudo do efeito de tratamentos foliares de mitigação no perfil antociânico das castas Touriga Nacional e Touriga Franca. Poster 24 apresentado no 6º infowine.forum Wine fiction 23 a 24 de maio, Vila Real, 2018.
- Afonso, J., Santos, T., Falco, V., Cosme, F. (2018). Estudo do efeito de tratamentos foliares de mitigação no perfil antociânico das castas Touriga Nacional e Touriga Franca. Poster 24 apresentado no 6º infowine.forum | Wine fiction 23 a 24 de maio de 2018, Teatro de Vila Real, Vila Real, p. 17.
- Afonso, J., Santos, T., Falco, V., Cosme, F. (2018) Estudo da composição fenólica das uvas da casta Touriga Nacional e Touriga Franca sujeitas a diferentes tratamentos de mitigação. Poster e abstract apresentados nas III Jornadas de Engenharia Agronómica, Gestão de Recursos e Novas Tecnologias. 28 de Fevereiro 2018, UTAD. Comunicação por Poster.
- Afonso, J., Santos, T., Falco, V., Cosme, F. (2018). Estudo da composição fenólica das uvas da casta Touriga Nacional e Touriga Franca sujeitas a diferentes tratamentos de mitigação. III Jornadas de Engenharia Agronómica. Gestão de Recursos e Novas Tecnologias. 28 de Fevereiro 2018 UTAD.

“As doutrinas apresentadas neste trabalho são
da exclusiva responsabilidade do autor.”

Este trabalho foi expressamente elaborado como dissertação original para o efeito de obtenção de grau de Mestre em Bioquímica.

Agradecimentos

À Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, na pessoa do Magnífico Reitor, Sr^o. Professor Doutor António Augusto Fontaínhas Fernandes, por me ter proporcionado o ingresso no Mestrado de Bioquímica. A todos os professores que me acompanharam durante todo este percurso letivo.

À Professora Doutora Fernanda Cosme pela ajuda e apoio prestados na realização desta dissertação. Pela paciência e disponibilidade e por todos os conhecimentos transmitidos durante todo este percurso, o meu muito obrigado.

Ao Professor Doutor Virgílio Falco, pela disponibilidade e pelos ensinamentos transmitidos ao longo deste trabalho.

À Doutora Teresa Santos por toda a ajuda a nível laboratorial, pelos conhecimentos transmitidos, pela disponibilidade, pelo carinho e amizade.

À Catarina Santos por toda a ajuda na fase inicial deste trabalho experimental.

Um especial agradecimento à Marta que esteve sempre presente no decorrer deste trabalho. Obrigada pelo apoio e acima de tudo obrigada por esta amizade que perdura desde o primeiro ano de licenciatura.

A toda a minha família por todo o apoio incondicional e incentivo até ao último dia.

Aos meus pais pelos sacrifícios feitos que permitiram que eu concluísse esta etapa. Por todo o amor, carinho e paciência. Por me terem dado forças para continuar e nunca terem deixado de acreditar em mim. Por não me deixarem desistir, obrigada!

Ao meu irmão, por ter estado sempre presente.

Este trabalho foi apoiado pelos projetos INNOVINE&WINE - NORTE-01-0145-FEDER-000038 e INTERACT - NORTE-01-0145-FEDER-000017 (Linha VitalityWine), financiados pelo Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (FEDER) através do NORTE 2020 (Programa Operacional Regional do Norte 2014/2020).

Resumo

A Região Demarcada do Douro é caracterizada por um clima tipicamente mediterrâneo, contudo, as alterações climáticas têm cada vez mais uma influência na fisiologia e fenologia da videira, assim como na composição das uvas e na qualidade do vinho, sendo que os fatores que mais afetam esta cultura são: a radiação solar, a temperatura, o vento, a precipitação, a humidade e as características hídricas do solo. Para combater estes fatores negativos que afetam a vitivinicultura, são tomadas algumas medidas de mitigação tais como a aplicação foliar de caulino e silicato de potássio. Este trabalho teve como objetivo o estudo do perfil antociânico e da composição fenólica das diferentes partes dos bagos de duas castas tintas, Touriga Nacional e Touriga Franca, sujeitas ao tratamento com caulino e silicato de potássio. Este estudo foi realizado com amostras colhidas na Quinta do Orgal, situada em Vila Nova de Foz Côa. Os bagos são provenientes de uma vinha ao alto, situada numa encosta virada a norte em solo maioritariamente xistoso. Os compostos fenólicos totais, taninos totais e antocianinas totais foram quantificados por métodos espectrofotométricos. Por HPLC foram identificadas e quantificadas as antocianinas monoméricas. Os bagos da casta Touriga Franca sujeitos a tratamento com caulino são os que apresentaram uma maior concentração de compostos fenólicos totais. Enquanto que na casta Touriga Nacional, os que apresentam uma concentração superior de compostos fenólicos totais são os bagos tratados com silicato de potássio a 0,01%. No que diz respeito ao teor de taninos totais, os bagos da casta Touriga Nacional, sujeitos ao tratamento com silicato de potássio a 0,05% apresentaram a maior concentração. Na casta Touriga Franca, verificou-se que as amostras controlo apresentaram uma maior concentração de taninos totais, no entanto, entre ambos os tratamentos aplicados, o que apresentou um maior teor destes compostos foram os bagos tratados com caulino. Por fim, os bagos que apresentam um teor superior de antocianinas foram os bagos da casta Touriga Franca sujeitos a tratamento com silicato de potássio a 0,05%. O mesmo se verificou para os bagos da casta Touriga Nacional tratados com silicato de potássio a 0,1%. De um modo geral, a quantidade de antocianinas totais aumentou nos bagos sujeitos ao tratamento foliar. Contudo, o teor compostos fenólicos totais, antocianinas totais e de taninos totais à data da vindima não são significativamente diferente entre os diferentes ensaios quer para a casta Touriga Nacional quer para a casta Touriga Franca. Os resultados obtidos permite-nos afirmar que os tratamentos foliares aplicados à videira com o objetivo de a

proteger das secas severas e da elevada exposição solar, não afetam a qualidade dos bagos e consequentemente dos vinhos que daí resultam.

Palavras-Chave: *Vitis vinífera*, Touriga Nacional, Touriga Franca, Caulino, Silicato de Potássio, Região Demarcada do Douro, composição fenólica, perfil antociânico, tratamentos de mitigação.

Abstract

The Douro Demarcated Region is characterized by a typically Mediterranean climate. Climate changes influenced increasingly the physiology and phenology of grapevine, as well as the grape composition and consequently the wine quality. The factors that more affect this crop are: solar radiation, temperature, wind, rainfall, moisture and soil water characteristics. To overcome these negative factors in the viticulture, some mitigation measures are taken, such as the foliar application of kaolin and potassium silicate. The objective of this work was to study the anthocyanin profile and the phenolic composition of the different parts of the berries from two grape varieties, Touriga Nacional and Touriga Franca, subject to treatment with kaolin and potassium silicate. This study was carried out in the Quinta do Orgal, located in Vila Nova de Foz Côa. The berries come from a vineyard, located on a slope facing north in mostly schist soil. Total phenolic compounds, total tannins and total anthocyanins, were quantified by spectrophotometric methods. Monomeric anthocyanins were identified and quantified by HPLC. The Touriga Franca grape variety berries subjected to treatment with kaolin are those that presented a higher concentration of total phenolic compounds. In the Touriga Nacional grape variety, the highest concentration of total phenolic compounds are in the berries treated with 0.01% potassium silicate. Regarding the total tannin content, the berries from Touriga Nacional grape variety, treated with 0.05% potassium silicate, presented the highest concentration. In the Touriga Franca grape variety, it was verified that the control samples presented a higher concentration of total tannins, however, between the two treatments applied, the highest content of these compounds was in the grape berries treatment with kaolin. Finally, the berries that present a higher anthocyanins are those from Touriga Franca grape variety treatment with 0.05% potassium silicate. The same was true for the Touriga Nacional grape variety treated with 0.1% potassium silicate. In general, the amount of total anthocyanins increased in the berries with foliar treatments. However, total phenolic compounds, total anthocyanins and total tannins at harvest are not significantly different between the different treatment for both the Touriga Nacional and Touriga Franca grape varieties. The results obtained allow to state that the leaf treatments applied to the vine to protect it from severe droughts and high sun exposure do not affect the quality of the berries and consequently the resulting wines.

Key-words: *Vitis vinifera*, Touriga Nacional, Touriga Franca, Kaolin, Potassium Silicate, Douro Demarcated Region, phenolic composition, anthocyanin profile, mitigation treatments.

Índice Geral

Agradecimentos.....	VI
Resumo.....	VII
Abstract	IX
Índice de Figuras	XIII
Índice de Tabelas.....	XV
Índice de abreviaturas.....	XVI
Capítulo 1	1
1. Introdução	2
Capítulo 2	4
2. Revisão Bibliográfica.....	5
2.1. Região Demarcada do Douro	5
2.2. Uvas.....	7
2.2.1. Constituição do bago de uva	7
2.2.2. Fases de maturação do bago de uva	8
2.3. Castas	9
2.3.1. Touriga Nacional.....	9
2.3.2. Touriga Franca	10
2.4. Clima	11
2.5. Silicato de alumínio.....	12
2.6. Silicato de potássio.....	13
2.7. Compostos fenólicos	14
2.7.1. Flavonóides	15
2.7.1.1. Flavanóis	16
2.7.1.1.1. Taninos condensados (proantocianidinas).....	17
2.7.1.1.2. Taninos hidrolisáveis.....	18
2.7.1.2. Flavonóis	18
2.7.1.3. Antocianinas.....	19
2.7.2. Não-Flavonóides	21
2.8. Biossíntese dos compostos fenólicos	23
2.9. Métodos de análise química	27
2.9.1. Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).....	27
2.9.1.1. Métodos de separação em cromatografia líquida	29

2.9.1.1.1.	Cromatografia líquida de partilha (fase reversa).....	29
2.9.1.2.	Coluna cromatográfica	30
2.9.1.3.	Tipos de detetores usados em cromatografia líquida	30
2.9.1.3.1.	Detetor de absorção de radiação ultravioleta e visível	31
2.9.1.4.	Análise dos dados cromatográficos.....	32
2.9.2.	Espetrofotómetro.....	33
2.10.	Objetivos	35
Capítulo 3.....		36
3.	Parte Experimental	37
3.1.	Localização do campo de ensaio e recolha das amostras	37
3.2.	Amostragem	38
3.3.	Aplicação foliar dos tratamentos e respetivas datas de aplicação	38
3.4.	Preparação das amostras.....	39
3.5.	Preparação da polpa	39
3.5.1.	Determinação do pH e teor de açúcares	39
3.6.	Preparação dos extratos hidroalcoólicos das películas e grainhas.....	40
3.6.1.	Determinação do teor de compostos fenólicos totais e antocianinas totais	41
3.6.2.	Determinação do teor de taninos totais	41
3.6.3.	Determinação das antocianinas monoméricas por HPLC	42
Capítulo 4.....		44
4.	Resultados e Discussão	45
4.1.	Peso dos bagos das duas castas ao longo da maturação	45
4.2.	pH e teor açúcares da polpa dos bagos das duas castas em estudo ao longo da maturação	48
4.3.	Compostos fenólicos totais e antocianinas totais das películas dos bagos das duas castas ao longo da maturação.....	54
4.4.	Taninos totais de película e de grainha dos bagos das duas castas ao longo da maturação	60
4.5.	Antocianinas monoméricas da película dos bagos das duas castas à data de vindima....	65
Capítulo 5.....		69
5.	Conclusão.....	70
Bibliografia		72
Sites consultados		78

Índice de Figuras

Figura 1 - Divisão do território da Região Demarcada do Douro.....	6
Figura 2 - Composição do bago de uva.....	7
Figura 3 - Distribuição da casta Touriga Nacional (A) e da casta Touriga Franca (B).....	9
Figura 4 - Cacho e folha característicos da casta Touriga Nacional.....	10
Figura 5 - Cacho e folha característicos da casta Touriga Franca.....	11
Figura 6 - Estrutura geral dos flavonóides.....	16
Figura 7 - Estrutura dos flavanóis mais abundantes.....	16
Figura 8 - Decomposição das proantocianidinas por aquecimento em meio ácido ou alcoólico.....	17
Figura 9 - Estrutura dos flavonóis.....	18
Figura 10 - Estrutura das antocianinas 3-glucósido.....	19
Figura 11 - Estrutura base das antocianinas 3-glucósido e respetivos ésteres acilados.....	20
Figura 12 - Formas estruturais das várias antocianinas predominantes a diferente pH.....	21
Figura 13 - Estrutura geral dos ácidos benzóicos.....	22
Figura 14 - Estrutura geral dos ácidos cinâmicos.....	22
Figura 15 - Estrutura geral dos estilbenos.....	23
Figura 16 - Esquema da biossíntese dos compostos fenólicos.....	26
Figura 17 - Esquema simples de um aparelho de HPLC.....	28
Figura 18 - Esquema de um espectrofotómetro.....	34
Figura 19 - Campo de ensaio na Quinta do Orgal.....	37
Figura 20 - Esquema do estudo realizado na Quinta do Orgal.....	38
Figura 21 - Extratos hidroalcoólicos das películas e grainhas.....	40
Figura 22 - Preparação das amostras para a análise das antocianinas totais e compostos fenólicos totais das películas.....	41
Figura 23 - Peso médio dos bagos da casta Touriga Nacional ao longo da maturação sujeitas a diferentes tipos de tratamentos.....	47
Figura 24 - Peso médio dos bagos da casta Touriga Franca ao longo da maturação sujeitas a diferentes tipos de tratamentos.....	47
Figura 25 - pH do mosto da casta Touriga Nacional ao longo da maturação sujeitas a diferentes tipos de tratamentos.....	51
Figura 26 - pH do mosto da casta Touriga Franca ao longo da maturação sujeita a diferentes tipos de tratamentos.....	51

Figura 27 – Teor de álcool provável do mosto da casta Touriga Franca ao longo da maturação sujeitas a diferentes tipos de tratamentos.....	53
Figura 28 – Teor de álcool provável do mosto da casta Touriga Franca ao longo da maturação sujeitas a diferentes tipos de tratamentos.....	53
Figura 29 - Teor de compostos fenólicos totais da película dos bagos da casta Touriga Nacional ao longo da maturação sujeitas a diferentes tipos de tratamentos.....	57
Figura 30 - Teor de compostos fenólicos totais da película dos bagos da casta Touriga Franca ao longo da maturação sujeitas a diferentes tipos de tratamentos.....	57
Figura 31 – Teor de antocianinas totais dos bagos da casta Touriga Nacional ao longo da maturação sujeitas a diferentes tipos de tratamentos.....	59
Figura 32 – Teor de antocianinas totais dos bagos da casta Touriga Franca ao longo da maturação sujeitas a diferentes tipos de tratamentos.....	59
Figura 33 - Teor de taninos totais dos bagos da casta Touriga Nacional em (mg/g) película ao longo da maturação sujeitas a diferentes tipos de tratamentos.....	63
Figura 34 - Teor de taninos totais dos bagos da casta Touriga Franca em (mg/g) película ao longo da maturação sujeitas a diferentes tipos de tratamentos.....	63
Figura 35 - Teor de taninos totais dos bagos da casta Touriga Nacional em (mg/g) grainha ao longo da maturação sujeitas a diferentes tipos de tratamentos.....	64
Figura 36 - Teor de taninos totais dos bagos da casta Touriga Franca em (mg/g) grainha ao longo da maturação sujeitas a diferentes tipos de tratamentos.....	64
Figura 37 – Teor de antocianinas glucosiladas dos bagos das duas castas em estudo à data da vindima sujeitas a diferentes tipos de tratamentos.....	67
Figura 38 – Teor de antocianinas acetiladas dos bagos das duas castas em estudo à data da vindima sujeitas a diferentes tipos de tratamentos.....	67
Figura 39 - Teor de antocianinas cumariladas dos bagos das duas castas em estudo à data da vindima sujeitas a diferentes tipos de tratamentos.....	68

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Caracterização das 3 sub-regiões da Região Demarcada do Douro.....	5
Tabela 2 - Teor de compostos fenólicos totais, antocianinas totais e taninos totais na casta Touriga Nacional e Touriga Franca.....	15
Tabela 3 – Gradiente de concentração da fase móvel A e B.....	42
Tabela 4 – Peso médio dos bagos (média $\pm$ desvio padrão) das castas em estudo em g sujeitas a diferentes tratamentos foliares.....	46
Tabela 5 – pH (média $\pm$ desvio padrão) do mosto das castas em estudo sujeitas a diferentes tratamentos foliares.....	50
Tabela 6 – Teor de álcool provável (média $\pm$ desvio padrão) do mosto das castas em estudo sujeitas a diferentes tratamentos foliares.....	52
Tabela 7 – Compostos fenólicos totais (média $\pm$ desvio padrão) dos bagos das castas em estudo em mg/g de película sujeitos a diferentes tratamentos foliares.....	56
Tabela 8 – Antocianinas totais (média $\pm$ desvio padrão) dos bagos das castas em estudo em mg/g de película sujeitas a diferentes tratamentos foliares.....	58
Tabela 9 – Taninos totais (média $\pm$ desvio padrão) dos bagos das castas em estudo em mg/g de película sujeitos a diferentes tratamentos foliares.....	61
Tabela 10 – Taninos totais (média $\pm$ desvio padrão) dos bagos das castas em estudo em mg/g de película sujeitos a diferentes tratamentos foliares.....	62
Tabela 11 – Antocianinas monoméricas (média $\pm$ desvio padrão) dos bagos das castas em estudo em mg/g de bago sujeitas a diferentes tratamentos foliares.....	66

Índice de abreviaturas

HPLC – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência;

RDD – Região Demarcada do Douro;

DOC – Denominação de origem controlada;

PAL – Fenilalanina amoníaco liase;

C4H – Ácido cinâmico 4-hidroxilase;

CHS – Chalcona sintase;

CHI – Chalcona isomerase;

F3'H – Flavonoide 3'-hidroxilase;

F3'5'H – Flavonoide 3'5'-hidroxilase;

F3H – Flavanona 3 β -hidroxilase;

DFR – Dihidroflavanol 4-redutase;

ANS – Antocianidina sintase;

DFGT – Flavonoide glucosiltransferase;

OMT – *O*-metiltransferase;

LAR – Leucoantocianidina redutase;

ANR – Antocianidina redutase;

TLC – Cromatografia em camada fina;

DAD – Detetor de díodo;

UV-Vis – Ultravioleta-Visível;

SiK – Silicato de potássio;

TN – Touriga Nacional;

TF – Touriga Franca;

Capítulo 1

Introdução

1. Introdução

A cultura da vinha é uma atividade de elevada importância a nível mundial. A Europa destaca-se no mercado vitivinícola, sendo nos últimos dez anos a sua produção de cerca de 41% comparativamente aos restantes grandes produtores. Portugal, apesar de ser um país pequeno, destaca-se na qualidade das suas uvas, sendo que em 2013 produziu cerca de 829 toneladas o que equivale a cerca de 4700 kg/ha (FAOSTAT, 2016).

O nosso país tem uma viticultura bastante rica e diversificada estando dividido em várias regiões desde o Minho até ao Algarve, incluindo os arquipélagos da Madeira e dos Açores. Devido a esta grande variedade de regiões vitivinícolas, também existe em Portugal uma grande diversidade de castas, que variam consoante as condições climáticas e as condições do solo, o que permite a produção de vinhos únicos, aromáticos e com características distintas (Instituto da Vinha e do Vinho, 2016).

As videiras de origem portuguesa são denominadas de autóctones e estima-se que em Portugal sejam cultivadas 166 castas tintas e 152 castas brancas, entre variedades autóctones e estrangeiras (Clube dos Vinhos, 2016). Entre as 10 castas tintas mais cultivadas em Portugal destaca-se a casta Touriga Nacional e Touriga Franca.

A videira é uma planta da família das *Vitaceae*, cujo nome científico é *Vitis* L. Consoante a espécie, têm diferentes finalidades, como a produção de uvas destinadas à produção de vinho, produção de uvas de mesa, produção de uvas passas e até como planta ornamental. A *Vitis vinifera* é a espécie utilizada para a produção de uvas para vinho na Europa.

A uva é um fruto muito calórico, sendo que 94% da sua composição diz respeito a carboidratos, 4% a proteínas e 2% a lípidos. É rica em sais minerais como cálcio, ferro, fósforo, magnésio, e potássio e também possui uma quantidade razoável de vitaminas como as do complexo B e C. Contém ainda compostos fenólicos destacando-se o resveratrol que se encontra principalmente na grainha da uva e na sua película e é caracterizado por possuir propriedades anticancerígenas e antioxidantes (Lai et al. 2016; Zhang et al. 2015).

Os compostos fenólicos desempenham um papel importante em enologia devido à sua influência direta sobre algumas das principais características sensoriais das uvas e vinhos, tais como a cor e a sua estabilidade, o sabor amargo, e a sensação tátil de adstringência. Também tem influência nas reações de oxidação, na interação com proteínas e no comportamento dos vinhos durante o seu envelhecimento. Estes

compostos são divididos em dois grupos com base na sua composição em carbonos: os flavonóides (grupo constituído por antocianinas, flavonóis e flavanóis) e os não-flavonóides (grupo constituído por ácidos fenólicos nos quais se encontram os ácidos benzóicos e cinâmicos e os seus derivados, estilbenos e fenóis voláteis) (Beneytez et al. 2002; Figueiredo-González et al. 2002; Jin et al. 2009).

A biossíntese dos compostos fenólicos é afetada por vários fatores tais como, a luz, temperatura, altitude, tipo de solo, água e fase de maturação (Jin et al. 2009).

Capítulo 2

Revisão Bibliográfica

2. Revisão Bibliográfica

2.1. Região Demarcada do Douro

A Região Demarcada do Douro (RDD) tem origem na delimitação territorial de 1756, que definiu mundialmente o primeiro modelo institucional de organização de uma região vinícola. Em 2001 foi considerada Património Mundial da Humanidade pela UNESCO (Museu do Douro, 2016).

Esta região caracteriza-se por uma vitivinicultura de encosta e pela produção de dois tipos principais de vinhos, os vinhos do Porto (DOC Porto) e os vinhos de consumo (DOC Douro). Também são produzidos espumantes e o Moscatel de Favaio, mas em menor quantidade (Magalhães, 2008).

A RDD situa-se no nordeste do país, ao longo do rio Douro numa extensão com cerca de 100 km. Tem início em Barqueiros, na junção das serras do Marvão e de Montemuro, até Barca d'Alva na fronteira espanhola. A norte e a sul é definida segundo contornos irregulares entre os 400 e 700 m a partir dos quais a maturação já não é suficiente para produzir vinhos de qualidade, nomeadamente vinhos do Porto. Esta região conta atualmente com cerca de 250.000 ha, dos quais 45.000 ha plantados com vinha (**Tabela 1**).

Tabela 1 – Caracterização das 3 sub-regiões da Região Demarcada do Douro (Magalhães, 2008).

Sub-região	Área Total (ha)	(%)	Área Total de Vinha (ha)	% Área Total
Baixo Corgo	45.000	18	14.595	32,4
Cima Corgo	95.000	38	20.000	21,1
Douro Superior	110.000	44	10.000	9,1
Total	250.000	100	44.595	17,8

A plantação da vinha é peculiar pois instala-se nas encostas abruptas do Douro e seus afluentes: Corgo, Pinhão, Tua e Sabor na margem direita; Têdo, Távora, Torto, Teja e Côa na margem esquerda; dando origem a um tipo de vinha plantada junto ao solo que assim adquire uma maturação perfeita, resultando em mostos de elevado teor de açúcares e muito encorpados. As temperaturas e a incidência de radiação solar são mais elevadas nas encostas mais baixas e nos vales.

A região Demarcada do Douro é dividida em 3 sub-regiões, Baixo-Corgo, Cima-Corgo e Douro-Superior, devido às diferentes condições climáticas criadas por diferentes altitudes e pela maior ou menor proximidade ao mar, concedendo às uvas

características diferentes que depois irão ser utilizadas para produzir diferentes tipos de vinho, nomeadamente Vinho do Porto (**Figura 1**) (Douro Azul, 2016).



Figura 1 – Divisão do território da Região Demarcada do Douro (Museu do Douro, 2017).

O Baixo-Corgo é caracterizado por mais precipitação e temperaturas mais amenas comparativamente com as outras sub-regiões. É das três sub-regiões a que tem menor área com cerca de 45.000 ha, no entanto possui a maior densidade de vinha correspondente a 14.595 ha (**Tabela 1**). É a sub-região mais fértil devido à grande abundância de chuvas e aos solos geralmente mais profundos. As produções unitárias são mais elevadas e de grande potencialidade para a produção de vinhos DOC Douro (Magalhães, 2008).

No Cima-Corgo, o clima torna-se mais mediterrânico, com diminuição da precipitação e aumento das temperaturas estivais. Possui uma área de cerca de 95.000 ha, com menor percentagem de vinha, cerca de 20.000 ha (**Tabela 1**). As condições climáticas, associadas à forte inclinação das encostas sobre os rios e ribeiras e ao menor potencial produtivo unitário, traduzem-se na elaboração dos melhores Vinhos do Porto e também de vinhos de consumo DOC Douro, estes geralmente elaborados a partir de uvas de vinhas de meia-encosta, onde a temperatura é mais adequada ao seu equilíbrio (Magalhães, 2008).

O Douro-Superior possui um clima tipicamente mediterrâneo, com características semiáridas, onde se observa com frequência a sobrematuração das uvas. Embora seja a sub-região mais extensa com cerca de 110.000 ha é a que apresenta

menor área de vinha, cerca de 10.000 ha (**Tabela 1**). Os solos são menos acidentados pelo que facilita a plantação da vinha. O clima quente e seco no verão é propício quer à produção de bons Vinhos do Porto, quer à produção de vinhos de alta qualidade, sobretudo tintos. Normalmente são produzidos a partir de lotes de uvas de encostas mais baixas, com maior teor de açúcar e maior concentração de compostos fenólicos, e outros de encostas mais altas, de maior acidez, contribuindo assim no seu conjunto para um melhor equilíbrio dos vinhos (Magalhães, 2008).

2.2. Uvas

2.2.1. Constituição do bago de uva

A uva é o fruto proveniente da videira, cujo nome científico é *Vitis* L. Este fruto, para além de poder ser consumido na sua forma natural, tem diversas finalidades tais como a produção de sumos, vinhos e uvas passas.

O cacho da uva é constituído por duas partes diferentes: uma parte lenhosa designada por engaço (3-9%) e outra parte carnuda designada por bagos (91-97%). Cada bago é constituído pela película (10-15%), grainhas (3-5%) e polpa (80-85%) que produz sumo ou mosto (**Figura 2**). Os bagos geralmente têm uma forma arredondada e o seu peso é variável consoante a casta. Os bagos das diferentes castas também diferem entre si no que toca à tonalidade e composição (Peynaud, 1993).

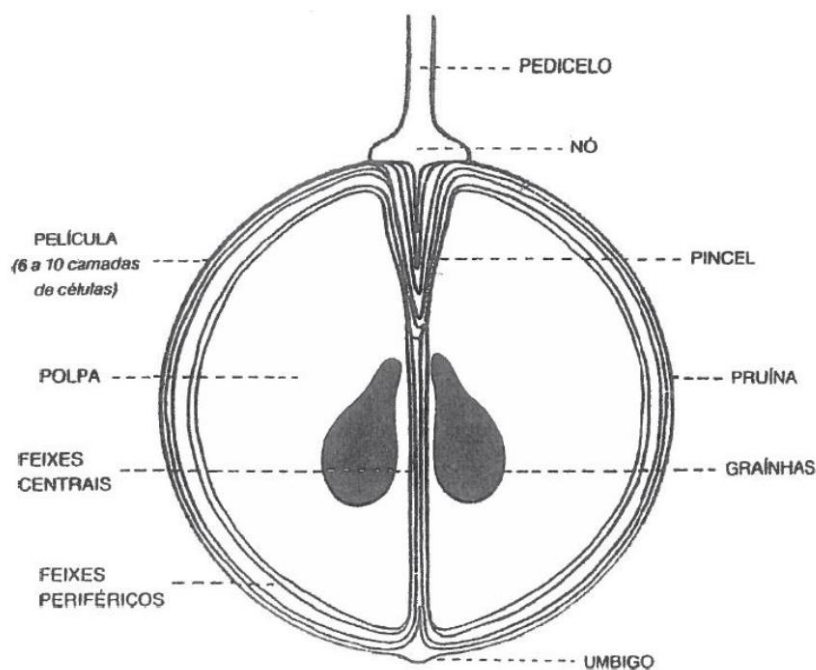


Figura 2 – Constituição do bago de uva. Adaptado de Peynaud (1993).

2.2.2. Fases de maturação do bago de uva

A evolução da uva pode ser dividida em quatro períodos diferentes designados por fases de maturação:

- (1) Período de crescimento herbáceo;
- (2) Pintor;
- (3) Maturação;
- (4) Sobrematuração.

O período de crescimento herbáceo decorre desde a formação dos bagos até à fase em que estes começam a ganhar cor, o pintor. Nesta fase as uvas têm uma consistência dura, cor verde devido ao seu pigmento predominante, a clorofila, e os bagos têm uma atividade metabólica muito elevada. Este período caracteriza-se por possuir uma grande atividade respiratória e uma rápida acumulação de ácidos e baixo teor de açúcares, cerca de 10-20 g/kg. Dependendo do tipo de casta e das condições ambientais, esta fase tem uma duração média de 45 a 65 dias (Da Costa, 2012; Peynaud, 1993).

O período em que as uvas começam a ganhar cor designa-se por pintor e corresponde à época fisiológica da coloração da uva. No pintor, ocorre a diminuição do crescimento da videira e os bagos começam a pintar. Nas castas tintas há um aparecimento de cor e nas castas brancas observa-se o aparecimento de uma película translúcida correspondente à acumulação de compostos fenólicos. Nesta fase as grainhas atingem a maturação fisiológica e os bagos cobrem-se de pruína. O teor de açúcares aumenta e a acidez começa a diminuir (Da Costa, 2012). Este fenómeno é brusco uma vez que a mudança de cor nas uvas pode ocorrer em apenas um dia. Em condições ideais, as uvas podem ganhar cor em quinze dias (Peynaud, 1993).

A fase de maturação tem início no pintor e prolonga-se até a altura em que os bagos ficam maduros. Há um grande aumento na atividade enzimática, ao contrário da atividade respiratória que começa a diminuir. Nesta fase, a uva perde acidez e acumula açúcares livres, catiões, aminoácidos e compostos fenólicos. Este período dura em média 35 a 55 dias e acaba quando se atinge o grau de maturação desejado (Da Costa, 2012). Existem dois tipos de maturação, a maturação fisiológica em que a uva atinge o tamanho máximo e também o seu maior teor de açúcar por bago, e a maturação técnica, momento em que a uva é colhida de acordo com a sua utilização final. Por vezes o estado destes dois tipos de maturação não é coincidente (Peynaud, 1993).

A sobrematuração é atingida quando a fase de maturação é excedida. Neste período as trocas existentes entre a planta e o fruto deixam de existir, a respiração é menor e existem algumas perdas de água através da evaporação. O peso do bago diminui e ocorre um aumento no teor de açúcares (Da Costa, 2012). A podridão nobre é um caso especial de sobrematuração (Peynaud, 1993).

2.3. Castas

2.3.1. Touriga Nacional

A Touriga Nacional é uma casta portuguesa autóctone cuja origem advém do Dão e do Douro. Consoante as várias regiões do país onde é cultivada pode adquirir diferentes sinonímias como Tourigo, Preto Mortágua e Touriga Fina.

Inicialmente apenas era cultivada na região Demarcada do Douro e do Dão, no entanto, nos dias de hoje, é muito utilizada em praticamente todas as regiões vitícolas nacionais (**Figura 3**) e também em algumas regiões de outros países como da Austrália e África do Sul (Magalhães, 2008).

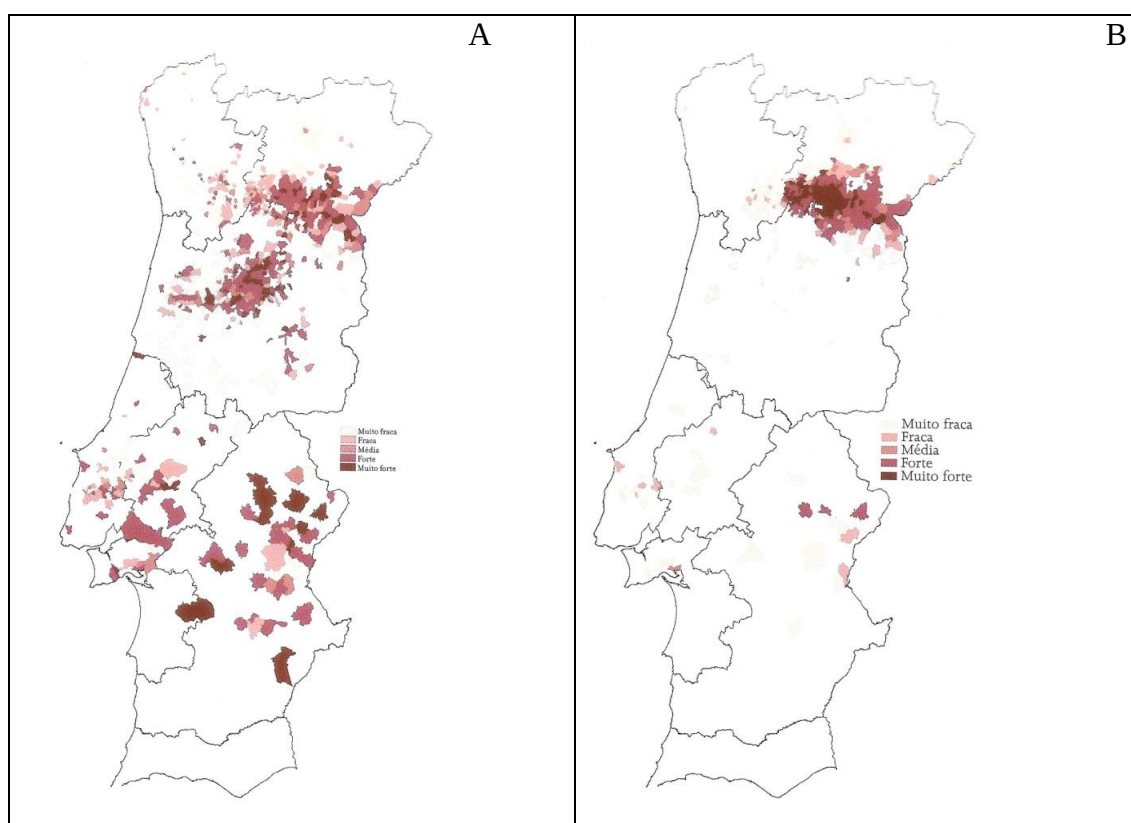


Figura 3 – Distribuição da casta Touriga Nacional (A) e da casta Touriga Franca (B). Adaptado de Böhm (2010).

Esta casta é caracterizada por possuir um cacho pequeno, normalmente entre 100 a 150 g, cilíndrico-cónico, medianamente compacto e com o pedúnculo de comprimento

médio. O bago é ligeiramente achatado, médio, de cor negro-azulada e o seu peso varia entre 0,9 e 1,8 g. A película tem uma espessura média e a polpa é mole, não corada, suculenta e de sabor específico (**Figura 4**) (Magalhães, 2008; Böhm, 2010).

A Touriga Nacional tem uma fácil adaptação a todos os tipos de solo, no entanto é de evitar solos muito férteis ou húmidos onde a tendência para o desavinho se acentua e a maturação é retardada o que não permite uma completa maturação fenólica. O clima quente e de elevada insolação são bastante favoráveis a esta casta. Apesar da fertilidade deste tipo de castas ser das mais elevadas entre as castas portuguesas, a sua produtividade é moderada devido ao baixo peso do cacho, sendo muito frequente encontrarmos cerca de 3 cachos por vara. Esta casta é geralmente vindimada tarde, para que se atinja a sua maturação fenólica (Magalhães, 2008).

Sob o ponto de vista enológico é uma casta versátil com capacidade para produzir vinhos de mesa de alta qualidade, Vinhos do Porto, espumante e vinhos rosados (Böhm, 2010). Os vinhos provenientes da casta Touriga Nacional têm uma grande capacidade de envelhecimento, conservando as suas características e por isso esta casta é muito usada para produzir vinhos do Porto Vintage. Devido à sua complexidade aromática, estrutura e qualidade dos seus compostos fenólicos, é uma excelente casta para produzir vinhos monovarietais (Magalhães, 2008).



Figura 4 – Cacho e folha característicos da casta Touriga Nacional (Wikipedia, 2016).

2.3.2. Touriga Franca

A Touriga Franca é uma casta portuguesa autóctone cuja origem advém do norte de Portugal.

A grande maioria do seu cultivo situa-se na região demarcada do Douro. Devido à sua produção regular associada a um bom potencial qualitativo, tem-se espalhado por outras regiões do país (**Figura 3**) (Magalhães, 2008).

Possui um cacho médio/grande, normalmente entre 200 a 300 g, e cilíndrico-cônico, alado, compacto, sem desavinho e com o pedúnculo curto de forte lenhificação. O bago é arredondado, médio, de cor negro-azulada e o seu peso varia entre 1,50 a 2,20 g. A película é medianamente espessa, por vezes grossa e a polpa tem uma consistência firme, incolor e pouco succulenta (**Figura 5**) (Magalhães, 2008; Böhm, 2010).

Este tipo de casta exige um solo pouco fértil, pelo que é de evitar solos profundos, húmidos e de elevadas altitudes. O clima deve ser seco, de alta insolação e temperatura de modo a atingir o grau desejável.

Esta casta possui uma produtividade alta e regular. Origina vinhos geralmente de lote, raramente monovarietais, de grande intensidade corante e alguma complexidade aromática. Com esta casta são produzidos normalmente vinhos de qualidade como vinho do Porto e vinho rosado (Magalhães, 2008).

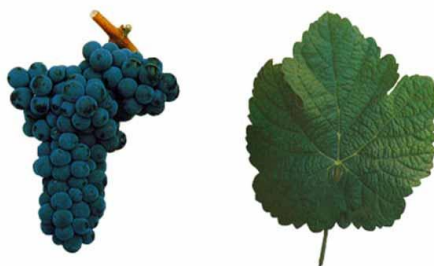


Figura 5 - Cacho e folha característicos da casta Touriga Franca (Vinha, 2016).

2.4. Clima

A Região Demarcada do Douro é caracterizada por um clima tipicamente mediterrâneo, onde as videiras estão frequentemente sujeitas a um elevado défice hídrico devido à baixa precipitação e à grande probabilidade de ocorrência de anos secos. Esta limitação pode agravar-se no futuro devido às alterações climáticas que se vão fazendo sentir (ADVID, 2013).

Os fatores climáticos que afetam a vitivinicultura e a qualidade dos vinhos incluem a radiação solar, a temperatura, o vento, a precipitação, a humidade e as características hídricas do solo (ADVID, 2013; Jones et al. 2005).

A videira é uma cultura que exige calor, uma intensidade de radiação solar elevada e que requer uma temperatura de 10°C para o início do seu desenvolvimento. No entanto, a exposição prolongada ao calor e radiação excessiva (temperaturas acima dos 40°C) tem impactos negativos em alguns processos fisiológicos. Apesar das

videiras também serem resistentes a temperaturas baixas (temperaturas até -17°C), durante a fase inicial do seu desenvolvimento a ocorrência de geadas pode danificar a produção agrícola desta cultura. A humidade em excesso também pode vir a desencadear doenças e pragas, enquanto a seca severa pode levar ao stresse hídrico resultando em baixa produtividade (Fraga et al. 2013).

Prevê-se que nos próximos 50 anos se verifique um aumento da temperatura entre $1,5-2,5^{\circ}\text{C}$, e ocorra uma diminuição da precipitação e/ou uma grande variabilidade na ocorrência de vagas de calor ou de intensa precipitação (Jones et al. 2005). Estes fenómenos são uma das grandes ameaças da vitivinicultura, já que, as alterações climáticas têm uma influência cada vez maior na fisiologia e fenologia da videira, assim como na composição das uvas (Fraga et al. 2013).

As ondas de calor que se fazem sentir nos últimos anos em simultâneo com picos de radiação elevada e o défice hídrico são fatores de stresse ambiental que têm vindo a tornar-se uma das grandes ameaças da vitivinicultura pelo que é necessário adotar algumas estratégias de mitigação eficientes e ao mesmo tempo rentáveis de modo a manter a produtividade neste sector.

Em geral, a superfície foliar das folhas mais expostas ao sol tende a diminuir devido ao escaldão, ficando os cachos demasiado expostos ao Sol o que acaba por ter impactos negativos no seu potencial enológico.

Antigamente, algumas das medidas tomadas para combater estes efeitos, passavam pela aplicação de alguns produtos tais como a calda bordalesa, a cal e o enxofre.

Uma das estratégias que têm vindo a ser adotada atualmente por parte dos investigadores é a aplicação de protetores foliares tais como calda bordalesa, o silicato de alumínio (caulino) e do silicato de potássio.

2.5. Silicato de alumínio

O silicato de alumínio ($\text{Al}_4\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_8$), mais conhecido como caulino, é um mineral argiloso, de cor branca e quimicamente inerte com excelentes propriedades refletoras que tem como objetivo reduzir o impacto do calor e da seca na vinha (Dinis et al. 2016; Glenn e Puterka, 2005). Protege contra as queimaduras solares provocadas pelo escaldão através da formação de uma película fina e esbranquiçada de partículas minerais que atuam como barreira refletora da radiação solar, o que faz com que ocorra uma diminuição da temperatura das folhas e dos cachos e consequentemente, uma

diminuição do stress térmico permitindo um aumento da capacidade fotossintética, resultando num maior rendimento (Glenn e Puterka, 2005).

Este composto começou a ser usado na agricultura apenas como constituinte da composição de alguns pesticidas tradicionais. O caulino permitia que o pesticida se depositasse nas plantas com uma espessura uniforme e garantindo a sua aderência, mesmo em condições adversas de chuva e vento. Nas últimas décadas e devido à consciencialização para os efeitos graves do uso de pesticidas no nosso ecossistema, o caulino começou a ser utilizado como repelente de pragas e doenças, substituindo assim os pesticidas tradicionais e promovendo uma agricultura biológica (Vasconcelos, 2008).

Atualmente, e no que toca a medidas de mitigação de curto prazo contra o stress estival da vinha, o silicato de alumínio é considerado um mineral bastante valioso. Vários estudos têm demonstrado que a aplicação exógena de caulino promove a redução das temperaturas superficiais das plantas e consequentemente do stress térmico, permitindo uma maior eficiência do uso de água e um aumento ao nível da produtividade (Glenn e Puterka, 2005).

Shellie e King (2013) e Lobos et al. (2015) verificaram que as videiras tratadas com caulino apresentavam uvas com um maior teor de compostos fenólicos totais enquanto que Brillante et al. (2016), verificaram um maior teor de antocianinas totais.

2.6. Silicato de potássio

O silicato de potássio (K_2SiO_3) é um composto inorgânico, sólido, incolor e transparente com aspeto de vidro. Este composto é utilizado na agricultura como fonte solúvel de potássio e silício e também como fungicida e inseticida (US Environmental Protection Agency Office of Pesticide Programs, 2007).

O silício (Si) é um elemento bioativo, presente no solo, que embora não seja apontado como um dos fatores essenciais para a vida das plantas, está associado a alguns efeitos benéficos nas suas propriedades mecânicas e fisiológicas (Fauteux et al. 2005). Uma das fontes de silício utilizadas é o silicato de potássio através da sua aplicação foliar.

O fornecimento de silício estimula o crescimento e produção das espécies vegetais, aumenta a capacidade fotossintética, regula a transpiração e confere uma maior resistência ao stress hídrico. Através da sua deposição na epiderme e da criação de uma barreira mecânica, o silício tem também a capacidade de proteger as plantas contra o stress abiótico e biótico, uma vez que se torna eficiente contra as doenças

causadas por fungos e bactérias e os danos causados por insetos (Fauteux et al. 2005; Ramos et al. 2013; Ma et al. 2006).

Quando aplicado sob a forma de silicato de potássio, o silício aumenta a taxa fotossintética e provoca um aumento da produção em situações de stress hídrico. Gong et al. (2003) verificaram que as plantas tratadas com silício e submetidas a elevadas temperaturas, apresentaram uma maior taxa fotossintética. Foi ainda observado que as plantas sujeitas a este tratamento apresentaram folhas mais largas e grossas, o que resulta numa limitação da perda de água por transpiração.

O potássio é também importante durante a fotossíntese, na formação dos frutos e aumenta a resistência ao frio e às doenças (US Environmental Protection Agency Office of Pesticide Programs, 2007).

No entanto, ainda foram realizados poucos estudos sobre este fitofármaco e os mecanismos que este pode induzir nas plantas bem como as potencialidades que pode trazer como protetor foliar.

2.7. Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos têm uma elevada importância em enologia uma vez que estão direta ou indiretamente relacionados com a qualidade das uvas e consequentemente dos vinhos. São responsáveis por algumas das principais características sensoriais dos vinhos como a cor, sabor, aroma, corpo e adstringência. Estes compostos são os principais responsáveis pela diferença entre as uvas ou vinhos brancos e tintos devido à presença ou ausência de um dos seus derivados, as antocianinas. Também influenciam as reações de oxidação e a interação com proteínas, assim como o envelhecimento dos vinhos (Cabrita et al. 2003; García-Beneytez et al. 2002; Figueiredo-González et al. 2002; Jin et al. 2009).

Os compostos fenólicos encontram-se maioritariamente na camada interna da película e da grainha da uva, sendo que na polpa a sua concentração é mais baixa. A concentração destes compostos está dependente de vários fatores, nomeadamente da casta e das condições ambientais como a luz, temperatura, altitude, tipo de solo, água e fase de maturação (Jin et al. 2009; Correia, 2014; Mateus et al. 2002).

No **Tabela 2** encontram-se representados os valores dos compostos fenólicos totais, antocianinas totais e taninos totais determinados por vários autores nas castas Touriga Nacional e Touriga Franca.

Tabela 2 - Teor de compostos fenólicos totais, antocianinas totais e taninos totais na casta Touriga Nacional e Touriga Franca.

	Fenóis Totais	Antocianinas Totais	Taninos Totais	Referências
Touriga Nacional	0,274 mg/g bago	0,762 mg/g bago	-	Costa et al. (2015)
	66,5 g/L	0,64 g/L	3,92 g/L	Vasconcelos et al. (1999)
	-	2,15 mg/bago	8,96 mg/bago	Moutinho-Pereira et al. (2015)
Touriga Franca	0,568 mg/g bago	0,430 mg/g bago	-	Costa et al. (2015)
	63,2 g/L	0,40 g/L	3,52 g/L	Vasconcelos et al. (1999)

Os compostos fenólicos são divididos em dois grandes grupos, os flavonóides e os não-flavonóides. O primeiro grupo engloba as antocianinas, flavonóis e flavanóis (flavan-3-ol). O segundo grupo é constituído por ácidos fenólicos nomeadamente ácidos benzóicos, cinâmicos e os seus derivados, estilbenos e fenóis voláteis (García-Beneytez et al. 2002; Figueiredo-González et al. 2002; Jin et al. 2009).

Todos estes compostos tem uma característica química em comum: possuem uma estrutura designada por fenol, que consiste num anel aromático acoplado a um grupo hidroxilo, o qual dá origem ao nome destes compostos. Tanto nas uvas como nos vinhos existe uma série de compostos fenólicos derivados desta estrutura, sendo que o teor total destes compostos é maior nas uvas do que nos vinhos (Cabrita et al. 2003).

2.7.1. Flavonóides

Os flavonóides são compostos com origem na biossíntese proveniente da via do poliacetato e da via do xiquimato (Lobo et al. 2007). Este grupo de compostos fenólicos é caracterizado pelo seu baixo peso molecular e pela sua estrutura geral C₆-C₃-C₆ (**Figura 6**). Esta estrutura consiste em dois anéis aromáticos (A e B) ligados por um anel de pirano (C) (Cabrita et al. 2003; Gonçalves, 2007). A este grupo pertencem os flavonóis, flavanóis (flavan-3-ol) e antocianinas, que se distinguem entre si através do grau de oxidação (grau de insaturação) do anel de pirano. Esta família de compostos é responsável por grande parte da estrutura, da cor e das reações de envelhecimento dos vinhos e encontra-se na película, na polpa e nas grainhas das uvas.

Alguns flavonóides têm sido mencionados por exibirem uma ampla gama de efeitos biológicos como a atividade antibacteriana, anti-inflamatória, anti-alérgica, anti-oxidante e anti-tumoral (Cao et al. 1996).

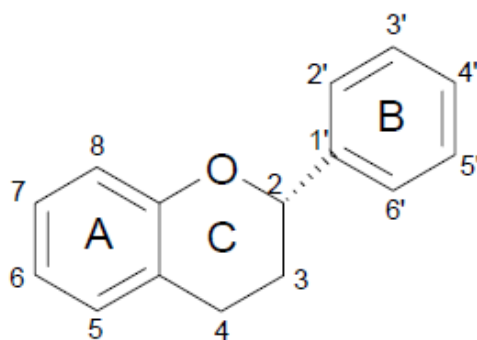


Figura 6 – Estrutura geral dos flavonóides. Adaptado de Gonçalves (2007).

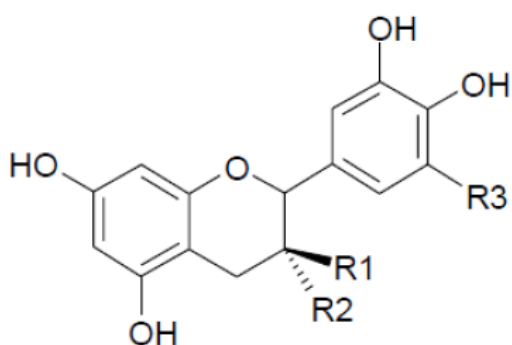
2.7.1.1. Flavanóis

Este subgrupo é constituído pelos anéis aromáticos A e B e pelo anel de pirano (C) que na posição 3 se encontra ligado a um grupo hidroxilo (**Figura 7**).

As diversas formas de estrutura dos flavanóis diferem entre si na estereoquímica dos carbonos do anel C (C₂ e C₃) e no grau de hidroxilação dos anéis A e B. Os mais comuns no género *Vitis* encontram-se hidroxilados nas posições 5 e 7 do anel A e de acordo com o grau de oxidação do anel B e com a estereoquímica do carbono 3 do anel C podem ser classificados como (+)-catequinas ou (+)-galocatequinas.

A (+)- catequina e (-)- epicatequina encontram-se hidroxiladas nas posições 3' e 4' do anel B, enquanto a (+)- galocatequina e (-)- epigalocatequina são hidroxiladas nas posições 3', 4' e 5'.

Estes compostos são responsáveis por algumas propriedades das uvas e consequentemente dos vinhos tais como o sabor e a adstringência (Jin et al. 2009).



R1	R2	R3	Flavanóis
OH	H	H	(+)- catequina
H	OH	H	(-)- epicatequina
OH	H	OH	(+)- galocatequina
H	OH	OH	(-)- epigalocatequina

Figura 7 – Estrutura dos flavanóis mais abundantes. Adaptado de Dias (2011).

2.7.1.1.1. Taninos condensados (proantocianidinas)

Estes compostos são derivados estruturais dos flavanóis e, de acordo com o número de vezes que esta unidade se repete, podem dar origem a proantocianidinas diméricas, triméricas e oligoméricas (até seis unidades) e proantocianidinas poliméricas (mais de seis unidades) (Dias, 2011).

Nas uvas e no vinho as proantocianidinas estão maioritariamente na forma polimérica, sendo que o seu grau médio de polimerização varia entre as 10 e 30 unidades.

Quando aquecidas em meio ácido ou alcoólico, as proantocianidinas libertam antocianidinas devido à quebra das ligações entre as unidades monoméricas. Este fenómeno dá origem a dois grandes grupos de proantocianidinas. Quando ocorre a libertação de cianidina as moléculas recebem o nome de procianidinas, sendo esta um oligómero da catequina e epicatequina. Caso ocorra a libertação de delfinidina as moléculas recebem o nome de prodelfinidinas, sendo constituídas por galocatequina e epigalocatequina (**Figura 8**) (Cabrita et al. 2003; Dias, 2011; Burns et al. 2000).

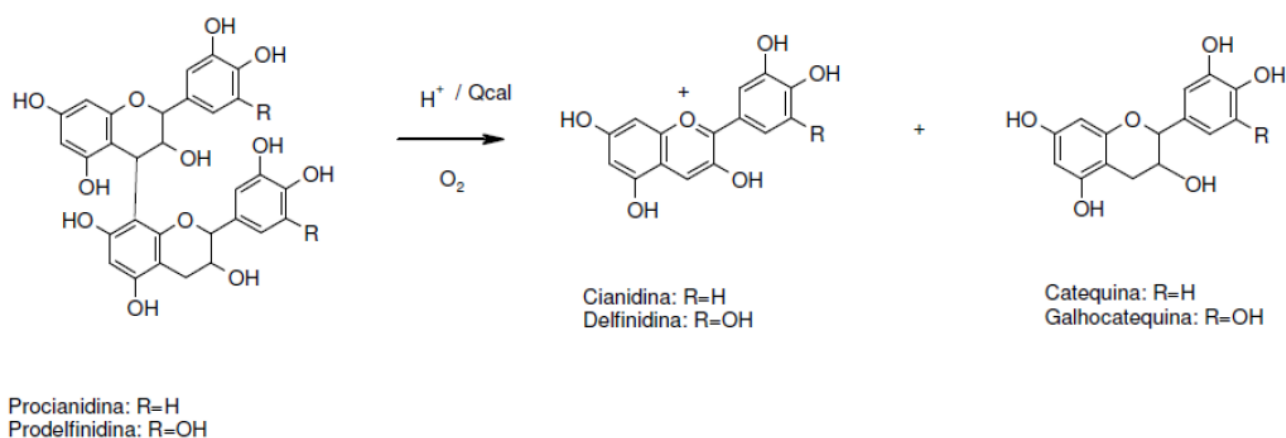


Figura 8 - Decomposição das proantocianidinas por aquecimento em meio ácido ou alcoólico. Adaptado de Dias (2011).

Os taninos condensados estão presentes nas partes sólidas dos cachos de uvas como as películas, engaços e grainhas e durante a maceração a que são sujeitos durante o processo de vinificação solubilizam no mosto, daí a existência de teores mais elevados nos vinhos tintos que nos vinhos brancos (Cabrita et al. 2003; Correia, 2014; Kennedy et al. 2006).

Estes compostos detêm uma elevada importância a nível sensorial no que toca a avaliar a qualidade das uvas e dos vinhos, pois estão associados a uma das suas principais características sensoriais que é denominada por adstringência. Esta propriedade resulta da interação dos taninos com as proteínas salivares ricas em prolina. Como resultado desta interação, são formados complexos estáveis e insolúveis que precipitam na cavidade oral e assim impedem a lubrificação da língua, causando uma sensação de secura e constrição (Soares et al. 2012).

Nos vinhos as proantocianidinas também transmitem uma sensação de corpo e estrutura, e influenciam a sua capacidade de envelhecimento assim como a estabilização da cor ao longo deste processo.

2.7.1.1.2. Taninos hidrolisáveis

Os taninos hidrolisáveis são constituídos por uma molécula de açúcar (geralmente a glicose) ligada a um composto fenólico, que pode ser o ácido gálico dando origem aos taninos gálicos, ou o ácido elágico formando os taninos elágicos (Burns et al. 2000; Fernandes, 2007).

Estes compostos não estão presentes naturalmente nas uvas, pelo que a sua presença no vinho é de origem exógena, como por exemplo da utilização de madeira para o envelhecimento e conservação dos vinhos em barricas e da aplicação de produtos enológicos como taninos ou de aparas de madeira (Pardo-García et al. 2014; Fernandes, 2007).

2.7.1.2. Flavonóis

Os flavonóis encontram-se nas uvas na forma glicosídica e são caracterizados por possuírem uma insaturação e um grupo hidroxilo no carbono 3 do anel de pirano (C). A este grupo pertencem a quercetina, o quempferol e a miricetina que diferem entre si no grau de hidroxilação do anel aromático B (**Figura 9**) (Cabrita et al. 2003; Jin et al. 2009).

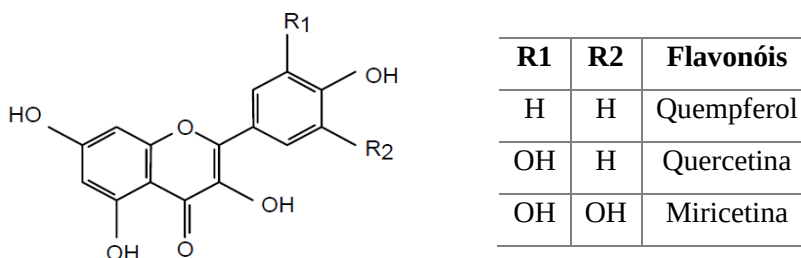


Figura 9 – Estrutura dos flavonóis. Adaptado de Cabrita et al. (2003).

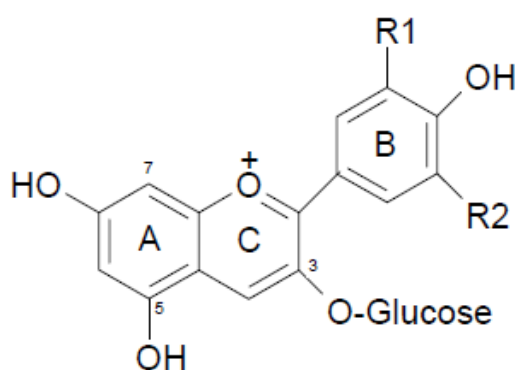
Estes compostos são sintetizados na película dos bagos e embora se encontrem em menor quantidade, tem um papel importante no processo de co-pigmentação das antocianinas. (Cabrita et al. 2003).

Nas uvas estão presentes na forma glicosídica e no vinho na forma livre, aglicona, uma vez que os glicosídeos são hidrolisados durante o processo de fermentação (Ribéreau-Gayon et al. 2006).

2.7.1.3. Antocianinas

Estes compostos diferem dos restantes flavonóides uma vez que a sua estrutura está associada a uma ou mais moléculas de glucose.

A estrutura das antocianinas deriva de glucósidos do catião flavílio com diferentes graus de hidroxilação e metoxilação no anel aromático B. As antocianinas podem ainda diferir no número e na natureza dos açúcares ligados à molécula (pentoses, metilpentoses e hexoses), o número e natureza das cadeias alifáticas ou aromáticas esterificadas com os açúcares e a posição destas ligações e ainda podem surgir esterificadas por ácidos, tais como o ácido acético e cumárico (**Figura 10**) (Castañeda-Ovando et al. 2009; Cabrita et al. 2003; Conde et al 2007; Núñez et al. 2004). Geralmente os açúcares ligam-se na posição O-3, no entanto podem também ligar-se na posição O-5 e O-7 (**Figura 11**). Na sua forma não glicolisada denominam-se antocianidinas (agliconas) e são menos estáveis comparativamente às antocianinas (Gonçalves, 2007).



R1	R2	Antocianinas
H	H	Pelargonidina-3-glucósido
OH	H	Cianidina-3-glucósido
OH	OH	Delfinidina-3-glucósido
OCH ₃	H	Peonidina-3-glucósido
OCH ₃	OH	Petunidina-3-glucósido
OCH ₃	OCH ₃	Malvidina-3-glucósido

Figura 10 – Estrutura das antocianinas 3-glucósido. Adaptado de Gonçalves (2007).

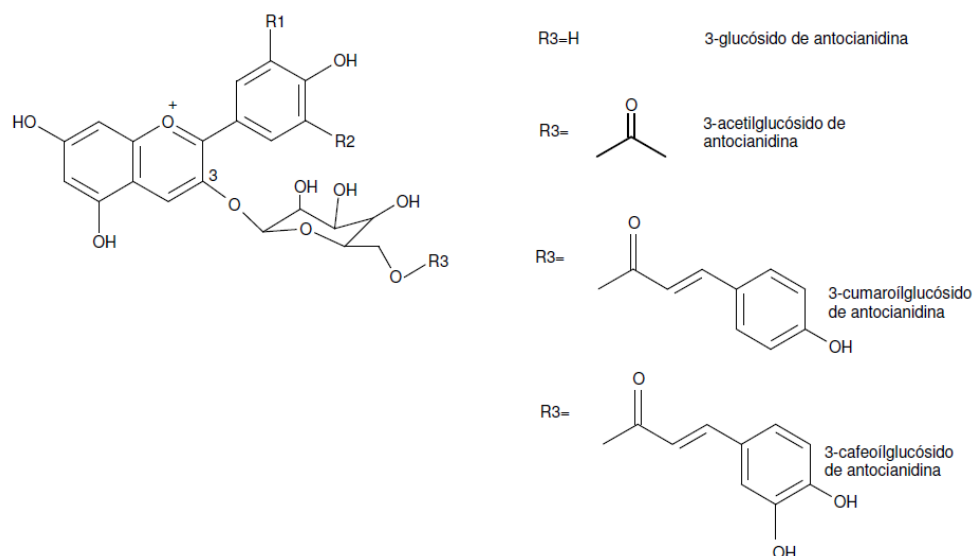


Figura 11 – Estrutura base das antocianinas 3-glucósido e respectivos ésteres acilados. Adaptado de Fernandes (2007).

No género *Vitis*, as antocianinas mais comuns são a cianidina, a delfinidina, a peonidina, a petunidina e a malvidina, sendo esta a que se encontra em maior quantidade (Cabrita et al. 2003; Conde et al 2007; Núñez et al. 2004). Localizam-se na película, nas paredes de células hipodérmicas e também na polpa das uvas de castas tintureiras, acumulando-se no início do pintor até à maturação (Cabrita et al. 2003; Conde et al 2007; Núñez et al. 2004; Jin et al. 2009; Mateus et al. 2002).

A cor das antocianinas pode variar do vermelho ao azul consoante a sua estrutura química e as condições físico-químicas do meio em que se encontram.

O aumento dos grupos hidroxilo conduz a um aumento da tonalidade azul, e verifica-se o efeito inverso quando esses grupos são substituídos por grupos metoxilo enaltecendo a tonalidade vermelha. O pH tem influência na cor, sendo que em meio ácido as antocianinas apresentam uma cor vermelha mais intensa (Cabrita et al. 2003). As antocianinas apresentam diferentes formas químicas de acordo com o pH do meio em que se encontram (Castañeda-Ovando et al. 2009). A pH ácido, pH=1, a espécie predominante é o catião flavílio que contribui para as cores roxas e vermelhas. Com um ligeiro aumento do pH, entre 2 e 4, é predominante a base quinoidal o que dá origem à formação da cor azul. Com valores de pH entre os 5 e 6 são formadas as espécies carbinol e chalcona que são pseudobases incolores (**Figura 12**). A pH básico, superior a 7, as antocianinas começam a ser degradadas e formam-se colorações incolores ou amareladas (Fernandes, 2007; Castañeda-Ovando et al. 2009).

Para além do pH, também as interações moleculares das antocianinas com outros compostos afetam a sua estabilidade contribuindo para a enorme variedade de cores que estes pigmentos apresentam (Mateus et al. 2002). A este fenómeno dá-se o nome de co-pigmentação. Neste fenómeno ocorre interação molecular através de ligações de hidrogénio e interações hidrofóbicas entre as antocianinas e as outras moléculas não coradas que atuam como pigmentos. Os vários co-pigmentos encontrados pertencem a diversas famílias de compostos tais como aminoácidos, ácidos orgânicos, ácidos fenólicos, alcalóides e flavonoides, em particular os flavanóis (Dias, 2011; Soutinho, 2012).

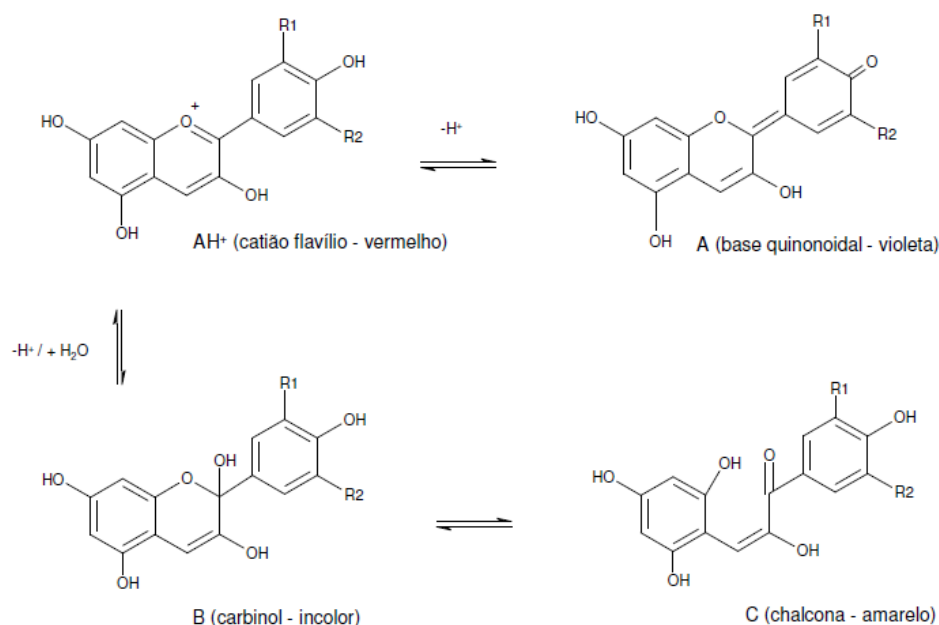


Figura 12 – Formas estruturais das várias antocianinas predominantes a diferente pH. Adaptado de Fernandes (2007).

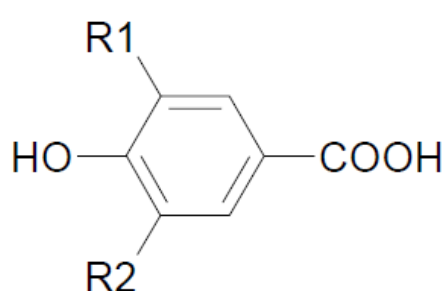
2.7.2. Não-Flavonóides

Este grupo de compostos é constituído pelos ácidos fenólicos que compreende os ácidos benzóicos, cinâmicos e outros derivados fenólicos como os estilbenos. A estrutura geral consiste num anel aromático, um grupo carboxilo e um ou mais grupos metoxilo e hidroxilo. São incolores em solução hidroalcoólica, no entanto podem tornar-se amarelos após a oxidação. Estes compostos encontram-se nas uvas esterificados e no decorrer da preparação e conservação do vinho sofrem uma hidrólise lenta, podendo ser encontrados nos vinhos brancos e tintos na forma livre (Correia, 2014; Angelo et al. 2007; Kennedy et al. 2006; Cabrita et al. 2003).

São os compostos fenólicos mais importantes nos vinhos brancos uma vez que se encontram maioritariamente na polpa das uvas, no entanto também podem ser encontrados na película. O seu teor diminui com o processo de maturação da uva e da fermentação do mosto (Correia, 2014; Cabrita et al. 2003).

Têm relevância em alguns processos de oxidação que levam ao acastanhamento dos mostos e vinhos. Embora estes compostos não tenham uma influência direta sobre o sabor dos vinhos, são responsáveis pelo aparecimento de fenóis voláteis que irão provocar algumas alterações a nível das características aromáticas dos vinhos (Velho, 2012).

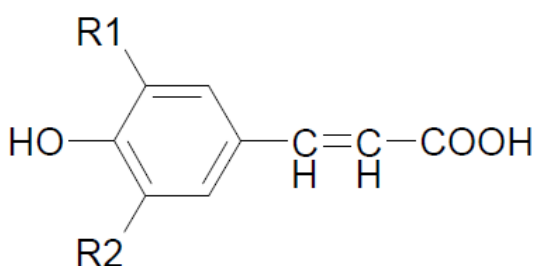
Os ácidos benzóicos possuem uma estrutura geral C₆-C₁ (**Figura 13**). De entre os diversos ácidos deste grupo destaca-se o ácido gálico que está associado ao envelhecimento dos vinhos em barricas (Gonçalves, 2007; Correia, 2014).



R1	R2	Ácido benzóico
H	H	Ácido <i>p</i> -hidroxibenzóico
OH	OH	Ácido gálico
OCH ₃	H	Ácido vanílico
OCH ₃	OCH ₃	Ácido sirínico

Figura 13 – Estrutura geral dos ácidos benzóicos. Adaptado de Gonçalves (2007).

Os ácidos cinâmicos possuem uma estrutura geral C₆-C₃ (**Figura 14**) (Gonçalves, 2007). Estes ácidos encontram-se nas uvas na forma de ésteres de ácido tartárico.



R1	R2	Ácido cinâmico
H	H	Ácido <i>p</i> -cumárico
OH	OH	Ácido cafeico
OCH ₃	H	Ácido ferúlico
OCH ₃	OCH ₃	Ácido sináptico

Figura 14 – Estrutura geral dos ácidos cinâmicos. Adaptado de Gonçalves (2007).

Os estilbenos são compostos que na sua estrutura possuem dois anéis aromáticos ligados entre si por uma cadeia de etileno (**Figura 15**). Este grupo de compostos é

produzido naturalmente com o objetivo de proteger a uva contra agressões externas, nomeadamente infeções microbianas e contra os raios UV. Embora estejam presentes em pequenas quantidades no vinho, este grupo de compostos têm uma grande importância devido aos benefícios para a saúde humana (Correia, 2014).

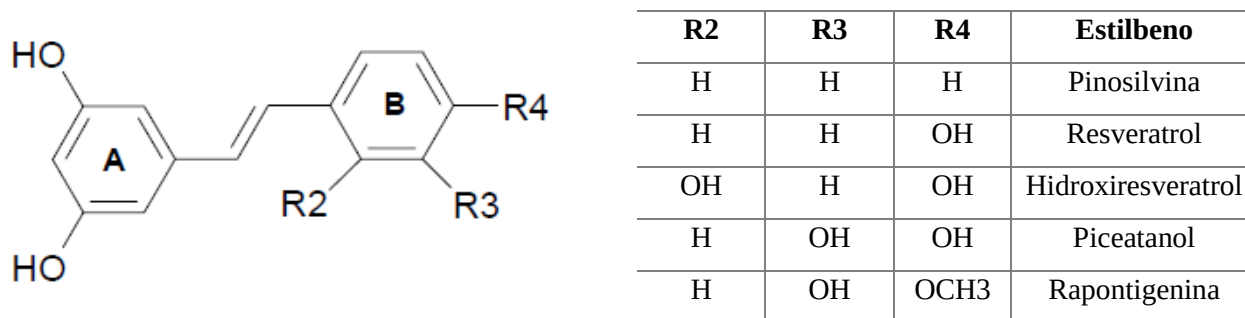


Figura 15 – Estrutura geral dos estilbenos. Adaptado de Gonçalves (2007).

O composto mais abundante neste grupo é o resveratrol que é caracterizado por possuir propriedades anticancerígenas e antioxidantes (Lai et al. 2016; Zhang et al. 2015).

2.8. Biossíntese dos compostos fenólicos

A biossíntese dos compostos fenólicos tem origem em duas vias metabólicas diferentes, a via do xiquimato e a via fenilpropanoide (**Figura 16**). A formação destes compostos está dependente da disponibilidade do aminoácido fenilalanina, que é um produto resultante da via do xiquimato e da malonil-CoA que resulta da via fenilpropanoide (Downey et al. 2006).

O primeiro passo na biossíntese destes compostos é a desaminação da L-fenilalanina através da enzima fenilalanina amoníaco liase (PAL) para dar origem ao ácido *trans*-cinâmico e uma molécula de amoníaco. Em seguida é obtido o ácido *p*-cumárico através da hidroxilação do ácido *trans*-cinâmico. Esta reação é catalisada pela enzima ácido cinâmico 4-hidroxilase (C4H).

Ao ácido *p*-cumárico é adicionada uma molécula de acetil-CoA dando origem a uma molécula de *p*-cumaril-CoA que ao condensar-se a três moléculas de malonil-CoA e através da ação da enzima chalcona sintase (CHS) formam a naringenina chalcona. As moléculas de malonil-CoA são formadas através da acetil-CoA pela enzima acetil-CoA carboxilase (Holton et al. 1995; He et al. 2010).

A naringenina chalcona é transformada no seu isômero naringenina flavanona através da ação da enzima chalcona isomerase (CHI). Este isômero é constituído pelos três anéis gerais da estrutura dos flavonóides $C_6-C_3-C_6$ (He et al. 2010; Pomar et al. 2005).

A naringenina flavanona pode sofrer a ação de duas enzimas diferentes a flavonoide 3'-hidroxilase (F3'H) ou flavonoide 3'5'-hidroxilase (F3'5'H) e dar origem a eriodictiol e pentadidroxil-flavanona, respectivamente. Estas três flavanonas (naringenina, eriodictiol e pentahidroxi-flavanona) são modificadas através da catálise da enzima flavanona 3 β -hidroxilase (F3H) para produzir os dihidroflavonóis (flavonóis) correspondentes, dihidroquercetina, dihidrocaempferol e dihidromiricetina (Holton et al. 1995; He et al. 2010).

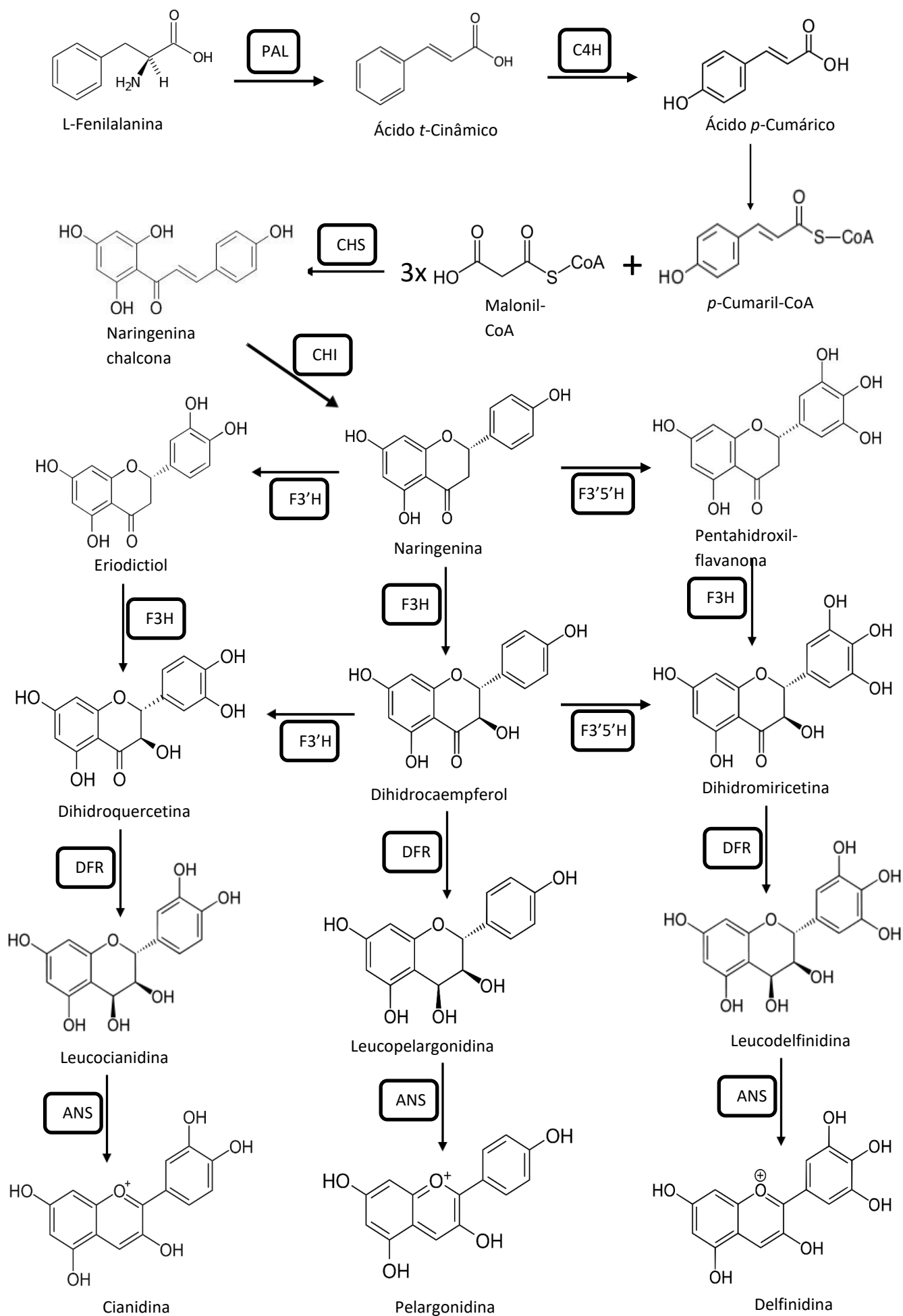
No entanto também é possível produzir a dihidroquercetina e dihidromiricetina a partir do dihidrocaempferol através da ação da enzima flavonoide 3'-hidroxilase (F3'H) e flavonoide 3'5'-hidroxilase (F3'5'H), respetivamente (He et al. 2010).

A enzima dihidroflavonol 4-redutase (DFR) pode reduzir os dihidroflavonóis a cima referidos nas suas leucoantocianidinas (flavan-3,4-dios/flavonóis) correspondentes, leucocianidina, leucopelargonidina e leucodelphinidina. A enzima antocianidina sintase (ANS) induz a oxidação das leucoantocianidinas e consequentemente são formadas as antocianidinas (cianidina, pelargonidina e delphinidina) (Holton et al. 1995).

Nas uvas do gênero *Vitis vinifera*, as antocianidinas apenas sofrem glicosilação na posição C_3 através da enzima flavonoide glucosiltransferase (UFGT). A glicosilação é um passo importante na biossíntese uma vez que favorece a hidrofobicidade e a estabilidade das antocianinas.

As etapas finais da biossíntese das antocianinas individuais consistem na metilação dos grupos hidroxilo nas posições C_3 e/ou C_5 do anel B através da enzima O-metiltransferase (OMT) (Pomar et al. 2005).

Existe também uma relação entre a biossíntese das antocianinas e a biossíntese dos taninos. Os flavan-3,4-dios podem ser convertidos em catequina através da enzima leucoantocianidina redutase (LAR). A enzima antocianidina redutase (ANR) também atua sobre a cianidina e delphinidina dando origem à epicatequina e epigalocatequina, respetivamente (He et al. 2010).



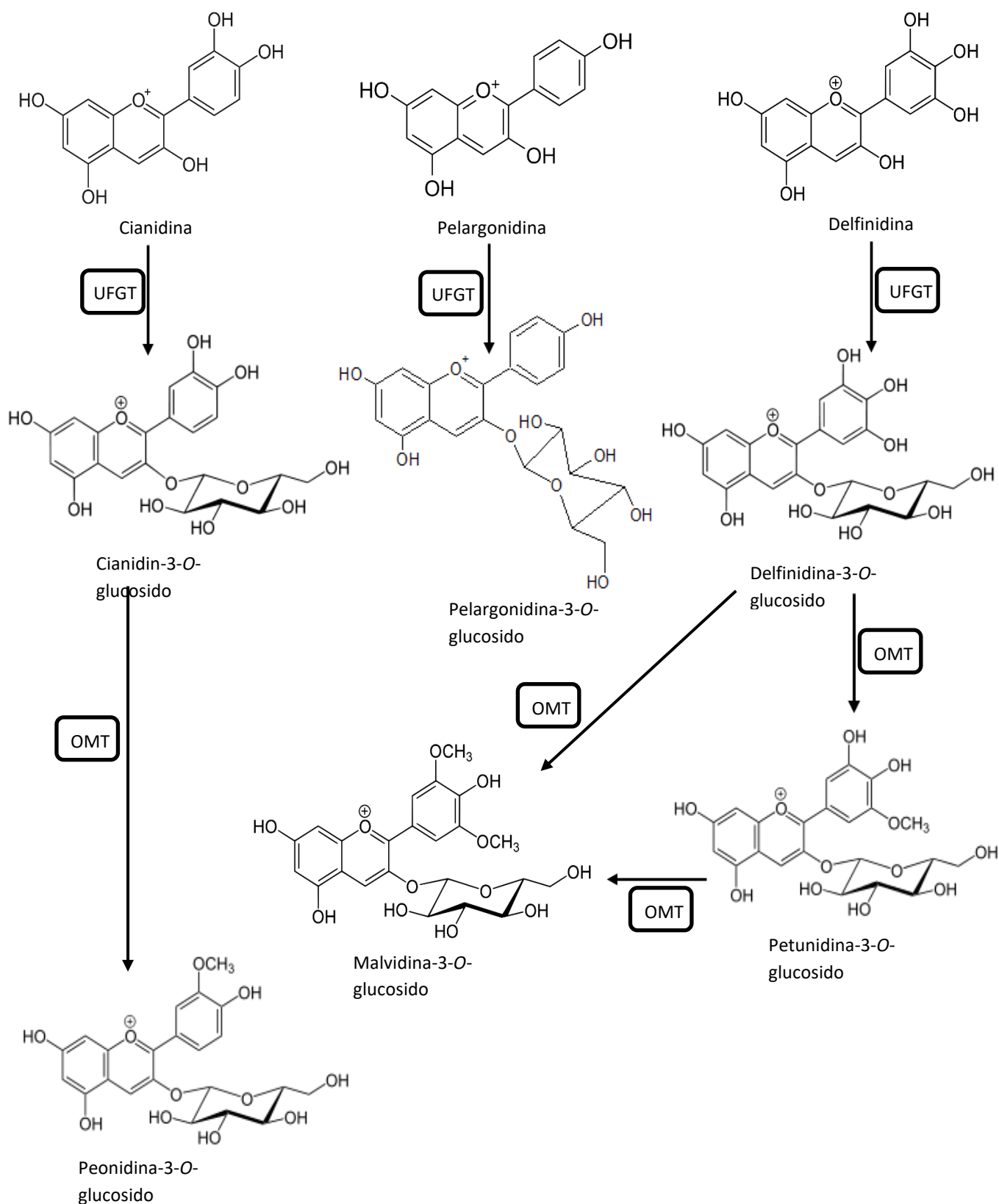


Figura 16 – Esquema da biossíntese dos compostos fenólicos.

2.9. Métodos de análise química

Em geral, os métodos de análise química são divididos em dois grandes grupos: análise qualitativa, que consiste na identificação dos elementos/compostos presentes na amostra e a análise quantitativa que permite determinar as quantidades em que esses mesmos elementos/compostos se encontram na amostra.

A avaliação da composição fenólica é frequentemente efetuada através de técnicas cromatográficas e espectroscópicas.

2.9.1. Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)

Esta técnica foi desenvolvida no início do século XX pelo botânico russo Mikhail Tswett quando este tentava separar os vários pigmentos de plantas, tais como clorofilas e xantofilas, passando amostras dessas soluções através de uma coluna de vidro contendo carbonato de cálcio como solvente. As espécies separadas apareciam como bandas coloridas na coluna, o que levou ao nome desta técnica (Skoog et al. 2001).

A cromatografia é um método analítico utilizado para proceder à separação dos componentes químicos de uma amostra complexa, com o objetivo de identificar, quantificar ou simplesmente obter uma substância pura. Estes componentes estão distribuídos em duas fases: uma fase móvel e uma fase estacionária (Skoog et al. 2001). A fase estacionária pode ser constituída por um líquido, sólido ou gel e a fase móvel é constituída por um determinado fluído (líquido, gás ou fluído supercrítico) que percorre a fase estacionária numa determinada direção (Falco da Costa, 1997).

Os métodos cromatográficos podem ser classificados em dois grandes grupos: cromatografia em coluna e cromatografia plana. Na cromatografia em coluna, a fase estacionária está disposta num tubo de pequeno diâmetro (vidro, metal ou outro material) e a fase móvel é forçada a passar através desse tubo por pressão ou gravidade. Na cromatografia plana, a fase estacionária está disposta sobre uma superfície plana (vidro, plástico ou alumínio) e é mais conhecida como cromatografia em camada fina (TLC) onde a fase móvel se desloca através da fase estacionária por ação capilar ou por gravidade (Falco da Costa, 1997).

A grande variedade de combinações destas duas fases, móvel e estacionária, dá origem a inúmeras técnicas de cromatografia. De entre os vários tipos existentes, a

cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) é umas das técnicas mais importantes e mais utilizada (Skoog et al. 2001).

Na **Figura 17** está representado um esquema simples de um aparelho de HPLC. Neste tipo de cromatografia, a fase móvel é bombeada do reservatório através de uma bomba de alta pressão. Através do injetor, é aplicado na corrente da fase móvel um volume preciso da amostra que queremos analisar. Posteriormente, a amostra a ser analisada entra na coluna cromatográfica onde irá decorrer a separação dos seus componentes. Consoante a afinidade dos compostos para com a fase estacionária (coluna cromatográfica), estes irão sair da coluna em instantes diferentes. É importante ter em atenção a interação e a polaridade dos compostos com a fase escolhida, pois estes vão distribuir-se entre as duas fases de acordo com as suas afinidades. As substâncias com maior afinidade pela fase estacionária movem-se mais lentamente (eluem lentamente), ao contrário das substâncias que tem pouca afinidade pela fase estacionária que se movem mais rapidamente (eluem mais rapidamente) (http://www.crq4.org.br/sms/files/file/conceitos_hplc_2010.pdf, 2017; Coelho, 2013; Silveira, 2013).

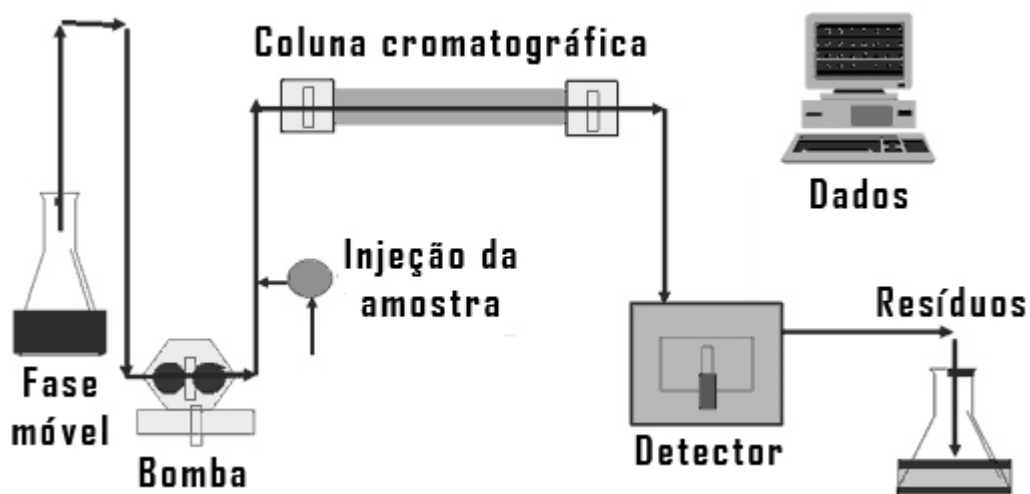


Figura 17 – Esquema simples de um aparelho de HPLC (Biomedicina Brasil, 2017).

Após saírem da coluna, os compostos são detetados, e é medida a sua quantidade ou concentração através do detetor. Os detetores utilizados estão ligados a um sistema computadorizado de análise de dados que efetua o registo final sob a forma de um gráfico, cromatograma (Falco da Costa, 1997).

Cada composto é identificado através do seu tempo de retenção que depende da sua interação com a fase estacionária. O método mais comum para podermos identificar o composto que pretendemos analisar é realizado através da comparação do tempo de retenção desse composto em particular com o seu respetivo padrão. Se verificarmos que os tempos de retenção são coincidentes podemos presumir a identidade desse composto. A quantificação do nosso composto de interesse também é importante. Para isso produzimos uma reta padrão com diferentes concentrações do composto padrão. Ao injetar a amostra cuja concentração pretendemos determinar, verifica-se a área obtida e utilizando a reta padrão é possível quantificar o composto pretendido. A área do pico é proporcional à quantidade ou concentração do composto dependendo do detetor que se esteja a utilizar (Silveira, 2013).

O HPLC tem como principais vantagens a rapidez da análise, a alta eficiência e poder de resolução, a reprodutibilidade, a sensibilidade, a possibilidade de automação, a simplicidade da técnica e o manuseio de pequenas quantidades de amostra.

2.9.1.1. Métodos de separação em cromatografia líquida

Uma das particularidades da cromatografia líquida consiste na variedade de métodos de separação que podem ser utilizados para separar os mais diversos tipos de substâncias, quer sejam polares, apolares, iónicas, ionizáveis ou poliméricas. Existem cinco tipos principais de cromatografia líquida que se distinguem entre si devido ao processo de separação dos componentes da mistura que se pretende analisar: (1) cromatografia de adsorção (cromatografia líquido-sólido); (2) cromatografia de partilha ou partição (cromatografia líquido-líquido e líquido-fase ligada); (3) cromatografia de permuta iónica (troca iónica); (4) cromatografia de pares iónicos e (5) cromatografia de exclusão ou de permeabilidade (cromatografia em gel) (Falco da Costa, 1997).

Os quatro primeiros tipos de cromatografia estão dependentes das interações entre as moléculas ou iões presentes na amostra a analisar e as fases estacionária e móvel. Por último, a cromatografia de exclusão separa as moléculas da amostra através das diferenças no seu tamanho e formato ao contrário das restantes cromatografias referidas acima (Falco da Costa, 1997).

2.9.1.1.1. Cromatografia líquida de partilha (fase reversa)

Este tipo de mecanismo é o mais amplamente utilizado. Baseia-se na distribuição dos solutos entre as fases móvel e estacionária e a separação decorre

sobretudo das diferenças de solubilidade dos componentes da amostra nas duas fases. Neste tipo de cromatografia a eluição é em gradiente, ou seja, a composição da fase móvel varia ao longo do tempo. A fase estacionária é apolar, por exemplo um hidrocarboneto, ao contrário da fase móvel que é constituída por um líquido polar como por exemplo a água ou um álcool. Neste caso, quanto menos polar for o soluto, mais lentamente é eluído e assim ficará mais tempo retido na coluna (Falco da Costa, 1997).

Os eluentes mais utilizados neste tipo de cromatografia são a água (H_2O), metanol (CH_3OH), acetonitrilo ($\text{C}_2\text{H}_3\text{N}$) e tetrahidrofurano ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}$).

2.9.1.2. Coluna cromatográfica

A coluna cromatográfica é um dos principais constituintes e mais importante do sistema cromatográfico. É aqui que ocorre a separação das diversas substâncias que constituem a amostra. A escolha de uma coluna depende de vários fatores, sendo que em primeiro lugar devemos definir as características da amostra a analisar tais como, a polaridade, estrutura química e carga iónica. Para além disto, podemos ainda considerar dois fatores importantes na escolha da coluna: fatores químicos, que dizem respeito ao enchimento e fatores mecânicos, que dizem respeito ao involucro (Chust, 1990).

Em geral o enchimento das colunas cromatográficas é à base de partículas de sílica devido à sua alta porosidade e consequentemente elevada área superficial. As colunas são constituídas apenas por sílica ou podem ser de fase ligada em que através de reações químicas ocorre a ligação de um grupo funcional aos grupos hidroxilo livres da sílica. Os tipos de fase ligada mais comumente utilizados são os seguintes: C4, C8, C18, Fenil C_6H_5 , Amina NH_2 (Chust, 1990).

2.9.1.3. Tipos de detetores usados em cromatografia líquida

A função do detetor na cromatografia consiste em examinar continuamente a fase móvel que surge através da coluna cromatográfica. O detetor gera um sinal elétrico que é registado e posteriormente é convertido e analisado através de sistemas digitais de aquisição e processamento de dados cromatográficos. Existem vários tipos de detetores, como por exemplo: (1) detetor de absorção de radiação ultravioleta e visível; (2) detetor de díodo (DAD); (3) detetor de fluorescência e (4) detetor de índice de refração (Falco da Costa, 1997).

2.9.1.3.1. Detetor de absorção de radiação ultravioleta e visível

Os espectrofotômetros de absorção de radiação ultravioleta e visível (UV-Vis) são os mais utilizados a nível da cromatografia líquida. Este tipo de detetores mede a absorção da radiação eletromagnética pelo efluente da coluna que atravessa a célula de detecção: a fase móvel que surge através da coluna passa por uma pequena célula de detecção, semelhante a uma pequena cuvette, colocada no percurso do feixe de radiação eletromagnética do espectrofotómetro. Estes detetores atuam na região entre os 190-800 nm (Falco da Costa, 1997). Uma das vantagens deste tipo de detecção é a possibilidade de seleção do comprimento de onda usado nas análises, a sensibilidade aos solutos no processo de absorção e a sua compatibilidade com a maior parte dos esquemas de eluição gradiente (Falco da Costa, 1997).

Os detetores UV-Vis são constituídos por quatro componentes: (1) uma fonte de radiação eletromagnética - lâmpada; (2) um filtro ou monocromador para a seleção de uma faixa mais ou menos estreita de comprimentos de onda; (3) uma célula de absorção (detecção ou de medição) por onde passa o feixe de radiação eletromagnética e (4) um dispositivo que converte esta radiação em energia elétrica - uma célula fotelétrica ou um tubo fotomultiplicador - medindo a variação da intensidade luminosa; o sinal elétrico gerado por este dispositivo de medição é amplificado e enviado para o sistema de registo (Falco da Costa, 1997).

Quando se aplica um filtro para selecionar uma única faixa de comprimentos de onda para a detecção, o detetor diz-se de comprimento de onda fixo. Pelo contrário, quando se utiliza um monocromador, que permite selecionar diferentes comprimentos de onda, o detetor diz-se de comprimento de onda variável. Este último possibilita a seleção de um comprimento de onda mais apropriado para a análise que se está a efetuar, geralmente aquele que corresponde ao máximo de absorção dos solutos, permitindo obter uma maior sensibilidade e linearidade (Falco da Costa, 1997).

Os detetores de absorção podem ainda ser de feixe simples ou duplo. Nestes últimos, um feixe paralelo da mesma radiação atravessa uma outra célula de referência que pode estar vazia, apenas com ar, ou cheia de solvente. Este tipo de feixe reduz o ruído e deriva da linha de base, já que qualquer variação na intensidade da fonte de radiação eletromagnética será automaticamente compensada, pois afeta de igual forma os dois feixes, o que atravessa a célula de referência e a de medição.

A fonte de radiação eletromagnética é normalmente uma lâmpada de tungsténio, para a zona dos visíveis e ultravioletas mais próximos (350-800 nm), ou de deutério para a zona dos ultravioletas (190-350 nm) (Falco da Costa, 1997).

Estes detetores detetam apenas solutos que absorvem radiação ultravioleta ou visível, o que significa que para ser detetado o soluto deve exibir absorção nesta região do espectro, ou então ser capaz de se combinar com um agente complexante para formar um derivado que absorva nesta região (Falco da Costa, 1997).

No cromatograma, as ordenadas representam a intensidade do sinal do detetor, quanto maior a concentração do soluto na célula de deteção, maior a intensidade do sinal produzido (Falco da Costa, 1997).

2.9.1.4. Análise dos dados cromatográficos

O processamento dos dados cromatográficos através de um sistema digital requer a digitalização adequada do sinal analógico do detetor e o uso de um programa para a deteção dos picos cromatográficos, correção da deriva da linha de base, determinação dos tempos de retenção e cálculo das áreas dos picos, concentrações dos componentes e produção de um relatório final (Falco da Costa, 1997).

O sinal analógico resultante do detetor é convertido no sinal digital através de um conversor A/D (analógico para digital). Os dados digitais obtidos são armazenados na memória do sistema juntamente com o tempo total de duração da análise efetuada.

Os tempos de retenção são calculados multiplicando o número de leituras do conversor A/D (N) pelo intervalo de tempo decorrido entre duas leituras consecutivas (t_i). Assim, o tempo de retenção (t_R) correspondente ao máximo do pico é dado pela seguinte fórmula:

$$t_R = N \times t_i$$

Por exemplo, para um intervalo de tempo de 0,1 segundos entre duas leituras e para um pico máximo de 1300 à leitura do conversor A/D, o tempo de retenção correspondente é de $t_R = 1300 \times 0,1 = 130$ segundos que corresponde a 2,17 minutos.

Um dos cálculos fundamentais efetuado é o da determinação da área dos picos cromatográficos. Apesar de ocorrerem algumas variações no formato dos picos o processo de cálculo destes é muito semelhante. Para isso é necessário que o sistema proceda previamente à deteção e delimitação dos picos. Existem dois métodos para a

deteção dos picos cromatográficos: deteção baseada na monitorização do declive e deteção baseada na área de teste (Falco da Costa, 1997).

No método baseado na monitorização do declive, o sistema segue o declive do sinal. Se este for positivo e igual ou maior do que o limiar pré-estabelecido, procede-se à confirmação de que se trata de um pico e não de ruído e em caso afirmativo, inicia-se a integração da área. A determinação do final do pico é feita através do aparecimento de um declive negativo e igual ou menor do que o limiar pré-estabelecido. Para a determinação do vértice do pico é usado um valor nulo ou a mudança de sinal entre os dois declives (Falco da Costa, 1997).

No método baseado na deteção da área de teste, o sistema integra uma área sempre que a intensidade do sinal aumenta, isto é, se a área exceder o limiar pré-estabelecido o pico é reconhecido e integrado. De forma semelhante, pode ser utilizada uma segunda área de teste para detetar o vértice do pico assim que a variação do sinal mude de sentido (Falco da Costa, 1997).

A análise quantitativa é normalmente constituída pelos seguintes pontos:

- (1) Análise cromatográfica de uma ou mais soluções de calibração possuindo quantidades conhecidas dos compostos que se pretende quantificar;
- (2) Medição do tamanho (área e/ou altura) dos picos cromatográficos dos componentes da solução de calibração;
- (3) Análise cromatográfica das amostras a analisar;
- (4) Medição do tamanho (área e/ou altura) dos picos cromatográficos de interesse nos cromatogramas das amostras analisadas;
- (5) Cálculo dos valores analíticos, concentrações dos solutos nas amostras, a partir dos dados obtidos no ponto (2) e (4).

Na maioria dos casos, conclui-se que o tamanho dos picos e a concentração dos respetivos solutos são proporcionais, isto é, o gráfico de calibração (tamanho do pico em função da concentração) é linear (Falco da Costa, 1997).

2.9.2. Espectrofotómetro

O espectrofotómetro é um aparelho que permite fazer a comparação da intensidade da luz transmitida através de uma amostra, com a intensidade da luz absorvida por essa mesma amostra que contém o composto que pretendemos quantificar. Este equipamento permite fazer medições a vários comprimentos de onda na região do espectro visível.

O espectrofotômetro (**Figura 18**) é constituído por cinco elementos essenciais: (1) fonte de radiação; (2) monocromador; (3) compartimento para a amostra; (4) detetor e (5) processador do sinal. A fonte de radiação consiste numa lâmpada emissora de luz. O monocromador baseia-se num prisma que funciona como uma rede de difração da luz emitida nos vários comprimentos de onda. A luz emitida atravessa a cuvete onde é colocada a amostra que pretendemos analisar, sendo que uma fração do feixe dessa luz é absorvida e outra fração é refletida. O detetor é formado por uma célula fotoelétrica que deteta a intensidade da luz recebida consequente da diferença entra a absorção e reflexão. Este detetor identifica a intensidade da luz e gera um sinal elétrico que posteriormente será analisado pelo computador obtendo-se então o valor da absorvência da respetiva amostra. A concentração da amostra é determinada segunda a lei de Lamber-Beer, que relaciona diretamente a absorvência com a concentração (Dornemann, 2016; Skoog et al. 2006).

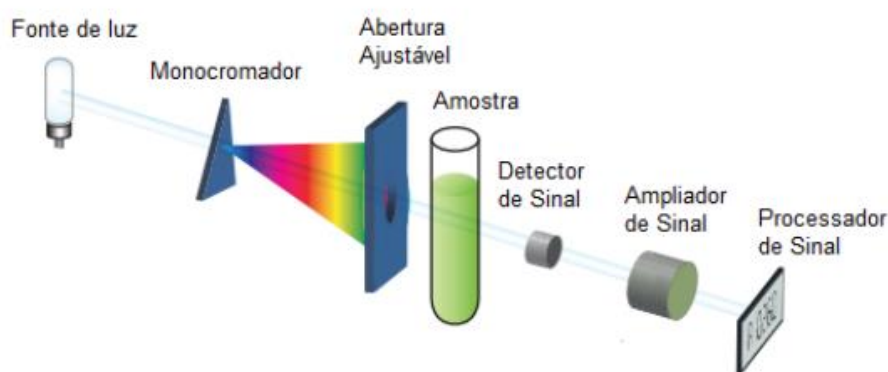


Figura 18 – Esquema de um espectrofotômetro. Adaptado de Dornemann (2016).

2.10. Objetivos

Neste contexto, o objetivo deste trabalho é estudar o perfil antociânico e a composição fenólica das diferentes partes do bago de duas castas, Touriga Nacional e Touriga Franca, sujeitas a diferentes tratamentos foliares. Estes tratamentos, silicato de alumínio e silicato de potássio (SiK), são realizados com o intuito de reduzir os impactos negativos que o calor e a seca têm sob a videira, protegendo a videira contra o escaldão de folhas e cachos.

Capítulo 3

Parte Experimental

3. Parte Experimental

3.1. Localização do campo de ensaio e recolha das amostras

A Quinta do Orgal situada em Castelo Melhor (longitude 41° 3' 51.768'' N, latitude 7° 5' 26.491'' W, altitude entre 127 e 330 m), Vila Nova de Foz Côa pertence à região do Douro Superior. Em 2009 deu-se início à plantação das videiras em encostas viradas a Norte e em solos maioritariamente xistosos, sendo estas algumas das principais características da região do Douro Superior (**Figura 19**). Até 2016 foram plantados cerca de 30 ha de vinha, sendo que 69,5% dessa área corresponde à casta Touriga Nacional, 27,1% à casta Touriga Franca e 3,4% à casta Sousão (Quinta do Vallado, 2017).



Figura 19 – Campo de ensaio na Quinta do Orgal.

O trabalho prático foi realizado entre os meses de Julho e Setembro de 2016 e as castas em estudo foram a Touriga Nacional (TN) e Touriga Franca (TF).

Foram recolhidas amostras em sete datas diferentes, correspondentes a diferentes estados de maturação até à vindima. A recolha iniciou-se a 26 de Julho, data de início do pintor, sendo que a última data de recolha realizou-se após a vindima, a 20 de Setembro.

3.2. Amostragem

Foram selecionados oito bardos de vinha contíguos e em condições uniformes entre si (**Figura 20**). Cada bardo foi subdividido em quatro partes, sendo que a recolha das amostras foi feita em duas dessas partes.

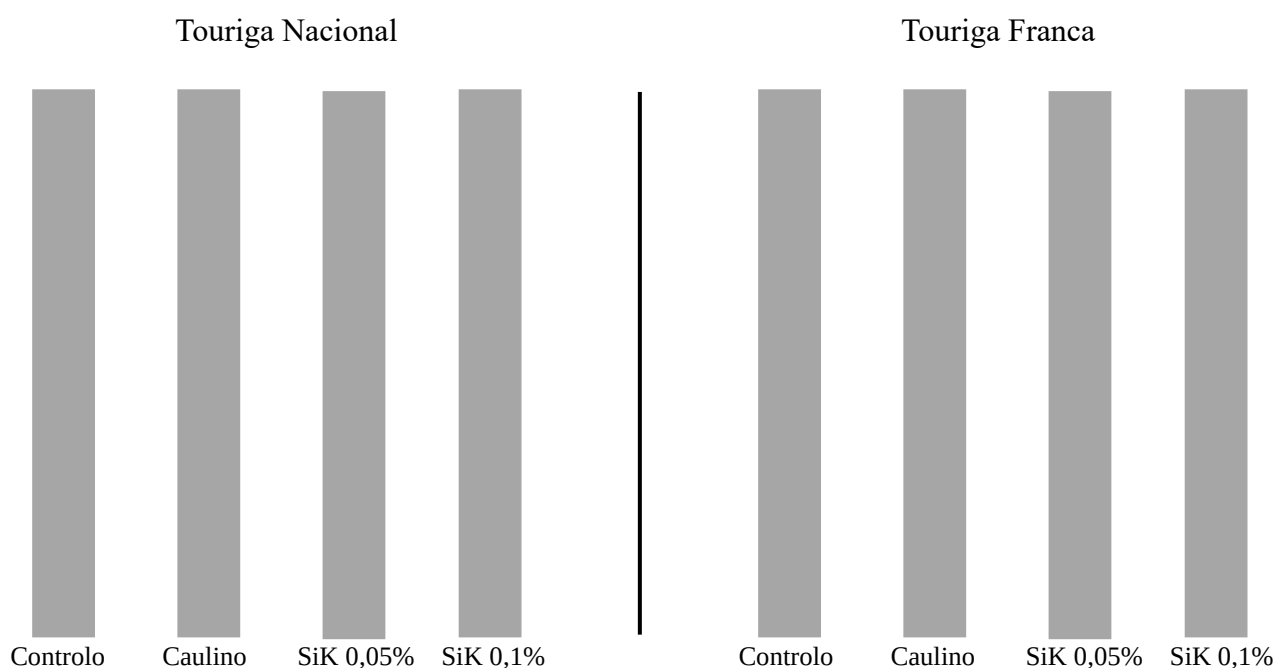


Figura 20 – Esquema do estudo realizado na Quinta do Orgal. Legenda: SiK 0,05% - Silicato de potássio com concentração a 0,05%. SiK 0,1% - Silicato de potássio com concentração a 0,1%.

Para cada casta, foram recolhidas amostras dos bardos controlo e dos bardos com aplicação foliar do silicato de alumínio e silicato de potássio com as diferentes concentrações (0,1% e 0,05%). Os bagos recolhidos foram colocados em frascos *falcon* de 50 mL, devidamente identificados, e armazenados a -80°C até altura da sua utilização para que as suas propriedades não fossem alteradas.

As amostras foram recolhidas de forma aleatória com o objetivo de obter uma melhor representatividade.

3.3. Aplicação foliar dos tratamentos e respetivas datas de aplicação

Foram aplicados dois tipos de tratamentos diferentes nos bardos com as seguintes características:

- **Silicato de Alumínio**
SURROUND WP (Nova Source) - BASF
Pó molhável 95% p/p caulino

Rótulo: SP-05-1
ITEM: NSV 1PLSP0109
Data de aplicação: 8 de Julho de 2016.

- **Silicato de Potássio**

SILI-K Sílica solúvel: 12,2% (171 g/L)

K₂O: 15% (210 g/L)

$\rho=1,4$ kg/L

Lote: K09/29

26 de setembro 2006 (validade 3 anos)

Datas de aplicação: 8 de Julho de 2016 e 23 de Julho de 2016.

3.4. Preparação das amostras

Foram retirados e pesados os bagos de cada uma das amostras e em seguida procedeu-se à separação das películas, grainhas e polpa.

As películas foram pesadas e armazenadas a -80°C. As grainhas foram igualmente pesadas e em seguida colocadas numa estufa *Ecocell* a 40°C até atingirem um peso constante.

A partir da polpa dos bagos foram feitas análises ao pH e ao teor de açúcares.

As películas e as grainhas foram pesadas em triplicado e feitos os respetivos extratos hidroalcoólicos para proceder à análise dos compostos fenólicos. As antocianinas totais, os compostos fenólicos totais e os taninos totais foram analisados através de métodos espectrofotométricos, enquanto as antocianinas monoméricas foram analisadas através da técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).

3.5. Preparação da polpa

Na polpa foi determinado o pH e o teor de açúcares. Para isso foi necessário proceder à trituração da polpa através de um micro-turrax *IKA T 10 basic ULTRA-TURRAX® Handheld Homogenizer*, até se obter uma solução homogeneizada.

3.5.1. Determinação do pH e teor de açúcares

O pH foi determinado por potenciometria utilizando o eletrodo de um titulador *Schott Titroline Easy*, previamente calibrado com soluções tampão de pH 4.00 e pH 7.00.

O teor de açúcares foi determinado através da leitura do índice de refração do homogeneizado da polpa, recorrendo a um refratómetro digital *Hanna HI 96813* com compensação automática da temperatura.

3.6. Preparação dos extratos hidroalcoólicos das películas e grainhas

Para proceder à preparação dos extratos hidroalcoólicos foram maceradas as películas e grainhas. Foram pesados e transferidos cerca de 0,1g do extrato seco em triplicado para tubos *ependorfs* de 2mL previamente tarados e foi registado o seu peso efetivo.

À porção transferida foi imediatamente adicionado 2mL de uma solução hidroalcoólica a 50% v/v. O preparado foi colocado sob agitação durante 1 hora e em seguida procedeu-se à sua centrifugação numa centrífuga *Eppendorf 5804 R* a 11000 rotações por minuto durante 20 minutos. O sobrenadante, agora designado por extrato, foi recolhido e reservado. Realizou-se uma nova extração nas mesmas condições a partir do mesmo triturado. O sobrenadante desta nova extração foi adicionado ao anterior obtendo-se assim um extrato com um volume final de 4mL, aproximadamente (**Figura 21**).



Figura 21 – Extratos hidroalcoólicos das películas e grainhas.

Os extratos foram armazenados no congelador até a altura da sua utilização, para as análises dos compostos fenólicos totais, antocianinas totais e taninos totais.

3.6.1. Determinação do teor de compostos fenólicos totais e antocianinas totais

O teor de compostos fenólicos totais e de antocianinas totais foi determinado apenas nas películas.

Num tubo de ensaio, adicionaram-se 200µL do extrato hidroalcoólico e 3,8mL de uma solução de HCl 1M e deixou-se a incubar à temperatura ambiente durante pelo menos 3 horas para que ocorresse a expressão total da cor (**Figura 22**).

Os compostos fenólicos totais e as antocianinas totais foram determinados através da leitura das absorvâncias do extrato acidificado a 280nm e 520nm respetivamente, através de um espectrofotómetro *Thermo Scientific™ Evolution 201*. A solução foi colocada numa cuvete transparente aos raios UV com percurso ótico de 10mm e utilizando como referência (branco) a água.



Figura 22 – Preparação das amostras para a análise das antocianinas totais e compostos fenólicos totais das películas.

3.6.2. Determinação do teor de taninos totais

O teor de taninos totais foi determinado nas películas e grainhas com base no método de precipitação por metilcelulose. Foram realizados dois ensaios para proceder a esta determinação: ensaio controlo e ensaio com tratamento de metilcelulose.

No ensaio controlo foram transferidos 50µL do extrato para um tubo *ependorf* de 2mL. Em seguida foram adicionados 400µL de uma solução saturada de sulfato de amónio ((NH₄)₂SO₄) e 1,5mL de água desionizada.

No ensaio com tratamento foram transferidos 50µL do extrato para um tubo *ependorf* de 2mL. Foram imediatamente adicionados 600µL de solução de metilcelulose a 0,04%, 400µL de solução saturada de sulfato de amónio e 0,95mL de água desionizada.

Em ambos os ensaios a solução final foi agitada e deixada repousar à temperatura ambiente durante 10 minutos. Em seguida a solução foi centrifugada a 11000 rotações por minuto durante 10 minutos numa centrífuga *Eppendorf 5804 R*.

A absorvância a 280nm das soluções, antes e após a precipitação pela metilcelulose, foi determinada num espectrofotómetro *Thermo Scientific™ Evolution 201*.

O teor de taninos totais foi determinado pela diferença entre o ensaio controlo e o ensaio com tratamento a partir da reta de calibração para a epicatequina.

3.6.3. Determinação das antocianinas monoméricas por HPLC

A análise de HPLC foi realizada num cromatógrafo *Gilson* equipado com um detetor *Thermo Finnigan Surveyor PDA plus*. Como fase estacionária, foi utilizada uma coluna *Kinetex C18* de 150mm de comprimento por 4,6mm de diâmetro e duas fases móveis, A e B. A fase móvel A foi constituída por água ultra pura, ácido fórmico e acetonitrilo nas proporções 87:10:3 (v/v/v) respetivamente, e a fase móvel B constituída por água ultra pura, ácido fórmico e acetonitrilo nas proporções 40:10:50 (v/v/v), respetivamente.

No **Tabela 3** está descrito o gradiente de concentração ao longo do tempo das duas fases móveis mencionadas anteriormente, durante a análise cromatográfica.

Tabela 3 – Gradiente de concentração da fase móvel A e B.

Tempo (minutos)	Fase Móvel A % (v/v)	Fase Móvel B % (v/v)
0	94	6
15	70	30
30	50	50
35	40	60
41	94	6

Foi utilizado um detetor de absorção de radiação ultravioleta e visível (UV-VIS) de 227 a 520nm.

Antes de serem utilizadas para análise, as amostras foram filtradas através de um filtro de membrana de 0,2µm. As amostras foram analisadas nas seguintes condições:

- Volume de injeção: 20µL;
- Fluxo: 0,8mL/minuto;
- Temperatura: 40°C;
- Tempo da corrida: 45 minutos;
- Deteção: 518nm.

As antocianinas monoméricas foram quantificadas de acordo com as áreas dos picos obtidos nos cromatogramas.

3.7. Tratamento estatístico dos dados

Para o tratamento estatístico dos dados das análises físico-químicas aplicou-se a análise de variância ANOVA (fator único), seguido de um teste de comparação de média teste de Tuckey utilizando o programa Statistica versão 7.

Capítulo 4

Resultados e Discussão

4. Resultados e Discussão

4.1. Peso dos bagos das duas castas ao longo da maturação

As amostras recolhidas nas diferentes datas foram pesadas para determinar o peso médio de cada bago. Os resultados obtidos são apresentados na **Tabela 4** e nas **Figura 23** e **Figura 24**.

De um modo geral, podemos verificar que para ambas as castas, Touriga Nacional e Touriga Franca, que o peso médio dos bagos aumentou significativamente ao longo da maturação (**Tabela 4**). Na casta Touriga Nacional, podemos verificar que os bagos com maior peso à data da vindima foram os bagos da amostra controlo (1,193g). Entre as amostras sujeitas a tratamento foliar, as que apresentaram maior peso médio foram os bagos cujas videiras foram tratados com caulino (1,180g). O mesmo se verificou para a casta Touriga Franca, os bagos com maior peso médio à data de vindima também foram os da amostra controlo (2,011g), e entre os dois tipos de tratamento foram os sujeitos à pulverização com caulino e com silicato de potássio a 0,05% (1,593g). Contudo, podemos observar na Tabela 4 que à data de vindima o peso dos bagos não é significativamente diferente entre os diferentes ensaios, quer para a casta Touriga Nacional quer para a casta Touriga Franca.

Roby e Matthews (2004) verificaram que as videiras expostas a diferentes condições de mitigação ao longo da maturação dos bagos apresentaram um aumento médio do peso dos bagos. A partir deste estudo concluíram que o défice hídrico a que foram sujeitas as videiras promoveu este aumento do peso. Por outro lado, Brillante (2016) verificou no seu estudo que as amostras tratadas com caulino apresentavam um peso menor comparativamente com as amostras controlo. Estas conclusões podem ser verificadas também neste estudo uma vez que as amostras dos bagos controlo, sem qualquer tipo de tratamento foliar, apresentaram o peso mais elevado à data da vindima, contudo não significativamente diferente dos ensaios com tratamento foliar.

Comparando os resultados obtidos para as duas castas, podemos também verificar que a casta Touriga Nacional apresenta um peso médio dos bagos inferior.

Tabela 4 – Peso médio dos bagos (média $\pm$ desvio padrão) das castas em estudo em g sujeitas a diferentes tratamentos foliares.

	TN C	TN K	TN 0,1%	TN 0,05%	TF C	TF K	TF 0,1%	TF 0,05%
26-07	0,675 $\pm$ 0,062 ^a	0,653 $\pm$ 0,063 ^a	0,540 $\pm$ 0,013 ^a	0,573 $\pm$ 0,044 ^a	1,005 $\pm$ 0,106 ^a	0,920 $\pm$ 0,041 ^a	0,916 $\pm$ 0,188 ^a	1,043 $\pm$ 0,021 ^a
02-08	0,729 $\pm$ 0,051 ^a	0,632 $\pm$ 0,080 ^a	0,590 $\pm$ 0,020 ^a	0,623 $\pm$ 0,140 ^{ab}	1,107 $\pm$ 0,328 ^{ab}	1,191 $\pm$ 0,005 ^a	1,118 $\pm$ 0,213 ^{ab}	1,051 $\pm$ 0,149 ^a
09-08	0,806 $\pm$ 0,05 ^{ab}	0,695 $\pm$ 0,040 ^a	0,618 $\pm$ 0,090 ^a	0,667 $\pm$ 0,110 ^{ab}	1,507 $\pm$ 0,157 ^{abc}	1,201 $\pm$ 0,407 ^b	1,156 $\pm$ 0,228 ^{ab}	1,052 $\pm$ 0,479 ^a
17-08	1,004 $\pm$ 0,080 ^{bc}	1,062 $\pm$ 0,010 ^b	0,962 $\pm$ 0,020 ^b	0,856 $\pm$ 0,120 ^{ab}	1,587 $\pm$ 0,041 ^{abc}	1,536 $\pm$ 0,014 ^{ab}	1,600 $\pm$ 0,170 ^b	1,278 $\pm$ 0,080 ^a
23-08	0,991 $\pm$ 0,020 ^{bc}	1,056 $\pm$ 0,025 ^b	1,043 $\pm$ 0,116 ^b	0,917 $\pm$ 0,035 ^{ab}	1,691 $\pm$ 0,023 ^{bc}	1,473 $\pm$ 0,171 ^{ab}	1,432 $\pm$ 0,123 ^{ab}	1,324 $\pm$ 0,035 ^a
07-09	1,248 $\pm$ 0,002 ^d	1,109 $\pm$ 0,148 ^b	0,937 $\pm$ 0,016 ^b	1,104 $\pm$ 0,207 ^b	1,577 $\pm$ 0,027 ^{abc}	1,518 $\pm$ 0,029 ^{ab}	1,414 $\pm$ 0,034 ^{ab}	1,430 $\pm$ 0,140 ^a
20-09	1,193 $\pm$ 0,090 ^{cdA}	1,180 $\pm$ 0,112 ^{baA}	1,090 $\pm$ 0,129 ^{baA}	1,046 $\pm$ 0,129 ^{abA}	2,011 $\pm$ 0,204 ^{cA}	1,593 $\pm$ 0,198 ^{abA}	1,560 $\pm$ 0,038 ^{baA}	1,593 $\pm$ 0,023 ^{aA}

Valores com a mesma letra, na mesma coluna, não são significativamente diferentes entre si para um $p < 0,05$. Valores com a mesma letra maiúscula na mesma linha para cada casta não são significativamente diferentes entre si, $p < 0,05$.

Legenda: TN C – Touriga Nacional controlo; TN K – Touriga Nacional sujeita a tratamento com caulino; TN 0,1% - Touriga Nacional sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,1%; TN 0,05% - Touriga Nacional sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,05%; TF C – Touriga Franca controlo; TF K – Touriga Franca sujeita a tratamento com caulino; TF 0,1% - Touriga Franca sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,1%; TF 0,05% - Touriga Franca sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,05%.

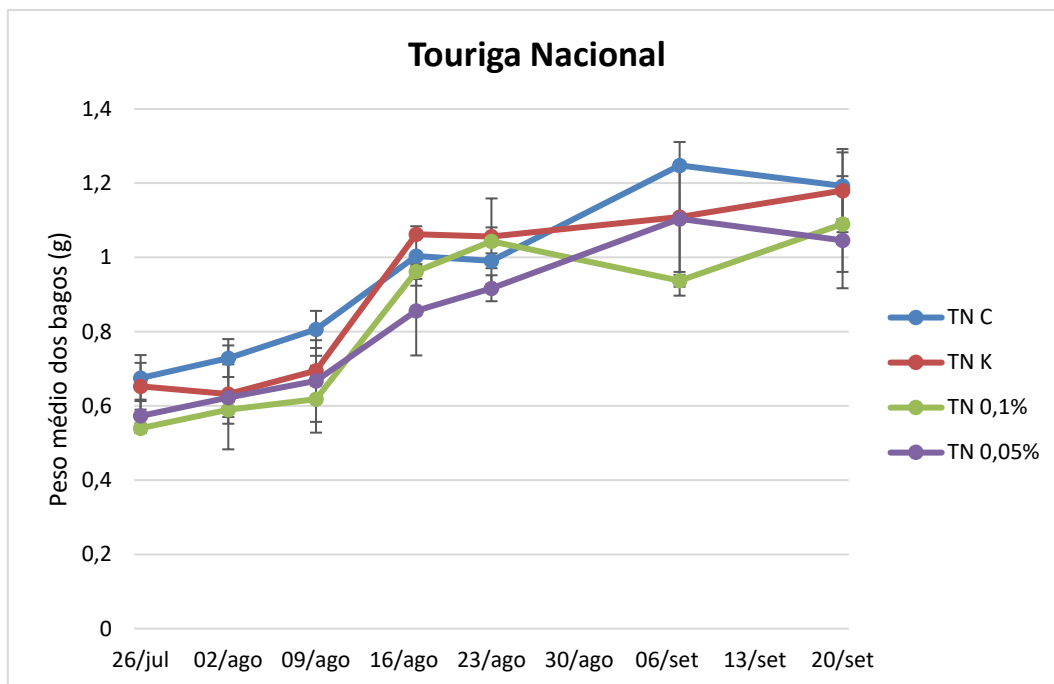


Figura 23 – Peso médio dos bagos da casta Touriga Nacional ao longo da maturação sujeitas a diferentes tipos de tratamentos.

Legenda: TN C – Touriga Nacional controlo; TN K – Touriga Nacional sujeita a tratamento com caulino; TN 0,1% - Touriga Nacional sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,1%; TN 0,05% - Touriga Nacional sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,05%.

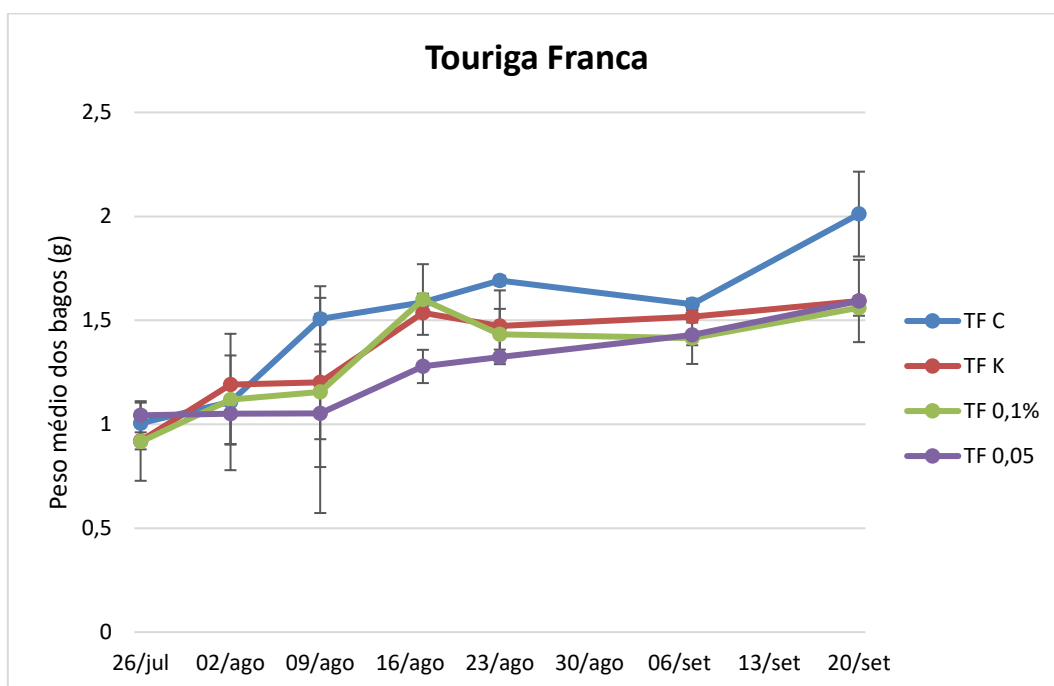


Figura 24 – Peso médio dos bagos da casta Touriga Franca ao longo da maturação sujeitas a diferentes tipos de tratamentos.

Legenda: TF C – Touriga Franca controlo; TF K – Touriga Franca sujeita a tratamento com caulino; TF 0,1% - Touriga Franca sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,1%; TF 0,05% - Touriga Franca sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,05%.

4.2. pH e teor açúcares da polpa dos bagos das duas castas em estudo ao longo da maturação

A partir da análise da **Tabela 5** e das **Figuras 25 e 26**, podemos observar que o pH do mosto da polpa das uvas das duas castas teve um aumento gradual e significativo ao longo da maturação.

À data de vindima, os valores do pH variam de 4,07 a 4,71, sendo que o valor mais baixo corresponde ao mosto da casta Touriga Nacional sujeita a tratamento com caulino e o valor mais elevado corresponde ao mosto da casta Touriga Franca com tratamento de silicato de potássio a 0,05%. Podemos observar que em ambos os mostos das castas em estudo o valor de pH mais elevado corresponde às uvas com tratamento de silicato de potássio a 0,05%. Em ambas as castas, o valor mais baixo de pH corresponde ao mosto dos bagos sujeitos ao tratamento com caulino. Apesar das variações observadas, podemos concluir pelos dados apresentados na Tabela 5 que à data de vindima o pH do mosto dos bagos não é significativamente diferente entre os diferentes ensaios, quer para a casta Touriga Nacional quer para a casta Touriga Franca.

Num estudo realizado por Oliveira (2003) sobre o comportamento vitivinícola da casta Touriga Nacional na Região Demarcada do Douro foram obtidos valores de pH de 4,15, semelhantes aos obtidos neste estudo. Num outro estudo com a casta Touriga Franca na Região Demarcada do Douro, Lima (2014) obteve valores de pH de 3,88. Comparado com os valores obtidos no presente trabalho, podemos verificar que estes são bastante inferiores.

Na **Tabela 6** e **Figuras 27 e 28** estão representados os valores obtidos para o teor de açúcares e a partir destes dados podemos concluir que houve um aumento significativo deste parâmetro ao longo da maturação em ambas as castas em estudo.

Podemos verificar que à data da vindima, os valores variam entre 12,15 % (v/v) e 13,40 % (v/v), sendo que o valor mais baixo corresponde às amostras controlo da casta Touriga Franca e o valor mais alto ao mosto controlo da casta Touriga Nacional. À data da vindima, as amostras da casta Touriga Nacional sujeitas aos dois tipos de tratamento apresentaram um teor de álcool provável mais baixo comparativamente às amostras controlo. Já na casta Touriga Franca foi obtido um valor mais elevado para as amostras tratadas com silicato de potássio a 0,05%. Contudo, quer para a casta Touriga Nacional quer para a casta Touriga Franca as diferenças encontradas entre tratamentos não são significativas relativamente ao álcool provável (Tabela 6).

Para a casta Touriga Nacional, Böhm (2007) obteve valores de álcool provável, de 14%, o que comparado com os valores obtidos neste trabalho é ligeiramente superior. No estudo feito por Lima (2014), os valores de álcool provável eram de 13,5% para a casta Touriga Franca. Correia (2014) obteve valores médios de álcool provável de 13,13%. Comparado com os valores obtidos neste estudo, estes são bastantes semelhantes.

Tabela 5 – pH (média $\pm$ desvio padrão) do mosto das castas em estudo sujeitas a diferentes tratamentos foliares.

	TN C	TN K	TN 0,1%	TN 0,05%	TF C	TF K	TF 0,1%	TF 0,05%
26-07	2,765 $\pm$ 0,021 ^a	2,785 $\pm$ 0,021 ^a	2,780 $\pm$ 0,042 ^a	2,765 $\pm$ 0,035 ^a	2,855 $\pm$ 0,07 ^a	2,860 $\pm$ 0,014 ^a	2,910 $\pm$ 0,028 ^a	2,875 $\pm$ 0,07 ^a
02-08	2,925 $\pm$ 0,092 ^a	2,840 $\pm$ 0,042 ^{ab}	2,830 $\pm$ 0,014 ^a	2,890 $\pm$ 0,042 ^{ab}	2,985 $\pm$ 0,021 ^a	3,060 $\pm$ 0,028 ^{ab}	3,070 $\pm$ 0,085 ^a	3,100 $\pm$ 0,028 ^a
09-08	3,050 $\pm$ 0,000 ^{ab}	2,970 $\pm$ 0,057 ^{abc}	3,000 $\pm$ 0,057 ^a	2,955 $\pm$ 0,078 ^{ab}	3,230 $\pm$ 0,000 ^b	3,215 $\pm$ 0,007 ^{ab}	3,250 $\pm$ 0,255 ^a	3,265 $\pm$ 0,177 ^a
17-08	3,460 $\pm$ 0,000 ^a	3,220 $\pm$ 0,042 ^{bc}	3,330 $\pm$ 0,028 ^b	3,280 $\pm$ 0,156 ^{bc}	3,680 $\pm$ 0,141 ^c	3,675 $\pm$ 0,120 ^{bc}	3,840 $\pm$ 0,085 ^b	3,805 $\pm$ 0,120 ^b
23-08	3,365 $\pm$ 0,163 ^{bc}	3,345 $\pm$ 0,106 ^c	3,540 $\pm$ 0,042 ^b	3,475 $\pm$ 0,219 ^c	3,600 $\pm$ 0,000 ^c	3,650 $\pm$ 0,212 ^{bc}	4,005 $\pm$ 0,064 ^b	3,985 $\pm$ 0,106 ^{bc}
07-09	3,910 $\pm$ 0,156 ^d	3,890 $\pm$ 0,198 ^d	4,055 $\pm$ 0,120 ^c	3,945 $\pm$ 0,035 ^d	4,055 $\pm$ 0,007 ^d	3,920 $\pm$ 0,240 ^c	4,205 $\pm$ 0,007 ^b	4,300 $\pm$ 0,127 ^{cd}
20-09	4,185 $\pm$ 0,078 ^{dA}	4,065 $\pm$ 0,106 ^{dA}	4,205 $\pm$ 0,092 ^{cA}	4,260 $\pm$ 0,000 ^{dA}	4,335 $\pm$ 0,007 ^{eA}	4,290 $\pm$ 0,255 ^{cA}	4,670 $\pm$ 0,014 ^{cA}	4,710 $\pm$ 0,057 ^{dA}

Valores com a mesma letra não são significativamente diferentes entre si para um $p < 0,05$. Valores com a mesma letra maiúscula na mesma linha para cada casta não são significativamente diferentes entre si, $p < 0,05$. **Legenda:** TN C – Touriga Nacional controlo; TN K – Touriga Nacional sujeita a tratamento com caulino; TN 0,1% - Touriga Nacional sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,1%; TN 0,05% - Touriga Nacional sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,05%; TF C – Touriga Franca controlo; TF K – Touriga Franca sujeita a tratamento com caulino; TF 0,1% - Touriga Franca sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,1%; TF 0,05% - Touriga Franca sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,05%.

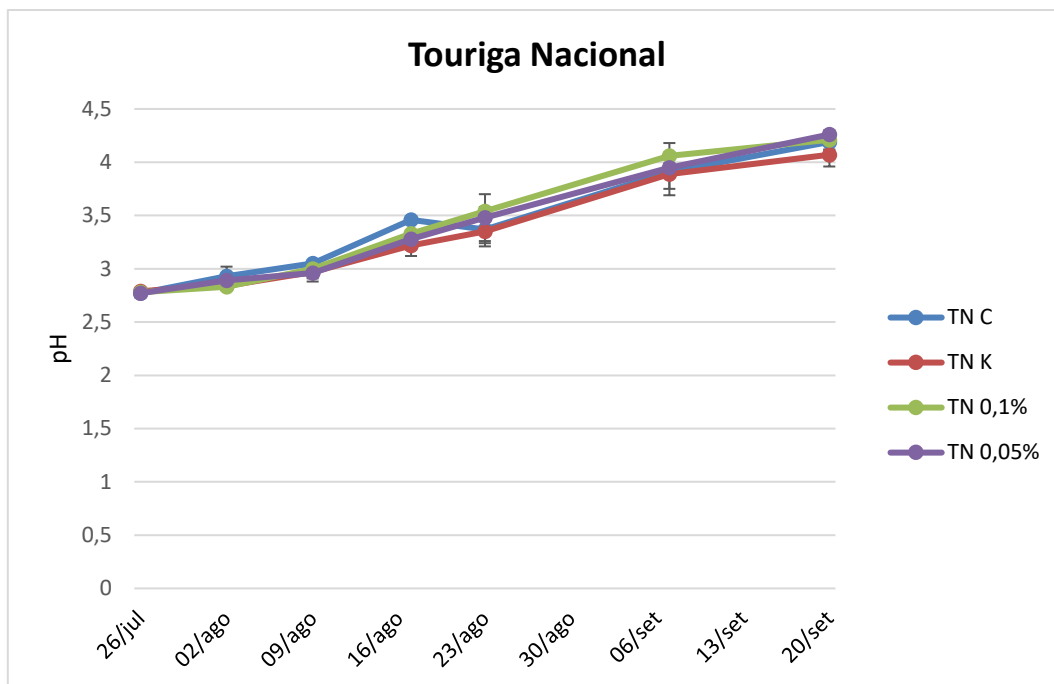


Figura 25- pH do mosto da casta Touriga Nacional ao longo da maturação sujeitas a diferentes tipos de tratamentos.

Legenda: TN C – Touriga Nacional controlo; TN K – Touriga Nacional sujeita a tratamento com caulino; TN 0,1% – Touriga Nacional sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,1%; TN 0,05% – Touriga Nacional sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,05%.

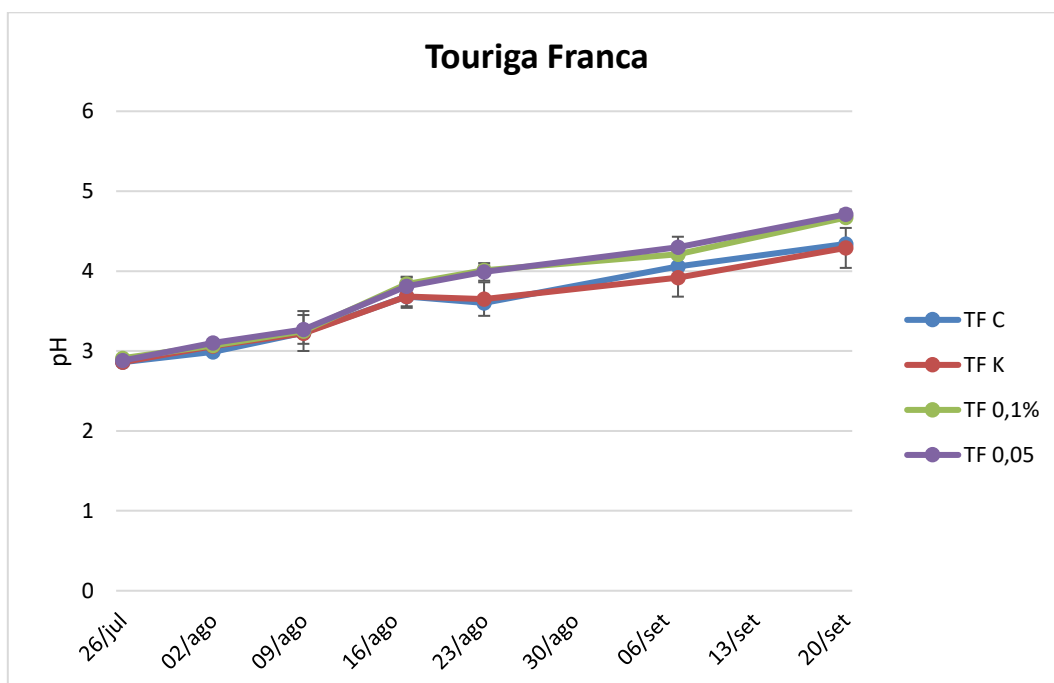


Figura 26 - pH do mosto da casta Touriga Franca ao longo da maturação sujeita a diferentes tipos de tratamentos.

Legenda: TF C – Touriga Franca controlo; TF K – Touriga Franca sujeita a tratamento com caulino; TF 0,1% – Touriga Franca sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,1%; TF 0,05% – Touriga Franca sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,05%.

Tabela 6 – Teor de açúcares expresso em álcool provável (média ± desvio padrão) do mosto das castas em estudo sujeitas a diferentes tratamentos foliares.

	TN C	TN K	TN 0,1%	TN 0,05%	TF C	TF K	TF 0,1%	TF 0,05%
26-07	5,600 ± 0,141 ^a	5,350 ± 0,212 ^a	5,350 ± 0,071 ^a	5,350 ± 0,212 ^a	5,600 ± 2,341 ^a	5,150 ± 0,919 ^a	5,400 ± 0,707 ^a	5,500 ± 0,636 ^a
02-08	8,400 ± 0,141 ^b	7,750 ± 0,778 ^b	8,600 ± 0,566 ^b	8,350 ± 1,626 ^{ab}	9,300 ± 0,263 ^b	6,670 ± 0,283 ^{ab}	7,400 ± 2,546 ^{ab}	6,450 ± 2,758 ^{ab}
09-08	12,750 ± 1,485 ^{cd}	12,150 ± 1,768 ^d	10,950 ± 0,212 ^c	11,500 ± 1,697 ^{bc}	9.,100 ± 0,071 ^b	8,300 ± 0,849 ^b	8,805 ± 2,333 ^b	9,035 ± 2,616 ^b
17-08	9,550 ± 0,212 ^{bc}	11,200 ± 0,141 ^c	10.600 ± 0,141 ^c	11,300 ± 0,071 ^b	10,200 ± 0,566 ^c	10,550 ± 1,202 ^b	10,400 ± 0,000 ^c	11,300 ± 0,000 ^c
23-08	10,600 ± 1,414 ^{bcd}	11,650 ± 0,071 ^c	11,550 ± 0,071 ^{cd}	11,500 ± 0,424 ^{bc}	10,950 ± 1,061 ^c	11,000 ± 0,707 ^{bc}	12,200 ± 0,849 ^{cd}	11,000 ± 0,566 ^c
07-09	12,750 ± 0,919 ^{cd}	12,800 ± 0,141 ^d	13,450 ± 0,071 ^e	13,350 ± 0,636 ^c	11,850 ± 0,636 ^d	12,350 ± 0,778 ^c	12,950 ± 0,071 ^d	13,400 ± 0,141 ^d
20-09	13,400 ± 0,000 ^{dA}	12,950 ± 0,071 ^{dA}	12,650 ± 0,495 ^{deA}	12,900 ± 0,000 ^{cA}	12,150 ± 0,071 ^{dA}	12,450 ± 0,636 ^{cA}	12,950 ± 0,778 ^{dA}	13,200 ± 0,283 ^{dA}

Valores com a mesma letra não são significativamente diferentes entre si para um $p < 0,05$. Valores com a mesma letra maiúscula na mesma linha para cada casta não são significativamente diferentes entre si, $p < 0,05$.

Legenda: TN C – Touriga Nacional controlo; TN K – Touriga Nacional sujeita a tratamento com caulino; TN 0,1% - Touriga Nacional sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,1%; TN 0,05% - Touriga Nacional sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,05%; TF C – Touriga Franca controlo; TF K – Touriga Franca sujeita a tratamento com caulino; TF 0,1% - Touriga Franca sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,1%; TF 0,05% - Touriga Franca sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,05%.

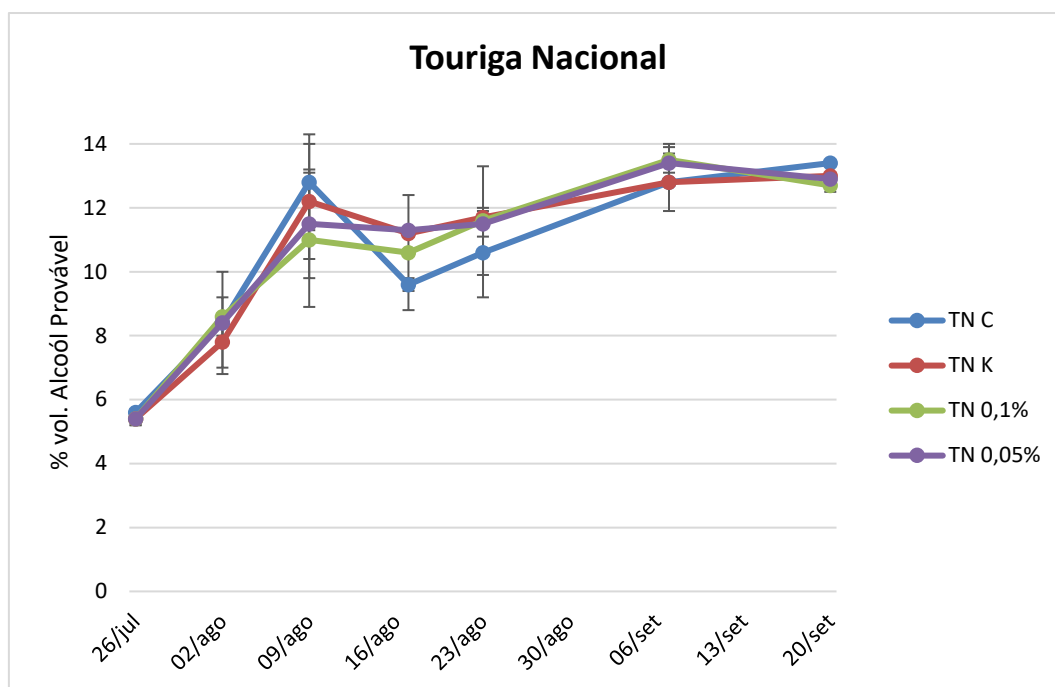


Figura 27 – Teor de açúcares expresso em álcool provável do mosto da casta Touriga Franca ao longo da maturação sujeitas a diferentes tipos de tratamentos.

Legenda: TN C – Touriga Nacional controlo; TN K – Touriga Nacional sujeita a tratamento com caulino; TN 0,1% - Touriga Nacional sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,1%; TN 0,05% - Touriga Nacional sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,05%.

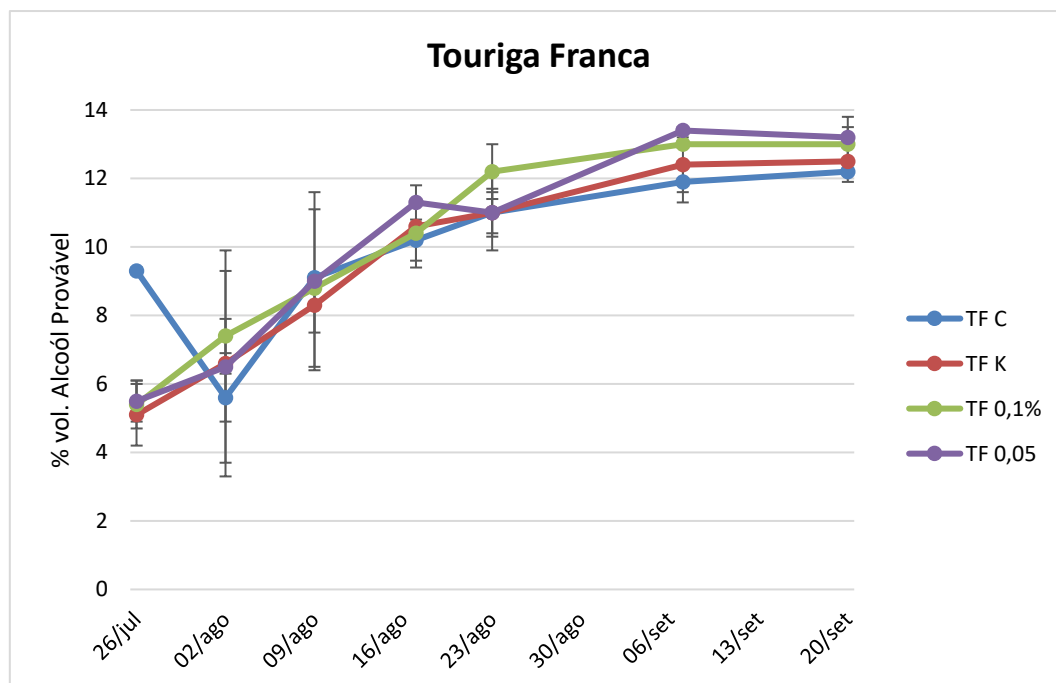


Figura 28 – Teor de açúcares expresso em álcool provável do mosto da casta Touriga Franca ao longo da maturação sujeitas a diferentes tipos de tratamentos.

Legenda: TF C – Touriga Franca controlo; TF K – Touriga Franca sujeita a tratamento com caulino; TF 0,1% - Touriga Franca sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,1%; TF 0,05% - Touriga Franca sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,05%.

4.3. Compostos fenólicos totais e antocianinas totais das películas dos bagos das duas castas ao longo da maturação

Através da **Tabela 7** e das **Figura 29** e **30**, podemos observar que há um ligeiro aumento dos compostos fenólicos totais das películas desde a primeira data de recolha das amostras até à data da vindima, sendo apenas para a casta Touriga Franca controlo o aumento considerado significativo. Na casta Touriga Nacional, o teor de compostos fenólicos totais mais elevado comparativamente à amostra controlo (46,1 mg/g de bago), corresponde aos bagos sujeitos a tratamento com silicato de potássio a 0,1% (50,9 mg/g de bago). Na casta Touriga Franca o valor mais elevado corresponde aos bagos com tratamento de caulino (67,2 mg/g de bago), sendo que as amostras tratadas com silicato de potássio a 0,1% e 0,05% foram as que apresentaram valores mais baixos quando comparadas com as amostras controlo. No entanto, nem para a casta Touriga Nacional nem para a casta Touriga Franca as diferenças encontradas entre tratamentos são significativamente diferentes entre si na última data de colheita (**Tabela 7**).

Shellie e King (2013) e Lobos et al. (2015) verificaram que as videiras tratadas com caulino apresentavam uvas com um maior teor de compostos fenólicos totais, o que se verifica também nos resultados obtidos neste estudo para ambas as castas, apesar dessas diferenças não serem significativas quando comparadas com a amostra sem tratamento.

Pela análise da **Tabela 8** e das **Figuras 31** e **32** podemos verificar que na casta Touriga Nacional, há uma tendência para o aumento significativo das antocianinas totais ao longo do tempo de maturação, sendo que à data da vindima, foi obtida uma maior concentração de antocianinas totais nas amostras tratadas com silicato de potássio a 0,05% (9,42 mg/g de película) comparativamente com as amostras controlo em que foi obtido o valor mais baixo de antocianinas totais (8,08 mg/g de película). Contudo, como se pode observar na **Tabela 8**, a diferença entre os diferentes tratamento e o controlo não é significativa. Nas películas da casta Touriga Franca (**Figura 32**) verificamos que há um aumento gradual e significativo das antocianinas totais até à data de 23 de Agosto e posteriormente ocorre um ligeiro decréscimo da concentração destes compostos. O valor mais elevado de antocianinas totais corresponde às amostras tratadas com caulino (11,37 mg/g de película). As amostras tratadas com silicato de potássio a 0,01% revelaram o valor mais baixo para estes compostos (8,59 mg/g de bago). Contudo, também nas antocianinas totais não se verificaram diferenças significativas entre os

ensaios à data da vindima, nas duas castas em estudo (**Tabela 8**). Brillante et al. (2016), verificaram um maior teor de antocianinas totais para amostras sujeitas a tratamento com caulino, o que também é verificado neste trabalho para as uvas da casta Touriga Nacional e Touriga Franca, embora como já foi referido esse aumento não foi significativo relativamente ao controlo.

Tabela 7 – Compostos fenólicos totais (média $\pm$ desvio padrão) dos bagos das castas em estudo em mg/g de bago sujeitos a diferentes tratamentos foliares.

	TN C	TN K	TN 0,1%	TN 0,05%	TF C	TF K	TF 0,1%	TF 0,05%
26-07	37,982 $\pm$ 0,458 ^a	33,615 $\pm$ 0,748 ^a	35,326 $\pm$ 2,528 ^a	33,170 $\pm$ 2,536 ^a	53,531 $\pm$ 1,099 ^a	49,327 $\pm$ 1,742 ^a	49,166 $\pm$ 8,129 ^a	52,205 $\pm$ 3,591 ^a
02-08	35,663 $\pm$ 2,418 ^a	33,682 $\pm$ 0,998 ^a	36,027 $\pm$ 2,260 ^a	35,950 $\pm$ 1,723 ^a	53,478 $\pm$ 9,939 ^{ab}	52,710 $\pm$ 4,652 ^a	58,093 $\pm$ 4,457 ^a	54,071 $\pm$ 1,345 ^a
09-08	41,884 $\pm$ 4,659 ^a	43,370 $\pm$ 11,830 ^a	42,264 $\pm$ 6,565 ^a	39,709 $\pm$ 4,361 ^a	84,810 $\pm$ 6,063 ^{ab}	67,550 $\pm$ 12,802 ^a	67,574 $\pm$ 2,791 ^a	58,783 $\pm$ 18,069 ^a
17-08	38,781 $\pm$ 2,525 ^a	39,472 $\pm$ 3,036 ^a	43,725 $\pm$ 9,211 ^a	43,264 $\pm$ 13,099 ^a	67,459 $\pm$ 13,310 ^{ab}	74,118 $\pm$ 1,903 ^a	68,692 $\pm$ 5,079 ^a	61,247 $\pm$ 7,542 ^a
23-08	39,821 $\pm$ 9,326 ^a	41,191 $\pm$ 6,506 ^a	47,874 $\pm$ 11,045 ^a	51,236 $\pm$ 6,696 ^a	68,286 $\pm$ 3,965 ^{ab}	70,962 $\pm$ 17,966 ^a	65,816 $\pm$ 16,039 ^a	62,508 $\pm$ 0,456 ^a
07-09	44,155 $\pm$ 13,468 ^a	42,423 $\pm$ 8,052 ^a	44,805 $\pm$ 15,833 ^a	41,764 $\pm$ 5,821 ^a	81,617 $\pm$ 9,657 ^{ab}	74,972 $\pm$ 9,289 ^a	57,072 $\pm$ 3,962 ^a	59,480 $\pm$ 10,737 ^a
20-09	46,180 $\pm$ 8,182 ^{aA}	50,956 $\pm$ 1,068 ^{aA}	52,071 $\pm$ 11,276 ^{aA}	51,324 $\pm$ 4,970 ^{aA}	66,476 $\pm$ 3,576 ^{bA}	67,215 $\pm$ 0,897 ^{aA}	55,398 $\pm$ 6,794 ^{aA}	54,872 $\pm$ 11,393 ^{aA}

Valores com a mesma letra na mesma coluna não são significativamente diferentes entre si para um $p < 0,05$. Valores com a mesma letra maiúscula na mesma linha para cada casta não são significativamente diferentes entre si, $p < 0,05$

Legenda: TN C – Touriga Nacional controlo; TN K – Touriga Nacional sujeita a tratamento com caulino; TN 0,1% - Touriga Nacional sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,1%; TN 0,05% - Touriga Nacional sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,05%; TF C – Touriga Franca controlo; TF K – Touriga Franca sujeita a tratamento com caulino; TF 0,1% - Touriga Franca sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,1%; TF 0,05% - Touriga Franca sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,05%.

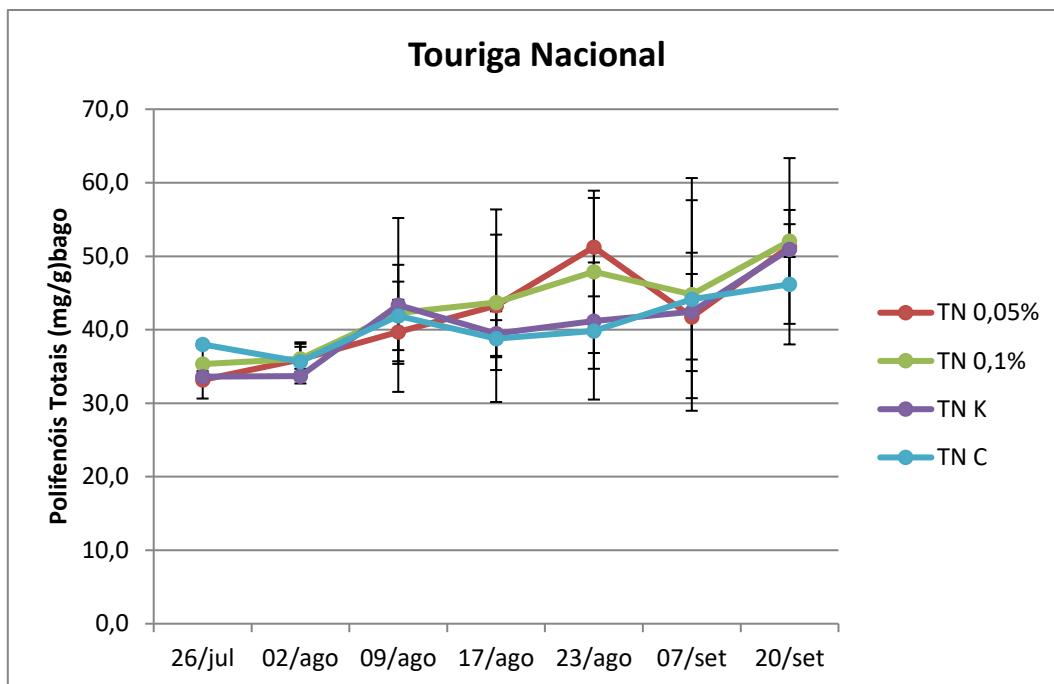


Figura 29 - Teor de compostos fenólicos totais da película dos bagos da casta Touriga Nacional ao longo da maturação sujeitas a diferentes tipos de tratamentos.

Legenda: TN C – Touriga Nacional controlo; TN K – Touriga Nacional sujeita a tratamento com caulino; TN 0,1% - Touriga Nacional sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,1%; TN 0,05% - Touriga Nacional sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,05%.

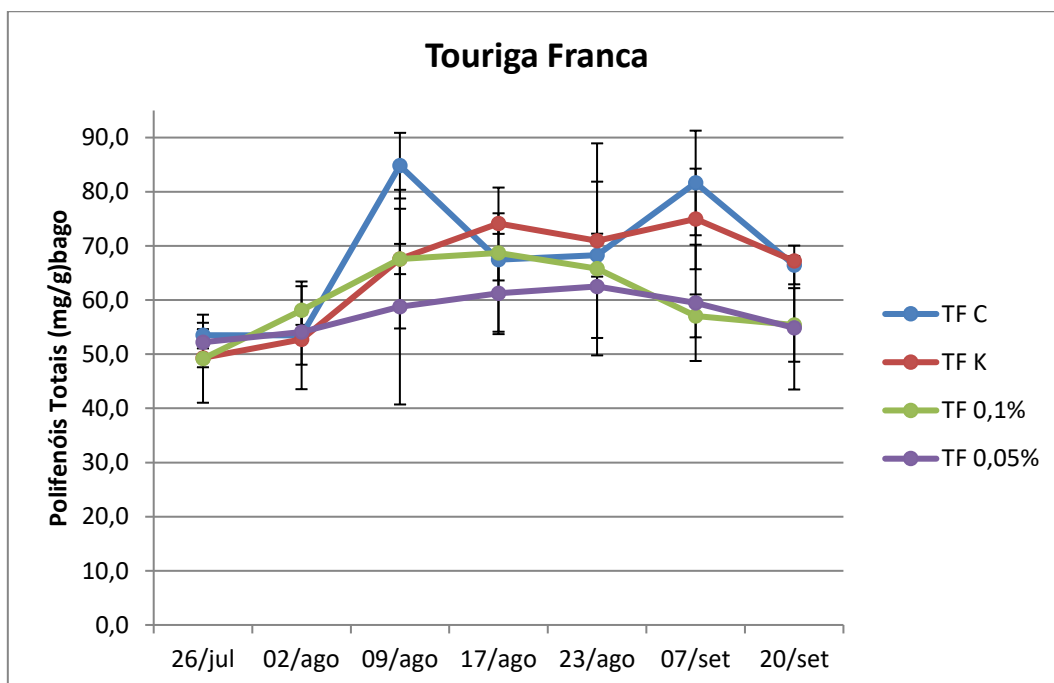


Figura 30 - Teor de compostos fenólicos totais da película dos bagos da casta Touriga Franca ao longo da maturação sujeitas a diferentes tipos de tratamentos.

Legenda: TF K – Touriga Franca sujeita a tratamento com caulino; TF 0,1% - Touriga Franca sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,1%; TF 0,05% - Touriga Franca sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,05%.

Tabela 8 – Antocianinas totais (média $\pm$ desvio padrão) dos bagos das castas em estudo em mg/g de película sujeitas a diferentes tratamentos foliares.

	TN C	TN K	TN 0,1%	TN 0,05%	TF C	TF K	TF 0,1%	TF 0,05%
26-07	0,074 $\pm$ 0,052 ^a	0,047 $\pm$ 0,010 ^a	0,037 $\pm$ 0,001 ^a	0,046 $\pm$ 0,016 ^a	1,553 $\pm$ 0,841 ^a	1,126 $\pm$ 0,284 ^a	1,430 $\pm$ 0,384 ^a	1,665 $\pm$ 0,779 ^a
02-08	0,845 $\pm$ 0,354 ^a	0,264 $\pm$ 0,162 ^a	0,261 $\pm$ 0,022 ^a	0,525 $\pm$ 0,565 ^a	4,751 $\pm$ 4,323 ^{ab}	6,174 $\pm$ 0,512 ^{ab}	5,059 $\pm$ 2,464 ^{ab}	4,262 $\pm$ 3,045 ^a
09-08	3,205 $\pm$ 0,264 ^{ab}	2,178 $\pm$ 0,396 ^a	1,924 $\pm$ 0,009 ^{ab}	1,885 $\pm$ 0,572 ^a	15,022 $\pm$ 0,214 ^{bc}	11,069 $\pm$ 2,930 ^{abc}	9,931 $\pm$ 2,724 ^{bc}	9,269 $\pm$ 5,467 ^{ab}
17-08	5,394 $\pm$ 0,602 ^{ab}	7,019 $\pm$ 0,648 ^b	7,032 $\pm$ 0,131 ^{bc}	7,218 $\pm$ 2,936 ^{ab}	12,328 $\pm$ 3,491 ^{bc}	14,611 $\pm$ 0,660 ^{bcd}	13,331 $\pm$ 1,447 ^{cd}	12,628 $\pm$ 1,727 ^{bc}
23-08	6,815 $\pm$ 2,559 ^{bc}	7,629 $\pm$ 1,664 ^{bc}	8,934 $\pm$ 0,439 ^c	10,008 $\pm$ 1,411 ^b	14,048 $\pm$ 1,854 ^c	14,621 $\pm$ 4,991 ^{bcd}	13,893 $\pm$ 3,732 ^d	12,721 $\pm$ 0,226 ^c
07-09	7,817 $\pm$ 2,709 ^c	7,740 $\pm$ 1,555 ^c	8,319 $\pm$ 0,110 ^c	7,809 $\pm$ 1,437 ^b	15,402 $\pm$ 2,316 ^c	13,830 $\pm$ 1,199 ^{cd}	10,265 $\pm$ 0,252 ^{cd}	10,374 $\pm$ 1,906 ^{bc}
20-09	8,071 $\pm$ 1,492 ^{cA}	8,802 $\pm$ 0,351 ^{cA}	9,247 $\pm$ 0,396 ^{cA}	9,417 $\pm$ 0,847 ^{ba}	10,923 $\pm$ 0,509 ^{cA}	11,368 $\pm$ 0,398 ^{da}	8,592 $\pm$ 0,938 ^{cdA}	8,980 $\pm$ 1,892 ^{bcA}

Valores com a mesma letra na mesma coluna não são significativamente diferentes entre si para um $p < 0,05$. Valores com a mesma letra maiúscula na mesma linha para cada casta não são significativamente diferentes entre si, $p < 0,05$

Legenda: TN C – Touriga Nacional controlo; TN K – Touriga Nacional sujeita a tratamento com caulino; TN 0,1% - Touriga Nacional sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,1%; TN 0,05% - Touriga Nacional sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,05%; TF C – Touriga Franca controlo; TF K – Touriga Franca sujeita a tratamento com caulino; TF 0,1% - Touriga Franca sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,1%; TF 0,05% - Touriga Franca sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,05%.

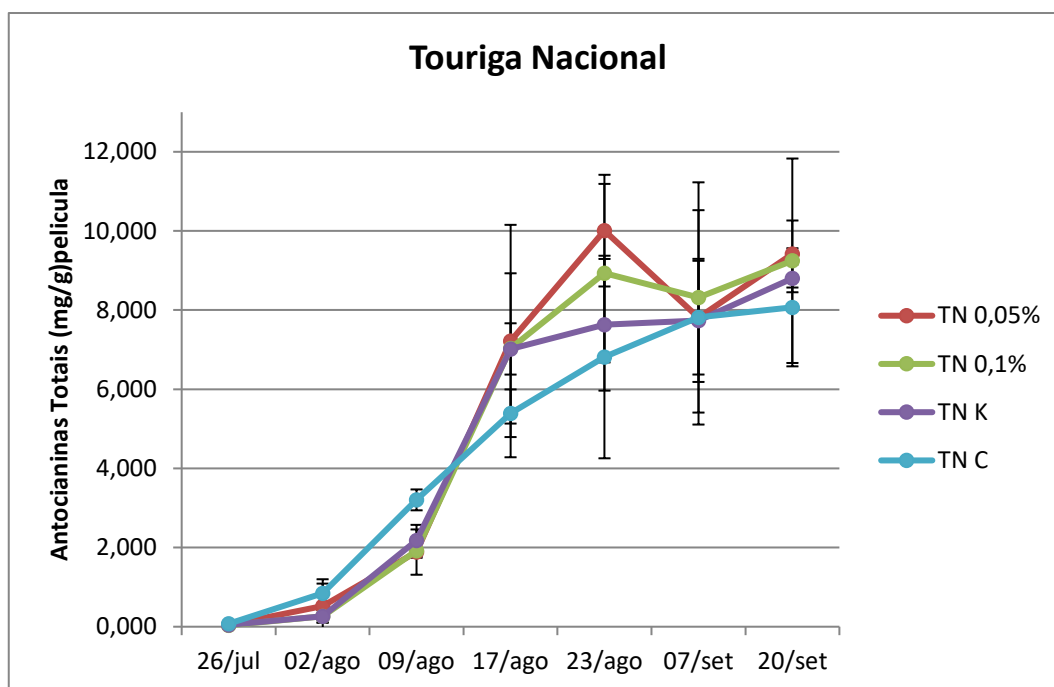


Figura 31 – Teor de antocianinas totais dos bagos da casta Touriga Nacional ao longo da maturação sujeitas a diferentes tipos de tratamentos.

Legenda: TN C – Touriga Nacional controlo; TN K – Touriga Nacional sujeita a tratamento com caulino; TN 0,1% - Touriga Nacional sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,1%; TN 0,05% - Touriga Nacional sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,05%.

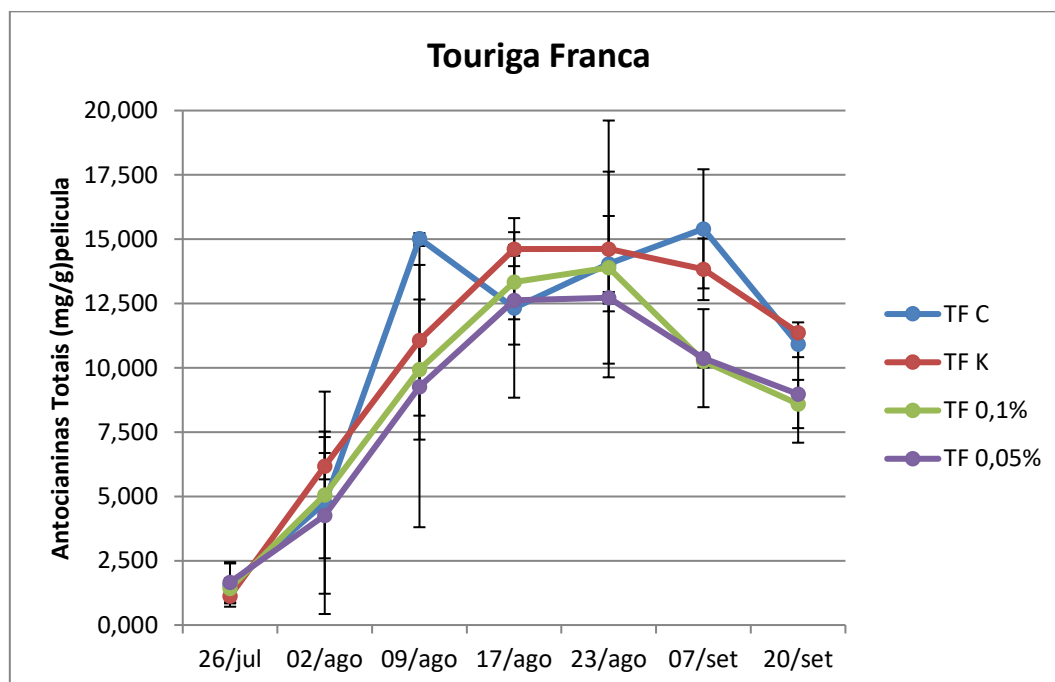


Figura 32 – Teor de antocianinas totais dos bagos da casta Touriga Franca ao longo da maturação sujeitas a diferentes tipos de tratamentos.

Legenda: TF C – Touriga Franca controlo; TF K – Touriga Franca sujeita a tratamento com caulino; TF 0,1% - Touriga Franca sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,1%; TF 0,05% - Touriga Franca sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,05%.

4.4. Taninos totais de película e de grainha dos bagos das duas castas ao longo da maturação

Na **Tabela 9** e nas **Figuras 33 e 34**, verificamos que o pico de maior concentração de taninos totais para ambas as castas nas películas, ocorreu a 9 de Agosto, sendo que a partir dessa data houve um decréscimo da concentração destes compostos até à data da vindima. Na casta Touriga Nacional podemos verificar que as amostras tratadas com silicato de potássio a 0,05% apresentaram um maior teor de taninos totais (33,62 mg/g de película) comparativamente ao controlo (32,36 mg/g de película), à data da vindima. O mesmo não se verificou na casta Touriga Franca, onde as amostras que apresentaram uma maior concentração destes compostos foram as amostras tratadas com caulino (49,77 mg/g de película). Contudo, o teor de taninos à data da vindima não é significativamente diferente entre os diferentes ensaios quer para a casta Touriga Nacional quer para a casta Touriga Franca.

Na **Tabela 10** e nas **Figuras 35 e 36**, verificamos que, para ambas as castas, foi obtida uma maior concentração de taninos totais nas grainhas à data de 02 de Agosto. Até à data da vindima, verificou-se um ligeiro decréscimo destes compostos, sendo que a maior concentração foi verificada nas amostras tratadas com silicato de potássio a 0,05% quer para a casta Touriga Nacional (87,94 mg/g de grainha), quer para a casta Touriga Franca (127,68 mg/g de grainha).

Nos estudos realizados por Dinis et al. (2016), verificou-se que as amostras sujeitas a tratamento com caulino apresentam um maior teor de taninos totais. Neste estudo isso apenas é verificado para as películas da casta Touriga Franca, ao contrário da casta Touriga Nacional, em que são as amostras tratadas com silicato de potássio a 0,05% que apresenta maior concentração. No entanto essa diferença não é significativa comparativamente com o controlo (Tabela 9). Nas restantes amostras, e para ambas as castas, o maior teor de taninos totais foi verificado nas amostras das grainhas tratadas com silicato de potássio a 0,05%.

Tabela 9 – Taninos totais (média ± desvio padrão) dos bagos das castas em estudo em mg/g de película sujeitos a diferentes tratamentos foliares.

	TN C	TN K	TN 0,1%	TN 0,05%	TF C	TF K	TF 0,1%	TF 0,05%
26-07	20,007 ± 0,313 ^b	22,422 ± 2,114 ^a	22,043 ± 1,069 ^a	21,226 ± 0,519 ^a	26,932 ± 0,675 ^a	32,465 ± 1,600 ^a	28,451 ± 2,270 ^a	25,757 ± 1,596 ^b
02-08	20,250 ± 1,464 ^b	20,424 ± 0,802 ^a	20,194 ± 0,261 ^a	22,822 ± 0,233 ^a	26,303 ± 2,660 ^a	27,938 ± 1,263 ^a	23,477 ± 0,919 ^a	22,062 ± 0,678 ^b
09-08	37,388 ± 0,175 ^a	49,244 ± 12,423 ^a	51,284 ± 7,252 ^b	45,528 ± 6,001 ^b	45,043 ± 19,163 ^a	48,287 ± 7,051 ^a	54,322 ± 11,415 ^a	53,725 ± 3,892 ^a
17-08	39,991 ± 2,264 ^a	35,710 ± 1,178 ^a	37,657 ± 5,122 ^{ab}	35,529 ± 6,746 ^{ab}	48,951 ± 0,843 ^a	45,768 ± 1,034 ^a	41,767 ± 6,224 ^a	51,292 ± 3,113 ^{ab}
23-08	32,744 ± 1,960 ^a	34,306 ± 10,181 ^a	35,919 ± 6,801 ^{ab}	39,634 ± 2,392 ^{ab}	45,778 ± 0,154 ^a	44,118 ± 5,604 ^a	40,216 ± 2,377 ^a	50,426 ± 2,131 ^a
07-09	37,313 ± 5,344 ^a	37,802 ± 6,522 ^a	29,932 ± 12,062 ^a	29,256 ± 3,054 ^a	48,681 ± 7,309 ^a	46,368 ± 5,538 ^a	34,798 ± 21,216 ^a	53,270 ± 3,781 ^a
20-09	32,361 ± 3,282 ^{abA}	31,697 ± 0,574 ^A	31,921 ± 5,327 ^{abA}	33,621 ± 2,659 ^{abA}	47,595 ± 2,447 ^{aA}	49,768 ± 3,895 ^{aA}	45,083 ± 5,419 ^{aA}	39,885 ± 6,016 ^{abA}

Valores com a mesma letra não são significativamente diferentes entre si para um $p < 0,05$. Valores com a mesma letra maiúscula na mesma linha para cada casta não são significativamente diferentes entre si, $p < 0,05$.

Legenda: TN C – Touriga Nacional controlo; TN K – Touriga Nacional sujeita a tratamento com caulino; TN 0,1% - Touriga Nacional sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,1%; TN 0,05% - Touriga Nacional sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,05%; TF C – Touriga Franca controlo; TF K – Touriga Franca sujeita a tratamento com caulino; TF 0,1% - Touriga Franca sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,1%; TF 0,05% - Touriga Franca sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,05%.

Tabela 10 – Taninos totais (média $\pm$ desvio padrão) dos bagos das castas em estudo em mg/g de grainha sujeitos a diferentes tratamentos foliares.

	TN C	TN K	TN 0,1%	TN 0,05%	TF C	TF K	TF 0,1%	TF 0,05%
26-07	128,149 $\pm$ 4,294 ^b	109,374 $\pm$ 7,380 ^a	128,390 $\pm$ 1,226 ^a	130,798 $\pm$ 4,457 ^a	156,044 $\pm$ 10,577 ^a	159,440 $\pm$ 10,189 ^a	162,026 $\pm$ 2,629 ^a	148,401 $\pm$ 6,493 ^b
02-08	116,667 $\pm$ 7,946 ^b	118,962 $\pm$ 10,238 ^a	119,430 $\pm$ 8,169 ^a	114,915 $\pm$ 0,540 ^a	157,322 $\pm$ 3,516 ^a	166,195 $\pm$ 11,829 ^a	151,729 $\pm$ 32,685 ^a	167,523 $\pm$ 3,469 ^b
09-08	114,144 $\pm$ 9,083 ^a	103,584 $\pm$ 6,773 ^a	116,665 $\pm$ 18,680 ^b	113,418 $\pm$ 10,664 ^b	150,518 $\pm$ 22,834 ^a	152,428 $\pm$ 2,004 ^a	150,985 $\pm$ 5,359 ^a	157,395 $\pm$ 14,891 ^a
17-08	105,974 $\pm$ 2,293 ^a	100,508 $\pm$ 10,459 ^a	107,169 $\pm$ 3,021 ^{ab}	104,472 $\pm$ 5,584 ^{ab}	145,246 $\pm$ 5,131 ^a	147,230 $\pm$ 3,968 ^a	146,658 $\pm$ 11,664 ^a	145,086 $\pm$ 4,692 ^{ab}
23-08	102,511 $\pm$ 0,816 ^a	93,941 $\pm$ 6,141 ^a	103,298 $\pm$ 4,822 ^{ab}	107,623 $\pm$ 8,450 ^{ab}	129,508 $\pm$ 12,270 ^a	134,643 $\pm$ 19,384 ^a	126,267 $\pm$ 12,694 ^a	129,603 $\pm$ 1,911 ^a
07-09	93,255 $\pm$ 7,229 ^a	72,112 $\pm$ 8,110 ^a	82,809 $\pm$ 6,185 ^a	73,702 $\pm$ 3,996 ^a	105,576 $\pm$ 5,533 ^a	128,681 $\pm$ 4,677 ^a	114,301 $\pm$ 3,034 ^a	121,962 $\pm$ 18,794 ^a
20-09	84,557 $\pm$ 3,622 ^{abA}	78,722 $\pm$ 4,677 ^A	78,152 $\pm$ 9,603 ^{abA}	87,939 $\pm$ 2,657 ^{abA}	104,843 $\pm$ 15,667 ^{aA}	109,141 $\pm$ 4,469 ^{aA}	108,368 $\pm$ 8,390 ^{aA}	127,676 $\pm$ 7,275 ^{abA}

Valores com a mesma letra não são significativamente diferentes entre si para um $p < 0,05$. Valores com a mesma letra maiúscula na mesma linha para cada casta não são significativamente diferentes entre si, $p < 0,05$.

Legenda: TN C – Touriga Nacional controlo; TN K – Touriga Nacional sujeita a tratamento com caulino; TN 0,1% - Touriga Nacional sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,1%; TN 0,05% - Touriga Nacional sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,05%; TF C – Touriga Franca controlo; TF K – Touriga Franca sujeita a tratamento com caulino; TF 0,1% - Touriga Franca sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,1%; TF 0,05% - Touriga Franca sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,05%.

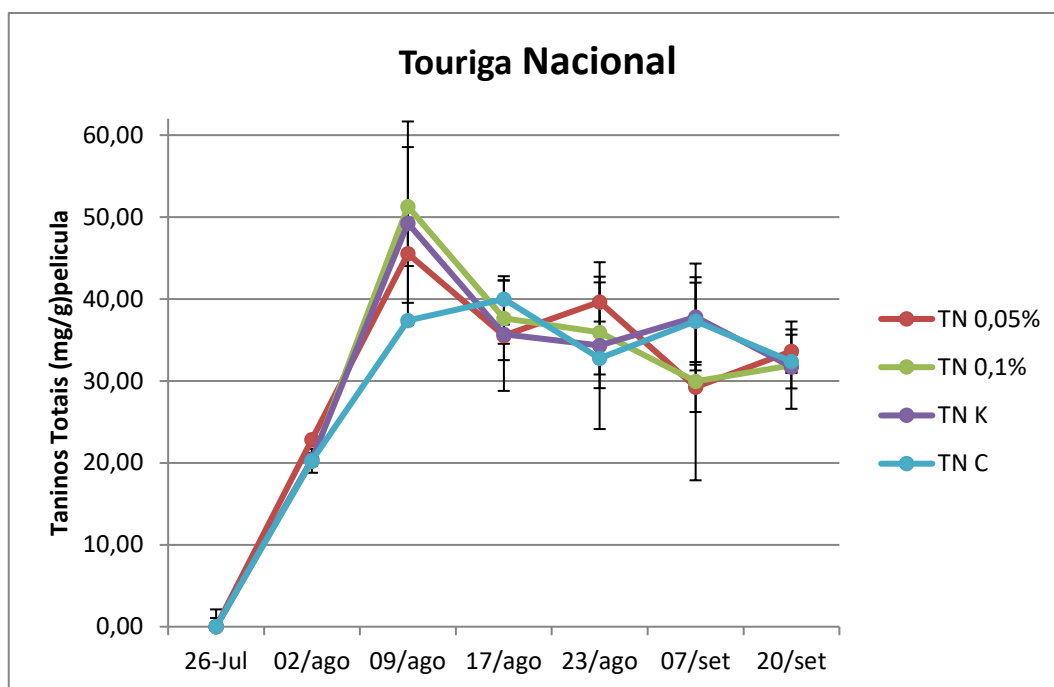


Figura 33 - Teor de taninos totais dos bagos da casta Touriga Nacional em (mg/g) película ao longo da maturação sujeitas a diferentes tipos de tratamentos.

Legenda: TN C – Touriga Nacional controlo; TN K – Touriga Nacional sujeita a tratamento com caulino; TN 0,1% - Touriga Nacional sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,1%; TN 0,05% - Touriga Nacional sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,05%.

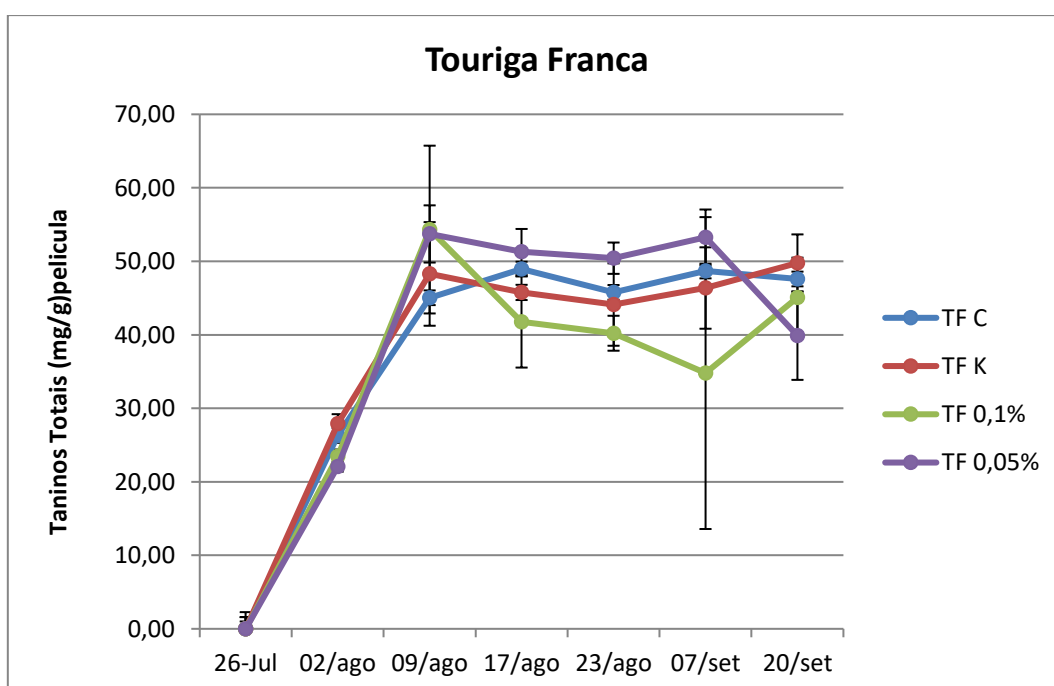


Figura 34- Teor de taninos totais dos bagos da casta Touriga Franca em (mg/g) película ao longo da maturação sujeitas a diferentes tipos de tratamentos.

Legenda: TF C – Touriga Franca controlo; TF K – Touriga Franca sujeita a tratamento com caulino; TF 0,1% - Touriga Franca sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,1%; TF 0,05% - Touriga Franca sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,05%.

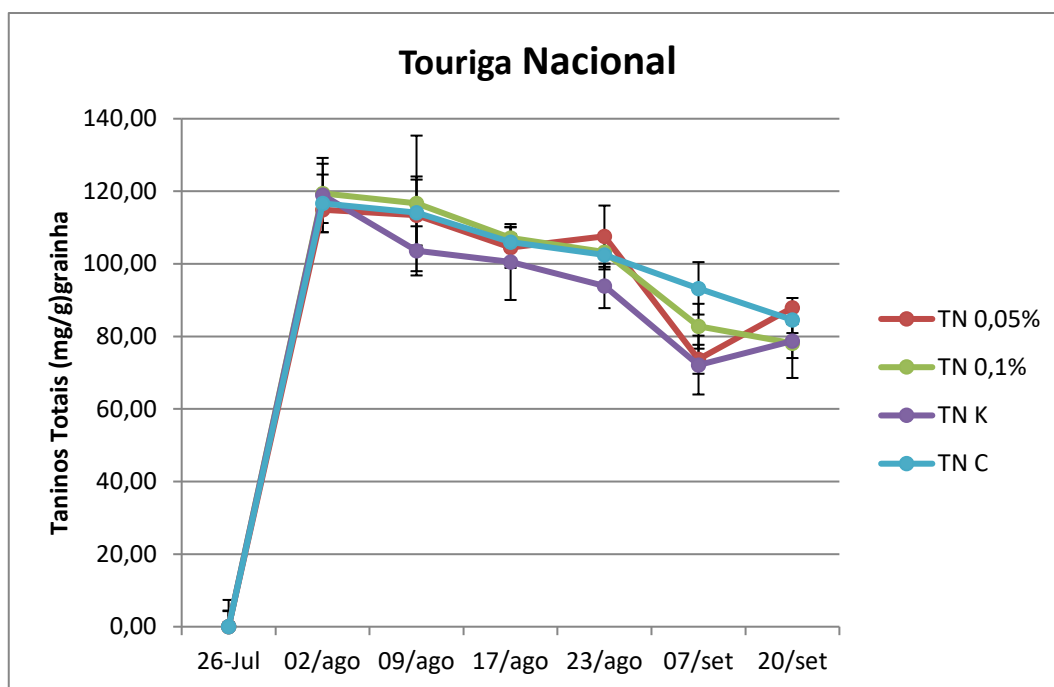


Figura 35 - Teor de taninos totais dos bagos da casta Touriga Nacional em (mg/g) grainha ao longo da maturação sujeitas a diferentes tipos de tratamentos.

Legenda: TN C – Touriga Nacional controlo; TN K – Touriga Nacional sujeita a tratamento com caulino; TN 0,1% - Touriga Nacional sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,1%; TN 0,05% - Touriga Nacional sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,05%.

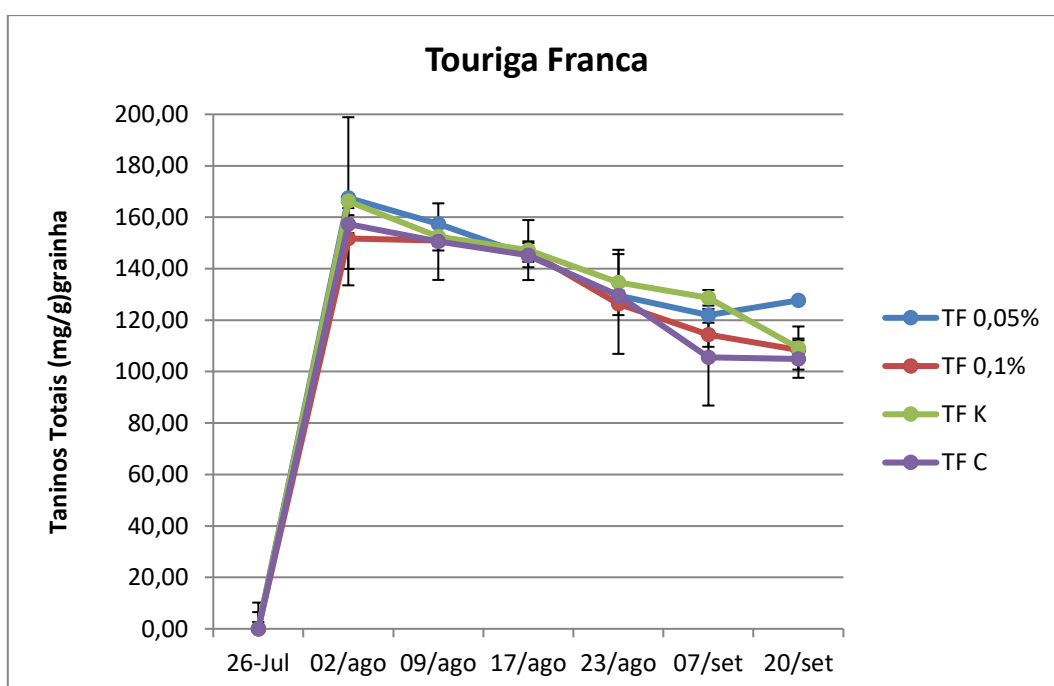


Figura 36- Teor de taninos totais dos bagos da casta Touriga Franca em (mg/g) grainha ao longo da maturação sujeitas a diferentes tipos de tratamentos.

Legenda: TF C – Touriga Franca controlo; TF K – Touriga Franca sujeita a tratamento com caulino; TF 0,1% - Touriga Franca sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,1%; TF 0,05% - Touriga Franca sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,05%.

4.5. Antocianinas monoméricas da película dos bagos das duas castas à data de vindima

Recorrendo à cromatografia líquida por HPLC foi possível fazer o estudo do perfil das antocianinas monoméricas. Foi efetuada a identificação e quantificação das antocianinas monoméricas, das amostras das castas Touriga Nacional e Touriga Franca. Estas análises foram feitas apenas nas amostras colhidas à data da vindima. Esta técnica permitiu-nos fazer a identificação de várias antocianinas nas suas diferentes formas, glucosiladas, acetiladas e cumariladas (**Tabela 11, Figura 37, Figura 38 e Figura 39**).

Como esperado, verificamos que nos bagos das castas Touriga Nacional e Touriga Franca sujeitas aos diferentes tipos de tratamento, são as antocianinas glucosiladas as que estão presentes em maior concentração. A antocianina predominante é a malvidina-3-glucósido. De um modo geral, para ambas as castas, as antocianinas glucosiladas tendem a aumentar a sua concentração nas amostras em que foram aplicados os tratamentos foliares (**Figura 37**).

Nas antocianinas acetiladas, não foi detetada a delphinidina-3-acetilglucósido em nenhuma das castas em estudo, quer para as amostras tratadas, quer para as amostras controlo. De um modo geral também se verificou um aumento da concentração destas antocianinas nas amostras sujeitas a tratamento comparativamente às amostras controlo, com exceção da malvidina-3-acetilglucósido da casta Touriga Franca que apresentou uma maior concentração nas amostras controlo (**Figura 38**).

No que diz respeito às antocianinas cumariladas dos bagos da casta Touriga Nacional, a delphinidina-3-cumarilglucósido apenas foi detetada nas amostras tratadas com caulino. A cianidina-3-cumarilglucósido têm tendência a aumentar nas amostras tratadas, enquanto que as restantes antocianinas monoméricas cumariladas têm tendência a diminuir a sua concentração comparativamente às amostras controlo. Na casta Touriga Franca, verifica-se um aumento da concentração deste tipo de antocianinas, com exceção da malvidina-3-cumarilglucósido onde ocorre uma diminuição da concentração para as amostras sujeitas a ambos os tipos de tratamento foliar (**Figura 39**).

Tabela 11 – Antocianinas monoméricas (média $\pm$ desvio padrão) dos bagos das castas em estudo em mg/g de bago sujeitas a diferentes tratamentos foliares.

	dl-3-gluc	ci-3-gluc	pt-3-gluc	pe-3-gluc	mv-3-gluc	ci-3-acetilgluc	pt-3-acetilgluc	pe-3-acetilgluc	mv-3-acetilgluc	dl-3-coumarilgluc	ci-3-coumarilgluc	pt-3-coumarilgluc	pe-3-coumarilgluc	mv-3-coumarilgluc
TN C	0,054 $\pm$ 0,002 ^a	0,014 $\pm$ 0,000 ^a	0,078 $\pm$ 0,005 ^{ab}	0,116 $\pm$ 0,024 ^{ab}	0,783 $\pm$ 0,053 ^{abc}	0,016 $\pm$ 0,004 ^a	0,009 $\pm$ 0,001 ^a	0,032 $\pm$ 0,007 ^a	0,246 $\pm$ 0,008 ^{abc}	n.d.	0,019 $\pm$ 0,002 ^a	0,015 $\pm$ 0,000 ^b	0,056 $\pm$ 0,017 ^a	0,272 $\pm$ 0,010 ^a
TN K	0,045 $\pm$ 0,004 ^{ab}	0,009 $\pm$ 0,002 ^a	0,072 $\pm$ 0,000 ^{ab}	0,137 $\pm$ 0,039 ^{ab}	0,784 $\pm$ 0,000 ^{abc}	0,014 $\pm$ 0,000 ^a	0,028 $\pm$ 0,025 ^a	0,031 $\pm$ 0,000 ^a	0,263 $\pm$ 0,010 ^{bc}	0,005 $\pm$ 0,000 ^{ab}	0,020 $\pm$ 0,000 ^a	0,012 $\pm$ 0,000 ^{ab}	0,061 $\pm$ 0,012 ^a	0,313 $\pm$ 0,025 ^a
TN 0,1%	0,051 $\pm$ 0,017 ^a	0,018 $\pm$ 0,000 ^a	0,084 $\pm$ 0,020 ^a	0,149 $\pm$ 0,063 ^{ab}	0,846 $\pm$ 0,021 ^c	0,017 $\pm$ 0,000 ^a	0,029 $\pm$ 0,030 ^a	0,040 $\pm$ 0,014 ^a	0,269 $\pm$ 0,042 ^c	n.d.	0,020 $\pm$ 0,003 ^a	0,014 $\pm$ 0,009 ^{ab}	0,058 $\pm$ 0,001 ^a	0,282 $\pm$ 0,050 ^a
TN 0,05%	0,073 $\pm$ 0,000 ^a	0,021 $\pm$ 0,001 ^a	0,107 $\pm$ 0,003 ^a	0,176 $\pm$ 0,023 ^b	0,818 $\pm$ 0,004 ^{bc}	0,017 $\pm$ 0,004 ^a	0,035 $\pm$ 0,037 ^a	0,038 $\pm$ 0,000 ^a	0,230 $\pm$ 0,019 ^{abc}	n.d.	0,017 $\pm$ 0,004 ^a	n.d.	0,056 $\pm$ 0,000 ^a	0,243 $\pm$ 0,005 ^a
TF C	0,022 $\pm$ 0,000 ^b	n.d.	0,041 $\pm$ 0,004 ^b	0,047 $\pm$ 0,005 ^a	0,699 $\pm$ 0,006 ^a	0,009 $\pm$ 0,000 ^a	0,011 $\pm$ 0,001 ^a	0,014 $\pm$ 0,001 ^a	0,203 $\pm$ 0,006 ^{abc}	0,009 $\pm$ 0,000 ^{bc}	0,018 $\pm$ 0,001 ^a	0,009 $\pm$ 0,000 ^{ab}	0,030 $\pm$ 0,007 ^a	0,347 $\pm$ 0,033 ^a
TF K	0,052 $\pm$ 0,006 ^a	0,009 $\pm$ 0,003 ^a	0,089 $\pm$ 0,002 ^a	0,099 $\pm$ 0,015 ^{ab}	0,783 $\pm$ 0,003 ^{abc}	0,013 $\pm$ 0,002 ^a	0,022 $\pm$ 0,002 ^a	0,021 $\pm$ 0,000 ^a	0,193 $\pm$ 0,003 ^{ab}	0,008 $\pm$ 0,002 ^{bc}	0,020 $\pm$ 0,002 ^a	0,010 $\pm$ 0,000 ^{ab}	0,035 $\pm$ 0,001 ^a	0,297 $\pm$ 0,023 ^a
TF 0,1%	0,045 $\pm$ 0,014 ^{ab}	0,015 $\pm$ 0,000 ^a	0,078 $\pm$ 0,018 ^{ab}	0,101 $\pm$ 0,020 ^{ab}	0,733 $\pm$ 0,016 ^{ab}	0,012 $\pm$ 0,002 ^a	0,009 $\pm$ 0,000 ^a	0,021 $\pm$ 0,002 ^a	0,190 $\pm$ 0,017 ^a	0,011 $\pm$ 0,004 ^c	0,017 $\pm$ 0,001 ^a	0,011 $\pm$ 0,003 ^{ab}	0,033 $\pm$ 0,001 ^a	0,251 $\pm$ 0,030 ^a
TF 0,05%	0,064 $\pm$ 0,001 ^a	0,013 $\pm$ 0,000 ^a	0,102 $\pm$ 0,000 ^a	0,136 $\pm$ 0,009 ^{ab}	0,783 $\pm$ 0,018 ^{abc}	0,018 $\pm$ 0,006 ^a	0,013 $\pm$ 0,004 ^a	0,028 $\pm$ 0,001 ^a	0,193 $\pm$ 0,004 ^{ab}	n.d.	0,021 $\pm$ 0,006 ^a	0,011 $\pm$ 0,001 ^{ab}	0,043 $\pm$ 0,006 ^a	0,249 $\pm$ 0,000 ^a

Valores com a mesma letra na mesma linha não são significativamente diferentes entre si para um $p < 0,05$.

Legenda: TN C – Touriga Nacional controle; TN K – Touriga Nacional sujeita a tratamento com caulino; TN 0,1% - Touriga Nacional sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,1%; TN 0,05% - Touriga Nacional sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,05%; TF C – Touriga Franca controle; TF K – Touriga Franca sujeita a tratamento com caulino; TF 0,1% - Touriga Franca sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,1%; TF 0,05% - Touriga Franca sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,05%; dl-3-gluc – delphinidina-3-glucosido; ci-3-gluc – cianidina-3-glucosido; pt-3-gluc – petunidina-3-glucosido; pe-3-gluc – peonidina-3-glucosido; mv-3-gluc – malvidina-3-glucosido; dl-3-acetilgluc – delphinidina-3-acetilglucosido; ci-3-acetilgluc – cianidina-3-acetilglucosido; pt-3-acetilgluc – petonidina-3-acetilglucosido; pe-3-acetilgluc – peonidina-3-acetilglucosido; mv-3-acetilgluc – malvidina-3-acetilglucosido; dl-3-coumarilgluc – delphinidina-3-coumarilglucosido; ci-3-coumarilgluc – cianidina-3-coumarilglucosido; pt-3-coumarilgluc – petonidina-3-coumarilglucosido; pe-3-coumarilgluc – peonidina-3-coumarilglucosido; mv-3-coumarilgluc – malvidina-3-coumarilglucosido.

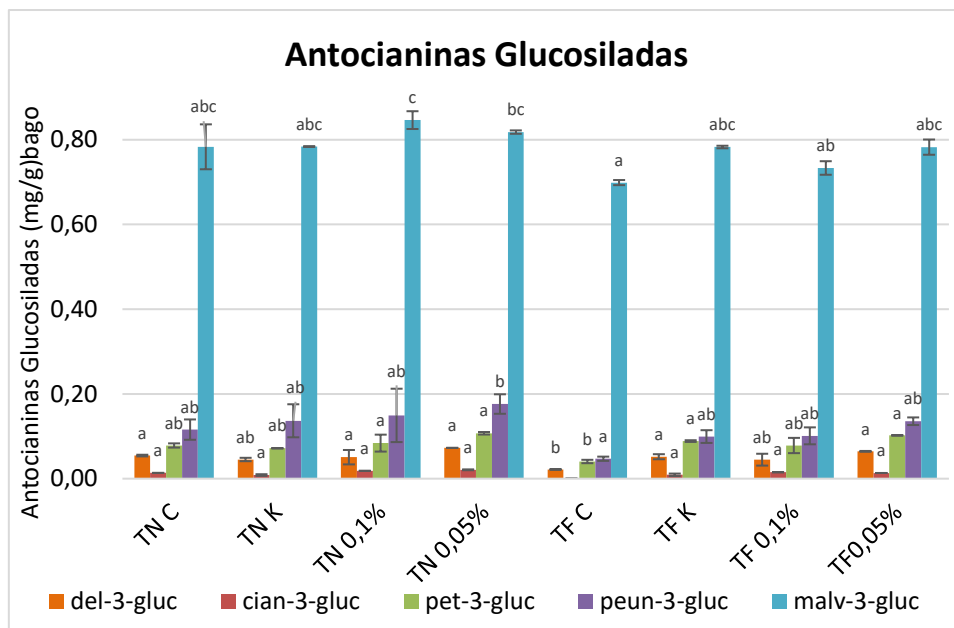


Figura 37 – Teor de antocianinas glucosiladas dos bagos das duas castas em estudo à data da vindima sujeitas a diferentes tipos de tratamentos. Barras com a mesma letra para a mesma antocianina não são significativamente diferentes $p < 0,05$.

Legenda: TN C – Touriga Nacional controlo; TN K – Touriga Nacional sujeita a tratamento com caulino; TN 0,1% - Touriga Nacional sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,1%; TN 0,05% - Touriga Nacional sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,05%; TF C – Touriga Franca controlo; TF K – Touriga Franca sujeita a tratamento com caulino; TF 0,1% - Touriga Franca sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,1%; TF 0,05% - Touriga Franca sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,05%; dl-3-gluc – delfinidina-3-glucosido; ci-3-gluc – cianidina-3-glucosido; pt-3-gluc – petunidina-3-glucosido; pe-3-gluc – peonidina-3-glucosido; mv-3-gluc – malvidina-3-glucosido;.

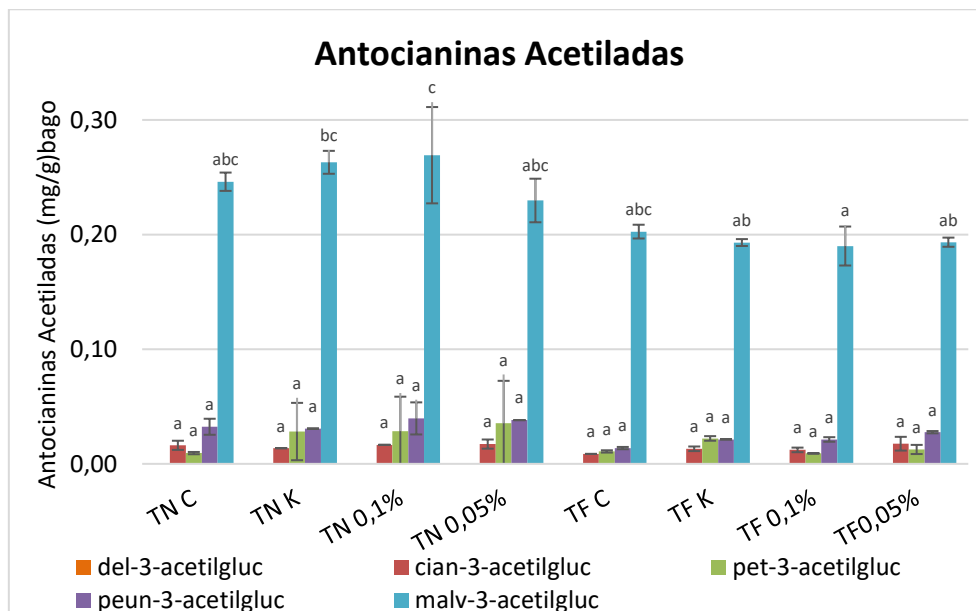


Figura 38 – Teor de antocianinas acetiladas dos bagos das duas castas em estudo à data da vindima sujeitas a diferentes tipos de tratamentos. Barras com a mesma letra para a mesma antocianina não são significativamente diferentes $p < 0,05$.

Legenda: TN C – Touriga Nacional controlo; TN K – Touriga Nacional sujeita a tratamento com caulino; TN 0,1% - Touriga Nacional sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,1%; TN 0,05% - Touriga Nacional sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,05%; TF C – Touriga Franca controlo; TF K – Touriga Franca sujeita a tratamento com caulino; TF 0,1% - Touriga Franca sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,1%; TF 0,05% - Touriga Franca sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,05%; dl-3-acetilgluc – delfinidina-3-acetilglucosido; ci-3-acetilgluc – cianidina-3-acetilglucosido; pt-3-acetilgluc – petonidina-3-acetilglucosido; pe-3-acetilgluc – peonidina-3-acetilglucosido; mv-3-acetilgluc – malvidina-3-acetilglucosido.

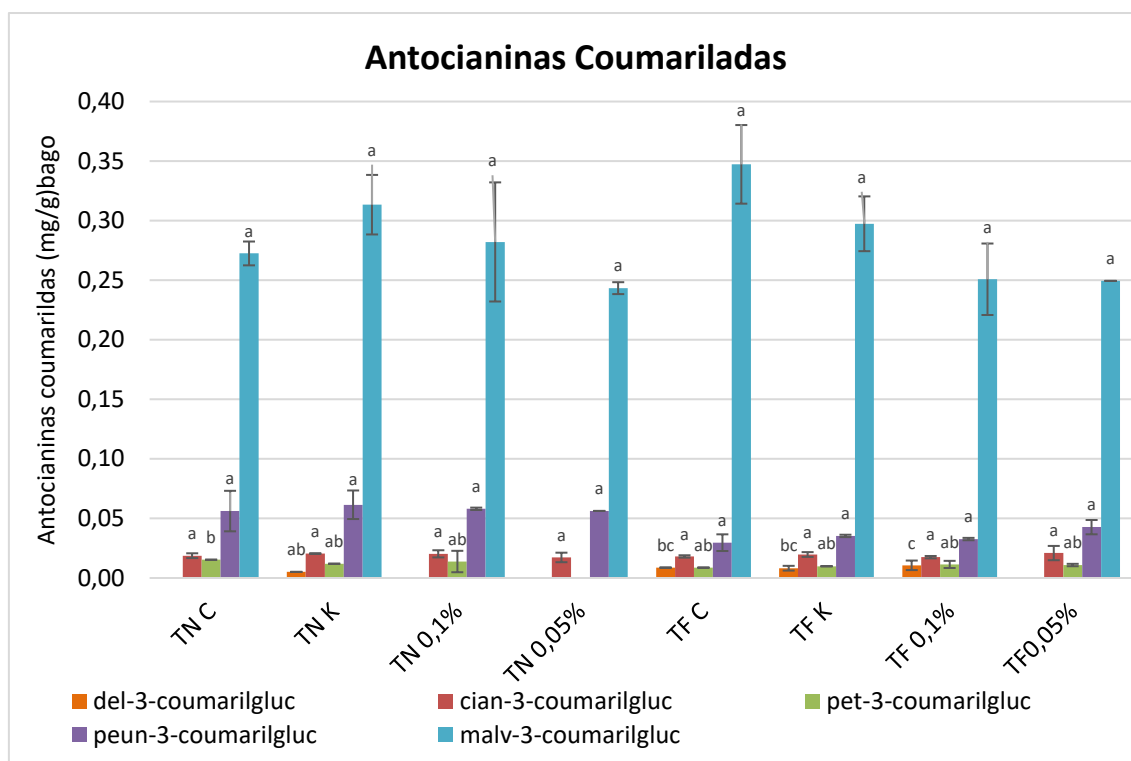


Figura 39 - Teor de antocianinas coumariladas dos bagos das duas castas em estudo à data da vindima sujeitas a diferentes tipos de tratamentos. Barras com a mesma letra para a mesma antocianina não são significativamente diferentes $p < 0,05$.

Legenda: TN C – Touriga Nacional controlo; TN K – Touriga Nacional sujeita a tratamento com caulino; TN 0,1% - Touriga Nacional sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,1%; TN 0,05% - Touriga Nacional sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,05%; TF C – Touriga Franca controlo; TF K – Touriga Franca sujeita a tratamento com caulino; TF 0,1% - Touriga Franca sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,1%; TF 0,05% - Touriga Franca sujeita a tratamento com silicato de potássio com concentração de 0,05%; dl-3-coumarilgluc – delfinidina-3-coumarilglucosido; ci-3-coumarilgluc – cianidina-3-coumarilglucosido; pt-3-coumarilgluc – petonidina-3-coumarilglucosido; pe-3-coumarilgluc – peonidina-3-coumarilglucosido; mv-3-coumarilgluc – malvidina-3-coumarilglucosido.

Capítulo 5

Conclusão

5. Conclusão

Através da análise dos resultados obtidos, o peso médio dos bagos das amostras das duas castas em estudo, podemos concluir que os bagos da casta Touriga Franca, em geral, apresenta um peso médio de bago superiores que os bagos da casta Touriga Nacional. Verificamos também que em geral, os tratamentos foliares inibem o crescimento dos bagos, uma vez que comparativamente às amostras controlo de ambas as castas, estas apresentam um peso médio menor, apesar de essa diferença não ser significativa.

Verificou-se que as aplicações foliares destes dois tipos de tratamento, silicato de potássio e caulino, e as condições de mitigação não tiveram uma influência significativa nos parâmetros de pH e álcool provável do mosto destas duas castas à data de vindima.

Em relação à composição fenólica e ao perfil das antocianinas das duas castas em estudo, Touriga Nacional e Touriga Franca, concluímos que estas são distintas entre si e entre os tratamentos foliares aplicados. Contudo, também para os compostos fenólicos totais e para as antocianinas totais não foram observadas diferenças significativas à data da vindima nos extratos das películas das duas castas em estudo. O teor de compostos fenólicos totais, dos taninos totais e das antocianinas totais presentes nas várias partes do bago, grainha e película, não são significativamente diferentes entre os diferentes tratamentos, para ambas as castas em estudo à data da vindima. Na casta Touriga Nacional, e comparativamente às amostras controlo, os bagos sujeitos a tratamento com silicato de potássio a 0,05% e 0,1% foram os que apresentaram uma maior concentração de antocianinas totais e polifenóis totais, respetivamente, apesar de essas diferenças não serem significativas relativamente à amostra controlo. Os bagos tratados com silicato de potássio a 0,05% apresentaram maior concentração de taninos totais tanto nas películas como nas grainhas, mas também neste caso não é significativamente diferente relativamente à amostra sem tratamento foliar. Na casta Touriga Franca, os bagos tratados com caulino foram os que apresentaram maior concentração de antocianinas totais. O mesmo acontece com a concentração de taninos totais nas películas, em que as amostras tratadas com caulino apresentam uma maior concentração destes compostos. As amostras controlo apresentam concentrações menores, mas não significativamente inferiores. No que diz respeito aos polifenóis

totais, as amostras sujeitas a tratamento foliar com caulino são as que apresentam maior concentração.

O perfil antociânico é significativamente diferente entre os tratamentos para as duas castas em estudo, sendo que a malvidina-3-glucósido é a antocianina presente em maior concentração para ambas as castas, Touriga Nacional e Touriga Franca, independentemente do tratamento foliar aplicado.

A partir dos resultados obtidos nos vários parâmetros estudados neste trabalho, podemos concluir que tanto o silicato de potássio como o caulino, são uma medida de mitigação promissora, ainda que a curto-prazo.

A aplicação exógena destes dois tratamentos foliares parece induzir um aumento na composição fenólica dos bagos, mesmo que essa diferença não seja significativamente diferente relativamente às amostras sem tratamento à data da vindima.

Os resultados obtidos têm bastante interesse a nível vitivinícola, uma vez que nos permite afirmar que os tratamentos foliares aplicados à videira para a proteger das secas severas e da elevada exposição solar, não afetam a qualidade dos bagos e consequentemente dos vinhos que daí resultam.

Em trabalhos futuros, seria interessante fazer um estudo da influência destes tratamentos nas diferentes vias biossintéticas, onde e como afetam a biossíntese de diversos compostos assim como fazer um estudo com diferentes variáveis como o tipo de condução da vinha ou até mesmo outras castas.

Bibliografia

- ADVID (2013). Uma Avaliação do Clima para a Região Demarcada do Douro: Uma análise das condições climáticas do passado, presente e futuro para a produção de vinho. Consultado a 30 de Março de 2017. (<http://www.advid.pt>)
- Angelo, P.M.; Jorge, N. (2007). *Phenolic compounds in foods - a brief review*. Revista do Instituto Adolfo Lutz, 66(1): 1-9.
- Böhm, J. (2010). *O Grande Livro das Castas*. 2ª Edição. Chaves Ferreira Publicações. pp. 108-111, 123, 172-173, 183. ISBN 978-972-8987-70-7. Lisboa.
- Brillante, L.; Belfiore, N.; Gaiotti, F.; Lovat, L.; Sansone, L.; Poni, S.; Tomasi, D. (2016). *Comparing kaolin and pinolene to improve sustainable grapevine production during drought*. PLoS ONE, 11: 1–19.
- Burns, J.; Gardner, P.T.; O'Neil, J.; Crawford, S.; Morecroft, I.; McPhail, D.B.; Lister, C.; Mathews, D.; MacLean, M.R.; Lean, M.E.J.; Duthie, G.G.; Crozier, A. (2000). *Relationship among antioxidant activity, vasodilatation capacity, and phenolics content of red wines*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48(2): 220-30.
- Cabrita, M.J.; Ricardo-da-Silva, J.; Laureano, O. (2003). *Os compostos fenólicos das uvas e dos vinhos*. Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa. I Seminário Internacional de Vitivinicultura. Lisboa.
- Cao, G.; Sofic, E.; Prior, R.L. (1997). *Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships*. Free Radical Biology & Medicine, 22 (5):749–760.
- Castañeda-Ovando, A.; Pacheco-hernández, M.L.; Páez-Hernández, E.; Rodríguez, J.A.; Galán-Vidal, C.A. (2009) *Chemical studies of anthocyanins: A review*. Food Chemistry, 113: 859–871.
- Chust, R. B. (1990). *Introdução Cromatografia de Líquidos (HPLC)*. Boletim SPQ, 39.
- Coelho, J.P.M. (2013). *Identificação e quantificação de compostos fenólicos em própolis da região sul do Brasil. Avaliação da atividade antioxidante por técnicas espectroscópicas e eletroquímicas*. Dissertação de Mestrado. Instituto Politécnico de Bragança.
- Conde, C.; Silva, P.; Fontes, N.; Dias, A.C.P.; Tavares, R.M.; Sousa, M.J.; Agasse, A.; Delrot, S.; Gerós, H. (2007). *Biochemical changes throughout grape berry development and fruit and wine quality*. Global Science Books, 1: 1-22.

- Correia, P.T.R. (2014). *A maturação fenólica em uvas tintas. Comparação de metodologia*. Dissertação de Mestrado. Universidade de Évora.
- Costa, E.; Cosme, F.; Rivero-Pérez, M. D.; Jordão, A. M.; González-SanJosé, M. L. (2015). *Influence of wine region provenance on phenolic composition, antioxidant capacity and radical scavenger activity of traditional Portuguese red grape varieties*. European Food Research and Technology, 241: 61-73.
- Costa, E.; Da Silva, J. F.; Cosme, F.; Jordão, A. M. (2015). *Adaptability of some French red grape varieties cultivated at two different Portuguese terroirs: Comparative analysis with two Portuguese red grape varieties using physicochemical and phenolic parameters*. Food Research International, 78: 302-312.
- Da Costa, D. C. (2012). *Caracterização de variedades minoritárias de Vitis vinifera L. da região de Trás-os-Montes e contribuição para o estudo do seu potencial enológico*. Dissertação de Mestrado. Instituto Politécnico de Bragança – Escola Superior Agrária.
- Dias, C. A. F. (2011). *Avaliação de taninos condensados, antocianinas e precursores de aroma ao longo da maturação em castas tintas: Efeito da altitude da vinha*. Dissertação de Mestrado. Instituto Superior de Agronomia – Universidade Técnica de Lisboa.
- Dinis, L.-T.; Bernardo, S.; Conde, A.; Pimentel, D.; Ferreira, H.; Félix, L.; Gerós, H.; Correia, C. M.; Moutinho-Pereira, J. (2016). *Kaolin exogenous application boosts antioxidant capacity and phenolic content in berries and leaves of grapevine under summer stress*. Journal of Plant Physiology, 191, 45-53.
- Dornemann, G. M. (2016). *Comparação de Métodos para Determinação de Açúcares Redutores e Não-Redutores*. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Escola de Engenharia. Departamento de Engenharia Química.
- Downey, M. O.; Dokoozlian, N. K.; Krstic, M. P. (2006). *Cultural Practice and Environmental Impacts on the Flavonoid Composition of Grapes and Wine: A Review of Recent Research*. American Journal of Enology and Viticulture, 57: 3.
- Falco da Costa, V. A. C. (1997). *Introdução à cromatografia líquida de alta eficiência. Relatório de uma aula teórico-prática*. Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro.
- Fauteux, F.; Rémus-Borel, W.; Menzies, J. G.; Bélanger, R. R. (2005). *Silicon and plant disease resistance against pathogenic fungi*. FEMS Microbiology Letters, 249: 1–6.

- Fernandes, A.L.M.A.P. (2007). *Impacto da rolha de cortiça na composição polifenólica de vinhos tintos engarrafados*. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências da Universidade do Porto.
- Figueiredo-González, M.; Carballo, E.M.; Grande, B.C.; Santiago, J.L.; Martínez, M.C. (2002). *Pattern recognition of three Vitis vinifera L. red grapes varieties based on anthocyanin and flavonol profiles, with correlations between their biosynthesis pathways*. Food Chemistry, 130: 9–19.
- Fogaça, A. O.; Daudt, C. E. (2015). *Phenolic potential of Merlot grapes and its correlation with wine phenolic composition*. Revista Brasileira de Fruticultura, V. 37, 3: 578-587.
- Fraga, H.; Malheiro, A. C.; Moutinho-Pereira, J.; Santos, J. A. (2013). *Future scenarios for viticultural in Europe: ensemble projections and uncertainties*. International Journal of Biometeorology, 57: 909–925.
- García-Beneytez, E.; Revilla, E.; Cabello, F. (2002). *Anthocyanin pattern of several red grape cultivars and wines made from them*. European Food Research and Technology, 215:32–37.
- Glenn, D.M.; Puterka, G.J. (2005). *Particle Films: A New Technology for Agriculture* (cap.1), Horticultural Reviews, 1-44.
- Gonçalves, R.M.F. (2007). *Estudo da inibição da tripsina por compostos fenólicos isolados de fontes naturais. Efeito antinutricional de bebidas comuns*. Tese de Mestrado. Departamento de Química da Faculdade de Ciências da Universidade do Porto. Escola de Engenharia da Universidade do Minho.
- Gong, H., Chen, K., Chen, G., Wang, S., Zhang, C. (2003). *Effects of Silicon on Growth of Wheat Under Drought*. Journal of Plant Nutrition, 26, 1055–1063.
- He, F.; Mu, L.; Yan, G.; Liang, N.; Pan, Q.; Wang, J.; Reeves, M. J.; Duan, C. (2010). *Biosynthesis of Anthocyanins and Their Regulation in Colored Grapes*. Molecules, 15: 9057-9091.
- Holton, A.; Cornish, E. C. (1995). *Genetics and biochemistry of anthocyanin biosynthesis*. The Plant Cell, 7: 1071-1083.
- Jin, Z.-M.; He, J.-J.; Bi, H.-Q; Cui, X.-Y.; Duan, C.-Q.; (2009). *Phenolic compound profiles in berry skins from nine red wine grape cultivars in northwest China*. Molecules, 14: 4922-4935.
- Jones, G. V.; White, M. A.; Cooper, O. R.; Storchmann, K. (2005). *Climate Change and Global Wine Quality*. Climatic Change, 73: 319–343.

- Kennedy, J.A.; Saucier, C.; Glories, Y. (2006). *Grapes and wine phenolics: History and perspective*. American Journal of Enology and Viticulture, 57(3): 239-248.
- Lai, X.; Pei, Q.; Song, X.; Zhou, X.; Yin, Z.; Jia, R.; Zou, Y.; Li, L.; Yue, G.; Liang, X.; Yin, L.; Lv, L.; Jing, B. (2016). *The enhancement of immune function and activation of NF- κ B by resveratrol-treatment in immunosuppressive mice*. International Immunopharmacology, 33: 42–47.
- Lee, J. (2005). *Determination of Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines by the pH Differential Method: Collaborative Study*. Journal of AOAC International, 88(5): 1269-1278.
- Lima, I. M. S. B. A. (2014). *Previsão de Produção da casta Touriga Franca na região do Douro com base nas Componentes de Rendimento*. Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Viticultura e Enologia. Universidade de Lisboa.
- Lobo, A.M.; Lourenço, A.M. (2007). *Biossíntese de Produtos Naturais*. IST Press, pp. 169. ISBN 978-972-8469-50-4.
- Lobos, G.A.; Acevedo-opazo, C.; Guajardo-moreno, A.; Valdés-gómez, H.; Taylor, J.A.; Laurie, V.F. (2015). *Effects of kaolin-based particle film and fruit zone netting on Cabernet Sauvignon grapevine physiology and fruit quality*. OENO One, 49: 137–144.
- Ma, J. F.; Yamaji, N. (2006). *Silicon uptake and accumulation in higher plants*. Trends in plant Science, 11: 392-397.
- Magalhães, N. (2008). *Tratado de Viticultura-A Videira, A Vinha e o “Terroir”*. 1ª Edição. Grafo Industrias Gráficas. Espanha. pp. 55-58, 580-584.
- Mateus, N.; Machado, J.M.; Freitas, V. (2002). *Development changes of anthocyanins in Vitis vinífera grapes grown in the Douro Valley and concentration in respective wines*. Journal of the Science of Food and Agriculture 82:1689-1695.
- Moutinho-Pereira, J.; Dinis, L. T.; Fraga, H.; Ferreira, H.; Gonçalves, I.; Oliveira, A. A.; Falco, V.; Malheiro, A. C.; Correia, C. M. (2015). *Potencialidades do caulino como protetor solar das folhas e cachos no período estival na região demarcada do douro*. Agrotec: 71-81.
- Núñez, V.; Monagas, M.; Gomez-Cordovés, M.C.; Bartolomé, B. (2004). *Vitis vinífera L. cv. Graciano grapes characterized by its anthocyanin profile*. Postharvest Biology and Technology. 31: 69–79.

- Oliveira, A. (2003). *Análise do comportamento vitivinícola da casta “Touriga Nacional”, face a diferentes condições geográficas e culturais na Região Demarcada do Douro*. Dissertação de Doutoramento, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, pp 86; 110.
- Pardo-Gacrcía, A.I.; Martínez-Gil, A.M.; Cadahía, E.; Pardo, F.; Alonso, G.L.; Salinas, M.R. (2014). *Oak extract application to grapevines as a plant biostimulant to increase wine polyphenols*. Food Research International 55: 150–160.
- Peynaud, E. (1993). *Conhecer e trabalhar o vinho*. Litexa Editora, Lda. pp. 65-80. ISBN 2-04-011417-3
- Pinto, A.C.; Silva, D.H.S.; Bolzani, V.S.; Lopes, N.P.; Epifanio, R.A. (2002). *Produtos naturais: Atualidade, desafios e perspectivas*. Química Nova. 25 (1): 45-61.
- Pomar, F.; Novo, M.; Masa, A. (2005). *Varietal differences among the anthocyanin profiles of 50 red table grape cultivars studied by high performance liquid chromatography*. Journal of Chromatography A, 1094: 34–41.
- Ramos, A. R. P.; Santos, R. L.; Amaro, A. C. E.; Fumes, L. A. A.; Boaro, C. S. F.; Cardoso, A. I. I. (2013). *Eficiência do silicato de potássio no controle do oídio e no desenvolvimento de abobrinha de moita*. Horticultura Brasileira, 31: 432-438.
- Ribéreau-Gayon, P.; Glories, Y.; Maujean, A.; Dubouedieu, D. (2006). *Handbook of Enology. Volume 2. The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments*. 2nd Edition. John Wiley & Sons, Ltd. England. pp. 144. ISBN: 978-0-470-01037-2 ISBN: 0-470-01037-1
- Shellie, K.C.; King, B.A. (2013). *Kaolin particle film and water deficit influence malbec leaf and berry temperature, pigments, and photosynthesis*. American Journal of Enology and Viticulture, 64: 223–230.
- Silveira, A.L.C. (2013). *Validação de métodos para a determinação de compostos fenólicos em melancia*. Dissertação de Mestrado. Instituto Politécnico de Castelo Branco – Escola Superior Agrária.
- Skoog, D. A.; Holler, F. J.; Crouch, S. R. (2006). *Principle of Instrumental Analysis*. 6º Edição. Cengage Learning.
- Skoog, D. A.; West, D. M.; Holler, F. J.; Crouch, S. R. (2001) *Química Analítica*. 7ª Edição. McGraw-Hill. México. pp. 666, 708, 709. ISBN 970-10-3358-2
- Soares, S.; Sousa, A.; Mateus, N.; Freitas, V. (2012) *Effect of Condensed Tannins Addition on the Astringency of Red Wines*. Chemical Senses, 37: 191–198

- Soutinho, S. M. A. (2012). *Avaliação dos compostos fenólicos e da atividade antioxidante de frutos vermelhos produzidos em modo biológico*. Dissertação de Mestrado. Instituto Politécnico de Viseu – Escola Superior Agraria de Viseu.
- Su, M.; Chien, P. (2007). *Antioxidant activity, anthocyanins, and phenolics of rabbiteye blueberry (Vaccinium ashei) fluid products as affected by fermentation*. Food Chemistry, 104: 182–187.
- Teixeira, L. N.; Stringheta, P. C.; De Oliveira, F. A. (2008). *Comparação de métodos para quantificação de antocianinas*. Revista Ceres, 55 (4): 297-304.
- Vasconcelos, M. (2008). *Caulino, das origens às aplicações*. Dissertação de mestrado. Universidade de Aveiro.
- Vasconcelos, M. T.; Azenha, M.; Freitas, V. (1999). *Role of Polyphenols in Copper Complexation in Red Wine*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47: 2791-2796.
- Velho, J. M. L. (2012). *Classificação de castas em vinhos do Douro usando Redes Neurais Artificiais*. Dissertação de Mestrado. Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro.
- Zhang, C.; Luo, J.; Yu, B.; Zheng, P.; Huang, Z.; Mao, X.; He, J.; Yu, J.; Chen, J.; Chen, D. (2015). *Dietary resveratrol supplementation improves meat quality of finishing pigs through changing muscle fiber characteristics and antioxidative status*. Meat Science, 102: 15–21.

Sites consultados

Clube dos Vinhos, disponível em: <https://www.clubedosvinhos.com.br/portugal-o-pais-das-uvas-autoctones/>, consultado a 16 de Maio de 2016.

Douro Azul, disponível em: <http://www.douroazul.com/Default.aspx?ID=1270>, consultado a 21 de Junho de 2016.

FAOSTAT, disponível em: <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>, consultado a 16 de Maio de 2016.

Instituto da Vinha e do Vinho, disponível em: <http://www.ivv.min-agricultura.pt/np4/regioes>, consultado a 16 de Maio de 2016.

Museu do Douro, disponível em: <http://www.museudodouro.pt/regiao-demarcada-do-douro>, consultado a 21 de Junho de 2016.

Museu do Douro, disponível em: <http://www.museudodouro.pt/regiao-demarcada-do-douro>, consultado a 25 de Julho de 2017.

Vinha, disponível em: <https://www.vinha.pt/wikivinha/casta-vinho/touriga-franca/>, consultado a 22 de Junho de 2017.

Wikipedia, disponível em: https://pt.wikipedia.org/wiki/Touriga_Nacional, consultado a 22 de Junho de 2016.

http://www.crq4.org.br/sms/files/file/conceitos_hplc_2010.pdf [Consultado a 17 de Março de 2017]

Biomedicina Brasil, disponível em:

<http://www.biomedicinabrasil.com/2012/10/metodos-cromatograficos.html>

[Consultado a 11 de Julho de 2017]

Revista de Vinhos: A Essência do vinho, disponível em:

<http://www.revistadevinhos.pt/artigos/show.aspx?seccao=segredos-do-vinho&artigo=10595&title=sulfuroso-e-sulfitos&idioma=pt>

[Consultado a 14 Julho de 2017]

Quinta do Vallado, disponível em: <http://www.quintadovallado.com/quinta-orgal/?idioma=pt> [Consultado a 1 de Setembro de 2016]