



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA
REDE NORDESTE DE BIOTECNOLOGIA

ERIKA SAMANTHA SANTOS DE CARVALHO

**INTERVENÇÕES AGRONÔMICAS E ENOLÓGICAS PARA A MELHORIA
DA QUALIDADE DO VINHO TOURIGA NACIONAL PRODUZIDO NO
SUBMÉDIO DO VALE DO SÃO FRANCISCO**

SALVADOR
2024

**INTERVENÇÕES AGRONÔMICAS E ENOLÓGICAS PARA A MELHORIA
DA QUALIDADE DO VINHO TOURIGA NACIONAL PRODUZIDO NO
SUBMÉDIO DO VALE DO SÃO FRANCISCO**

ERIKA SAMANTHA SANTOS DE CARVALHO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Biotecnologia - RENORBIO da Universidade Federal do
Ceará para obtenção do título de doutora em Biotecnologia.

Área de concentração: Recursos Naturais.

Orientadora: Profa. Dra. Aline Telles Biasoto Marques
Co-orientadora: Dra Maria Auxiliadora Coelho de Lima

**SALVADOR
2024**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Universitário de Bibliotecas (SIBI/UFBA),
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

SANTOS DE CARVALHO, ERIKA SAMANTHA
INTERVENÇÕES AGRONÔMICAS DE ENOLÓGICAS PARA A
MELHORIA DA QUALIDADE DO VINHO TOURIGA NACIONAL
PRODUZIDO NO SUBMÉDIO DO VALE DO SÃO FRANCISCO / ERIKA
SAMANTHA SANTOS DE CARVALHO. -- SALVADOR, 2024.
192 f.

Orientador: ALINE TELLES BIASOTO MARQUES.
Coorientador: MARIA AUXILIADORA COELHO DE LIMA.
Tese (Doutorado - PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
BIOTECNOLOGIA - RECURSOS NATURAIS) -- Universidade
Federal da Bahia, UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA, 2024.

1. VITICULTURA TROPICAL. 2. ESTÁDIO DE MATURAÇÃO.
3. MACERAÇÃO. 4. PERFIL METABÓLICO. 5. PERFIL
SENSORIAL. I. TELLES BIASOTO MARQUES, ALINE. II.
COELHO DE LIMA, MARIA AUXILIADORA. III. Título.

TERMO DE APROVAÇÃO

A TESE:

“INTERVENÇÕES AGRONÔMICAS E ENOLÓGICAS PARA A MELHORIA DA QUALIDADE DO VINHO TOURIGA NACIONAL PRODUZIDO NO SUBMÉDIO DO VALE DO SÃO FRANCISCO”

Elaborada por:

ERIKA SAMANTHA SANTOS DE CARVALHO

Foi aprovada por todos os membros da banca examinadora e aceita pelo Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Renorbio como requisito parcial à obtenção do título de

DOCTORA EM BIOTECNOLOGIA

Salvador – Bahia, 08 de março de 2024.

BANCA EXAMINADORA:

Documento assinado digitalmente
 **ALINE TELLES BIASOTO MARQUES**
Data: 11/03/2024 11:55:11-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Profa Dra Aline Camarão Telles Biasoto
(Orientadora)
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

Documento assinado digitalmente
 **RENATO DELMONDEZ DE CASTRO**
Data: 14/03/2024 11:15:55-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Profa Dr Renato Delmondez de Castro
Universidade Federal da Bahia (UFBA)



Documento assinado digitalmente
MARCELO ANDRES UMSZA GUEZ
Data: 12/03/2024 17:12:22-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof Dr Marcelo Andrés Umsza Guez
Universidade Federal da Bahia (UFBA)



Documento assinado digitalmente
JULIANE ELISA WELKE
Data: 11/03/2024 12:36:50-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Profa Dra Juliene Elisa Welke
Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)



Documento assinado digitalmente
LUZIMAR GONZAGA FERNANDEZ
Data: 13/03/2024 20:28:56-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Profa Dra Luzimar Gonzaga Fernandez
Universidade Federal da Bahia (UFBA)

Aos meus pais
e as minhas irmãs
Tássia e Bia.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, minhas irmãs, Tassia e Beatriz, e minha avó Vera, por serem o alicerce que me trouxe até este momento. Suas constantes demonstrações de amor, apoio e incentivo foram essenciais para que eu pudesse alcançar meus objetivos.

Aos meus amigos Thamires, Grace e Danilinho por sua presença e apoio foram fundamentais para me manter firme durante todo o processo.

À professora Janice Izabel Druzian (in memoriam) por ter acreditado no meu projeto e confiado no meu trabalho desde o início. Seu legado continua vivo em muitos de nós e sua presença será eternamente lembrada com carinho e respeito.

À minha orientadora Aline Biasoto pelos valiosos ensinamentos, comprometimento e dedicação demonstrados ao longo deste trabalho. Seu apoio e orientação foram fundamentais para o sucesso desta pesquisa.

Aos colegas do Laboratório de Enologia da Embrapa Semiárido pelos esforços para que fosse possível realizar os experimentos deste trabalho.

Às colegas de Renorbio, Renata e Ana Paula, pelo acolhimento e apoio.

À vinícolas Santa Maria (Vinhos Rio Sol) pelo apoio com a doação das uvas.

À Embrapa Semiárido pela estrutura disponível para a realização desse trabalho.

À FAPESB pelo financiamento da bolsa de estudo.

Ao RENORBIO e à UFBA pela oportunidade, e aos professores pela generosa partilha de conhecimento ao longo desta jornada.

RESUMO

A região do Submédio do Vale do São Francisco, no Nordeste brasileiro, destaca-se por uma abordagem singular na viticultura, conhecida como viticultura tropical. Diferenciando-se das regiões vitivinícolas convencionais, na região é possível a produção de até duas safras e meia anuais na mesma área, distribuída ao longo do ano. Nesse cenário, os vinhos finos elaborados com a uva *Vitis vinifera* L., entre elas aqueles elaborados a partir da cultivar Touriga Nacional, têm se destacado no cenário internacional. Este estudo teve como objetivo propor alternativas agronômicas e enológicas para melhorar a qualidade sensorial do vinho tinto tropical 'Touriga Nacional' produzido no Submédio Vale do São Francisco. Foram investigados o impacto no perfil físico-químico, metabolômico, sensorial e na capacidade antioxidante da época do ano de colheita, do estágio de maturação da uva e do tempo de duração da maceração durante o processo de vinificação tradicional (maceração simultânea a fermentação alcoólica). Para isso, foram elaborados vinhos experimentais a partir de uvas colhidas em três estágios de maturação durante duas épocas distintas: safra I ("safra de verão", com colheita a partir de 09/02/2017, e safra II ("safra de inverno"), com colheita a partir de 12/07/2017. As uvas foram colhidas em três estágios de maturação (antes, durante e após a maturação tecnológica), variando de 21,6° a 24,5° Brix na safra I e de 22,5° a 24,6° Brix na safra II, com intervalos de sete dias entre as datas de colheita. Durante a vinificação, a maceração foi realizada em três períodos distintos (7, 14 e 21 dias) para cada época de colheita e estágio de maturação da uva. Adicionalmente, mostos para análise foram coletados logo após a vinificação e durante toda a etapa de maceração do tratamento elaborado com uvas colhidas em sobrematuração (ao redor de 24°Brix) e 21 dias de maceração. Esta tese foi dividida em quatro capítulos, o primeiro deles compõe a referência bibliográfica. O segundo capítulo refere-se ao artigo "Extended maceration of must improves phenolic composition and antioxidant potential of Touriga Nacional tropical wines". Os resultados apontaram que a maceração prolongada aumenta a concentração de compostos fenólicos (principalmente flavanóis), a intensidade da cor e a capacidade antioxidante do mosto do vinho. No terceiro capítulo, o artigo "Effect of grape maturation stage and maceration time on the physicochemical, sensory, and nutraceutical profile of tropical red wine from the Touriga Nacional cultivar according to harvest season", os resultados demonstraram que o estágio de maturação das uvas no momento da colheita teve maior impacto na composição físico-química e no conteúdo de compostos fenólicos dos vinhos, sendo a intensidade de cor, o índice de polifenóis totais, o teor alcoólico e a concentração da maioria dos compostos fenólicos superior no vinho elaborado com uvas colhidas em estágio mais avançado. Entretanto, o prolongamento da maceração para mais de 14 dias, promoveu um incremento na capacidade antioxidante do vinho 'Touriga Nacional'. A colheita de uvas na safra de inverno, promoveu ao vinho tropical maior conteúdo de compostos fenólicos das classes dos ácidos fenólicos, antocianinas monoméricas, estilbenos e flavanóis. No quarto capítulo "¹H NMR and UPLC-HRMS-based metabolomic approach for evaluation of the grape maturity and maceration time of Touriga Nacional wines and their correlation with the chemical stability", utilizou-se abordagem inovadora (cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas e ressonância nuclear magnética) para entender como a época de colheita do ano, estágio de maturação das uvas e tempo de maceração afetam no perfil metabolômico do vinho tropical Touriga Nacional. Adicionalmente, análises quimiométricas foram aplicadas para relacionar esse perfil metabolômico com as características sensoriais e

estabilidade química do vinho. A época da colheita seguido do estágio de maturação da uva foram os efeitos mais impactantes no perfil metabolômico do vinho. Novamente, procianidinas e outros flavanóis foram encontrados em maiores concentrações nos vinhos elaborados com as uvas colhidas na “safra de inverno”, em sobrematuração e macerados por 21 dias. Os vinhos de melhor estabilidade química foram elaborados a partir de uvas colhidas em sobrematuração, e quem continham maiores concentração de ácido galacturônico. Assim, as informações geradas na tese podem orientar os produtores na tomada de decisões cruciais relacionadas à data de colheita da uva ‘Touriga Nacional’, e tempo de maceração, em função da época do ano, com o objetivo de produzir vinhos de alta qualidade e maior estabilidade química. A relevância deste estudo é evidente ao fornecer *insights* valiosos para os produtores da região do Submédio do Vale do São Francisco e de outras regiões de clima tropical.

Palavras-chaves: viticultura tropical, estágio de maturação, maceração, perfil metabolômico, perfil sensorial.

ABSTRACT

The Submiddle region of the São Francisco Valley in the Brazilian Northeast stands out for a unique approach in viticulture, known as tropical viticulture. Differing from conventional wine-producing regions, it enables the production of up to two and a half harvests annually in the same area, distributed throughout the year. In this scenario, fine wines made from the *Vitis vinifera* L. grape, including those made from the Touriga Nacional cultivar, have gained prominence on the international stage. This study aimed to propose agronomic and oenological alternatives to improve the sensory quality of tropical red wine 'Touriga Nacional' produced in the Submiddle São Francisco Valley. The impact on the physicochemical, metabolomic, sensory, and antioxidant capacity of harvest timing, grape maturity stage, and maceration duration during traditional winemaking processes (simultaneous maceration with alcoholic fermentation) was investigated. Experimental wines were produced from grapes harvested at three maturity stages during two distinct seasons: harvest I ("summer harvest," starting from 02/09/2017) and harvest II ("winter harvest," starting from 07/12/2017). Grapes were harvested at three maturity stages (pre-, during, and post-technological maturation), ranging from 21.6° to 24.5° Brix in harvest I and from 22.5° to 24.6° Brix in harvest II, with seven-day intervals between harvest dates. During vinification, maceration was carried out at three different periods (7, 14, and 21 days) for each harvest season and grape maturity stage. Additionally, grape musts for analysis were collected immediately after vinification and throughout the maceration stage of the treatment made with overripe grapes (around 24° Brix) and 21 days of maceration. This thesis was divided into four chapters, the first being the bibliographic reference. The second chapter refers to the article "Extended maceration of must improves phenolic composition and antioxidant potential of Touriga Nacional tropical wines." The results indicated that extended maceration increases the concentration of phenolic compounds (mainly flavanols), color intensity, and antioxidant capacity of the wine must. In the third chapter, the article "Effect of grape maturation stage and maceration time on the physicochemical, sensory, and nutraceutical profile of tropical red wine from the Touriga Nacional cultivar according to harvest season" demonstrated that the grape maturity stage at harvest had a greater impact on the physicochemical composition and phenolic compound content of the wines, with color intensity, total polyphenol index, alcohol content, and concentration of most phenolic compounds being higher in wines made from grapes harvested at a more advanced stage. However, extending maceration for more than 14 days promoted an increase in the antioxidant capacity of 'Touriga Nacional' wine. Harvesting grapes in the winter season promoted higher phenolic compound content of the tropical wine from the 'Touriga Nacional' cultivar. In the fourth chapter, "¹H NMR and UPLC-HRMS-based metabolomic approach for evaluation of grape maturity and maceration time of Touriga Nacional wines and their correlation with chemical stability," an innovative approach (liquid chromatography coupled with mass spectrometry and nuclear magnetic resonance) was used to understand how harvest season, grape maturity stage, and

maceration time affect the metabolomic profile of tropical Touriga Nacional wine. Additionally, chemometric analyses were applied to relate this metabolomic profile to the sensory characteristics and chemical stability of the wine. Harvest season followed by grape maturity stage were the most impactful effects on the wine's metabolomic profile. Once again, procyanidins and other flavanols were found in higher concentrations in wines made from grapes harvested in the winter season, overripe and macerated for 21 days. Wines with better chemical stability were made from overripe grapes containing higher concentrations of galacturonic acid. Thus, the information generated in this thesis can guide producers in making crucial decisions regarding the harvest date of 'Touriga Nacional' grapes and maceration time, depending on the season, with the aim of producing high-quality wines with greater chemical stability. The relevance of this study is evident in providing valuable insights for producers in the Submiddle São Francisco Valley region and other tropical climate regions.

Key words: Tropical viticulture, ripeness grape, maceration, metabolomic profile, sensory profile.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO I

Figura 1: Cacho de Uva, cultivar Touriga Nacional. Foto: Erika Samantha.....34

Figura 2. Principais antocianinas encontradas nas uvas *Vitis vinífera* L. Fonte: Barbará, 2019.....38

Figura 3. Fluxograma de elaboração de vinho, elaborado pelo autor e adaptado por Jackson (2008)53

CAPÍTULO II

Figure 1. Scheme showing the field experiments that originate the wines used in this study for 2016 and 2017 harvests. Grapes from cultivar Touriga Nacional were harvested, with each area consisting of 6 plants in each side, totalizing 12 plants.....71

Figure 2. Predictive models for the maceration time of Touriga Nacional red must regarding color intensity (A), Total phenolic content (B), Antioxidant capacity expressed by the radical DPPH (C) and ABTS (D), Total phenolic acids (E), Total flavanols (F), Total Stilbenes (G), Total anthocyanins (H) and Total Flavonols (I).....89

CAPÍTULO III

Figura 1. Análise de Componentes principais (ACP) obtida com os resultados da análise sensorial descritiva e de quantificação dos compostos fenólicos, gerada a partir de uma matriz de correlação onde os compostos fenólicos são as variáveis principais e os descritores sensoriais as variáveis suplementares.....138

Figura 1A: gráfico representando a distribuição das amostras de vinhos Touriga Nacional elaborados no Submédio do Vale do São Francisco e com uvas colhidas em duas safras do mesmo ano, Safra I (azul) e Safra II (laranja). Safra I: T1, T2 e T3 representam os vinhos elaborados com as uvas colhidas aos 106, 113 e 119 dias após a poda para a colheita (DAP), respectivamente; M, M2 e M3 representam os vinhos elaborados com 7, 14 e 21 dias de duração da maceração durante a vinificação, respectivamente. Safra II: T1, T2 e T3 representam os vinhos elaborados com as uvas colhidas aos 112, 119 e 125 dias após a poda para a colheita (DAP), respectivamente; M, M2 e M3 representam os vinhos elaborados com 7, 14 e 21 dias de duração da maceração durante a vinificação, respectivamente.....139

Figura 1B: gráfico representando a distribuição das variáveis analisadas nos vinhos (*loadings*).....140

CAPÍTULO IV

Figura. 1 Análise PLS-DA para o conjunto de dados UPLC-HRMS de vinhos Touriga Nacional produzidos em julho (bola azul) e fevereiro (bola vermelha): a) Escores LV1 × LV2 para avaliação exploratória dos vinhos de acordo com o principal fator sazonal; b) Gráfico de influência de Hotelling T2 × Q de resíduos; c) Gráfico de cargas. Legenda: 3 - Ácido cítrico; 5 - Desconhecido; 7 - Desconhecido; 8 - Ácido glutatiônico caftarico; 9 - Dímero de procianidina B; 16 - Ácido cafeico; 17 - Ácido ferúlico; 21 - Quercetina O-glucuronídeo; 25 - Miricetina; 26 - Quercetina; 27 - Derivado de ácido cafeico. (Para interpretação das referências à cor nesta legenda da figura, o leitor é encaminhado para a versão web deste artigo)171

Figura 1SI. Cromatograma UPLC-HRMS do vinho Touriga Nacional do Vale do Rio São Francisco. Legenda: 1 - Ácido galacturônico; 2 - Ácido tartárico; 3 - Ácido cítrico; 4 - Ácido málico; 5 - Desconhecido; 6 - Ácido gálico*; 7 - Desconhecido; 8 - Ácido glutatiônico caftarico; 9 - Dímero de procianidina B; 10 - Ácido caftarico; 11 - Ácido dihidrofásico hexosídeo; 12 - Tetramero de procianidina B; 13 - Dímero de procianidina B; 14 - Trímero de procianidina B; 15 - Ácido isopropilmálico; 16 - Ácido cafeico*; 17 - Ácido ferúlico*; 18 - Miricetina-O-glucosídeo; 19 - Isômero de hexose de tetrahidroxi-dimetoxi-isoflavona; 20 - Quercetina O-glucosídeo*; 21 - Quercetina-O-glucuronídeo; 22 - Astilbina*; 23 - Isômero de hexose de tetrahidroxi-dimetoxi-isoflavona; 24 - Isorramnetina-O-hexosídeo; 25 - Miricetina*; 26 - Quercetina*; 27 - Derivado de ácido cafeico; 28 - Kaempferol*167

Figura. 2. Resultados de PLS-DA para o conjunto de dados UPLC-HRMS dos vinhos Touriga Nacional produzidos com uvas colhidas em fevereiro, com base no estágio de maturação das uvas (bagas verdes, maduras e super maduras representadas como bolas verdes, azuis e vermelhas, respectivamente): a) Escores LV1 × LV2 para classificação dos vinhos de acordo com o estágio de maturação; b) Gráfico de influência de Hotelling T2 × Q de resíduos; c) Gráficos de cargas. Legenda: 1 - Ácido galacturônico; 5 - Desconhecido; 7 - Desconhecido; 8 - Ácido glutatiônico caftarico; 9 - Dímero de procianidina B; 12 - Tetramero de procianidina B; 13 - Dímero de procianidina B; 16 - Ácido cafeico; 17 - Ácido ferúlico; 23 - Isômero de hexose de tetrahidroxi-dimetoxi-isoflavona; 24 - Isorramnetina-O-hexosídeo. (Para interpretação das referências à cor nesta legenda da figura, o leitor é encaminhado para a versão web deste artigo)172

Figura. 2SI. Espectro de RMN de ¹H do vinho Touriga Nacional do Vale do Rio São Francisco, mostrando os compostos caracterizados.....173

Figura. 3. Resultados de PLS-DA para o conjunto de dados UPLC-HRMS dos vinhos Touriga Nacional provenientes de uvas colhidas em fevereiro, com base no tempo de maceração (7, 14 e 21 dias, representados como bolas verdes, azuis e vermelhas, respectivamente): a) Escores LV1 × LV2 para classificação dos vinhos de acordo com o tempo de maceração; b) Gráfico de influência de Hotelling T2 × Q de resíduos; c) Gráficos de cargas. Legenda: 1 - Ácido galacturônico; 3 - Ácido cítrico; 5 - Desconhecido; 9 - Dímero de procianidina B; 12 - Tetramero de procianidina B; 13 - Dímero de procianidina B; 16 - Ácido cafeico; 17 - Ácido ferúlico; 23 - Isômero de hexose de isoflavona; 24 - Isorramnetina-O-hexosídeo; 27 - Derivado de ácido cafeico; 28 - Kaempferol. (Para interpretação das referências à cor nesta legenda da figura, o leitor é encaminhado para a versão web deste artigo)179

Figura. 3SI. Gráficos de PLS-DA para o conjunto de dados de RMN de 1H dos vinhos Touriga Nacional produzidos em fevereiro (à esquerda) e julho (à direita) de acordo com o tempo de maceração: a) e b) antes da maturidade tecnológica (uvas verdes); c) e d) na maturidade tecnológica (uvas maduras); e) e f) após a maturidade tecnológica (uvas super maduras).....180

Figura. 4. Resultados de PLS-DA para o conjunto de dados de RMN de 1H dos vinhos Touriga Nacional de acordo com a época de colheita (julho - bola azul e fevereiro - bola vermelha): a) Escores LV1 × LV2 para classificação dos vinhos de acordo com o estágio de maturação; b) Gráfico de influência de Hotelling T2 × Q de resíduos; c) Gráfico de cargas para LV1. (Para interpretação das referências à cor nesta legenda da figura, o leitor é encaminhado para a versão web deste artigo)181

Figura. 4SI. Gráfico de cargas de: a) vinhos produzidos em fevereiro usando uvas maduras; b) vinhos produzidos em julho usando uvas verdes.....181

Figura. 5. Análise PLS-DA para o conjunto de dados de RMN de 1H dos vinhos Touriga Nacional com base no estágio de maturação das uvas (bagas verdes, maduras e super maduras representadas como bolas verdes, azuis e vermelhas, respectivamente): a) Escores LV1 × LV2 para classificação dos vinhos de acordo com o estágio de maturação; b) Gráfico de influência de Hotelling T2 × Q de resíduos; c) Gráfico de cargas para LV1. (Para interpretação das referências à cor nesta legenda da figura, o leitor é encaminhado para a versão web deste artigo)182

Figura. 5SI. Resultados semi-quantitativos dos vinhos obtidos pela análise UPLC-HRMS, com o desvio padrão sobre as barras superiores: a) ácido galacturônico; b) ácido cítrico; c) ácido glutatônico caftarico; d) dímero de procianidina B; e) tetramero de

procianidina B; f) ácido cafeico; g) ácido ferúlico; h) isômero de hexose de tetrahydroxi-dimetoxi-isoflavona; i) quercetina-O-glucuronídeo; j) Isorramnetina-O-hexosídeo; l) miricetina; m) quercetina; n) derivado de ácido cafeico; o) kaempferol. Barras marcadas com letras diferentes na parte superior representam resultados estatisticamente significativos ($P < 0,05$) com base em ANOVA unifatorial, enquanto barras rotuladas com a mesma letra correspondem a resultados que não mostram diferenças estatisticamente significativas. No caso em que duas ou mais letras estão presentes sobre a barra, cada letra deve ser comparada separadamente com as letras das outras barras para determinar se os resultados mostram diferenças estatisticamente significativas.....183

Figura. 6. Resultados de PLS-DA para o conjunto de dados UPLC-HRMS dos vinhos Touriga produzidos com uvas colhidas em fevereiro e armazenados por 2,5 anos: a) Escores LV1 $\times$ LV2 para classificação dos vinhos de acordo com a estabilidade (estáveis - bolas verdes e não estáveis - bolas vermelhas); b) Gráfico de influência de Hotelling T2 $\times$ Q de resíduos; c) Gráfico de cargas. Legenda: 1 - Ácido galacturônico; 3 - Ácido cítrico; 5 - Desconhecido; 9 - Dímero de procianidina B; 12 - Tetramero de procianidina B; 13 - Dímero de procianidina B; 16 - Ácido cafeico; 17 - Ácido ferúlico; 23 - Isômero de hexose de tetrahydroxi-dimetoxi-isoflavona; 24 - Isorramnetina-O-hexosídeo. (Para interpretação das referências à cor nesta legenda da figura, o leitor é encaminhado para a versão web deste artigo)184

Figure 6SI. Resultados quantitativos dos vinhos avaliados pela análise de RMN de ^1H , com o desvio padrão sobre as barras superiores: a) ácido gálico; b) α -glicose; c) ácido tartárico; d) glicerol; e) colina; f) ácido succínico; g) ácido láctico; h) 2,3-butanodiol. Barras do gráfico marcadas com diferentes letras na parte superior representam resultados estatisticamente significativos ($P < 0,05$) com base em ANOVA unifatorial, enquanto barras rotuladas com a mesma letra correspondem a resultados que não mostram diferenças estatisticamente significativas. No caso em que duas ou mais letras estão presentes sobre a barra, cada letra deve ser comparada separadamente com as letras das outras barras para determinar se os resultados mostram diferenças estatisticamente significativas.185

Figure 7SI: Gráfico de PCA para o conjunto de dados de análise sensorial dos vinhos Touriga Nacional com base em: a) época de colheita (fevereiro - bola azul e julho - bola vermelha); b) estágio de maturação da uva (bagas verdes, maduras e super maduras representadas como bola verdes, azuis e vermelhas, respectivamente); c) tempo de

maceração (7 dias - bolas verdes, 14 dias - bolas azuis e 21 dias - bolas vermelhas); d)	
gráfico de cargas.....	186

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

Table 1. Maceration time planning and samples.....72

Table 2: Phenolic compounds ($n = 27$) of Touriga Nacional musts during maceration time at vintage 2016 and vintage 2017.78

Table 3: Pearson correlation analysis ($p \leq 0.05$) results for phenolic compounds and antioxidant activity of Touriga Nacional musts from 2016 e 2017 harvests.....83

CAPÍTULO III

Tabela 1. Dados meteorológicos mensais referentes aos dois ciclos produtivos (safra I e safra II), avaliados desde as datas das podas de produção (26/10/2016 – safra I e 22/03/2017 – safra II) até as datas de colheita (fevereiro de 2017 – safra I e julho de 2017 safra II).102

Tabela 2: Caracterização físico-química e colorimétrica dos vinhos tintos ‘Touriga Nacional’ procedentes do Submédio do Vale do São Francisco, e elaborados em duas safras de um mesmo ano (fevereiro – Safra I e julho – Safra II), a partir de uvas colhidas em três estádios de maturação e utilizando diferentes tempos de duração da maceração durante a vinificação.....111

Tabela 3: Teores de compostos fenólicos nos vinhos tintos ‘Touriga Nacional’ procedentes do Submédio do Vale do São Francisco, e elaborados a partir de uvas colhidas em três estádios de maturação em duas safras do mesmo ano (fevereiro – Safra I e julho – Safra II), utilizando diferentes tempos de duração da maceração durante a vinificação tradicional.120

Tabela 4. Capacidade antioxidante - AOX (métodos DPPH e ABTS) dos vinhos tintos ‘Touriga Nacional’ elaborados no Submédio do Vale São Francisco com uvas colhidas em diferentes estádios de maturação em duas safras do mesmo ano (fevereiro – Safra I e julho – Safra II) e utilizando diferentes tempos de duração de maceração durante a vinificação.....132

Tabela 5. Resultados da análise de correlação de Pearson ($p \leq 0,05$) obtida com a quantificação dos compostos fenólicos e avaliação da capacidade antioxidante - AOX pelos ensaios DPPH e ABTS.....134

Tabela 6: Médias da equipe sensorial com relação a avaliação dos 13 atributos selecionados para caracterizar o perfil sensorial dos vinhos da cultivar Touriga Nacional do Submédio do Vale do São Francisco elaborados com uvas colhidas em diferentes estádios de maturação em duas safras do mesmo ano (fevereiro – Safra I e julho – Safra II) e utilizando diferentes tempos de duração de maceração durante a vinificação.....136

CAPÍTULO IV

Tabela 1SI. Design Experimental para o Estudo dos Vinhos Touriga Nacional produzidos no Vale do Rio São Francisco em diferentes épocas de colheita, estágios de maturação com base no número de dias após a poda (DAP), e tempo de maceração.....155

Tabela 2SI. Anotação baseada em UPLC-HRMS para os compostos orgânicos no vinho Touriga Nacional: íons [M-H] - observados e calculados com íons de produto (MS/MS), tempo de retenção (min), fórmula molecular, erro de massa (ppm), padrão isotópico (i-fit), nome do composto e suas respectivas referências bibliográficas.....164

Tabela 3SI. Estruturas, deslocamentos químicos, multiplicidade e constantes de acoplamento dos compostos orgânicos identificados nos vinhos Touriga Nacional do Vale do Rio São Francisco.....173

Tabela 4SI. Parâmetros relacionados à intensidade de cor ($CI = A_{420} + A_{520} + A_{620}$), tonalidade ($CT = A_{420} / A_{520}$) e pH dos vinhos antes (t_0) e após 2,5 anos ($t_{2.5}$) de armazenamento, com duplicação do processo de vinificação (fevereiro e julho), e triplicação da amostragem e aquisição experimental.....181

LISTA DE ABREVIATURA

SVSF – SUBMÉDIO DO VALE DO SÃO FRANCISCO

SST – SÓLIDOS SOLÚVEIS TOTAIS

TN – TOURIGA NACIONAL

OIV - INTERNATIONAL ORGANISATION OF VINE AND WINE

DAP – DIAS APÓS A PODA

PDQ – PERFIL DESCRITIVA QUANTITATIVO

UPLC-HRMS - CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ULTRA PERFORMANCE
ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSA

NMR - ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

VSF – VALE DO SÃO FRANCISCO

MT – MATURAÇÃO TECNÓLIGA

AOX - CAPACIDADE ANTIOXIDANTE

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO	24
1. INTRODUÇÃO	26
REFERÊNCIA.....	30
2. OBEJTIVOS	32
2.1 Objetivo Geral.....	32
2.2 Objetivos Específicos	32
3. CAPÍTULO 1	34
3.1 Produção de vinho no Brasil	34
3.2 Produção de vinhos no Submédio do Vale do São Francisco.....	35
3.3 Cultivar Touriga Nacional	35
3.4 Composições do Vinho Tinto	36
3.4.1 Composição fenólica	36
3.4.2 Flavanóis	37
3.4.3 Flavonóis	38
3.4.4 Antocianinas.....	39
3.4.5 Compostos voláteis	40
3.4.6 Características físico-químicas.....	41
3.4.7 Características sensoriais.....	42
3.4.8 Potencial nutracêutico e atividade antioxidante	44
3.5 Influência do estágio de maturação da uva na qualidade dos vinhos tintos	45
3.5.1 Fenômenos que acontece durante a maturação da uva.....	45
3.5.2 Concentração de açúcares	46
3.5.3 Ácidos orgânicos	47
3.5.4 Composição fenólica	48
3.5.5 Determinação do ponto de colheita ideal	52
3.6 Processo de elaboração do vinho tinto.....	53
3.7 Influência da etapa de maceração sobre a qualidade do vinho tinto.....	56
REFERÊNCIA	57
4 CAPÍTULO II - Extended maceration of must improves phenolic composition and antioxidant potential of Touriga Nacional tropical wines.	67
ABSTRACT	67
4.1 INTRODUCTION	68

4.2 MATERIALS AND METHODS.....	70
4.2.1 Feedstock.....	70
4.2.2 Winemaking	72
4.2.3 Color intensity (CI) and total phenolic content (TPC).....	72
4.2.4 Antioxidant capacity towards DPPH radical and ABTS radical cation	73
4.2.5 Phenolic profile by HPLC-DAD-FD	73
4.2.6 Data analysis	74
4.3 RESULTS AND DISCUSSION	74
4.3.1 Phenolic profile determined by HPLC-DAD-FD	74
4.3.2 Predictive models	80
4.3.3 Analysis of Pearson correlation.....	86
4.4 CONCLUSIONS	90
REFERENCE	91
5. CAPÍTULO III Effect of grape maturation stage and maceration time on the physicochemical, sensory, and nutraceutical profile of tropical red wine from the Touriga Nacional cultivar according to harvest season.	97
ABSTRACT	Erro! Indicador não definido.
5.1 INTRODUCTION	97
5.2 MATERIAL AND METHODS.....	98
5.2.1 Raw material	99
5.2.2 Vinification	100
5.2.3 Physicochemical analyses	102
5.2.4 Analysis of phenolic compounds and antioxidant capacity by spectrophotometric methods	104
5.2.5 Identification of the phenolic compound profile.....	104
5.2.6 Sensory profile analysis	104
5.2.7 Statistical analysis	Erro! Indicador não definido.
5.3 RESULTS AND DISCUSSION.....	107
5.3.1 Physicochemical and colorimetric composition.....	107
5.3.2 Phenolic compounds	114
5.3.3 Antioxidant capacity - AOX	130
5.3.4 Sensory evaluation	133
5.3.5 Principal Component Analysis.....	136
5.4 CONCLUSION.....	139

REFERÊNCIAS	141
6 CAPITULO IV 1H NMR and UPLC-HRMS-based metabolomic approach for evaluation of the grape maturity and maceration time of Touriga Nacional wines and their correlation with the chemical stability.....	148
RESUMO.....	149
6.1 INTRODUÇÃO	150
6.2 MATERIAL E MÉTODOS	152
6.2.1 Padrões analíticos e reagentes	152
6.2.2 Experimento agrônomo e vinificação.....	152
6.2.3 Análise UPLC-HRMS.....	155
6.2.4 Análise de NMR.....	155
6.3 Análise quimiométrica para dados de UPLC-HRMS e NMR	156
6.3.1 influência da safra de colheita, estágio de maturação e tempo de maceração	156
6.3.2 A estabilidade do vinho armazenado e sua correlação com os dados de UPLC-HRMS e NMR.....	158
6.4 Quantificação dos compostos determinantes	158
6.4.1. Conjunto de dados UPLC-HRMS	158
6.4.2. Conjunto de dados 1 H NMR.....	159
6.4.3 Análise Sensorial	159
6.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	160
6.5.1 Metaboloma baseado em impressões digitais metabólicas usando UPLC-HRMS.....	160
6.5.2 Impressões digitais metabólicas baseadas em RMN (Ressonância Magnética Nuclear).....	172
Ethanol.....	175
6.5.3 Estabilidade dos vinhos armazenados	184
6.5.4 Análise sensorial de vinhos	185
6.6 CONCLUSÃO	186
REFERÊNCIAS	188
CONSIDERAÇÕES FINAIS	193
APÊNDICE 1	194
APÊNDICE 2	195
APÊNDICE 3	196
APÊNDICE 4	197

APÊNDICE 5	198
APÊNDICE 6	199

APRESENTAÇÃO

Esta tese apresenta os resultados obtidos durante o desenvolvimento do projeto de pesquisa “Intervenções agronômicas e enológicas para a melhoria da qualidade do vinho ‘Touriga Nacional’ produzido no Submédio do Vale do São Francisco”. O documento foi escrito em formato de artigos, sendo este dividido em quatro capítulos. Além disso, conta com Resumo, Abstract, Introdução, Objetivo Geral e Específicos, e Considerações finais, que contém informações gerais da tese. O primeiro Capítulo trata-se de uma “Revisão Bibliográfica” com as principais informações sobre a viticultura no Brasil e no Submédio do Vale do São Francisco, além das principais características da cultivar Touriga Nacional e seu potencial, ressaltam-se as técnicas enológicas adotadas para elaboração dos vinhos.

O segundo Capítulo “Extended maceration of must improves phenolic composition and antioxidant potential of Touriga Nacional tropical wines” corresponde ao artigo com os primeiros resultados desta pesquisa. Objetivo deste artigo foi proporcionar informações sobre a influência do tempo de duração da maceração sobre os compostos fenólicos, atividade antioxidante e intensidade de cor do mosto de vinho ‘Touriga Nacional’, elaborado com uvas colhidas em sobrematuração. Ressaltando que ainda há na literatura pouco conhecimento sobre esta variedade de uva e sua adaptação a regiões de clima tropical. Este artigo foi publicado na **Journal of Food Bioactives**.

O terceiro Capítulo “Efeito do estágio de maturação da uva e tempo de maceração em função da época do ano de colheita da uva, sobre o perfil físico-químico, sensorial e nutracêutico do vinho tinto tropical da cultivar Touriga Nacional”. Segundo artigo derivado desta pesquisa teve como objetivo principal a caracterização da composição físico-química, do perfil fenólico, das características sensoriais e da capacidade antioxidante de vinhos tintos elaborados a partir da cultivar ‘Touriga Nacional’ na região do Submédio do Vale do São Francisco. **Este artigo foi submetido na Journal OENOne.**

O quarto Capítulo “¹H NMR and UPLC-HRMS-based metabolomic approach for evaluation of the grape maturity and maceration time of Touriga Nacional wines and their correlation with the chemical stability”. Terceiro artigo resultante dos dados da tese. O objetivo deste artigo foi realizar uma bordagem metabolômica não direcionada por Cromatografia Líquida de Ultra Performance acoplada à Espectrometria de Massa (UPLC-HRMS) e espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (NMR) para avaliar

a influência da época do ano de colheita, estágio de maturação da uva e do tempo de maceração no perfil metabolômico, sensorial e estabilidade química do vinho tropical ‘Touriga Nacional’. **Este artigo foi publicado na Food Chemistry.**

1. INTRODUÇÃO

O Brasil ocupa atualmente 15º posição no ranking mundial de produtores de uva, com uma área colhida de 75 mil hectares e uma estimativa de produção de 1,6 milhões de toneladas da fruta em 2019, conforme dados do IBGE. Em 2020, ocorreu uma redução significativa na produção de vinhos nas principais regiões vitivinícolas produtoras do hemisfério sul como Argentina, Austrália, África do Sul, Chile, Nova Zelândia, Brasil e Uruguai, mesmo com algumas exceções, isso se deveu em grande parte à propagação da pandemia Covid-19 durante a época da colheita, o que impactou negativamente o volume de produção. No entanto, mesmo em condições desafiadoras, o Brasil conseguiu produzir aproximadamente 49 milhões de litros de vinhos em 2020, com destaque para um volume estimado de 2,2 milhões de litros. Essa produção excepcionalmente alta foi influenciada por eventos meteorológicos La Niña, conforme relatórios da OIV em 2023.

A maioria dos países produtores de vinho na América do Sul também registrou quedas na produção em 2022. No caso do Chile, o maior produtor da região, a produção de vinho atingiu 12,4 milhões de hectolitros, 7% abaixo do ano anterior, mas ainda 7% acima da média dos últimos cinco anos. A Argentina, por outro lado, enfrentou um declínio de 8% na produção, totalizando 11,5 milhões de hectolitros, devido a condições climáticas adversas, como geadas e chuvas intensas. Por fim, o Brasil experimentou um aumento de 9% em relação a 2021 e 14% acima da média dos últimos cinco anos, também devido aos eventos La Niña (OIV 2023)

Dentre as regiões produtoras de vinhos finos no Brasil, destaca-se a região do Submédio do Vale do São Francisco, sendo esta considerada a terceira maior em produção de vinhos finos e espumantes de uvas *Vitis vinífera* L. no país, localizando-se em zona de clima tropical semiárido. A prática da viticultura tropical só é possível em regiões com temperaturas mínimas elevadas o suficiente para não induzir o repouso vegetativo natural das videiras (ORLANDO, 2008; OLIVEIRA et al., 2019). As condições climáticas tropicais do Semiárido, aliadas à ausência de inverno com temperaturas frias, a radiação solar intensa e disponibilidade de água para irrigação, permitem o escalonamento da produção de uvas ao longo do ano, sendo possível chegar a colheita de duas safras a duas e meia safras no mesmo parreiral (HIDALGO, 1999; FREUND, 2007; TEIXEIRA et al., 2013). Isso ocorre devido a região estar localizado entre os paralelos 8º e 9º S, com temperatura média de 26°C, precipitação anual em torno de 500 mm e 3.000 h de

insolação por ano (PEREIRA et al., 2008; PEREIRA et al., 2011; LIMA; GUERRA, 2018).

Entre as diversas cultivares *Vitis viníferas* L. que são cultivadas no Submédio do Vale do São Francisco, destaca-se a Touriga Nacional como uma casta promissora para a elaboração de vinhos tintos e que vêm apresentando uma boa adaptação as condições edafo-climáticas da região. Esta cultivar tem origem portuguesa e é uma das mais antigas da região do Douro (BOHM, 2007). Esta cultivar caracteriza-se morfológicamente por apresentar produtividade moderada, devido ao baixo peso do cacho, mesmo sendo considerada uma videira de alta fertilidade de gemas (IVV, 2017) e possui um expressivo potencial fenólico e antioxidante (OLIVEIRA et al., 2018). Seus vinhos apresentam alta intensidade de cor e grande capacidade de envelhecimento, possuem aroma que remetem a frutas silvestres de cor vermelha, negras e muito maduras, com algumas notas florais de predominância de violeta (BOHM, 2010). Entretanto, ainda são encontradas poucas pesquisas na literatura sobre vinhos tropicais elaborados com a cultivar Touriga Nacional.

Estudos como o de Oliveira et al. (2018) avaliaram a composição fenólica e o perfil sensorial dos vinhos Touriga Nacional em épocas diferentes de colheita e perceberam que a época do ano de colheita influenciou no aumento das concentrações de antocianinas monoméricas, taninos condensados e outros flavonóides. Já em relação ao perfil sensorial, o efeito safra originou vinhos com maior intensidade de notas florais quando as uvas foram colhidas na safra do primeiro semestre do ano, e com mais aroma frutado e de especiarias quando foram elaborados com as uvas colhidas no segundo semestre. Entretanto, o impacto do estágio de maturação da uva na colheita e do tempo de maceração não foram avaliados por Oliveira et al. (2018).

Apesar da região do Submédio do Vale do São Francisco apresentar condições climáticas para a elaboração de vinhos de qualidade, os vinhos tintos elaborados na região são geralmente indicados para o consumo nos primeiros três anos após sua produção, uma vez que depois desse período, alterações podem ser visualmente notadas (GUERRA & PEREIRA, 2018). Assim, avaliar as maturações tecnológicas, fenólicas e aromáticas da uva é de grande importância quando se busca qualidade nos vinhos tintos, uma vez que nem sempre elas são concomitantes, sobretudo em regiões de clima tropical. Assim, é fundamental monitorá-las separadamente para determinar a época ideal para a colheita da uva, que no caso da região pode variar em função também da época do ano de colheita

(ALLEGRO et al., 2018; ALLEGRO, PASTORE, VALENTINI, MUZZI, & FILIPPETTI, 2016). Na maturação, as uvas passam a apresentar um maior acúmulo de açúcares, água e outras substâncias de reserva, juntamente com a decorrente diminuição da acidez, devido a queima de ácidos orgânicos pela respiração celular.

Separadamente, a maturação fenólica ideal é atingida quando os teores de taninos e antocianinas na casca elevam-se, e concomitantemente, o teor de taninos da semente reduz tornando-se posteriormente constante. Já a maturação aromática dos vinhos é qualificada como o período em que as uvas perdem os compostos de odor vegetal e herbáceo, adquirindo compostos odoríferos frutados. Neste contexto, o vinho produzido a partir de uvas colhidas antes da maturação fenólica ideal, provavelmente, apresentará menor intensidade de cor e taninos menos polimerizados, conferindo assim elevada sensação de adstringência, ou seja, “secura” após a ingestão da bebida (RIBÉREAU-GAYON, DUBOURDIE, DONÈCHE, LONVAUD, 2006). Ao mesmo tempo, será pobre em odores desejáveis e característicos da variedade, tendo em vista que a uva não atingiu a maturação do aroma adequada.

Além da determinação do estágio de maturação ideal para a colheita, a maceração é uma etapa fundamental na elaboração de vinhos tintos. Entende-se por este processo, como o contato do líquido (mosto da uva) com as cascas. Esta etapa deve ser a mais eficiente e seletiva possível, de modo a extrair o máximo de compostos naturais da uva, atribuindo ao vinho tinto melhor estabilidade, potencial nutracêutico e características sensoriais positivas, relacionadas a sua aparência, aroma, sabor e sensações bucais de textura. O parâmetro mais importante a ser observado nesta etapa em um processo de vinificação tradicional, é o tempo de duração da maceração, que poderá ser mais longo, proporcionando maiores benefícios para a bebida em função do potencial qualitativo da uva, o qual está diretamente relacionado a escolha do ponto de colheita. O prolongamento da maceração proporciona maiores concentrações de taninos ao vinho e, conseqüentemente, de antocianinas condensadas com taninos, formando complexos que conferem maior estabilidade de cor, em comparação àqueles formados apenas pelas antocianinas monoméricas (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006).

Diante do exposto, torna-se necessário desenvolvimento de pesquisas visando traçar estratégias agronômicas e enológicas para potencializar a qualidade dos vinhos tintos da cultivar Touriga Nacional elaborados na região do Submédio do Vale do São Francisco. Sendo necessários estudos para determinar o efeito do estágio de maturação da uva, época

de colheita, e tempo de duração da maceração, assim como, o impacto dessas intervenções deve ser avaliado no que se refere à composição físico-química, perfis metabolômico e sensorial, capacidade antioxidante e estabilidade química dos vinhos tintos tropicais de uvas ‘Touriga Nacional’ cultivadas no Submédio do Vale do São Francisco.

REFERÊNCIA

1. ALLEGRO, G; BAUTISTA-ORTÍN, A. B; GÓMEZ-PLAZA, E; PASTORE, C; VALENTINI, G; & FILIPPETTI, I (2018). Impact of flavonoid and cell wall material changes on phenolic maturity in cv. Merlot (*Vitis Vinifera* L.). **American Journal of Enology and Viticulture**. 69 (4), 417-421.
2. ALLEGRO, G; PASTORE, C; VALENTINI, G; MUZZI, E; & FILIPPETTI, I (2016). Influence of berry ripeness on accumulation, composition and extractability of skin and seed flavonoids in cv. Sangiovese (*Vitis vinifera* L.). **Journal of the Science of Food and Agriculture**. 96 (13), 4553-4559.
3. BOHM, J (2010). Portugal vitícola O grande livro das castas. Chaves Ferreira – Publicações, S.A. Lisboa 230p.
4. CHAUREL, J.Y (2006). Effect of Potassium fertilization on soil, grapevine and wine in granitic soil. **Progress Agricole et Viticole**, Montpellier, v.123, n.23, p.455-462.
5. DAUDT, C.E., FOGAÇA, A (2008). O Efeito do ácido tartárico nos valores de potássio, acidez titulável e pH durante a vinificação de uvas Cabernet Sauvignon. **Ciência Rural**, v.38, n.8.
6. DE OLIVEIRA, J.B., FARIA, D, L., DUARTE, D.F., EGIPTO, R., LAUREANO, O., CASTRO, R, PEREIRA, G.E., RICARDO-DA-SILVA, J.M (2018). Effect of the harvest season on phenolic composition and oenological parameters of grapes and wines cv. ‘Touriga Nacional’ (*vitis vinifera* l.) produced under tropical semi-arid climate, in the state of Pernambuco, Brazil. **Ciência Téc. Vitiv**. 33(2) p.145-166.
7. HIDALGO, L (1999). *Tratado de Viticultura General*; **Mundi-Prensa**: Madrid.
8. FREUND, M (2007). *Vinho no Sertão: Vinicultura no Vale do São Francisco. Pernambuco*; **Senai**: Brasília, DF.
9. GUERRA, C. C., PEREIRA, G. E.A (2018). qualidade e a tipicidade dos vinhos finos tranquilos e espumantes brasileiros. *TerritoiresduVin*, 9, 1-10.
10. IBGE (2019). Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Levantamento sistemático da produção agrícola. Brasília: **IBGE**, 95 p.
11. KOCABEY, N., YILMAZTEKIN, M., HAYALOGU, A.A (2016). Effect of maceration duration on physicochemical characteristics, organic acid, phenolic compounds and antioxidant activity of red wine from *Vitis vinifera* L. Karaoglan. **J Food Sci Technol**. v.53(9) p.3557–3565.
12. LIMA, M. A. C. DE., GUERRA, C. C (2018). Colheita e pós-colheita. In: Motoike, S.; Borém, A. (Org.). **Uva: do plantio à colheita**. Viçosa: UFV, p. 163-185.

13. MPELASOKA, B.S., SCHACHTMAN, D.P., TREEBY, M.T., THOMAS, M.R (2003) Review of potassium nutrition in grapevines with special emphasis on berry accumulation. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, Adelaide, v.9, n.3, p.154-168.
14. OIV - **International Organisation of Vine and Wine**.
<https://www.oiv.int/public/medias/7541/en-oiv-2020-world-wine-production-first-estimates.pdf>
15. OIV, International Organization of Vine and Wine. Statistical Report on World Vitiviniculture, 2019. Disponível em <https://www.oiv.int/en/technical-standards-and-documents/statisticalanalysis/annual-assessment>. Acesso em 21 de junho de 2023.
16. OIV, International Organization of Vine and Wine. Statistical Report on World Vitiviniculture, 2023. Disponível em https://www.oiv.int/sites/default/files/documents/2023_SWVWS_report_EN.pdf. Acesso em 03 de outubro de 2023.
17. OLIVEIRA, C. M., FERREIRA, A. C. S., DE FREITAS, V., SILVA, A. M. S. **Food Res. Int.** 44, 1115–1126.2011.
18. ORLANDO, T. G. S (2008). **Ciênc. Agrotec**, 32 (3), 749–755.
19. PEREIRA G. E., SANTOS, J. de O., GUERRA C. C., ALVES L. A (2008). Evaluation of grape and wine quality according to harvest date, in a tropical region in Northeast Brazil. Actas. In: **7th Congrès International des Terroirs Viticoles**, Suisse.
20. PEREIRA, G. E., ARAÚJO, A. J. B., SANTOS, DE O. J., OLIVEIRA S.V., NASCIMENTO, R. L., QUINTINO, C., VANDERLINDE, R., LIMA, L. L. A (2011). Chemical and aromatic characteristics of Brazilian tropical wines. **Acta Horticulturae**. v.91, p.135-140.
21. RIBÉREAU-GAYON, P., DUBOURDIE, D., DONÈCHE, B., LONVAUD, A (2021). *Handbook of Enology - The Microbiology of Wine and Vinifications*, vol. 1, 2nd ed.; John Wiley & Sons, Ltda: Chichester, UK, 2006.
http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2004-2006/2004/lei/110.970.htm, accessed in february.

2. OBEJTIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a influência da época do ano de colheita, estágio de maturação da uva e do tempo de duração da maceração, sobre a composição físico-química, perfis sensorial e metabolômico, capacidade antioxidante e estabilidade química dos vinhos tintos tropicais elaborados a partir da cultivar Touriga Nacional produzida na região do Submédio do Vale do São Francisco.

2.2 Objetivos Específicos

- Definir o estágio de maturação ideal de colheita para a elaboração de vinhos tintos tropicais de safras praticadas diferentes épocas do ano;
- Estabelecer o tempo de maceração mais adequado para a elaboração de vinhos tintos tropicais para uvas colhidas em diferentes estágios de maturação e épocas do ano;
- Caracterizar o perfil sensorial do vinho tinto tropical da cultivar Touriga Nacional utilizando equipe selecionada e treinada;
- Avaliar a estabilidade química do vinho tropical da cultivar Touriga Nacional pelo período de 12 meses;
- Estudar pela primeira vez o uso em paralelo das técnicas de Cromatografia Líquida de Ultra Performance, Espectrometria de Massa e Ressonância Magnética Nuclear para a determinação do perfil metabolômico de vinhos tintos.

CAPÍTULO I: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3. CAPÍTULO 1

3.1 Produção de vinho no Brasil

A vitivinicultura é uma atividade econômica e social que tem ligações com a sustentabilidade da pequena, média e grande unidade de produção rural. O Brasil é um país que tem potencial de aumentar a produção, o consumo e a rentabilidade da vitivinicultura por meio do aprimoramento da qualidade do produto final (Cella et al., 2021).

Segundo informações coletadas de vinte e nove países, que representam 94% da produção global em 2022, a produção mundial em 2023 é estimada entre 241,7 milhões de hectolitros e 246,6 milhões de hectolitros, respectivamente (OIV, 2023). Isso representa uma queda de 7% em comparação com o volume já abaixo da média de 2022. A queda na produção mundial de vinho após uma tendência estável por quatro anos consecutivos. O volume de produção de 2023 é previsto para ser o menor desde 1961 (214 milhões de hectolitros), ainda menor do que o historicamente pequeno volume de produção de 2017 (248 milhões de hectolitros), este cenário negativo pode ser atribuído a declínios significativos em importantes países produtores de vinho em ambos os Hemisférios. Enquanto no Hemisfério Sul, Austrália, Argentina, Chile, África do Sul e Brasil registraram variações ano a ano entre -10% e -30%, no Hemisfério Norte, Itália, Espanha e Grécia são os países que mais sofreram com as más condições climáticas durante a temporada de crescimento. Este cenário negativo pode ser atribuído a declínios significativos em importantes países produtores de vinho em ambos os Hemisférios. Enquanto no Hemisfério Sul, Austrália, Argentina, Chile, África do Sul e Brasil registraram variações ano a ano entre -10% e -30%, no Hemisfério Norte, Itália, Espanha e Grécia são os países que mais sofreram com as más condições climáticas durante a temporada de crescimento (OIV, 2023).

O Brasil é um país vitivinícola de dimensões continentais com 26 regiões produtoras espalhadas em 10 estados brasileiros, totalizando 82.000 hectares plantados. Isto o coloca em 21º no ranking em área plantada e 18º em volume de produção de vinhos, com 1,9 milhões de hectolitros (OIV, 2020; UVIBRA, 2022). Os estados que se destacam com maior área plantada são o Pernambuco (8,3 mil ha), São Paulo (8,0 mil ha) e o Rio Grande do Sul (46,8 mil ha), (MELLO e MACHADO, 2021; BARROS, 2022).

O Brasil, em 2020 registrou o maior consumo de vinhos dos últimos 20 anos, com aumento de 18,4% em relação ao ano anterior, o maior aumento registrado em todo o

mundo. Com isso, é hoje o 13º consumidor mundial de vinhos. Contudo, mesmo mostrando que o mercado de vinhos neste país está em pleno crescimento, o Brasil ainda representa apenas 2% do mercado consumidor de vinhos no mundo, apontando que ainda há espaço para este mercado expandir (OIV, 2020, BARROS, 2022).

3.2 Produção de vinhos no Submédio do Vale do São Francisco

A partir da década de 90, observou-se o grande aporte tecnológico para a região do Submédio do Vale do São Francisco (SVSF), destacando-a, entre as mais importantes regiões vitivinícolas do país (LIMA et al., 2014). O SVSF, situado entre os paralelos 8º e 9º de latitude Sul, dentre todas as regiões vitivinícolas existente é a única mais próxima do equador, o que caracteriza uma nova fronteira a ser desbavada, com grande potencial para a produção de uva, vinho e seus derivados (FREUND, 2007; SIQUEIRA, 2007). Nesta região com clima tropical semiárido existem cerca de 400 mil hectares de vinhedos, que produziram em 2018 cerca de 4 milhões de litros de vinhos finos e espumantes de uvas *Vitis vinífera* L (PEREIRA et al., 2020; LEÃO, et al., 2021).

Com uma média anual de temperatura em torno de 26,5°C e uma insolação de 3.000 horas por ano, esses são fatores distintivos da região em termos edafoclimáticos. Nestas condições, as videiras apresentam um ciclo contínuo, pois a ausência de períodos frios permite a colheita das uvas em qualquer estação do ano. Isso possibilita a distribuição da produção ao longo do ano, o que, por sua vez, acelera a recuperação dos investimentos em infraestrutura para a vinificação de vinhos (LEÃO et al., 2021). Esta região representa 13,94% da área produtiva de uvas no Brasil. Contudo, como é possível realizar mais de uma colheita por ano, os volumes produzidos superam os de outras regiões produtoras do país. Com isso, esta região é a segunda maior produtora de uvas do Brasil, e a maior na produção de uvas de mesa, contribuindo com 27,37% da produção nacional (MELLO e MACHADO, 2021). Além disso, a irrigação a partir da água do Rio São Francisco, de excelente qualidade, é o fator principal que permite com que as videiras se desenvolvam o ano todo, possibilitando decidir quando iniciar uma nova safra e prever a data da colheita (HIDALGO, 1999; FREUD 2007; BARBARÁ et al., 2019).

3.3 Cultivar Touriga Nacional

A ‘Touriga Nacional’ pertence à espécie *Vitis vinífera* L., sendo uma importante variedade autóctone portuguesa (BÖHM, 2007), casta que tinha como sinonímia Preta Mortágua ou Tourigo, sendo pertencente a uma das variedades mais antigas (Portaria

nº195/85). Esta variedade caracteriza-se por apresentar produtividade moderada, devido ao baixo peso do cacho, mesmo sendo considerada de alta fertilidade, sendo de fácil adaptação a todos os tipos de solos embora exija altas temperaturas e sol, se comporta bem na maior parte do porta-enxertos, desde que tenham solo fértil e disponibilidade de água (IVV, 2017). Desta forma, tem sido um das variedades utilizadas para a produção de vinhos monovarietais, bem como adicionados em cortes com outras variedades de uvas (BARRETOS et al., 2018).

Os mostos desta cultivar costumam ser equilibrados, apresentando altos níveis de álcool e acidez, devido a sua complexidade aromática, estrutura e qualidade dos compostos fenólicos, é uma cultivar de grande excelência (PALMA, 2014; LANGBECKERET et al., 2018).



Figura 1: Cacho de Uva, cultivar Touriga Nacional. Foto: Erika Samantha, 2018

3.4 Composições do Vinho Tinto

3.4.1 Composição fenólica

Os compostos fenólicos presentes no vinho, estabelecem características importantes relacionadas à cor e ao sabor, conferindo a bebida qualidade e promovendo benefícios a saúde humana. Compostos fenólicos possuem ação protetora contra doenças cardiovasculares e degenerativas, especialmente, porque estes compostos possuem propriedades antiinflamatórias e antioxidantes, que por sua vez, dificultam o efeito de células cancerígenas e inibem aglomeração de plaquetas (VILLANO et al., 2006). Os fenólicos são os mais numerosos e amplamente distribuídos grupos de produtos naturais no reino vegetal, abrangendo não só uma ampla variedade de moléculas com uma estrutura de polifenóis, mas também moléculas com um anel fenólico, tais como ácidos fenólicos e alcoóis fenólicos (TSAO, 2010).

Os compostos fenólicos existentes nos vinhos são divididos em dois grupamentos de acordo com sua estrutura química, são eles, os não-flavonóides e flavonóides. Os principais flavonóides do vinho são os flavan-3-óis ou flavanóis (taninos, catequina, epicatequina), os flavonóis (miricitina, quercetina, rutina e kaempferol) e as antocianinas (cianidina-3-O-glucosídeo, malvidina-3-O-glucosídeo, peonidina-3-O-glucosídeo, petunidina-3-O-glucosídeo e delphinidina-3-O-glucosídeo). Os flavonóis são encontrados na casca e na semente das uvas, sua transferência para o mosto do vinho é determinada principalmente pelo período de duração da maceração no processo de vinificação (CHEYNIER, 2005).

Os principais não flavonóides abrangem os ácidos derivados do ácido cinâmico (ex. cafeico, *p*-cumárico e ferrúlico), ácido benzóico (ex. gálico, vanílico e siríngico) e os estilbenos (ex. trans-resveratrol). A qualidade do perfil sensorial dos vinhos depende em sua maioria das antocianinas (responsáveis pela cor), e dos flavonóis e flavanóis (responsáveis pela cor, sabor, adstringência, corpo e amargor), ambos estando presente na casca e na semente (RIBÉREAU-GAYON, et al 2006; CHEYNIER, 2006).

3.4.2 Flavanóis

Flavan-3-ols são encontrados na uva como monômeros, oligômeros e polímeros. Na baga, estão localizados principalmente em sementes e cascas, embora traços de monômeros e dímeros sejam detectados também na polpa (SU & SINGLETON, 1969). Os flavanóis são caracterizados pela presença de uma dupla ligação entre os átomos C2 e C3, e um grupo hidroxila em C3, sendo assim frequentemente denominado 3-hidroxi flavonas. Além disso, cerca de 90% dos flavanóis são hidroxilados em C3, C5 e C7, sendo designados como 3,5,7 derivados trihidroxilados (CASTILLO-MUÑOZ, GÓMEZ-ALONSO, GARCÍA-ROMERO, & HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, 2007; GARRIDO & BORGES, 2013).

Em sua forma de monômeros, os flavanóis são conhecidos como catequinas, enquanto na forma de polímeros como procianidinas. Em vinhos brancos sua elaboração evita o contato prolongado com a película, a catequina foi o composto identificado como o mais abundante, sendo responsável por características de sabor ao vinho (LUNTE, BLANKENSHIP, & READ, 1988). Outros derivados da (+)-catequina e a (-)-epicatequina são os principais flavanóis presentes nas frutas, já a (-)-epicatequina galato e a (-)-epigallocatequina galato são encontradas em sementes de leguminosas, assim como em uvas e chás (PRIEUR, RIGAUD, CHEYNIER, 1994; MATTIVI et al., 2009).

As proantocianidinas estão também, entre os principais polifenóis presente na uva, especialmente localizadas na película e nas sementes. São conhecidas como taninos condensados, sendo, responsáveis pela sensação de adstringência de algumas frutas e bebidas (BABA, FURUTA, HORIE, NAKAGAWA, 1991). Podendo muitas vezes mudar ao longo da maturação ou até mesmo desaparecer quando o fruto se torna maduro. Estão também relacionados com a cor apresentada pelos vinhos tintos, já que reagem com as antocianinas formando complexos polifenólicos coloridos, quimicamente estáveis, apresentando também, expressiva atividade antioxidante.

3.4.3 Flavonóis

Os flavonóis são encontrados na casca da uva na forma de 3-glicosídeo de quercetina, kampferol, isorhamnetina e miricetina, algumas pequenas quantidades de anglicanas também foram relatadas (RIBÉREAU-GAYON, 1964; WULF & NAGEL, 1976). Os flavonóis são compostos que agem como fotos protetores, uma vez que absorvem as radiações UVA e UVB, juntamente com as antocianinas, são indispensáveis na copigmentação dos vinhos, assim como na marcação taxionômicas das uvas.

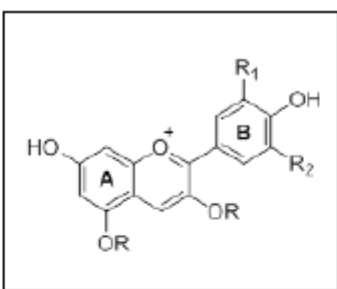
Os principais flavonóis da uva são a quercetina 3-glicosídeo e a quercetina 3-glicuronídeo, outros flavonóis da uva incluem miricetina 3-glicosídeo, kampferol 3-glicosídeo. Os flavonóis são compostos com estrutura molecular C6-C3-C6, que possuem dois anéis benzênicos hidroxilados, A e B, estão ligados por uma cadeia de três carbonos, que é parte de um anel C heterocíclico com uma estrutura de 3-hidróxiflavona e uma dupla ligação. Os flavonóis diferem entre si, com relação ao número e tipo de substituição que ocorre no anel B. O kaempferol-3-O-glicosídeo, por exemplo, é mono hidroxilado na posição 4', a quercetina é di-hidroxilada nas posições 3' e 4', a miricetina é tri-hidroxilada, nas posições 3', 4' e 5' e a isorhametina-3-O-glicosídeo é a forma metilada da quercetina (AZUMA, YAKUSHIJI, KOSHITA, KOBAYASHI, 2012).

Os flavonóis são os flavonóides mais abundantes em alimentos, sendo a quercetina e o caempferol-3-O-glicosídeo seus principais representantes (MANACH et al., 2005). Estão geralmente presentes em concentrações baixas, cerca de 15 a 30 mg kg⁻¹, sendo as fontes mais abundantes a cebola, couve, alho-poró, brócolis, entre outros. Já nos vinhos tintos, os flavonóis estão geralmente presentes na concentração máxima de 45 mg L⁻¹, na sua forma glicosilada, sendo a porção de açúcar relacionada frequentemente a glicose (NEO, ARIFFIN & TAN, 2008).

3.4.4 Antocianinas

O conteúdo adequado de antocianinas e taninos permite a formação de pigmentos estáveis que garantem maior estabilidade de cor nos vinhos (ASSUSTADOR, 2010). O perfil de antocianina ligado aos cinco principais formas acetiladas e cumariladas tem um papel importante na determinação das propriedades químicas do vinho. Pigmentos antociânicos têm estruturas com base de antocianidinas ou também denominadas de agliconas, que são formadas por um anel benzênico, ligado a um anel heterocíclico que contém oxigênio no cátion flavílio (2-fenil-benzo pirílio) (KONCZAK & ZHANG, 2004). Quimicamente, antocianinas são glicosídeos antocianidínicos, sendo correspondentes as agliconas (antocianidinas), obtidas por hidrólise, uma característica que é determinada por sua estrutura química, nomeadamente o seu grau de hidroxilação, metilação ou glucosilação (HE et al., 2010).

Nas uvas tintas e nos vinhos, seis antocianinas têm sido identificadas: peonidina (vermelho), delphinidina (vermelho azulado), cianidina (vermelho alaranjada), pelargonidina (laranja) petunidina e malvidina (vermelho azulado) (HE et al., 2010; KOPONEN, HAPPONEN, MATTILA, & TÖRRÖNEN, 2007), sendo esta última considerada o composto mais representativo em uva *Vitis vinifera* L (CASTILLO-MUÑOZ et al., 2010). Suas estruturas diferem entre si, devido aos diferentes substituintes presentes no anel B como mostrado na Figura 3.



Antocianina	R1	R2
Pelargonidina-3-O-glicosídeo	H	H
Cianidina-3-O-glicosídeo	OH	H
Delfinidina-3-O-glicosídeo	OH	OH
Malvidina-3-O-glicosídeo	OCH ₃	OCH ₃
Peonidina-3-O-glicosídeo	OCH ₃	H

Figura 2. Principais antocianinas encontradas nas uvas *Vitis vinifera* L. Fonte: Barbará, 2019.

As antocianidinas encontradas na natureza são geralmente em sua forma glicosilada, por exemplo, 3-monoglucosídeos, 3,5 e 3,7 diglucosídeos (KOPONEN et al., 2007). No entanto, galactose, ramnose, arabinose, rutinose (ramnosilglicose), soforose (glicosilglicose) e sambubiose (xilossilglicose) também foram descritos como porções de açúcar comuns. Os 3-O-monoglucosídeos das seis antocianidinas anteriormente referidas já foram identificados em uvas, bem como alguns monos, di e derivados tri-sacrina (CASTILLO-MUÑOZ et al., 2010; HE et al., 2010; KOPONEN et al., 2007). Quando encontradas na forma glicosídeos (acil) e aglicosídeos as antocianidinas raramente ocorrem em materiais vegetais fresco. Adicionalmente, em algumas antocianinas, a moléculas de açúcar pode ser ligada aos ácidos cumárico, caféico ou ferrúlico o que produz, numerosos derivados de cinamoil (KOPONEN et al., 2007).

Na casca da uva são geralmente encontradas as antocianinas, já os flavonóides ocorrem tanto na casca quanto na semente. Entretanto, a quantidade de antocianinas e flavonóides extraídos na vinificação depende da duração do processo e das condições em que ocorre, a exemplo, de temperatura ou extensão do rompimento da baga (ZOECKLEIN et al., 1995). Nas uvas, as antocianinas concentra-se nas folhas durante o período de senescência e são responsáveis pela coloração da casca da uva nas cultivares tintas, estes pigmentos em alguns casos podem acumular-se na polpa. Segundo Ferrandino & Guidoni (2010), a composição de antocianidinas das uvas é afetada por vários fatores, como origem e tipo de cultivar, grau de maturidade, condições meteorológicas, intensidade da luz e temperatura.

3.4.5 Compostos voláteis

Pesquisadores estudam a composição dos alimentos e bebidas para tentar identificar e quantificar os compostos químicos responsáveis pela experiência humana relacionados ao olfato e paladar. Neste contexto, os componentes da uva e do vinho são de grande interesse por apresentar uma grande complexidade aromática e importância econômica (PIGGOTT, 1990). A intensidade aromática do vinho está diretamente relacionada a uma sequência de processos biológicos, bioquímicos e tecnológicos, capazes de produzir inúmeros compostos. Os fatores ligados ao metabolismo da uva como; o clima, o solo, técnicas de manejo, fenômenos bioquímicos durante a extração do mosto (maceração e/ou prensagem), reações metabólicas durante a fermentação alcoólica e malolática, além das reações químicas e enzimáticas que ocorrem durante o envelhecimento, afetam diretamente no perfil aromático dos vinhos (MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ e PUEYO, 2009; UBEDA et al., 2019).

As concentrações de compostos voláteis devem ser maiores que seus limiares de percepção, para serem percebidos pelo nariz humano, sendo assim, o valor de atividade de odor (OAV) deve ser maior que 1. O uso de OAV permite uma abordagem quantitativa relacionada à contribuição dos voláteis odoríferos para o aroma dos vinhos, enquanto uma avaliação qualitativa pode ser feita com base nos descritores de cada composto. Estudos mostram que um composto com um $OAV > 1$ deve contribuir para o aroma de um vinho (GUTH, 1997; BARBARÁ, 2019).

Os compostos químicos são pertencentes a diferentes classes químicas, e presentes em distintas concentrações, são responsáveis pelo aroma. Esses compostos são originários da uva, dos processos fermentativos e de estocagem (SIMÓN, et al., 2010). Entretanto, os compostos mais importantes para o aroma do vinho são aqueles formados durante a fermentação, dentre as classes de compostos voláteis que contribuem para o aroma dos vinhos estão os terpenos, C13-norisoprenóides, derivados dos furanos, ácidos, ésteres, álcoois, metoxipirazinas, compostos sulfurados, fenóis, aldeídos e cetonas (EBELER, 2001).

3.4.6 Características físico-químicas

Para a produção de vinhos de qualidade, é necessária a utilização adequada de metodologias laboratoriais, além dos cuidados realizados no vinhedo e na vinícola (RIZZON, 2010). Os parâmetros físico-químicos correspondem a um conjunto de determinações analisadas nos vinhos, necessárias para sua comercialização. Entretanto, estas análises não são suficientes para garantir a genuinidade, elas contribuem para a formação da primeira impressão dos vinhos. Visto que, são exigências legais e extrema importância para detectar eventuais falhas que podem vir ocorrer durante o processo de elaboração do vinho. Além disso, elas informam sobre aspectos importantes, tais como cor, estrutura, qualidade e possíveis alterações causadas por agentes microbiológicos ou pela utilização de práticas e de produtos enológicos inadequados nos vinhos (RIZZON; SALVADOR, 2010; SILVA, 2015). Estas intervenções podem sofrer influência devido a fatores relacionados à variabilidade geográfica de produção, fatores climáticos, o tipo de cultivar e o processo de elaboração de vinho (SAGRATINI et al., 2012).

Para assegurar o consumidor de um produto legítimo, as análises efetuadas no vinho em sua maioria são: densidade relativa a 20° é definida como o coeficiente do peso específico do vinho pelo peso específico da água (RIZZON et al., 2004). O pH (potencial Hidrogeniônico) dos vinhos correspondem à concentração de íons de hidrogênio dissolvido (RIBÉREAU-GAYON, 2003). A acidez total corresponde à soma dos ácidos

tituláveis tais como o ácido tartárico, málico, cítrico, láctico, succínico e acético e neutraliza o vinho até pH 7,0 com solução alcalina (RIZZON, 2006). Extrato seco constitui um conjunto de todas as substâncias que não volatilizam em determinadas condições físicas (RIBEREAU-GAYON, 2003).

Acidez volátil, é formada principalmente pelo ácido acético no qual são originadas normalmente durante a fermentação do mosto pelas leveduras e outros microorganismos, podem aumentar seu teor normal durante a elaboração e a conservação do vinho como consequência de uma enfermidade microbiológica, sendo a mais comum a fermentação acética, provocada pela bactéria acética segundo Ough & Aumerine (1988).

O teor alcoólico nos vinhos é decorrente do teor de açúcar presente na uva, que é uma consequência da safra, variedade, condições do solo, e luminosidade (SILVA, 1999). O anidrido sulfuroso, também denominado de dióxido de enxofre (SO₂) é de valiosa utilização na elaboração de vinhos devido suas propriedades como ação seletiva sobre as leveduras que resulta em melhores aromas e maior capacidade de produção de álcool, além de atuar durante a fermentação, impedindo o desenvolvimento de microorganismos indesejáveis; ação antioxidante, ação anti-oxidásica e ação conservante (RIZZON et al., 2003). Os açúcares presentes na uva variam de 15 a 30% em função de vários fatores, como clima, solo, estágio de maturação e variedades (AQUARONE et al., 2001; RIBEREAU-GAYON, 2003). Intensidade de cor é um dos atributos visuais mais importantes nos vinhos tintos, estando diretamente relacionada à aparência devido à composição do vinho tinto, principalmente aos compostos fenólicos (GALLICE, 2010). Índice de polifenóis totais (IPT), são elementos extraídos durante a maceração e composição fenólica das uvas utilizadas na produção de vinhos, e sua presença é diretamente influenciada pela composição das uvas e pelas condições de vinificação (NEVES et al., 2002).

3.4.7 Características sensoriais

Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT, 1993) define a análise sensorial como uma disciplina científica utilizada para evocar, medir, analisar e interpretar reações características dos alimentos e como estas são percebidas pelos sentidos da visão, olfato, paladar, tato e audição. Segundo Stone e Sidel (1993), na avaliação sensorial são enfatizados a base comportamental da percepção humana incluindo a psicologia, a estatística a economia doméstica o marketing, e no caso de alimentos e bebidas, a ciência e tecnologia de alimentos. Para alimentos, a análise sensorial é de grande importância para avaliar o efeito do processamento e armazenamento bem como no controle de

qualidade, desenvolvimento e otimização de produtos. Outro destaque para crescente aplicação das metodologias sensoriais na indústria é a possibilidade de obter informações que expressam a aceitabilidade e a preferência do mercado consumidor por um produto, o que contribui com a antecipação da tendência de consumo desse público (PIGGOTT, 1995; ROSS, 2009).

As propriedades sensoriais do vinho influenciam diretamente a aceitação da bebida. Dessa maneira, nas últimas décadas, a indústria vinícola e centros de pesquisa começaram a aplicar metodologias de análise sensorial para determinar o perfil sensorial de vinhos, além das preferências e percepções dos consumidores. A utilização dos testes sensoriais auxilia os enólogos a identificar atributos sensoriais que possam contribuir positiva ou negativamente para a aceitação da bebida e ajustar técnicas de vinificação tornando o vinho mais apreciável pelos consumidores (BAKER; CASTURA; ROSS, 2016; FRANCIS; WILLIAMSON, 2015). Muitas técnicas de vinificação são utilizadas com o objetivo de melhorar as características sensoriais do vinho. Como exemplos dessas técnicas podem ser citados a maceração (prolongada, a frio, termovinificação) e o envelhecimento do vinho (BAIANO et al., 2016). A maceração prolongada (30 dias) pode causar cor marrom mais pronunciada, e resultar em vinhos mais adstringentes, devido à alta concentração de taninos (FEDERICO et al., 2013).

A técnica sensorial mais estudada e conceituada no mundo é a de vinhos, sendo sua principal característica a capacidade do provador de se concentrar nas características do produto, enquanto o degusta (JACKSON, 2002). Ao avaliar um vinho, geralmente o exame visual é o primeiro passo a ser analisado, o qual permite caracterizar o aspecto do vinho quanto a intensidade de cor, tonalidade, limpidez e viscosidade, por exemplo (ZANUS; PEREIRA, 2006). De acordo com Jackson (2002), nessa etapa, para melhorar a transmissão da luz, a taça é inclinada contra um fundo branco, o que irá produzir uma borda curva no vinho, por meio do qual a aparência pode ser mais bem avaliada. Em seguida realiza-se o exame olfativo, com objetivo de detectar o aroma do vinho, onde os limites de detecção e de identificação das substâncias olfativas presentes nos vinhos devem ser levados em conta.

Este procedimento é considerado de maior dificuldade, pois a capacidade de reconhecer um aroma no vinho pode ser influenciada por diversos fatores, sendo os mais importantes o estado emocional, o treinamento e a fisiologia do degustador (ZANUS; PEREIRA, 2006). E por fim, o exame gustativo, onde o provador irá descrever as características e sensações bucais sentidas como acidez, doçura, amargor, persistência

gustativa. Os quatro gostos elementares do vinho são o doce (dado pelo álcool, glicerol e açúcares), o ácido (originário dos ácidos orgânicos livres), o salgado (dados pelos ácidos salificados e minerais) e o amargo (dado pelos compostos fenólicos, principalmente pelos taninos) (ZANUS; PEREIRA, 2006). Entretanto, para que os resultados da análise sensorial sejam confiáveis, vários cuidados devem ser tomados, como a verificação do objetivo da análise, o tipo e o número de amostras avaliadas, a quantidade de provadores necessária e o seu nível de treinamento, além de ponderar as restrições práticas, tais como o tempo disponível para planejar, executar, interpretar os resultados do estudo (PIGGOTT, 1995).

Atualmente são muitas as evidências científicas que apresentam benefícios do consumo moderado de vinho a saúde e, por isso, existe um crescente interesse dos consumidores (CHANG; LIZTHACH; OLSEN, 2016; VECCHIO et al., 2017; YOO; SALIBA; PRENZLER, 2010). Dentre os vinhos tintos, a Cabernet Sauvignon é a variedade de uva mais preferida entre os consumidores. Outros fatores que influenciam na escolha do vinho são a experiência prévia com bebida. (KALLAS; ESCOBAR; GIL, 2013), a origem (SILLANI; MICCOLI; NASSIVERA, 2017) e a rotulagem que exerce influência sobre as expectativas do consumidor (LICK et al., 2017).

3.4.8 Potencial nutracêutico e atividade antioxidante

Alimentos e bebidas de origem vegetal contêm em sua estrutura várias classes de compostos fenólicos e não flavonóides que são sintetizados pelos tecidos vegetais. Um dos compostos mais conhecidos por ocorrer naturalmente nos frutos e folhas de plantas comestíveis como amendoim, amora e uva (e seus derivados) é o resveratrol, que ganhou atenção do mundo devido sua gama de efeitos benéficos para a saúde humana (KOLOUCHOVA, MELZUCH, SMIDRKAL, & FILIP, 2005; GULCIN, 2010).

Vinhos são conhecidos por possuírem uma grande concentração de antioxidantes (FLANZY, 2000). A comunidade científica demonstra um grande interesse em antioxidantes naturais, principalmente devido à sua relevância e aos efeitos farmacológicos no controle de diversas doenças. (OLIVEIRA et al., 2010; PADILHA, 2014). Estudos mostram evidências que os compostos fenólicos encontrados nas uvas e nos vinhos tintos têm o poder de inibir a oxidação da lipoproteína humana de baixa densidade (LDL) (FRANKEL; WATERHOUSE; TEISSEDRE, 1995; CATANEO et al., 2008), além do seu uso contínuo, ajudar a prevenir doenças como aterosclerose (KOVAC; PEKIC, 1991; CATANEO et al., 2008).

Os antioxidantes naturais presentes nas plantas, são compostos alternativos que evitam a deterioração oxidativa dos alimentos, atuam como agentes redutores (sequestradores de radicais livres), inibidores de enzimas, quelantes de metais e exercem um importante papel fisiológico minimizando os danos oxidativos no organismo animal (BLOCK, 1992; SANT'ANA; MANCINI FILHO, 1999; MELO; GUERRA, 2002.). Além de, possuir a capacidade de melhorar a qualidade e a estabilidade dos alimentos tem função nutracêutico e proporciona, ainda, benefícios adicionais à saúde dos consumidores (ARUOMA, 1998; LAI; CHOU; CHAO, 2001).

3.5 Influência do estágio de maturação da uva na qualidade dos vinhos tintos

3.5.1 Fenômenos que acontece durante a maturação da uva

Período fisiológico caracterizado com início do pintor (mudança da cor da baga), associada ao amolecimento dos tecidos, aumento da baga, reduz os níveis dos ácidos (degradação de ácido málico), acúmulo de açúcares, síntese das antocianinas, aumento da concentração de taninos na casca diminuição nas sementes e formação da síntese de compostos voláteis percussores de aromas, caracteriza-se como as principais peculiaridades da maturação da uva. A depender da cultivar, as condições edafoclimáticas, bem como as práticas agrícolas empregadas, com cerca de, 40 dias se dá por finalizada o ciclo da maturação, com a uva madura e pronta para colheita (KADER, 1992; LIZANA, 1995; DOMINGUES NETO et al., 2016). Esta fase é de extrema importância, pois influencia diretamente na composição das uvas, permitindo o desenvolvimento de suas características varietais e conseqüentemente, na composição dos vinhos e derivados (COELHO et al., 2007).

A uva é um fruto não-climatérico que apresenta baixas taxas de respiração, não evoluindo em maturação após a colheita. Portanto, as uvas destinadas à vinificação devem encontrar-se no seu ponto ótimo de maturação, pois os teores de ácidos e açúcares permanecem estáveis após esta fase. Sendo assim, o acompanhamento da maturação das uvas é uma importante ferramenta utilizada em todo o mundo vitícola para a definição da época de colheita (GUERRA, 2002). Compreendem-se quatro fases importantes no estágio de maturação, sendo elas: 1) herbáceo: envolve a formação até a mudança de cor da película da baga. 2) mudança de cor: nas uvas tintas a baga começa a pintar, sendo essa mudança acompanhada de mudanças físicas na baga, ou seja, acontece um acúmulo da coloração das uvas por síntese dos polifenóis e a baga adquire mais elasticidade no decorrer do avanço da maturação. 3) maturação: fase que se começa com a mudança de cor na uva e finaliza com a colheita. Neste período, as bagas amolecem, devido à perda

de rigidez da parede das células da película e ocorre um aumento significativo no teor das antocianinas (em uvas tintas) e no teor de açúcares (glicose e frutose). 4) sobrematuração: inicia a partir da maturação tecnológica, observa-se, que não há mais a síntese notável de açúcares (teores de frutose tornam-se maiores que os de glicose) e dos ácidos, dessecando as bagas e consequentemente, diminuindo o peso (GUERRA & ZANNUS, 2003).

Conforme Guerra & Barnabé (2005), a maturação pode ser classificada em diversas fases: a maturação fisiológica, que ocorre durante a germinação; a maturação industrial, em que a baga atinge seu maior peso e concentração de açúcares; a maturação tecnológica, na qual a uva adquire características ideais para seu destino final, considerando o tipo de vinho a ser produzido, ou quando os teores de açúcares glicose/frutose se equilibram; e a maturação fenólica, que pode ser monitorada pela redução dos taninos extraíveis das sementes até alcançarem o mínimo, garantindo o ponto ótimo para a colheita da uva (GUERRA & ZANNUS, 2003).

Diante disso, tradicionalmente, a data da colheita é determinada através dos critérios peso da baga, densidade do mosto, e conteúdo e relação entre açúcares e acidez (JUNQUERA & ROBREDO, 1988). Vale ressaltar que, com uma uva de qualidade inadequada, não se consegue fazer bons vinhos, por mais modernas e custosas que sejam as técnicas enológicas empregadas.

3.5.2 Concentração de açúcares

A demanda de substâncias nutritivas para a uva é ainda mais considerável nos dias que precedem a fase de pintor, nesta fase, durante a maturação ocorre o aumento no acúmulo de açúcares na uva. No período de crescimento herbáceo, a concentração de açúcares nas bagas ainda verdes não ultrapassa 20 g. kg⁻¹. Nesta fase, os açúcares são sintetizados diariamente, e de acordo com a intensidade do crescimento do fruto esses açúcares são metabolizados, além de influenciar diretamente para o crescimento e maturação das sementes (RIBÉREAU- GAYON et al., 2006).

Considerada o principal composto orgânico translocado para o fruto, a sacarose é o componente mais significativo transportado pelo floema. Ao atingir a baga, uma grande parte da sacarose transportada pelo floema é hidrolisada em glicose e frutose. Embora quantidades semelhantes de glicose e frutose sejam geradas a partir da sacarose, as concentrações desses dois açúcares raramente são equivalentes. Em bagas jovens, a quantidade de glicose tende a ser maior, mas durante o amadurecimento, a relação glicose/frutose frequentemente diminui, resultando no acúmulo ou retenção de frutose, o

que a torna ligeiramente mais predominante do que a glicose. Em todos os estágios de maturação, a frutose é encontrada em concentrações mais elevadas do que a glicose. As razões para esse desequilíbrio são desconhecidas, mas podem originar-se de taxas diferenciadas de glicose e frutose ou de uma síntese seletiva de frutose a partir do ácido málico (ROBREDO et al., 1991; BARBARÁ et al., 2019).

3.5.3 Ácidos orgânicos

Uvas maduras (*Vitis vinífera* L.) apresentam uma das maiores concentrações de açúcares em comparação com outras frutas. Ao lado do acúmulo de açúcares, a redução da acidez é quantitativamente a modificação química mais marcante durante a fase do amadurecimento. As concentrações de açúcares nas bagas apresentam funções importantes nas propriedades aromáticas das uvas, como fonte precursora para a síntese de ácidos orgânicos (DAI et al., 2011; KUHN et al., 2013; BORGHEZAN, 2017).

Representando cerca de 90% dos ácidos orgânicos, os ácidos tartárico e málico presentes nos vacúolos das bagas são acumulados durante a fase de crescimento (JACKSON, 2014). O restante consiste em quantidades variáveis de outros ácidos orgânicos (ácido cítrico e ácido succínico, ácido láctico e ácido acético), ácidos fenólicos, aminoácidos e ácidos graxos. Apesar de estruturalmente semelhantes, os ácidos tartárico e málico são sintetizados e metabolizados de forma diferente (COSME et al., 2016). O ácido tartárico durante a frutificação é acumulado rapidamente, sendo sua concentração reduzida por diluição durante a maturação, o qual é derivado da transformação complexa da vitamina C (ácido ascórbico); já o ácido málico é um intermediário importante no ciclo do ácido tricarboxílico, e consegue alcançar valores máximos próximos ao *pintor*, diminuindo intensamente após esta fase (KELLER, 2010; BOBEICA et al., 2015).

A concentração do ácido málico existente nas uvas é mais rapidamente alterada do que o ácido tartárico. Dependendo da cultivar e dos fatores ambientais, os níveis e a natureza das conversões desses ácidos podem variar amplamente. Durante uma síntese intensa do ácido tartárico, os teores dos outros ácidos aumentam mais lentamente até a fase de maturação completa da uva. Subsequentemente, as concentrações do ácido tartárico tendem a estabilizar, enquanto, o ácido málico diminui (PEYNAUD, 2012).

Na fase da maturação, alguns compostos são responsáveis para a redução da acidez, dentre eles, acumulação de potássio resultante da formação de sais de tartarato e de malatonas bagas. Pensa-se que o acúmulo inicial de ácido málico atue como reserva de nutrientes, em substituição a glicose, tornando-se o substrato fundamental após a fase do

pintor. De acordo com Conde et al (2007), os ácidos são sintetizados e degradados por processos bioquímicos distintos. Isto poderia explicar a rápida redução no teor de ácido málico durante os estádios posteriores de amadurecimento.

O ácido tartárico tende a acumular-se principalmente na casca, com quantidades mais baixas distribuídas uniformemente por toda a polpa da uva, sendo esta diferença reduzida durante a maturação. Em contraste, a deposição de ácido málico é elevada na polpa e baixa nas cascas, e à medida que a maturação avança, essas diferenças tornam-se menos marcadas, sendo possível observar no período de maturação, uma concentração de ácido málico na casca superior a observada na polpa, próximo à colheita os teores de ácido tartárico tendem a ser maiores do que as concentrações de ácido málico (JACKSON, 2014; BOBEICA et al., 2015).

3.5.4 Composição fenólica

Representando cerca de 8.000 compostos diferentes, os compostos fenólicos ou polifenóis fazem parte do maior grupo de antioxidantes naturais presentes na natureza, sendo eles, substâncias quimicamente heterogêneas, hidrofílicas e são produzidas pelo metabolismo secundário de inúmeras plantas, especialmente as videiras. Em comum, apresentam em suas estruturas vários grupos benzênicos tendo como substituintes grupamentos de hidroxilas (HERNÁNDEZ; PRIETO GONZÁLES, 1999; KONDRASHOV et al., 2009). Estes compostos apresentam funções de grande interação no reino vegetal, isto porque apresentam uma grande afinidade química (SILVA et al., 2014; FLAMINI et al., 2013).

Os compostos fenólicos da uva são responsáveis pela cor, sabor, corpo e estrutura dos vinhos tintos, não evoluindo durante a maturação da uva da mesma forma de como acontece com açúcares, ou seja, sua concentração máxima não necessariamente coincide com o máximo acúmulo de açúcares (MAUJEAN et al., 1983). Podem estar na forma livre ou ligados a açúcares e proteínas, podendo ser moléculas simples ou compostos com alto grau de polimerização (ÂNGELO; JORGE, 2007; TAIZ; ZEIGER, 2004). Desta forma, o teor dos compostos fenólicos aumenta ao longo da maturação, entretanto a evolução se dá de modo diferente com relação às distintas famílias fenólicas, sendo fortemente influenciada por aspectos intrínsecos da uva, como sua cultivar, fatores externos, como

clima, região e solo maturidade das bagas, condições climáticas, práticas de viticultura, região de cultivo, contato com insetos e microrganismos, exposição à luz ultravioleta e utilização de fertilizantes e pesticidas (GONZÁLEZ-SANJOSÉ et al., 1990; SIRIWOHARN et al., 2004).

Os compostos podem ser categorizados em dois grupos com base em sua estrutura química: os não flavonoides e os flavonoides (ABE et al., 2007; FLAMINI et al., 2013). Dentro dos flavonoides, o maior grupo de compostos fenólicos, com cerca de 5.000 moléculas descritas, compartilham a característica de possuir dois anéis aromáticos (A e B) ligados por um anel heterocíclico oxigenado, chamado anel C. Os flavonoides são subdivididos em vários subgrupos dependendo do grau de hidroxilação e das variações no anel C, incluindo flavonóis (como caempferol, quercetina e miricetina), flavanóis (como catequina, epicatequina e epigallocatequina), flavonas, flavanonas, antocianinas (como delphinidina, cianidina, malvidina, petunidina e peonidina) e isoflavonoides. Entre os polifenóis das uvas, considera-se este grupo como o mais importante e predominante, tanto em termos de quantidade quanto de qualidade, e está inserido em três principais classes: flavonóis, flavanóis e antocianinas (ABE et al., 2007; WOLFE; LIU, 2008).

A síntese dos compostos fenólicos não-flavonóides tende a diminuir e pode cessar após a fase de pintor. No entanto, alguns compostos fenólicos de baixo peso molecular, isto é, os derivados do ácido benzóico e do ácido cinâmico, podem aumentar durante a maturação (FERNÁNDEZ et al., 1992). No desenvolvimento das bagas, ocorrem algumas alterações na composição dos flavanóis presentes na película (DOWNEY et al., 2003). Após um aumento acentuado no início do desenvolvimento das bagas, o conteúdo de flavanóis individuais diminui à medida que se polimerizam em procianidinas e taninos condensados (PEÑA-NEIRA et al., 2004). O grau de polimerização aumenta com a maturação, assim como a proporção de subunidades de epigallocatequina e a inclusão de monômeros de antocianinas em polímeros de procianidina. As subunidades principais são (-)-epicatequina e (-)-epigallocatequinagalato, sendo que as unidades terminais são principalmente as (+)-catequinas.

As epicatequinas são biossintetizadas a partir de antocianidinas, enquanto a catequina é derivada das leucocianidinas (flavan-3,4-dióis) (KENNEDY et al., 2001). Durante o ciclo produtivo, a biossíntese de flavonoides da videira é fortemente influenciada pela luz solar recebida. As uvas mais expostas à luz solar podem apresentar teores de flavonóis

até dez vezes superiores aos dos mesmos frutos cultivados em condições de sombreamento (AYENEW et al., 2015; CHASSY et al., 2015; DEGU et al., 2016). Por isso, tem-se a expectativa de que os vinhos produzidos com uvas da região do Submédio do Vale do São Francisco podem apresentar teores de compostos fenólicos comparados àqueles presentes em produtos similares oriundos de regiões de clima temperado. Condições climáticas diferenciadas podem estimular a síntese de alguns compostos químicos, como as antocianinas, pigmento de natureza bioativa, valorizando dessa forma os produtos dessa região (NATIVIDADE et al., 2013).

Os flavonóis, presentes principalmente na casca da baga, são formados pelos pigmentos amarelos e sua formação ocorre durante o crescimento da baga. Possuem importante papel no desenvolvimento da coloração do vinho, atuando como co-pigmentos junto às antocianinas (FLAMINI, 2003). Por sua vez, os flavanóis estão presentes principalmente nas sementes e são responsáveis pelo sabor e adstringência de vinhos e sucos de uva (ABE et al., 2007). No mosto da uva, os flavanóis encontram-se na forma monomérica de (+) catequinas e (-) epicatequinas, que pertencem ao grupo dos três polifenóis melhor absorvidos pelo organismo (TUFARELLI et al., 2017). Proporcionando inúmeros benefícios à saúde humana, como, a redução na incidência de certos tipos de câncer, a redução do colesterol sérico e o estímulo ao sistema imunológico (JARA-PALACIOS et al., 2016).

Uma subclasse de grande importância nos flavonoides são as antocianinas, desconhecem-se as condições precisas que fazem parte do início à síntese das antocianinas durante a fase de pintar. Estudos sugerem que o acúmulo de açúcar fornece o substrato necessário para a síntese dos referidos compostos, além de suprir as necessidades imediatas do tecido (DO & CORMIER, 1991). Sendo assim, a síntese das antocianinas pode também ser acionada por alterações nos conteúdos de potássio e cálcio nas células das películas (JACKSON, 2014).

Responsáveis pela pigmentação das flores e frutos, as antocianinas conferem coloração avermelhada, arroxeada, alaranjada e azulada. Estes pigmentos estão presentes nos vacúolos das células da casca e à medida que as uvas amadurecem, aumenta o espaço ocupado por elas, em detrimento do citoplasma. Nas bagas, desde o início da maturação os pigmentos são sintetizados e evoluem por completo no amadurecimento. Costumam-se estar fixadas nas camadas iniciais do tecido da casca, mas também podem estar

presentes na polpa (vacúolos das células) de algumas variedades tintas (MUÑOZ-ESPADA et al., 2004; Lima; CHOUDHURY, 2007). Seis grupos de antocianinas são identificadas, sendo elas, cianidina, peonidina, pelargonidina, delphinidina, petunidina e malvidina. Sendo a Malvina o principal pigmento encontrado nas uvas tintas (JACKSON, 2008).

As antocianinas se distinguem entre si pelos diversos substituintes no anel B, sendo conhecidas como glicosiladas. Nos vinhos, as antocianinas geralmente se apresentam na forma de monoglicosídeos e diglicosídeos, mantendo essencialmente o perfil de antocianinas encontrado nas uvas frescas, embora possam ocorrer algumas diferenças devido à variedade da uva e às condições de cultivo (MUNOZ-ESPADA et al., 2004; Mota, 2006).

Existem três fases distintas de acumulação de antocianinas: na primeira, as concentrações aumentam de forma linear; na segunda, a biossíntese é reduzida, levando a uma estabilização ou até mesmo a uma diminuição dos teores. Posteriormente, algumas variedades podem apresentar uma nova elevação, ocorrendo geralmente próximo ao final do ciclo (FERNÁNDEZ-LÓPEZ et al., 1999; GOUOT et al., 2018). As uvas tintas representam a maior parte da porcentagem em relação ao total de compostos fenólicos, e as antocianinas podem atingir seu valor máximo durante a fase final da maturação (BORGHEZAN, 2017).

O grupo dos não-flavonóides, provenientes do ácido hidroxicinâmicos e do ácido hidroxibenzóico, além dos estilbenos em especial, o resveratrol, cumarinas e lignanas (XIA et al., 2010; KRIKORIAN et al., 2012; FLAMINI et al., 2013). Eles atuam de forma diferenciada em seus conteúdos e perfis em vários frutos. Estes ácidos são precursores de compostos voláteis, e podem estar ligados em reações que possuem atividade antioxidante (FERRANDINO; GUIDONI, 2010). Os estilbenos, compostos sintetizados predominantemente em resposta ao estresse localizado (a exemplo tem-se a infecção por patógenos), tem como principal representante o resveratrol. A síntese dos estilbenos geralmente reduz após a fase de pintor, coincidindo com a síntese de antocianinas em uvas tintas.

Esses compostos possuem ação antioxidante, protegendo o corpo contra danos oxidativos sob diferentes condições e sua distribuição é variável entre as espécies

vegetais, suas cultivares e partes de uma mesma planta (OBREQUE-SLIER et al., 2012a; OBREQUE-SLIER et al., 2012b).

Os estilbenos, em especial, o resveratrol (trans-3,5,4'-trihydroxystilbene) o composto mais amplamente estudado quando se trata de uvas. O resveratrol é encontrado na uva e seus derivados, são sintetizados predominantemente em resposta ao estresse localizado (a exemplo tem-se a infecção por patógenos) tendo mostrado capacidade em diminuir os níveis de lipídeos no soro sanguíneo e agregação plaquetária, aumentarem o colesterol HDL, diminuir o LDL-c e prevenir a obstrução das artérias (LEAL et al., 2017).

De Oliveira et al., (2018), relatam que além desses aspectos, existem ainda outros fatores, como características genéticas da própria uva, condições de cultivo, tratos culturais e estágio de maturação fenólica que podem influenciar na quantidade e estabilidade destes compostos. Sendo assim, são justificáveis o interesse crescente em pesquisas voltadas para compostos fenólicos da uva uma vez que estão intimamente ligados aos benefícios à saúde humana, devido sua capacidade antioxidante e seu possível efeito cardioprotetor, anti-câncer, propriedades de anti-inflamação, antienvelhecimento e antimicrobianas (LEONG et al., 2016; SINGH et al., 2015; DOS SANTOS; 2019).

3.5.5 Determinação do ponto de colheita ideal

A uva destinada à produção de vinho é colhida segundo diferentes critérios, em função do país ou da região de produção, do tipo de vinho a ser elaborado e das condições naturais reinantes em uma determinada safra (GUERRA, 2002). Dentre eles, observa-se, maturação tecnológica, fenólica e aromática, mesmo que sejam variáveis independentes devem ser consideradas no momento da colheita da uva (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006).

Para determinação da época de colheita da uva é necessário mais rigor avaliando parâmetros mais objetivos, como por exemplo, o teor de açúcares (álcool provável) visto que o vinho é, em última análise, o produto da transformação do açúcar da uva em álcool e em produtos secundários (GUERRA, 2002) e acidez (que o balanço entre ambos confere ao vinho um equilíbrio gustativo determinante para a sua qualidade geral) e o teor de sólidos solúveis totais (SST) sendo recomendado para a colheita um teor de sólidos solúveis em torno de 22 °Brix e acidez titulável de 6 - 8 g L⁻¹ (LONA, 2009; RIBÉREAU-GAYON et al., 2006).

3.6 Processo de elaboração do vinho tinto

De acordo com a legislação brasileira o vinho pode ser classificado, como de mesa, leve, fino, espumante, frisante, gaseificado, licoroso, composto, e por cor, tinto, rosado ou rosé ou clarete e branco (BRASIL, 2014). Os vinhos finos elaborados com uvas da espécie *Vitis vinifera* podem ser classificados como monovarietal ou de corte. O vinho de corte é um vinho proveniente da mistura de mostos ou vinhos de variedades de uvas, podendo abranger diferentes colheitas. Já o vinho monovarietal é preparado com uvas de uma só variedade (RAY, 2001).

Na elaboração dos vinhos tintos o processo de maceração é uma etapa de grande importância que se caracteriza, pelo contato das cascas das uvas por um determinado tempo com o líquido (mosto). Esta etapa é de grande importância para extração das substâncias de cor e dos taninos presentes na casca da uva e semente, respectivamente. Assim, o processo de maceração possibilita que o enólogo personalize o vinho aplicando tempos de maceração diferenciados para cada vinho produzido (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006a).

A qualidade da uva influencia diretamente na qualidade do vinho, assim fatores como, técnica de cultivo, maturação da uva e condições fitossanitárias devem ser consideradas no momento da colheita do fruto. Para realizar o controle do amadurecimento das uvas, 50 bagas de diferentes cachos são colhidas e seu mosto analisado quanto ao °Brix, acidez e pH. Assim, quando as uvas chegam ao amadurecimento necessário, começa a colheita ou vindima (BARBA; LIZARRITURRY, 2007).

Ribéreau-Gayon et al., (2006a) descreve as etapas básicas no processo de vinificação que começa com a colheita, desengace/esmagamento; maceração e fermentação alcoólica; prensagem (separação das bagas do mosto); fermentação malolática; estabilização e engarrafamento.

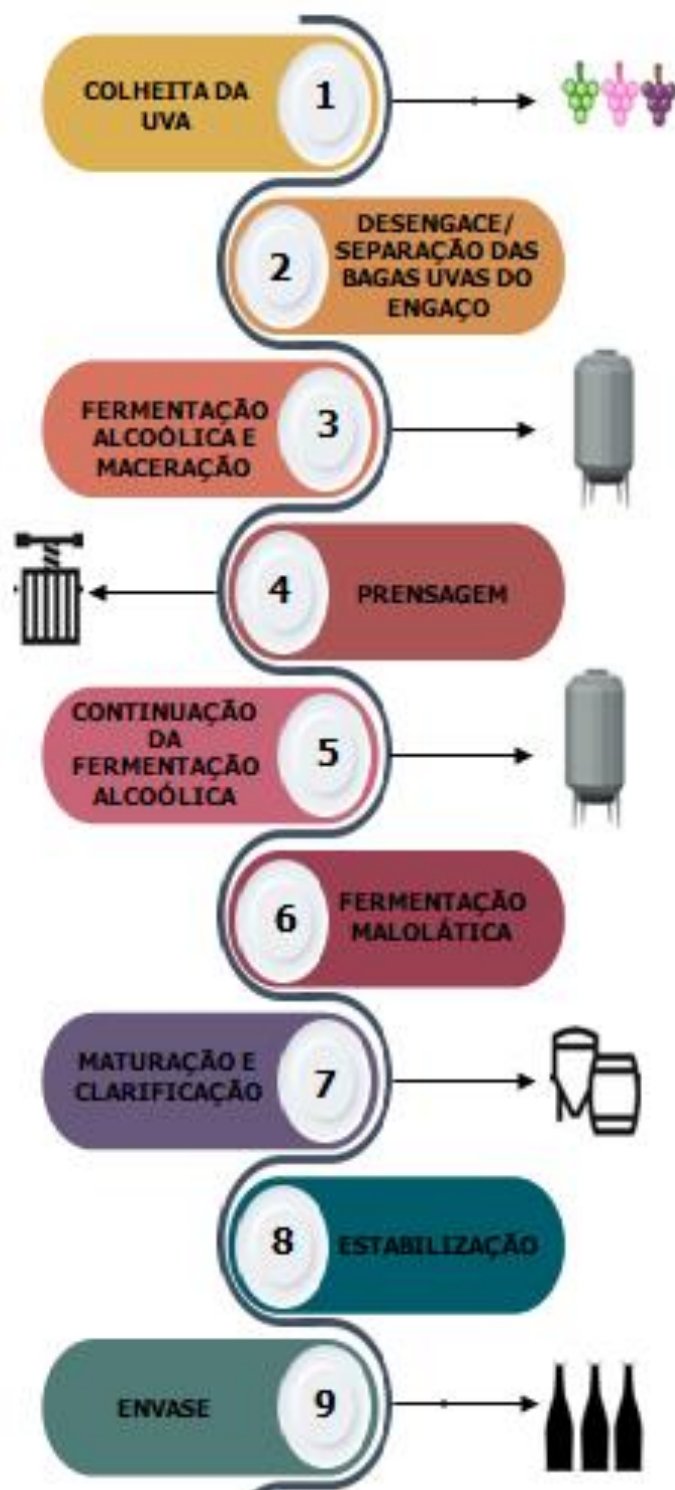


Figura 3. Fluxograma de elaboração de vinho, elaborado pelo autor e adaptado por Jackson (2008).

Para garantir qualidade no processo de elaboração de vinhos é importante manter os cuidados básicos desde a colheita e principalmente na pós-colheita das uvas, é interessante que as uvas sejam colhidas no período da manhã, e acondicionadas caixas contentores higienizadas, o que irá garantir sua integridade física. Os cachos devem ser selecionados sadios e frescos, excluindo uvas com contaminação microbiana, mantidos sob refrigeração, da chegada até seu processamento em no máximo 12 horas após a colheita (LONA, 1996; RIBÉREAU-GAYON et al., 2006a).

A primeira etapa no processo de vinificação é a separação da baga do engaço que é realizada com auxílio de uma desengaçadeira (WUCHERPFENNIG, 2003). Concomitantemente, ocorre o esmagamento, que consiste no rompimento da película da baga e tem como objetivo liberar o mosto contido na polpa para que este entre em contato com o ar e as leveduras presentes na superfície da película (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006a). Dessa maneira, as uvas são parcialmente ou completamente esmagadas contribuindo para o início da fermentação alcoólica e a extração dos pigmentos.

O mosto é acondicionado em tanques de inox durante em média por sete dias, e no primeiro dia é realizada a inoculação da levedura *Saccharomyces cerevisiae* e paralelo é adicionado dióxido de enxofre com o intuito de inibir o crescimento de microrganismos deteriorantes, prevenir a oxidação e escurecimento da bebida, a quantidade recomendada varia de 50 a 100 mg/L (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006a). Esta etapa é denominada maceração, sendo essencial para a extração de aromas, antocianinas e taninos provenientes da semente da uva, polpa e casca. Simultâneo a este processo, ocorre a fermentação alcoólica (HARTMEIER; REISS, 2002; JACKSON, 2014; WUCHERPFENNIG, 2003).

Na fermentação alcoólica a glicose e frutose são transformadas em álcool. Os dois açúcares fermentáveis são transformados em etanol e gás carbônico conforme a equação global: $C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2CH_3CH_2OH + 2CO_2 + 2ATP$ (CORDONNIER, 2007; MACNEIL, 2003).

Durante a fermentação alcoólica o controle de temperatura é essencial na vinificação. Mostos com elevada concentração de açúcar, ou para serem bebidos jovens devem ter a temperatura controlada e relativamente constante entre 25 – 28°C. Essa temperatura favorece a coloração do vinho, além de promover aroma frutado para a bebida. Nessa etapa do processo, é importante que se realize no tanque de fermentação remontagens diárias do mosto, processo que consiste em realizar aeração e consequentemente oxigenar o mosto que está sendo fermentado (DAY et al., 2015), promovendo benefícios como:

homogeneização da temperatura, do açúcar e das leveduras, promove maior extração de antocianinas e taninos, melhorando o processo de maceração, evita a formação de aromas indesejáveis (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006a).

Durante a fermentação malolática é importante determinar o início e final dessa fermentação e a depleção do ácido málico nos tanques, é analisado pela cromatografia em papel. Apesar de não ser um método muito preciso, ela é amplamente aplicada nas vinícolas, sendo monitorada diariamente a depleção de ácido málico (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006a; AVILA; DAUDT, 1997).

Após o término da fermentação malolática, o vinho passa pelo processo de estabilização tartárica em tanque de aço inoxidável, sendo refrigerado e conservado durante 8 a 10 dias entre -3 a -4 °C (CONDDONIER, 2007).

Ao final dessa fase, o vinho é submetido ao processo de clarificação através de técnicas de centrifugação e/ou filtração, a fim de reter as leveduras e partículas em suspensão (HARTMEIER; REISS, 2002; JACKSON, 2014; RIBÉREAU-GAYON et al., 2006a; WUCHERPFENNIG, 2003). De acordo com Garrido; Borges (2013). Esta etapa do processo pode provocar perdas no conteúdo de polifenóis extraídos na etapa de maceração e reduzir a intensidade da cor do vinho. Finalmente o vinho é envasado a frio, de forma estéril para assegurar que a bebida não tenha contaminação microbiológica (HARTMEIER; REISS, 2002; JACKSON, 2014; MACNEIL, 2003; WUCHERPFENNIG, 2003).

3.7 Influência da etapa de maceração sobre a qualidade do vinho tinto

O processo da maceração corresponde à etapa mais importante na elaboração do vinho, quando se busca por vinhos de qualidade e estruturado, sendo que o tempo de maceração pode influenciar diretamente na cor, sabor e aroma (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006a). A fase da maceração refere-se à liberação do conteúdo do bagaço da uva, como películas, sementes e polpa, após o esmagamento. Esta etapa também é responsável pela extração de compostos fenólicos, como antocianinas e taninos, presentes na casca e semente da uva. Esse processo é facilitado pela liberação e ativação das enzimas hidrolíticas a partir das células esmagadas (JACKSON, 2014; PETROPULOS ET al., 2014). Concomitantemente a maceração ocorre durante a fermentação alcoólica. A maceração a baixas temperaturas antes da fermentação inicia a extração de antocianinas e procianidinas da casca da uva (CHEYNIER, 2005).

REFERÊNCIA

1. ARUOMA, O.I (1998). Free radicals, oxidative stress and antioxidants in human health and disease **Journal of American Oil Chemists Society**, Champaign, v. 75, n. 2, p. 199–212.
2. ABE, L, T., VIEIRA DA MOTA, R., LAJOLO, F. M., GENOVESE, M. I (2007). Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, p. 394-400.
3. ASSOCIACAO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – ABNT (1993). **Análise sensorial dos alimentos e bebidas: terminologia**.
4. ÂNGELO, P. M., JORGE, N (2007). Compostos fenólicos em alimentos: uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolf Lutz**, São Paulo, v. 66, n.1, p. 1-9, set.
5. AYENNEW, B., DEGU, A., MANELA, N., PERL, A., SHAMIR, M. O., FAIT, A (2015). Metabolite profiling and transcript analysis reveal specificities in the response of a berry derived cell culture to abiotic stresses. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 728.
6. ATHIA, F., COSTA, A. D (2009). Empresas e tecnologias na nova conjuntura vinícola brasileira do início do século XXI. **Economia & Tecnologia**, v. 18, p. 147–156.
7. AVILA, L. D. DE., DAUDT, C. E (1997). Indução da fermentação maloláctica em vinho tinto com a cultura láctica vinifloraoenos. **Ciencia Rural**, v. 27, n. 2, p. 325–330.
8. AZUMA, A., YAKUSHIJI, H., KOSHITA, Y., KOBAYASHI, S (2012). **Planta**, 236, 1067–1080.
9. BAIANO, A (2016). Wine Processing: A Critical Review of Physical, Chemical, and Sensory Implications of Innovative Vinification Procedures. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 56, n. 14, p. 2391–2407.
10. BABA, S.; FURUTA, T.; HORIE, M.; NAKAGAWA, H. J (1991). **Pharm. Sci.**, 70, 780–782.
11. BARBA, L. M., LIZARRITURRY, M (2007). **Elaboração do vinho**. Barcelona: Folio,
12. BAKER, A. K., CASTURA, J. C., ROSS, C. F (2016). Temporal Check-All-That-Apply Characterization of Syrah Wine. **Journal of Food Science**, v. 81, n. 6, p. 1521–1529.
13. BÖHM J (2007). Portugal Vitícola, o grande livro das castas. **Chaves Ferreira Publicações**, S.A., Portugal.
14. BOBEICA N., PONI S., HILBERT G., RENAUD C., GOMÈS E., DELROT S., DAI Z (2015). Differential responses of sugar, organic acids and anthocyanins to source-sink modulation in Cabernet Sauvignon and Sangiovese grapevines. **Front. Plant Sci.**, 6, 1-14,.

15. BRASIL. **Lei no 10970, de 12 de novembro de 2004. Dispõe sobre a produção, circulação e comercialização do vinho e derivados da uva e do vinho, e dá outras providências.** Brasília: [s.n.].
16. BRASIL. **DECRETO No 8.198, DE 20 DE FEVEREIRO DE 2014. Regulamenta a Lei no 7.678, de 8 de novembro de 1988, que dispõe sobre a produção, circulação e comercialização do vinho e derivados da uva e do vinho.** Brasília: [s.n.].
17. CASASSA, L.F., BEAVER, C.W., MIRELES, M.S., AND HARBERTSON, J.F (2013). Effect of extended maceration and ethanol concentration on the extraction and evolution of phenolics, color components and sensory attributes of Merlot wines. *Aust. J. Grape and Wine Res.* 19: 25–39.
18. CASTILLO-MUÑOZ, N., GÓMEZ-ALONSO, S., GARCÍA-ROMERO, E., & HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I (2007). Flavonol profiles of *Vitis vinifera* red grape sand their single-cultivar wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 55(3), 992–1002.
19. CASTILLO-MUÑOZ, N., WINTERHALTER, P., WEBER, F., GÓMEZ, M. V., GÓMEZ-ALONSO, S., GARCÍA-ROMERO, E (2010) Structure elucidation of peonidin 3,7-O- β -diglucoside isolated from Garnacha Tintorera (*Vitis vinifera* L.) grapes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 58(20), 11105–11111.
20. CATANEO, C.B., CALIARI, V., GONZAGA, L.V., KUSKOSKI, M.E., FETT, R (2008). Antioxidant activity and phenolic content of agricultural by-products from wine production. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 29, n. 1, p. 93-102.
21. CHANG, K. J., LIZ THACH, M., OLSEN, J (2016). Wine and health perceptions: Exploring the impact of gender, age and ethnicity on consumer perceptions of wine and health. **Wine Economics and Policy**, v. 5, n. 2, p. 105–113.
22. CELLA, D., THEODORO, C. G., PAVARINA, P. R. DE J. P., & MALAGOLLI, G. A (2021). A vitivinicultura brasileira e suas dificuldades com a concorrência dos vinhos estrangeiros. **Revista Brasileira Multidisciplinar**, 24 (1).
23. COELHO, E., ROCHA, S. M., BARROS, A. S., DELGADILLO, I (2007). Coimbra, M. **A. Anal. Chim. Acta**, 597 (2), 257–264.
24. COSME F., GONÇALVES B., INÊS A., JORDÃO A.M., VILELA A (2016). Grape and wine metabolites: biotechnological approaches to improve wine quality. *In: Grape and wine biotechnology*. 187-224. Morata A., Loira I. (eds.), INTECH, Rijeka/Croacia.

25. CONDE C., FONTES N., DIAS A.C.P., TAVARES R.M., SOUZA M.J., AGASSE A., DELROT S., GERÓS H (2007). Biochemical changes throughout grape berry development and fruit and wine quality. **Food**, 1, 1-22.
26. CORDONNIER, R (2007). A bioquímica do vinho. **Scientific American Brasil**, v. 1, p. 22–35.
27. CHASSY, A. W., BUESCHL, C., LEE, H., LERNO, L., OBERHOLSTER, A., BARILE, D., SCHUHMACHER, R., WATERHOUSE, A. L (2015). Tracing flavonoid degradation in grapes by MS filtering with stable isotopes. **Food Chemistry**, v.166, 448-455.
28. CHEYNIER, V (2006). **In Flavonoids: Chemistry, biochemistry and applications**; Markham, O. M., ANDERSON, K. R., Eds.; New York: Boca Raton; pp 263–370.
29. DAI Z.W., OLLAT N., GOMÈS E., DECROOCQ S., TANDONNET J.P., BORDENAVE L., PIERI P., HILBERT G., KAPPEL C., LEEUWEN C., VIVIN P., DELROT S (2011). Ecophysiological, genetic, and molecular causes of variation in grape berry weight and composition: **Areview. Am. J. Enol. Vitic.** 62, 413-425.
30. DAY, M. P (2015). Use and impact of oxygen during winemaking. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v. 21, p. 693–704.
31. DEGU, A., AYENEW, B., CRAMER, G. R., FAIT, A (2016). Polyphenolic responses of grapevine berries to light, temperature, oxidative stress, abscisic acid and jasmonic acid show specific developmental-dependent degrees of metabolic resilience to perturbation. **Food Chemistry**, v. 212, p. 828–836.
32. DE OLIVEIRA, J. B., FARIA, D. L., DUARTE, D. F., EGIPTO, R., LAUREANO, O., DE CASTRO, R., RICARDO-DA-SILVA, J. M (2018). Effect of the harvest season on phenolic composition and oenological parameters of grapes and wines cv. ‘Touriga Nacional’ (*Vitis vinifera* L.) produced under tropical semi-arid climate, in the state of Pernambuco, Brazil. **Ciência e Técnica Vitivinícola**, v. 33, p. 145-166.
33. DO, C. B., CORMIER, F (1991). Plant Cell. **Tissue Organ Cult.**24, 49–54.
34. DOMINGUES NETO, F. J., PIMENTEL JUNIOR, A., PAIVA, A. P. M., MO DESTO, L. R., CUNHA, S. R., TECCHIO, M. A (2016). Maturação da uva ‘Brasil’ na região sudeste de São Paulo. **Revista Cultivando o Saber**, v. 9. n. 3, p. 294-301.
35. DOWNEY, M. O., HARVEY, J. S., ROBINSON, S. P (2003). **Aust. J. Grape Wine Res.** 9, 15–27.
36. EBELER, S. E (2001). **Food Rev. Int.** 17(1), 45–64.
37. FERNÁNDEZ, S. B., HERNÁNDEZ, T., ESTRELLA, I., GÓMEZ-CORDOVÉS, C. Z(1992). **Leb. Unters. Forsch.**194, 351–354.

38. FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. A., ALMELA, L., MUÑOZ, J.A., HIDALGO, V., CARREÑO, J (1998). Dependence between colour and individual anthocyanin content in ripening grapes. **Food Research International**, v.31, p. 667-672.
39. FERRANDINO, A., GUIDONI, S (2010). Anthocyanins, flavonols and hydroxycinnamates: an attempt to use them to discriminate *Vitis vinifera* L. cv Barbera clones. **Europe an Food Research and Technology**, v. 230, p. 417-427.
40. FLAMINI, R., MATTIVI, F., ROSSO, M. D., ARAPITSAS, P., BAVARESCO, L (2013). Advanced knowledge of three important classes of grape phenolics: anthocyanins, stilbenes and flavonols. **International journal of molecular sciences**, v. 14, p. 19651-19669.
41. FRANCIS, I. L., WILLIAMSON, P. O (2015). Application of consumer sensory science in wine research. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v. 21, p. 554–567.
42. FRANKEL, E.N., WATERHOUSE, A.L., TEISSEDRE, P.L (1995). Principle phenolic phyto chemicals in selected California wines and their antioxidant activity in inhibiting oxidation of human low-density lipoprotein. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Columbus, v. 43, n.4, p. 890–894.
43. FEDERICO CASASSA, L. et al (2013). Effect of extended maceration and ethanol concentration on the extraction and evolution of phenolics, colour components and sensory attributes of Merlot wines. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v. 19, n. 1, p. 25–39.
44. FREUND, M (2007). Vinho no Sertão: Vinicultura no Vale do São Francisco. Pernambuco; **Senai**: Brasília, DF.
45. GARRIDO, J., BORGES, F (2013). Wine and grape polyphenols — A chemical perspective. **Food Research International**, v. 54, n. 2, p. 1844–1858.
46. GOUOT, J. C., SMITH, J. P., HOLZAPFEL, B. P., WALKER, A. R., BARRIL, C (2018). Grape berry flavonoids: a review of their biochemical responses to high and extreme high temperatures. **Journalof experimental botany**, v.70, p. 397-423.
47. GONZÁLEZ-SANJOSÉ, M. L., BARRÓN, L. J. R., DÍEZ, C (1990). **J. Sci. Food Agric.** 51, 337–343.
48. GUERRA, C. C (2002). Maturação da uva e condução da vinificação para a elaboração dos vinhos. Viticultura e Enologia, atualizando conceitos. **In: I SIMPÓSIO MINEIRO DE VITICULTURA E ENOLOGIA**. EPAMIG.
49. GUERRA, C. C.; BARNABÉ, D (2005). **In Vinho**; Venturini-Filho, W. G., Ed.; Edgard Blucher: São Paulo, p. 423–451.

50. GUERRA, C. C., ZANUS, M. C (2003). *Uvas viníferas para processamento em regiões de clima temperado. **Madureza e colheita.***, Embrapa Uv.; Bento Gonçalves, RS.
51. HE, F., MU, L., YAN, G.L., LIANG, N. N., PAN, Q. H., WANG, J (2010). Biosynthesis of anthocyanins and their regulation in colored grapes. **Molecules**. 15, 9057–9091.
52. HERNÁNDEZ, A. M., PRIETO GONZÁLES, E. A (1999). Plantas que contienen polifenoles. **Revista Cubana de Investigaciones Biomedicas**, Ciudad de La Habana, 18, 12-14.
53. HIDALGO, L. *Tratado de Viticultura General*; Mundi-Prensa: Madrid, 1999.
54. HRAZDINA, G., PARSONS, G.F., MATTICK, L.R (1984). Physiological and Biochemical Events During Development and Maturation of Grape Berries. **American Journal of Enology and Viticulture**. Davis, v. 35, n. 4, p. 220-227.
55. JACKSON, R.S (2002). Wine Tasting: a professional handbook. **Food Science and Technology International Series**. Ed. Elsevier, California, Estados Unidos.
56. JACKSON, R.S (2014). **Wine Science** - Principles and Applications, 4th ed.; San Diego, CA, USA. Vol. 1.
57. JARA-PALACIOS, M., HERNANZ, D., ESCUDERO-GILETE, M., HEREDIA, F (2016.). The use of grape seed byproducts rich in flavonoids to improve the antioxidant potential of red wines. **Molecules**, v. 21, p. 1526.
58. JUNQUERA, B., ROBREDO, L. M., DÍEZ, C (1988). **An. Edafol. y Agrobiol.** 47, 1619–1634.
59. KALLAS, Z., ESCOBAR, C., GIL, J. M (2013). Analysis of consumers' preferences for a special-occasion red wine: A dual response choice experiment approach. **Food Quality and Preference**, v. 30, n. 2, p. 156–168.
60. KOLOUCHOVA, I., MELZACH, K., SMIDRKAL, J., & FILIP (2005). The content of resveratrol in vegetables and fruit. **Chemick e Listy**, 99, 492–495.
61. KENNEDY, J. A.; HAYASAKA, Y.; VIDAL, S.; WATERS, E. J.; JONES, G. P. J (2001). **Agric. Food Chem**, 49, 5348–5355.
62. KRIKORIAN, R., BOESPFLUG, E.L., FLECK, D.E., STEIN, A.L., WIGHTMAN, J.D.; SHIDLER, M. D.; HOSSIENY, S. S (2012). Concord grape juice supplementation and neurocognitive function in human aging. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 5736-5742.
63. KONCZAK, I.; ZHANG, W. J (2004). **Biomed. Biotechnol.** 5, 239–240.

64. KONDRASHOV, A., SEVCÍK, R., BENÁKOVÁ, H., KOSTÍROVÁ, M., STÍPEK, S (2009). The key role of grape variety for antioxidant capacity of red wines. **e-SPEN, The European e-Journal of Clinical Nutrition and Metabolism**, v. 4, p.41-46.
65. KOPONEN, J. M., HAPPONEN, A.M., MATTILA, P. H., & TÖRRÖNEN, A.R (2007). Contents of anthocyanins and ellagitannins in selected foods consumed in Finland. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 55(4), 1612–1619.
66. KOVAC, V., PEKIC, B (1991). Proanthocyanidols from grape and wine. **Contemporary Agriculture**, v. 39, n. 4, p. 5-17.
67. KUHN N., GUAN L., DAI Z.W., WU B., LAUVERGEAT V., GOMÈS E., LI S., GODOY F., ARCE-JOHNSON P., DELROT S (2013). Berry ripening: recently heard through the grapevine. **J. Exp. Bot.** 65, 4543-4559.
68. LEONG, S. Y., BURRITT, D. J., OEY, I (2016). Evaluation of the anthocyanin release and health-promoting properties of Pinot Noir grape juices after pulsed electric fields. **Food Chemistry**, v.196, 833-841.
69. LEAL, J. B., CARVALHO, F. O., GONÇALVES, D. C., LEAL, J. B., DA SILVA, G. C. L., CARNEVALLI, L.C., HOEFEL, A. L (2017). Resveratrol: composição química e seus benefícios à saúde. **RBONE-Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento**, v. 11, p. 620-629.
70. LIMA, M. A. C., LEÃO, P. C., SILVA, A. L., AZEVEDO, S. S. N., SANTOS, P. S (2007). In 138 *Congresso Brasileiro de Fruticultura*; Florianópolis, 2004. Siqueira, T. **Vitivinicultura mundial: 1961-2007**; Rio de Janeiro.
71. LICK, E. et al (2017). Sensory expectations generated by colours of red wine labels. **Journal of Retailing and Consumer Services**, v. 37, n. April 2016, p. 146–158.
72. LONA, A. A (1996). **Vinho – Degustação, Elaboração e Serviço**. Porto Alegre: Age Ltda.
73. LONA, A. A (2009). **Vinhos e Espumantes: elaboração, degustação e serviços**; Age: Porto Alegre.
74. LANGBECKER, M R., ECKHARDT, D P., DA CUNHA, W M., COSTA, V B., GABBARDO, M., SCHUMACHER, R L., DE ANDRADE, S B (2018). Experience of Cold Maceration on ‘Touriga Nacional’ Wine Varieties in the Campanha Gaúcha Region, Brazil. **Journal of Experimental Agriculture International** 22(3): 1-8.
75. KADER, A. A (1992). **Postharvest technology of horticultural crops**. 2nd. ed. Oakland: University of California. 296 p.

76. LIZANA, L. A (1995). Algunos aspectos de cosecha y manejo de postcosecha en uva de mesa para exportación. In: CEPOC. Manejo de uva de mesa para exportación. **Publicaciones Miscelaneas Agricolas**, v. 43, p. 35-43.
77. LONA, A. A (2009). *Vinhos e Espumantes: elaboração, degustação e serviços*; Age: Porto Alegre. Instituto do Vinho do Vale do São Francisco. <https://www.vinhovasf.com.br/site/internas/valetecnico.php>.
78. MACNEIL, (2003). **A Bíblia do Vinho**. Rio de Janeiro: Editouro.
79. MAUJEAN, A., BRUN, O., VESSELLE, G., BUREAU, G., BOUCHER, J. M., COUSIN, M (1983). **Vitis** 22 (2), 137–150.
80. MANACH, C., WILLIAMSON, G., MORAND, C., SCALBERT, A., RÉMÉSY, C (2005). **Am. J. Clin. Nutr.** 81, 230S–242S.
81. MOTA, C.R., SOUZA, C.R., FAVERO, A.C., SILVA, C.P.C., CARMO, E.L.do., FONSECA, A.R., REGINA, M.A (2009). **Produtividade e composição físicoquímica de bagas de cultivares de uva em distintos porta-enxertos**. *Pesq. agropec.bras.*, Brasília, v. 44, n.6, p. 576-582.
82. NATIVIDADE, M. M. P., CORRÊA, L. C., DE SOUZA, S. V. C., PEREIRA, G. E., DE OLIVEIRA LIMA, L. C (2013). Simultaneous analysis of 25 phenolic compounds in grape juice for HPLC: Method validation and characterization of São Francisco Valley samples. **Microchemical Journal**. v.110, p. 665-674.
83. NEO, Y. P., ARIFFIN, A., TAN, C. P., TAN, Y (2008). **A. Int. J. Food Sci. Technol.** 43, 1832–1837.
84. OBREQUE-SLIER, E., LÓPEZ-SOLÍS, R., PEÑA-NEIRA, A (2012a). Differential interaction of seed polyphenols from grapes collected at different maturity stages with the protein fraction of saliva. **International Journal of Food Science and Technology**, v.47, p.1918-1924.
85. OBREQUE-SLIER, E., LÓPEZ-SOLÍS, R., CASTRO-ULLOA, L., ROMERO-DÍAZ, C., PEÑA-NEIRA, A (2012b). Phenolic composition and physicochemical parameters of Carménère, Cabernet Sauvignon, Merlot and Cabernet Franc grape seeds (*Vitis vinifera* L) during ripening. **LWT – Food Science and Technology**, v.48, p.134-141.
86. OIV, International Organization of Vine and Wine. Statistical Report on World Vitiviniculture, 2023. Disponível em https://www.oiv.int/sites/default/files/documents/OIV_World_Wine_Production_Outlook_2023_2.pdf. Acesso em 07 de maio de 2024.

87. IA, E.-Q., DENG, G. F., GUO, Y.-J., LI, H.-B (2010). Biological activities of polyphenols from grapes. **International Journal of Molecular Sciences**, v.11, p. 622-646.
88. PALMA, A.F.J (2014). Effect of deficit irrigation on physiology, vegetative growth, grape production and quality, Touriga Nacional grape variety (*Vitis vinifera* L). Dissertation (Master in Viticulture and Enology) Institute of Agronomy, Technical University of Lisbon. Portuguese.
89. PEYNAUD, E. *Connaissance et travail du vin.*, 5th ed.; Dunod, Ed.; Paris, 2012
90. PEÑA-NEIRA, A., DUEÑAS, M., DUARTE, A., HERNANDEZ, T., ESTRELLA, I., LOYOLA. E. **Vitis** 43, 51–57, 2004.
91. PIGGOTT, J. R. **J. Sens. Stud.**Nº. 4, 261–272, 1990.
92. PIGGOTT, J. R. Design questions in sensory and consumer science. **Food Quality and Preference**, Oxford, v. 6, p. 217–220, 1995.
93. PRIEUR, C., RIGAUD, J., CHEYNIER, V., MOUTOUNET, M. **Phytochemistry**, 35, 781–784, 1994.
94. RAY, J (2001). **O vinho tinto**. Barcelona: Folio.
95. RIBÉREAU-GAYON, P 1964. Les composé'sphé'noiques du raisin et du vin II. Les flavonosides et Les anthocyanosides. **Ann. Physiol. Vég.** 6, 211.
96. RIBÉREAU- GAYON, P., DUBOURDIE, D., DONÈCHE, B., LONVAUD, A (2006). **Handbook of Enology** - The Microbiology of Wine and Vinifications; John Wiley & Sons, Ltda: Chichester, Vol. 1.
97. RIZZON L., A.; MIELE (2001), A. Avaliação da cv. Cabernet Franc para elaboração devinho tinto. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, 21(2): 249-255.
98. ROBREDO, L. M.; JUNQUERA, B.; GONZÁLEZ-SANJOSÉ; M. L., & BARRÓN, L (1991). **J. Ital. J. Food Sci.**3, 173–180.
99. SIRIWOHARN, T., WROLSTAD, R. E., FINN, C. E., PEREIRA, C. B (2004). Influence of cultivar, maturity, and sampling on blackberry (*Rubus* L. Hybrids) anthocyanins, polyphenolics, and antioxidant properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, p. 8021-8030.
100. SANTANA, L. S., MANCINI FILHO, J (1999). (Ação Antioxidante de extratos de alecrim *Rosmarinusofficinalis* L.) em filés de peixe da espécie pacu (*Piaractusmesopotamicusholmberg*). **Revista Brasileira de plantas medicinais**, Botucatu, v. 2, n. 1, p. 27-31.
101. SANTOS, L. F. DOS. **QUALIDADE E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DURANTE A MATURAÇÃO DA UVA ‘BRS MAGNA’ EM FUNÇÃO DE PORTA-**

- ENXERTOS NAS CONDIÇÕES TROPICAIS DO SUBMÉDIO DO VALE DO SÃO FRANCISCO.** Areia–PB, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba, jun. 2019, Tese (Doutorado em Agronomia). Programa de Pós-Graduação em Agronomia.
102. SILVA, L. M. R. DA FIGUEIREDO, E. A. T. DE RICARDO, N. M. P. S., VIEIRA, I. G. P., FIGUEIREDO, R. W., BRASIL, I. M., GOMES, C. L (2014). Quantification of bioactive compounds in pulps and by-products of tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v.143, p. 398-404.
 103. SIMÓN, B. F. DE., CADAHÍA, E., ÁLAMO, M., NEVARES, I (2010). **Anal. Chim. Acta**, 660, 211–220.
 104. SETFORD, P. C (2017). Factors affecting extraction and evolution of phenolic compounds during red wine maceration and the role of process modeling Trends. **Food Science and Technology**. Elsevier Ltd.
 105. SU, C. AND SINGLETON, V (1969). Identification of three flavan-3-ols from grapes. **Phytochemistry**.8, 1553.
 106. TUFARELLI, V., CASALINO, E., D'ALESSANDRO, A. G., LAUDADIO, V (2017). Dietary phenolic compounds: biochemistry, metabolism and significance in animal and human health. **Current drug metabolism**, v.18, p. 905-913.
 107. TSAO, R (2010). Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. **Nutrients**, 2(12), 1231–1246.
 108. VECCHIO, R (2017). European consumers' perception of moderate wine consumption on health. **Wine Economics and Policy**, v. 6, n. 1, p. 14–22.
 109. VILLANO, D., FERNÁNDEZ-PACHÓN, M. S. TRONCOSO, A. M., GARCÍA-PARRILLA, M. C (2006). **Food Chem.** 95, 394–404.
 110. WUCHERPFENNIG, K (2003). WINES |Production of Table Wines. In: **Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition**. [s.l.] Elsevier. p. 6195–6203.
 111. WULF, L.W. and NAGEL, C.W(1976). Analysis of phenolic acids and flavonoids by high-pressure liquid chromatography. **J. Chromatogr.** 116, 271.
 112. YOO, Y. J.; SALIBA, A. J.; PRENZLER, P. D (2010). Should red wine be considered a functional food. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 9, n. 5, p. 530–551.
 113. ZANUS, M.C.; PEREIRA, G.E (2006). **Degustação de vinhos e espumantes. Informe Agropecuário, Vinhos finos: rumo a qualidade**, Belo Horizonte, v. 27, n. 234, 126-132.
 114. ZOECKLEIN, B., FUGELSANG, K. C., GUMP, B.H., & NURY, F. S (1995). **Wine analysis and production**. New York: Chapman & Hall.

**CAPÍTULO II: EXTENDED MACERATION OF MUST IMPROVES PHENOLIC
COMPOSITION AND ANTIOXIDANT POTENTIAL OF TOURIGA NACIONAL
TROPICAL WINES**

4 CAPITULO II - Extended maceration of must improves phenolic composition and antioxidant potential of Touriga Nacional tropical wines.

Erika Samantha Santos de Carvalho^a, Aline Telles Biasoto Marques^{b*}, Luiz Claudio Côrrea^b, Maria Auxiliadora Coelho de Lima^b, Renan Danielski^c and Janice Izabel Druzian^a

^aFederal University of Bahia (UFBA), Rede Nordeste RENORBIO, Department of Bromatological Analysis, College of Pharmacy, Salvador, Bahia, CEP 40.171-970, Brazil.

^bBrazilian Agricultural Research Corporation, Embrapa Tropical Semiárido, Rodovia BR-428, Km 152, Zona Rural – Caixa Postal 23, Petrolina, Pernambuco, CEP 56.302-970, Brazil.

^cDepartment of Biochemistry, Memorial University of Newfoundland, St. John's, NL, A1B 3X9, Canada.

Artigo publicado em 2021

Revista: Journal of Food Bioactives

Doi: <https://doi.org/10.31665/JFB.2020.13260> (open access)

ABSTRACT

The "Submédio do Vale do São Francisco" (S.V.S.F.), located in the Brazilian Northeast, is an emerging winemaking region in South America. Touriga Nacional (T.N.) grapes originated in Portugal, thrive under the climatic conditions found in the S.V.S.F. The effects of extended maceration on different parameters of red wine must produced with T.N. grapes from two harvest years from S.V.S.F. were studied. Increased maceration time (16 to 20 days) resulted in greater total phenolic contents (40 to 85%) compared to eight days of maceration, along with higher antiradical activity (15 to 36%). Regardless of the harvest year, the antiradical activity was mostly related to the contents of resveratrol, (+)-catechin, isorhamnetin-3-O-glucosidase, and (-)-epigallocatechin gallate. In contrast, color intensity was not affected. The increase in the maceration period

induced a positive effect on the phenolic composition, which was reflected in the higher antiradical activity of T.N. red wine.

Keywords: tropical wines; Touriga Nacional; HPLC-DAD-FD; extended pre-fermentation maceration; bioactive composition.

4.1 INTRODUCTION

Located in the Brazilian Northeast region, the "Submédio do Vale do São Francisco" (S.S.F.V.) is an emerging winemaking region in South America, focusing on the production of high-quality tropical wines (PEREIRA et al., 2016; PEREIRA et al., 2018). Tropical viticulture practices are possible in regions where minimum temperatures are not low enough to induce natural vegetative repose in the vines (OLIVEIRA et al., 2019). The S.S.F.V. is located at an altitude of 350 m, between parallels 8° and 9° S, with an average temperature of 26°C, annual precipitation around 500 mm, and 3,000 h of sunshine per year. The semiarid tropical climate condition, associated with the absence of winter and water availability for irrigation, allows the production of grapes on a large-scale, reaching up to two and a half harvests in the same vineyard per year (TEIXEIRA et al., 2013). Tropical wines began to be vinified in Brazil after advancing table grape production in the S.S.F.V (CAMARGO et al., 2011).

Touriga Nacional is one of the most prominent Portuguese grape varieties and is currently one of the main cultivars in the S.S.F.V. for red wines, once the vine is fairly vigorous and presents good adaptation to high temperatures and solar irradiance (JACKSON, 2003; OLIVEIRA et al., 2019). Touriga Nacional red wines from S.S.F.V. have shown high antioxidant capacity associated with a significant content of phenolic compounds, including abundant concentrations of (+)-catechin, (-)-epicatechin, (-)-epicatechin gallate, procyanidin A2, B1 and B2, rutin, gallic acid and stilbenes, as well as the anthocyanins malvidin 3-*O*-glucoside, peonidin 3-*O*-glucoside, and delphinidin 3-*O*-glucoside (PADILHA et al., 2017a). Besides their well-known antioxidant properties, the mentioned anthocyanins also contribute to the intense color of the Touriga Nacional red wines produced in the S.S.F.V.

Wine composition is directly affected by the conditions in which grapes are processed, including destemming, and crushing of the berries, pressing, addition of sulphite, and the maceration step (LIMA et al., 2015; SUN et al., 2001; GOMEZ-MIGUEZ et al., 2007; RIBÉREAU-GAYON et al., 2006). Maceration, which traditionally occurs along with alcoholic fermentation, is the stage where grape

components are extracted. This step depends on the time and temperature in which the skin and seeds are in contact with the wine must. Maceration usually takes less than eight days (KOCABEY et al., 2016; JORDÃO et al., 2001). Therefore, this is one of the crucial steps in winemaking, once phenolic acids and flavonoids found in red wine are generally located in the grape's skins and seeds (BARBARÁ et al., 2019; RIVERO et al 2019; KELEBEK et al., 2006). High contents of phenolic compounds positively affect the flavor, structure, color, and stability of wine (GRANATO et al., 2016). Hence, maceration time is a critical factor in obtaining a satisfactory balance among red wine components, also enhancing the product's bioactive potential and antioxidant capacity (JORDÃO et al., 2001, JORDÃO et al., 2012; SUN et al., 2001).

Recent findings (LUKIC et al., 2016) have compared several wine maceration procedures and looked into the effects of cryo-maceration and thermovinification. The study showed discrepant results due to the different grape cultivars that were tested (LUKIC et al., 2016). Nevertheless, Yilmaztekin et al. (2015) used extended conventional maceration during fermentation (up to 15 days) to produce wine with grape cultivar Karaoglan from Arapgir (Malatya, Turkey) and obtained a high content of volatile compounds. Alencar et al. (2018) also used extended maceration (up to 30 days) to produce tropical red wine from Syrah grape from the S.S.F.V. region, and the product showed a high concentration of phenolic compounds as well as increased antioxidant capacity.

Although little is known about the effects of extended conventional maceration on red wines produced with Touriga Nacional grape, wine quality is highly influenced by the maceration process. The success of this step depends on the grape cultivar, environmental conditions, and harvest period. Therefore, the objective of this study was to evaluate the influence of extended maceration on the phenolic compounds, antiradical activity, and color intensity of red wines produced from Touriga Nacional grapes grown in tropical conditions and harvested in different seasons.

4.2 MATERIALS AND METHODS

4.2.1 Feedstock

Grapes from the cultivar Touriga Nacional (*Vitis vinifera* L.) from an experimental area (9° 2'S, 40° 11' W, 365.5 m, Lagoa Grande, Pernambuco, Brazil) composed of 360 plants were harvested (Figure 1). Each area consisted of 6 plants in each side, totalizing 12 plants. The grapevines grafted under the 'Paulsen 1103' rootstock were conducted in a trellis system with 1.5 m spacing between plants, being further drip irrigated. The grapes were harvested in two crops in distinct seasons – Vintage 2016 (October 2016 – February 2017) and Vintage 2017 (March – July), harvested with 119 and 125 days after pruning, respectively, when the content of soluble solids reached over 24°Brix. The climatic conditions of the two crops were monitored, as shown in Table S1.

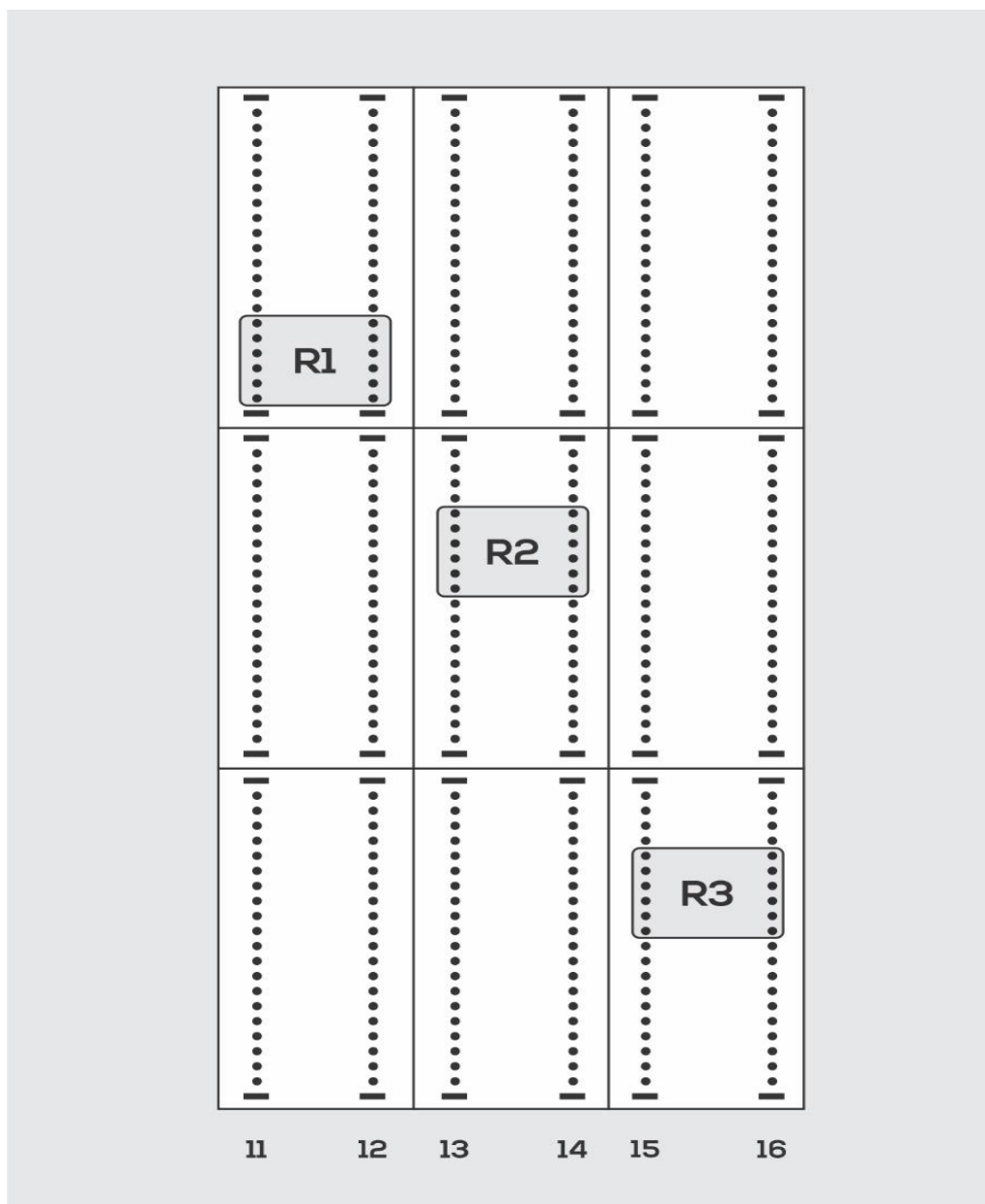


Figure 1. Scheme showing the field experiments that originate the wines used in this study for 2016 and 2017 harvests. Grapes from cultivar Touriga Nacional were harvested, with each area consisting of 6 plants in each side, totalizing 12 plants.

4.2.2 Winemaking

Wines were produced 50 km away from the harvest site, using traditional winemaking procedures for young red wines (PEYNAUD, 1997). Twenty-five kilograms of grapes from each experimental area block (R1, R2 and R3) shown in Figure 1 were collected. To obtain the must, grapes from blocks R1, R2, and R3 were destemmed and crushed, promoting a slight pressure on the pomace. Next, each block of must was transferred to three 20 L glass bottles closed with airlock valves. Maceration and fermentation were initiated after the addition of potassium metabisulfite (0.10 g/L), pectinolytic enzyme EverumThermpEverintec (0.01 g/L), commercial yeast Maurivin PDM Coatec *Saccharomyces cerevisiae bavanus* (0.20 g/L), and ammonium phosphate as a fermentation starter Gesferm plus Coatec (0.20 g/L) under controlled temperature (24 ± 1 °C). During the maceration period, which lasted for 20 days, 50 mL aliquots of must (R1, R2 and R3) were drawn in four days intervals in triplicate (Table 1) and stored in an ultra freezer (-80 °C).

Table 1. Maceration time planning and samples.

2016 Harvest Year	
Samplecode	Time of maceration (days)
P0	1 st (must)
P1	4
P2	8
P3	12
P4	16
P5	20
2017 Harvest year	
P0	1 st (must)
P1	4 th
P2	8 th
P3	12 th
P4	16 th
P5	20 th

4.2.3 Color intensity (CI) and total phenolic content (TPC)

Color intensity (CI) was determined spectrophotometrically (Cary 50 Bio U.V./Visible Spectrophotometer, Palo Alto, CA, USA) using the sum of readings at wavelengths 420, 520, and 620 nm, according to Ribéreau-Gayon et al. (2006). Total phenolic content was determined by the Folin-Ciocalteu method as explained by

Singleton and Rossi (1965). Gallic acid was used as a standard to build a calibration curve, and the results were expressed as mg of gallic acid equivalents (GAE)/L of sample.

4.2.4 Antioxidant capacity towards DPPH radical and ABTS radical cation

Antioxidant capacity was determined by the DPPH (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) assay according to Brand-Williams et al. (1995). Samples were mixed with an ethanolic solution (61 μ M) of DPPH and kept in the dark for 30 min. Antioxidant capacity was also evaluated by the scavenging of ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical cation (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), as reported by MCRAE et al. (2019). The absorbances were read at 515 (DPPH assay) and 734 nm (ABTS assay). Trolox (6- 7 hydroxy-2,5,7,8 - tetramethylchroman-2-carboxylic acid) was used to build calibration curves for both assays, and the results were expressed as μ mol Trolox equivalent (TE)/ mL.

4.2.5 Phenolic profile by HPLC-DAD-FD

Phenolic compounds were identified by high-performance liquid chromatography (Waters Alliance 2695, Milford, MA, USA) with diode array detector (DAD) and fluorescence detector (FD), according to Natividade et al. (2013) and Costa et al (2020). The chromatographic parameters for each phenolic standard used are shown in Table S2. For column separation, a Gemini-NX18 pre-column (4,0 mm x 3,0 mm, Phenomenex®, Torrance, CA, USA) and a Gemini-NX18 column (150 mm x 4,60 mm x 3 μ m, Phenomenex®, Torrance, CA) were used. Mobile phases were composed of (A) 0.85% orthophosphoric acid solution and (B) acetonitrile (HPLC grade, J.T. Baker, Phillipsburg, NJ, USA). The flow rate was set to 0.5 mL/min. The oven (Waters Alliance 2695, Milford, MA, USA) temperature was 40 °C, with an elution gradient composed of: 0 min 100% A, 10 min 93% A, 20 min 90% A, 30 min 88% A, 40 min 77% A, 45 min 65% A, and 55 min 100% B. Sample aliquots were filtered using a nylon membrane of 0.45 μ m (Phenomenex®, Torrance, CA, USA) prior to injection into the system. Samples were injected in triplicate (10 μ L). Phenolic compounds were detected at 280, 320, 360, and 520 nm using DAD, and with FD (emission of 280 nm and excitation at 320 nm). Data were processed by the software Waters Empower™ 2 (Milford, MA, USA).

For quantification, standard curves were built using phenolic acids, namely gallic, caffeic, *p*-coumaric, and chlorogenic acids (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA). Flavonoid standards included kaempferol-3-*O*-glucoside, isorhamnetin-3-*O*-glucoside,

myricetin, quercetin 3- β -D-glucoside, rutin, (+)-catechin, (-)-epigallocatechin gallate, (-)-epicatechin gallate, procyanidin A2, procyanidin B1, and procyanidin B2. The identification and quantification of anthocyanins were performed according to Costa et al. (2020), using the standards pelargonidin 3-O-glucoside, cyanidin 3-O-glucoside, delphinidin 3-O-glucoside, malvidin 3-O-glucoside, peonidin 3-O-glucoside, and petunidin 3-O-glucoside (Extrasynthese, Genay, France). Stilbenes were also quantified using *cis*-resveratrol, piceatannol, and *trans*-resveratrol (Extrasynthese, Genay, France). All the standards presented a purity grade $\geq 98\%$.

4.2.6 Data analysis

Data were submitted to ANOVA and Tukey means test ($p \leq 0.05$) by the software SAS® University (S.A.S. Institute Inc, Cary, NC, USA). Predictive models for monitoring the maceration process were built using polynomial regression and the statistical software OriginPro® 8.0 (OriginLab Corporation, Northampton, MA, USA). Principal Component Analysis (PCA) was generated using Pearson correlation matrix, additional variables (antioxidant activity values) and the XLStat software (Addinsoft Inc., Anglesey, UK). Additionally, Pearson correlation analysis was also applied to identify the positive and negative correlations between phenolic compounds and antioxidant activity at 5% level of significance.

4.3 RESULTS AND DISCUSSION

4.3.1 Phenolic profile determined by HPLC-DAD-FD

The phenolic composition of Touriga Nacional wine is shown in Table 2. A total of 27 phenolic compounds were identified in musts with different maceration times. When comparing the content of each identified phenolic, significant differences ($p \leq 0.05$) were observed throughout the maceration period and between the two harvests (within the same maceration time).

The sum of identified phenolic acids varied from 318.58 to 568.65 mg/L for the 2016 harvest and from 195.71 to 514.34 mg/L for the 2017 harvest. Gallic acid increased during maceration time up to 16 days in the 2016 harvest, while for the 2017 harvest, both gallic acid and chlorogenic acid presented increasing concentrations up to 20 days of maceration. However, the same was not observed for ferulic, caffeic, and *p*-coumaric acids, which presented an increase up to day 8 of maceration in both harvests. From this point on, the content of these phenolic acids was reduced until day 20 (Table 3). The

behavior of caffeic and chlorogenic acids during maceration in the 2016 harvest can be due to the reaction between caffeic, quinic, shikimic, and tartaric acids to form phenolic acid esters, such as chlorogenic acid (KOSSEVA et al., 2017). The concentrations of gallic, ferulic, and *p*-coumaric acids found in the present study were similar to those reported by Alencar et al. (2018). Besides its antioxidant activity, chlorogenic acid is also potentially associated with health-promoting effects. These benefits include inhibition of liver cancer cells and potential prevention of type 2 diabetes and cardiovascular ailments (GARAMBONE et al., 2008).

During the maceration procedure, gallic acid is extracted from grape seeds after hydrolysis of gallate esters from flavonoids by the action of esterases. Subsequently, it is esterified with ethanol, forming ethyl gallate. This chemical process seems to also take place during fermentation, benefiting wine ageing (LINGUA et al., 2016). According to Kocabey et al. (2016), maceration of grape cv. Karaoglan (Malatya, Turkey) for up to 15 days released 7.15 mg/L of *p*-coumaric acid and 1.62 mg/L of ferulic acid. The interaction between phenolic compounds may strongly influence wine quality, even though they are present in minor amounts (MORENO-ARRIBAS and POLO, 2008).

The total flavanol content, from the start to day 20, varied from 100.12 to 304.91 mg/L in must samples for the 2016 harvest and from 6.20 to 207.55 mg/L in must for the 2017 harvest (Table 2). Regarding the flavanols identified in the 2016 sample, (-)-epicatechin gallate, (-)-epicatechin, procyanidin B1, and procyanidin B2 showed increasing levels up to 16 days of maceration, while the concentrations of (-)-epigallocatechin gallate, (+)-catechin, and procyanidin A2 continued to increase during the entire maceration period (20 days). However, for the 2017 samples, the levels of all flavanols consistently increased throughout the 20 days of maceration. Among flavanols, procyanidin B1, (-)-epicatechin, procyanidin B2, and (+)-catechin presented the highest concentrations between 16 and 20 days of maceration for both harvests (Table 2).

According to Lingua et al. (2016), (+)-catechin and (-)-epicatechin are mainly concentrated in grape skins and seeds. In the present study, both compounds reached their concentration peaks around 16-20 days of maceration. Alencar et al. (2018) reported that after 20 days of maceration, cv. Syrah must contained 14.5 mg/L of (-)-epicatechin and 5.6 mg/L of (+)-catechin. These results are significantly lower than those obtained in the present study, indicating the high bioactive potential of wines produced with Touriga Nacional grapes grown in the S.V.S.F. region.

Procyanidin B1 has been reported as the main flavanol present in grape skin, while the seeds are abundant in procyanidin B2 (GONZÁLEZ-MANZANO et al., 2004), in agreement with the results obtained in the present study (Table 2). Procyanidins are related to flavor, astringency, bitterness, oxidation, and color stability in wines, as well as a myriad of health benefits due to their potential as antioxidant and anti-inflammatory substances (GARRIDO and BORGES, 2013; KENNEDY, 2008; VAUZOUR et al., 2010).

The stilbenes *cis*-, *trans*-resveratrol, and piceatannol were identified in musts from both harvests (Table 2). Interestingly, after eight days of maceration, the levels of total stilbenes did not undergo drastic changes as opposed to what was observed for phenolic acids and flavanols (Table 2).

Maceration for 16 days resulted in the highest concentrations of *cis*-resveratrol for the 2016 (0.74 mg/L) and 2017 (1.04 mg/L) samples. However, for *trans*-resveratrol, the highest yield was achieved after eight maceration days in both harvests (1.01 mg/L). Padilha et al. (2017b) reported a higher *trans*-resveratrol content for Touriga Nacional wine from S.V.S.F. (3.0 mg/L). Granato et al. (2016) reported *trans*-resveratrol levels ranging from 1.02 to 4.30 mg/L in wines from temperate climate regions, namely the South of Brazil, Argentina, and Chile. On the other hand, *cis*-resveratrol results were in agreement with wines produced with the cultivars Syrah, Tannat, Cabernet Sauvignon, and Merlot from the S.V.S.F. region (LUCENA et al., 2010). The discrepancy in results from several studies can be explained by differences in winemaking practices and climate conditions (LIMA et al., 2015). The presence of resveratrol in Touriga Nacional wine is beneficial as this compound is related to cardioprotective and anticarcinogenic effects due to its antioxidant properties (FERNANDEZ-MAR et al., 2012; VAUZOUR et al., 2010).

Must samples did not benefit from extended maceration regarding total flavonol content, as opposed to phenolic acids and flavanols (Table 2). Baseline concentrations of total flavonols were 8.15 mg/L for the 2016 harvest and 2.29 mg/L for the 2017 harvest, reaching 25.61 mg/L (2016) and 19.15 mg/L (2017) after eight maceration days, with no significant variations until 20 days of maceration, where the total flavonol content decreased to 19.51 mg/L (2016) and 14.48 mg/L (2017). Quercetin-3-*O*-glucoside and isorhamnetin-3-*O*-glucoside were identified in significant amounts, while kaempferol-3-*O*-glucoside, rutin, and myricetin were present in lower concentrations. According to Casassa et al. (2013), flavonols are progressively extracted during the first five to nine

days of maceration. From this point on, these molecules undergo acid hydrolysis, releasing unstable aglycones that may be lost by ethanolic precipitation. Flavonols from grape skin are yellow compounds released during the extraction process. In wines, they are usually responsible for flavor features, such as astringency and bitterness (TSANOVA-SAVOVA and RIBAROVA, 2012; MONAGAS et al., 2003). Although extended maceration results in higher contents of phenolic acids and flavanols, flavonols do not change in the same way, which prevents the wine from altering its sensory characteristics. Conjugated flavonols have a more significant presence than their free counterparts, as reported by Tsanova-savova and Ribarova (2012) for Bulgarian Merlot and Cabernet wines.

Total anthocyanins were significantly reduced with extended maceration (8-20 days), ranging from 295.53 to 185.30 mg/L for the 2016 samples, and from 573.91 to 417.62 mg/L for the 2017 samples (Table 2). Overall, six anthocyanins were identified in the must (pelargonidin 3-*O*-glucoside, cyanidin 3-*O*-glucoside, delphinidin 3-*O*-glucoside, malvidin 3-*O*-glucoside, peonidin 3-*O*-glucoside, and petunidin 3-*O*-glucoside), increasing their amounts up to day 8 of maceration (Table 2).

The decline in anthocyanin content after eight days of maceration has been attributed to ionic adsorption by negatively charged yeasts, adsorption in bitartrate crystals, and incorporation in polymeric pigments (HARBERTSON and SPAYD, 2006). Anthocyanin reduction might cause decreased co-pigmentation in wines as a result of the increase in the must's ethanol concentration due to fermentation. This causes the medium to become more hydrophobic, contributing to anthocyanin loss and, consequently, conferring a less appealing color (HERMOSIN-GUTIÉRREZ, 2003). Therefore, it is noteworthy that the present study showed a lower malvidin-3-*O*-glucosidase concentration than Touriga Nacional wine (888.31 mg/L) produced after nine maceration days in the Viseu region, located in the North of Portugal (JORDÃO et al., 2012).

Table 2: Phenolic compounds ($n = 27$) of Touriga Nacional musts during maceration time at vintage 2016 and vintage 2017.

Phenolic compounds (mg/L)	Maceration time (days) vintage 2016					
	P0	P1	P2	P3	P4	P5
Gallic acid	2.50 d	11.80 cd	24.03 bc	34.55 ab	48.58 a	39.28 ab
Caftaric acid	287.51 d	475.87 a	488.33 a	373.93 bc	386.60 b	342.81 c
Chlorogenic acid	10.05 b	10.46 b	13.18 ab	11.28 b	15.35 a	13.78 ab
Caffeic acid	16.16 d	35.47 a	34.53 a	25.43 b	23.98 b	20.50 c
<i>p</i> -Coumaric acid	1.12 c	1.48 bc	1.58 bc	2.12 b	3.49 a	3.62 a
Ferulic acid	1.23 c	6.13 ab	6.98 a	5.36 ab	5.35 ab	4.63 b
Total phenolicacids	318.58 d	541.23 a	568.65 a	452.69 bc	483.35 b	424.64 c
(-)-Epicatechin gallate	1.88 b	2.23 a	1.99 ab	1.86 ab	1.84 ab	1.39 c
(-)-Epigalato catechin gallate	2.41 d	2.69 cd	3.23 abc	3.12 bc	3.74 ab	3.93 a
(+)-Catechin	1.38 c	5.45 b	6.45 b	6.41 b	7.86 ab	8.25 a
(-)-Epicatechin	2.76 d	20.63 c	48.03 ab	68.25 b	72.07 a	66.10 b
Procyanidin A2	0.88 d	1.23 c	1.45 bc	1.63 ab	1.81 a	1.83 a
Procyanidin B1	6.65 d	49.25 c	112.50 bc	161.96 ab	168.35 a	155.73 b
Procyanidin B2	2.61 d	18.63 c	40.15 b	61.65 bc	67.87 a	67.11 a
Total flavanols	18.596 d	100.12 c	213.81 b	304.91 ab	323.56 a	304.36 ab
<i>Cis</i> -resveratrol	0.18 c	0.48 b	0.66 ab	0.65 ab	0.74 a	0.66 ab
Piceatannol	0.80 c	1.20 bc	1.75 a	1.30 ab	1.36 ab	1.23 bc
<i>Trans</i> -resveratrol	0.41 b	0.83 ab	1.01 a	0.76 ab	0.95 a	0.73 ab
Totalstilbenes	1.40 c	2.51 b	3.43 a	2.71 ab	3.06 ab	2.62 ab
Kaempferol-3- <i>O</i> - glucoside	0.51 b	0.60 ab	0.63 a	0.61 ab	0.60 ab	0.60 ab
Quercetin 3- β -D- glucoside	3.41 c	6.53 bc	8.85 a	7.50 b	8.36 ab	6.31 bc

Isorhamnetin-3-O-glucoside	1.88 c	6.26 ab	6.86 a	5.48 bc	6.35 ab	5.85 b
Myricetin	1.00 c	2.11 a	1.93 ab	1.66 ab	1.71 ab	1.51 bc
Rutin	1.33 c	6.60 ab	7.33 a	6.50 ab	6.10 ab	5.23 b
Total flavonols	8.15 d	22.11 bc	25.61 a	21.76 ab	23.13 b	19.51 c
Pelargonidin 3-O-glucoside	6.81 e	15.16 ab	15.68 a	12.41 bc	11.70 cd	8.75 de
Cyanidin 3-O-glucoside	1.21 a	0.53 c	0.50 c	0.93 b	0.61 ab	0.61 ab
Delphinidin 3-O-glucoside	4.88 bc	7.06 a	6.56 ab	4.86 bc	4.11 c	3.00 c
Malvidin 3-O-glucoside	77.11 d	227.20 ab	255.40 a	207.11 b	207.30 b	164.55 c
Peonidin 3-O-glucoside	14.15 ab	15.05 a	14.10 ab	9.68 abc	8.68 bc	6.51 c
Petunidin 3-O-glucoside	1.42 d	2.40 bc	3.28 a	2.72 ab	2.58 b	1.86 cd
Total anthocyanins	105.60 c	267.42 ab	295.53 a	237.73 b	235.00 b	185.30 bc
Phenolic compounds (mg/L)	Maceration time (days) vintage 2017					
	P0	P1	P2	P3	P4	P5
Gallic acid	1.01 d	9.42 cd	22.74 bc	31.54 b	48.03 ab	51.88 a
Caftaric acid	191.97 c	421.91 ab	475.52 a	448.525 a	392.66 ab	328.35 b
Chlorogenic acid	1.01 c	5.28 bc	9.02 abc	9.55 abc	11.24 ab	14.69 a
Caffeic acid	0.36 ab	0.35 ab	0.39 ab	0.16 b	0.45 a	0.35 ab
<i>p</i> -Coumaric acid	1.07 c	4.26 ab	5.45 a	2.67 bc	2.47 bc	3.10 bc
Ferulic acid	0.29 c	0.70 b	1.20 a	0.76 b	0.64 b	0.57 b
Total phenolicacids	195.71 c	441.94 ab	514.34 a	493.21 ab	455.51 ab	398.97 b
(-)-Epicatechin gallate	0.37 c	0.68 bc	0.94 b	2.51 a	2.10 ab	2.04 ab
(-)-Epigallocatechin gallate	1.08 c	2.52 bc	2.91 ab	4.42 a	3.23 ab	3.09 ab
(+)-Catechin	1.06 e	7.75 de	23.59 cd	32.83 bc	48.20 ab	54.56 a
(-)-Epicatechin	1.29 e	10.80 de	30.48 cd	44.26 bc	64.20 ab	71.70 a
Procyanidin A2	0.42 c	0.90 b	1.45 ab	1.28 bc	1.63 ab	1.73 a

Procyanidin B1	1.49 c	9.73 b	15.96 bc	14.38 bc	17.64 ab	19.47 a
Procyanidin B2	0.46 c	3.55 c	13.42 bc	23.31 b	45.82 ab	54.94 a
Total flavanols	6.20 e	35.95 de	88.77 cd	123.02 bc	182.84 ab	207.55 a
<i>Cis</i> -resveratrol	0.25 b	0.69 ab	0.82 a	0.69 ab	1.04 a	0.84 a
Piceatannol	0.27 c	0.42 b	0.62 b	0.64 a	0.65 a	0.63 b
<i>Trans</i> -resveratrol	0.25 c	0.59 ab	1.01 a	0.98 b	0.58 ab	0.54 ab
Totalstilbenes	0.78 c	1.70 ab	2.45 a	2.32 ab	2.27 ab	2.03 b
Kaempferol-3- <i>O</i> -glucoside	0.23 c	1.02 b	1.34 ab	1.84 a	1.45 ab	1.18 ab
Quercetin 3- β -D-glucoside	0.73 c	4.26 b	5.71 a	5.39 ab	4.65 b	3.56 bc
Isorhamnetin-3- <i>O</i> -glucoside	0.65 c	6.32 b	8.79 a	7.70 ab	7.87 ab	6.57 b
Myricetin	0.44 c	1.21 bc	2.21 ab	2.78 a	2.33 ab	2.03 ab
Rutin	0.23 c	0.73 b	1.08 ab	1.47 a	1.18 ab	1.13 ab
Total flavonols	2.29 c	13.57 b	19.15 a	19.19 a	17.51 ab	14.48 ab
Pelargonidin 3- <i>O</i> -glucoside	5.20 c	86.74 ab	115.41 a	81.95 ab	70.43 b	86.74 ab
Cyanidin 3- <i>O</i> -glucoside	2.82 d	7.66 ab	8.00 a	6.36 b	5.03 bc	3.48 c
Delphinidin 3- <i>O</i> -glucoside	3.50 c	66.27 ab	77.45 a	57.37 ab	47.33 b	36.45 bc
Malvidin 3- <i>O</i> -glucoside	27.55 c	325.44 ab	267.53 b	341.39 a	312.99 ab	267.02 b
Peonidin 3- <i>O</i> -glucoside	17.62 c	78.07 ab	85.17 a	64.78 ab	50.76 abc	40.04 bc
Petunidin 3- <i>O</i> -glucoside	0.67 d	17.21 ab	20.33 a	15.29 abc	11.90 bc	9.33 c
Total anthocyanins	57.38 d	581.14 a	573.91 ab	567.18 b	498.47 bc	417.62 c

¹Means with the same lowercase letter in the same lines do not differ significantly according to Tukey's test ($p \leq 0.05$). P0 = 1 st (must), P1 = 4 th, P2 = 8 th, P3 = 12 th, P4 = 16 th, P5 = 20 th.

4.3.2 Predictive models

The effect of maceration (up to 20 days) on color intensity, total phenolic content, antioxidant capacity (DPPH and ABTS), and specific phenolic classes (total phenolic acids, total flavanols, total stilbenes, total anthocyanins, and total flavonols) of Touriga

Nacional wine are summarized in Fig. 2. For each variable, the predictive models obtained high coefficients of determination (R^2), varying from 0.844 (color intensity) to 0.997 (total anthocyanins) for the 2016 harvest and from 0.643 (total flavonols) to 0.986 (color intensity) for the 2017 harvest.

The model in Fig. 2A (R^2 0.844, $p = 0.005$) for the 2016 harvest showed a higher color intensity between four and 12 days of maceration, with no large variations observed until the end of the maceration period. Samples from the 2017 harvest (R^2 0.986, $p \geq 0.004$) followed the same trend. Gil et al. (2012) studied extended maceration (up to 30 days) for Tempranillo and Cabernet Sauvignon wines and found a similar trend to the one detected in the present study, with the color intensity stabilizing after ten days of maceration. However, the Touriga Nacional cultivar has shown greater potential for color extraction (~ 24.0) when compared to the cultivars Tempranillo and Cabernet Sauvignon (14.1 and 13.5, respectively). Gomez-Míguez et al. (2007) and McRae et al. (2019) observed that color intensity and total phenolic content increased after four days of maceration. In the present study, after eight days of maceration, color intensity remained relatively constant. This is usually the maceration period used in standard commercial wines.

As shown in Fig. 2B, an increase of 45% in total phenolic content was observed from day 8 to 16 of maceration in the 2016 must. After 16 days, the concentration declined. On the other hand, the must from the 2017 harvest (R^2 0.948, $p=0.012$) registered an increase in phenolic concentration from 16 to 20 days of maceration, which evidences the influence of harvest on this bioactive group. Alencar et al. (2018) studied extended maceration (up to 30 days) to produce Syrah wine and observed that total phenolic content was higher after 15 days of maceration. These results show that phenolics are more affected by extended maceration than color intensity in tropical wines. Phenolic content and antioxidant activity are influenced by environmental factors, such as grape cultivar, climatic conditions, area of cultivation, and winemaking conditions (GÓMEZ-CORDOVÉS, FAITOVÁ et al., 2004; DE CONINCK et al., 2006; GONÇALVES and JORDÃO, 2009).

The antioxidant capacity of Touriga Nacional must, determined by DPPH and ABTS assays, presented significant variations throughout the maceration period for both harvests, as shown in Fig. 2 C (R^2 0.810, $p=0.083$ for the 2016 harvest; R^2 0.972, $p=0.033$ for the 2017 harvest) and Fig. 2 D (R^2 0.978, $p=0.001$ for the 2016 harvest; R^2 0.983,

$p=0,007$ for the 2017 harvest). Regarding the sample from the 2016 harvest, DPPH radical scavenging capacity peaked at 12 days of maceration, while the highest efficiency for ABTS radical scavenging capacity was observed at 8 days of maceration, then declining until the end of the maceration period. Contrarily, must from the 2017 harvest displayed an increasing trend for DPPH radical scavenging activity throughout the entire maceration period. Regarding ABTS radical cation scavenging activity, the peak was reached between 10 and 15 days of maceration, with no further variations for the rest of the maceration period.

Alencar et al. (2018) observed that the DPPH radical scavenging activity of wine produced from Syrah grapes grown in the Brazilian Northeast was $16.00 \mu\text{mol TE/L}$ by using 15 days of maceration. This result is similar to that found in the present study. According to Leeuw et al. (2014), the antioxidant activity determined by the DPPH assay for wines produced from Cabernet Sauvignon, Merlot, Syrah, Pinot Noir and Malbec produced in France, Italy, United Kingdom, United States, Chile, Australia, and Argentina varied from 3.71 to $7.67 \mu\text{mol TE/L}$.

Predictive models for specific phenolic classes have also been obtained in the present study. The model for phenolic acids shown in Fig. 2E (R^2 0.925, $p=0.012$ for the 2016 harvest; R^2 0.822, $p \geq 0.042$ for the 2017 harvest) demonstrates that, regardless of the harvest, phenolic acids are most efficiently extracted by eight days of maceration, decreasing the concentration after this period. Meanwhile, total flavanols reached their highest amount at 16 days of maceration in samples from the 2016 harvest, while total flavanol levels continued to increase up to 20 days of maceration in must from the 2017 harvest (Fig. 2F). Stilbenes (Fig. 2G), anthocyanins (Fig. 2H) and flavonols (Fig. 2I) followed a similar trend by decreased levels after reaching the peak. All these phenolic classes were more predominant in the must from the 2016 harvest compared to those from the 2017 harvest. The presence of several phenolic classes and the interaction between different compounds play an essential role in the antioxidant capacity of wine, related to the protection against oxidative stress in the human body (OROIAN and ESCRICHE, 2015; ROLEIRA et al., 2015; GRIS et al., 2013; SAMOTICHA et al., 2017).

Table 3: Pearson correlation analysis ($p \leq 0.05$) results for phenolic compounds and antioxidant activity of Touriga Nacional musts from 2016 e 2017 harvests.

Phenolic Compounds	DPPH (Vintage 2016)		ABTS (Vintage 2016)		DPPH (Vintage 2017)		ABTS (Vintage 2017)	
	Pearson r	p-Values	Pearson r	p-Values	Pearson r	p-Values	Pearson r	p-Values
Phenolicacids								
Gallicacid	0,93	0,01*	0,87	0,03*	0,84	0,04*	0,83	0,04*
Caftaricacid	0,70	0,12	0,76	0,08	0,24	0,65	0,38	0,46
Chlorogenicacid	0,76	0,08	0,80	0,06	-0,22	0,67	0,02	0,98
Caffeicacid	0,24	0,64	0,39	0,45	0,89	0,02*	0,88	0,02*
<i>p</i> -Coumaricacid	0,72	0,11	0,71	0,11	0,35	0,50	0,47	0,35
Ferulicacid	0,67	0,15	0,77	0,07	0,49	0,32	0,62	0,19
Flavanols								
(-)-Epicatechingallate	-0,49	0,32	-0,47	0,35	0,88	0,02*	0,77	0,07
(-)-Epigallocatechingallate	0,79	0,06	0,81	0,05*	0,94	0,01*	0,84	0,03*
(+)-Catechin	0,94	0,00*	0,98	0,00*	0,83	0,04*	0,82	0,04*
(-)-Epicatechin	0,96	0,00*	0,88	0,02*	0,84	0,04*	0,82	0,04*
Procyanidin A2	0,95	0,00*	0,91	0,01*	0,89	0,02*	0,94	0,00*

Procyanidin B1	0,95	0,00*	0,87	0,02*	0,92	0,01*	0,96	0,00*
Procyanidin B2	0,93	0,01*	0,86	0,03*	0,73	0,10	0,71	0,11
Stilbenes								
<i>Cis</i> -resveratrol	0,98	0,00*	0,94	0,00*	0,86	0,03*	0,95	0,00*
Piceatannol	0,61	0,20	0,67	0,14	0,96	0,00*	0,98	0,00*
<i>Trans</i> -resveratrol	0,70	0,12	0,79	0,06	0,68	0,14	0,68	0,13
Flavonols								
Kaempferol-3- <i>O</i> -glucoside	0,97	0,00*	0,95	0,00*	0,95	0,00*	0,90	0,01*
Quercetin 3- β -D-glucoside	0,69	0,13	0,76	0,08	0,82	0,05*	0,86	0,03*
Isorhamnetin-3- <i>O</i> -glucoside	0,78	0,07	0,89	0,02*	0,88	0,02*	0,94	0,01*
Myricetin	0,53	0,28	0,64	0,17	0,95	0,00*	0,93	0,01*
Rutin	0,80	0,05	0,85	0,03*	0,97	0,00*	0,92	0,01*
Anthocyanins								
Pelargonidin 3- <i>O</i> -glucoside	0,50	0,32	0,59	0,21	0,66	0,16	0,74	0,09
Cyanidin 3- <i>O</i> -glucoside	-0,84	0,03*	-0,92	0,01*	0,33	0,52	0,40	0,43
Delphinidin 3- <i>O</i> -glucoside	-0,19	0,71	-0,10	0,84	0,60	0,21	0,66	0,15
Malvidin 3- <i>O</i> -glucoside	0,67	0,15	0,76	0,08	0,87	0,02*	0,83	0,04*

Peonidin 3- <i>O</i> -glucoside	-0,64	0,17	-0,55	0,26	0,47	0,35	0,53	0,28
Petunidin 3- <i>O</i> -glucoside	0,81	0,05	0,79	0,06	0,59	0,21	0,66	0,16
DPPH	1,00	0,00*	0,96	0,00*	1,00	0,00*	0,96	0,00*
ABTS	0,96	0,00*	1,00	0,00*	0,96	0,00*	1,00	0,00*

*valor $p \leq 0,05$

4.3.3 Analysis of Pearson correlation

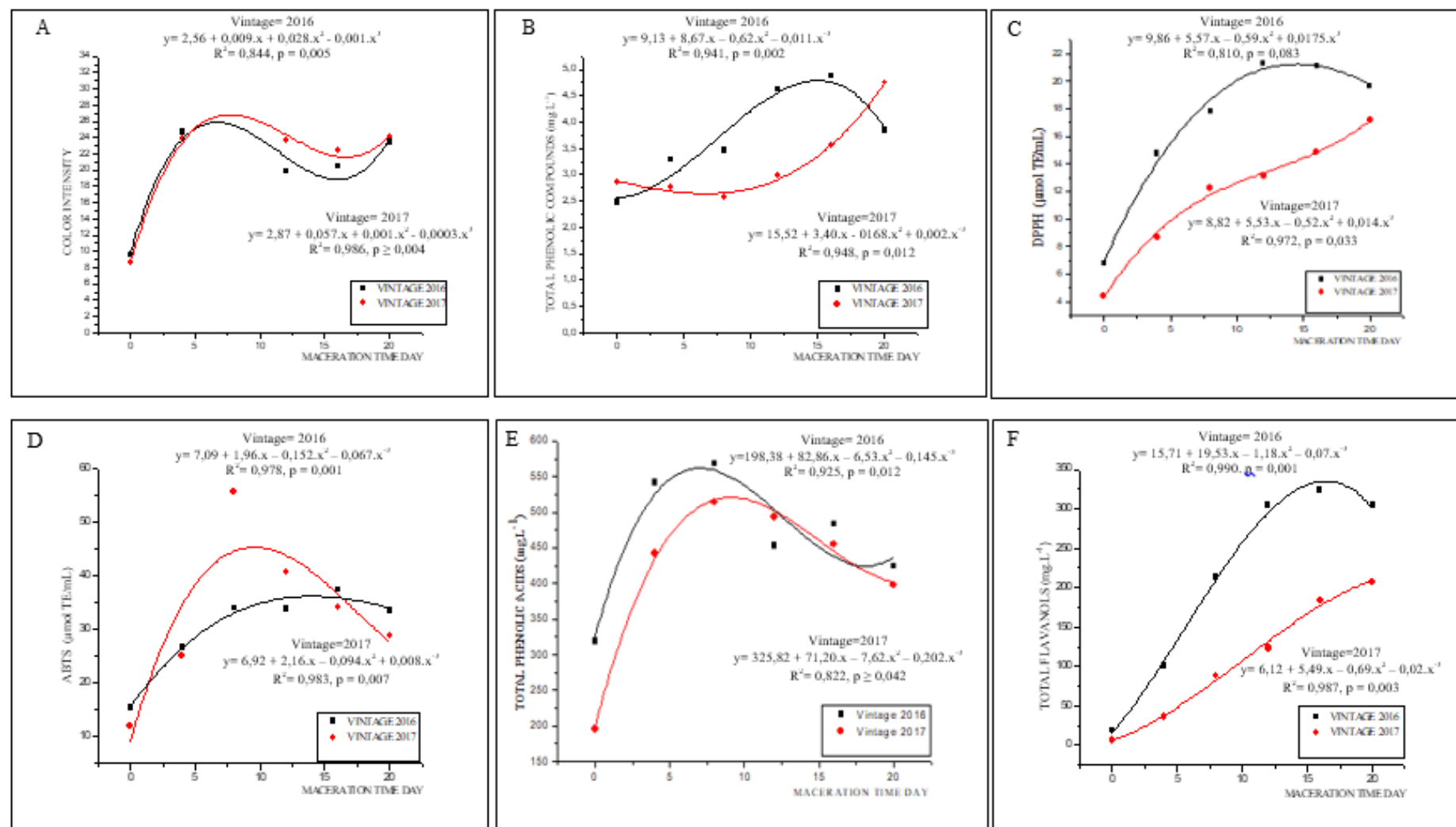
Fig. 3 presents the principal component analysis representing the interaction between the phenolic profile and antiradical activity of must samples from the 2016 and 2017 harvests.

The extended mapping explains approximately 77.36% of the variation among phenolic compounds and antiradical activity, mainly due to phenolic compounds' presence on the right of PC1 (40.88%). Among these phenolics, there are phenolic acids, stilbenes, flavonols, flavanols, and anthocyanins. Sample distribution (Fig. 3B) shows the formation of four different groups, as follows – group 1 (SF17P1), group 2 (SF16P0 and SF17P0), group 3 (2016 harvest from P1 to P5), and group 4 (2017 harvest from P2 to P5). Group 3 samples showed a high correlation with phenolics located on the left side of PC1, indicating the group's rich concentration in such compounds. The same can be said for group 4 samples, highly correlated with compounds located on the right side of PC1. On the other hand, group 2 samples did not show correlation with any compound, which may indicate their lower concentration of phenolics compared to the samples that have undergone maceration. This once again shows the importance of the maceration step for the presence of phenolic compounds in wines.

Maceration periods within group 3 were associated primarily with higher contents of chlorogenic acid, ferulic acid, caffeic acid, flavonols (rutin and quercetin-3- β -D-glucoside), flavanols (procyanidin A2, B1, B2, (-)-epicatechin, (-)-epigallocatechin gallate), and stilbenes (piceatannol, *trans*-resveratrol). On PC 2 (36.48%), the samples SFP2, SFP3, SFP4, and SFP5 from the 2017 harvest demonstrated a greater interaction between antiradical activity and anthocyanins (pelargonidin 3-*O*-glucoside, delphinidin 3-*O*-glucoside, malvidin 3-*O*-glucoside, peonidin 3-*O*-glucoside, and petunidin 3-*O*-glucoside), phenolic acids (gallic, caftaric, and *p*-coumaric), and flavonoids (myricetin, kaempferol-3-*O*-glucoside, isorhamnetin-3-*O*-glucoside, (-)-epicatechin gallate, (+)-catechin, and *cis*-resveratrol) contents. These results confirm the effect of harvest on the content of phenolic compounds.

Table 3 shows the correlation between antioxidant capacity (DPPH and ABTS) and phenolic profile in must from Touriga Nacional grapes. Among all phenolic acids, gallic acid showed the highest correlation with antioxidant activity for samples from both harvests. For the 2017 harvest, caffeic acid presented a significant correlation with antioxidant activity ($r = 0.89$ for DPPH and $r = 0.88$ for ABTS).

In general, flavanols showed a high positive correlation with antiradical activity in samples from both harvests, with the only exception being (-)-epicatechin gallate in the 2016 must (Table 3). Among stilbenes, *cis*-resveratrol had the highest correlation with antiradical activity in both harvests. A high correlation pattern was also observed for flavonols, except for myricetin in the 2016 must.



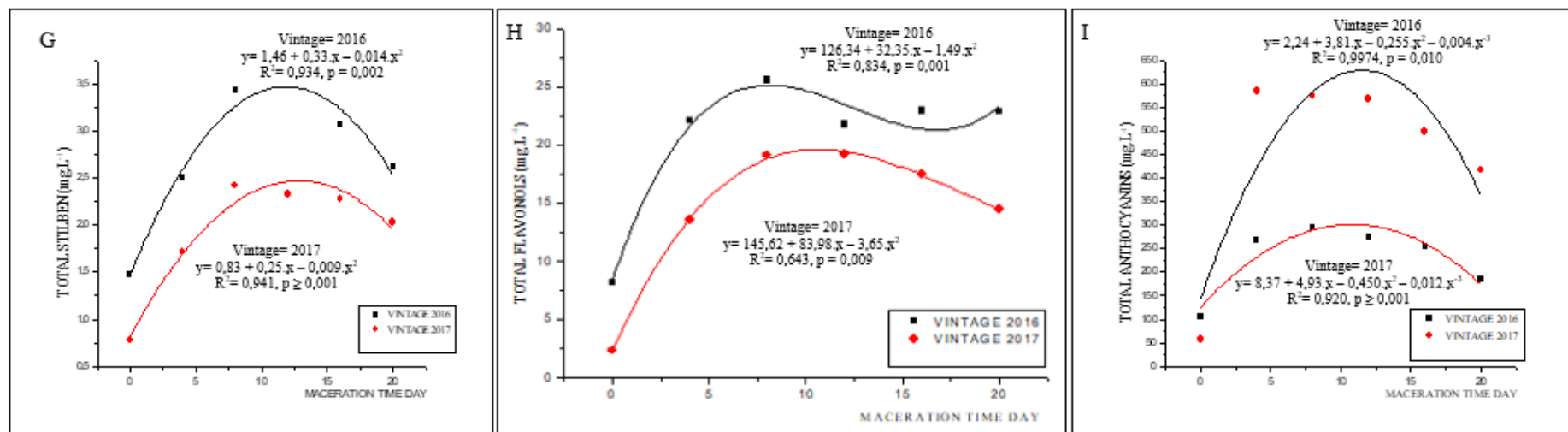


Figure 2. Predictive models for the maceration time of Touriga Nacional red must regarding color intensity (A), Total phenolic content (B), Antioxidant capacity expressed by the radical DPPH (C) and ABTS (D), Total phenolic acids (E), Total flavanols (F), Total Stilbenes (G), Total anthocyanins (H) and Total Flavonols (I).

4.4 CONCLUSIONS

Extended maceration increased the concentration of phenolic compounds, color intensity, and antioxidant capacity in wine. Grape harvest influenced the phenolic composition and antioxidant capacity, with samples from the 2016 harvest showing the best results. This outcome could have been favored by climate conditions in those years, with higher synthesis and accumulation of phenolics in grapes, possibly contributing to high-quality wine. However, after 12 days of maceration, the phenolic content stabilized until the end of the maceration period. Little variation was noted for the color intensity. Thus, extended maceration between 16 and 20 days is recommended in order to enhance antioxidant activity due to the increase in the content of bioactive compounds.

REFERENCE

2. ALENCAR, N.M.M., CAZARIN, C.B.B., CORRÊA, L.C., JUNIOR, A.R.M., BIASOTO, A.C.T., AND BEHRENS JH (2018). Influence of maceration time on phenolic compounds and antioxidant activity of the Syrah must and wine. **J. Food Biochem.** 42: e12471.
3. BARBARÁ, J.A., SILVA, E.A.S., BIASOTO, A.C.T., GOMES, A.A., CÔRREA, L.C., LEÃO, P.C.S., AND ZINI, C.A (2019). Maturation and Maceration Effects on Tropical Red Wines Assessed by Chromatography and Analysis of Variance - Principal Component Analysis. **J. Braz. Chem. Soc.** 30: 1357-1377.
4. BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M.E., AND BERSET, C (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Sci. Technol.** 28: 25-30.
5. CAMARGO, U.A., PEREIRA, G.E., AND GUERRA, C.C (2011). Wine grape cultivars adaptation and selection for tropical regions. **Acta Hortic.** 910: 121–129.
6. CASASSA, L.F., BEAVER, C.W., MIRELES, M.S., AND HARBERTSON, J.F (2013). Effect of extended maceration and ethanol concentration on the extraction and evolution of phenolics, color components and sensory attributes of Merlot wines. **Aust. J. Grape and Wine Res.** 19: 25–39.
7. COSTA, R.R., RODRIGUES, A.A.M., VASCONCELOS, V.A.F., COSTA, J.P.D., AND LIMA, M.A.C (2020). Trellis systems, rootstocks and season influence on the phenolic composition of ‘Chenin. Blanc’ grape. **Sci. Agric.** 77: e20180207.
8. DE CONINCK, G., JORDÃO, A.M., RICARDO-DA-SILVA, J.M., AND LAUREANO, O (2006). Evolution of phenolic composition and sensory properties in red wine aged in contact with Portuguese and French oak wood chips. **J. Int. Sci. Vigne Vin.** 40: 25–34.
9. FAITOVÁ, K., HEJTMÁNKOVÁ, A., LACHMAN, J., PIVEC, V., AND DUDJAK, J. (2004). The contents of total polyphenolic compounds and trans-resveratrol in white Riesling originated in the Czech Republic. Czech J. **Food Sci.** 22: 215–221.
10. FERNANDEZ-MAR, M.I., MATEOS, R., GARCIA-PARRILLA, M.C., PUERTAS, B., AND CANTOS-VILLAR, E. (2012). Bioactive compounds in wine: Resveratrol, hydroxytyrosol and melatonin: **A review. Food Chem.** 130: 797– 813.
11. GARAMBONE, E. AND ROSA, G. (2008). Possíveis benefícios do ácido clorogênico à saúde. **Alim. Nutr.** 18: 229–235.
12. GARRIDO J. AND BORGES F. (2013). Wine and grape polyphenols chemical perspective. **Food Res. Int.** 54: 1844-1858.

13. GIL, M., KONTOUDAKIS, N., GONZÁLEZ, E., ESTERUELAS, M., FORT, F., CANALS, J.M., AND ZAMORA, F. (2012). Influence of Grape Maturity and Maceration Length on Color, Polyphenolic Composition, and Polysaccharide Content of Cabernet Sauvignon and Tempranillo Wines. **J. Agric. Food Chem.** 60: 7988–8001.
14. GÓMEZ-CORDOVÉS, C. AND GONZÁLEZ-SANJOSÉ, M.L. (1995). Interpretation of color variables during the aging of red wines: relationship with families of phenolic compounds. **J. Agric. Food Chem.** 43: 557–561.
15. GOMEZ-MIGUEZ, M., GONZALEZ-MIRET, M.L., AND HEREDIA, F.J. (2007). Evolution of colour and anthocyanin composition of Syrah wines elaborated with pre-fermentative cold maceration. **J. Food Eng.** 79: 271–278.
16. GONZÁLEZ-MANZANO, S., RIVAS-GONZALO, J. C., AND SANTOS-BUELGA, C. (2004). Extraction of flavan-3-ols from grape seed and skin into wine using simulated maceration. **Anal. Chim. Act.** 513: 283–289.
17. GONÇALVES, F.J. AND JORDÃO, A.M (2009). Changes in antioxidant activity and proanthocyanidin fraction of red wine aged in contact with Portuguese (*Quercus pyrenaica* Willd.) and American (*Quercus alba* L.) oak wood chips. **Ital. J. Food Sci.** 21: 51–64.
18. GRANATO, D., CARRAPEIRO, M.M., FOGLIANO, V., SASKIA, M., AND RUTH, V (2016). Effects of geographical origin, varietal and farming system on the chemical composition and functional properties of purple grape juices: **A review. Trends Food Sci. Technol.** 52: 31-48.
19. GRIS, E.F., MATTIVI, F., FERREIRA, E.A., VRHOVSEK, U., FILHO, D.W., PEDROSA, R.C., AND BORDIGNON-LUIZ, M.T (2013). Phenolic profile and effect of regular consumption of Brazilian red wines on in vivo antioxidant activity. **J. Food Compos. Anal.** 31: 31–40.
20. HARBERTSON, J.F. AND SPAYD, S. Measuring phenolics in the Winery (2006). **A.J.E.V.** 3: 280–288.
21. HERMOSIN-GUTIÉRREZ, I (2003). Influence of ethanol content on the extent of copigmentation in a Cencibel young red wine. **J. Agric. Food Chem.** 51: 4079–4083.
22. JACKSON, R.S (2003). Modern biotechnology of winemaking. In: Sandler, M. and Pinder R. editors. (Ed.). **Wine. Taylor and Francis**, New York, NY, pp. 228–259.
23. JORDÃO, A.M., RICARDO-DA-SILVA, J.M., AND LAUREANO, O (2001). Evolution of catechin and procyanidin composition during grape maturation of two varieties (*Vitis vinifera* L.) Castelão Francês and Touriga Francesa. **Am. J. Enol. Vit.** 5: 230–234.

24. JORDÃO, A.M., AND CORREIA, A.C (2012). Relationship Between Antioxidant Capacity, Proanthocyanidin and Anthocyanin Content During Grape Maturation of Touriga Nacional and TintaRoriz Grape Varieties. **South African J. Enol.** 33: 214-223.
25. KELEBEK, H., CANBAS, A., SELLI, S., SAUCIER, C., JOURDES, M., AND GLORIES, Y (2006). Influence of different maceration times on the anthocyanin composition of wines made from *Vitis vinífera* L. cvs. Bog̃azkere and Okuzgozu. **J. Food Eng.** 77: 1012–1017.
26. KENNEDY, J.A (2008). Grape and wine phenolics: Observations and recent findings. **Cien. Investig. Agrar.** 35: 107–120.
27. KOCABEY, N.M., YILMAZTEKIN, M., AND HAYALOGLU1, A.A (2016). Effect of maceration duration on physicochemical characteristics, organic acid, phenolic compounds and antioxidant activity of red wine from *Vitis vinifera* L. Karaoglan. **J. Food Sci Technol.** 9: 3557–3565.
28. KOSSEVA, M.R., JOSHI, V.K., AND PANESAR, P.S (2017). Science and technology of fruit wine production. San Diego, CA: Academic Press Limited.
29. LEEUW R, KEVERS C, PINCEMAIL J, DEFRAIGNE J.O, AND DOMMES J (2014). Antioxidant capacity and phenolic composition of red wines from various grape varieties: Specificity of Pinot Noir. **J. Food Compos. Anal.** 36: 40-50.
30. LIMA, M.S., DUTRA, M.C.P., TOALDO, I.M., CORRÊA, L.C., PEREIRA, G.E., OLIVEIRA, D., ANDNINOW, J.L (2015). Phenolic compounds, organic acids and antioxidant activity of grape juices produced in industrial scale by different processes of maceration. **Food Chem.** 188: 384–392.
31. LINGUA, M.S., FABANI, M.P., WUNDERLIN, D.A., AND BARONI, M.V (2016). From grape to wine: Changes in phenolic composition and its influence on antioxidant activity. **Food Chem.** 208: 228–238.
32. LUCENA, A.P.S., NASCIMENTO, R.J.B., MACIEL, J.A.C., TAVARES, J.X., BARBOSA-FILHO, J.M., AND OLIVEIRA, E.J (2010). Antioxidant activity and phenolics content of selected Brazilian wines. **J. Food Compos. Anal.** 23: 30–36.
33. LUKIC, I., BUDIC-LETO, I., BUBOLA, M., DAIJANIC, K., AND STAVAR, M (2016). Pre-fermentative cold maceration, saignée, and various thermal treatments as options for modulating volatile aroma and phenol profiles of red wine. **Food Chem.** 224: 51–261.
34. MONAGAS, M., GOMEZ-CORDOVES, C., BARTOLOME, B., LAUREANO, O., AND SILVA, J.M.R (2003). Monomeric, oligomeric, and polymeric flavan-3-ol

- composition of wines and grapes from *Vitis vinifera* L. Cv. Graciano, Tempranillo, and Cabernet Sauvignon. **J. Agric. Food Chem.** 51: 6475–6481.
35. MORENO-ARRIBAS, M.V. AND POLO, C (2008). Wine chemistry and biochemistry. New York: **Springer Verlag**.
 36. MCRAE, J.M., TENG, B., AND BINDON, K (2019). Factors Influencing Red Wine Color from the Grape to the Glass. In: Melton, L., Shahidi, F., and Varelis, P. (Ed.). **Encyclopedia of Food Chemistry**. Elsevier, pp. 97-106.
 37. NATIVIDADE, M.M.P., CORRÊA, L.C., SOUZA, S.V.C., PEREIRA, G.E., AND LIMA, L.C.D (2013). **Microch. Jour.** 110: 665-674.
 38. OLIVEIRA, J.B., FARIA, D.L., DUARTE, D.F., EGIPTO, R., LAUREANO, O., CASTRO, R., PEREIRA, G.E., AND SILVA, J.M.R (2019). Efeito da época de colheita na composição fenólica e parâmetros enológicos de uvas e vinhos cv. ‘Touriga Nacional’ (*Vitisvinifera* L.) produzidos sob clima tropical Semiárido, no Estado de Pernambuco, Brasil. **Ciênc. Téc. Vitiv.** 33: 145-166.
 39. OROIAN, M. AND ESCRICHE, I (2015). Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. **F. Res. Inter.** 74: 10–36.
 40. ROLEIRA, F.M.F., TAVARES-DA-SILVA, E.J., VARELA, C.L., COSTA, S.C., SILVA, T., GARRIDO, J., AND BORGES, F. (2015). Plant derived and dietary phenolic antioxidants: Anticancer properties. **Food Chem.** 183: 235–258.
 41. PADILHA, C.V.S., BIASOTO, A.C.T., CORRÊA, L.C., LIMA, M.S., AND PEREIRA, G.E (2017a). Phenolic compounds profile and antioxidant activity of commercial tropical red wines (*Vitis vinifera* L.) from São Francisco Valley, Brazil. **J. Food Biochem.** 41: 1–9.
 42. PADILHA, C.V.S., MISKINIS, G.A., SOUZA, M.E.A.O., PEREIRA, G.E., OLIVEIRA, D.M., BORDIGNON-LUIZ, T., AND LIMA, M.S (2017b). Rapid determination of flavonoids and phenolic acids in grape juices and wines by RP-HPLC/DAD: Method validation and characterization of commercial products of the new Brazilian varieties of grape. **Food Chem.** 228: 106–115.
 43. PEREIRA, G.E., PADILHA, C.V.S., MARQUES, A.T.B., CANUTO, K.M., MENDES, A., AND SOUZA, J.F (2016). Lepoids desconsom mateurssurl’evolutiondesvins: L’exemple de La Vallee Du Sao Francisco, Bresil. In: Perard, J., Perrot, M. (Ed.). **Vin et Civilisation lês étapes de l’humanisation**. Dijon, France, Centre Georges Chevrier, pp. 301–310.

44. PEREIRA, G.E., GUERRA, C.C., AMORIM, F.M., NASCIMENTO, A.M.S., SOUZA, J.F., LIMA, L.L.A., LIMA, M.S., PADILHA, C.V.S., PROTAS, J.F.S., ZANUS, M.C., ANDTONIETTO, J (2018). Vinhos tropicais do semiárido do Brasil: desvendando o potencial vitivinícola desta nova fronteira geográfica do vinho. **Territoires du Vin**. 91-13.
45. PEYNAUD, E (1997). **Connaissance et Travail du Vin**. (2nd ed.). Paris: Dunod, pp. 134-145.
46. RIBÉREAU-GAYON, Y.G, MAUJEAN A, AND DUBOURDIEU D (2006). **The chemistry of wine stabilization and treatments handbook of enology**. (2nd ed.). London: Wiley, pp. 96-104.
47. RIBÉREAU-GAYON, P., DUBOURDIE, D., DONÈCHE, B., AND LONVAUD, A (2006). **Handbook of Enology - The Microbiology of Wine and Vinifications**. (2nd ed.). John Wiley and Sons, Ltda: Chichester, UK.
48. SAMOTICHA, J., WOJDYLO, A., AND GOLIS, T (2017). Phenolic composition, physicochemical properties and antioxidant activity of interspecific hybrids of grapes growing in Poland. **Food Chem**. 215: 263–273.
49. SINGLETON, V.L. AND ROSSI, J.A (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. **Am. J. Enol. Vit.** 16: 144-158.
50. SUN, B.S., RICARDO-DA-SILVA, J.M., AND SPRANGER, I. (2001). Quantification of catechins and proanthocyanidins in several Portuguese grape vine varieties and red wines. **Cien. Téc. Vitiviníc.** 16: 23–34.
51. TEIXEIRA, A.H.C., SCHERER-WARREN, M., HERNANDEZ, F.B.T., ANDRADE, R.G., AND LEIVAS, J.F (2013). Large-scale water productivity assessments with MODIS images in a changing semiarid environment: **A Brazilian case study**. *Remote Sens.* 5: 5783-5804.
52. TSANOVA-SAVOVA, S. AND RIBAROVA, F (2012). Free and conjugated myricetin, quercetin, and kaempferol in Bulgarian red wines. **J. Food Compos. Anal.** 5: 639–645.
53. VAUZOUR, D., RODRIGUEZ-MATEOS, A., CORONA, G., ORUNA-CONCHA, M.J., AND SPENCER, J.P.E (2010). Polyphenols and human health: Prevention of disease and mechanisms of action. **Nutrients** 2: 1106–1131.
54. YILMAZTEKIN, M.; KOCABEY, N.; HAYALOGLU, A.A (2015). Effect of maceration time on free and bound volatiles of red wines from cv. Karaoğlan (*Vitis vinifera* L.) grapes grown in Arapgir, Turkey. **J. Food Sci.** 80: C556-C563.

CAPÍTULO III: EFEITO DO ESTÁDIO DE MATURAÇÃO DA UVA E TEMPO DE MACERAÇÃO EM FUNÇÃO DA ÉPOCA DO ANO DE COLHEITA DA UVA, SOBRE O PERFIL FÍSICO-QUÍMICO, SENSORIAL E NUTRACÊUTICO DO VINHO TINTO TROPICAL DA CULTIVAR TOURIGA NACIONAL

5.CAPÍTULO III Efeito do estágio de maturação da uva e tempo de maceração sobre a qualidade físico-química, sensorial e nutracêutica do vinho tinto da cultivar Touriga Nacional

Artigo Submetido.

Revista: Oene One

Fator de Impacto: 2.9

Erika Samantha Santos de Carvalho^a, Luiz Claudio Côrrea^b, Maria Auxiliadora Coelho de Lima^b, Janice Izabel Druzian^b, Aline Telles Biasoto Marques^a

^aFederal University of Bahia (UFBA), Rede Nordeste RENORBIO, Department of Bromatological Analysis, College of Pharmacy, Salvador, Bahia, CEP 40.171-970, Brazil.

^bBrazilian Agricultural Research Corporation, Embrapa Tropical Semiárido, Rodovia BR-428, Km 152, Zona Rural – Caixa Postal 23, Petrolina, Pernambuco, CEP 56.302-970, Brazil.

Resumo

A maturação tecnológica, fenólica e aromática também desempenham um papel importante na busca pela qualidade do vinho, mesmo que as fases não ocorram necessariamente ao mesmo tempo, se faz necessário controlá-las separadamente para determinar a época ideal para a colheita da uva. Este estudo teve como objetivo, avaliar o grau de maturação e o tempo de maceração em até 21 dias influenciou no aumento de compostos fenólicos e no parâmetros físico-químicos, principalmente quando relacionados ao índice de cor (IC) dos vinhos, além de aumentar as concentrações da capacidade antioxidante, antocianinas, stilbens, ácidos fenólicos em especial ácido gálico, mas também, contribuiu para diminuir os ácidos p-cumárico e clorogênico na safra I. O efeito da época de colheita não foi significativo para principalmente na safra II. Os vinhos elaborados com uvas de maceração prolongada tiveram maiores concentrações de cor rubi, intensidade aromática, persistência gustativa e corpo. A caracterização do efeito do tempo de maturação e maceração da uva sobre a composição do vinho Touriga Nacional no Submédio do Vale do São Francisco é de grande importância para escolhas futuras em ambos os assuntos, além de ser útil para produção de vinhos de alta qualidade e excelente potencial nutracêutico.

Palavras-chave: Viticultura tropical, compostos bioativos, compostos fenólicos, perfil descritivo quantitativo - PDQ, capacidade antioxidante *in vitro*

5.1 INTRODUÇÃO

Grande parte dos compostos que determinam a qualidade dos vinhos tintos são sintetizados no decorrer da maturação da uva (Reynolds and Heuvel, 2009; Arias et al., 2019). A maturação da uva começa com a mudança na cor dos bagos (*vérasion*). Esta etapa, também é marcada pela transição no desenvolvimento da semente, passando de sua formação para secagem, a partir do endurecimento do tegumento e processo de desidratação (Kennedy et al., 2000; Borghezian, 2017).

Um fator importante que influencia nas características sensoriais dos vinhos é a composição da uva (Niimi, Boss, Jeffery e Bastian, 2017). Sendo assim, a determinação do ponto ideal para colheita das bagas, que apresente um maior potencial para produzir vinhos com propriedades sensoriais desejadas pelos consumidores, têm sido um grande problema para os vitivinicultores (Ferrero-del-Teso et al., 2019). Alguns parâmetros físico-químicos são avaliados na uva para determinar o ponto de colheita, entre eles a acidez total, o pH e o teor de sólidos solúveis, importantes para determinação do estágio de maturação tecnológica do fruto. Entretanto, essas medidas não são suficientes para prever o real potencial das uvas para a elaboração de vinhos tintos (Pérez-Magariño & González-San José, 2006). Uma vez que os compostos voláteis e fenólicos são os principais determinantes da qualidade desse produto (Sáenz-Navajas et al., 2015), a avaliação das maturações fenólica e aromática, além da maturação tecnológica, desempenham um papel importante na busca pela qualidade do vinho tinto. Contudo, elas não ocorrem necessariamente ao mesmo tempo, o que se faz necessário controlá-las separadamente para determinar o ponto ideal para a colheita da uva (Allegro et al., 2018; Allegro, Pastore, Valentini, Muzzi, & Filippetti, 2016).

A evolução responsável pelos aromas varietais da uva encontram-se na casca, sendo assim, a maturação aromática dos vinhos caracteriza-se como o período onde a uva perde os compostos de odor vegetativo e herbáceo, adicionalmente, adquire compostos odoríferos frutados (Ribéreau-Gayon et al., 2006a). Desta forma, os vinhos elaborados com uvas colhidas antes da maturação fenólica, dita com ideal, possivelmente, apresentará uma menor intensidade de cor e um perfil mais acentuado de taninos da semente, conferindo assim elevada adstringência e sensação de “secura” após sua

ingestão. Simultaneamente, será rico em odores indesejáveis, considerando que a uva não atingiu a maturação do aroma adequada (Ribéreau- Gayon et al., 2006b).

Adicionalmente, a maceração é uma etapa fundamental na elaboração de vinhos tintos, principalmente por atribuir à eles características específicas em relação à aparência, aroma e sabor. Desta forma, o contato prolongado do mosto da uva com as cascas e sementes melhora a extração de diferentes compostos, entre eles compostos fenólicos, voláteis, nitrogenados, minerais e carboidratos. A presença de etanol e temperaturas mais altas potencializam ainda mais a extração de compostos presentes nas bagas da uva. Entretanto, a viabilidade para o prolongamento da etapa de maceração depende especialmente da qualidade e estágio maturação das uvas na colheita, além do tipo de vinho que pretende-se elaborar (Ribereau-Gayon et al., 2006, N. PoklarUlrih, et al., 2020).

O prolongamento da maceração também proporciona uma maior concentração de taninos ao vinho e, conseqüentemente, de antocianinas condensadas aos taninos, que formam estruturas complexas que conferem maior estabilidade de cor quando comparada as antocianinas monoméricas. Esses compostos são percussores responsáveis pela coloração dos vinhos envelhecidos nas barricas de carvalho (Cadot et al., 2012, Barbará et al., 2019).

Neste sentido este trabalho descreve a composição físico-química características fenólicas e sensoriais e capacidade antioxidante de vinhos tintos da casta Touriga Nacional produzidos na região do Submédio do Vale do São Francisco em três estádios de maturação e vinificadas com diferentes tempos de duração da etapa de maceração.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1 Matéria-prima

As uvas da cultivar Touriga Nacional foram obtidas de uma área experimental instalada em vinícola na região do Submédio do Vale do São Francisco (latitude 9°2'S, longitude 40°11'O, 365 m, Lagoa Grande, PE, Brasil), contendo 360 plantas. Nesta região, os vinhedos estão localizados em zona de clima tropical semiárido, entre as latitudes 8 e 10°S, com temperatura média anual de 26,5°C, pluviosidade máxima de 500mm/ano e insolação anual de 3.000 horas. A ausência de inverno e disponibilidade de água permitem a obtenção de em média duas safras anuais em uma mesma área. A Tabela 1 apresenta as condições climáticas da área experimental durante as duas safras anuais consecutivas analisadas, abrangendo o período da poda até a colheita. As videiras encontravam-se conduzidas em sistema de condução latada, enxertadas com o porta-

enxerto Paulsen 1103 e irrigadas por gotejamento. No experimento, os tratamentos principais constituíam-se em T1 (antes da maturação tecnológica), T2 (maturação tecnológica) e T3 (sobrematuração tecnológica), que representaram as três datas de colheita da uva nas duas safras, e encontravam-se distribuídos em blocos casualizados contendo três repetições. Cada tratamento principal, continha três tratamentos secundários, que corresponderam aos três diferentes períodos de maceração aplicados

Período (mês/ano)	T(°C)			UR (%)	Rad MJ.m ⁻² .dia ⁻¹	Vv (m.s ⁻¹)	Precip (mm)	ET0 (mm.dia ⁻¹)
	Máx.	Med.	Min.					
Ciclo de produção da Safra I								
Outubro 2016	35,54	28,85	22,16	52,88	21,44	2,43	0,56	6,13
Novembro 2016	36,12	29,58	23,04	52,72	23,69	2,33	0,22	6,69
Dezembro 2016	36,07	29,79	23,50	52,02	17,46	2,24	0,08	5,28
Janeiro 2017	36,22	29,84	23,47	51,00	26,14	2,24	0,30	6,61
Fevereiro 2017	35,40	29,57	23,74	54,63	22,71	2,08	0,54	5,88
Média	36,07	29,58	23,47	52,72	22,71	2,24	0,30	6,13
Ciclo de produção da Safra II								
Março 2017	35,53	29,60	23,67	54,82	23,20	1,94	0,68	5,72
Abril 2017	34,33	28,78	23,23	59,83	19,91	2,29	0,19	5,18
Maio 2017	32,43	27,23	22,02	63,51	17,25	2,31	0,49	4,33
Junho 2017	30,70	25,53	20,36	68,14	15,66	2,56	0,26	3,86
Julho 2017	28,92	23,79	18,67	65,78	15,40	3,09	0,14	4,11
Média	32,43	27,23	22,02	63,51	17,25	2,31	0,26	4,33

durante a vinificação M1 (7 dias), M2 (14 dias) e M3 (21 dias). O croqui da área experimental é apresentado na Figura 1.

Tabela 1. Dados meteorológicos mensais referentes aos dois ciclos produtivos (safra I e safra II), avaliados desde as datas das podas de produção (26/10/2016 – safra I e 22/03/2017 – safra II) até as datas de colheita (fevereiro de 2017 – safra I e julho de 2017 safra II).

T. Máx = Temperatura máxima; T. Méd. = Temperatura média; T. Mín = Temperatura mínima; UR = Umidade relativa do ar; Rad. = Radiação solar global; Vv = Velocidade do vento à altura de 2,0 m; Precip. = Precipitação pluviométrica acumulada; ET0 = Evapotranspiração de referência.

A colheita da primeira safra (Safra I) iniciou-se em 09/02/2017, sendo as demais conduzidas em intervalos de sete dias, quando as uvas atingiram teor de sólidos solúveis ao redor de 21,6°Brix (T1- 106 dias após a poda de produção – DAP; pH 3,38; acidez total 0,78%), 23,4° Brix (T2-113 DAP; pH 3,72; acidez total 0,76%), e 24,5°Brix (T3 119 DAP; pH 3,81; acidez total 0,67%). A colheita da segunda safra (Safra II) foi iniciada em

12/07/2017, quando as uvas atingiram os teores de sólidos solúveis 22,5° Brix (T1 – 112 DAP; pH 3,10; acidez total 0,82%), 23,8° Brix (T2 – 119 DAP; pH 3,78; acidez total 0,79%) e 24,6° Brix (T3 – 125 DAP; pH 3,98; acidez total 0,67%).

5.2.2 Vinificação

Para a elaboração dos vinhos tintos ‘Touriga Nacional’, em cada período de colheita (T1, T2 e T3) foram coletadas cerca de 75 kg de uvas dos três tratamentos secundários da área experimental (M1, M2 e M3). Em ambas as safras analisadas (Safrá I e Safrá II), os vinhos foram elaborados em triplicada, onde cada replicata correspondeu a uma repetição do tratamento principal da área experimental (Fig. 1). A vinificação foi conduzida pelo método tradicional para vinho tinto descrito por Peynaud (1997), aplicando-se os três tempos de duração da etapa maceração durante a fermentação alcóolica (07, 14 e 21 dias, codificados como M1, M2 e M3 respectivamente). A Tabela 2 apresenta a descrição de todos os vinhos elaborados junto a sua codificação. Ressalta-se, que não foi elaborada a amostra T1M3 em ambas as safras, uma vez que é impraticável do ponto de vista industrial prolongar a maceração até 21 dias utilizando uvas com baixo potencial de compostos fenólicos.

Primeiramente, para obter o mosto, as uvas foram desengaçadas e levemente esmagadas, com intuito de romper a baga e deixar as sementes intactas. Nesta etapa, os mostos de cada uma das três repetições dos tratamentos foram separadamente homogeneizados, sendo também adicionados 100 mg L⁻¹ de metabissulfito de potássio (AmazonGroup, Bento Gonçalves-RS) como conservante, e 80 mg L⁻¹ de enzima pectinolítica (Everzym color® – Ever BRASIL, Garibaldi - RS) para aumentar a extração de pigmentos e o rendimento de uva em vinho. Em seguida, os mostos foram transferidos para garrações de vidro de 20L fechados com válvulas cilíndricas de vidro do tipo *airlock*. O processo de fermentação com maceração foi iniciado a temperatura de 24± 1°C, após a adição de 200 mg L⁻¹ de levedura comercial *Saccharomyces cerevisiae bayanus* (Mycoferm TM, Ever BRASIL, Bairro Garibaldi – Garibaldi – RS) e 200 mg L⁻¹ de ativante Gersferm Plus® (AmazonGroup, Bento Gonçalves/RS).

A fermentação alcóolica durou pelo menos vinte e um dias, tempo máximo de maceração testado, e foi interrompida quando a densidade estava constante e inferior a

0,996 g mL⁻¹, teor alcoólico superior a 12% e o conteúdo de açúcares redutores menor do que 3g L⁻¹. Logo após, a fermentação malolática foi realizada espontaneamente por pelo menos trinta dias em temperatura controlada em 18±1°C. Essa fermentação foi interrompida quando, visualizou-se que ocorreu a degradação completa do ácido málico por cromatografia de papel (Ribereau-Gayon, 2006). Na sequência, após trasfega, para estabilização tartárica, os vinhos foram mantidos sob refrigeração a 0°C durante 20 dias e, então, após nova trasfega, foi adicionado 400 mgL⁻¹ de Stabigum® (E414 Goma arábica + E353 ácido metatártico, grupo AEB, São José dos Pinhais-PR). Finalmente, a concentração de SO₂ no vinho foi ajustada para 50 mg/L e as amostras foram engarrafadas, permanecendo armazenadas em posição horizontal a 18°C até o momento das análises.

5.2.3 Analyses físico-químicas para determinação de padrões enológicos

As análises físico-químicas foram realizadas seguindo os procedimentos da OIV (2015). Nos vinhos tintos ‘Touriga Nacional’ foram determinados o pH, a partir de leitura direta em pHmetro previamente calibrado (Hanna Instruments®, Barueri, SP, Brasil); acidez total titulável (expressa em g L⁻¹ de ácido tartárico), a partir da titulação das amostras com solução de NaOH 0,1N até valor de pH de 8,2; o teor álcool e de extrato seco (g L⁻¹), utilizando destilação simples das amostras no Destilador enológico digital SuperDee (Gilbertini, Milão, Itália) e balança hidrostática eletrônica SuperAlcomat (Gilbertini, Milão, Itália) calibrada a 20°C; e acidez volátil, após destilação por arraste a vapor no destilador SuperDee e titulação com solução de NaOH 0,1N. Os teores de dióxido de enxofre SO₂ livre e total foram determinados por iodometria de acordo com o método de Ripper, que usa uma solução de iodo 0,02N como titulante e amido como indicador. Adicionalmente, o teor de açúcares redutores totais (g L⁻¹) foi determinado pelo método de Lane-Enyon, baseado em procedimento descrito por Ribéreau-Gayon et al. (2006).

Color intensity (CI) was calculated as the sum of absorbances at 420, 520, and 620 nm, using a UV-Vis spectrophotometer (Varian Cary 50 Bio, New Jersey, USA) in accordance with Ough & Amerine (1988). Wine color was further evaluated in CIELab and CIELCh color spaces using a Delta Color portable colorimeter (São Leopoldo, RS, Brazil) in transmittance mode with D65 illuminant and a 10° angle. Determined color coordinates included L* (lightness), a* (green/red), b* (yellow/blue), C* (chroma or saturation), and h (hue angle).

The total polyphenol index (TPI) was measured according to the method by Harbertson & Spayd (2006). Red wine samples were diluted to 1% using distilled water and their absorbance was read at 280 nm using a UV-Vis spectrophotometer (Varian Cary 50 Bio, New Jersey, USA) with a quartz cuvette.

A intensidade de cor (IC) foi determinado através do valor de somatório das absorbâncias nos comprimentos de onda de 420, 520 e 620 nm, sendo as leituras realizadas em espectrofotômetro UV-Vis (VarianCary 50 Bio, New Jersey, USA) de acordo com Ough and Amerine, (1988). A coloração dos vinhos também foi determinada utilizando os espaços de cor CIE L*a*b* e CIE L*C*h e colorímetro portátil Delta Color (São Leopoldo, RS, Brasil), as coordenadas determinadas foram: L*(luminosidade), a* (verde/vermelho), b* (amarelo/azul), C* (*Chroma* ou saturação), e h (ângulohue ou ângulo de tonalidade).

O conteúdo de compostos fenólicos totais foi determinado em espectrofotometro UV-vis a 760nm (ThermoFisherScientific, modelo Multiskan Go, Massachusetts, USA), a partir do método proposto por Singleton e Rossi (1965) com adaptações. Os reagentes utilizados foram o Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich, USA), solução de acetona a 70% e carbonato de sódio a 7,5%. A curva de calibração foi obtida a partir do ácido gálico (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil), variando a concentração entre 0 e 7,0 µL mL⁻¹. As análises de antocianinas monoméricas totais foram realizadas pelo método de diferencial de pH (Lee et al., 2005) com a leitura nos comprimentos de 520nm e 700nm em espectrofotômetro UV-vis (ThermoFisherScientific, modelo Multiskan Go, Massachusetts, USA) e as concentrações desses pigmentos foram expressos em mg L⁻¹ de malvidina-3-O-glucosídeo (PM=493,2).

$$A = [(A_{520 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}}) \text{ pH} = 1.0] - [(A_{520 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}}) \text{ pH} = 4.5]$$

$$\text{Eq. (2) } C \text{ (mg malvidin 3-glucosídeo L}^{-1}\text{)} = A \times MW \times DF \div \epsilon \times l \text{ Eq. (3)}$$

Onde: MW = peso molecular; DF = fator de diluição; ϵ = absortividade molar (28 000 mol L⁻¹) e l = comprimento do caminho (cm).

Para determinar o índice de polifenóis totais – IPT foi usado o método de (Harbertson; Spayd, 2006). O vinho tinto foi diluído na proporção de 1% com água destilada e com auxílio de um balão volumétrico de 100ml. As amostras diluídas foram

lidas em absorbância no espectrofotômetro UV-Vis (VarianCary 50 Bio, New Jersey, USA) a 280nm, com cubeta de quartzo.

5.2.4 A análise de capacidade antioxidante

The total phenolic content was assessed at 760 nm using a UV-Vis spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, model Multiskan Go, Massachusetts, USA), following the Singleton and Rossi (1965) protocol with modifications by Carvalho et al. (2021). The assay employed Folin-Ciocalteu reagent (Sigma-Aldrich, USA), a 70% acetone solution, and a 7.5% sodium carbonate solution. A calibration curve was generated using gallic acid (Vetec, Rio de Janeiro, Brazil) with concentrations ranging from 0 to 7.0 $\mu\text{L mL}^{-1}$. Total monomeric anthocyanin analysis was performed using the pH differential method (LEE et al., 2005), with absorbance readings at 520 and 700 nm on a UV-Vis spectrophotometer (ThermoFisher Scientific, model Multiskan Go, Massachusetts, USA), expressing pigment concentrations in mg L^{-1} of malvidin-3-O-glucoside (MW = 493.2, ϵ = molar absorptivity 28,000 mol L^{-1}).

The antioxidant capacity of 'Touriga Nacional' red wine samples was evaluated using ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), Sigma-Aldrich, USA) (NENADIS et al., 2007) and DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, Sigma-Aldrich, USA) (BRAND-WILLIAMS et al., 1995) assays. Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid, Sigma-Aldrich, USA) was used as a standard for calibration curves, with results expressed in $\mu\text{mol mL}^{-1}$ of Trolox equivalent (TE). Absorbances for ABTS and DPPH assays were read at 515 nm and 734 nm, respectively, on a UV-Vis spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, model Multiskan Go, Massachusetts, USA).

5.2.5 Identification do perfil de compostos fenólicos

Vinte e sete compostos fenólicos foram quantificados nas amostras de vinho tinto 'Touriga Nacional' em uma única corrida com duração de 60 minutos, utilizando cromatógrafo líquido de alta eficiência (modelo Alliance 2695, Waters, Milford, MA, USA), acoplado aos detectores de Arranjo de Diodos - DAD (280, 320, 360, and 520 nm) e Fluorescência – FD (emissão de 280nm e excitação de 320 nm). Baseando-se nos métodos previamente validados nas mesmas condições laboratoriais por Natividade et al. (2013) e Costa et al. (2020), os compostos fenólicos foram separados pela pré-coluna Gemini-NX18 pre-column(4,0 mm x 3,0 mm, Phenomenex, Torrance, CA, USA) e

coluna Gemini-NX18 (150 mm x 4,60 mm x 3 μ m, Phenomenex, Torrance, CA, USA). Como fases móveis foram utilizadas a solução de ácido orto-fosfórico a 0,85% (Fluka, Suíça) em água ultra-pura (Purelab Option Q Elga System, USA) (solvente A) e acetonitrila (Grau HPLC, J. T. Baker, Phillipsburg, NJ, USA) (solvente B), sendo aplicada eluição por gradiente composta de: 0 min 100% solvente A, 10 min 93% solvente A, 20 min 90% solvente A, 30 min 88% solvente A, 40 min 77% solvente A, 45 min 65% solvente A, and 55 min 100% solvente B. O fluxo foi de 0,5 mL min⁻¹ e a temperatura do forno foi mantida a 40 °C. As amostras foram injetadas em alíquotas de 10 μ L previamente filtradas em membrana de 13 mm de diâmetro e tamanho de poro 0,45 μ m (Allcrom, Phenomenex, Torrance, CA, USA).

Os dados foram processados pelo software Waters Empower™ 2 (Milford, MA, EUA). Para a quantificação, foram construídas curvas padrão usando ácidos fenólicos, nomeadamente ácidos gálico, caféico, caftárico, p-cumárico, ferúlico e clorogênico. Padrões autênticos de flavonóides e estilbenos, incluindo caempferol-3-O-glucosídeo, isorhamnetina-3-O-glucosídeo, miricetina, quercetina-3- β -D-glucosídeo, rutina, (-)-epicatequina, (+)-catequina, (-)-galatoepigallocatequina, (-)-galatoepicatequina, procianidina A2, procianidina B1, procianidina B2, pelargonidina-3-O-glucosídeo, cianidina-3-O-glucosídeo, delphinidina-3-O-glucosídeo, malvidina-3-O-glucosídeo, petunidina-3-O-glucosídeo, peonidina-3-O-glucosídeo, *cis*-resveratrol, piacetanol, and *trans*-resveratrol were also used (Extrasynthese, Genay, France). Todos os padrões apresentam grau de pureza $\geq 98\%$.

5.2.6 Perfil Sensorial do vinho

A análise sensorial dos vinhos foi previamente autorizada pelo Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos (CAAE 7398371.9.1001.8052), em consenso com a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde do Brasil. A caracterização do perfil sensorial dos vinhos da cultivar Touriga Nacional elaborados nas Safra I e II foi conduzida pelo mesmo painel sensorial utilizando técnica baseada na Análise Descritiva Quantitativa (QDA®) desenvolvida por Stone et al (1974). As avaliações foram realizadas em cabines individuais, sob luz branca e temperatura controlada em 22 $\pm$ 2°C.

Seguindo os critérios descritos por Biasoto et al (2014), anteriormente a avaliação dos vinhos da Safra I, foram previamente selecionados vinte voluntários (treze mulheres e sete homens com idade entre 20 e 40 anos). Para isso foram inicialmente recrutados vinte voluntários entre estudantes, professores e técnicos do curso de Viticultura e

Enologia do Instituto Federal do Sertão Pernambucano de Petrolina-PE, Brasil. para selecionar esses voluntários foram realizados os testes de: i) memória sensorial para odores associados a vinhos tintos, utilizando 23 referências da roda de vinho desenvolvido por Noble et al. (1987) ; ii) diferença do controle (Meilgaard, Civillie & Carr, 2006), para avaliar a reprodutibilidade e habilidade em discriminar sabor em amostras de vinho tinto (Apêndice 1); e iii) sensibilidade aos gostos básicos e a adstringência (Apêndice 3).

Em etapa posterior, utilizando os dez julgadores selecionados realizaram o levantamento da terminologia descritiva dos vinhos tintos utilizando o Método do Repertório de Kelly (Moskowitz, 1983), os julgadores selecionaram 13 descritores sensoriais para descrever as amostras em relação a aparência, aroma, sabor e sensações bucais de textura, juntamente com suas definições e referências para posterior treinamento do painel. Nessa etapa também foi gerada de forma consensual a ficha de avaliação das amostras com os 13 descritores (Apêndice 6) associados a escalas não estruturadas de 9cm ancoradas nos extremos esquerdo e direito com termos que expressam intensidade como “nenhum/fraco” e “forte” respectivamente (Apêndice 5). Na sequência foram realizadas nove sessões de treinamento com duração de 60 minutos.

Finalizado o treinamento, foi realizada uma seleção final do painel. Nesta etapa cada julgador avaliou três das amostras de vinho da safra I em triplicata utilizando a ficha de avaliação previamente desenvolvida pelo painel (Apêndice 5). Dez julgadores foram selecionados com base em seu bom poder discriminativo ($pF_{amostra} \leq 0,50$), reprodutibilidade nos julgamentos ($pF_{repetição} \geq 0,05$) e consenso com a equipe em pelo menos 80% dos descritores (Damasio & Costell, 1991).

Seguindo um *design* de blocos incompletos balanceados proposto por Cochran & Cox (1957), os julgadores avaliaram as oito amostras de vinhos em três repetições, sendo servidas duas amostras por sessão para evitar a fadiga sensorial dos julgadores. Os julgadores avaliaram primeiramente os vinhos da safra I e após seis meses os vinhos da safra II, sendo o treinamento reconduzido para que relembassem os atributos e referências de intensidade.

Para a avaliação, as amostras de vinho foram servidas em alíquotas de 30mL, a temperatura ao redor de 18°C, e em taças de cristal próprias para a degustação de vinho (ISO 3591:1977). As taças foram codificadas com números de três dígitos e cobertas com vidros de relógios para evitar a perda de material volátil.

5.2.7 Análise estatística

Os dados das análises físico-químicas, avaliação da capacidade antioxidante e análise sensorial descritiva foram submetidos à ANOVA e teste de média de Tukey ($p \leq 0,05$) utilizando o software Statistical Analysis System (SAS[®], University Institute Inc., Cary, NC, USA, 2017). utilizando o software. Adicionalmente, Análise de Componentes Principais (ACP) e correlação de Pearson ($p \leq 0,05$) foram obtidas com o software XLStat (Addinsoft Inc., Anglesey, U.K., 2015).

5.3 RESULTADO E DISCUSSÃO

5.3.1 Composição físico-química e colorimétrica

De acordo com a Tabela 2, o pH dos vinhos variou de 4,13 a 4,44 para a Safra I e de 4,02 a 4,40 para a Safra II. Esses valores de pH foram elevados para vinho tinto, principalmente para os vinhos elaborados com uvas colhidas em estágio de maturação mais avançado (T3). De fato, em regiões de clima quente os vinhos costumam apresentar maiores valores de pH (GARDE-CERDÁN et al., 2011). Porém as temperaturas mais elevadas na Safra I (denominada de “safra de verão”), com média máxima de 36,07°C, mínima de 23,47°C e média (Tabela 1) fizeram com que os vinhos (T1), ainda que elaborados com uvas colhidas aos 106 dias após a poda (DAP), já apresentassem pH elevados e superiores aqueles aos de Padilha et al (2016), que analisou vinhos tintos comerciais do Submédio do Vale do São Francisco de diferentes variedades, incluindo a cultivar Touriga Nacional, e identificaram valores de pH de até 4,09. Vale ressaltar que industrialmente muitas vezes é utilizado ácido tartárico e outras ferramentas enológicas para abaixar o pH do mosto de vinho. Já na Safra II (denominada de “safra de inverno”), cujas temperaturas foram um pouco mais amenas, com média mínima de 22,0°C e máxima de 32,4°C, os vinhos T1, elaborados com uvas colhidas aos 112 DAP, apresentaram valores de pH inferiores, ainda que superiores a 4,0. Porém, para a colheita de uvas na “safra de inverno” no Submédio do Vale do São Francisco, é recomendado um ciclo ao redor de 120 DAP para cultivares que já se encontram bem adaptada as condições edafoclimáticas da região, a exemplo da Syrah (BARBARÁ et al., 2019). Esses elevados valores de pH ($\geq 4,0$) podem reduzir a estabilidade do vinho tinto, diminuindo seu tempo de vida de prateleira.

Os valores referentes à acidez total titulável (AT) variaram de 5,31 g L⁻¹ a 5,96 g L⁻¹, e 4,78 g L⁻¹ a 6,05 g L⁻¹ para as safras I e II, respectivamente. Os valores de AT não foram

inversamente proporcionais aos de pH, como era esperado, mas de acordo com a Tabela 2, nota-se que o prolongamento da maceração proporcionou uma maior extração de ácidos orgânicos e elevação da AT, aumentando possivelmente a estabilidade do vinho tinto ‘Touriga Nacional’ tropical, que está ligada diretamente a maiores valores de AT, além de outros parâmetros (BARRETO et al., 2019).

Assim como ocorreu para o pH, os valores de acidez volátil (AV) foram bastante elevados em ambas as safras para todos os vinhos ‘Touriga Nacional’, notadamente quando foram utilizadas uvas ‘Touriga Nacional’ colhidas em estágio de maturação mais avançado e maior tempo de maceração. Tais características, alto AV e pH, podem indicar falhas no manejo do vinhedo, necessidade de avaliar formas para melhorar a adaptação da cultivar a região, e/ou da aplicação de práticas enológicas específicas para contornar a problemática, como a correção do mosto de vinho.

O teor alcóolico variou de 10,27% (T1M1) a 13,55% (T3M1) na Safra I, enquanto na safra II, foi de 11,54 % (T1M1) a 14,42% (T3M1). Interessante notar que as temperaturas mais elevadas e maior intensidade de insolação da safra I (Tabela 1), não proporcionaram maior conteúdo alcóolico no vinho. Barbará et al., (2019) encontraram resultados semelhantes em vinhos tintos da cultivar Syrah em condições tropicais, cujas amostras elaboradas com uvas colhidas em diferentes estádios de maturação e elaborados com tempos distintos de maceração, tiveram o teor alcóolico variando entre 11,5% e 14,6 %. Os vinhos também estão na faixa encontrada por Gil et al., (2012) em vinhos espanhóis das variedades ‘Cabernet Sauvignon’ e ‘Tempranillo’, cujo teor alcoólico encontrava-se entre 11,9% e 14,6%. Estes vinhos também foram elaborados com uvas de diferentes estádios de maturação utilizando tempos distintos de maceração, no entanto, para todos os casos quem influenciou significativamente no aumento do teor alcóolico da bebida foi o aumento do grau de maturação da uva. Já o teor de açúcar residual foi maior por efeito do estágio de maturação da uva somente nos vinhos T3M1, T3M2 e T3M3 da Safra I e T3M1 da Safra II.

Em contrapartida, o teor extrato seco dos vinhos não apresentou uma relação com o estágio de maturação da uva ou com o tempo de maceração comum as duas safras avaliadas. De maneira geral, o extrato seco foi superior nos vinhos da Safra II, variando de 27,92 (T2M2) a 37,42 (T3M1) g L⁻¹, enquanto na Safra I os valores foram de 21,64 (T3M3) a 26,11 (T1M1) g L⁻¹. Um maior teor de extrato seco proporciona mais corpo e estrutura ao vinho tinto (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006).

A mudança na coloração dos vinhos em função do estágio de maturação da uva e tempo de maceração é mostrada na Tabela 2. Em termos gerais, a intensidade da cor (IC) aumentou com o avanço da maturação da uva, assim como a luminosidade (L^*) diminuiu. Adicionalmente, a maceração aplicada por período de no mínimo 14 dias em vinhos de uvas colhidas em estágio intermediário de maturação (T2) na safra II, originou bebidas de coloração mais intensa, devidos aos menores valores L^* e maior saturação (C^*). Adicionalmente, é importante ressaltar que os vinhos das uvas colhidas na safra II apresentaram maiores valores de IC.

O índice de polifenóis totais (IPT) nos vinhos elaborados com as uvas ‘Touriga Nacional’ foi bastante elevado, independente do estágio de maturação da uva e tempo de maceração e época de colheita, chegando a 94,00 (T3M3) na Safra I e 151,24 (T3M1) na Safra II. De acordo com Hernandes 2004, os vinhos com $IPT \geq 60$ estão aptos para a elaboração de “vinhos de guarda”, assim todos os vinhos tropicais ‘Touriga Nacional’ elaborados poderiam ser destinados ao envelhecimento, no entanto é recomendado que antes alternativas agronomicas e/ou enológicas sejam praticadas para reduzir o valor de pH e AV.

Table 2: Caracterização físico-química e colorimétrica dos vinhos tintos ‘Touriga Nacional’ procedentes do Submédio do Vale do São Francisco, e elaborados em duas safras de um mesmo ano (fevereiro – Safra I e julho – Safra II), a partir de uvas colhidas em três estádios de maturação e utilizando diferentes tempos de duração da maceração durante a vinificação.

SAFRA I ^{1,2}				
Parâmetros	Dias após a poda para a colheita - DAP	Tempo de maceração		
		M1 – 07 dias	M2 – 14 dias	M3 – 21 dias
pH	T1: 106 DAP	4,13 Bb ± 0,07	4,23 Ac ± 0,01	
	T2: 113 DAP	4,30 Aa ± 0,02	4,30 Ab ± 0,04	4,30 Ab ± 0,08
	T3: 119 DAP	4,33 Aa ± 0,04	4,43 Aa ± 0,02	4,44 Aa ± 0,01
Acidez Total Titulável (AT) / (g L ⁻¹)	T1: 106 DAP	5,35 Ab ± 0,11	5,31 Ac ± 0,08	
	T2: 113 DAP	5,41 Ab ± 0,05	5,51 Ab ± 0,07	5,66 Bb ± 0,021
	T3: 119 DAP	5,83 Aa ± 0,19	5,96 Aa ± 0,07	5,86 Aa ± 0,05
Acidez volátil (g L ⁻¹)	T1: 106 DAP	0,86 Ac ± 0,07	0,93 Ac ± 0,10	
	T2: 113 DAP	1,09 Bb ± 0,06	1,10 Bb ± 0,06	1,29 Ab ± 0,07
	T3: 119 DAP	1,34 Aa ± 0,08	1,44 Aa ± 0,01	1,32 Aa ± 0,04
Açúcares redutores (g L ⁻¹)	T1: 106 DAP	2,75 Ac ± 0,45	1,83 Bc ± 0,41	
	T2: 113 DAP	3,09 Bb ± 0,03	3,09 Bb ± 0,03	3,32 Ab ± 0,01
	T3: 119 DAP	3,53 Aa ± 0,03	3,55 Aa ± 0,03	3,68 Aa ± 0,05
Teor alcoólico %v/v	T1: 106 DAP	10,27 Ac ± 0,16	10,42 Ac ± 0,23	
	T2: 113 DAP	11,96 Ab ± 0,29	11,85 Ab ± 0,12	11,9 Ab ± 0,34
	T3: 119 DAP	13,55 Aa ± 0,23	13,43 Aa ± 0,24	13,48 Aa ± 0,9
Extrato seco (g L ⁻¹)	T1: 106 DAP	24,4 Aa ± 3,48	26,11 Aa ± 4,07	
	T2: 113 DAP	24,66 Aa ± 0,83	24,83 Aa ± 3,49	21,71 Aa ± 1,25
	T3: 119 DAP	21,76 Bb ± 2,91	25,6 Aa ± 3,0	21,64 Aa ± 2,67
Índice de Polifenóis Totais (IPT)	T1: 106 DAP	63,87 Bc ± 7,57	66,07 Ab ± 4,46	
	T2: 113 DAP	72,13 Ab ± 15,61	75,00 Ab ± 0,99	84,53 Ab ± 19,61
	T3: 119 DAP	92,60 Aa ± 14,21	87,33 Aa ± 23,54	94,00 Aa ± 14,19

CONTINUAÇÃO DA TABELA 2...

HARVEST I ^{1,2}				
Parameter	Days post-harvest pruning - DPP	Maceration time		
		M1 – 07 days	M2 – 14 days	M3 – 21 days
Color intensity (420 + 520 + 620 nm)	T1: 106 DPP	15.39 Aa ± 1.61	13.07 Ab ± 1.09	
	T2: 113 DPP	13.58 Ab ± 0.84	12.22 Bb ± 0.16	13.10 Ab ± 0.65
	T3: 119 DPP	14.85 Ab ± 2.02	13.94 Aa ± 1.45	15.34 Aa ± 2.01
L*	T1: 106 DPP	13.87 Aa ± 0.52	14.06 Aa ± 1.70	
	T2: 113 DPP	13.63 Ab ± 0.63	13.03 Ab ± 0.82	13.26 Aa ± 0.08
	T3: 119 DPP	13.52 Ac ± 1.15	12.53 Ac ± 2.48	12.56 Ab ± 1.15
a*	T1: 106 DPP	-0.03 Ac ± 0.18	-0.74 Ab ± 0.42	
	T2: 113 DPP	-0.5 Ab ± 0.17	-0.49 Ac ± 0.11	-1.39 Ab ± 0.30
	T3: 119 DPP	-1.51 Aa ± 0.32	-1.56 Aa ± 0.36	-1.79 Aa ± 0.35
b*	T1: 106 DPP	5.42 Aa ± 0.38	4.84 Bb ± 0.66	
	T2: 113 DPP	4.89 Ab ± 0.53	5.06 Ab ± 0.55	4.86 Ab ± 0.08
	T3: 119 DPP	4.94 Ab ± 0.13	5.48 Aa ± 0.41	5.31 Aa ± 0.14
C*	T1: 106 DPP	5.43 Aa ± 0.40	4.92 Ab ± 0.76	
	T2: 113 DPP	4.92 Ab ± 0.54	5.03 Ab ± 0.46	4.90 Ab ± 0.21
	T3: 119 DPP	5.20 Ab ± 0.27	5.70 Aa ± 0.51	5.63 Aa ± 0.27
h	T1: 106 DPP	90.43 Bb ± 1.81	98.59 Ab ± 2.45	
	T2: 113 DPP	95.88 Ab ± 2.59	93.87 Bb ± 3.10	105.71 Ab ± 2.68
	T3: 119 DPP	106.86 Aa ± 3.43	105.85 Aa ± 1.90	109.04 Aa ± 2.96

SAFRA I ^{1,2}				
Parâmetros	Dias após a poda para a colheita - DAP	Tempo de maceração		
		M1 – 07 dias	M2 – 14 dias	M3 – 21 dias
Intensidade de cor (IC, 420 + 520 + 620 nm)	T1: 106 DAP	15,39 Aa ± 1,61	13,07 Ab ± 1,09	
	T2: 113 DAP	13,58 Ab ± 0,84	12,22 Bb ± 0,16	13,10 Ab ± 0,65
	T3: 119 DAP	14,85 Ab ± 2,02	13,94 Aa ± 1,45	15,34 Aa ± 2,01
L*	T1: 106 DAP	13,87 Aa ± 0,52	14,06 Aa ± 1,70	
	T2: 113 DAP	13,63 Ab ± 0,63	13,03 Ab ± 0,82	13,26 Aa ± 0,08
	T3: 119 DAP	13,52 Ac ± 1,15	12,53 Ac ± 2,48	12,56 Ab ± 1,15
a*	T1: 106 DAP	-0,03Ac ± 0,18	-0,74Ab ± 0,42	
	T2: 113 DAP	-0,5Ab ± 0,17	-0,49Ac ± 0,11	-1,39Ab ± 0,30
	T3: 119 DAP	-1,51 Aa ± 0,32	-1,56 Aa ± 0,36	-1,79 Aa ± 0,35
b*	T1: 106 DAP	5,42 Aa ± 0,38	4,84 Bb ± 0,66	
	T2: 113 DAP	4,89 Ab ± 0,53	5,06 Ab ± 0,55	4,86 Ab ± 0,08
	T3: 119 DAP	4,94 Ab ± 0,13	5,48 Aa ± 0,41	5,31 Aa ± 0,14
C*	T1: 106 DAP	5,43 Aa ± 0,40	4,92 Ab ± 0,76	
	T2: 113 DAP	4,92 Ab ± 0,54	5,03 Ab ± 0,46	4,90 Ab ± 0,21
	T3: 119 DAP	5,20 Ab ± 0,27	5,70 Aa ± 0,51	5,63 Aa ± 0,27
h	T1: 106 DAP	90,43 Bb ± 1,81	98,59 Ab ± 2,45	
	T2: 113 DAP	95,88 Ab ± 2,59	93,87 Bb ± 3,10	105,71 Ab ± 2,68
	T3: 119 DAP	106,86 Aa ± 3,43	105,85 Aa ± 1,90	109,04Aa ± 2,96

CONTINUAÇÃO DA TABELA 2...

SAFRA II ^{1,2}				
Parâmetros	Dias após a poda para a colheita - DAP	Tempo de maceração		
		M1 – 07 dias	M2 – 14 dias	M3 – 21 dias
pH	T1: 112 DAP	4,02 Ac ± 0,09	4,07 Ac ± 0,05	
	T2: 119 DAP	4,10 Ab ± 0,02	4,16 Ab ± 0,06	4,19 Ab ± 0,05
	T3: 125 DAP	4,17 Aa ± 0,05	4,30 Aa ± 0,07	4,40 Aa ± 0,05
Acidez Total Titulável (AT) / (g L ⁻¹)	T1: 112 DAP	5,27 Ab ± 0,17	4,90 Ba ± 0,19	
	T2: 119 DAP	5,26 Bc ± 0,18	5,27 Aa ± 0,47	6,05 Aa ± 0,47
	T3: 125 DAP	5,71 Aa ± 0,27	5,25 Aa ± 0,13	4,78 Bb ± 0,97
Acidez volátil (g L ⁻¹)	T1: 112 DAP	0,99 Bc ± 0,05	1,02 Ab ± 0,06	
	T2: 119 DAP	1,20 Bb ± 0,04	1,56 Aa ± 0,04	1,65 Ab ± 0,02
	T3: 125 DAP	1,64 Aa ± 0,03	1,51 Aa ± 0,06	1,73 Aa ± 0,11
Açúcares redutores (g L ⁻¹)	T1: 112 DAP	2,56 Bb ± 0,08	2,69 Aa ± 0,09	
	T2: 119 DAP	2,66 Ab ± 0,18	2,60 Bb ± 0,75	2,83 Aa ± 0,75
	T3: 125 DAP	2,95 Aa ± 0,26	2,43 Bc ± 0,17	2,65 Bb ± 0,39
Teor alcoólico %v/v	T1: 112 DAP	11,54 Bc ± 0,52	12,06 Ab ± 1,02	
	T2: 119 DAP	13,23 Ab ± 0,33	12,19 Bb ± 0,71	12,73 Ba ± 0,21
	T3: 125 DAP	14,42 Aa ± 1,00	12,49 Aab ± 0,29	13,48 Aa ± 0,35
Extrato seco (g L ⁻¹)	T1: 112 DAP	34,32 Bc ± 1,63	36,05 Aa ± 1,31	
	T2: 119 DAP	36,2 Ab ± 7,88	27,92 Bb ± 2,41	30,07 Ba ± 4,29
	T3: 125 DAP	37,42 Aa ± 2,46	29,24 Ab ± 1,16	33,51 Aa ± 2,02

CONTINUAÇÃO DA TABELA 2...

SAFRA II^{1,2}

Parâmetros	Dias após a poda para a colheita - DAP	Tempo de maceração		
		M1 – 07 dias	M2 – 14 dias	M3 – 21 dias
Índice de Poifenóis Totais (IPT)	T1: 112 DAP	94,13 Ac ± 6,57	90,81 Bc ± 4,36	
	T2: 119 DAP	118,03 Ab ± 3,52	114,47 Ab ± 0,89	121,44 Ab ± 6,91
	T3: 125 DAP	151,24 Aa ± 2,53	118,23 Aa ± 2,37	145,00 Aa ± 2,24
Intensidade de cor (IC, 420 + 520 + 620 nm)	T1: 112 DAP	18,17 Ab ± 1,41	18,11 Ac ± 0,94	
	T2: 119 DAP	20,61 Aa ± 0,71	21,29 Aab ± 0,14	23,99 Ab ± 0,55
	T3: 125 DAP	25,46 Aa ± 3,18	22,89 Aa ± 1,22	25,55 Aa ± 1,74
L*	T1: 112 DAP	14,97 Aab ± 0,45	15,36 Ab ± 1,47	
	T2: 119 DAP	14,99 Aa ± 0,53	14,78 Bc ± 0,71	14,38 Bb ± 0,08
	T3: 125 DAP	14,41 Ab ± 0,42	16,11 Aa ± 2,11	15,43Aa ± 0,98
a*	T1: 112 DAP	-2,35Ab± 0,25	-2,26 Ab ± 0,35	
	T2: 119 DAP	-2,44 Aa ± 0,13	-2,32Aa ± 0,14	-2,42 Aa ± 0,24
	T3: 125 DAP	-2,34 Ac ± 0,20	-2,11 Bc ± 0,31	-2,29 Ab ± 0,29
b*	T1: 112 DAP	3,94 Aa ± 0,32	3,84 Ab ± 0,56	
	T2: 119 DAP	3,61 Ab ± 0,43	4,10 Aa ± 0,50	4,05 Aa ± 0,10
	T3: 125 DAP	3,76 Ab ± 0,07	3,60 Ab ± 0,35	3,78 Ab± 0,15
C*	T1: 112 DAP	4,59 Aa ± 0,35	4,46 Ab ± 0,63	
	T2: 119 DAP	4,37 Ab ± 0,42	4,70 Aa ± 0,46	4,72 Aa ± 0,16
	T3: 125 DAP	4,43 Aa ± 0,05	4,16 Bb ± 0,45	4,43 Aa ± 0,27
h	T1: 112 DAP	120,81 Ab ± 1,78	120,50 Aa ± 2,13	
	T2: 119 DAP	124,20 Aa ± 2,29	120,21 Ab ± 3,00	120,91 Aa ± 2,42
	T3: 125 DAP	121,43 Ab ± 1,54	120,28 Aab ± 1,69	120,91 Aa ± 2,49

¹ Médias com letras minúsculas em comum indicam tratamentos que não diferem para o parâmetro avaliado em função do estágio de maturação da uva na data de colheita de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$). ² Médias com letras maiúscula em comum indicam tratamentos que não diferem para o parâmetro avaliado em função do tempo de duração da etapa de maceração aplicada durante a vinificação de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

5.3.2 Phenolic compounds

A Tabela 3 apresenta o resultado da quantificação dos compostos fenólicos por HPLC-DAD-FD e por método espectrofotométrico. Nota-se que o aumento do grau de maturação da uva ‘Touriga Nacional’ na colheita (T2 e T3), de modo geral, promoveu aumento na concentração dos compostos fenólicos quantificados em ambas as safras analisadas, independentemente do tempo de duração da maceração aplicado na vinificação, com exceção dos ácidos *trans*-caftárico e clorogênico.

Uvas colhidas em estadio de sobrematuração (T3) favoreceram uma maior extração de compostos fenólicos totais (CFT - quantificado por método espectrofotométrico), na safra I a média de CFT foi maior para T3M1 sendo igual a 5109,01 mg L⁻¹, e na safra II para T3M2 (3613,80mg L⁻¹). Dessa forma, é importante ressaltar também que as temperaturas mais quentes da safra I (“safra de verão”) proporcionaram um aumento expressivo no conteúdo de CFT no vinho ‘Touriga Nacional’. Em contrapartida, nota-se que os valores de CFT dos vinhos tropicais analisados são de maneira geral superiores aos encontrados por Van et al. (2014) em vinho de cultivares Syrah, Pinot Noir, Cabernet Sauvignon, Malbec, Merlot (948 – 3526 mg L⁻¹). Também foi superior aos encontrados por Barbará et al. (2019) e Alencar et al. (2017) em vinhos tropicais ‘Syrah’, com valores máximos de 2.108 mg L⁻¹ e 2102.4 mg L⁻¹, respectivamente. O menor valor de CFT identificado nos vinhos ‘Touriga Nacional’ na safra I foi de 3434,16 mg L⁻¹ (T1M1) e na safra II de 2648,56 mg L⁻¹ (T1M2). Esses resultados respaldam o grande potencial da variedade ‘Touriga Nacional’ independente da época do ano de colheita. Adicionalmente, destaca-se que o prolongamento da maceração aumentou o conteúdo de compostos fenólicos dos vinhos elaborados apenas com as uvas colhidas no estágio de maturação tecnológica (T2).

Ao contrário do conteúdo de CFT, na safra I o conteúdo de antocininas monoméricas (quantificadas por método espectrofotométrico) variou de 129,60 mg L⁻¹ (T1M1) a 160,31 mg L⁻¹ (T3M1), sendo de modo geral inferior ao identificado nos vinhos da safra II, onde variou de 72,74 mg L⁻¹ (T1M1) a 351,57 mg L⁻¹ (T3M1). Os vinhos da safra II também obtiveram maiores valores de Intensidade de cor (IC) de acordo com a Tabela 2, chegando a 25,55, enquanto o maior valor de IC dos vinhos da safra I foi de 15,39. Por outro lado, o comportamento das antocianinas monoméricas diferiu entre as duas safras do ano de 2017. Nota-se na Tabela 3 que na safra I o conteúdo de antocianinas diminuiu com o avanço da maturação da uva, mas somente quando foi aplicado tempo de

maceração superior a 7 dias (M2 e M3). Já na safra II, todos os vinhos com as uvas colhidas em sobrematuração (T3) apresentaram maior conteúdo de pigmentos, principalmente quando foram elaborados com 7 dias de maceração (M1). A diminuição da concentração de antocianinas com o prolongamento da maceração pode ser explicada em função das reações que podem ocorrer de co-pigmentação entre esses pigmentos e procianidinas (BUDIC-LETO et al. 2008, KOCABEY et al., 2016).

O conteúdo total dos ácidos fenólicos quantificados nos vinhos por HPLC-DAD-FD variou na safra I de 136,00 a 199,60 mgL⁻¹, sendo inferior ao da safra II, que variou de 170,50 a 218,44 mg L⁻¹. O ácido cafeico foi o majoritário, seguido do gálico e *p*-cumárico. Com relação a concentração de ácido gálico, para ambas as safras, ocorreu um aumento crescente com a utilização de uvas colhidas em estágio mais avançado de maturação e prolongamento no tempo de maceração, sendo maior para o tratamento T3M3, alcançando valores de 77,34 mg L⁻¹ na safra I e 91,15 mg L⁻¹ na safra II. Teixeira et al (2013) relatam que alguns compostos fenólicos, em especial os ácidos fenólicos e estilbenos, normalmente são acumulados durante a maturação das bagas, isto ocorre devido ao estresse biótico ou abiótico sofrido pela videira. Por sua vez, o conteúdo de ácido cafeico variou nos vinhos de 73,37 mg L⁻¹ (T1M2) a 108,43 mgL⁻¹ (T3M1) na safra I e na safra II de 85,80 mg.L⁻¹ (T3M1) a 117,66 mg L⁻¹ (T2M1), não foi influenciado significativamente pelo tempo de duração da maceração, e aumentou com o avanço da maturação da uva somente na safra I. O ácido *p*-cumárico apresentou comportamento semelhante. Outros ácidos quantificados em menores concentrações foram os ácidos *trans*-caftárico, clorogênico e ferulico. Os dois primeiros apresentaram-se em maiores concentrações nos vinhos das uvas colhidas antes da maturação tecnológica ideal (T1), e no caso da ácido *trans*-caftárico, diminuíram também com o prolongamento da maceração. O conteúdo de ácido ferulico não foi alterado pela maceração. Os ácidos fenólicos são relatados como não tendo nenhuma influência direta no sabor ou odor do vinho, no entanto, eles são precursores de fenóis voláteis produzidos pela ação de leveduras do gênero *Brettanomyces* (RIBEREAU-GAYON, 2006b).

Os estilbenos apresentaram comportamento parecido nas duas safras do ano, com quantidades relativamente maiores na safra II, tendo o conteúdo de piceatannol se destacado na safra I e *cis*-resveratrol na safra II. Adicionalmente, nota-se na Tabela 3, que a maceração prolongada não aumentou a concentração de estilbenos no vinho, mas sim o estágio de maturação da uva na colheita. A concentração de *cis*-resveratrol foi maior

quando o vinho foi elaborado com uvas colhidas na maturação tecnológica ideal (T2), chegando a 0,81 mg L⁻¹ na safra I e 2,05 mg L⁻¹ na safra II. Já as concentrações de *trans*-resveratrol e piceatannol foram superiores nos vinhos elaborados com as uvas colhidas em sobrematuração (T3), atingindo respectivamente 0,89 e 2,03 mg L⁻¹ na safra I e 0,68 e 1,47 mg L⁻¹ na safra II. Ainda que os valores de *trans*-resveratrol encontrados neste estudo tenham sido inferiores aos de piceatannol e *cis*-resveratrol.

O total de flavanols foi fortemente influenciado pelo grau de maturação da uva e também foi superior para os vinhos da safra II, chegando até 318,75mg L⁻¹, enquanto na safra I o maior valor encontrado foi de 229,14 mg L⁻¹. De modo geral, o prolongamento do tempo de maceração e o estágio de maturação da uva mais avançado na colheita aumentaram o conteúdo desses compostos (Tabela 3). A junção das práticas de maceração por 21 dias (M3) e colheita de uvas no estágio de sobrematuração (T3), promoveram aos vinhos tropicais ‘Touriga Nacional’ as maiores concentrações de (+) -catequina, (-) -epicatequina e das Procianidinas A2, B1 e B2, sendo elas quantificadas na ordem de 45,99, 50,98, 4,41, 43,82, e 75,28 mg L⁻¹ na safra I, e 62,09, 78,99, 6,47, 57,14 e 104,83 mg L⁻¹ na safra II, respectivamente. Gordillo et al., (2016) avaliaram vinhos espanhóis ‘Syrah’ e também identificaram concentrações mais altas de (-) -epicatequina e (+) -catequina nos vinhos macerados durante um período mais longo e quantificaram com 10 dias teores de 17,8 mg L⁻¹ de (+)-catequina e 15,0 mg L⁻¹ de (-)-epicatequina, sendo cerca de três vezes superiores aos dos vinhos analisados com 05 dias de maceração. Adicionalmente, o estudo desenvolvido por Barbará et al. (2019) encontrou maiores concentrações das Procianidinas nos vinhos ‘Syrah’ elaborados com 30 dias de maceração, que chegaram a 4,35 mg L⁻¹ para a Procianidina A2, 18,10 mg L⁻¹ para a Procianidina B1 e 17,48 mg L⁻¹ para a Procianidina B2.

Ainda que a extração dos flavanóis da casca da uva inicie-se logo nos primeiros dois a três dias de maceração, devido à sua alta solubilidade em água desses compostos, a liberação dos flavanóis das sementes exige maiores tempos de maceração e por isso aumenta significativamente com o prolongamento dessa etapa. Estes compostos são geralmente relacionados à adstringência e amargor dos vinhos tintos (MONGAS et al., 2003), mas apresentam elevada atividade antioxidante e bioacessibilidade (DUTRA et al., 2023).

Ao contrário das outras classes citadas, a concentração total dos flavonols quantificados foi maior nos vinhos da safra I, chegando a 24,12 mg L⁻¹ (T3M2), enquanto

na safra II o maior valor foi de 21,23 mg L⁻¹ (T2M1), para ambas a isorhamnetenina-3-O-glucosídeo foi o composto majoritário, atingindo concentração de até 12,38 e 9,87 mg L⁻¹, respectivamente. Na safra II, a concentração de quercetin 3-β-D-glucosídeo, rutina, miricetina, isorhamnetenina-3-O-glucosídeo e o caempferol-3-O-glucosídeo, foi influenciada pelo efeito conjunto do tempo de maceração e grau de maturação das uvas na colheita, enquanto na safra I, o conteúdo desses compostos no vinho alterou principalmente em função do grau de maturação das uvas (Tabela 3). Nesse sentido, é necessário que as recomendações sejam fornecidas para momento de colheita do ano, não podendo ser generalizadas como para a classe dos ácidos fenólicos, estilbenos e flavanols. Para a safra I (“safra de verão”), sugere-se para aumentar o conteúdo de flavonols, que as uvas sejam colhidas em sobrematuração (T3), independentemente do tempo de maceração escolhido para a vinificação. Já para a safra II (“safra de inverno”), o ideal seria a utilização de uvas colhidas no estágio de maturação tecnológica (T2) com maceração de 7 dias (M1), no entanto, caso as uvas sejam colhidas antes da maturação tecnológica ideal (T1) ou depois (T3), uma maceração prolongada pode aumentar a extração de flavonols.

O conteúdo total das antocianinas monoméricas quantificadas por HPLC-DAD-FD foi também superior nos vinhos da safra II, e a concentração desses pigmentos variou de 130,00 (T3M3) a 235,27 mg L⁻¹ (T2M1), enquanto na safra I o menor e maior valor foram de respectivamente 136,71 (T1M1) a 177,87 mg L⁻¹(T3M1), destacando a a malvidina-3-O-glucosídeo como a antocianina majoritária para ambas as safras. Assim como ocorreu para os flavonols, o efeito do estágio de maturação da uva apresentou comportamento diferente em relação a concentração das antocianinas entre as safras do ano analisadas. Para a safra I (“safra de verão”), a concentração de todas as antocianinas quantificadas aumentou com o avanço do grau de maturação da uva, sugerindo a colheita de uvas em estágio de sobrematuração (T3). Adicionalmente, o tempo de maceração alterou somente o conteúdo de malvidina-3-O-glucosídeo e peonidina-3-O-glucosídeo, recomendando-se o uso de 07 dias para uma maior extração de malvidina-3-O-glucosídeo, que é a principal antocianina das uvas de variedades *Vitis viníferas*. Já na safra II (“safra de inverno”), o conteúdo de todas as antocianinas foi superior nos vinhos elaborados com as uvas colhidas no estágio de maturação tecnológica ideal (T2), recomendando-se também o uso de 07 dias para uma maior extração da malvidina-3-O-glucosídeo.

Tabela 3: Teores de compostos fenólicos nos vinhos tintos ‘Touriga Nacional’ procedentes do Submédio do Vale do São Francisco, e elaborados a partir de uvas colhidas em três estádios de maturação em duas safras do mesmo ano (fevereiro – Safra I e julho – Safra II), utilizando diferentes tempos de duração da maceração durante a vinificação tradicional.

SAFRA I ^{1,2}				
Compostos fenólicos (mg L ⁻¹)	Dias após a poda para a colheita - DAP	Tempo de maceração		
		M1 – 07 dias	M2 – 14 dias	M3 – 21 dias
Ácido gálico	T1: 106 DAP	27,60 Bc ± 9,16	33,21 Ab ± 7,63	
	T2: 113 DAP	34,63 Bb ± 11,54	40,81 Aa ± 13,59	49,97 Ab ± 16,02
	T3: 119 DAP	38,24 Ba ± 9,30	41,61 Ba ± 9,60	77,34 Aa ± 8,10
Ácido cafeico	T1: 106 DAP	75,43 Ac ± 2,08	73,37 Ac ± 6,37 c	
	T2: 113 DAP	90,75 Ab ± 5,78	88,66 Ab ± 4,42 b	94,76 Aa ± 8,04
	T3: 119 DAP	108,43 Aa ± 5,41	105,25 Aa ± 5,84 a	94,32 Aa ± 7,11
Ácido <i>trans</i> -caftárico	T1: 106 DAP	12,78 Aa ± 3,34	7,00 Ab ± 3,20	
	T2: 113 DAP	4,10 Ab ± 2,63	2,46 Bb ± 0,22	1,43 Bb ± 0,02
	T3: 119 DAP	1,98 Ac ± 0,25	2,11 Ac ± 0,16	2,11 Aa ± 0,19
Ácido ρ -cumárico	T1: 106 DAP	19,87 Ac ± 0,58	19,21 Ac ± 0,87	
	T2: 113 DAP	22,52 Ab ± 1,70	22,24 Ab ± 1,04	22,97 Ab ± 0,81
	T3: 119 DAP	25,66 Aa ± 1,15	24,66 Aa ± 1,45	24,36 Aa ± 2,48
Ácido clorogênico	T1: 106 DAP	0,87 Aa ± 0,27	0,75 Aa ± 0,13	
	T2: 113 DAP	0,69 Ab ± 0,05	0,72 Aab ± 0,04	0,74 Aa ± 0,04
	T3: 119 DAP	0,61 Ab ± 0,05	0,58 Bb ± 0,06	0,55 Bb ± 0,01
Ácido ferúlico	T1: 106 DAP	3,19 Ac ± 0,21	3,44 Ac ± 0,19	
	T2: 113 DAP	4,63 Aa ± 0,46	3,58 Ab ± 0,63	4,01 Aa ± 0,26
	T3: 119 DAP	4,47 Ab ± 0,57	4,27 Aa ± 0,52	2,88 Bb ± 1,01 b

CONTINUAÇÃO DA TABELA 3....

SAFRA I ^{1,2}				
Compostos fenólicos (mg L ⁻¹)	Dias após a poda para a colheita - DAP	Tempo de maceração		
		M1 – 07 dias	M2 – 14 dias	M3 – 21 dias
Total de ácidos fenólicos	T1: 106 DAP	139,58 Ac ± 9,36	136,00 Ac ± 14,56	
	T2: 113 DAP	157,55 Ab ± 8,61	158,48 Ab ± 8,01	173,73 Ab ± 24,61
	T3: 119 DAP	179,42 Aa ± 8,23	178,49 Aa ± 6,56	199,60 Aa ± 3,48
<i>cis</i> -resveratrol	T1: 106 DAP	0,47 Ac ± 0,08	0,38 Bb ± 0,06	
	T2: 113 DAP	0,81 Aa ± 0,11	0,76 Aa ± 0,09	0,58 Bb ± 0,15
	T3: 119 DAP	0,77 Ab ± 0,19	0,76 Aa ± 0,13	0,62 Aa ± 0,14
Piacetannol	T1: 106 DAP	1,90 Ab ± 0,16	1,87 Aa ± 0,05	
	T2: 113 DAP	1,91 Ab ± 0,15	1,47 Bb ± 0,24	2,15 Aa ± 0,54
	T3: 119 DAP	2,03 Aa ± 0,60	1,49 Ab ± 0,15	1,05 Ab ± 0,05
<i>trans</i> -resveratrol	T1: 106 DAP	0,60 Ab ± 0,05	0,64 Ac ± 0,07	
	T2: 113 DAP	0,69 Ab ± 0,01	0,71 Ab ± 0,08	0,82 Aa ± 0,07
	T3: 119 DAP	0,85 Aa ± 0,05	0,89 Aa ± 0,14	0,77 Ab ± 0,05
Total estilbenos	T1: 106 DAP	2,97 Ac ± 0,24	2,89 Ab ± 0,13	
	T2: 113 DAP	3,41 Ab ± 0,17	2,95 Ab ± 0,21	3,56 Aa ± 0,71
	T3: 119 DAP	3,66 Aa ± 0,56	3,14 Aa ± 0,08	2,45 Bb ± 0,31

CONTINUAÇÃO DA TABELA 3....

SAFRA I ^{1,2}				
Compostos fenólicos (mg L ⁻¹)	Dias após a poda para a colheita - DAP	Tempo de maceração		
		M1 – 07 dias	M2 – 14 dias	M3 – 21 dias
(-)- galato epicatequina	T1: 106 DAP	3,16 Bb ± 0,33	5,11 Ab ± 0,64	
	T2: 113 DAP	5,92 Aa ± 0,30	5,33 Aa ± 0,50	6,73 Aa ± 2,02
	T3: 119 DAP	5,83 Aa ± 1,53	4,89 Bb ± 1,04	3,95 Bb ± 0,82
(-)-galato epigalocatequina	T1: 106 DAP	4,96 Bb ± 0,14	5,66 Ac ± 0,42	
	T2: 113 DAP	7,78 Ab ± 0,85	6,57 Aa ± 0,68	7,19 Aa ± 0,44
	T3: 119 DAP	9,78 Aa ± 0,89	6,48 Ab ± 3,09 a	4,66 Bb ± 0,56
(+) -catequina	T1: 106 DAP	22,69 Ac ± 8,81	28,38 Ab ± 5,80	
	T2: 113 DAP	25,83 Aa ± 7,58	29,37 Aa ± 12,36	31,57 Ab ± 10,92
	T3: 119 DAP	25,25 Bb ± 6,10	27,51 Bb ± 5,79	45,99 Aa ± 1,11
(-)-epicatequina	T1: 106 DAP	20,13 Bc ± 8,75	26,20 Ab ± 6,54	
	T2: 113 DAP	25,48 Aa ± 10,85	30,86 Aa ± 6,35	29,74 Ab ± 13,43
	T3: 119 DAP	23,34 Bb ± 6,55	26,31 Bb ± 7,80	50,98 Aa ± 0,47
Procianidina A2	T1: 106 DAP	1,62 Ac ± 0,38	1,86 Ac ± 0,41	
	T2: 113 DAP	2,04 Aa ± 0,59	2,30 Ab ± 0,78	2,40 Ab ± 0,72
	T3: 119 DAP	1,90 Bb ± 0,38	2,72 Aa ± 0,60	4,41 Aa ± 0,36
Procianidina B1	T1: 106 DAP	24,53 Ab ± 5,67	26,40 Ab ± 6,47	
	T2: 113 DAP	25,88 Aa ± 8,02	28,23 Aa ± 8,88	28,09 Ab ± 9,42
	T3: 119 DAP	24,55 Bb ± 5,67	26,55 Bb ± 5,35	43,82 Aa ± 0,36
Procianidina B2	T1: 106 DAP	26,12 Bc ± 8,98	33,24 Ac ± 12,13	
	T2: 113 DAP	38,1 Aa ± 5,84	45,09 Aa ± 8,27	47,83 Ab ± 7,18
	T3: 119 DAP	35,66 Bb ± 8,95	39,52 Bb ± 11,44	75,28 Aa ± 1,03
Total flavanols	T1: 106 DAP	103,24 Bc ± 2,43	126,81 Ac ± 8,82	
	T2: 113 DAP	131,09 Aa ± 2,65	197,78 Aa ± 5,79	153,57 Ab ± 8,07
	T3: 119 DAP	126,34 Bb ± 9,97	134,01 Bb ± 3,41	229,14 Aa ± 1,86

CONTINUAÇÃO DA TABELA 3...

SAFRA I ^{1,2}				
Compostos fenólicos (mg L ⁻¹)	Dias após a poda para a colheita - DAP	Tempo de maceração		
		M1 – 07 dias	M2 – 14 dias	M3 – 21 dias
Quercetina-3-β-D-glucoside	T1: 106 DAP	6,94 Aa ± 1,05	5,49 Ab ± 0,72	
	T2: 113 DAP	4,70 Ac ± 0,30	3,71 Bc ± 0,34	5,70 Aa ± 0,67
	T3: 119 DAP	5,66 Ab ± 0,88	5,77 Aa ± 1,77	4,12 Ab ± 0,37
Isorhamnetina-3-O-glucoside	T1: 106 DAP	5,90 Ac ± 1,02	5,85 Bb ± 0,71	
	T2: 113 DAP	8,25 Ab ± 0,37	8,61 Ab ± 0,39	9,82 Ab ± 2,67
	T3: 119 DAP	12,15Aa ± 0,67	12,38 Aa ± 0,77	11,51 Aa ± 0,19
Rutina	T1: 106 DAP	1,70 Ac ± 0,21	2,38 Ac ± 0,33	
	T2: 113 DAP	3,96 Ab ± 0,40	2,93 Ab ± 0,79	2,98Aa ± 0,38
	T3: 119 DAP	4,04 Aa ± 0,75	3,94 Aa ± 0,60	3,69 Aa ± 0,32
Miricetina	T1: 106 DAP	0,90 Ab ± 0,03	0,96 Ab ± 0,06	
	T2: 113 DAP	0,99 Ab ± 0,09	1,21 Aa ± 0,12	1,01 Ab ± 0,07
	T3: 119 DAP	1,13 Aa ± 0,05	1,20 Aa ± 0,11	1,60 Aa ± 0,62
Caempferol-3-O-glucoside	T1: 106 DAP	0,84 Ab ± 0,14	0,72 Ab ± 0,07	
	T2: 113 DAP	0,68 Ac ± 0,02	0,65 Ac ± 0,06	0,90 Aa ± 0,06
	T3: 119 DAP	0,87 Aa ± 0,14	0,84 Aa ± 0,05	0,72 Ab ± 0,03
Total flavonols	T1: 106 DAP	16,32 Ac ± 2,36	15,42 Ac ± 0,64	
	T2: 113 DAP	18,53 Ab ± 1,04	17,13 Ab ± 0,31	20,41 Ab ± 3,68
	T3: 119 DAP	23,85 Aa ± 1,40	24,12 Aa ± 3,18	21,75 Aa ± 1,18

CONTINUAÇÃO DA TABELA 3...

SAFRA I ^{1,2}				
Compostos fenólicos (mg L ⁻¹)	Dias após a poda para a colheita - DAP	Tempo de maceração		
		M1 – 07 dias	M2 – 14 dias	M3 – 21 dias
Pelargonidina-3- <i>O</i> -glucoside	T1: 106 DAP	6,68 Bb ± 1,16	6,78 Ab ± 1,19	
	T2: 113 DAP	6,27 Bb ± 1,47	5,67 Bb ± 0,39	9,34 Aa ± 0,77
	T3: 119 DAP	8,11 Aa ± 2,50	7,37 Aab ± 2,13	6,19 Ab ± 1,15
Cianidina- 3- <i>O</i> -glucoside	T1: 106 DAP	0,39 Ab ± 0,03	0,43 Ab ± 0,04	
	T2: 113 DAP	0,46 Ab ± 0,04	0,41 Ab ± 0,02	0,42 Ab ± 0,07
	T3: 119 DAP	0,75 Aa ± 0,28	0,77 Aa ± 0,61	1,43 Aa ± 0,06
Delfinidina-3- <i>O</i> -glucosídeo	T1: 106 DAP	2,66 Ab ± 0,31	2,72 Aa ± 0,61	
	T2: 113 DAP	3,20 Aa ± 1,86	2,16 Ab ± 0,20	3,22 Aa ± 0,58
	T3: 119 DAP	3,18 Aab ± 1,00	2,72 Aa ± 0,71	2,49 Ab ± 0,56
Malvidina-3- <i>O</i> -glucosídeo	T1: 106 DAP	121,50 Ac ± 13,36	134,14 Ab ± 17,74	
	T2: 113 DAP	141,93 Ab ± 21,48	143,27 Aa ± 8,12	152,98 Aa ± 17,55
	T3: 119 DAP	156,01 Aa ± 15,84	137,08 Bb ± 10,93	130,21 Bb ± 10,34
Peonidina-3- <i>O</i> -glucosídeo	T1: 106 DAP	3,08 Bc ± 0,17	4,61 Ab ± 0,35	
	T2: 113 DAP	3,97 Bb ± 0,35	4,88 Ab ± 0,11	5,70 Ab ± 0,79
	T3: 119 DAP	6,78 Aa ± 0,95	6,04 Aa ± 0,52	5,81 Aa ± 0,60
Petunidina-3- <i>O</i> -glucoside	T1: 106 DAP	2,38 Ab ± 0,28	2,82 Ab ± 0,91	
	T2: 113 DAP	2,43 Ab ± 0,36	3,12 Aa ± 1,24	2,95 Aa ± 0,57
	T3: 119 DAP	3,08 Aa ± 0,72	2,76 Ac ± 0,37	2,90 Ab ± 0,58
Total Antocianinas	T1: 106 DAP	136,71 Ac ± 15,12	151,52 Ab ± 20,13	
	T2: 113 DAP	158,28 Ab ± 4,63	159,54 Aa ± 7,80	174,63 Aa ± 9,74 a
	T3: 119 DAP	177,87 Aa ± 1,04	156,77 Ab ± 5,03	169,05 Ab ± 3,20
Total antocianinas monoméricas ³	T1: 106 DAP	129,60 Aa ± 3,66	157,70 Aa ± 4,32	
	T2: 113 DAP	143,55Aa ± 3,35	137,03 Ab ± 6,22	178,77 Aa ± 4,66
	T3: 119 DAP	160,31 Aa ± 3,93	134,25 Ab± 2,32	138,41 Ab ± 4,90
Total compostos fenólicos ⁴	T1: 106 DAP	3434,16 Bc ± 4,20	3714,57 Ac ± 5,90	
	T2: 113 DAP	3858,28 Bb ± 4, 75	3998,48 Bb ± 4,79	4266,04 Ab ± 4,50
	T3: 119 DAP	5109,01 Aa ± 2,22	4873,58 Aa ± 5,71	4634,07 Aa ± 9,70

CONTINUAÇÃO DA TABELA 3...

SAFRA II ^{1,2}				
Compostos fenólicos (mg L ⁻¹)	Dias após a poda para a colheita - DAP	Tempo de maceração		
		M1 – 07 dias	M2 – 14 dias	M3 – 21 dias
Ácido gálico	T1: 112 DAP	41,69 Bb ± 7,52	47,84 Ac ± 3,62	
	T2: 119 DAP	52,29 Bab ± 2,69	55,42 ABab ± 2,54	63,00 Ab ± 1,97
	T3: 125 DAP	56,57 Ba ± 9,09	56,67 Ba ± 8,36	91,15 Aa ± 6,11
Ácido cafeico	T1: 112 DAP	95,76 Ab ± 1,65	102,23 Aa ± 1,90	
	T2: 119 DAP	117,66 Aa ± 0,61	100,87 Ab ± 4,56	92,85 Ab ± 1,72
	T3: 125 DAP	85,80 Ac ± 2,44	87,49 Ac ± 2,84	98,91 Aa ± 1,70
Ácido <i>trans</i> -caftárico	T1: 112 DAP	8,27 Ab ± 2,70	6,03 Aa ± 3,79	
	T2: 119 DAP	6,12 Aa ± 6,31	2,14 Bb ± 0,79	1,62 Bb ± 0,35
	T3: 125 DAP	1,50 Bc ± 0,22	2,42 Ab ± 1,48	2,20 Aa ± 2,07
Ácido <i>p</i> -cumárico	T1: 112 DAP	26,20 Ab ± 1,80	27,17 Aa ± 2,66	
	T2: 119 DAP	28,46 Aa ± 2,83	20,32 Ac ± 2,53	20,20 Aa ± 3,60
	T3: 125 DAP	22,86 Ac ± 1,39	21,93 Ab ± 2,94	21,93 Aa ± 2,61
Ácido clorogênico	T1: 112 DAP	2,41 Aa ± 0,27	1,62 Aa ± 0,08	
	T2: 119 DAP	2,06 Ab ± 0,67	1,85 Ab ± 0,04	1,44 Aa ± 0,36
	T3: 125 DAP	0,74 Ab ± 0,08	0,94 Ab ± 0,10	0,99 Ab ± 0,15
Ácido ferúlico	T1: 112 DAP	2,00 Ac ± 0,19	2,45 Ab ± 0,34	
	T2: 119 DAP	2,73 Ab ± 0,20	2,87Aa ± 0,38	3,03Aa ± 0,09
	T3: 125 DAP	2,99 Aa ± 0,71	2,86 Aa ± 0,96	3,23 Aa ± 0,26
Total de ácidos fenólicos	T1: 112 DAP	176,61 Ab ± 7,67	187,35 Aa ± 22,76	
	T2: 119 DAP	209,35 Aa ± 7,37	183,51 Bb ± 5,70	182,16 Bb ± 8,91
	T3: 125 DAP	170,50 Bc ± 6,80	172,34 Bc ± 9,83	218,44 Aa ± 4,51

CONTINUAÇÃO DA TABELA 3...

SAFRA II ^{1,2}				
Compostos fenólicos (mg L ⁻¹)	Dias após a poda para a colheita - DAP	Tempo de maceração		
		M1 – 07 dias	M2 – 14 dias	M3 – 21 dias
<i>cis</i> -resveratrol	T1: 112 DAP	1,93 Ab ± 0,36	1,50 Ab ± 0,06	
	T2: 119 DAP	2,05 Aa ± 0,19	1,63 Aa ± 0,18	1,31 Ab ± 0,26
	T3: 125 DAP	1,59 Ac ± 0,32	1,41 Ac ± 0,21	1,50 Aa ± 0,18
Piacetannol	T1: 112 DAP	1,32 Ac ± 0,05	1,36 Ab ± 0,05	
	T2: 119 DAP	1,54 Aa ± 0,14	1,13 Ac ± 0,07	1,00 Ab ± 0,18
	T3: 125 DAP	1,46 Ab ± 0,50	1,47 Aa ± 0,36	1,36 Aa ± 0,25
<i>trans</i> -resveratrol	T1: 112 DAP	0,60 Ac ± 0,01	0,60 Ac ± 0,01	
	T2: 119 DAP	0,66 Ab ± 0,05	0,62 Ab ± 0,01	0,61 Ab ± 0,03
	T3: 125 DAP	0,68 Aa ± 0,05	0,68 Aa ± 0,03	0,69 Aa ± 0,18
Total Estilbenos	T1: 112 DAP	3,86 Ab ± 0,37	3,47 Aa ± 0,09	
	T2: 119 DAP	4,26 Aa ± 0,34	3,37 Aa ± 0,24	2,94 Bb ± 0,47
	T3: 125 DAP	3,73 Ab ± 0,83	3,56 Ab ± 0,50	4,36 Aa ± 0,41

CONTINUAÇÃO DA TABELA 3...

SAFRA II ^{1,2}				
Compostos fenólicos (mg L ⁻¹)	Dias após a poda para a colheita - DAP	Tempo de maceração		
		M1 – 07 dias	M2 – 14 dias	M3 – 21 dias
(-)-galato epicatequina	T1: 112 DAP	2,11 Aa ± 0,40	2,05 Aa ± 0,16	
	T2: 119 DAP	1,97 Ab ± 0,15	1,67 Bb ± 0,57	1,20 Bb ± 0,07
	T3: 125 DAP	1,83 Ac ± 0,66	2,09 Aa ± 0,44	4,41 Aa ± 0,23
(-)- galato epigalatocatequina	T1: 112 DAP	4,19 Ac ± 0,52	5,21 Ac ± 0,67	
	T2: 119 DAP	5,72 Aa ± 0,23	5,41 Aa ± 0,19	4,97 Aa ± 0,15
	T3: 125 DAP	4,83 Ab ± 0,42	5,38 Ab ± 0,10	4,33 Ab ± 0,31
(+) -catequina	T1: 112 DAP	32,97 Ac ± 4,44	39,48 Aa ± 1,07	
	T2: 119 DAP	34,94 Ab ± 10,78	36,04 Ab ± 6,78	44,88 Ab ± 2,94
	T3: 125 DAP	36,34 Ba ± 7,09	34,97 Bc ± 6,87	62,09 Aa ± 12,16
(-)-epicatequina	T1: 112 DAP	28,18 Bb ± 5,52	43,64 Aa ± 3,33	
	T2: 119 DAP	37,82 Ab ± 11,02	36,27 Bb ± 9,38	54,06 Ab ± 4,39
	T3: 125 DAP	40,88 Ba ± 7,04	36,51 Bb ± 7,73	78,99 Aa ± 12,32
Procianidina A2	T1: 112 DAP	4,47 Ab ± 1,21	4,73 Aa ± 0,16	
	T2: 119 DAP	4,70 Aa ± 0,97	4,31 Ab ± 0,21	3,95 Ab ± 0,83
	T3: 125 DAP	3,01 Bb ± 1,01	3,11 Bb ± 0,54	6,47 Aa ± 1,17
Procianidina B1	T1: 112 DAP	36,59 Aa ± 5,73	34,61 Aab ± 1,02	
	T2: 119 DAP	35,20 Aab ± 10,91	34,96 Aa ± 7,29	43,96 Aa ± 3,96
	T3: 125 DAP	33,43 Bb ± 5,73	33,06 Bb ± 7,50	57,14 Aa ± 12,42
Procianidina B2	T1: 112 DAP	41,77 Bc ± 6,58	46,04 Ab ± 1,35	
	T2: 119 DAP	46,87 Bb ± 9,59	48,33 Aa ± 9,78	64,13 Ab ± 3,99
	T3: 125 DAP	56,30 Ba ± 3,45	46,48 Bb ± 11,04	104,83 Aa ± 7,52
Total Flavanols	T1: 112 DAP	150,55 Ac ± 2,69	175,52 Aa ± 4,22	
	T2: 119 DAP	167,31 Ab ± 2,88	167,01 Ab ± 2,77	217,17 Ab ± 2,32
	T3: 125 DAP	176,65 Aa ± 1,54	161,63 Ab ± 2,20	318,57 Aa ± 2,47

CONTINUAÇÃO DA TABELA 3...

SAFRA II ^{1,2}				
Compostos fenólicos (mg L ⁻¹)	Dias após a poda para a colheita - DAP	Tempo de maceração		
		M1 – 07 dias	M2 – 14 dias	M3 – 21 dias
Quercetina-3- β-D-glucosideo	T1: 112 DAP	6,01 Ab ± 0,99	6,25 Aa ± 0,59	
	T2: 119 DAP	6,17 Aa ± 1,23	3,84 Bc ± 0,37	3,25 Bb ± 0,88
	T3: 125 DAP	5,23 Bc ± 1,28	5,50 Ab ± 0,71	6,71 Aa ± 0,88
Isorhamnetina-3-O-glucosideo	T1: 112 DAP	5,02 Ac ± 0,48	5,13 Ac ± 0,87	
	T2: 119 DAP	8,41 Aa ± 1,06	7,20 Ab ± 0,60	6,83 Bb ± 1,28
	T3: 125 DAP	8,28 Ab ± 1,29	9,87 Aa ± 0,53	9,87 Aa ± 0,59
Rutina	T1: 112 DAP	1,80 Ab ± 0,30	1,90 Aa ± 0,22	
	T2: 119 DAP	2,03 Aa ± 0,25	1,44 ABb ± 0,31	1,42 ABc ± 0,29
	T3: 125 DAP	1,86 Ab ± 0,07	1,47 ABb ± 0,24	1,40 ABc ± 0,37
Miricetina	T1: 112 DAP	2,37Ab ± 0,17	2,41Aa ± 0,36	
	T2: 119 DAP	3,91Aa ± 0,83	1,95Ab ± 0,12	1,35Ba ± 0,16
	T3: 125 DAP	1,80 Bb ± 0,52	2,25Aa ± 0,31	1,12Bb ± 0,05
Caempferol-3-O-glucosideo	T1: 112 DAP	0,62 Ab ± 0,06	0,65 Aa ± 0,05	
	T2: 119 DAP	0,69 Aa ± 0,05	0,59 Bb ± 0,06	0,56 Bb ± 0,07
	T3: 125 DAP	0,57 Bc ± 0,03	0,61 Ab ± 0,02	0,66 Aa ± 0,16
Total Flavonols	T1: 112 DAP	15,83 Bb ± 1,06	16,35 Ab ± 2,03	
	T2: 119 DAP	21,23 Aa ± 1,60	15,04 Bb ± 1,04	13,42 Bb ± 2,40
	T3: 125 DAP	17,75 Bb ± 2,44	19,70 Aa ± 0,60	18,29 Ba ± 0,83

CONTINUAÇÃO DA TABELA 3...

SAFRA II^{1,2}

Compostos fenólicos (mg L ⁻¹)	Dias após a poda para a colheita - DAP	Tempo de maceração		
		M1 – 07 dias	M2 – 14 dias	M3 – 21 dias
Pelargonidina-3- <i>O</i> -glucosideo	T1: 112 DAP	28,35 Ab ± 1,08	25,95 Aa ± 1,92	
	T2: 119 DAP	33,72 Aa ± 9,55	21,40 Ab ± 3,23	18,79 Ba ± 6,88
	T3: 125 DAP	26,35 Ab ± 11,49	25,88 Aab ± 9,91	14,37 Bb ± 4,26
Cianidina-3- <i>O</i> -glucosideo	T1: 112 DAP	0,74 Ab ± 0,07	0,71 Ab ± 0,06	
	T2: 119 DAP	0,87 Aa ± 0,13	0,59 Bb ± 0,10	0,60 Ba ± 0,13
	T3: 125 DAP	0,72 Ab ± 0,19	0,74 Aa ± 0,16	0,56 Bb ± 0,18
Delfinidina-3- <i>O</i> -glucosideo	T1: 112 DAP	20,01 Ab ± 1,27	17,03 Aa ± 0,89	
	T2: 119 DAP	24,47 Aa ± 8,16	15,49 Ab ± 2,44	10,44 Ba ± 7,08
	T3: 125 DAP	16,07 Ab ± 12,74	15,79 Aab ± 12,22	9,87 Bb ± 4,90
Malvidina- 3- <i>O</i> -glucosideo	T1: 112 DAP	127,65 Ab ± 7,97	111,88 Bb ± 11,88	
	T2: 119 DAP	146,56 Aa ± 2,32	116,39 Ab ± 8,03	98,72 Ba ± 5,06
	T3: 125 DAP	120,06 Ab ± 3,36	124,08 Aa ± 2,86	88,89 Bb ± 6,14
Peonidina 3- <i>O</i> -glucosideo	T1: 112 DAP	16,84 Ab ± 0,62	15,83 Ac ± 2,84	
	T2: 119 DAP	25,00 Aa ± 3,57	25,48 Aa ± 0,71	20,29 Aa ± 8,85
	T3: 125 DAP	19,80 Ab ± 3,58	20,00 Ab ± 5,21	13,79 Bb ± 4,84
Petunidina-3- <i>O</i> -glucosideo	T1: 112 DAP	2,14 Ab ± 0,24	2,33 Ab ± 0,39	
	T2: 119 DAP	4,63 Aa ± 0,84	3,74 Ab ± 0,80	3,54 Aa ± 0,60
	T3: 125 DAP	4,52 Aab ± 1,96	4,51 Aa ± 1,61	3,24 Ab ± 1,05
Total antocianinas	T1: 112 DAP	195,75 Ab ± 7,89	173,67 Ac ± 14,95	
	T2: 119 DAP	235,27 Aa ± 3,06	180,09 Ab ± 2,55	152,40 Aa ± 3,75
	T3: 125 DAP	187,53 Ab ± 5,49	191,03 Aa ± 5,55	130,73 Ab ± 2,85
Total antocianinas monoméricas ³	T1: 112 DAP	72,74 Bc ± 7,07	103,58 Ac ± 2,63	
	T2: 119 DAP	321,51 Ab ± 6,66	175,25 Bb ± 3,41	229,09 Ab ± 7,04
	T3: 125 DAP	351,57 Aa ± 2,98	228,31 Aa ± 2,15	239,37 Aa ± 5,89
Total compostos fenólicos ⁴	T1: 112 DAP	2756,00 Ab ± 3,92	2648,56 Ac ± 2,21	
	T2: 119 DAP	2672,33 Bc ± 7,36	2988,41 Ab ± 3,85	3213,43 Ab ± 9,41
	T3: 125 DAP	2992,55 Aa ± 2,26	3613,80 Aa ± 9,65	3407,63 Aa ± 8,76

¹Médias com letras minúsculas em comum indicam tratamentos que não diferem para o composto fenólico avaliado em função do estágio de maturação da uva na data de colheita de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$). ² Médias com letras maiúsculas em comum indicam tratamentos que não diferem para o composto fenólico avaliado em função do tempo de duração de maceração empregado na vinificação, de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$). ³Análise de antocianinas monoméricas totais realizada por método espectrofotométrico. ⁴ Análise de compostos fenólicos totais realizada por método espectrofotométrico utilizando reagente de Folin Ciocauteau.

5.3.3 Capacidade Antioxidante - AOX

A capacidade antioxidante dos vinhos ‘Touriga Nacional’ foi avaliada pelos ensaios de DPPH e ABTS, conforme mostra a Tabela 4. Essa Tabela mostra que de maneira geral os valores de AOX foram mais elevados para os vinhos elaborados com as uvas colhidas na Safra II (“safra de inverno”), ainda que as condições de temperatura fossem mais amenas e a radiação solar diária menos intensa (Tabela 1). Nota-se também um maior impacto da maceração no conteúdo de AOX.

Na safra I, o valor mais baixo de AOX pelo ensaio ABTS foi observado para o tratamento T1M1 ($22,13 \mu\text{mol TE mL}^{-1}$), enquanto na safra II foi para T1M2 ($33,79 \mu\text{mol TE mL}^{-1}$). Por sua vez, os vinhos elaborados com 14 dias de maceração (M2) e uvas colhidas em sobrematuração (T3) apresentaram os maiores valores de AOX pelo ensaio ($52,66 \mu\text{mol TE mL}^{-1}$ para safra I e $60,56 \mu\text{mol TE mL}^{-1}$ para safra II). Adicionalmente, ressalta-se que o aumento do tempo de duração da maceração de 14 para 21 dias, proporcionou redução significativa da AOX segundo o método ABTS. Tendência linear entre os resultados de ABTS e a concentração de compostos fenólicos totais foi observada em vinhos turcos, croatas, eslovacos e australianos (PORGALI e BUYUKTUNCEL, 2012; VRCEK et al., 2011; STASKO et al., 2008), mas não neste estudo de acordo com a Tabela 3. Em relação ao ensaio DPPH, os valores AOX dos vinhos da safra I variaram de $12,01 \mu\text{mol TE mL}^{-1}$ (T1M1) a $19,66 \mu\text{mol TE mL}^{-1}$ (T3M3), e na safra II de $18,56 \mu\text{mol TE mL}^{-1}$ (T3M1) a $22,90 \mu\text{mol TE mL}^{-1}$ (T3M3). Dessa forma, por esse método o prolongamento da maceração para até 21 dias aumentou a AOX do vinho. Entretanto, o impacto da maceração não foi significativo na AOX por esse ensaio de acordo com a Tabela 4 e apenas M1 diferiu significativamente de M2 e M3 em AOX para os vinhos das uvas colhidas na Safra II. Assim, para obter uma maior AOX no vinho ‘Touriga Nacional’, em condições de clima tropical recomenda-se o uso de 14 dias de maceração e a colheita de uvas em estágio de sobrematuração. Alencar et al. (2018) também identificaram um aumento significativo da AOX em mosto de vinho ‘Syrah’ tropical quando foi praticado mais de 15 dias de maceração, sendo superior a $16,00 \mu\text{mol TE mL}^{-1}$ pelo método DPPH.

Leeuw et al. (2014), avaliou pelo ensaio DPPH a AOX de vinhos produzidos a partir de várias variedades de uvas e em diferentes países, e encontrou resultados bem inferiores ao deste estudo, que variaram de 3,71 a $7,67 \mu\text{mol TE mL}^{-1}$.

Tabela 4. Capacidade antioxidante - AOX (métodos DPPH e ABTS) dos vinhos tintos ‘Touriga Nacional’ elaborados no Submédio do Vale São Francisco com uvas colhidas em diferentes estádios de maturação em duas safras do mesmo ano (fevereiro – Safra I e julho – Safra II) e utilizando diferentes tempos de duração de maceração durante a vinificação.

AOX (μmol TE mL ⁻¹)	Dias após a poda para a colheita - DAP	Tempo de maceração		
		M1 – 07 dias	M2 – 14 dias	M3 – 21 dias
SAFRA I ^{1,2}				
DPPH	T1: 106 DAP	12,01 Ab ± 0,46	12,73 Ab ± 2,65	
	T2: 113 DAP	13,39 Bb ± 2,66	14,59 Aa ± 1,05	18,21 Ab ± 1,76
	T3: 119 DAP	17,69 Aa ± 2,08	13,53 Ac ± 3,21	19,66 Aa ± 1,21
ABTS	T1: 106 DAP	22,13 Ac ± 2,94	22,86 Ac ± 2,72	
	T2: 113 DAP	38,81 Aa ± 7,73	39,65 Bb ± 6,47	45,47 Aa ± 4,27
	T3: 119 DAP	27,44 Bb ± 3,48	52,66 Aa ± 4,04	39,23 Bb ± 8,50
SAFRA II ^{1,2}				
DPPH	T1: 112 DAP	21,16 Aa ± 1,63	21,45 Abb ± 0,24	
	T2: 119 DAP	19,56 Bb ± 2,10	22,12 Aa ± 0,20	22,57 Ab ± 0,79
	T3: 125 DAP	18,56 Bc ± 0,25	21,86 Ab ± 0,56	22,90 Aa ± 1,32
ABTS	T1: 112 DAP	39,77 Ab ± 2,50	33,79 Ab ± 2,60	
	T2: 119 DAP	54,36 Aa ± 7,55	37,75 Bb ± 7,82	51,30 Aa ± 15,27
	T3: 125 DAP	38,44 Bb ± 2,76	60,56 Aa ± 6,61	41,75 Bb ± 4,87

¹ Médias com letras minúsculas em comum indicam tratamentos que não diferem em AOX em função do estágio de maturação da uva na data de colheita de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$). ² Médias com letras maiúsculas em comum indicam tratamentos que não diferem em AOX em função do tempo de duração de maceração empregado na vinificação, de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

A Tabela 5 apresenta o resultado da análise de correlação entre a capacidade antioxidante (AOX) e o perfil de compostos fenólicos dos vinhos 'Touriga Nacional'. Entre os ácidos fenólicos, os ácidos gálico, *trans*-caftárico e *p*-cumárico apresentaram uma correlação significativa com a AOX determinada por ambos os ensaios. Adicionalmente, o ácido ferúlico apresentou correlação significativa com a AOX pelo método DPPH. Com exceção da (+) -catequina e da procianidina A2, os demais flavanols quantificados no estudo ((-)-galato epicatequina, (-)-galato epigallocatequina, (-)-epicatequina, procianidina B1 e procianidina B2) correlacionaram-se positivamente com a AOX pelo método DPPH, mas nenhum composto da classe correlacionou-se com a AOX pelo método ABTS. Da mesma forma, todos os estilbenos (*trans*-resveratrol, *cis*-resveratrol e piceatannol) também se correlacionaram com a AOX, mas somente pelo método DPPH. Já para a classe das antocianinas, correlações significativas com AOX foram observadas para pelargonidina-3-*O*-glucosídeo (DPPH), delphinidina-3-*O*-glucosídeo (DPPH), peonidina-3-*O*-glucosídeo (DPPH e ABTS) e petunidina-3-*O*-glucosídeo (ABTS).

Tabela 5. Resultados da análise de correlação de Pearson ($p \leq 0,05$) obtida com a quantificação dos compostos fenólicos e avaliação da capacidade antioxidante - AOX pelos ensaios DPPH e ABTS.

Phenolic compound	DPPH		ABTS	
	r	p	r	p
Gallic acid	0.64	0.01*	0.51	0.04*
<i>trans</i> -caftaric acid	0.62	0.01*	0.51	0.04*
Chlorogenic acid	-0.41	0.12	-0.31	0.24
Caffeic acid	0.31	0.24	0.15	0.59
<i>p</i> -coumaric acid	0.73	0.00*	0.57	0.02*
Ferulic acid	-0.66	0.01*	-0.46	0.07
(-)-epicatechin gallate	0.69	0.00*	0.48	0.06
(-)-epigallocatechin gallate	-0.58	0.02*	-0.29	0.27
(+)-catechin	0.20	0.45	0.09	0.75
(-)-epicatechin	-0.54	0.03*	-0.35	0.19
Procyanidin A2	-0.33	0.21	0.01	0.96
Procyanidin B1	0.64	0.01*	0.40	0.13
Procyanidin B2	0.55	0.03*	0.30	0.26
<i>cis</i> -resveratrol	0.74	0.00*	0.36	0.17
Piceatannol	0.57	0.02*	0.30	0.25
<i>trans</i> -resveratrol	0.51	0.04*	0.31	0.24
Caempferol-3- <i>O</i> -glucoside	-0.04	0.89	-0.10	0.71
Quercetin 3- β -D-glucoside	-0.04	0.88	0.26	0.34
Isorhamnetin-3- <i>O</i> -glucoside	-0.43	0.10	-0.18	0.50
Myricetin	0.45	0.08	0.48	0.06
Rutin	-0.44	0.09	-0.27	0.30
Pelargonidin-3- <i>O</i> -glucoside	0.73	0.00*	0.49	<u>0.05</u>
Cyanidin-3- <i>O</i> -glucoside	0.39	0.14	0.40	0.13
Delphinidin-3- <i>O</i> -glucoside	0.65	0.01*	0.36	0.16
Malvidin-3- <i>O</i> -glucoside	-0.42	0.11	-0.16	0.54
Peonidin-3- <i>O</i> -glucoside	0.73	0.00*	0.63	0.01*
Petunidin-3- <i>O</i> -glucoside	0.32	0.23	0.50	0.05*

5.3.4 Avaliação Sensorial

Os resultados da análise sensorial estão detalhados na Tabela 6, onde foram selecionados pelo painel treinado 13 atributos para descrever o perfil sensorial dos vinhos 'Touriga Nacional', foram eles: cor vermelho rubi, intensidade aromática, aroma alcoólico, aroma de frutas vermelhas, aroma acético, persistência gustativa, sabor alécoolico, sabor frutado, acidez, amargor, adocicado, adstringência e corpo. A Tabela mostra que foram observadas diferenças significativas entre as amostras para os seguintes atributos: intensidade aromática (safra I), aroma de frutas vermelhas (safra II), aroma

acético (safras I e II), persistência gustativa (safra II), acidez (safra II), amargor (safra I), sabor frutado (safra I e II) e adstringência (safra I e II).

Observa-se, conforme apresentado na Tabela 6, que o estágio mais avançado de maturação das uvas na colheita resultou em vinhos 'Touriga Nacional' com uma intensidade maior do atributo cor vermelho rubi. Destacam-se na safra I o tratamento T3M2 (7,2) e na safra II os três tratamentos T3 ($\geq 6,3$). Adicionalmente, o avanço do grau de maturação da uva também proporcionou um aumento da intensidade dos descritores corpo, sabor alcóolico e adocicado. Ao mesmo tempo, o avanço do grau de maturação da uva na colheita e o prolongamento da maceração reduziram o amargor dos vinhos, ainda que diferenças significativas só tenham ocorrido para os vinhos da Safra II. Cadot et al. (2012) analisaram vinhos que passaram por um período de maceração de 9 a 15 dias e identificaram um gosto amargo acentuado nos vinhos em decorrência do prolongamento da maceração, no entanto nesse estudo essa tendência não foi visualizada.

Table 6: Médias da equipe sensorial com relação a avaliação dos 13 atributos selecionados para caracterizar o perfil sensorial dos vinhos da cultivar Touriga Nacional do Submédio do Vale do São Francisco elaborados com uvas colhidas em diferentes estádios de maturação em duas safras do mesmo ano (fevereiro – Safra I e julho – Safra II) e utilizando diferentes tempos de duração de maceração durante a vinificação.

Código das Amostras	Cor vermelha rubi	Intensidade aromática	Aroma alcóólico	Aroma de frutas vermelhas	Aroma acético	Persistência gustativa	Acidez	Amargor	Adocicado	Sabor alcóólico	Sabor Frutado	Corpo	Adstringência
SAFRA I^{1,2}													
T1M1	5,8 d	4,9 a	3,4 ab	3,7 a	0,4 a	4,1 abc	2,6 ab	1,6 a	1,0 b	2,4 bc	2,2 a	2,9 b	3,1 a
T1M2	5,8 d	4,9 a	3,2 ab	3,1 abc	0,5 a	3,5 c	2,3 ab	1,6 a	1,1 b	2,3 c	2,3 a	2,7 b	3,0 a
T2M1	6,6 bc	5,1 a	3,3 ab	3,0 abc	0,4 a	4,1 abc	2,5 ab	1,3 a	1,6 ab	2,9 ab	2,6 a	3,1 ab	3,5 a
T2M2	6,5 c	5,0 a	3,2 ab	2,8 bc	0,5 a	4,0 bc	2,1 ab	1,4 a	1,5 ab	2,7 abc	2,4 a	3,1 ab	2,9 a
T2M3	6,4 c	4,9 a	3,0 b	2,7 bc	0,5 a	3,9 bc	2,2 ab	1,6 a	1,5 ab	2,7 abc	2,5 a	3,0 b	3,3 a
T3M1	7,1 ab	5,0 a	3,7 a	3,3 ab	0,7 a	4,2 ab	2,3 ab	1,5 a	2,0 a	3,0 a	2,8 a	3,2 ab	3,4 a
T3M2	7,2 a	4,8 a	3,5 ab	2,9 bc	0,3 a	4,6 a	2,7 a	1,4 a	1,8 a	3,1 a	2,8 a	3,6 a	3,8 a
T3M3	6,6 bc	4,9 a	3,3 ab	2,5 c	0,8 a	3,8 bc	2,0 b	1,5 a	1,5 ab	2,7 abc	2,3 a	3,2 ab	3,7 a
SAFRA II^{1,3}													
T1M1	4,5 b	5,0 a	3,2 ab	3,4 a	0,6 a	3,36 a	2,5 a	2,1 a	1,0 c	2,0 b	1,8 a	1,9 b	2,6 a
T1M2	6,0 ab	4,6 ab	2,7 b	3,1 a	0,5 a	3,23 a	2,2 a	1,6 ab	1,1 bc	2,2 ab	1,8 a	2,1 ab	2,5 a
T2M1	5,6 ab	4,4 b	3,5 a	2,9 a	0,7 a	3,34 a	2,4 a	1,8 ab	1,2 bc	2,5 ab	2,0 a	2,6 a	2,8 a
T2M2	5,6 ab	4,4 b	3,1 ab	3,0 a	0,6 a	3,14 a	2,2 a	1,4 b	1,3 abc	2,4 ab	1,8 a	2,3 ab	2,6 a
T2M3	5,5 ab	4,1 b	3,2 ab	2,8 a	0,6 a	3,45 a	2,4 a	1,7 ab	1,4 abc	2,1 ab	2,0 a	2,5 a	3,1 a
T3M1	6,5 a	4,3 b	3,4 ab	3,0 a	0,7 a	3,66 a	2,3 a	1,7 ab	1,9 a	2,4 ab	2,1 a	2,6 a	3,2 a
T3M2	6,3 a	4,4 b	3,4 a	3,0 a	0,6 a	3,66 a	2,4 a	1,7 ab	1,7 ab	2,5 a	2,2 a	2,5 a	3,1 a
T3M3	6,4 a	4,2 b	3,4 ab	2,8 a	0,9 a	3,72 a	2,4 a	1,9 ab	1,7 ab	2,5 a	2,1 a	2,7 a	3,3 a

¹Tratamentos com médias com letras em comum numa mesma coluna não diferem significativamente ($p \leq 0,05$) entre si para a Safra analisada (Safra I ou Safra II) segundo o teste de médias de Tukey ($p \leq 0,05$). ²Safra I: T1, T2 e T3 representam os vinhos elaborados com as uvas colhidas aos 106, 113 e 119 dias após a poda para a colheita (DAP), respectivamente; M1, M2 e M3 representam os vinhos elaborados com 7, 14 e 21 dias de duração da maceração durante a vinificação, respectivamente. ³Safra II: T1, T2 e T3 representam os vinhos elaborados com as uvas colhidas aos 112, 119 e 125 dias após a poda para a colheita (DAP), respectivamente; M, M2 e M3 representam os vinhos elaborados com 7, 14 e 21 dias de duração da maceração durante a vinificação, respectivamente.

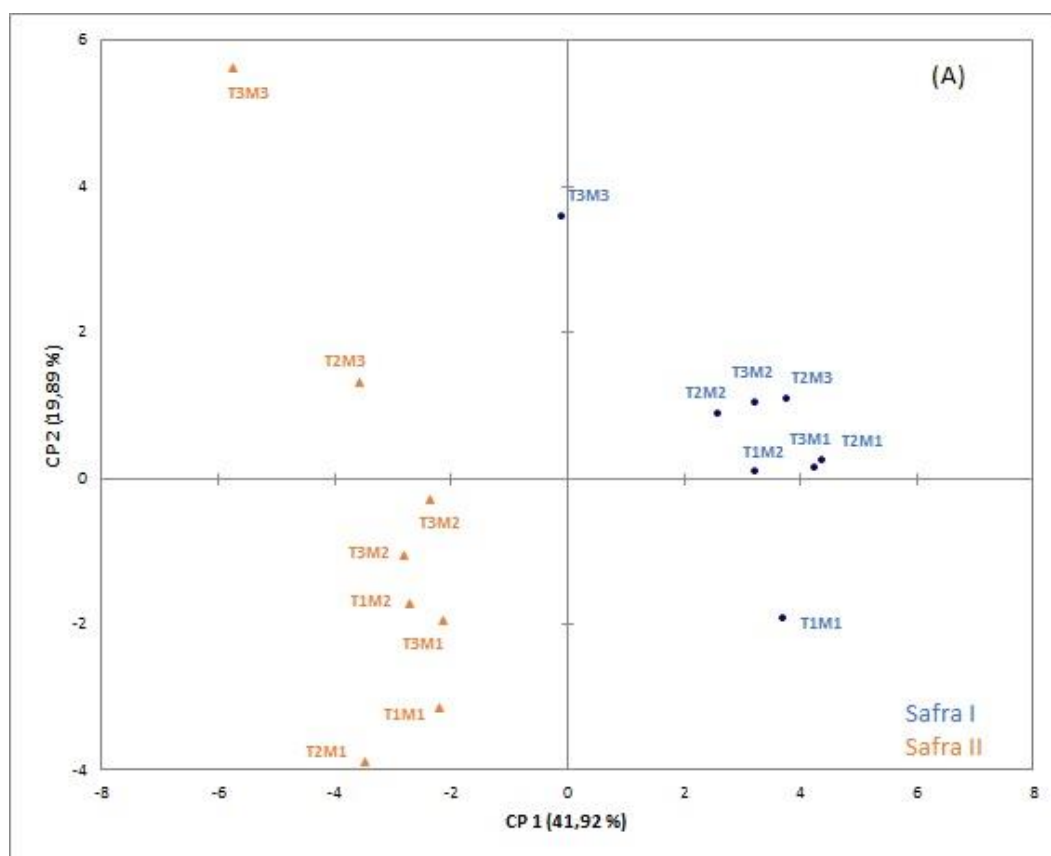
5.3.5 Análise de Componentes Principais

A Figura 1 apresenta a Análise de Componentes Principais (PCA) obtida para evidenciar a influência da safra do ano, estágio de maturação da uva e tempo de duração da maceração sobre os perfis de compostos fenólicos e sensorial dos vinhos tropicais ‘Touriga Nacional’. Nota-se pela Figura 1A que a safra do ano de colheita foi a que exerceu a maior influência e, dessa forma, a primeira componente principal (CP 1, que explicou 41,92% da variabilidade das amostras), separou os vinhos em dois grupos, estando os vinhos da Safra II (“safra de inverno”) todos do lado negativo da componente e os vinhos da Safra I (“safra de verão”) do lado positivo da mesma. Adicionalmente, a segunda componente principal (CP 2, que explicou 19,89% da variabilidade das amostras), separou as amostras pelo tempo de duração da maceração e estágio de maturação da uva. Assim, na safra II, os tratamentos T3M3 e T3M2 apresentaram perfis mais similares entre si, localizando-se no lado positivo da componente, enquanto as demais amostras localizaram-se no lado negativo da mesma e próximas. Já na safra I, T3M3 e T1M1 apresentaram perfis opostos e diferentes das demais amostras da safra, que ficaram agrupadas na posição central da componente, enquanto T3M3 ficou na posição positiva e T1M1 na negativa.

De acordo com a Figura 1B, que pode ser visualizada sobreposta a Figura 1A, os vinhos da safra II destacaram-se no conteúdo da maioria dos compostos fenólicos quantificados, enquanto os vinhos da safra I na intensidade de grande parte dos descritores sensoriais, exceto aroma acético e amargor. Uma vez que os descritores sensoriais são representados por vetores que apontam para as amostras que apresentam maiores intensidades deles, o vinho T1M1 da safra I foi o que apresentou maior acidez e aroma de frutas vermelhas, enquanto os vinhos T1M2, T2M1, T2M2, T2M3, T3M1 e T3M2 da mesma safra, obtiveram intensidades mais elevadas de adstringência, cor vermelho rubi, corpo, sabor alcóolico, persistência gustativa, sabor frutado e intensidade aromática. Por sua vez, os vinhos T1M1, T1M2, T2M1, T2M2, T3M1 e T3M2 da safra II se destacaram em amargor. Enquanto o tratamento T3M3 de ambas foi o que demonstrou proporcionar ao vinho a maior intensidade de aroma acético, independentemente da safra.

Adicionalmente, os vinhos que se destacaram nas intensidades de persistência gustativa, adstringência, cor vermelho rubi e corpo apresentaram as maiores concentrações de (-)-galato epicatequina, (-)-galato epigallocatequina, rutina, piacetanol e malvidina-3-O-glucosídeo, indicando uma possível correlação significativa entre esses

compostos fenólicos e os atributos sensoriais citados, que de fato, segundo a literatura, tem sua percepção no vinho influenciada por esses compostos bioativos (Biasoto et al., 2010). Adicionalmente, a presença de acidez no vinho apresentou possível relação positiva com o conteúdo de ácido *trans*-caftárico, e o amargor com o conteúdo de ácido ferúlico, cis-resveratrol, miricetina, pelargonidina-3-*O*-glucosídeo, peonidina-3-*O*-glucosídeo e petunidina-3-*O*-glucosídeo. Via de regra esses resultados podem ser confirmados nas Tabela 3 e 6.



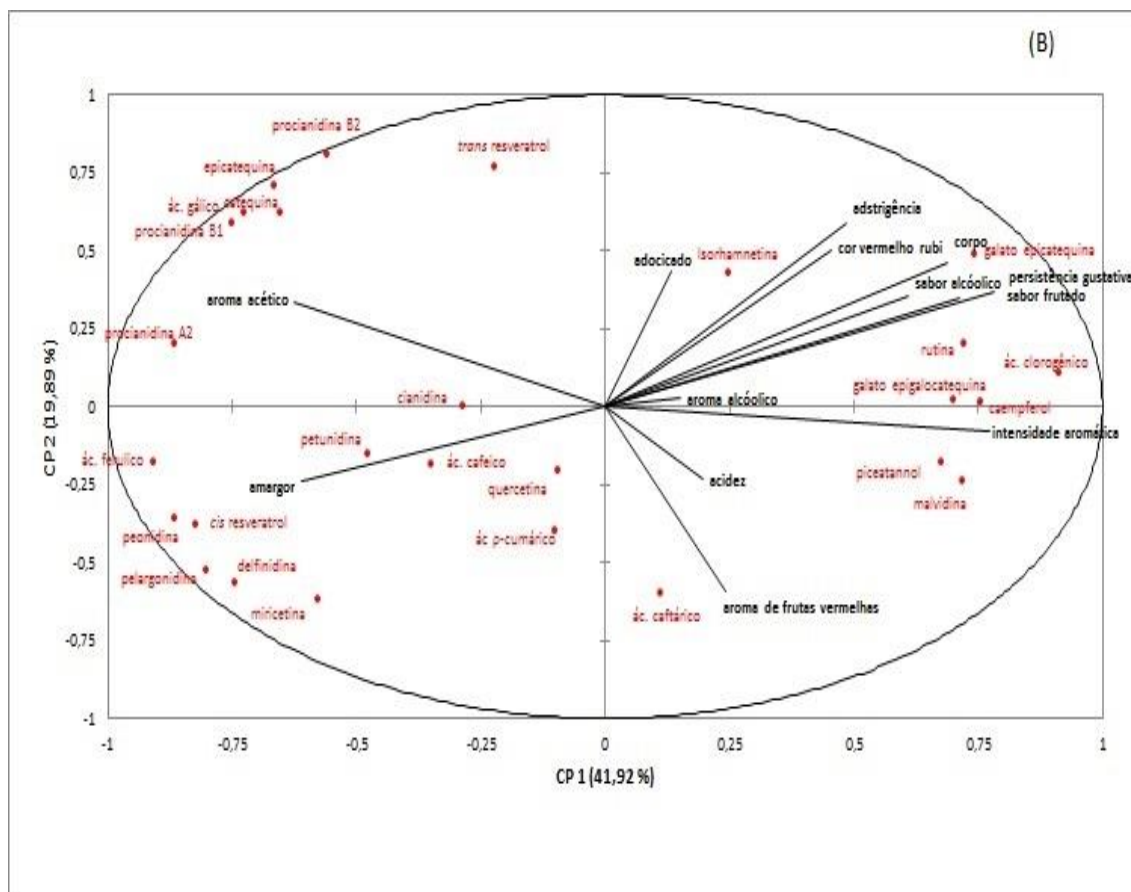


Figura 1. Análise de Componentes principais (ACP) obtida com os resultados da análise sensorial descritiva e de quantificação dos compostos fenólicos, gerada a partir de uma matriz de correlação onde os compostos fenólicos são as variáveis principais e os descritores sensoriais as variáveis suplementares.

Figura 1A: gráfico representando a distribuição das amostras de vinhos Touriga Nacional elaborados no Submédio do Vale do São Francisco e com uvas colhidas em duas safras do mesmo ano, Safra I (azul) e Safra II (laranja). Safra I: T1, T2 e T3 representam os vinhos elaborados com as uvas colhidas aos 106, 113 e 119 dias após a poda para a colheita (DAP), respectivamente; M, M2 e M3 representam os vinhos elaborados com 7, 14 e 21 dias de duração da maceração durante a vinificação, respectivamente. Safra II: T1, T2 e T3 representam os vinhos elaborados com as uvas colhidas aos 112, 119 e 125 dias após a poda para a colheita (DAP), respectivamente; M, M2 e M3 representam os vinhos elaborados com 7, 14 e 21 dias de duração da maceração durante a vinificação, respectivamente.

Figura 1B: gráfico representando a distribuição das variáveis analisadas nos vinhos (loadings).

5.4 CONCLUSÃO

Os resultados apontam que os três fatores avaliados no estudo tiveram um impacto significativo na qualidade do vinho tinto tropical elaborado com a variedade Touriga Nacional no Submédio do Vale do São Francisco, foram eles: época de colheita (“safra de verão” e “safra de inverno”), estágio de maturação da uva (antes, durante e após a maturação tecnológica ideal), e tempo de maceração durante a vinificação tradicional (07,14 e 21 dias). O avanço do estágio de maturação da uva ‘Touriga Nacional’ promoveu aumento na concentração do conteúdo total de compostos fenólicos totais e da maioria desses metabólitos que foi quantificada por HPLC-DAD-FD nos vinhos, independentemente da época de colheita e do tempo de duração da maceração aplicado na vinificação, com exceção dos ácidos *trans*-caftárico e clorogênico. O avanço do estágio de maturação da uva na colheita também influenciou na coloração do vinho, aumentando a intensidade de cor e reduzindo a luminosidade (L^*), aumentou o teor alcoólico, o conteúdo de açúcar residual e o extrato seco. Adicionalmente, os resultados da análise sensorial mostraram que, de maneira geral, vinhos elaborados com uvas colhidas em estágio de maturação mais avançada destacaram-se na intensidade dos atributos cor vermelha rubi, adocicado, sabor alcoólico e corpo.

De forma geral, o prolongamento da maceração favoreceu a capacidade antioxidante dos vinhos pelos dois ensaios *in vitro* testados, possivelmente porque aumentou o conteúdo de ácido gálico, (+) -catequina, (-)-epicatequina, e das Procianidinas A2, B1 e B2, compostos que segundo a literatura apresentam elevada atividade antioxidante e bioacessibilidade. Com exceção da (+) -catequina e Procianidina A2, esses compostos apresentaram correlação positiva e significativa com a capacidade antioxidante do vinho pelo ensaio DPPH. Além disso, o prolongamento da maceração proporcionou maior teor de acidez total ao vinho e redução da sensação de amargor. Assim, para obter uma maior AOX no vinho ‘Touriga Nacional’, em condições de clima tropical recomenda-se o uso de 14 dias de maceração e a colheita de uvas em estágio de sobrematuração.

A “safra de inverno”, cuja poda foi praticada no mês de março e a colheita em julho, proporcionou ao vinho os maiores conteúdos totais de compostos das classes dos ácidos fenólicos, antocianinas monoméricas, estilbenos e flavanols, além de valores mais elevados de capacidade antioxidante, sendo, portanto, mais apropriada para produzir vinhos tintos com maiores conteúdos de compostos bioativos. Adicionalmente, os vinhos

da safra II também se destacaram em teor alcóolico, extrato seco, intensidade de cor e índice de polifenóis totais.

Este estudo é grande importância para a produção de vinhos tintos tropicais de alta qualidade a partir da cultivar ‘Touriga Nacional’. Os valores de compostos fenólicos totais, capacidade antioxidante e o índice de polifenóis foram de maneira geral bastante elevados e respaldam o grande potencial da variedade ‘Touriga Nacional’ independente da época do ano de colheita.

REFERÊNCIAS

1. ALLEGRO, G; BAUTISTA-ORTÍN, A. B; GÓMEZ-PLAZA, E; PASTORE, C; VALENTINI, G; & FILIPPETTI, I (2018). Impact of flavonoid and cell wall material changes on phenolic maturity in cv. Merlot (vitis vinifera l.). *American Journal of Enology and Viticulture*. 69(4), 417-421.
2. ALLEGRO, G; PASTORE, C; VALENTINI, G; MUZZI, E; & FILIPPETTI, I (2016). Influence of berry ripeness on accumulation, composition and extractability of skin and seed flavonoids in cv. Sangiovese (Vitis vinifera L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 96(13), 4553-4559.
3. ALENCAR, N.M.M; CAZARIN, C.B.B; CORRÊA, L.C; JUNIOR, A.R.M; BIASOTO, A.C.T; BEHRENS JH (2017). Influence of maceration time on phenolic compounds and antioxidant activity of the Syrah must and wine. *Journal of Food Biochemistry*. 1-11.
4. ARIAS, I; LACAU, B; ASTRAIN, J; BARON, C; FENANDEZ-ZURBANO, P; FERREIRA, V; ESCUDERO, A (2019). Effects of vineyard ‘potential’ and grape maturation on the aroma-volatile profile of Grenache wines. *International Viticulture and Enology Society*. 4, 695-707.
5. ALVARES, C.A.; STAPE, J.L.; SENTELHAS, P.C.; GONÇALVES, J.L.M.; SPAROVEK, G. (2014). Koppen’s climate classification map for Brazil. *Meteorologische Zeitschrift* 22: 711–728.
6. BARBARÁ, J.A.; SILVA, E.A.S.; BIASOTO, A.C.T.; GOMES, A.A.; CÔRREA, L.C.; LEÃO, P.C.S.; ZINI, C.A (2019). Maturation and Maceration Effects on Tropical Red Wines Assessed by Chromatography and Analysis of Variance - Principal Component Analysis. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 00, 1-21.
7. BIASOTO, A. C. T.; CATHARINO, R. R. ; SANVIDO, G. B. ; EBERLIN, M. N. ; DA SILVA, M. A. A. P. Flavour characterization of red wines by descriptive analysis and ESI mass spectrometry. *Food Quality and Preference*, v. 21, p. 755-762, 2010.
8. BIASOTO, A.C.T; NETTO, F.M; MARQUES, E.J.N; & DA SILVA, M.A.A.P (2014). Acceptability and preference drivers of red wines produced from Vitis labrusca and hybrid grapes. *Food Research International*, 62, 456–466.
9. BORGHEZAN, M (2017). Formation and ripening of grape and effects on the wines: *Review Ciência Téc. Vitiv*. 32,126-141.

10. BUDIC-LETO, I; GRACIN, L; LOVRIC, T; VRHOVSEK, U (2008). Effect of maceration time on the polyphenolic composition of red wine “Plavacmali”. *Vitis* 47, 245–250.
11. CASTILHOS, M.B.M 2012. Del Bianchi of the Northwest Paulista: Relationship between the physical-chemical sensorial profiles. Portuguese. *Holos*.
12. CADOT, Y; CAILLE, S; SAMSON, A; BARBEAU, G; & CHEYNIER, V. (2012) Sensory representation of typicality of Cabernet franc wines related to phenolic composition: Impact of ripening stage and maceration time. *Analytica Chimica Acta*. 732, 91–99.
13. CADOT, Y; MIÑANA-CASTELLÓ, M. T; & CHEVALIER, M (2006). Anatomical, histological, and histochemical changes in grape seeds from *Vitis vinifera* L. cv Cabernet franc during fruit development. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54 (24), 9206-9215.
14. COELHO, E; ROCHA, S.M; BARROS, A.S; DELGADILLO, I; COIMBRA, M.A (2007). *Anal. Chim. Acta*, 597, 257.
15. DANI, C; OLIBONI, L.S; VANDERLINDE, R; BONATTO, D; SALVADOR, M., & HENRIQUES, J. A. P (2007). Phenolic content and antioxidant activities of white and purple juices manufactured with organically- or conventionally produced grapes. *Food and Chemical Toxicology*. 45, 2574–2580.
16. DAMÁSIO, M. H.; COSTELL, E (1991). Análisis sensorial descriptivo: generación de descriptores y selección de catadores. *Revista Agroquímica e Tecnología de Alimentos*, v.31, n.2, p.165-178.
17. DUTRA, MARIA DA CONCEIÇÃO PRUDÊNCIO; MARTINS DA SILVA, ANA BEATRIZ; DE SOUZA FERREIRA, EDERLAN; CARVALHO, ANA JULIA DE BRITO ARAUJO; LIMA, MARCOS DOS SANTOS; TELLES BIASOTO, ALINE CAMARÃO (2023). Bioaccessibility of phenolic compounds from Brazilian grape juices using a digestion model with intestinal barrier passage. *Food Bioscience*, v. 52, p. 102501.
18. FEDERICO CASASSA, L; BEAVER, C.W; MIRELES, M.S; & HARBERTSON, J. F (2013). Effect of extended maceration and ethanol concentration on the extraction and evolution of phenolics, colour components and sensory attributes of Merlot wines. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 19,25–39.
19. FERRERO-DEL-TESO, S; ARIAS, I; SCUDERO, A; FERREIRA, V; FERNÁNDEZ-ZURBANO; PURIFICACIÓ; SÁENZ-NAVAJAS; MARÍ. -PILAR (2019). Effect of

- grape maturity on wine sensory and chemical features: The case of Moristel wines, *LWT - Food Science and Technology*.
20. FOURNAND, D; VICENS, A; SIDHOUM, L; SOUQUET, J.M; MOUTOUNET, M; &CHEYNIER, V (2006). Accumulation and extractability of grape skin tannins and anthocyanins at different advanced physiological stages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54; 7331-7338.
 21. GARDE-CERDÁN, T; MARTÍNEZ-GIL, A.N; LORENZO, C; LARA, J.F; PARDO, F M. SALINAS, R (2011). Implications of nitrogen compounds during alcoholic fermentation from some grape varieties at different maturation stages and cultivation systems, *Food Chemistry* 124, 106–116.
 22. GIL, M; KONTOUDAKIS, N; GONZÁLEZ, E; ESTERUELAS, M; FORCESCA, F; CANALS, J.M; ZAMORA, F (2012); *J. Agric. Food Chemistry*, 60, 7988.
 23. GORDILLO, B; BACA-BOCANEGRA, B; RODRIGUEZ-PULÍDO, F.J; GONZÁLEZ-MIRET, M.L; ESTÉVEZ, I.G; QUIJADA-MORÍN, N; HEREDIA. F.J; M. ESCRIBANO-BAILÓN, T (2016). Optimisation of an oak chips-grape mix maceration process. Influence of chip dose and maceration time. *Food Chemistry* 206, 249–259.
 24. HARBERTSON, J., SPAYD, S (2006). Measuring phenolics in the winery, *American Journal Enological and Viticultural*, 57, 280-288.
 25. KOCABEY, N; YILMAZTEKIN, M; HAYALOGLU, A.A (2016). *J. Food Sci. Technol.* 53, 3557.
 26. LANGBECKER¹, M.R; ECKHARDT, D.P; CUNHA, W.M; VAGNERBRASIL COSTA, V.B; GABBARDO, M; SCHUMACHER, R.F; ANDRADE, A.B (2018). Experience of Cold Maceration on ‘Touriga Nacional’ Wine Varieties in the Campanha Gaúcha Region, Brazil, 31-8.
 27. LOCATELLI, M; TRAVAGLIA, F; COÏSSON, J. D; BORDIGA, M; ARLORIO, M (2016). *Eur. Food Res. Technol*, 242, 1057.
 28. KELEBEK, H; CANBAS, A; SELLI, S (2009). Effects of different maceration times and pectolytic enzyme addition on the anthocyanin composition of *Vitis vinifera* cv. Kalecikkarasi wines. *J Food Proc Preserv.* 33, 296–311.
 29. KELEBEK, H; SELLI, S; CANBAS, A (2010). Okuzgozu uzumlerinden kirmizisarapuretimi nde soguk maserasyon uygulamasinin antosiyaninler uzerine etkisi. *Tarim Bilimleri Dergisi.*, 16: 287–294.
 30. KENNEDY, J.A.; HAYASAKA, Y.; VIDAL, S.; WATERS, E. J.; JONES, G.P (2001). *J. Agric. Food Chem.*, 49, 5348–5355.

31. LEE, J.; DURST, R. Wrolstad, R. E. (2005) *J. AOAC Int.*, 88, 5- 1269.
32. LOCATELLI, M; TRAVAGLIA, F; COÏSSON, J.D; BORDIGA, M; ARLORIO, M (2016) *Eur. Food Res. Technol.* 242, 1057.
33. MEILGAARD, M.R.; CIVILLIE, G. V; CARR, B.T (1991). **Sensory evaluation techniques**. 2ed. Boca Raton: CRC Press. 281p.
34. MONAGAS, M; GÓMEZ-CORDOVÉS, C; BARTOLOMÉ, B; LAUREANO, O; SILVA, J. R. (2003). *J. Agric. Food Chem.* 51, 6475–6481.
35. MOSKOWITZ, H.R (1983). Product testing and sensory evaluation of foods: marketing and R and d approaches. **Westport: Food & Nutrition Press**.
36. NIIMI, J; BOSS, P. K; JEFFERY, D; & BASTIAN, S. E. P (2017). Linking sensory properties and chemical composition of *Vitis vinifera* cv. Cabernet Sauvignon grape berries to wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 68, 357-368.
37. NATIVIDADE, M.M.P; CORREA, L.C; SOUZA, S.V.C; PEREIRA, G.E., & LIMA, L.C.O (2003). Simultaneous analysis of 25 phenolic compounds in grape juice for HPLC: Method validation and characterization of Sao Francisco Valley samples. *Microchemical Journal*. 110, 665–674.
38. NOBLE, A.C.; ARNOLD, J.; BUECHSENSTEIN, A.; LEACH, E.J., SCHMIDT, J.O. STEKRN, P.M (1987). Modification of a Standardized System of Wine Aroma Terminology. *American Journal of Enology and viticulture*, Davis, v. 38, n. 1, p. 143-146.
39. OUGH, C.S; AND AMERINE, M.A (1998). Methods for analysis of musts and wine. John Wiley& Sons. Inc., New York.
40. PAGANDA, G; MILLER, N; RICE-EVANS, C.A (1999). The polyphenolic content of fruit and vegetables and their antioxidant activities. What does a serving constitute *Free Radic Res*, 30, 153–162
41. PÉREZ-MAGARIÑO, S; & GONZÁLEZ-SAN JOSÉ, M.L (2006). Polyphenols and colour 709 variability of red wines made from grapes harvested at different ripeness grade. *Food Chemistry*, 96,197-208.
42. PORGALI, E; BUYUKTUNCEL, S. E (2012). Determination of phenolic composition and antioxidant capacity of native red wines by high performance liquid chromatography and spectrophotometric methods. *Food Res Int.* 45,145–154.
43. PLAVSA, T; JURINJAK, N; ANTUNOVIC, D; PERSURIC, D; GANIC, K. K (2012). *Food Technol. Biotechnol.* 50 (2), 152–158.

44. REYNOLDS, A.G; AND HEUVEL J.E.V (2009). Influence of grapevine training systems on vine growth and fruit composition: a review. *American Journal of Enology and Viticulture*. 60, 3, 251–268.
45. RIBÉREAU- GAYON, P.; DUBOURDIE, D.; DONÈCHE, B.; LONVAUD, A (2006). *Handbook of Enology - The Microbiology of Wine and Vinifications*; John Wiley & Sons, Ltda: Chichester; Vol. 1.
46. RIBÉREAU- GAYON, P.; DUBOURDIE, D.; DONÈCHE, B.; LONVAUD, A (2006). *Handbook of Enology - The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments*; John Wiley & Sons, Ltda, Vol. 2.
47. SAUTTER, C. K; DENARDIN, S; ALVES, A.O; MALLMANN, C.A; PENNA, N.G., & HECKTHEUER, L.H (2005). Determinacao de resveratrol em sucos de uva no Brazil. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 25, 437–442.
48. SÁENZ-NAVAJAS, M.P; AVIZCURI, J. M; BALLESTER, J; FERNÁNDEZ-ZURBANO, P; FERREIRA, V; PEYRON, D; & VALENTIN, D (2015). Sensory-active compounds influencing wine experts' and consumers' perception of red wine intrinsic quality. *LWT -Food Science and Technology*. 60, 400-411.
49. SAGDIC, O; OZTURK, I; OZKAN, G; YETIM, H; EKICI, L; YILMAZ, M, T (2011) RP-HPLC-DAD analysis of phenolic compounds in pomace extracts from five grape cultivars: evaluation of their antioxidant, antiradical and antifungal activities in orange and apple juices. *Food Chem* 126, 749–1758
50. SIMS, C.A; BATES, R.P (1994). Effect of skin fermentation time on the phenols, anthocyanins, ellagic acid sediment, and sensory characteristics of a red *Vitis rotundifolia* wine. *Am J Enol Vitic* 45, 56–62.
51. STASKO, A; BREZOVA, V; MAZUR, M; CERTIK, M; KALINAK, M; GESCHEIDT, G. A (2008) comparative study on the antioxidant properties of Slovakian and Austrian wines. *LWT Food Sci Technol*. 41, 2126–2135
52. STONE, H; SIDEL, J; OLIVER, S; WOOLSEY, A; & SINGLETON, R. C. (1974). Sensory Evaluation by Quantitative Descriptive Analysis. In Descriptive Sensory Analysis in Practice 23–34). Trumbull, Connecticut, USA: *Food & Nutrition Press*.
53. TEIXEIRA, A; EIRAS-DIAS, J; CASTELLARIN, S.D; GERÓS H (2013). Berry phenolics of grapevine under challenging environments. *Int. J. Mol. Sci*. 14, 18711-18739.
54. ULRIH, N.P; Opara, R; Skrt, M; Košmerl, T; Mojmir Wondra, Veronika Abram (2020). Part I. Polyphenols composition and antioxidant potential during Blaufränkisch' grape

maceration and red wine maturation, and the effects of trans-resveratrol addition Food and Chemical Toxicology. *Food and Chemical Toxicology*. 111-122.

55. VAN LEEUW, R; KEVERS, C; PINCEMAIL, J; DEFRAIGNE, J. O; DOMMES, J. J. (2014). *Food Compos. Anal*, 36, 40.
56. VRCEK, I.V; BOJIC, M; ZUNTAR, I; MENDAS, G; MEDIC-SARIC, M (2011). Phenol content, antioxidant activity and metal composition of Croatian wines deriving from organically and conventionally grown grapes. *Food Chem* 124:354–361.

**CAPÍTULO IV: ¹H NMR AND UPLC-HRMS-BASED METABOLOMIC
APPROACH FOR EVALUATION OF THE GRAPE MATURITY AND
MACERATION TIME OF TOURIGA NACIONAL WINES AND THEIR
CORRELATION WITH THE CHEMICAL STABILITY**

6 CAPITULO IV 1H NMR and UPLC-HRMS-based metabolomic approach for evaluation of the grape maturity and maceration time of Touriga Nacional wines and their correlation with the chemical stability.

Elenilson G. Alves Filho^a, Lorena Mara A. Silva^b, * , Thamires O. Lima^a, Paulo R.V. Ribeiro^b , Cristine S. Vidal^a, **Erika S.S. Carvalho** ^c , Janice I. Druzian ^{c,1}, Aline T.B. Marques ^{d,*} , Kirley M. Canuto ^{b,*}

^aUniversidade Federal do Ceara, Fortaleza, CE, Brazil

^bEmbrapa Agroindústria Tropical, 60511-110 Fortaleza, CE, Brazil

^cUniversidade Federal da Bahia, Salvador, BA, Brazil d Embrapa Semiarido, 56302-970 Petrolina, PE, Brazil

^dEmbrapa Semiarido, 56302-970 Petrolina, PE, Brazil

*Corresponding authors. E-mail addresses: lorena.mara@embrapa.br (L.M.A. Silva), aline.biasoto@embrapa.br (A.T.B. Marques), kirley.canuto@embrapa.br (K.M. Canuto).

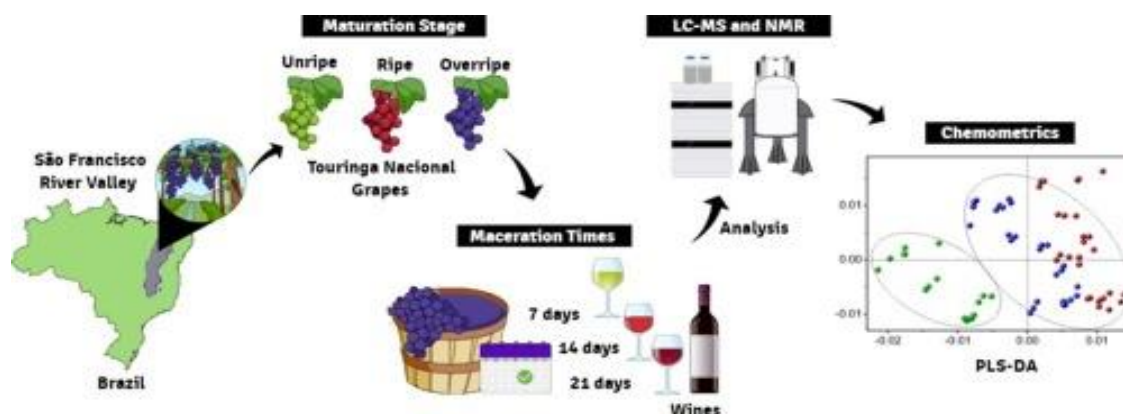
¹in memoriam

Artigo publicado em 2022

Revista: Food Chemistry

Fator de impacto 8.8

Doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132359>



RESUMO

A Touriga Nacional é uma variedade de uva portuguesa bem adaptada no Vale do São Francisco (nordeste do Brasil). No entanto, ela tem sido indicada apenas para consumo a curto prazo devido à falta de estabilidade química, que é atribuída à baixa acidez da uva e à maturidade fenólica incompleta. Portanto, utilizamos cromatografia líquida de ultra performance acoplada a espectrometria de massa de alta resolução, ressonância magnética nuclear e quimiometria (PCA e PLS-DA) para avaliar a maturação da uva e o tempo de maceração na composição química dos vinhos de duas safras. Além disso, investigamos como esses fatores experimentais poderiam afetar a estabilidade química dos vinhos. A maturação das uvas mostrou ser o principal efeito. Em geral, ácidos fenólicos e ácidos orgânicos de cadeia curta foram encontrados em níveis mais elevados nos vinhos produzidos com uvas verdes de fevereiro e tempo de maceração mais curto ($p < 0,05$). Proantocianidinas e outros flavonoides aumentaram nos vinhos macerados por mais tempo, usando uvas muito maduras colhidas em julho. Além disso, vinhos estáveis foram produzidos a partir de uvas muito maduras, que continham mais ácido galacturônico.

6.1 INTRODUÇÃO

A Touriga Nacional é uma variedade de uva portuguesa que proporciona vinhos tintos, encorpados e aromáticos com um aroma semelhante a flores violetas roxas (ALI et al., 2011). Ela está bem adaptada às condições do Vale do São Francisco (VSF), uma região semiárida tropical produtora de vinho no nordeste do Brasil (de SOUZA NASCIMENTO et al., 2018; dos SANTOS LIMA et al., 2014). Nessas condições edafoclimáticas, a videira não entra em repouso e vegeta continuamente ao longo do ano, produzindo duas safras anuais. Da mesma forma que outros vinhos do SFRV, os vinhos Touriga Nacional são indicados principalmente para consumo rápido (nos dois primeiros anos após o engarrafamento) devido à sua instabilidade durante o envelhecimento. Essa instabilidade pode ser identificada pela modificação da coloração inicial dos vinhos tintos de vermelho rubi para marrom, causando perdas financeiras para as vinícolas e uma imagem negativa para os vinhos do VSF. A falta de estabilidade química tem sido atribuída a diversos fatores, como maturidade fenólica incompleta e baixa acidez total das uvas no momento da colheita (ALVES FILHO et al., 2019; CASTILLO-SANCHEZ et al., 2008).

A maturação corresponde ao estágio de desenvolvimento no qual ocorrem diversas mudanças fisiológicas, bioquímicas e estruturais na baga da uva. Essas mudanças resultam da síntese, degradação ou translocação de compostos como açúcares, antocianinas, taninos, ácidos orgânicos, entre outros, sendo influenciadas principalmente pela idade fisiológica dos tecidos, fatores ambientais e manejo vitícola (JACKSON, 2008). Para uvas destinadas à produção de vinho, a colheita é esperada apenas após atingir a maturação tecnológica (MT), que é determinada pela relação entre o teor de açúcar e a acidez titulável, a maturação aromática e a maturidade fenólica. No entanto, devido à alta temperatura e incidência de radiação solar na videira do VSF, a uva atinge mais cedo o teor ideal de sólidos solúveis para o teor de álcool desejado, enquanto os ácidos orgânicos presentes na baga diminuem mais rapidamente, acelerando a maturação tecnológica. A uva pode ser colhida antes da maturação fenólica. Como consequência, além da baixa acidez, o vinho terá menor intensidade de cor, uma vez que as antocianinas que se acumulam durante a maturação da uva estarão em menor concentração, afetando sua estabilidade (Cadot et al., 2012).

Uma das formas de minimizar os inconvenientes mencionados tem sido através da maceração. A maceração é uma etapa de grande importância na qualidade dos vinhos

tintos, pois pode influenciar na intensidade da cor e na estabilidade da cor, além de outros atributos sensoriais, como sabor e estrutura (GOMEZ-MÍGUEZ E HEREDIA, 2004; GORDILLO et al., 2016; SACCHI et al., 2005). Na vinificação tradicional, as antocianinas e outros compostos fenólicos são extraídos das uvas e solubilizados no mosto do vinho nesta etapa, que ocorre simultaneamente com o processo de fermentação alcoólica (BUSSE-VALVERDE et al., 2012; PETROPULOS et al., 2014). Compostos fenólicos são uma das principais substâncias químicas responsáveis pelas características sensoriais dos vinhos tintos, como cor, adstringência e amargura (GARRIDO e BORGES, 2013; JACKSON, 2008). Em geral, o prolongamento do tempo de maceração melhora a estabilidade dos vinhos obtidos a partir de uvas que não estão suficientemente maduras, uma vez que antocianinas e taninos podem condensar, formando complexos que melhoram a cor, além de serem mais estáveis do que antocianinas livres (CADOT et al., 2012).

Neste contexto, utilizamos uma abordagem metabolômica não direcionada por Cromatografia Líquida de Ultra Performance acoplada à Espectrometria de Massa (UPLC-HRMS) e espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (NMR) para avaliar a influência do estágio de maturação e do tempo de maceração na composição química do vinho Touriga Nacional produzido no VSF em dois momentos de colheita. Além disso, investigamos como esses fatores podem afetar a estabilidade química dos vinhos. Nosso trabalho é o primeiro estudo metabolômico e avaliação do tempo de maceração para esta variedade de vinho.

6.2 MATERIAL E MÉTODOS

6.2.1 Padrões analíticos e reagentes

Água ultrapura foi obtida a partir do sistema de purificação de água Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, EUA). Ácido fórmico, acetonitrila e solventes de metanol eram grau LC-MS (Merck, Darmstadt, Alemanha). Astilbina (98%), ácido gálico (98%), ácido cafeico (98%), ácido cítrico (99%), ácido ferúlico (99%), ácido galacturônico (97%), quempferol (97%), miricetina (96%), quercetina (95%), quercetina 3-O-glucosídeo (90%) foram adquiridos da Sigma Aldrich (St. Louis, EUA), enquanto o dímero de procianidina B (epicatequina-4 β $\rightarrow$ 8-epicatequina, 90%) foi da Extrasynthese (Genay, França). Metabissulfito de potássio foi da Synth (São Paulo, SP, Brasil). A enzima pectinolítica utilizada foi Pectozim Rouge (Garibaldi, RS, Brasil). Água deuterada (99,9%) e sódio-3-trimetilsililpropionato (TMSP-d4, 98%) foram adquiridos da Cambridge Isotope Laboratories (Tewksbury, MA, EUA). NaH₂PO₄ PA foi da Vetec (Duque de Caxias, RJ, Brasil). Filtros de seringa de PTFE (0,22 μ m) foram comprados da Simplepure (Plano, TX, EUA).

6.2.2 Experimento agrônômico e vinificação

As uvas Touriga Nacional foram colhidas na área experimental da Embrapa Semiárido instalada em um vinhedo comercial (9° 2' S, 40° 11' O, 365,5 m, Lagoa Grande, Pernambuco, Brasil) em duas estações diferentes: fevereiro de 2017 e julho de 2017. Este plantio era composto por 360 plantas. As videiras foram enxertadas no porta-enxerto 'Paulsen 1103' e conduzidas em sistema de treliça com espaçamento de 1,5 m entre as plantas e irrigadas por gotejamento. Para a produção de vinho, as uvas foram colhidas em três estágios diferentes: antes, durante e após a maturidade tecnológica (MT), correspondendo a bagas não maduras, maduras e muito maduras, respectivamente. As três colheitas ocorreram em semanas consecutivas em fevereiro de 2017 e julho de 2017, em intervalos de seis ou sete dias, o que correspondeu a 106 e 112 dias após a poda (DAP) para uvas no estágio não maduro de maturação (21,6 e 22,5 °Brix), 113 e 119 DAP para uvas no estágio maduro (23,4 e 23,8 °Brix), e 119 e 125 DAP para uvas no estágio muito maduro (24,5 e 24,6 °Brix), respectivamente.

A vinificação foi realizada em três diferentes tempos de maceração durante a fermentação alcoólica (FA): 7, 14 e 21 dias de maceração. Os três tempos de maceração foram escolhidos a partir de trabalhos anteriores sobre vinhos tintos tropicais, que resultaram em mudanças significativas na coloração, perfil de compostos voláteis e

fenólicos, e atividade antioxidante do produto (ALENCAR et al., 2018; BARBARÁ et al., 2020). Esse processo foi realizado no Laboratório de Enologia da Embrapa Semiárido (Petrolina, Pernambuco, Brasil), em triplicata, de acordo com um método tradicional (BLOUIN & PEYNAUD, 2012). Em cada safra, foram fornecidas oito combinações de tratamentos experimentais, correspondendo aos diferentes estágios de maturação das uvas e durações da maceração, conforme descrito no Material Suplementar (Tabela 1 SI). Não foram produzidos vinhos a partir de uvas não maduras e com 21 dias de maceração, uma vez que sua alta adstringência os tornaria sensorialmente inaceitáveis para consumo.

As uvas Touriga Nacional (270 kg/estágio de maturação) foram armazenadas em uma câmara fria a 10 ± 2 °C por 24 horas e depois foram desengaçadas e prensadas em uma prensa pneumática para obter o mosto do vinho. Os mostos foram transferidos para garrafas de vidro (20 L) fechadas com válvulas de vidro cilíndricas de airlock. Em seguida, foram adicionados metabisulfito de potássio a 0,10 g/L e a enzima pectinolítica Pectozim Rouge a 0,08 g/L ao mosto como conservantes. A FA foi realizada sob temperatura controlada (24 ± 2 °C) e iniciou-se após a adição da levedura comercial *Saccharomyces cerevisiae* var. *bayanus* (0,20 g/L) (Maurivin PDM™) e do ativador de fermentação Gesferm Plus™ (0,20 g/L). A FA foi considerada concluída quando a densidade se manteve constante (superior a 0,98) e a concentração de açúcares residuais dos vinhos foi confirmada como inferior a 2 g/L (durando até 21 dias). A fermentação maloláctica ocorreu naturalmente a uma temperatura controlada (18 °C $\pm$ 1). O fim da fermentação foi confirmado pela ausência de ácido málico por meio de cromatografia em papel (RIBEREAU-GAYON et al., 2021). Os vinhos foram estabilizados por estabilização a frio (por 10 dias a 0 °C) e usando 0,4 g/L de Stabigum AEB Group™ (mistura de goma arábica e ácido metatartárico). Antes do engarrafamento, o teor de dióxido de enxofre livre foi corrigido com metabisulfito de potássio para 50 mg/L. O volume total de vinho foi de 160 L/safra, gerando cerca de 107 garrafas de vinho. As análises foram conduzidas após 30 dias do engarrafamento. Detalhes sobre o desenho experimental estão descritos na Tabela 1SI.

Tabela 1SI. Design Experimental para o Estudo dos Vinhos Touriga Nacional produzidos no Vale do Rio São Francisco em diferentes épocas de colheita, estágios de maturação com base no número de dias após a poda (DAP), e tempo de maceração.

Wine Code	Harvest date	Maturity Stage	Days after pruning (DAP)	Time of maceration (days)	Solube solids (°Brix)	Total acidity (%)	pH	Biological Replicates	Technical Replicates	Injections
T_1M_1	February 2017	unripe	106	07	21.6	0.78	3.38	3	3	9
T_1M_2			106	14	21.6	0.78	3.38	3	3	9
T_2M_1			113	07	23.4	0.76	3.72	3	3	9
T_2M_2		ripe	113	14	23.4	0.76	3.72	3	3	9
T_2M_3			113	21	23.4	0.76	3.72	3	3	9
T_3M_1			119	07	24.5	0.67	3.81	3	3	9
T_3M_2		overripe	119	14	24.5	0.67	3.81	3	3	9
T_3M_3			119	21	24.5	0.67	3.81	3	3	9
T_4M_1	July 2017	unripe	112	07	22.5	0.82	3.10	3	3	9
T_4M_2			112	14	22.5	0.82	3.10	3	3	9
T_5M_1			119	07	23.8	0.79	3.78	3	3	9
T_5M_2		ripe	119	14	23.8	0.79	3.78	3	3	9
T_5M_3			119	21	23.8	0.79	3.78	3	3	9
T_6M_1			125	07	24.6	0.67	3.98	3	3	9
T_6M_2		overripe	125	14	24.6	0.67	3.98	3	3	9
T_6M_3			125	21	24.6	0.67	3.98	3	3	9

6.2.3 Análise UPLC-HRMS

As análises UPLC-HRMS foram realizadas de acordo com o método previamente descrito por Alves Filho e colaboradores (ALVES FILHO et al., 2019). As separações cromatográficas foram realizadas em um sistema Acquity/Xevo UPLC-ESI-qTOF (Waters Co., Milford, MA, EUA), equipado com uma coluna Acquity UPLC BEH C18 (Waters, 150,0 × 2,1 mm × 1,7 µm) a 40 °C. A fase móvel composta por água e acetonitrila, ambos contendo 0,1% de ácido fórmico, variou de 2 a 95% de acetonitrila em 15 minutos, a um fluxo de 0,4 mL/min. Os espectros de MS foram adquiridos no modo de ionização negativa tandem MSE entre 100 Da e 1180 Da. As amostras (1 mL de vinho) foram filtradas e injetadas em alíquotas de 5,0 µL. Três replicatas biológicas de cada tratamento foram executadas em triplicata. Os compostos foram caracterizados tentativamente por meio da fórmula molecular fornecida pelo software MassLynx 4.1 a partir de suas massas precisas (erro < 5 ppm), padrões isotópicos (i-fit) e padrões de fragmentação de MS, bem como pesquisa na literatura sobre ocorrência anterior em uvas e vinhos usando a base de dados Scifinder Scholar. Além disso, os compostos foram identificados por comparação com padrões de referência quando disponíveis. O desvio instrumental foi monitorado pela injeção de uma solução de padrão de quercetina (1 µg/mL) a cada dez injeções, verificando seu tempo de retenção e área de pico, que se mantiveram consistentes durante toda a análise (RSD = 1,6% e 7,7% para 14 injeções, respectivamente).

As amostras foram injetadas três vezes. Para todos os picos cromatográficos, as tolerâncias de desvio do tempo de retenção de $\pm 0,05$ min e da massa exata de $\pm 0,05$ Da foram definidas como os limites aceitáveis. Isso significa que as medidas de tempo de retenção dos picos cromatográficos e as massas exatas dos compostos analisados não deveriam variar mais do que $\pm 0,05$ min e $\pm 0,05$ Da, respectivamente, entre as injeções das amostras. Esses limites foram estabelecidos para garantir a precisão e a consistência dos resultados analíticos.

6.2.4 Análise de NMR

As análises de NMR foram realizadas de acordo com o método previamente descrito por Alves Filho e colaboradores em 2019 (ALVES FILHO et al., 2019). Resumidamente, os experimentos de NMR foram realizados em um espectrômetro

Agilent de 600 MHz (Palo Alto, CA, EUA) equipado com uma sonda de detecção inversa One Probe™ de 5 mm, utilizando a sequência de pulso PRESAT para supressão de água (δ 4,75). As amostras foram preparadas solubilizando pellets obtidos a partir de 1 mL de vinhos secos a vácuo em 600 μ L de D₂O (99,9%), contendo 1,2 mg/mL de TMSP-d₄ e 0,1 M do tampão NaH₂PO₄. Em seguida, o pH foi ajustado manualmente para $3,0 \pm 0,1$ em um medidor de pH Mettler Toledo FE-20 equipado com um microeletrodo, usando HCl 0,6 M ou KOH 0,6 M (dependendo do pH). As amostras de vinho foram centrifugadas durante 5 minutos a 4032 g (6000 rpm em um rotor de 100 mm, Modelo 80-2B Centrifuge, Edulab, Curitiba, PR, Brasil), e aproximadamente 0,6 mL do sobrenadante foi transferido para tubos de NMR de 5 mm. A temperatura foi ajustada para 298 K e TMSP-d₄ foi usado como padrão interno (δ 0,0). Três replicatas biológicas de cada tratamento foram analisadas em triplicata por ¹H NMR.

A identificação dos constituintes foi realizada por meio de 2D NMR (g-COSY, g-HSQC e g-HMBC). As estruturas moleculares, deslocamentos químicos de ¹H e ¹³C, multiplicidade e acoplamento constante estão disponíveis nos Dados Suplementares. Os dados de NMR foram comparados com um banco de dados de acesso aberto (www.hmdb.ca) e literatura (ALI et al., 2011; ALVES FILHO et al., 2019; GODELMANN et al., 2013; LAGHI et al., 2014; LARSEN et al., 2006; NILSSON et al., 2004; OGRINC et al., 2003; PEREIRA et al., 2005; SON et al., 2009).

6.3 Análise quimiométrica para dados de UPLC-HRMS e NMR

6.3.1 influência da safra de colheita, estágio de maturação e tempo de maceração

Para os dados de UPLC-HRMS, os cromatogramas no formato Base Peak Intensity Processing (BPI), abrangendo a região entre 0,65 e 7,12 minutos, foram obtidos e convertidos para o formato American Standard Code for Information Interchange (ASCII) para a construção de matrizes numéricas. A matriz correspondente, com uma dimensionalidade de 92.304 pontos de dados (144 cromatogramas $\times$ 641 variáveis cada), foi importada pelo programa PLS Toolbox™ (versão 8.6.2 Eigenvector Research Inc., EUA) para lidar com os dados multivariados. Um método não supervisionado, Análise de Componentes Principais (PCA), e um método supervisionado, Análise de Discriminante de Mínimos Quadrados Parciais (PLS-DA), foram aplicados para a decomposição da matriz numérica usando os algoritmos de Decomposição de Valor Singular (SVD, do inglês Singular Value Decomposition) e SIMPLS (Simplified PLS), respectivamente. Antes das análises quimiométricas, foram aplicados tratamentos de pré-

processamento nos dados, incluindo correção de linha de base (algoritmo de ajuste linear), suavização de sinais (filtro polinomial Savitsky-Golay de ordem 1), alinhamento de sinais por Correlation Optimized Warping (COW, folga 5 e comprimento de segmento 50), normalização de sinais considerando a área total e centralização média nas amostras (Alves Filho et al., 2020). Essas etapas de pré-processamento são comuns na análise de dados multivariados para garantir que os dados estejam prontos para análises estatísticas e quimiométricas. Elas ajudam a remover variações indesejadas, como ruído e desalinhamento de sinais, tornando os dados mais adequados para a aplicação de técnicas de análise multivariada, como PCA e PLS-DA.

Para os resultados de ^1H NMR, foi utilizado o mesmo software quimiométrico (PLS Toolbox™) e os mesmos pré-tratamentos (correção de linha de base, alinhamento COW, normalização para área e centralização média) que foram aplicados aos dados de UPLC-HRMS. A região espectral entre δ 0,85 e 9,3 foi selecionada, excluindo a região de supressão do sinal de água não deuterada (δ 4,76 a 4,91), o que resultou em uma matriz composta por 144 espectros e 8.485 variáveis em cada espectro. Inicialmente, o algoritmo PCA foi aplicado para avaliar o tempo de colheita, o estágio de maturação e o tempo de maceração (dados não mostrados). Além disso, com o objetivo de aumentar a variabilidade química entre os vinhos com base na maturidade da uva, a matriz numérica foi decomposta pelo método PLS-DA. Em seguida, foram realizadas comparações em pares entre uvas não maduras (antes da maturação tecnológica) e os outros dois estágios de maturidade (na maturação e após a maturação tecnológica).

Para todos os modelos de classificação relacionados às análises de UPLC-HRMS e ^1H NMR, o número de Variáveis Latentes (LV) foi selecionado de acordo com os seguintes parâmetros estatísticos: RMSEC (Erro Quadrático Médio de Calibração); RMSECV (Erro Quadrático Médio de Validação Cruzada); valores de viés e viés CV; sensibilidade e especificidade alcançadas na validação cruzada (ALVES FILHO et al., 2018). O método Venetian Blinds (grupos de dados divididos em blocos não contíguos) foi usado para a validação cruzada das análises supervisionadas, com número de divisões de dados igual a 10 e 1 amostra por espessura de bloco.

6.3.2 A estabilidade do vinho armazenado e sua correlação com os dados de UPLC-HRMS e NMR

A estabilidade dos vinhos foi avaliada por meio de correlação com parâmetros de cor e acidez medidos imediatamente após a produção (30 dias) e 2,5 anos depois. Os vinhos foram mantidos em garrafas de vidro âmbar e deixados em temperatura ambiente no laboratório para simular as condições de prateleira. As medições de pH foram realizadas em um medidor de pH Hanna Edge (Woonsocket, RI, EUA). As medições de cor foram realizadas em um espectrofotômetro UV-Vis Genesys 10s da Thermo Fisher Scientific (Waltham, MA, EUA). Os valores de intensidade de cor e tonalidade dos vinhos foram determinados pelas absorbâncias a 420 nm (A_{420}), 520 nm (A_{520}) e 620 nm (A_{620}), da seguinte forma: intensidade de cor = $A_{420} + A_{520} + A_{620}$; tonalidade de cor = A_{420} / A_{520} . A variabilidade dos parâmetros em relação à estabilidade dos vinhos após o armazenamento foi estatisticamente certificada por meio de análise de variância (ANOVA) de um fator com nível de confiança de 95%, usando o software Origin™ 9.4, por meio de comparações usando o teste de Tukey e verificando a homogeneidade de variância entre os grupos de amostras pelo teste de Levene. Os vinhos foram classificados como estáveis quando tanto a cor quanto o pH não variaram significativamente durante o armazenamento. Essas análises são importantes para determinar se os vinhos mantêm sua qualidade ao longo do tempo e se são adequados para consumo após um período de armazenamento. A estabilidade da cor e da acidez pode ser indicativa da qualidade do vinho e de sua capacidade de envelhecimento.

Posteriormente, um modelo de classificação binária por PLS-DA foi desenvolvido considerando os conjuntos de dados de ^1H NMR e UPLC-HRMS, com o objetivo de destacar os compostos relevantes que contribuíram para a estabilidade do vinho. Os mesmos parâmetros quimiométricos descritos na seção 2.5.1 foram aplicados para essa classificação de vinhos com base na estabilidade.

6.4 Quantificação dos compostos determinantes

6.4.1. Conjunto de dados UPLC-HRMS

Os compostos com sinais não sobrepostos que apresentaram mudanças significativas de acordo com a análise quimiométrica foram quantificados relativamente medindo suas áreas de pico por meio do software MassLynx™ 4.1 (Tecnologias Waters MS). O processo de integração dos picos parcialmente sobrepostos foi realizado extraindo o íon exato (m/z) contido em cada cromatograma usando um algoritmo de deconvolução.

Os resultados semiquantitativos foram avaliados por meio de análise de variância (ANOVA) de um fator para certificar estatisticamente as diferenças entre as concentrações médias (nível de significância de 0,05, teste de Tukey para comparação de médias e teste de Levene para homogeneidade de variância).

6.4.2. Conjunto de dados 1 H NMR

A análise quimiométrica baseada em compostos discriminantes com sinais não sobrepostos foi quantificada por meio de um método de referência externa, utilizando uma solução padrão de sacarose (5,0 mg/L) para calibrar o espectrômetro. A equação (1) mostra o princípio matemático aplicado para a quantificação de metabólitos usando o método de referência externa. O arquivo de sonda foi atualizado com todos os parâmetros quantitativos necessários para a determinação das concentrações dos compostos nas amostras de vinho. Os resultados quantitativos foram avaliados por meio de análise de variância (ANOVA) de um fator para certificar estatisticamente as diferenças entre as concentrações médias (nível de significância de 0,05, teste de Tukey para comparação de médias e teste de Levene para homogeneidade de variância).

$$P_x = (I_x/I_{std}) \times (N_{std}/N_x) \times (M_x/M_{std}) \times (m_{std}/m) \times P_{std}$$

A fórmula apresentada descreve o cálculo da concentração do composto alvo para quantificação (P_x), usando a concentração conhecida de um composto padrão P_{std} (não necessariamente a mesma molécula quantificada); I_x e I_{std} são as áreas integradas do composto alvo e do padrão; N_{std} e N_x são os números de núcleos correspondentes ao sinal do padrão e do composto alvo; M_x e M_{std} é a massa molecular do composto alvo e do padrão; m e m_{std} são os pesos da amostra e do padrão (HOLZGRABE & MALET-MARTINO, 2011; MALZ & JANCKE, 2005).

6.4.3 Análise Sensorial

O procedimento de análise sensorial foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CAAE 73983717.9.1001.8052), em conformidade com a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde do Brasil. Os perfis sensoriais dos vinhos Touriga Nacional foram avaliados por um painel treinado utilizando uma técnica baseada na Análise Descritiva Quantitativa (QDA®) desenvolvida por Stone et al. (1974). Inicialmente, vinte voluntários foram selecionados entre estudantes e membros da equipe do Instituto de Viticultura e Enologia (Petrolina-PE, Brasil) de acordo com critérios específicos. Os juízes geraram uma lista consensual com 13 descritores sensoriais,

incluindo suas definições e referências para o treinamento do painel. Os descritores foram associados a uma escala não estruturada de 9 cm, ancorada nos extremos esquerdo e direito com os termos "nenhum/fraco" e "forte", respectivamente. Os termos selecionados pelo painel para caracterizar o perfil sensorial dos vinhos Touriga Nacional incluíram descritores de aparência (intensidade de cor rubi profunda), aroma (intensidade aromática, frutas vermelhas, álcool e ácido acético), sabor e sensações na boca (persistência gustativa, acidez, amargor, doçura, frutas vermelhas, álcool, adstringência e corpo). Após o treinamento, foi realizada uma seleção final do painel, onde cada jurado avaliou três das amostras de vinho, em três repetições, usando a cédula descritiva. Dez juízes que mostraram poder discriminativo adequado, reprodutibilidade e consenso com o painel para pelo menos 80% dos descritores foram selecionados para fazer parte do painel final. No geral, cada panelista avaliou cada amostra de vinho em sete repetições, usando um design de blocos incompletos balanceados proposto por Cochran & Cox (1957). As amostras de vinho elaboradas com as uvas colhidas nas duas estações (fevereiro de 2017 e julho de 2017) foram avaliadas separadamente pelo mesmo painel um mês após o engarrafamento. As triplicatas biológicas de cada tratamento foram misturadas. Os dados descritivos sensoriais foram avaliados por meio da Análise de Componentes Principais (PCA), realizada usando matriz de covariância e software XLStat. Esta análise permite resumir e visualizar as relações entre os vinhos com base nas características sensoriais avaliadas pelo painel treinado.

6.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.5.1 Metaboloma baseado em impressões digitais metabólicas usando UPLC-HRMS

Vinte e seis compostos orgânicos foram identificados por UPLC-HRMS, dos quais dezenove eram compostos fenólicos (9 flavonoides, 5 ácidos hidroxicinâmicos, 4 proantocianidinas, 1 ácido fenólico), juntamente com seis ácidos hidroxí e um apocarotenóide (Tabela 2 SI). A Figura 1 SI mostra um cromatograma representativo com os compostos anotados seguindo sua ordem de eluição: ácido galacturônico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido málico, ácido gálico, ácido glutacionilcaftarico, dímero de procianidina B, ácido caftarico, hexosídeo de ácido dihidrofásico, tetrâmero de procianidina B, dímero de procianidina B, trímero de procianidina B, ácido isopropilmálico, ácido cafeico, ácido ferúlico, miricetina-O-glucosídeo, isômero de hexose de tetraidroxidimetoxi-isoflavona, quercetina-O-glucosídeo, quercetina-O-

glucuronídeo, astilbina, isômero de hexose de tetraidroxidimetoxi-isoflavona, isorramnetina-O-hexosídeo, miricetina, quercetina, derivado de ácido cafeico e caempferol.

Os compostos fenólicos desempenham um papel importante nas propriedades sensoriais do vinho, uma vez que são responsáveis pelo aroma, cor, sabor, amargor e adstringência. A composição fenólica não volátil do vinho depende de fatores genéticos e ambientais (clima, solo, exposição à radiação UV), além de práticas vitícolas (por exemplo, época de colheita e estágio de maturação) e do processo de vinificação (por exemplo, maceração, fermentação) (GARRIDO & BORGES, 2013; JACKSON, 2008). Os compostos fenólicos são formados biossinteticamente a partir da via do shikimato, resultando em ácidos fenólicos, estilbenos, fenilpropanoides (C6-C3) entre outros. No entanto, flavonoides e proantocianidinas são gerados por meio de uma rota biogênica híbrida que combina fenilpropanoides e grupos acetato (via policetídeo). Esses últimos são fornecidos por uma unidade de malonil-CoA para produzir o anel aromático A que completa o esqueleto flavonoide (C6-C3-C6) (GARRIDO & BORGES, 2013).

Dentre os nove flavonoides identificados, sete eram flavonóis, dois isoflavonas e um flavanonol. Nenhuma antocianina foi identificada. Em contraste com outros compostos fenólicos, as antocianinas são mais bem detectadas no modo ESI positivo por serem íons positivamente carregados. As antocianinas, principal pigmento dos vinhos tintos, estão localizadas nas cascas das uvas, acumulando-se durante o amadurecimento e atingindo seu nível mais alto na maturidade (CADOT et al., 2012; JACKSON, 2008; JORDAO & CORREIA, 2012). Os flavonóis são encontrados nas cascas das bagas de uva e sua biossíntese depende da luz solar, acumulando-se após a *veraison* (o início do amadurecimento das uvas). Os flavonóis são mascarados pelas antocianinas, mas contribuem para a cor dos vinhos tintos por co-pigmentação (CADOT et al., 2012). Kaempferol, quercetina e miricetina são os principais flavonóis (JACKSON, 2008). De fato, esses compostos juntamente com a isorramnetina foram encontrados em formas livres e/ou glicosiladas em nosso estudo. Os flavonóis estão distribuídos em sementes, cascas e polpa. Além disso, nenhum flavanol foi encontrado em nossas amostras, mas eles podem sofrer reações de condensação ou polimerização, sendo assim convertidos em proantocianidinas, que também são responsáveis pela adstringência. Os níveis mais altos de proantocianidinas geralmente ocorrem no início do amadurecimento (CADOT et al., 2012; JORDAO & CORREIA, 2012). Embora a maioria das proantocianidinas em vinhos

jovens sejam dímeros ou trímeros (JACKSON, 2008), caracterizamos um tetramero de procianidina B neste estudo. Em concordância com o trabalho de Oliveira et al. (2018), o dímero de procianidina B2 foi a principal proantocianidina em uvas Touriga Nacional cultivadas em SFRV (de OLIVEIRA ET AL., 2018). Por fim, isoflavonas e flavanonas, como genisteína e astilbina, foram relatadas em vinhos; no entanto, como sua ocorrência não é tão comum quanto a dos outros flavonoides mencionados anteriormente, suas propriedades sensoriais não foram bem estabelecidas (GARRIDO & BORGES, 2013).

Tabela 2SI. Anotação baseada em UPLC-HRMS para os compostos orgânicos no vinho Touriga Nacional: íons [M-H]⁻ observados e calculados com íons de produto (MS/MS), tempo de retenção (min), fórmula molecular, erro de massa (ppm), padrão isotópico (i-fit), nome do composto e suas respectivas referências bibliográficas.

# Peak	RT (min)	[M-H] ⁻ obs.	[M-H] ⁻ calc.	MS/MS ions	Molecular Formula	Error (ppm)	i-fit	Putatively identified	Ref.
1	1.31	193.0345	193.0348	-	C ₆ H ₁₀ O ₇	-1.6	0.0	Galacturonic acid ^a	2
2	1.34	149.0084	149.0086	-	C ₄ H ₆ O ₆	-1.3	0.1	Tartaric acid ^a	2
3	1.45	191.0188	191.0192	111.0085	C ₆ H ₈ O ₇	-2.1	0.0	Citric acid ^a	3
4	1.53	133.0135	133.0137	-	C ₄ H ₆ O ₅	-1.5	0.7	Malic acid ^a	3
5	2.13	591.1021	591.1020	509.1323, 411.0356, 329.0663	C ₂₃ H ₂₇ O ₁₆ S	0.2	0.1	Unknown ^d	-
6	2.29	169.0134	169.0137	125.0217	C ₇ H ₆ O ₅	-1.8	0.0	Gallic acid ^a	4
7	2.52	657.0873	657.0880	369.0238, 125.0206	C ₃₃ H ₂₂ O ₁₅	-1.1	0.8	Unknown ^d	-
8	2.61	616.1085	616.1085	167.0167, 149.0056	C ₂₃ H ₂₇ N ₃ O ₁₅ S	0.0	0.8	Glutathionylcaftaric acid ^b	5
9	2.91	577.1329	577.1346	451.1036, 425.0845, 407.0744, 289.0676	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	-2.9	0.1	Procyanidin B dimer ^a	6
10	3.01	311.0402	311.0403	179.0338, 149.0065, 135.0455	C ₁₃ H ₁₂ O ₉	-0.3	0.3	Caftaric acid ^b	4
11	3.03	443.1906	443.1917	-	C ₂₁ H ₃₂ O ₁₀	0.5	0.2	Dihydrophaseic acid hexoside ^b	5

12	3.12	1153.2598	1153.2614	865.1960, 577.1371, 425.0915, 407.0677, 289.0666	C ₆₀ H ₅₀ O ₂₄	-1.4	0.6	Procyanidin B Tetramer ^b	1
13	3.28	577.1330	577.1346	451.0973, 425.0895, 407.0757, 289.0695	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	-2.8	0.1	Procyanidin B dimer ^b	6
14	3.45	865.1980	865.1980	739.1754, 577.1416, 425.0681, 407.0733, 289.0678	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₈	1.2	0.7	Procyanidin B trimer ^b	1
15	3.49	175.0610	175.0606	115.0359	C ₇ H ₁₂ O ₅	2.3	0.0	Isopropylmalic acid	2, 7
16	3.59	179.0343	179.0344	135.0381	C ₉ H ₈ O ₄	-0.6	0.0	Caffeic acid ^a	6
17	3.60	193.0492	193.0501	149.0094, 134.0340	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	-4.7	0.0	Ferulic acid ^a	6
18	3.65	479.0813	479.0826	317.0247, 316.0160	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₃	-2.7	0.0	Myricetin- <i>O</i> - glucoside ^b	6
19	3.73	507.1132	507.1139	492.0884, 477.0672, 193.0180, 165.0184	C ₂₃ H ₂₃ O ₁₃	-1.4	0.1	Tetrahydroxydimetho xy-isoflavone hexose isomer ^b	8
20	3.93	463.0872	463.0877	301.0322, 300.0253	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	-1.1	0.1	Quercetin 3- <i>O</i> - glucoside ^a	6
21	3.94	477.0686	477.0669	301.0316, 300.0238	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₃	3.6	0.7	Quercetin <i>O</i> - glucuronide ^b	6
22	4.12	449.1087	449.1084	303.0548, 285.0369	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₁	0.7	0.6	Astilbin ^b	9
23	4.24	507.1127	507.1139	492.1129, 477.1005, 193.0232, 165.0123	C ₂₃ H ₂₃ O ₁₃	-2.4	0.1	Tetrahydroxydimetho xy-isoflavone hexose isomer ^b	8

24	4.26	477.1017	477.1033	315.0469	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂	-3.4	0.0	Isorhamnetin-O-hexoside ^b	4
25	4.58	317.0291	317.0297	151.0004	C ₁₅ H ₁₀ O ₈	-1.9	0.0	Myricetin ^a	6
26	5.16	301.0338	301.0348	-	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	-3.3	0.0	Quercetin ^a	6
27	5.58	207.0654	207.0657	179.0298, 161.0216, 135.0415, 133.0253	C ₁₁ H ₁₂ O ₄	-1.4	0.0	Caffeic acid derivative ^c	6
28	5.70	285.0392	285.0399	-	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	-2.5	0.0	Kaempferol ^a	6

Classificação por Sumner et al., 2007: a) compostos identificados usando padrões analíticos autênticos; b) anotados por similaridade espectral; c) classes de compostos caracterizados de forma putativa; d) compostos não encontrados em dados literários; Ref.: 1- Laghi et al., 2014; 2- Silva et al., 2018; 3- Spínola et al., 2015; 4- Flamini, 2013; 5- Rizzuti et al., 2015; 6- Sun et al., 2007; 7- Ricciutelli et al., 2019; 8- Barnabá et al., 2018; 9- Souquet et al., 2000.

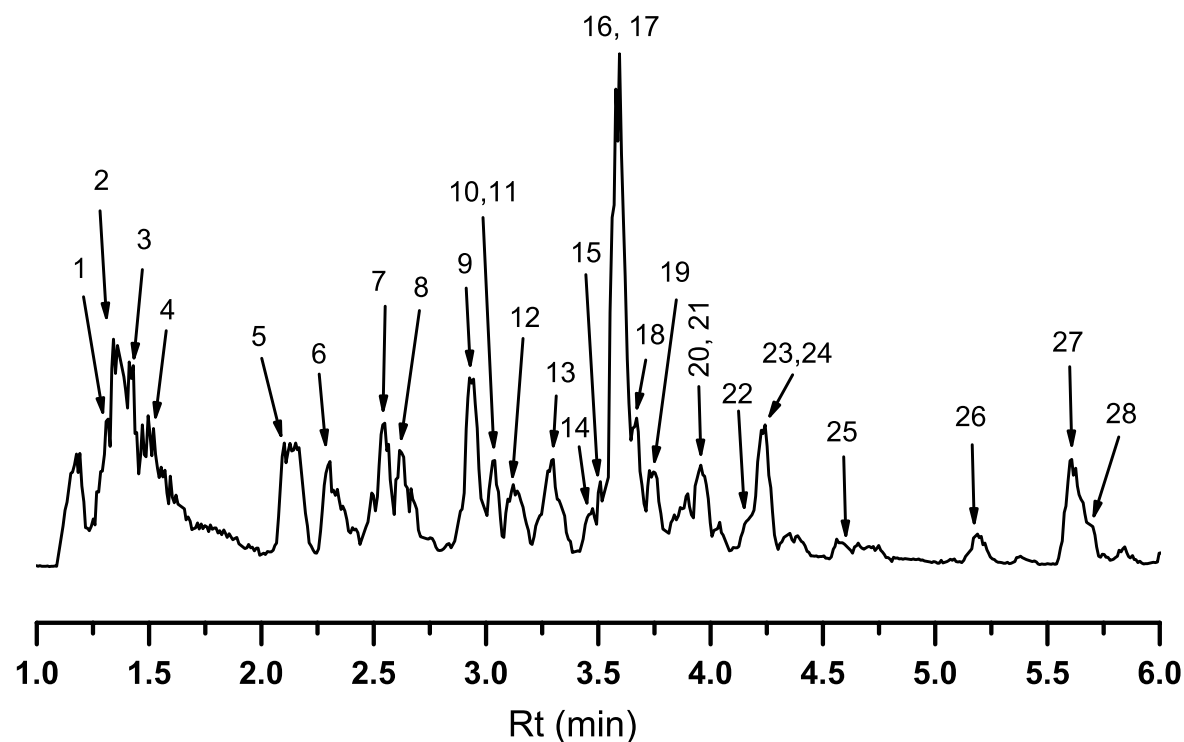


Figura 1SI. Cromatograma UPLC-HRMS do vinho Touriga Nacional do Vale do Rio São Francisco. Legenda: 1 - Ácido galacturônico; 2 - Ácido tartárico; 3 - Ácido cítrico; 4 - Ácido málico; 5 - Desconhecido; 6 - Ácido gálico*; 7 - Desconhecido; 8 - Ácido glutatiônico caftarico; 9 - Dímero de procianidina B; 10 - Ácido caftarico; 11 - Ácido dihidrofásico hexosídeo; 12 - Tetramero de procianidina B; 13 - Dímero de procianidina B; 14 - Trímero de procianidina B; 15 - Ácido isopropilmálico; 16 - Ácido cafeico*; 17 - Ácido ferúlico*; 18 - Miricetina-O-glucosídeo; 19 - Isômero de hexose de tetrahidroxi-dimetoxi-isoflavona; 20 - Quercetina O-glucosídeo*; 21 - Quercetina-O-glucuronídeo; 22 - Ácido isopropilmálico; 23, 24 - Ácido isopropilmálico; 25 - Ácido isopropilmálico; 26 - Ácido isopropilmálico; 27 - Ácido isopropilmálico; 28 - Ácido isopropilmálico.

22 - Astilbina*; 23 - Isômero de hexose de tetrahidroxi-dimetoxi-isoflavona; 24 - Isorramnetina-O-hexosídeo; 25 - Miricetina*; 26 - Quercetina*; 27 - Derivado de ácido cafeico; 28 - Kaempferol*.

No que diz respeito aos ácidos hidroxicinâmicos, encontramos ácido glutacionilcaftarico, ácido caftarico, ácido ferúlico, ácido cafeico e um derivado desconhecido na Touriga Nacional. Esses compostos estão presentes na polpa e na casca da uva, correspondendo à principal classe de fenólicos não flavonoides em vinhos tintos. Eles podem contribuir para a amargor, adstringência e acidez e, em geral, seu teor máximo é alcançado durante o amadurecimento, e depois diminui. Os ácidos hidroxicinâmicos geralmente aparecem esterificados com ácido quínico, ácido tartárico e unidades de glicose (CADOT et al., 2012; GARRIDO & BORGES, 2013).

Inicialmente, foi aplicada uma modelagem não supervisionada por PCA para entender a principal variabilidade química nos vinhos Touriga Nacional de acordo com as épocas de colheita (fevereiro ou julho), estágios de maturação da uva (antes, durante e após a maturação tecnológica) e tempo de maceração (7, 14 e 21 dias de maceração). Em seguida, foram desenvolvidas análises de classificação multivariada por PLS-DA para enfatizar a variação dos compostos com base nas variáveis experimentais mencionadas anteriormente (época de colheita, maturação das uvas e tempo de maceração). A Figura 1 ilustra os resultados da classificação dos vinhos, na qual a safra de colheita (julho e fevereiro) foi o fator mais forte para a discriminação dos vinhos. O gráfico de influência versus erros de modelagem (Figura 1b) revelou a ausência de valores discrepantes que afetassem negativamente a modelagem de classificação. Os vinhos produzidos com uvas colhidas em fevereiro apresentaram quantidades mais elevadas de ácido cítrico (3), dois compostos desconhecidos (5, 7), ácido glutacionilcaftarico (8), ácido cafeico (16), ácido ferúlico (17), quercetina O-glucuronídeo (21) e derivado de ácido cafeico (27), enquanto aqueles produzidos em julho exibiram quantidades mais elevadas de dímero de procianidina B (9), miricetina (25) e quercetina (26). Oliveira e colaboradores encontraram diferenças marcantes entre os vinhos das duas safras de colheita, principalmente em relação à presença de antocianinas, flavanóis e proantocianidinas (de OLIVEIRA et al., 2018). Tais diferenças intra-anuais ocorrem nos vinhos da VSF porque esta região brasileira apresenta tipicamente temperaturas mais baixas e radiação solar mais baixa, bem como maior umidade relativa durante a primeira colheita do ano do que na segunda (ALVES FILHO et al., 2019).

Além disso, os efeitos da maturação da uva e do tempo de maceração do vinho na composição química dos vinhos foram investigados separadamente para cada safra. No entanto, apenas os vinhos produzidos em fevereiro apresentaram variação química em

relação às práticas vitícolas, portanto, apenas esses resultados serão apresentados aqui. A Figura 2a mostra os escores LV1 × LV2 para a avaliação classificatória dos vinhos de acordo com a maturação da uva. Os respectivos carregamentos (Figura 2c) revelaram que o vinho produzido com uvas não maduras apresentava concomitantemente altos níveis de dois compostos desconhecidos (5, 7), ácido glutacionilcaftarico (8), ácido cafeico (16) e ácido ferúlico (17), enquanto os vinhos produzidos com uvas muito maduras exibiam níveis mais elevados de ácido galacturônico (1), dímero de procianidina B (9), tetrâmero de procianidina B (12), dímero de procianidina B (13), isômero de hexose de tetraidroxidimetoxi-isoflavona (23) e iso-rhamnetina-O-hexosídeo (24). Além de corroborar as tendências mencionadas observadas no eixo LV1, os carregamentos no eixo LV2 destacaram um teor mais elevado de dímero de procianidina B (9) nos vinhos de uvas maduras do que nos de uvas não maduras. Os resultados da ANOVA corroboraram apenas as tendências observadas para os metabólitos 1, 8, 16 e 17. Nossos resultados sugerem que o ácido cafeico (16) e o ácido ferúlico (17) foram convertidos em ácido caftarico (10). Nossas descobertas estão de acordo com o trabalho anterior relatado por Cadot et al. (2012), que descobriram que os vinhos Cabernet Franc feitos a partir de uvas mais maduras continham níveis mais altos de taninos (CADOT et al., 2012). Além disso, Barbara et al. (2019) relataram níveis mais altos de algumas antocianinas, flavonóis e procianidina A2 em vinho Syrah da VSF produzido com uvas colhidas com maior grau de maturação (21–23 °Brix) (BARBARA et al., 2019). Por outro lado, ALI et al. (2011) e Jordao & Correia (2012) estudaram as mudanças ocorridas em bagas de Touriga Nacional cultivadas em Portugal e observaram uma diminuição nos níveis de proantocianidinas e hidroxicinamatos, respectivamente, nas bagas de Touriga Nacional durante as últimas semanas de maturação (ALI et al., 2011; JORDAO & CORREIA, 2012). Essa divergência pode ser atribuída às condições edafoclimáticas do cultivo das uvas.

A Figura 3 apresenta os resultados classificatórios multivariados para o vinho Touriga Nacional produzido sob diferentes tempos de maceração. De acordo com a análise de carregamentos, o vinho produzido após 7 dias de maceração apresentou tendência de maior teor de ácido cítrico (3), ácido málico (4), desconhecido (5), ácido cafeico (16), ácido ferúlico (17), derivado de ácido cafeico (27) e caempferol (28). Por outro lado, os vinhos macerados por 14 e 21 dias continham mais ácido galacturônico (1), dímero de procianidina B (9), tetrâmero de procianidina B (12), dímero de procianidina B (13), isômero de hexose de isoflavona (23) e isoramnetina-O-hexosídeo (24). Barbara

et al. (2019) e Alencar et al. (2018) encontraram níveis mais altos de flavan-3-óis, ácido gálico, antocianinas em vinhos Syrah da VSF macerados por um tempo mais longo (mais de 20 dias) (ALENCAR et al., 2018; BARBARA et al., 2019). Além disso, Busse-Valverde et al. (2012) relataram maior adstringência os escores para três vinhos tintos varietais (Monastrell, Syrah e Cabernet Sauvignon) macerados por 20 dias foram atribuídos devido ao aumento dos teores de proantocianidinas totais (BUSSE-VALVERDE et al., 2012).

A significância estatística da variabilidade dos metabólitos foi certificada por ANOVA (Figura 5SI) e, em seguida, complementando as tendências observadas pela análise estatística multivariada: ácido galacturônico; ácido cítrico; ácido glutacionilcaftarico; dímero de procianidina B; tetrâmero de procianidina B; ácido cafeico; ácido ferúlico; isômero de hexose de tetraidroxidimetoxi-isoflavona; quercetina-O-glucuronídeo; isorramnetina-O-hexosídeo; miricetina; quercetina; derivado de ácido cafeico; e caempferol.

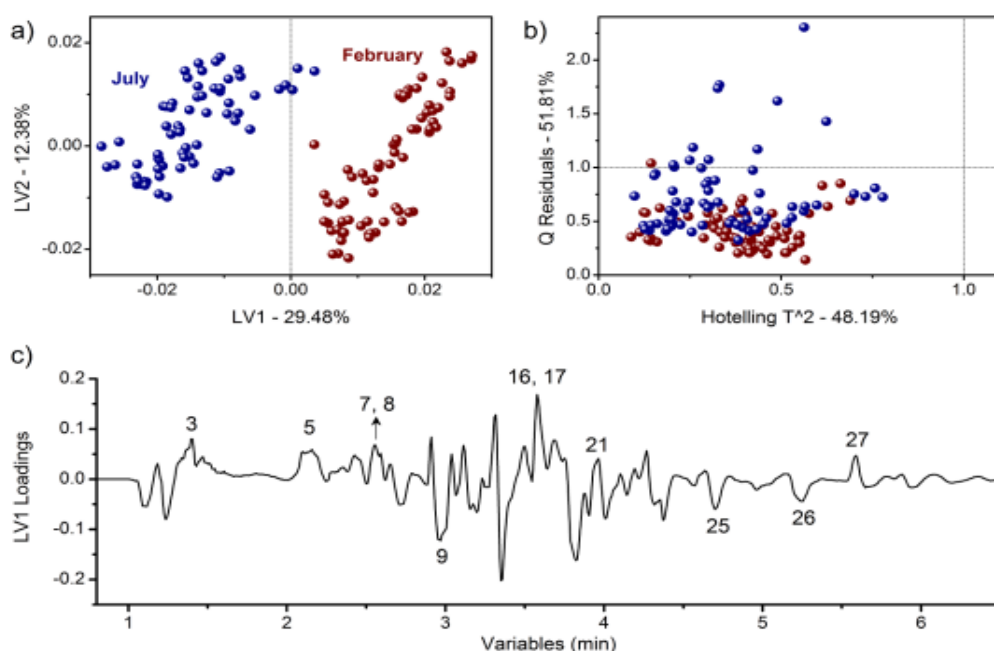


Figura. 1 Análise PLS-DA para o conjunto de dados UPLC-HRMS de vinhos Touriga Nacional produzidos em julho (bola azul) e fevereiro (bola vermelha): a) Escores LV1 × LV2 para avaliação exploratória dos vinhos de acordo com o principal fator sazonal; b) Gráfico de influência de Hotelling T² × Q de resíduos; c) Gráfico de cargas. Legenda: 3 - Ácido cítrico; 5 - Desconhecido; 7 - Desconhecido; 8 - Ácido glutatiônico caftarico; 9 - Dímero de procianidina B; 16 - Ácido cafeico; 17 - Ácido cafeico; 21 - Ácido cafeico; 25 - Ácido cafeico; 26 - Ácido cafeico; 27 - Ácido cafeico.

- Ácido ferúlico; 21 - Quercetina O-glucuronídeo; 25 - Miricetina; 26 - Quercetina; 27 - Derivado de ácido cafeico. (Para interpretação das referências à cor nesta legenda da figura, o leitor é encaminhado para a versão web deste artigo.)

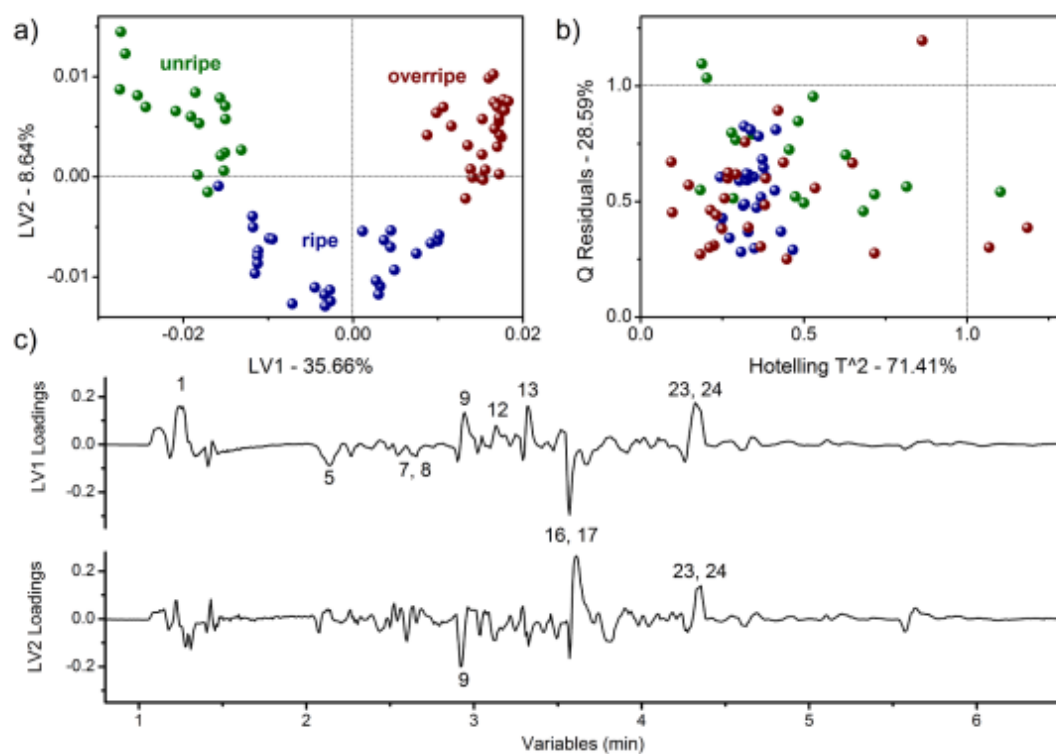


Figura. 2. Resultados de PLS-DA para o conjunto de dados UPLC-HRMS dos vinhos Touriga Nacional produzidos com uvas colhidas em fevereiro, com base no estágio de maturação das uvas (bagas verdes, maduras e super maduras representadas como bolas verdes, azuis e vermelhas, respectivamente): a) Escores LV1 $\times$ LV2 para classificação dos vinhos de acordo com o estágio de maturação; b) Gráfico de influência de Hotelling T² $\times$ Q de resíduos; c) Gráficos de cargas. Legenda: 1 - Ácido galacturônico; 5 - Desconhecido; 7 - Desconhecido; 8 - Ácido glutatiônico caftarico; 9 - Dímero de procianidina B; 12 - Tetramero de procianidina B; 13 - Dímero de procianidina B; 16 - Ácido cafeico; 17 - Ácido ferúlico; 23 - Isômero de hexose de tetrahidroxi-dimetoxi-isoflavona; 24 - Isorramnetina-O-hexosídeo. (Para interpretação das referências à cor nesta legenda da figura, o leitor é encaminhado para a versão web deste artigo.)

6.5.2 Impressões digitais metabólicas baseadas em RMN (Ressonância Magnética Nuclear)

A análise de RMN de ^1H (Figura 2SI) permitiu identificar vinte e dois metabólitos no vinho Touriga Nacional: os ácidos orgânicos de cadeia curta ácido acético, ácido láctico, ácido succínico e ácido tartárico; os aminoácidos alanina, glicina, valina, ácido γ -aminobutírico (GABA), leucina, treonina, prolina, tirosina, fenilalanina; os carboidratos α e β -glicose; os álcoois 2,3-butanodiol, etanol, glicerol; os compostos fenólicos ácido gálico e ácido cafeico, juntamente com colina e trigonelina. Os dados de RMN de cada composto estão disponíveis nas Informações Suplementares (Tabela 3 SI).

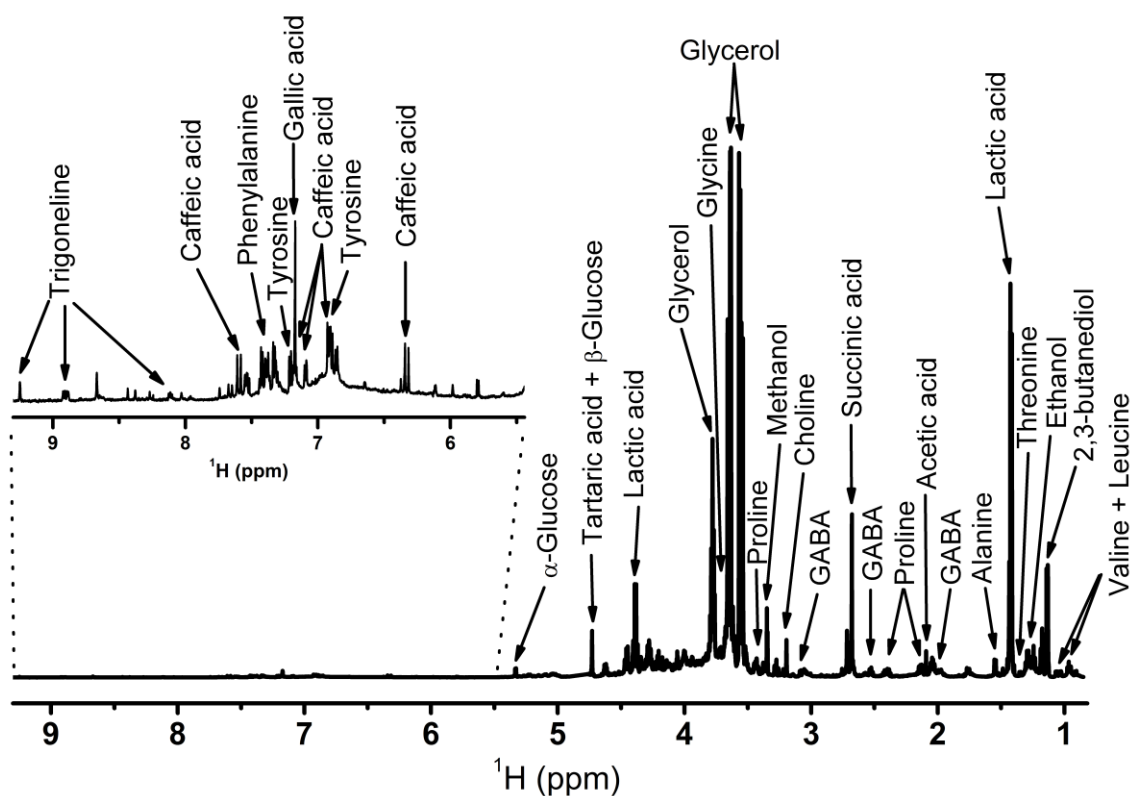
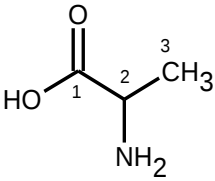
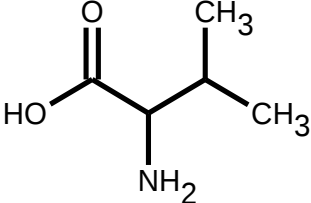
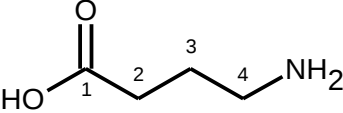
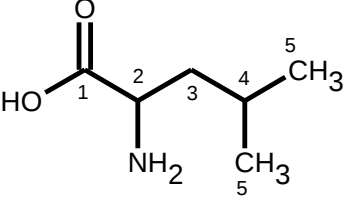
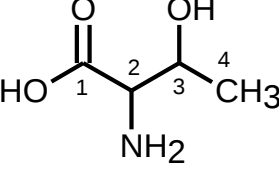
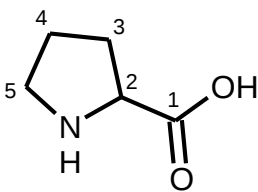
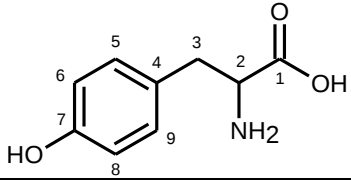
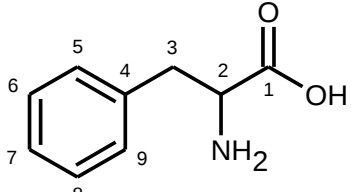


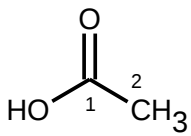
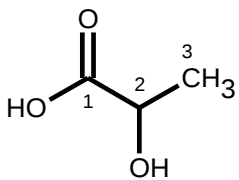
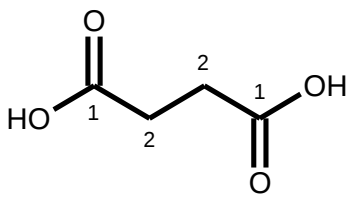
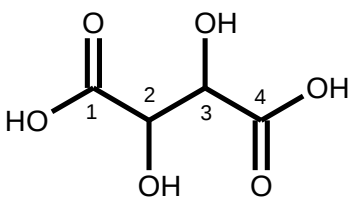
Figura. 2SI. Espectro de RMN de ^1H do vinho Touriga Nacional do Vale do Rio São Francisco, mostrando os compostos caracterizados.

Tabela 3SI – Estruturas, deslocamentos químicos, multiplicidade e constantes de acoplamento dos compostos orgânicos identificados nos vinhos Touriga Nacional do Vale do Rio São Francisco.

Compounds / Structures	$\delta^1\text{H}$ (multip. *, J in Hz)	$\delta^{13}\text{C}$	Ref. ^1H	Ref. ^{13}C
AMINO ACIDS				
<i>Alanine</i> 	3 – 1.50 (<i>d</i> 7.2) 2 – 4.89 (<i>o</i>)	19.2 53.2	1.52 (<i>d</i> 7.3) 3.90 (<i>q</i> 7.3)	19.1 53.4
<i>Valine</i> 	2 – no 3 – 2.29 (<i>o</i>) 4 – 1.01 (<i>d</i> 7.2) 5 – 1.05 (<i>d</i> 7.2)	no 32.0 19.6 20.8	3.82 (<i>d</i> 4.4) 2.33 (<i>m</i>) 1.02 (<i>d</i> 7.1) 1.06 (<i>d</i> 7.1)	n 32.0 19.1 20.9
<i>GABA</i> 	4 – 3.06 (<i>m</i>) 3 – 1.97 (<i>m</i>) 2 – 2.50 (<i>m</i>)	42.0 25.3 34.0	2.99 (<i>t</i> 7.6) 1.88 (<i>qui</i> 7.6) 2.28 (<i>t</i> 7.6)	42.2 26.3 37.1
<i>Leucine</i> 	2 – o 3 – o 4 – o 5 – 0.97	53.8 42.5 27.4 24.0	3.74 1.70 1.71 0.96	56.2 42.6 26.8 24.8
<i>Threonine</i> 	2 – 3.50 (<i>o</i>) 3 – 3.80 (<i>o</i>) 4 – 1.34 (<i>o</i>)	63.1 69.8 21.4	3.57 (<i>d</i> 4.87) 4.24 (<i>m</i>) 1.32 (<i>d</i> 6.58)	63.5 68.9 22.3

<i>Proline</i> 	6 – 3.40 5 – 1.76 2 – 4.18 3 – 2.12 4 – 2.04	49.1 26.7 64.0 32.0 26.6	3.32 (m) 1.99 (m) 4.12 (dd 8.83; 8.42) 2.34 (m) 2.07 (m)	49.0 26.4 64.0 31.7 31.7
<i>Tyrosine</i> 	6.8 – 6.92 (m) 5.9 – 7.19 (m)	119.3 133.6	6.89 (m) 7.19 (m)	118.9 133.5
<i>Phenylalanine</i> 	5.9 – 7.33 (m) 6.8 – 7.43 (m) 7 – 7.38 (m)	132.5 132.4 130.8	7.32 (d 6.98) 7.42 (m) 7.37 (m)	132.1 131.8 130.4

ORGANIC ACIDS

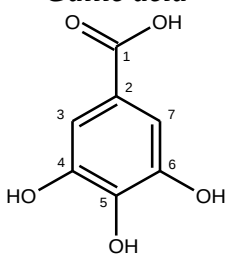
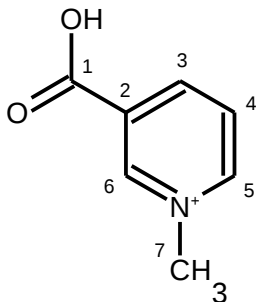
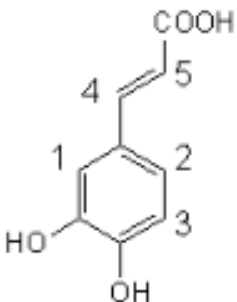
<i>Acetic</i> 	1 – 2 – 2.10 (s)	180.0 23.7	2.08 (s)	184.1 26.0
<i>Lactic</i> 	3 – 1.42 (d 7.40) 2 – 4.40 (d 7.40)	22.4 69.6	1.37 (d 7.20) 4.42 (q 7.20)	22.9 71.4
<i>Succinic acid</i> 	2 – 2.68 (s)	32.0	2.39 (s)	36.8
<i>Tartaric acid</i> 	2.3 – 4.63	75.5	4.33	76.5

CARBOHYDRATES

<i>α-glucose</i>	1 – 5.34 (<i>d</i> 3.80) 2 – 3.49 (o) 3 – 3.70 (o) 4 – 3.52 (o) 5 – 3.69 (o) 6 – 3.81 (o)	95.6 71.0 75.4 73.7 63.9 75.2	5.25 (<i>d</i> 3.80) 3.89-3.36 (o) n n n n	95.4 72.2 76.0 72.8 64.2 74.5
<i>β-glucose</i>	1 – 4.62 (o) 2 – 3.26 (o) 3 – 3.75 (o) 4 – 3.48 (o) 5 – 3.41 (o) 6 – 3.90 (o)	99.0 77.2 63.6 78.7 72.4 63.6	4.66 (<i>d</i> 8.10) 3.25 (<i>t</i> 8.40) n n n n	99.2 77.6 56.1 79.0 72.8 63.1

OTHER COMPOUNDS

<i>2,3-butanediol</i>	1.4 – 1.15 (<i>d</i> 6.0) 2.3 – o	21.10 75.3	1.17 3.65	20.2 74.0
<i>Ethanol</i>	1 – 3.62 2 – 1.14	60.6 20.8	3.64 1.17	60.3 19.6
<i>Glycerol</i>	1 – 3.88 3 – 3.56 2 – 3.78	65.5 65.5 75.2	3.64 3.56 3.77	65.4 65.4 75.0
<i>Glycine</i>	2 – 3.66 (o)	44.4	3.55 (<i>s</i>)	44.3
<i>Choline</i>	1 – 4.00 (o) 3 – 3.20 (<i>s</i>) 2 – 3.56 (o)	54.1 57.8 70.6	4.05 (<i>m</i>) 3.19 (<i>s</i>) 3.50 (<i>dd</i> 5.82; 4.16)	58.5 56.7 70.1

<i>Gallic acid</i> 	3 – 7.17	113.4	7.04	112.2
<i>Trigonelline</i> 	1 – no 2 – no 3 – 8.83 (<i>m</i>) 4 – 8.06 (<i>m</i>) 5 – 8.83 (<i>m</i>) 6 – 9.13 (<i>s</i>) 7 – 4.43 (<i>o</i>)	no no 147.7 130.6 148.9 146.3 51.5	no no 8.88 (<i>d</i>) 8.07 (<i>dd</i>) 8.80 (<i>d</i>) 9.17 (<i>s</i>) 4.43 (<i>s</i>)	168.2 146.6 147.6 130.4 148.7 148.4 51.1
<i>Caffeic acid</i> 	1 – 7.17 2 – 7.08 3 – 6.91 4 – 7.6 (<i>d</i> 16.2) 5 – 6.32 (<i>d</i> 16.2)	118.1 125.7 119.3 149.2 117.7	7.19 7.10 6.96 7.30 6.37	117.1 124.1 118.8 143.3 124.3

s – singlet; d – duplo; t – triplet; q – quartet; quin – quinteto; dd – duplo duplo; o – sinal sobreposto; n – sem informação; no – não observado.

Devido à alta complexidade do conjunto de dados de RMN, caracterizado pelo grande número de compostos identificados e pelo procedimento experimental, foram realizadas análises quimiométricas não supervisionadas por meio do método de PCA para investigar a variabilidade dos vinhos Touriga Nacional. Essa análise considerou fatores como as estações de colheita das uvas (julho e fevereiro), maturidade da uva (antes do amadurecimento total, durante o amadurecimento total e uvas super maduras) e tempo de maceração do vinho (7, 14 e 21 dias de maceração). Os resultados da análise exploratória multivariada revelaram que a estação de colheita das uvas foi o principal fator na discriminação dos vinhos. Para destacar ainda mais as variáveis (compostos) responsáveis pela discriminação dos vinhos, a Análise Discriminante Parcial de Quadrados Mínimos (PLS-DA) foi empregada para classificar as amostras de acordo com os grupos conhecidos anteriormente. A Figura 4 ilustra os resultados da classificação multivariada,

representados pelos escores $LV1 \times LV2$ (a), o gráfico de influência vs. erros de modelagem (b) e o gráfico de carregamentos para os escores das amostras (c). Essas análises fornecem insights sobre os fatores que contribuem para as diferenças observadas nos vinhos, permitindo uma compreensão mais profunda das relações entre as características das uvas, os processos de vinificação e a composição química dos vinhos resultantes.

Os resultados da PLS-DA mostram uma tendência de separação entre os vinhos com base na temporada de colheita. Os vinhos produzidos em julho, que estão localizados em escores positivos no $LV1$, apresentam simultaneamente mais 2,3-butanodiol, glicerol, ácido láctico, ácido succínico, ácido tartárico e α e β -glicose. Curiosamente, descobrimos anteriormente que outro vinho tinto da VSF (Syrah) continha mais 2,3-butanodiol, glicerol, ácido succínico e ácido tartárico em fevereiro, mesmo que fosse mais abundante em ácido láctico e prolina em julho (ALVES FILHO et al., 2019). Essa descoberta indica que variedades de uvas podem apresentar variação em suas respostas sazonais, mesmo quando submetidas a condições climáticas e enológicas semelhantes.

Além disso, a variabilidade química entre os vinhos considerando os estágios de maturação das uvas como classes também foi avaliada por PLS-DA. A Figura 5a ilustra o gráfico de escores de $LV1$ vs $LV2$, o gráfico de influência vs erros de modelagem (b) e os carregamentos relevantes com os metabólitos mais importantes para a discriminação das amostras com base na classe de vinho (c). Os escores das amostras mostram que a composição química dos vinhos produzidos a partir de uvas maduras e super maduras (escores $LV1$ positivos) é mais semelhante do que as dos vinhos produzidos a partir de uvas maduras e não maduras (escores $LV1$ negativos).

A análise de PLS-DA revelou um teor mais elevado de 2,3-butanodiol nos vinhos produzidos com uvas maduras. Por outro lado, ácido láctico, ácido succínico, colina e ácido tartárico foram encontrados em maior abundância nos vinhos feitos com uvas não maduras. De fato, esse resultado é esperado, uma vez que a maturação causa uma diminuição dos ácidos orgânicos, que são convertidos em açúcares ou utilizados como fontes de carbono e energia para a respiração (CONDE et al., 2007). Anteriormente, Ali et al. (2011) utilizaram RMN de $1H$ e quimiometria para monitorar as mudanças bioquímicas durante o amadurecimento das bagas de Touriga Nacional. Eles observaram que as uvas não maduras (estágios verde e de véraison) eram caracterizadas por níveis

mais altos de fenólicos e ácidos orgânicos, enquanto os estágios maduros e de colheita eram encontrados com maiores quantidades de aminoácidos e açúcares.

Para examinar mais profundamente o efeito do tempo de maceração, foram realizados seis modelos de PLS-DA para os vinhos provenientes de uvas em diferentes estágios de maturação (não maduras, maduras e super maduras) colhidas nas duas estações (fevereiro e julho) (Figura 3SI). No geral, a maturação não afetou as impressões metabólicas de acordo com os gráficos de carregamentos, exceto para os vinhos feitos com uvas não maduras colhidas em julho (Figura 3bSI) e os vinhos de uvas maduras produzidos em fevereiro (Figura 3c SI). Os respectivos carregamentos (Figura 4 SI) indicam que os vinhos produzidos nessas condições apresentaram um teor mais elevado de 2,3-butanodiol, glicerol, ácido láctico, ácido succínico, ácido gálico e α -glicose quando macerados por mais tempo.

Complementando as tendências observadas na análise estatística multivariada, não foi encontrada significância estatística entre a variabilidade das concentrações dos compostos discriminantes pelos resultados da ANOVA dos dados de RMN de ^1H (Figura 6 SI).

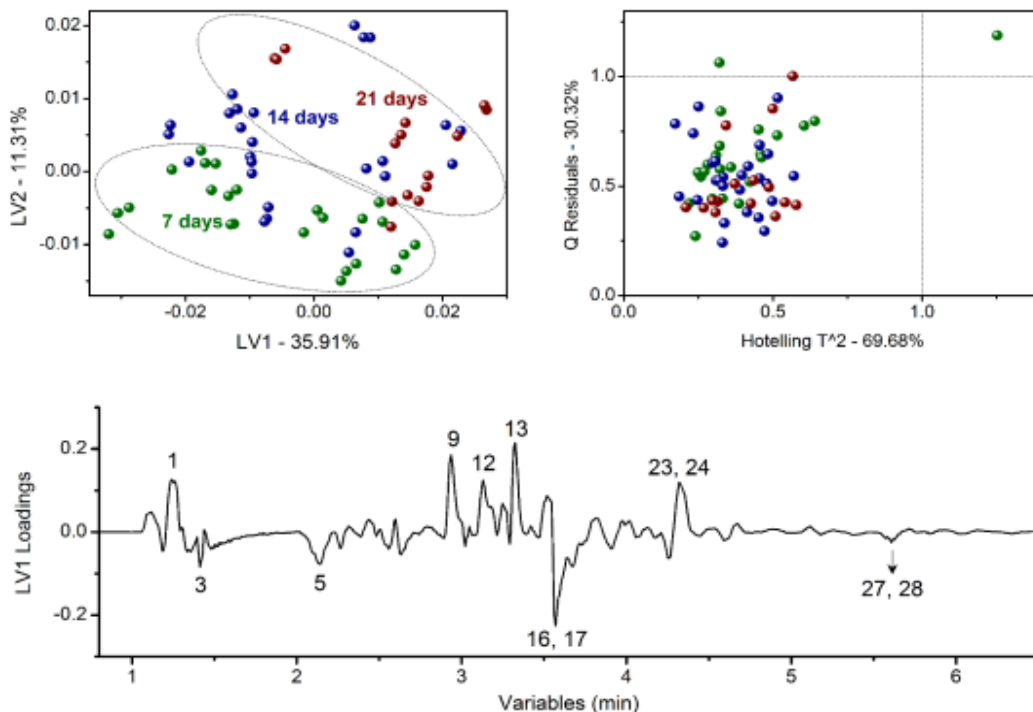


Figura. 3. Resultados de PLS-DA para o conjunto de dados UPLC-HRMS dos vinhos Touriga Nacional provenientes de uvas colhidas em fevereiro, com base no tempo de maceração (7, 14 e 21 dias, representados como bolas verdes, azuis e

vermelhas, respectivamente): a) Escores LV1 $\times$ LV2 para classificação dos vinhos de acordo com o tempo de maceração; b) Gráfico de influência de Hotelling T2 $\times$ Q de resíduos; c) Gráficos de cargas. Legenda: 1 - Ácido galacturônico; 3 - Ácido cítrico; 5 - Desconhecido; 9 - Dímero de procianidina B; 12 - Tetramero de procianidina B; 13 - Dímero de procianidina B; 16 - Ácido cafeico; 17 - Ácido ferúlico; 23 - Isômero de hexose de isoflavona; 24 - Isorramnetina-O-hexosídeo; 27 - Derivado de ácido cafeico; 28 - Kaempferol. (Para interpretação das referências à cor nesta legenda da figura, o leitor é encaminhado para a versão web deste artigo.)

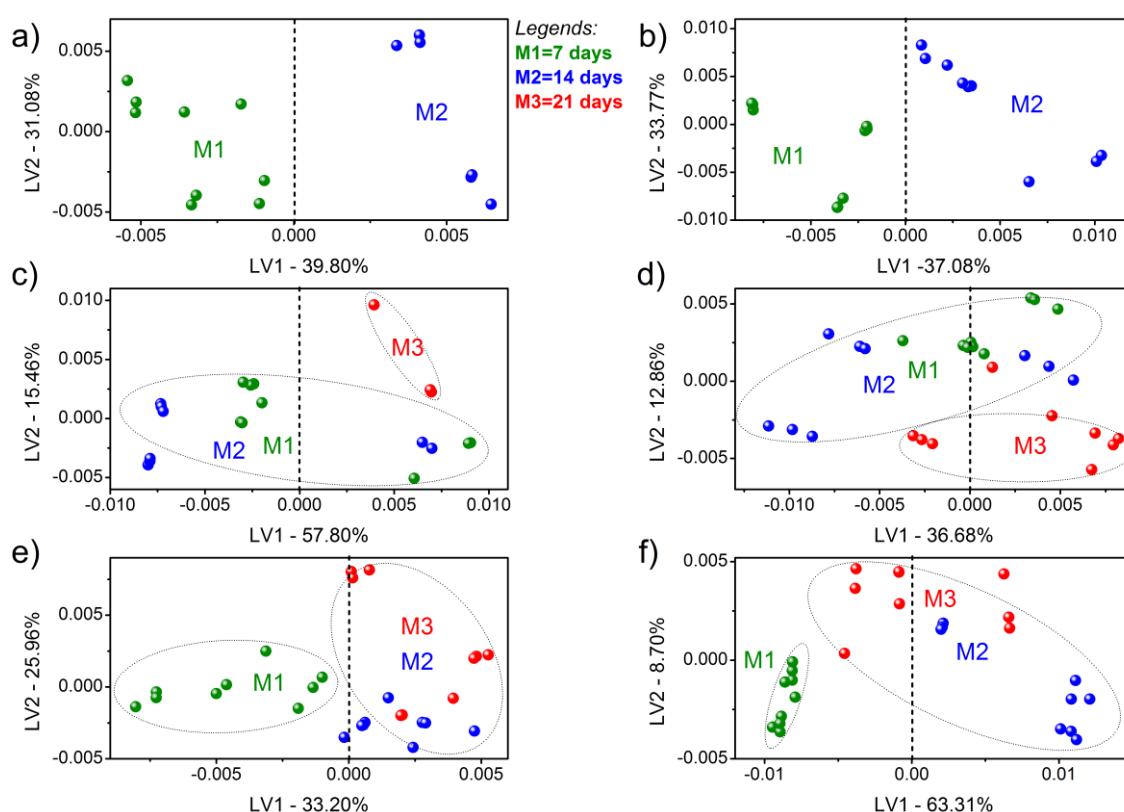


Figura. 3SI. Gráficos de PLS-DA para o conjunto de dados de RMN de ^1H dos vinhos Touriga Nacional produzidos em fevereiro (à esquerda) e julho (à direita) de acordo com o tempo de maceração: a) e b) antes da maturidade tecnológica (uvas verdes); c) e d) maturação tecnológica (uvas maduras); e) e f) após a maturação tecnológica (uvas super maduras).

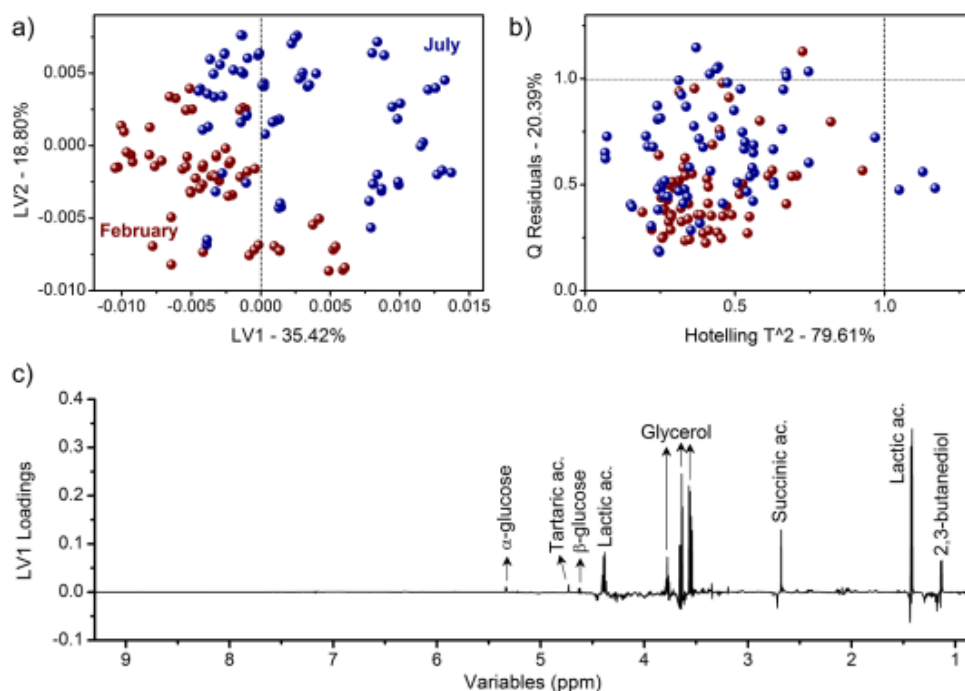


Figura. 4. Resultados de PLS-DA para o conjunto de dados de RMN de ^1H dos vinhos Touriga Nacional de acordo com a época de colheita (julho - bola azul e fevereiro - bola vermelha): a) Escores $\text{LV1} \times \text{LV2}$ para classificação dos vinhos de acordo com o estágio de maturação; b) Gráfico de influência de Hotelling $T^2 \times Q$ de resíduos; c) Gráfico de cargas para LV1 . (Para interpretação das referências à cor nesta legenda da figura, o leitor é encaminhado para a versão web deste artigo.)

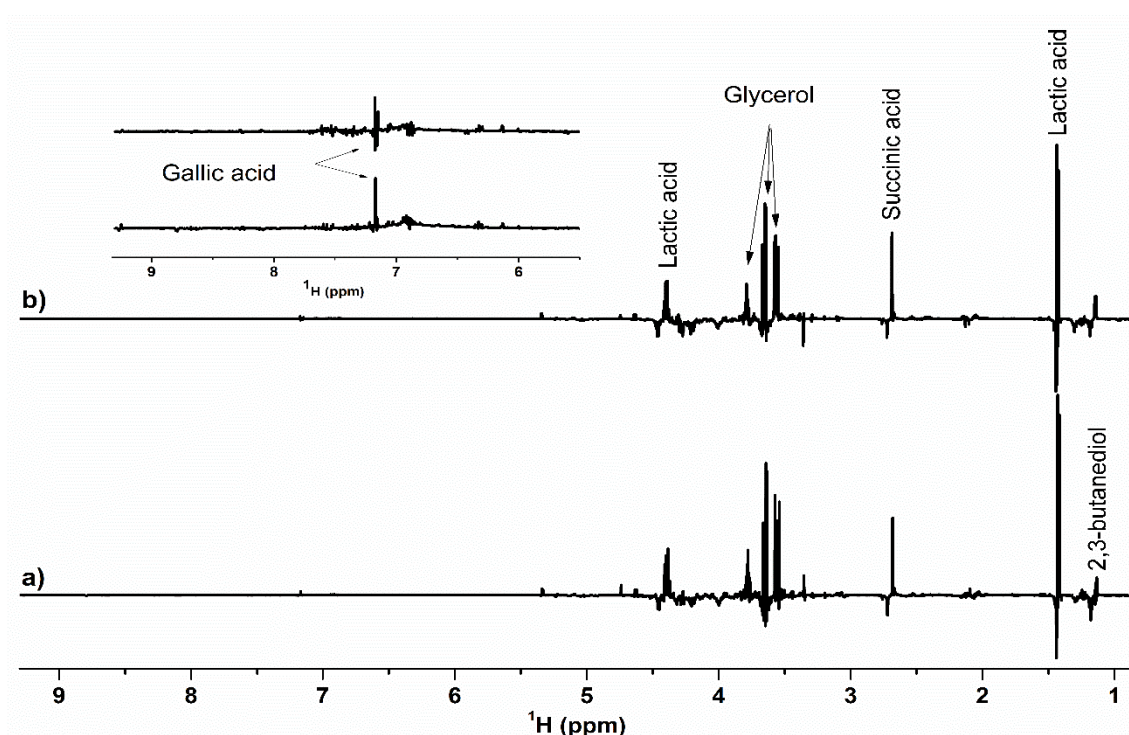


Figura. 4SI. Gráfico de cargas de: a) vinhos produzidos em fevereiro usando uvas maduras; b) vinhos produzidos em julho usando uvas verdes.

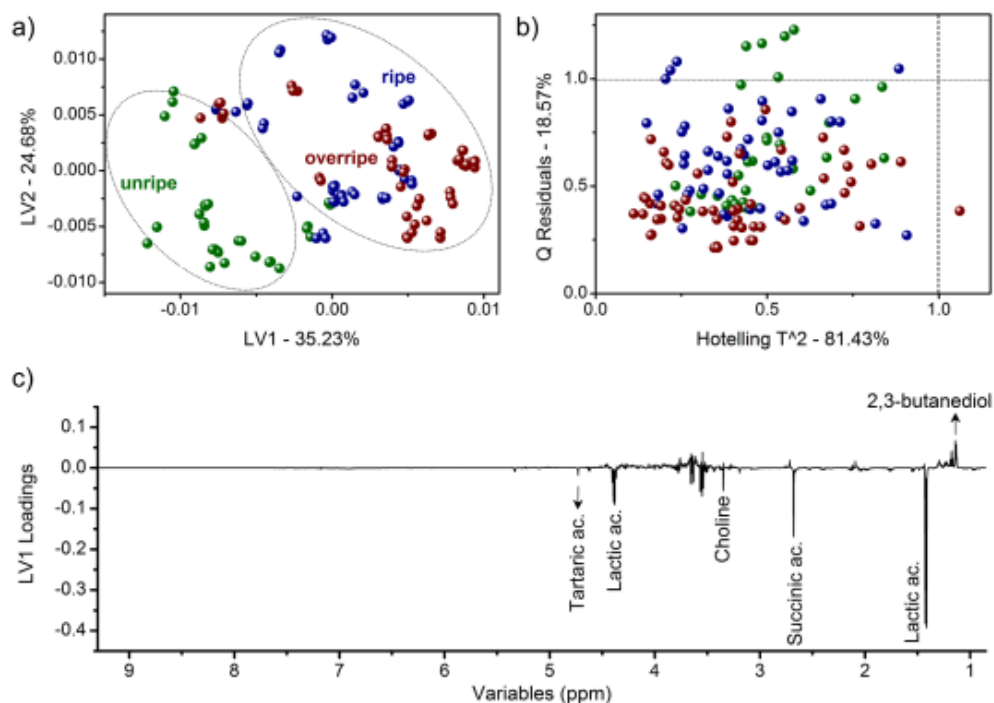


Figura. 5. Análise PLS-DA para o conjunto de dados de RMN de 1H dos vinhos Touriga Nacional com base no estágio de maturação das uvas (bagas verdes, maduras e super maduras representadas como bolas verdes, azuis e vermelhas, respectivamente): a) Escores LV1 × LV2 para classificação dos vinhos de acordo com o estágio de maturação; b) Gráfico de influência de Hotelling T2 × Q de resíduos; c) Gráfico de cargas para LV1. (Para interpretação das referências à cor nesta legenda da figura, o leitor é encaminhado para a versão web deste artigo).

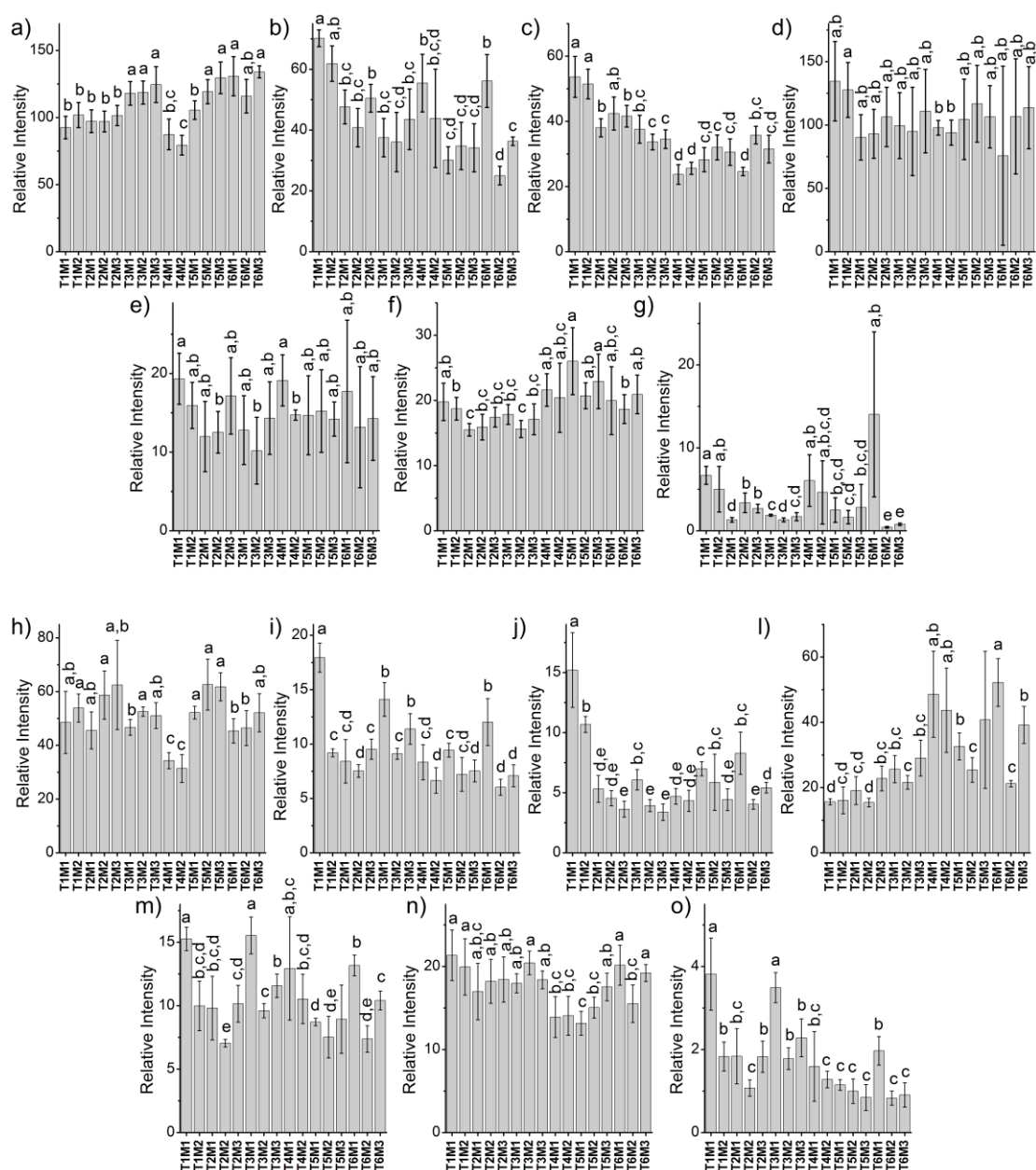


Figura. 5SI. Resultados semi-quantitativos dos vinhos obtidos pela análise UPLC-HRMS, com o desvio padrão sobre as barras superiores: a) ácido galacturônico; b) ácido cítrico; c) ácido glutatônico caftarico; d) dímero de procianidina B; e) tetramero de procianidina B; f) ácido cafeico; g) ácido ferúlico; h) isômero de hexose de tetrahydroxi-dimetoxi-isoflavona; i) quercetina-O-glucuronídeo; j) Isorramnetina-O-hexosídeo; l) miricetina; m) quercetina; n) derivado de ácido cafeico; o) kaempferol. Barras marcadas com letras diferentes na parte superior representam resultados estatisticamente significativos ($P < 0,05$) com base em ANOVA unifatorial, enquanto barras rotuladas com a mesma letra correspondem a resultados que não mostram diferenças estatisticamente significativas. No caso em

que duas ou mais letras estão presentes sobre a barra, cada letra deve ser comparada separadamente com as letras das outras barras para determinar se os resultados mostram diferenças estatisticamente significativas.

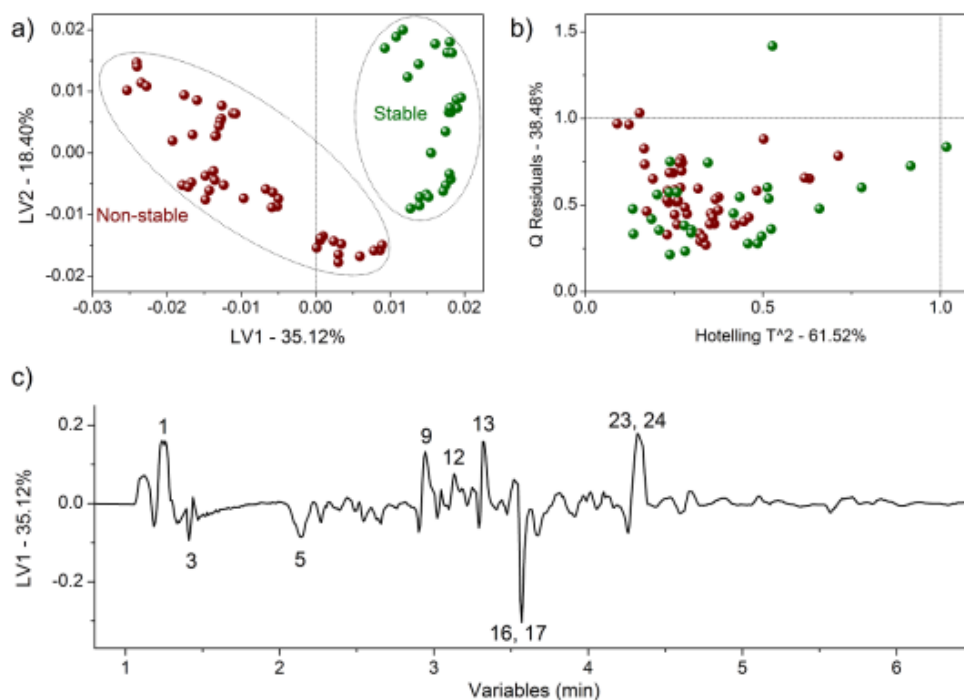


Figura. 6. Resultados de PLS-DA para o conjunto de dados UPLC-HRMS dos vinhos Touriga produzidos com uvas colhidas em fevereiro e armazenados por 2,5 anos: a) Escores LV1 $\times$ LV2 para classificação dos vinhos de acordo com a estabilidade (estáveis - bolas verdes e não estáveis - bolas vermelhas); b) Gráfico de influência de Hotelling T² $\times$ Q de resíduos; c) Gráfico de cargas. Legenda: 1 - Ácido galacturônico; 3 - Ácido cítrico; 5 - Desconhecido; 9 - Dímero de procianidina B; 12 - Tetramero de procianidina B; 13 - Dímero de procianidina B; 16 - Ácido cafeico; 17 - Ácido ferúlico; 23 - Isômero de hexose de tetrahidroxi-dimetoxi-isoflavona; 24 - Isorramnetina-O-hexosídeo. (Para interpretação das referências à cor nesta legenda da figura, o leitor é encaminhado para a versão web deste artigo).

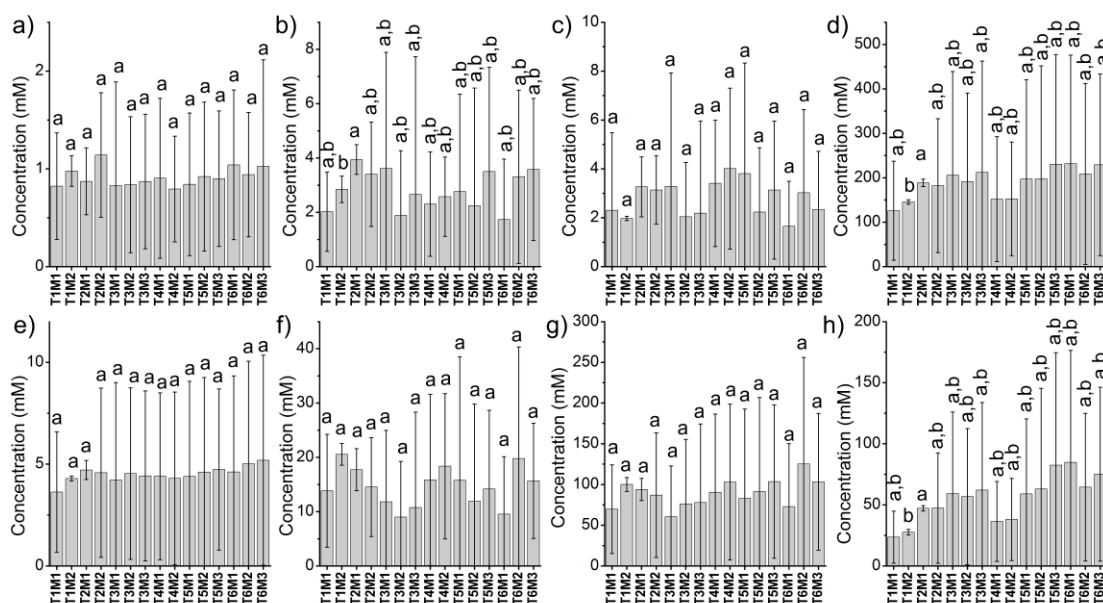


Figura 6SI. Resultados quantitativos dos vinhos avaliados pela análise de RMN de ^1H , com o desvio padrão sobre as barras superiores: a) ácido gálico; b) α -glicose; c) ácido tartárico; d) glicerol; e) colina; f) ácido succínico; g) ácido láctico; h) 2,3-butanodiol. Barras do gráfico marcadas com diferentes letras na parte superior representam resultados estatisticamente significativos ($P < 0,05$) com base em ANOVA unifatorial, enquanto barras rotuladas com a mesma letra correspondem a resultados que não mostram diferenças estatisticamente significativas. No caso em que duas ou mais letras estão presentes sobre a barra, cada letra deve ser comparada separadamente com as letras das outras barras para determinar se os resultados mostram diferenças estatisticamente significativas.

6.5.3 Estabilidade dos vinhos armazenados

A estabilidade dos vinhos foi avaliada com base em alterações relacionadas à intensidade da cor ($A_{420} + A_{520} + A_{620}$), tonalidade (A_{420} / A_{520}) e pH durante o armazenamento por 2,5 anos. A análise de variância (ANOVA) desses parâmetros mencionados revelou que eles não variaram estatisticamente nos vinhos armazenados a partir de uvas super maduras. Portanto, o estágio de maturação da uva é o fator chave para produzir vinhos mais estáveis em relação à coloração e acidez. Posteriormente, uma análise de classificação binária por PLS-DA foi desenvolvida para a estabilidade do vinho (vinhos estáveis e não estáveis), considerando a variação da cor e pH durante o armazenamento. Esta avaliação foi baseada apenas no perfil químico fornecido pelos dados de UPLC-HRMS, uma vez que nenhum resultado relevante foi observado para o ^1H qNMR. A Figura 6a ilustra os vinhos de uvas super maduras em cor verde (vinhos estáveis) e aqueles vinhos de uvas não maduras e maduras (vinhos não estáveis) em

vermelho. O gráfico de influência vs erros de modelagem mostrou a ausência de outliers que afetam negativamente a modelagem de classificação (Figura 6b). De acordo com os carregamentos, os vinhos mais estáveis continham uma quantidade maior de ácido galacturônico (1), dímero de procianidina B (9), tetramero de procianidina B (12), dímero de procianidina B (13), isômero de hexose de tetrahidroxidimetoxiisoflavona (23) e isorramnetina-O-hexosídeo (24), mas menos ácido cítrico (3), compostos desconhecidos (5), ácido cafeico (16) e ácido ferúlico (17) do que as outras amostras. Portanto, os compostos 1, 9, 12, 13, 23 e 24 são supostamente relacionados à estabilidade do vinho durante o armazenamento, uma vez que são mais abundantes nas amostras de vinho estáveis. No entanto, apenas o ácido galacturônico (1) foi encontrado significativamente mais alto nos vinhos estáveis.

6.5.4 Análise sensorial de vinhos

O perfil sensorial do vinho Touriga Nacional da região do Vale do São Francisco foi impactado pelo efeito da safra de colheita e do estágio de maturação das uvas (Figura 7SI). De acordo com a safra de colheita (Figura 7a SI), os resultados da PCA indicaram valores mais altos de intensidade aromática, acidez, aroma e sabor alcoólicos, persistência gustativa, sabor frutado e corpo nos vinhos de fevereiro, enquanto aqueles vinhos de julho apresentaram maior aroma de ácido acético nos valores negativos de PC1 e PC2. Além disso, os vinhos de uvas não maduras se destacaram na intensidade do aroma de frutas vermelhas, enquanto as uvas super maduras produziram vinhos com maior intensidade de cor rubi profunda, adstringência, corpo, persistência gustativa, doçura, aromas alcoólicos e frutados (Figura 7b SI). Os vinhos de uvas maduras mostraram um perfil sensorial intermediário e ocuparam a região central no gráfico de escores, portanto, não se destacaram em nenhum dos 13 atributos selecionados pelo painel sensorial. Assim, tais características parecem estar relacionadas à tendência de variações nos níveis de ácidos hidroxicinâmicos, proantocianidinas, flavonoides e ácidos orgânicos de cadeia curta nos vinhos mencionados anteriormente, conforme discutido anteriormente usando o conjunto de dados de UPLC-HRMS e ¹H NMR.

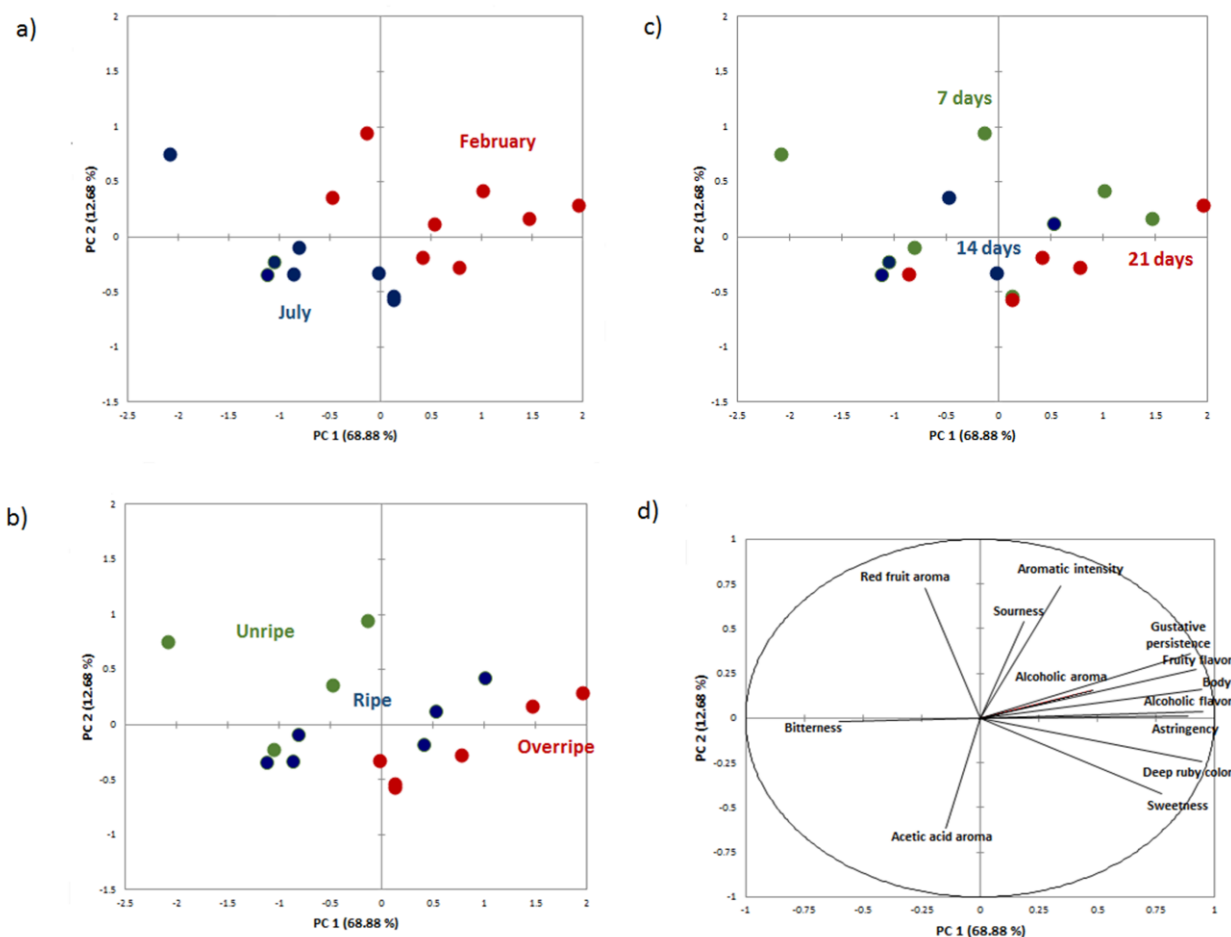


Figura 7SI: Gráfico de PCA para o conjunto de dados de análise sensorial dos vinhos Touriga Nacional com base em: a) época de colheita (fevereiro - bola azul e julho - bola vermelha); b) estágio de maturação da uva (bagas verdes, maduras e super maduras representadas como bola verdes, azuis e vermelhas, respectivamente); c) tempo de maceração (7 dias - bolas verdes, 14 dias - bolas azuis e 21 dias - bolas vermelhas); d) gráfico de cargas.

6.6 CONCLUSÃO

Nossas abordagens não direcionadas usando UPLC-HRMS e ^1H NMR, juntamente com ferramentas de quimiometria, forneceram informações complementares para a avaliação da safra, estágio de maturação das uvas e tempo de maceração na composição química dos vinhos Touriga Nacional. Enquanto o UPLC-HRMS discriminou os vinhos para os três efeitos mencionados, o ^1H NMR mostrou apenas uma tendência de separação entre as amostras. A safra de colheita seguida pelo estágio de maturação das uvas foram os efeitos mais evidentes em ambos os métodos. No geral, ácidos fenólicos e ácidos orgânicos de cadeia curta foram encontrados em níveis mais elevados nos vinhos produzidos em fevereiro com uvas em estágios iniciais de maturação e menor tempo de maceração. Por outro lado, proantocianidinas e outros flavonoides

aumentaram nos vinhos macerados por mais tempo usando uvas maduras e super maduras colhidas em julho. Além disso, os vinhos feitos com uvas super maduras mostraram ser mais estáveis e foram encontrados com teores mais elevados de ácido galacturônico. Portanto, esperamos que nossos resultados possam ser úteis para a melhoria da estabilidade química e qualidade dos vinhos tintos produzidos na região do Vale do São Francisco.

REFERÊNCIAS

1. ALANÔN, M., PÉREZ-COELLO, M., & MARINA, M. (2015). Wine science in the metabolomics era. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 74, 1–20.
2. ALENCAR, N. M. M., CAZARIN, C. B. B., CORREA, L. C., MAROSTICA JUNIOR, M. R., BIASOTO, A. C. T., & BEHRENS, J. H. (2018). Influence of maceration time on phenolic compounds and antioxidant activity of the Syrah must and wine. **Journal of Food Biochemistry**, 42(2), Article e12471.
3. ALI, K., MALTESE, F., FORTES, A. M., PAIS, M. S., CHOI, Y. H., & VERPOORTE, R. (2011). Monitoring biochemical changes during grape berry development in Portuguese cultivars by NMR spectroscopy. **Food Chemistry**, 124(4), 1760–1769.
4. ALVES FILHO, E. G., SILVA, L. M. A., DE BRITO, E. S., WURLITZER, N. J., FERNANDES, F. A., RABELO, M. C., RODRIGUES, S. (2018). Evaluation of thermal and non-thermal processing effect on non-prebiotic and prebiotic acerola juices using ¹H qNMR and GC–MS coupled to chemometrics. **Food Chemistry**, 265, 23–31.
5. ALVES FILHO, E. G., SILVA, L. M. A., RIBEIRO, P. R., DE BRITO, E. S., ZOCCOLO, G. J., SOUZALEÃO, P.C., CANUTO, K. M. (2019). ¹H NMR and LC-MS-based metabolomic approach for evaluation of the seasonality and viticultural practices in wines from São Francisco River Valley, a Brazilian semi-arid region. **Food Chemistry**, 289, 558–567.
6. ALVES FILHO, E. G., SILVA, L. M. A., WURLITZER, N. J., FERNANDES, F. A. N., FONTELES, T. V., RODRIGUES, S., & DE BRITO, E. S. (2020). An integrated analytical approach based on NMR, LC–MS and GC–MS to evaluate thermal and non-thermal processing of cashew apple juice. **Food Chemistry**, 309, Article 125761.
7. BARBARA, J. A., NICOLLI, K. P., SOUZA-SILVA, E. A., BIASOTO, A. C. T., WELKE, J. E., & ZINI, C. A. (2020). Volatile profile and aroma potential of tropical Syrah wines elaborated in different maturation and maceration times using comprehensive two-dimensional gas chromatography and olfactometry. **Food Chemistry**, 308, Article 125552.
8. BARBARA, J. A., SILVA, E. A., BIASOTO, A. C., GOMES, A. A., CORREA, L. C., LEÃO, P., & ZINI, C. A. (2019). Maturation and maceration effects on

- tropical red wines assessed by chromatography and analysis of variance-principal component analysis. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 30, 1357–1377.
9. BIASOTO, A. C. T., NETTO, F. M., MARQUES, E. J. N., & DA SILVA, M. A. A. P. (2014). Acceptability and preference drivers of red wines produced from *Vitis labrusca* and hybrid grapes. **Food Research International**, 62, 456–466.
 10. BLOUIN, J., & PEYNAUD, E. ´ (2012). Connaissance et travail du (vin-5e ´ edition:). Dunod. Busse-Valverde, N., Bautista-Ortín, A., Gomez-Plaza, E., Fernandez-Fern´andez, J., & GilMunoz, R. (2012). Influence of skin maceration time on the proanthocyanidin content of red wines. European **Food Research and Technology**, 235(6), 1117–1123.
 11. BRAND-WILLIAND, W., CUVERLIER, M.E., AND BERSSET,C (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidante activity. **LWT – Food Science Technol.** 28: 25-30
 12. CADOT, Y., CAILL´E, S., SAMSON, A., BARBEAU, G., & CHEYNIER, V. (2012). Sensory representation of typicality of Cabernet franc wines related to phenolic composition: Impact of ripening stage and maceration time. **Analytica Chimica Acta**, 732, 91–99.
 13. CASTILLO-SANCHEZ, J., GARCÍA-FALCON, ´ M., GARRIDO, J., MARTÍNEZ-CARBALLO, E., MARTINSDIAS, L., & MEJUTO, X. (2008). Phenolic compounds and colour stability of Vinhao wines: Influence of wine-making protocol and fining agents. **Food Chemistry**, 106(1), 18–26.
 14. COCHRAN, W. G., & COX, G. M. (1957). Experimental designs. New York: John Wiley and Sons Inc. Conde, C., Silva, P., Fontes, N., Dias, A. C. P., Tavares, R. M., Sousa, M. J., Geros, ´ H. (2007). Biochemical changes throughout grape berry development and fruit and wine quality. **Food**, 1(1), 1–22.
 15. DAMASIO, M. H., & COSTELL, E. (1991). Analisis sensorial descriptivo: generacion ´ de descriptores y seleccion ´ de catadores. **Revista Agroquímica y Tecnología de Alimentos**, 31, 165–178.
 16. DE OLIVEIRA, J. B., FARIA, D. L., DUARTE, D. F., EGIPTO, R., LAUREANO, O., DE CASTRO, R., RICARDO-DA-SILVA, J. M. (2018). Effect of the harvest season on phenolic composition and oenological parameters of grapes and wines cv. ‘Touriga Nacional’ (*Vitis vinifera* L.) produced under tropical semi-arid climate, in the state of Pernambuco, Brazil. **Ciência e Técnica Vitivinícola**, 33(2), 145–166.

17. DE SOUZA NASCIMENTO, A. M., DE SOUZA, J. F., DOS SANTOS LIMA, M., & PEREIRA, G. E. (2018). Volatile profiles of sparkling wines produced by the traditional method from a semiarid region. **Beverages**, 4(4), 103.
18. DOS SANTOS LIMA, M., SILANI, I. D. S. V., TOALDO, I. M., CORRÊA, L. C., BIASOTO, A. C. T., PEREIRA, G. E., BORDIGNON-LUIZ, M. T., & NINOW, J. L. (2014). Phenolic compounds, organic acids and antioxidant activity of grape juices produced from new Brazilian varieties planted in the Northeast Region of Brazil. **Food Chemistry**, 161, 94-103.
19. GARRIDO, J., & BORGES, F. (2013). Wine and grape polyphenols—A chemical perspective. **Food Research International**, 54(2), 1844–1858.
20. GODELMANN, R., FANG, F., HUMPFER, E., SCHÜTZ, B., BANSBACH, M., SCHÄFER, H., & SPRAUL, M. (2013). Targeted and nontargeted wine analysis by ¹H NMR spectroscopy combined with multivariate statistical analysis. Differentiation of important parameters: Grape variety, geographical origin, year of vintage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 61(23), 5610–5619.
21. GOMEZ-MÍGUEZ, M., & HEREDIA, F. J. (2004). Effect of the maceration technique on the relationships between anthocyanin composition and objective color of Syrah wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 52(16), 5117–5123.
22. GORDILLO, B., BACA-BOCANEGRA, B., RODRIGUEZ-PULÍDO, F. J., GONZALEZ-MIRET, M. L., ESTEVEZ, I. G., QUIJADA-MORÍN, N., ESCRIBANO-BAILON, M. T. (2016). Optimisation of an oak chips-grape mix maceration process. Influence of chip dose and maceration time. **Food Chemistry**, 206, 249–259.
23. HOLZGRABE, U., & MALET-MARTINO, M. (2011). Analytical challenges in drug counterfeiting and falsification—The NMR approach. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 55(4), 679–687.
24. JACKSON, R. S. (2008). Wine science: Principles and applications. **Academic press**.
25. JORDAO, A., & CORREIA, A. (2012). Relationship between antioxidant capacity, proanthocyanidin and anthocyanin content during grape maturation of Touriga Nacional and Tinta Roriz grape varieties. **South African Journal of Enology and Viticulture**, 33(2), 214–224.

26. LAGHI, L., VERSARI, A., MARCOLINI, E., & PARPINELLO, G. P. (2014). Metabonomic investigation by ¹H-NMR to discriminate between red wines from organic and biodynamic grapes. **Food and Nutrition Sciences**, 5(1), 52–59.
27. LARSEN, F. H., VAN DEN BERG, F., & ENGELSEN, S. B. (2006). An exploratory chemometric study of ¹H NMR spectra of table wines. **Journal of Chemometrics**, 20(5), 198–208.
28. MALZ, F., & JANCKE, H. (2005). Validation of quantitative NMR. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 38(5), 813–823.
29. MOSKOWITZ, H. R. (1983). Product testing and sensory evaluation of foods: Marketing and R & D approaches. Westport: **Food & Nutrition Press**.
30. NILSSON, M., DUARTE, I. F., ALMEIDA, C., DELGADILLO, I., GOODFELLOW, B. J., GIL, A. M., & MORRIS, G. A. (2004). High-resolution NMR and diffusion-ordered spectroscopy of port wine. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 52(12), 3736–3743.
31. OGRINC, N., KOSIR, I. J., SPANGENBERG, J. E., & KIDRIC, J. (2003). The application of NMR and MS methods for detection of adulteration of wine, fruit juices, and olive oil. A review. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 376(4), 424–430.
32. PEREIRA, G. E., GAUDILLERE, J.-P., VAN LEEUWEN, C., HILBERT, G., LAVIALLE, O., MAUCOURT, M., ROLIN, D. (2005). ¹H NMR and Chemometrics to characterize mature grape berries in four wine-growing Areas in Bordeaux, France. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 53(16), 6382–6389.
33. PETROPULOS, V. I., BOGEVA, E., STAFILOV, T., STEFOVA, M., SIEGMUND, B., PABI, N., & LANKMAYR, E. (2014). Study of the influence of maceration time and oenological practices on the aroma profile of Vranec wines. **Food Chemistry**, 165, 506–514.
34. RIBÉREAU-GAYON, P., GLORIES, Y., MAUJEAN, A., & DUBOURDIEU, D. (2021). **Handbook of Enology, volume 2: The chemistry of wine stabilization and treatments: John Wiley & Sons**.
35. SACCHI, K. L., BISSON, L. F., & ADAMS, D. O. (2005). A review of the effect of winemaking techniques on phenolic extraction in red wines. **American Journal of Enology and Viticulture**, 56(3), 197–206.

36. SON, H.-S., HWANG, G.-S., KIM, K. M., AHN, H.-J., PARK, W.-M., VAN DEN BERG, F., LEE, C.-H. (2009). Metabolomic studies on geographical grapes and their wines using ^1H NMR analysis coupled with multivariate statistics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 57(4), 1481–1490.
37. STONE, H. S., SIDEL, J. L., OLIVER, S., WOOSLEY, A., & SINGLETON, R. C. (1974). Sensory evaluation by Quantitative descriptive analysis. **Food Technology**, 28, 24–34.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste estudo, foi observado que práticas agronômicas (determinação do estágio de maturação) e enológicas (tempo de maceração) influenciaram na qualidade físico-química, sensorial e nutracêutica do vinho tinto da cultivar Touriga Nacional elaborado no Submédio do Vale do São Francisco (SVSF), assim como a época do ano de colheita (“safra de verão” ou “safra de inverno”). Este trabalho confirmou que o estágio de maturação e prolongamento da maceração contribuíram de forma positiva na composição físico-química, nutracêutica e estabilidade dos vinhos tintos tropicais elaborados.

Os resultados deste estudo são cruciais para ampliar a compreensão da comunidade científica sobre a composição química e características sensoriais do vinho tinto tropical elaborado com a cultivar Touriga Nacional. As informações fornecidas na pesquisa podem orientar os produtores do Submédio do Vale do São Francisco e de outras regiões que praticam a vitivinicultura tropical na tomada de decisões cruciais relacionadas à data de colheita, estágio de maturação e tempo de duração da maceração, com o objetivo de alcançar a produção de vinhos de alta qualidade e maior estabilidade química. A relevância deste estudo é evidente ao fornecer *insights* valiosos para os produtores da região do Submédio do Vale do São Francisco e outros ao redor do mundo, com o intuito de melhorar a qualidade e a competitividade dos vinhos tintos produzidos, em especial a partir da cultivar Touriga Nacional. Além disso, o estudo destaca o potencial promissor da região e da cultivar para a produção de vinhos tintos de alta qualidade, proporcionando uma base sólida para o contínuo desenvolvimento da vitivinicultura local e sua contribuição para a economia regional, gerando grande número de empregos diretos e indiretos. Essa valorização da produção local não apenas fortalece a indústria vinícola brasileira, mas também fomenta o crescimento econômico do semiárido nordestino e o reconhecimento internacional da região como produtora de vinhos distintos e de excelência.

CAPÍTULO III

APÊNDICE 1

Nome _____ Data ____/____/____

- 1- Avalie o primeiro conjunto de aromas codificados e atribua um termo descritivo a cada amostra.
- 2- 2- Avalie o segundo conjunto de aromas e relacione cada aroma deste conjunto ao correspondente aroma do primeiro conjunto.

Nº Amostra do conjunto 1

Nº Amostra do conjunto 2

Descritor

Comentários: _____

APÊNDICE 2

Tabela com as concentrações das soluções utilizadas para o teste de reconhecimento de gostos básicos

Compostos	Concentração (%)	Sensação
Cloreto de sódio (NaCl)	0,15	Gosto salgado
Cloreto de sódio (NaCl)	0,8	Gosto salgado
Sacarose	0,4	Gosto doce
Sacarose	0,8	Gosto doce
Ácido cítrico	0,04	Gosto ácido
Ácido cítrico	0,07	Gosto ácido
Cafeína	0,03	Gosto amargo
Cafeína	0,06	Gosto amargo
Ácido tartárico (ácido tânico?)	0,1	Adstringência
Ácido tartárico	0,3	Adstringência
Água potável	-	Insípida

APÊNDICE 3

Nome: _____ Data: _____

Por favor, prove da esquerda para a direita cada uma das amostras codificadas duas vezes e identifique com um "X" o gosto percebido: doce, salgado, ácido (azedo) ou amargo. Se você não perceber nenhum gosto (água pura) ou perceber outra sensação, marque um "X" em outros e especifique. Enxágüe a boca com água entre uma amostra e outra.

Nº amostra	Doce	Ácido	Salgado	Amargo	Outros: Especifique

Comentários: _____

APÊNDICE 4

Nome: _____		Data: _____	
Você está recebendo três amostras de vinho tinto. Por favor, agrupe as amostras duas a duas e avalie as similaridades e diferenças entre cada par de amostra squanto a Aparência, Aroma, Sabor e Sensações bucais (textura) das mesmas.			
Amostras : _____ e _____			
SIMILARIDADES		DIFERENÇAS	
Aparência:			
Aroma:			
Sabor:			
Sensações bucais (textura):			

APÊNDICE 5

Ficha de avaliação, com os descritores associados a escala não estruturada de 9 cm, ancorada nos extremos esquerdo e direito com os termos que expressam intensidade, como "nenhum/fraco" e “forte” dos vinhos da cultivar Touriga Nacional.

Nome: _____ Repetição: _____ Amostra: _____		
APARÊNCIA		

Cor vermelho rubi	Pouco intensa	muita intensa
AROMA		

Intensidade aromática	Fraca	Forte

Alcólico	Fraco	Forte

Frutas vermelhas	Fraco	Forte

Acético	Nenhum	Forte
SABOR/GOSTO		

Persistência Gustativa	Pouca	Muita

Acidez	Nenhuma	Muita

Amargor	Nenhum	Muito

Adocicado	Nenhuma	Muita

Alcoólico	Pouco	Muito

Frutado	Nenhum	Muito
SENSAÇÕES BUCAIS DE TEXTURA		

Corpo	Pouco	Muito

Adstringência	Pouca	Muita

APÊNDICE 6

Definição dos termos descritivos e respectivas referências de intensidade consensualmente desenvolvidas pela equipe sensorial para os vinhos Touriga Nacional elaborados com diferentes tipos de maturação e tempos de maceração.

APARÊNCIA		
COR VERMELHO RUBI	Intensidade da tonalidade vermelho rubi no vinho.	
Referências	Pouco intensa	Livro de cor Munsell 2.5 R 4/6
	Muito intensa	Livro de cor Munsell 5 R 3/4
AROMA		
INTENSIDADE AROMÁTICA	Concentração de compostos voláteis da amostra, cujo efeito é captado pelos órgãos olfativos do julgador. Excluem-se os compostos voláteis indesejáveis e de carácter negativo para o vinho, resultantes de problemas da matéria-prima ou tecnológicos.	
AROMA ALCOÓLICO	Aroma característico de álcool etílico	
Referências	Fraco	Solução com 6% de álcool etílico.
	Forte	Solução com 16% de álcool etílico.
FRUTAS VERMELHAS	Aroma característico de cereja, morango.	
Referências	Nenhum	Água destilada
	Forte	20 g de morango fresco amassado; 1 gota essência de cereja (<i>Le Nez du Vin</i>) em tira de papel cromatográfico (<i>Le Nez du Vin</i> , fabricado por BOCCATI, Caxias do Sul-RS) 50 mL de vinho tinto Syrah (Rio Sol Safra 2017) com 20g de morango
AROMA ACÉTICO	Aroma característico de ácido acético.	
Referências	Nenhum	Água destilada
	Forte	Solução aquosa de vinagre a 0,25%
SABOR/ GOSTO/ SENSAÇÕES BUCAIS DE TEXTURA		
PERSISTÊNCIA GUSTATIVA	Deve ser avaliada imediatamente após a passagem do vinho em boca, quando o degustador engole uma pequena porção da amostra, rejeita o restante e expira pela boca e pelo nariz simultaneamente. É o tempo em que a sensação retronasal (percepção aromática/gustativa/táctil) se faz sentir até dissipar-se completamente. Dura poucos segundos e pode variar do simples ao quádruplo.	
ALCOÓLICO	Sabor característico de bebida alcoólica, que provoca ardência em boca devido ao etanol.	
Referências	Pouco	Vinho tinto Syrah (Rio Sol Safra 2017) diluído em água mineral na proporção de 1:1
	Muito	Destilado de vinho Miolo Brandy Imperial com teor alcóolico de 36% (Miolo Wine Group).
FRUTADO	Sabor associado a presença de frutas vermelhas (cereja, morango).	

Referências	Nenhum	Água destilada
	Muito	Chá de frutas vermelhas (marca Dr. OETKER preparado conforme a recomendação do fabricante).
ACIDEZ	Gosto “azedo” associado ao ácido tartárico, málico ou cítrico.	
Referências	Nenhum	Água destilada
	Muita	Solução aquosa de ácido tartárico a 0,07%
AMARGOR	Gosto amargo associado à solução de cafeína.	
Referências	Nenhum	Água destilada
	Muito	Solução aquosa de cafeína a 0,06%
ADOCICADO	Gosto doce associado a presença de açúcares no vinho.	
Referências	Nenhum	Água destilada
	Muito	Solução aquosa de sacarose a 0,8%
ADSTRINGÊNCIA	Sensação bucal de “secura” e “amarração” na boca ao engolir o vinho.	
Referências	Pouca	Solução aquosa com 1 g/L de ácido tânico
	Muita	Solução aquosa com 3g/L de ácido tânico
CORPO	Sensação de volume e preenchimento na boca ao engolir o vinho.	
Referências	Pouco	Vinho tinto Syrah (Rio Sol Safra 2017, com teor alcóolico de 13%) diluído em água mineral na proporção de 1:1
	Muito	Destilado de vinho Miolo Brandy Imperial com teor alcóolico de 36% (Miolo Wine Group).