



Aplicação dos Métodos de Análise Multivariável aos Dados de Espectrofotometria para Classificar a Qualidade dos Mostos e Vinhos

EMANUEL FILIPE DA SILVA LOPES

Outubro de 2020

Aplicação dos Métodos de Análise Multivariável aos Dados de Espectrofotometria para Classificar a Qualidade dos Mostos e Vinhos

**Dissertação Submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em
Engenharia Química, ramo opcional de Qualidade**

Outubro de 2020

Autor

Emanuel Filipe da Silva Lopes

Orientação

Doutor Frank Rogerson – Symington Family Estates

Professora Doutora Maria Teresa Oliva Teles – ISEP (Orientador)

Professor Doutor Gilberto Pinto – ISEP (Co-Orientador)

Resumo

As características físico-químicas do mosto e do vinho apresentam uma elevada relevância para os seus produtores. Estas características dão indicação sobre a qualidade, estabilidade, entre outras informações, destes produtos. Uma das formas de quantificar estes parâmetros é através de métodos espectrofotométricos. Através da utilização destas características é possível desenvolver modelos estatísticos, recorrendo à análise multivariável para a classificação das qualidades entre amostras, mostos e vinhos.

As amostras analisadas foram obtidas durante o processo de controlo de maturação e durante a vindima (lotas de Vinho do Porto, ou seja, referem-se a amostras antes do processo fermentativo), nos anos de 2018 e 2019, na *Symington Family Estates*.

Antes da análise das amostras pelos métodos espectrofotométricos (de absorção no infravermelho e visível), foi analisado o teor de dióxido de enxofre. Desta análise verificou-se que as amostras recolhidas durante o controlo de maturação se encontravam aptas para a análise multivariável, neste caso a análise de componentes principais (PCA), enquanto que a maioria das amostras de lotas de vinho do Porto apresentavam níveis de dióxido de enxofre elevados, superiores a 300 mg/L, sendo descartadas as análises destas últimas.

Através da análise de PCA de semanas distintas do controlo de maturação de 2018 e 2019, em que a variação da densidade é de 3,14 %, expressa em °Bé, entre as semanas em estudo, verificou-se que as origens Bomfim e Malvedos apresentam maior quantidades de açúcares (maior grau de Baumé), maior pH e maior quantidades de nutrientes, em relação às restantes origens (Ataíde, Cavadinha, Roriz, Senhora da Ribeira, e Vesúvio).

Palavras chave: Análise multivariável, Análise de Componentes principais, Controlo de maturação, Mosto, Radiação eletromagnéticas, Espectrofotometria de Infravermelho e Visível, Vinho do Porto

Abstract

The physical and chemical characteristics of must and wine are highly relevant for their producers. These characteristics give an indication of the quality, stability, and other information of these products. One of the ways of quantifying these parameters is through spectrophotometric methods. By using these characteristics, it is possible to develop statistical models, through multivariable analysis, for the classification of qualities between samples, musts and wines.

The samples analysed were obtained during the maturation control process and during the harvest (Port lots) in 2018 and 2019 at *Symington Family Estates*.

The grape must sulphur dioxide content was evaluated using the aspiration method before spectrophotometric characterization (infrared and visible absorption). The low variance in must [SO₂] demonstrated that the samples taken during the ripening control were within acceptable values, adequate to proceed with robust multivariable analysis, in this case Principal Component Analysis (PCA). The majority of Port wine lot samples had excessively high levels of sulphur dioxide added to inhibit fermentation, over 300 mg/L, unacceptable for evaluation.

PCA analysis of the samples obtained during the maturation control in 2018 and 2019, selected for their low comparable variation of 3,14 % in density, expressed in °Bé, showed that the origins Bomfim and Malvedos had higher sugar levels (increased degree of Baumé), higher pH and higher quantities of nutrients, in relation to the other origins (Ataíde, Cavadinha, Roriz, Senhora da Ribeira, e Vesúvio).

Keywords: Multivariate analysis, Principal components analysis, Maturation control, Must, Port Wine, Electromagnetic radiation, Infrared and Visible Spectrophotometry

Agradecimentos

Durante a realização deste estágio curricular existiram várias pessoas e entidades que contribuíram de forma relevante para a execução do mesmo. Daí gostaria de apresentar um sincero agradecimento:

À *Symington Family Estates* por possibilitar a realização da minha dissertação da tese nesta empresa.

Ao Doutor Frank Rogerson por toda a ajuda prestada e disponibilidade que demonstrou ao longo deste percurso, e por todos os conhecimentos transmitidos.

Ao Ricardo pela ajuda dispensada ao longo de todo o meu percurso pela empresa.

A todos os colaboradores da *Symington Family Estates* um agradecimento especial pelo seu acolhimento e pelo bom ambiente criado.

Ao Instituto Superior de Engenharia do Porto, por todos os conhecimentos dados, que possibilitaram a realização desta dissertação, e por todos os bons momentos aí vividos.

À Professora Doutora Teresa Teles e ao Professor Douter Gilberto Pinto, pela disponibilidade, orientação, conhecimento transmitido que tornaram possíveis o desenvolvimento de estágio.

A todos os docentes do ISEP, com que me cruzei ao longo do meu percurso académico, por tudo que me ensinaram durante este percurso.

Aos meus pais, por me terem sempre apoiado em todas as minhas decisões e sempre disponíveis a ajudar.

Aos meus amigos, pela paciência e pelos bons momentos passados durante todo o meu percurso.

Índice

1. Introdução	1
1.1. Enquadramento do trabalho.....	1
1.2. Objetivos.....	1
1.3. A <i>Symington Family Estates</i>	2
2. Fundamentos teóricos	3
2.1. Vinho do Porto.....	3
2.2. Controlo de maturação.....	4
2.2.1. Processo de maturação da uva.....	5
2.2.2. Evolução dos principais compostos do bago.....	6
2.3. Características físico-químicas do mosto e do vinho	8
2.4. Métodos Espectrofotométricos.....	9
2.4.1. Espectrofotometria de absorção	10
2.4.2. Espectrofotometria no Infravermelho (IV)	11
2.5. Análise Multivariável	13
2.5.1. Estatística	14
2.5.2. Análise de componentes principais (PCA).....	16
3. Materiais e Métodos.....	19
3.1. Amostras	19
3.2. Instrumentação & <i>Software</i>	20
3.3. Procedimentos	23
3.3.1. Quantificação SO ₂ total nas amostras.....	23
3.3.2. Quantificação dos pigmentos nas amostras.....	23
3.3.3. Análise PCA.....	24
4. Resultados e discussão	25
4.1. Impacto do SO ₂ na propriedades físico-químicas do mosto.....	25

4.2.	Influência do processo de congelação das amostras.....	30
4.3.	Concentração de SO ₂ nas amostras	32
4.4.	Evolução dos parâmetros ao longo de controlo de maturação.....	34
4.5.	Análise de componentes principais durante o controlo de maturação, em diferentes origens	37
5.	Conclusões	45
	Bibliografia.....	47
	Anexos.....	51
	Anexo A – Procedimento <i>Matlab</i>	51

Índice de Figuras

Figura 2.1 - Representação genérica da estrutura química da antocianina [14].....	8
Figura 2.2 - Espectro eletromagnético de radiação.....	9
Figura 2.3 - Espectrofotómetro MIR OenoFOSS [20].....	12
Figura 2.4 - Representação gráfica de 2 variáveis [22].....	14
Figura 3.1 - Exemplo de uma parcela, numa vinha [28] (imagem adaptada).....	19
Figura 3.2 - Espectrofotómetro PowerWaveXS, da BioTek [29].....	21
Figura 3.3 - Espectrofotómetro JAZ [31]	22
Figura 3.4 - Estrutura do grupo tiol.....	23
Figura 4.1 - Influência do SO ₂ nas amostras de mosto.....	26
Figura 4.2 - Representação gráfica dos scores (esquerda) e loadings (direita) do PCA aplicado aos parâmetros do OenoFOSS, do ensaio de SO ₂ , das amostras CMat19 ¹	27
Figura 4.3 - Representação gráfica dos scores do PCA aplicado aos resultados do JAZ, para o ensaio de SO ₂ , das amostras CMat19.....	29
Figura 4.4 - Representação gráfica dos scores do PCA aplicado aos parâmetros do OenoFOSS, das amostras antes e após congelação, das amostras CMat19.	30
Figura 4.5 - Representação gráfica dos scores do PCA aplicado às absorvâncias NIR-MIR do OenoFOSS, das análises antes e após a congelação, das amostras CMat19.....	31
Figura 4.6 - Representação gráfica dos scores do PCA aplicado às absorvâncias VIS-NIR do JAZ, das análises antes e após a congelação, das amostras CMat19	32
Figura 4.7 - Distribuição das lotas de VP, em cada origem, de acordo com a concentração de SO ₂ , de 2018.....	33
Figura 4.8 - Distribuição das lotas de VP, em cada origem, de acordo com a concentração de SO ₂ , de 2018.....	34
Figura 4.9 - Cinética de evolução baumé ao longo do controlo de maturação no ano de 2018 e 2019.....	35
Figura 4.10 - Cinética de evolução da acidez total ao longo do controlo de maturação no ano de 2018 e 2019	35
Figura 4.11 - Cinética de evolução do pH ao longo do controlo de maturação no ano de 2018 e 2019	36
Figura 4.12 - Cinética de evolução da concentração de ácido málico ao longo do controlo de maturação no ano de 2018 e 2019.....	36

Figura 4.13 - Análise PCA da 5ª semana de controlo de maturação, de 2018, tendo como variáveis os parâmetros do OenoFOSS (scores à esquerda e loadings à direita) ²	38
Figura 4.14 - Análise PCA da 4ª semana de controlo de maturação, de 2019, tendo como variáveis os parâmetros do OenoFOSS (scores à esquerda e loadings à direita) ³	40
Figura 4.15 - Análise PCA da 5ª semana de controlo de maturação, de 2018, tendo como variáveis os parâmetros do OenoFOSS e as absorvâncias a 420, 520 e 620 nm (scores à esquerda e loadings à direita) ⁴	41
Figura 4.16 - Análise PCA da 4ª semana de controlo de maturação, de 2019, tendo como variáveis os parâmetros do OenoFOSS e as absorvâncias a 420, 520 e 620 nm (scores à esquerda e loadings à direita)	42
Figura 4.17 - Precipitação, em mm, nos anos de 2018 e 2019, na origem BFM	43

Índice de Tabelas

Tabela 3.1 - Parâmetros obtidos para o mosto, através do OenoFOSS.....	21
Tabela 4.1 - Níveis de SO ₂ nas amostras do ensaio de SO ₂	25
Tabela 4.2 - Influência do SO ₂ nas absorvâncias a 420, 520 e 620 nm, das amostras	28
Tabela 4.3 - Variação (VAR) da absorvâncias das amostras, em relação à amostra A.1, nos comprimentos de onda de 420, 520 e 620 nm.....	28

Lista de abreviaturas

CMat18 – Amostras do controlo de maturação de 2018

CMat19 – Amostras do controlo de maturação de 2019

covX – Matriz de covariância

LotasVP18 – Lotas de vinho do Porto de 2018

LotasVP19 – Lotas de vinho do Porto de 2019

Lista de siglas

ATD - Ataíde

A.M – Ácido málico

A.G – Ácido glucónico

A.T – Acidez total

A.Ta – Ácido tartárico

A.V – Acidez volátil

BFM – Bomfim

CAV - Cavadinha

DOC – Demarcação de origem controlada

FIV – Radiação infravermelha distante

IV – Radiação infravermelha

MAL - Malvedos

MIV – Radiação infravermelha média

NIV – Radiação infravermelha próxima

“N” orgânico – Azoto orgânico (*Alpha amino nitrogen*)

“N” inorgânico – Azoto inorgânico (Amoníaco)

PC – Componente principal

PCA – Análise de componentes principais

SR – Senhora da Ribeira

RZ - Roriz

TN – Touriga Nacional

UV – Radiação ultravioleta

VP – Vinho do Porto

VAR – Variação de absorvâncias

VES - Vesúvio

VIS – Radiação visível

YAN – Azoto facilmente assimilado pelas leveduras

Lista de símbolos

A – Absorvância

b – Percurso ótico

c – Concentração de analito na amostra

P – Potência da radiação detetada pelo detetor

P_0 – Potência de radiação emitida pela fonte

s – Desvio padrão

s^2 – Variância

T – Transmitância

ε - Absortividade

ρ – Massa volúmica

1. Introdução

1.1. Enquadramento do trabalho

O presente trabalho resultou na necessidade de estudar as mais valias do armazenamento e processamento dos dados obtidos durante o controlo de maturação e de vindima de 2018 e 2019, através da utilização de métodos estatísticos, que permitissem uma correlação entre grandes conjuntos de dados, por métodos multivariáveis, aplicados a dados do mosto e vinho, obtidos por métodos espectrofotométricos.

Com este projeto pretendeu-se tratar os dados recolhidos, através da aplicação de metodologias estatísticas, explorando as diferentes qualidades dos mostos e vinhos, organizando os dados por tendências em quintas e/ou adegas. Em vista disso, pretendia-se chegar a um modelo estatístico de correlação entre a “impressão digital” química (do inglês, *fingerprints*) da qualidade dos mostos, de forma a entender os tipos de vinhos que poderão ser produzidos. A “impressão digital” química representa o espectro de absorvância, na região do infravermelho, sendo este característico de uma substância química ou biológica.

O estágio para a realização desta dissertação decorreu no Laboratório de Investigação e Desenvolvimento, da *Symington Family Estates*.

1.2. Objetivos

Neste projeto foi feita a avaliação da base de dados de espectros espectrofotométricos de análises por infravermelho (IV) e por visível (VIS) de mostos, através de métodos multivariáveis de estatística, com o objetivo de classificar a qualidade em (i) quintas e (ii) em adegas, por *clusters*. Os *clusters* representam conjuntos de amostras, em que as suas características são semelhantes entre si.

Outro objetivo proposto foi o estudo da influência do dióxido de enxofre nas amostras, para verificar qual o comportamento das amostras com níveis de SO₂ elevados, num conjunto geral. Também foi analisada a influência dos processos de tratamento da amostra, em especial do processo de congelação destas.

Apesar de na empresa *Symington Family Estates* existir uma variedade de produtos finais, o produto em foco foi o Vinho do Porto, e as uvas que deram origem a este tipo de vinho da casta Touriga Nacional (TN).

Para a concretização destes objetivos, foi efetuada uma acumulação e atualização da base de dados dos *fingerprints* espectrais e resultados, de mostos e vinhos da *Symington*.

1.3. A *Symington Family Estates*

A *Symington Family Estates* é uma das principais proprietárias de vinhas no Douro, com 26 quintas, abrangendo um total de 2 255 hectares, dos quais 1 024 hectares de vinha no vale do Douro. A maior vinha da empresa é a Quinta do Vesúvio, no Douro Superior, com 133 hectares e, a mais pequena, situada no Vale do Rio Torto, Quinta da Madalena, com 7 hectares. Todas as vinhas são geridas ao abrigo de uma política de intervenção mínima, e dos 1024 hectares, 112 seguem o regime de Modo de Produção Biológico. A *Symington Family Estates* é uma empresa familiar, gerida atualmente pela 4^a e 5^a geração, sendo proprietárias de quatro grandes casas históricas de vinho do Porto, *Graham's*, *Cockburn's*, *Dow's* e *Warre's*. Para além da produção de vinho do Porto, também se dedica à produção de vinhos do Douro, como vinhos da Quinta do Vesúvio, Quinta do Ataíde, Altano, *Prats & Symington*, e mais recentemente, na região do Alto Alentejo, a Quinta da Fonte do Souto. [1]

A família *Symington* tem liderado no campo da inovação em viticultura e enologia com uma equipa de I&D que esta constantemente a explorar novos desenvolvimentos na vinha e na adega, tendo desenvolvido o primeiro Lagar Robótico, para a produção dos vinhos do Porto e Denominação de Origem Controlada (DOC) Douro. [1]

A *Symington Family Estates* tem como missão criar valor e prestígio para a empresa e para os produtos produzidos, de forma a entregar no futuro uma empresa melhor do que a que lhe foi confiada. Esta empresa vê a tradição como uma herança, e a inovação e a qualidade como um compromisso, tem paixão e orgulho no que é feito e respeito pelas pessoas. Os objetivos da *Symington Family Estates* é ser líder e reconhecida como tal no mercado de vinhos do Douro e Porto com as marcas produzidas e assegurar uma rentabilidade sustentada na produção e comercialização dos produtos. [1]

2. Fundamentos teóricos

Neste capítulo serão abordados alguns fundamentos necessários para as análises e compreensão dos resultados obtidos ao longo da presente dissertação. Em primeiro lugar, será dada uma pequena definição de vinho, destacando o Vinho do Porto, e o seu processo antes da fabricação. Depois serão abordados os métodos espectrofotométricos usados nas análises químicas e, por fim, os conceitos da análise multivariada, e da análise de componentes principais.

O vinho é definido como o produto obtido através da fermentação alcoólica (total ou parcial) da uva fresca (pisada ou não), ou do mosto de uvas frescas. O processo de produção de vinho pode ser dividido em três etapas: a viticultura, a vinificação e o engarrafamento. A primeira etapa é caracterizada por um conjunto de atividades que permitem que o solo da vinha produza uvas com qualidade, quantidade e estado sanitário adequado. A vinificação representa o conjunto de atividades de processamento das uvas para a obtenção do vinho. E por fim, a etapa final compreende o processo de engarrafamento. [2]

Existem diferentes tipos de vinho, que dependem das castas de uvas e das técnicas de vinificação. Neste estágio foram apenas abordados os Vinhos do Porto (VP).

2.1. Vinho do Porto

O VP é um vinho licoroso, produzido na Região Demarcada do Douro (DOC Douro), sob condições peculiares derivadas de fatores naturais e humanos. O processo de vinificação deste tipo de vinho é baseado na tradição, que inclui a paragem da fermentação do mosto pela adição de aguardente vínica, a lotação de vinhos, ou seja, a homogeneização das massas, e o envelhecimento. [3]

O VP destaca-se dos vinhos comuns pelas suas características peculiares, entre elas uma enorme diversidade de tipos, persistência elevada quer do aroma quer do sabor, e um teor alcoólico elevado (normalmente compreendido entre os 19 e os 22 % vol). [3]

O processo de produção do Vinho do Porto

A primeira etapa da vinificação consiste na separação dos caules lenhosos (engaço) das uvas. Após esta etapa, procede-se ao esmagamento das uvas por meio de pisa a pé em lagares (método tradicional) ou por meios de sistemas de extração mecânica, com remontadores, ou pisa mecânica que permite a libertação e separação do líquido e sólidos, sendo o produto final deste processo definido como mosto. É nesta fase que são feitas as primeiras correções de acidez, pH e nutrientes do mosto, para melhorar o desenvolvimento da fermentação. A etapa seguinte consiste na movimentação periódica das massas para promover a ventilação e a multiplicação celular das leveduras, responsáveis pela transformação do açúcar em álcool (fermentação alcoólica). [4]

A etapa anterior é cessada pela fase de fortificação, sendo esta fase definida pela densidade da lota antes do início da fermentação (expressa em grau de Baumé, °Bé, uma escala hidrométrica utilizada para a medição de densidade de líquidos). Esta densidade representa a quantidade de açúcar presente no mosto. Nesta fase, a fermentação é interrompida pela adição de aguardente vínica, com aproximadamente 77 % (v/v) de álcool, sendo esta efetuada quando metade do açúcar natural do mosto foi transformado em álcool durante a fermentação. O aumento rápido do grau alcoólico do vinho não permite que as leveduras sobrevivam e, assim, deixa de ocorrer a degradação dos açúcares em álcool. Desta forma, o açúcar presente depois da fortificação (e no vinho final) é totalmente proveniente da uva. [3,4]

A maceração das massas é uma fase fundamental na elaboração do VP, pois como a fermentação é interrompida depois do metabolismo de cerca de metade do açúcar total, o tempo para a extração de todos os compostos da película é muito curto. Desta forma, é necessária uma maceração intensa de forma a garantir uma boa extração das antocianinas e dos taninos, que se encontram nas películas das uvas. Este processo é importante, pois as antocianinas coradas, que dão a cor ao produto final, e os taninos (matéria corante e aromática), encontram-se situadas maioritariamente nas películas das uvas. [4]

2.2. Controlo de maturação

O controlo de maturação, é o processo que permite um controlo mais rigoroso das uvas, de forma que estas possam adquirir as características desejadas pelo viticultor, nomeadamente

para a decisão, dentro dos limites possíveis, a data da vindima. Este controlo deverá ser iniciado na fase de maturação, uma vez por semana no início desta fase, e posteriormente, duas vezes por semana. [5]

O nível de maturação é o primeiro fator, e provavelmente o mais importante, na determinação da qualidade do vinho. Este nível é o resultado de fenómenos fisiológicos e bioquímicos complexos, cujo desenvolvimento e intensidade são inerentes às condições do meio envolvente (tipo de casta, solo e clima). Em comparação com outros frutos, o estudo da uva, para a produção de vinho, apresenta várias complicações, como o controlo do açúcar e da acidez, e outros parâmetros, para a produção de vinhos com qualidade, o crescimento do bago, a estimativa do rendimento da produção, devido às elevadas diferenças que existem entre parcelas e castas. [7]

Desta forma, o estudo do controlo de maturação, apresenta dificuldades devido à extrema variabilidade da composição do fruto, até para a mesma casta, sendo necessário a aplicação de uma análise multivariada, como será explicado posteriormente.

2.2.1. Processo de maturação da uva

O desenvolvimento dos bagos começa com a polinização e continua até que estes fiquem maduros. Este desenvolvimento é traduzido pelo aumento do volume dos bagos, evolução das características físicas e composição química (açúcares, acidez e compostos fenólicos). Durante este processo, podem ser distinguidos quatro períodos:

1. Período herbáceo;
2. Pintor
3. Período de maturação;
4. Período de sobre-maturação;

Durante o período herbáceo o bago, verde e duro, aumenta de volume, estando dependente do tipo de casta e condições ambientais externas. Neste período o pigmento predominante é a clorofila. Os bagos apresentam uma atividade metabólica intensa, caracterizada por uma atividade respiratória elevada e um acúmulo rápido de ácidos. [6,7]

A fase posterior é o pintor, onde se verifica uma estagnação do crescimento do bago, em que existe uma perda de clorofila e o aparecimento de matérias corante, que no caso das castas tintas é fruto da acumulação de antocianinas e outros compostos, como taninos. Ainda nesta fase, ocorre um aumento da quantidade de açúcares e uma diminuição da acidez. [5,6]

O período de maturação ocorre na fase do pintor, ocorrendo o crescimento do cacho e consequentemente um aumento do volume e do peso do bago, e também a sua consistência e composição química. Nesta fase, continua a ocorrer um aumento dos açúcares e diminuição da acidez. [5,6]

No período de sobre-maturação, poderá ocorrer um aumento da dureza do engaço, caso a vindima seja tardia, o que provoca uma interrupção do fornecimento de compostos ao bago, perda de água por parte do bago, aumentando a concentração dos açúcares e diminuição do peso do bago. [5,6]

2.2.2. Evolução dos principais compostos do bago

Devido à complexidade do bago, as cinéticas dos diferentes compostos químicos presentes no bago são diferentes, sendo que estes são sintetizados em diferentes alturas e sobre condições diferentes.

Açúcares

Os açúcares são sem dúvida o principal ponto de referência para a determinação do estado de maturação da uva, sendo que é a partir deste que é possível prever o teor alcoólico do vinho. Os principais açúcares da uva são a glucose e a frutose, que serão fermentados, dando origem ao álcool presente no vinho. [8,9]

A composição dos açúcares é influenciada por diversos fatores como o tipo de casta, o clima, as técnicas vinícolas e a disponibilidade de água no solo. Esta composição é definida pela relação glucose/frutose, que tem um valor superior a dois logo após o pintor, decrescendo ao longo das semanas que antecedem a vindima, devido à maior taxa de hidrólise de frutose. [9]

A formação de açúcares inicia-se com a fase do pintor, com uma cinética acelerada, no entanto começa a abrandar e a estabilizar nas semanas que antecedem a vindima, sendo esta fase definida como *plateau*. [6]

Acidez total

A acidez total (AT) é um parâmetro importante para a definição do estado de maturação da uva, pois influencia a estabilidade do vinho, afetando o potencial de envelhecimento e o seu equilíbrio físico-químico. O controlo deste parâmetro é necessário para a manutenção do equilíbrio microbiológico, e também é importante na qualidade organolética dos vinhos. Esta acidez deve-se principalmente a três ácidos orgânicos, o ácido tartárico, o ácido málico, e o ácido cítrico e alguns ácidos fenólicos. [8,10]

A AT resulta de dois tipos de acidez: a volátil (AV) e a fixa. A AV representa os ácidos mais voláteis, que podem ser removidos durante uma destilação, enquanto que a acidez fixa caracteriza os menos voláteis como o ácido tartárico e ácido málico.

A composição ácida de um mosto, e por consequência a acidez total, depende das condições geográficas e climatéricas, principalmente da humidade do solo e temperaturas ao longo do processo de maturação. No entanto, pode existir um controlo deste parâmetro, através de um conjunto de operações na vinha durante a maturação, como a decisão da data de vindima. [7]

Antocianinas

As antocianinas, são compostos fenólicos específicos das castas tintas, e encontram-se principalmente na película do bago, com exceção das castas tintureiras, como é o caso da variedade *Alicante Bouchet* e *Sousão*. A antocianina tem como constituinte principal a Malvidina-3-O-glucosido, que é responsável pela cor avermelhada destas castas. [7]

A evolução deste composto ao longo da maturação é definida por três fases. Na primeira fase existe um crescimento moderado, tendo depois um crescimento mais acelerado na fase do pintor. Na última fase há uma estabilização do aumento deste composto e ocorre próximo ao final da maturação. [9]

A concentração de antocianinas é dependente de alguns fatores, como a temperatura e a radiação solar, pois influencia os processos metabólicos da planta e, conseqüentemente, a produção de antocianinas. O *stress* hídrico também é um fator importante, pois existe uma

tendência para a diminuição do volume do bago, alterando a relação polpa/película. Como as antocianinas se encontram principalmente na película, estas ficam em maior concentração no mosto. É importante realçar que a concentração de antocianinas no mosto é dependente da facilidade do processo de extração. [9, 11, 12]

2.3. Características físico-químicas do mosto e do vinho

As características físico-químicas do mosto e do vinho apresentam uma grande relevância para os seus produtores. No caso dos mostos, a quantificação de alguns parâmetros como pH, concentração de açúcares, acidez e pigmentos, permite fazer correções iniciais no mosto para a obtenção de vinhos finais com mais qualidade. Algumas características físico-químicas do vinho são quantificadas através de métodos de análise espectrofotométrica.

Um destes métodos é a utilização da espectrofotometria de absorção no infravermelho (IV) com a aplicação da transformada de Fourier, para a determinação de parâmetros físico-químicos, como pH, densidade, AT e AV. Estes parâmetros são determinados através das características espectrais das uvas e dos vinhos, e a aplicação de métodos de calibração, previamente desenvolvidos pelo fabricante de equipamentos utilizados nos laboratórios. [13]

Outra técnica usualmente utilizada em controlo de qualidade de mostos e vinho é a espectrofotometria de absorção, na região do visível (VIS), principalmente, na determinação dos parâmetros que dizem respeito a cor das amostras, como o tom do vinho e a intensidade da cor, sendo estes muito importantes para a definição da qualidade do mosto e do vinho.

As antocianinas, Figura 2.1, são as estruturas químicas responsáveis pela cor dos vinhos, como foi referido anteriormente, sendo características de cada casta e da sua origem. Nas uvas, estas estruturas encontram-se nos vacúolos celulares da película, e são os principais flavonoides responsáveis pela cor das uvas, e consequentemente, do vinho. [14]

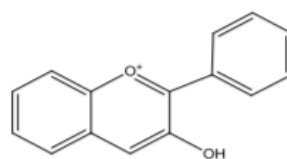


Figura 2.1 - Representação genérica da estrutura química da antocianina [14]

A composição de antocianinas é a razão para o vermelho do vinho e é dependente da casta, do grau de maturação da uva e condições climáticas. Estas estruturas químicas possuem uma gama de cores que varia entre o vermelho, roxo e azul, dependendo a que pH se encontram. Entre o pH 1-2 o vermelho é mais predominante, para pH 3-6 encontram-se os roxos, e para pH > 6 verificam-se os tons azuis. [14]

No caso da maturação das uvas, como existe um aumento do pH, a percentagem de vermelho diminui, no entanto, à medida que se aproxima da fase final da maturação, existe uma maior concentração, por desidratação, aumento a percentagem de vermelho. Estas estruturas químicas sofre uma mudança progressiva da produção para o consumo de qualquer vinho devido a reações de polimerização, co pigmentação e oxidação, principalmente na fase de fermentação e envelhecimento do vinho. [14,15]

2.4. Métodos Espectrofotométricos

Os métodos espectrométricos abrangem vários de métodos instrumentais de análise que fazem o uso da interação da radiação eletromagnética (Figura 2.2) com a matéria, e se baseiam em fenómenos de absorção e de emissão atómica ou molecular. A radiação eletromagnética como tem um amplo intervalo de energia, tem diferentes efeitos na matéria. [16]

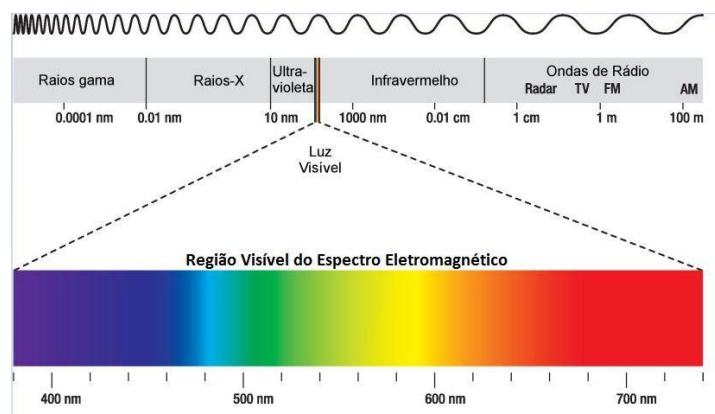


Figura 2.2 - Espectro eletromagnético de radiação

Os métodos que são baseados na radiação eletromagnética são ferramentas com grande importância para análises de rotina de diversos alimentos, incluindo nas uvas e vinhos. Este

tipo de métodos inclui métodos com radiação ultra-violeta (UV), visível (VIS) e infravermelho (IV), com a aplicação da transformada de Fourier (FTIR). A aplicação deste tipo de técnicas gera espectros com várias variáveis, em que a medição destas numa determinada amostra resulta na criação de um grande conjunto de dados, representando a “impressão digital” química e bioquímica das amostras. [17]

A aplicação de métodos estatísticos de análise multivariável, que será desenvolvido mais à frente, apresenta vantagens para a utilização destes dados a nível industrial, como por exemplo, para a calibração de equipamentos que utilizem este tipo de tecnologias.

2.4.1. Espetrofotometria de absorção

Na espectrofotometria de absorção, um feixe de radiação eletromagnética passa através de uma solução e a radiação perde intensidade se ocorrer absorção por parte das moléculas ou outras espécies presentes na amostra. A absorção reflete uma atenuação de energia incidente. [16]

A atenuação da potência de uma radiação eletromagnética monocromática é avaliada pela medição da transmitância (T) e permite avaliar se ocorreu absorção, a qual é quantificada pelo parâmetro absorvância (A), definida pela equação 2.1:

$$A = -\log(T) = \log\left(\frac{P_0}{P}\right) \quad (2.1)$$

Em que P_0 corresponde à potência de radiação emitida pela fonte e P a potência que chega ao detetor, após a radiação atravessar a amostra. A absorvância é a quantidade de radiação absorvida por uma dada substância, sendo possível relacionar o seu valor com a concentração de uma dada solução, através da Lei de Lambert-Bouguer-Beer (Equação 2.2), quando esta é atravessada por uma radiação luminosa monocromática. Dependendo da energia da radiação, esta tem a capacidade de promover a excitação da matéria. [16]

$$A = \varepsilon \cdot b \cdot c \quad (2.2)$$

Os comprimentos de onda e a suas absorvâncias, para uma determinada espécie são geralmente, representados num espectro que é característico dessa espécie. Após o processamento estatístico deste tipo de dados, é possível obter várias informações sobre as amostras em estudo. [18]

A absorção de radiação no UV (200 – 400 nm) e no VIS (400 – 800 nm) por uma espécie molecular, átomo ou ião, promove transições eletrónicas. [16]

A espectrofotometria no UV e no VIS são técnicas utilizadas em várias análises de rotina na caracterização de mostos e vinhos. A determinação de fenóis totais e a cor dos vinhos são dois exemplos de aplicação de cada uma destas técnicas, respetivamente. [15]

2.4.2. Espectrofotometria no Infravermelho (IV)

A espectrofotometria no infravermelho (IV) utiliza a radiação infravermelha do espectro eletromagnético, possuindo maiores comprimentos de onda e frequência inferior que a radiação da zona do visível, isto é, compreende a radiação dos comprimentos de onda entre os 800 e 1 000 000 nm. [16]

A radiação IV é dividida em IV próximo (NIV), IV médio (MIV), IV distante (FIV, do inglês *far infra-red*). A matéria absorve radiação na zona do IV, provocando movimentos vibracionais nas ligações presentes nas moléculas. Estas absorções ocorrem em níveis de energia específicos da espécie a ser analisada, provocando movimentos nas ligações, isto é, absorvem radiação eletromagnética a comprimentos de onda específicos. Desta forma, o resultado da medição na gama toda de IV resulta na obtenção de espectros, com picos de absorção que representam as ligações químicas presentes nas amostras. [17]

A absorção de radiação IV está restrita a espécies moleculares que tenham momento dipolar diferente de zero. Esta energia provoca transições entre os estados energéticos vibracionais e rotacionais da matéria. A transição rotacional ocorre para níveis de energia de comprimentos de onda superiores a 5000 nm. As transições vibracionais/rotacionais correspondem à região do MIV. [16]

A absorção da radiação do NIV faz vibrar a molécula e a combinação de vibrações fornecem informações importantes acerca dos grupos funcionais. Uma das vantagens do NIV é que este tipo de radiação pode registar a resposta das ligações moleculares dos seus constituintes químicos, como por exemplo, ligações O-H, N-H e C-H. [16]

As características do MIV e NIV possibilitam a utilização do espectro para a determinação de estruturas orgânicas complexas presentes na amostra, as quais estão relacionadas com cromóforos moleculares. [19]

O espectro do VP, obtido a partir do FTIR, é dominado por picos de absorção das moléculas de água e etanol. Estes tipos de picos existem, pois, o vinho é constituído maioritariamente por água (cerca de 70 %), etanol, que representa entre 19 e 22 % da composição, e também absorve boa parte da radiação, e outros componentes, em quantidades mais baixas, mas que dão informações muito importantes, acerca deste tipo de produtos. [3, 15]

No entanto, os dois compostos, água e etanol, possuem ligações que estão sujeitas a vibrações de alongamento e de deformação angular, nomeadamente as ligações O-H, enquanto que os álcoois possuem também as ligações C-O, C-H. A vibração provocada pelo estiramento da ligação O-H é observada para número de ondas entre os 2778 – 3125 nm e 5882 – 6390 nm. Os picos a 6112 e 3289 – 3571 nm encontram-se associados as vibrações de estiramento do C-H. As vibrações das ligações C-O, C-C, CH₂, C-OH e C-H são observada próximas de 6390-10362 nm. [15]

Atualmente, já existem equipamentos FTIR que permitem fazer uma análise mais detalhada e precisa, em breves minutos, como é o caso do *OenoFOSS*.

OenoFOSS

O espectrofotómetro MIV e NIV *OenoFOSS* (Figura 2.3) é baseado na análise de FTIR e foi desenvolvido para a determinação de vários parâmetros das demais etapas do processo de vinificação. Este equipamento opera na regia do IV médio e próximo (1364 – 11000 nm). [20]



Figura 2.3 - Espectrofotómetro MIR OenoFOSS [20]

Para a extração de informação útil para as adegas foi necessário a aplicação de modelos matemáticos e estatísticos avançados, sendo este processo designado de quimiometria. As calibrações deste tipo de equipamentos dizem respeito a equações que procuram encontrar uma relação entre os espectros e uma referência química, e assim quantificar os compostos químicos presentes nas amostras. Neste equipamento é utilizado a regressão dos mínimos quadrados parciais (PLS, do inglês, *Partial Least Squares*) e a regressão multi-linear (MLR). [21]

A MLR baseia-se no princípio de que a absorção a um comprimento de onda específico é proporcional a concentração do componente em análise, enquanto que a PLS assume que apenas a combinação de diferentes pontos do espectro proporciona a concentração verdadeira do analito. A calibração através do último método melhora a compensação das interferências de outros componentes presentes na amostra. [21]

Nesta dissertação será aplicada a análise multivariável, mais precisamente a análise de componentes principais (PCA, do inglês, *Principal Component Analysis*), para o processamento dos dados, e posterior análise dos resultados, como será explicado a partir do próximo ponto.

2.5. Análise Multivariável

Os métodos atuais de espectrofotometria e análise automática das amostras possibilitam a coleta de grandes quantidades de dados experimentais, como é o caso do *OenoFOSS*. Esta capacidade de medir várias variáveis de uma só amostra produz um conjunto de dados multivariados. As evoluções das tecnologias de medição analítica oferecem um conjunto elevado de informação sobre a composição química de todos os tipos de amostras. Os equipamentos utilizados nos laboratórios modernos são controlados por computadores, e devido a elevada capacidade de processamento deste tipo de equipamentos, gera-se uma elevada quantidade de dados. [22]

Em termos simples, quando se tem uma variável independente e a outra dependente, a informação é representada graficamente, Figura 2.4, onde as coordenadas do ponto fornecem os valores obtidos pelas duas variáveis. A representação gráfica é menos fácil para três variáveis e não é possível para quatro ou mais. No entanto, como existe um elevado conjunto de variáveis, é necessário um tratamento estatístico para tirar o máximo proveito dos resultados. Desta forma,

a álgebra matricial é necessária para descrever completamente os métodos de análise necessária. Um dos métodos utilizados para a análise multivariável é a análise de componentes principais PCA. [22]

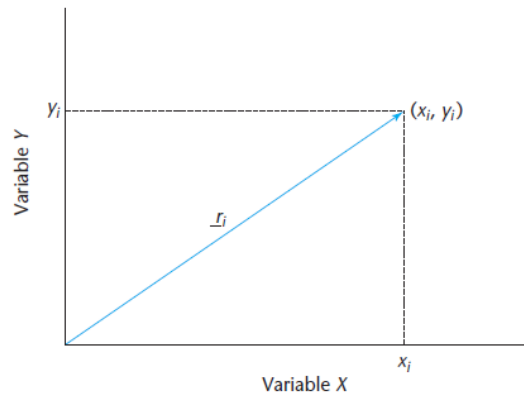


Figura 2.4 - Representação gráfica de 2 variáveis [22]

2.5.1. Estatística

A estatística é uma ciência utilizada quando se pretende analisar um determinado conjunto de dados, de forma a encontrar relações entre esses mesmos. [23]

Existem algumas ferramentas para fazer uma análise unidimensional, como o desvio padrão (s) e a variância (s^2) (Equação 2.3). Estas duas formas são utilizadas para a analisar a dispersão de resultados num conjunto de dados. [23]

$$s^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1} \quad (2.3)$$

No entanto, existem conjuntos de dados que contém mais do que uma variável. O objetivo da análise estatística neste tipo de conjuntos é verificar se existe alguma relação entre as variáveis. É neste tipo de situações que se utiliza a covariância. Se o conjunto de dados for tridimensional (x , y e z), é medida a covariância entre as dimensões x e y , x e z , e y e z . [23]

$$cov(x, y) = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{n - 1}$$

O valor da covariância pode assumir o sinal positivo ou negativo. Caso seja positivo, significa que as duas dimensões em estudo aumentam juntas. Se o sinal, pelo contrário, for negativo, ocorreria o contrário, ou seja, uma dimensão aumenta e outra diminui. Contudo, se a covariância for zero, isso indica que as duas dimensões são independentes uma da outra. [23]

A covariância é sempre medida entre duas variáveis. Se o conjunto de dados tem mais do que duas variáveis, existe mais de uma medida de covariância que será calculada. Desta forma, a maneira mais útil de obter os valores possíveis de covariância entre todas as dimensões é calcular todas elas e serem colocadas numa matriz. [23]

Considerando a matriz X , a matriz de covariância, $covX$, (matriz quadrada) para um conjunto de dados é calculada da seguinte forma:

$$covX = \frac{1}{n-1}XX^T \quad (2.5)$$

Em que X^T é a matriz transposta da matriz inicial X .

Existem dados importantes que podem ser retirados através da análise da matriz de covariância, como os vetores e valores próprios.

Os vetores próprios são resultado da multiplicação de duas matrizes, com tamanhos compatíveis, o que resulta na formação de uma matriz quadrada. Em termos matemáticos, os vetores próprios da matriz de covariância são os componentes principais. [22, 23]

Uma das propriedades destes vetores é que, se estes forem dimensionados para uma determinada quantia, antes de multiplicá-lo, o múltiplo final será o mesmo, sendo que o vetor nunca muda de direção, apenas o torna mais extenso. É necessário reter que, todos os vetores próprios de uma matriz são perpendiculares entre si, ou seja, são ortogonais. [23]

No caso dos valores próprios, estes encontram-se relacionados com os vetores próprios, porque o valor próprio quantifica a variação do conjunto de dados explicada por esse vetor próprio (ou seja, componente principal). [22]

2.5.2. Análise de componentes principais (PCA)

Um dos problemas dos dados multivariados é o elevado volume de dados, levando a dificuldades a encontrar padrões e relações entre estes. Um dos principais exemplos são os espetros, pois estes são caracterizados por várias centenas de medições de intensidade. [22]

O PCA é uma técnica de redução do tamanho quando ocorre uma correlação entre variáveis. Esta diminuição permite a visualização de dados multivariados por gráficos de dispersão, permitindo uma avaliação visual dos grupos de amostras – *clusters*. O PCA faz uma suposição rigorosa, mas poderosa, a linearidade. [24,25]

A análise de PCA simplifica muitos dos problemas, devido a alguns pressupostos como a restrição de conjunto de bases potenciais e formalização de uma suposição implícita de continuidade de um conjunto de dados. Desta forma, o PCA está limitado a expressão dos dados através de uma combinação linear dos seus vetores base. Assim sendo, os vetores X e Y , na forma mxn , encontram-se relacionados por uma transformação linear P . O vetor X representa o registo inicial dos dados e Y é uma interpretação destes mesmos dados. [25]

$$P \times X = Y$$

A equação anterior é baseada na propriedade de mudança de base, utilizada para a decomposição dos vetores próprios. O conjunto de dados X , uma matriz mxn , onde m é o número de variáveis e n o número de casos. [25]

O objetivo é encontrar um meio de condensar a informação contida em várias variáveis originais em um conjunto menor de variáveis estatísticas, designados Componentes Principais – PC (do inglês, *Principal Component*), com uma perda mínima de informação. O número de PC's toma o número de variáveis em análise, no entanto, os primeiros PC's são os mais relevantes, pois explicam a maior parte da variação total. [24]

Num modelo PCA existem três conceitos principais. Um destes conceitos são os *scores*, que dão informação sobre as observações (amostras), o que permite analisar algumas tendências e *clusters*. [26]

Outro conceito importante são os *loadings*, que informam sobre as variáveis analisadas, verificando se estas se encontram correlacionadas positiva ou negativamente, ou se não existe

correlação. Por fim, existem os valores-próprios que indicam a variabilidade explicada pelo modelo PCA. [16, 26]

Uma análise de PCA encontra-se dividida nos seguintes passos: [23]

1. Obtenção de dados;

2. Subtração da média;

Para que o PCA funcione perfeitamente, deve-se subtrair a média a cada valor, sendo que esta média corresponde à média de cada dimensão. Através desta ação, é produzido um conjunto novo de dados cuja média é zero.

3. Cálculo da matriz de covariância;

4. Cálculo dos vetores e valores próprios, através da matriz de covariância;

Como a matriz de covariância é uma matriz quadrada, é possível calcular os vetores e valores próprios a partir desta. Estes valores são muito importantes pois dão informações úteis acerca do conjunto de dados.

Na Figura 2.3 está a representação gráfica de dois vetores próprios, em que o vetor a vermelho, mostra como o conjunto de dados se relacionam ao longo deste, sendo esta a direção que apresenta o padrão mais importante dos dados, enquanto que o vetor representado a verde, representa a segunda maior variação dos dados.

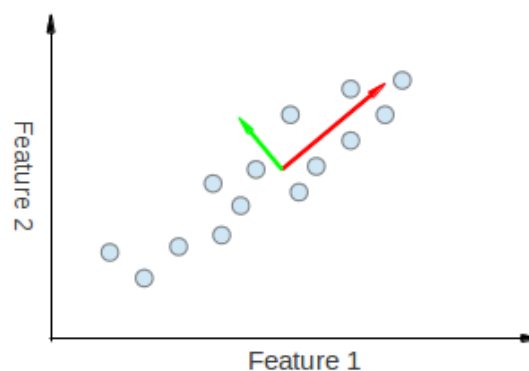


Figura 2.3 – Representação gráfica de dois vetores próprios [27]

5. Escolhas dos componentes principais;

Os valores próprios apresentam valores bastantes diferentes uns dos outros. De facto, o que acontece é que o vetor próprio com o maior valor próprio é o primeiro PC do conjunto de dados.

Após os vetores próprios serem encontrados a partir da matriz de covariância, o próximo passo é ordená-los, de forma descendente, por valores próprios. Esta ordenação fornece os componentes principais por ordem de significância.

6. Obtenção de um novo conjunto de dados

Com a matriz de vetores próprios obtida, irá proceder-se a formação de um vetor característica, onde simplesmente, consiste na transformação linear que foi referida anteriormente.

Desta forma, a matriz com os vetores próprios é o vetor P. No entanto, para que exista a transformação linear, é necessário que os vetores próprios estejam dispostos em linhas na matriz e não em coluna, usando assim a matriz transposta de P.

Após esta transformação, Y é o conjunto de dados final, com as observações na colunas e dimensões ao longo das linhas. Se forem escolhidos apenas os dois primeiros vetores próprios, obtém-se um gráfico, em que basicamente se encontram representados os dados iniciais, que sofreram rotação, para que os vetores próprios possam passar a ser os eixos.

Desta forma, a aplicação de técnicas de estatística multivariável, como a análise de componentes principais (PCA), oferece a possibilidade de usar e entender as propriedades espectrais da amostra e fazer uma classificação sem a necessidade de dados químicos. [26]

3. Materiais e Métodos

3.1. Amostras

As amostras analisadas ao longo deste trabalho foram os mostos recolhidos durante o controlo de maturação, de Touriga Nacional, na *Symington Family Estates*, dos anos de 2018 e 2019, em que cada uma representa uma parcela da vinha (Figura 3.1) tendo em consideração técnicas de amostragem adequadas, e as lotas para a produção de Vinho Porto, recolhidas durante o período de vindima, desses mesmos anos.

Tendo em consideração o elevado número de origens, no controlo de maturação, de forma a melhorar a análise multivariável, foram tidas em consideração apenas sete origens: Ataíde (ATD), Bomfim (BFM), Cavadinha (CAV), Malvedos (MAL), Roriz (RZ), Senhora da Ribeira (SR) e Vesúvio (VES).

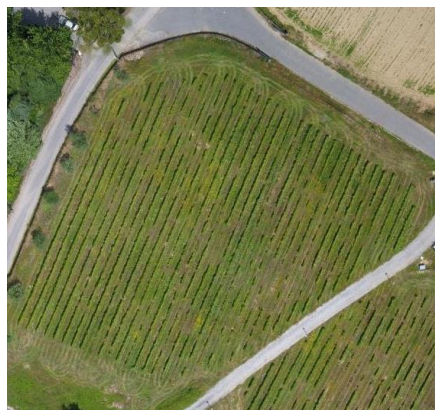


Figura 3.1 - Exemplo de uma parcela, numa vinha [28] (imagem adaptada)

Por outro lado, as lotas de VP são amostras recolhidas durante a vindima, após o esmagamento das uvas, antes do mosto entrar no processo de fermentação. No entanto, para que fosse possível analisar esse mosto, de diferentes origens, no laboratório, foi necessário adicionar SO_2 às amostras, para inibir o processo de fermentação. Desta forma, foi necessário fazer uma análise de SO_2 presente nas amostras.

As 134 e 142 amostras recolhidas durante o processo de controlo de maturação dos anos de 2018 e 2019, respetivamente, foram genericamente identificadas como CMat18 e CMat19, respetivamente, e as 149 e 178 amostras de mosto utilizado para a produção de vinho do Porto dos anos de 2018 e 2019, LotasVP18 e LotasVP19, respetivamente.

3.2. Instrumentação & Software

OenoFOSS

Para a análise das amostras na gama IV da radiação eletromagnética, foi utilizado um equipamento da marca *FOSS*, o *OenoFOSS*.

O espectrofotómetro MIV e NIV *OenoFOSS*, como foi mencionado anteriormente, tem o seu funcionamento baseado na análise FTIR para a determinação de vários parâmetros das demais etapas do processo de vinificação. Este equipamento opera na região do MIV e NIV (1364 – 11000 nm). Os parâmetros físico-químicos que podem ser quantificados são, por exemplo, o etanol, ácido málico e açúcares de fermentação. O espectro utilizado para a quantificação dos parâmetros pode exportar até 1581 medições por amostra. Após a obtenção deste espectro, e através da aplicação de modelos matemáticos, obtém-se a concentração de vários constituintes das amostras em poucos minutos. [20]

Os parâmetros recolhidos após uma análise pelo *OenoFOSS* são diferentes, dependendo do tipo amostras. No caso dos mostos foram obtidos os seguintes parâmetros: densidade, expressa em °Bé, AT, AV, pH, ácido tartárico (A.Ta), ácido málico (A.M), ácido glucónico (A.G), azoto orgânico (“N” orgânico), azoto inorgânico (“N” inorgânico) e azoto facilmente assimilado pelas leveduras (YAN). Na análise PCA não foram tidos em conta os parâmetros de ácido tartárico e ácido glucónico. Na Tabela 3.1 encontram-se as variáveis obtidas através do *OenoFOSS*, para os mostos, e as respetivas unidades.

Em relação aos vinhos do Porto são quantificados o grau alcoólico (etanol), a concentração de glucose e frutose, o ácido málico, o pH, a acidez total e acidez volátil e a densidade, expressa em °Bé.

Tabela 3.1 - Parâmetros obtidos para o mosto, através do *OenoFOSS*

Parâmetro	Sigla	Unidades
Açúcares	°Bé	°Bé
Massa volúmica	ρ	g/mL
Ácido tartárico	A.Ta	g/L
Acidez Total	A.T.	g/L
Acidez Volátil	A.V.	g/L
Ácido Málico	A.M.	g/L
Ácido Glucónico	A.G	g/L
Azoto orgânico (<i>Alpha amino nitrogen</i>)	“N” orgânico	mg/L
Azoto inorgânico (Amônia)	“N” inorgânico	mg/L
Azoto facilmente assimilado pelas leveduras	YAN	mg/L
pH	pH	

Espetrofotómetro *BioTek PowerWave XS*

O espectrofotómetro *PowerWave XS*, Figura 3.2, é um leitor de absorvâncias, em microplacas de 96 poços. Este equipamento opera numa faixa de comprimentos de onda entre os 200 – 999 nm, não sendo necessário filtros e é possível fazer leituras espectrais com uma resolução de 1 nm. [29]



Figura 3.2 - Espetrofotómetro *PowerWaveXS*, da BioTek [29]

A fonte de radiação utilizada é uma lâmpada de Xénon, que ilumina um monocromador de rede de difração de alta precisão. A luz monocromática é dividida em feixes de radiação

experimentais e de referência, sendo que os primeiros são direcionados para a microplaca e os segundos para um detetor de fotodíodos de silício de referência. [29]

Após a passagem pela amostra, a radiação não absorvida é recebida por detetores de fotodíodos de silício. [29]

Este equipamento foi utilizado ao longo deste projeto para a quantificação dos pigmentos presentes nas amostras, através das absorvâncias a 420, 520 e 620 nm. Uma outra utilização, foi para a determinação dos níveis de SO₂ presentes nas amostras.

Espetrofotómetro JAZ

O JAZ, Figura 3.3, é um espectrofotómetro modular, fabricado pela *Ocean Optics*. Este tipo de espectrofotómetro permite a aquisição, em laboratório ou no terreno, de espectros de absorção na região do VIS e NIV (340 – 1028 nm), com uma resolução de 0,3 nm. O espectro sem processamento poderá ser exportado, fornecendo 2048 medições por amostra. [30,31]



Figura 3.3 - Espetrofotómetro JAZ [31]

Matlab

O Matlab é um *software* que pode ser usado em muitos campos de engenharia, para a elaboração de programas, analisar dados ou desenvolver modelos. Este *software* integra a análise numérica, cálculo com matrizes, processamento de sinais e construção de gráfico. A sua utilização é baseada no trabalho com matrizes e, portanto, permite o processamento simples de dados usando a álgebra matricial. [18]

3.3. Procedimentos

3.3.1. Quantificação SO₂ total nas amostras

Para a determinação da concentração de SO₂ nas amostras foi utilizado um método colorimétrico, em que se baseia no princípio da reação entre o grupo tiol e o reagente de Ellman.

O reagente de Ellman, ou DTNB, é um reagente muito importante para a deteção do grupo tiol em amostras, Figura 3.4, através de um método espectrofotométrico. Esta reação provoca a alteração da cor da solução para uma solução amarela. A utilização deste reagente fornece um método confiável para a determinação de grupos tiol livres em solução.

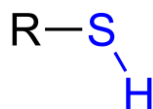


Figura 3.4 - Estrutura do grupo tiol

A quantidade de SO₂ na amostra é tanto maior quanto maior for a absorvância da amostra a 405 nm. Esta quantidade é determinada de acordo com as especificações de cálculo, de acordo com fornecedor do *kit* de ensaio utilizado. [32]

3.3.2. Quantificação dos pigmentos nas amostras

Os pigmentos presentes nas amostras analisadas foram quantificados, tendo em conta as absorvâncias a 420, 520 e 620 nm. A utilização destes comprimentos de onda tem por base o índice de *Sudraud* e índice de *Glories*, em que o primeiro é usado para calcular o tom do vinho, compreendendo os comprimentos de onda de 420 e 520 nm, pois representam os tons amarelados e vermelhos, respetivamente. O índice de *Glories* efetua-se para calcular a intensidade de cor do vinho, utilizando os comprimentos de onda, para além dos referidos anteriormente, o de 620 nm, para a incorporação do tom azul, presentes nas amostras.

3.3.3. Análise PCA

Antes de se aplicar o método de PCA, foi efetuado um pré-processamento dos dados, dividindo cada variável de cada amostra pelo desvio padrão da própria variável, como um meio de escalar a leitura obtidas a partir do equipamento, para uma escala comum em relação aos parâmetros obtidos no *OenoFOSS* (Ponto 1, do procedimento apresentado no Anexo A). Em relação aos espectros obtidos por este equipamento, e pelo *JAZ*, não foi aplicada esta parte do procedimento, pois este tipo de dados já apresenta a mesma escala.

Após a aplicação do método de PCA foram construídos dois tipos de gráficos. Um gráfico com os *scores*, e outro com os *loadings*.

4. Resultados e discussão

Como já foi indicado anteriormente, este trabalho procura estudar a presença de tendências em amostras de mostos, adquiridos durante a fase de controlo de maturação da *Symington Family Estates*, e de Vinhos do Porto. Para esse efeito foram analisados os resultados, após a aplicação do método de PCA.

Neste capítulo são apresentados e analisados os resultados obtidos ao longo da dissertação. Em primeiro lugar, são avaliados os resultados obtidos do ensaio efetuado para entender o impacto do SO₂ no mosto. De seguida, procurou-se perceber de que forma a congelação das amostras, pode alterar as suas características. Após estes dois estudos, verificou-se o nível de SO₂ presentes nas amostras em estudo, para depois se proceder à análise PCA, para encontrar padrões entres as diferentes origens.

4.1. Impacto do SO₂ na propriedades físico-químicas do mosto

Com este ensaio pretendeu-se verificar de que modo diferentes níveis de SO₂, num determinado mosto, influenciava os resultados de um determinado conjunto de amostras, quantificado pelo método de ensaio referido no subcapítulo 3.3. Para este ensaio foi utilizado um mosto congelado, de Touriga Nacional, obtido durante o processo de controlo de maturação de 2019. Na Tabela 4.1 encontram-se especificados os níveis de SO₂ adicionados nas amostras no ensaio em questão.

Tabela 4.1 - Níveis de SO₂ nas amostras do ensaio de SO₂

Amostra	[SO ₂] (mg/L)
A.1	14,3
A.2	85,6
A.3	106
A.4	159
A.5	300
A.6	408
A.7	732
A.8	997
A.9	1194

Para verificar o comportamento destas amostras num conjunto geral, foram utilizados os resultados recolhidos, após a descongelação das amostras CMat19, através dos equipamentos *OenoFOSS* e *JAZ*.

A primeira análise de PCA teve como variáveis, os parâmetros obtidos através do equipamento *OenoFOSS*: grau de $^{\circ}\text{Bé}$, ρ , AT, AV, AM, pH, “N” inorgânico, “N” orgânico, e YAN.

Na Figura 4.2 encontram-se os scores e loadings, da análise referida anteriormente. Analisando a posição do pH, no gráfico dos loadings, verifica-se que este tem um peso considerável no PC1, devido ao facto, de que, ao longo do controlo de maturação, ocorre um aumento deste. Sabe-se também que, com o aumento da quantidade de SO_2 , numa determinada amostra, aumenta a sua acidez, diminuindo assim o seu pH. Desta forma, a evolução das amostras, em que foi adicionado SO_2 , ocorreu na direção oposta ao aumento de pH, pois existia um aumento da acidez das amostras, como se observa no gráfico de scores. Tendo em consideração os resultados da Figura 4.2, verificou-se que as amostras com uma concentração de SO_2 superior a 300 mg/L começaram a deslocar-se da zona onde existia uma maior concentração de amostras, provocando uma deslocação das amostras para a esquerda, quando é alterada apenas a concentração de SO_2 .

Após a análise anterior, foi observada a influência do SO_2 nos pigmentos, visto que com o aumento da concentração de SO_2 se verificou-se uma alteração da cor da amostra. Na Figura 4.1 encontra-se representada essa alteração, em que a amostras 1 representa uma amostra sem SO_2 , e as amostras 2 e 3 apresentavam um aumento gradual da concentração de SO_2 , verificando-se uma diminuição da tonalidade vermelha.

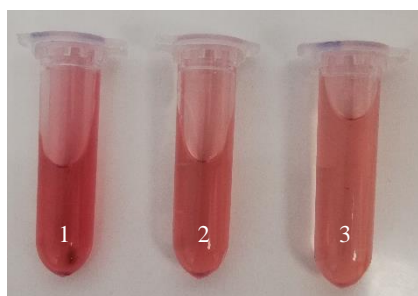


Figura 4.1 - Influência do SO_2 nas amostras de mosto

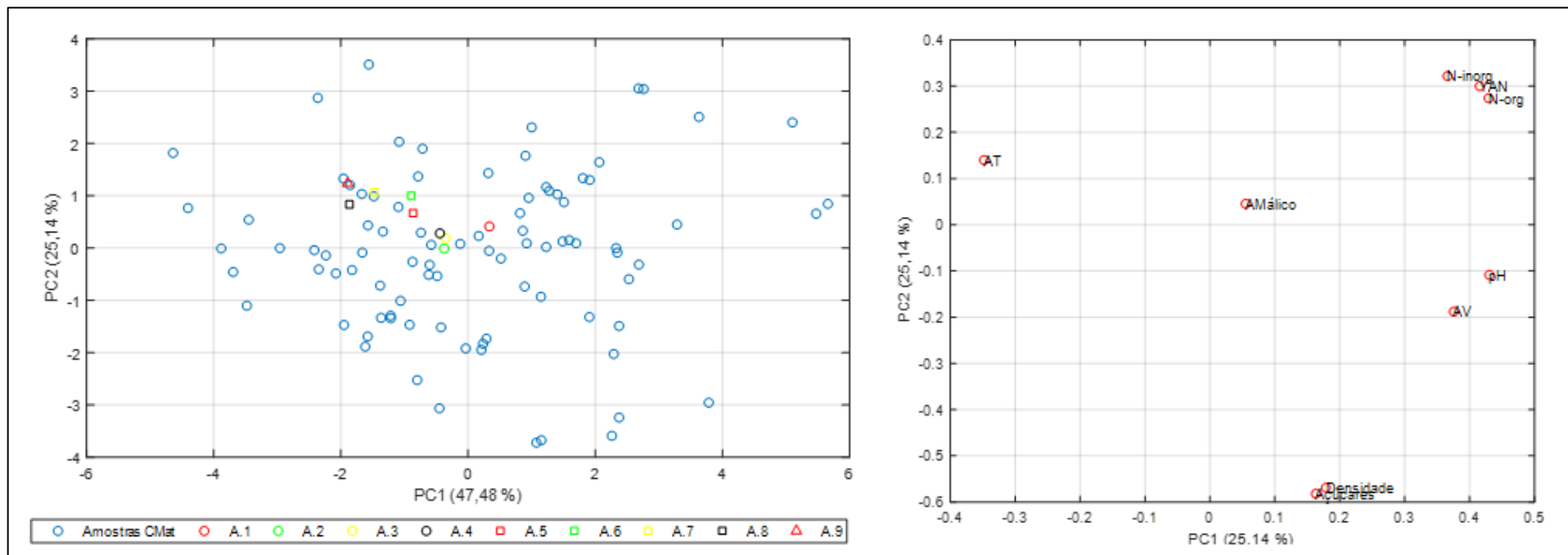


Figura 4.2 - Representação gráfica dos *scores* (esquerda) e *loadings* (direita) do PCA aplicado aos parâmetros do *OenoFOSS*, do ensaio de SO₂, das amostras CMat19¹

¹ A variável “Açúcares” representada no gráfico dos *loadings* representa a densidade expressa em °Bé, enquanto que a variável “Densidade” representa a densidade expressa em g/mL.

Na Tabela 4.2 encontram-se os resultados das absorvâncias a 420, 520 e 620 nm, das amostras com as diferentes concentrações de SO₂. Para se perceber melhor a variação das absorvâncias com o aumento da concentração de SO₂, foram calculadas as variações (VAR) para cada amostra, em relação à amostra A.1, que se encontram na Tabela 4.3. Utilizou-se como referência a amostra A.1 porque esta amostra representa um mosto analisado no controlo de maturação, sem a adição de SO₂.

Tabela 4.2 - Influência do SO₂ nas absorvâncias a 420, 520 e 620 nm, das amostras

Amostra	[SO ₂] (mg/L)	A _{420 nm}	A _{520 nm}	A _{620 nm}
A.1	14,3	1,558	1,048	0,398
A.2	85,6	1,510	0,835	0,364
A.3	106	1,444	0,758	0,335
A.4	159	1,427	0,730	0,327
A.5	300	1,426	0,709	0,327
A.6	408	1,371	0,662	0,302
A.7	732	1,343	0,640	0,298
A.8	997	1,387	0,660	0,312
A.9	1194	1,340	0,628	0,291

Tabela 4.3 - Variação (VAR) da absorvâncias das amostras, em relação à amostra A.1, nos comprimentos de onda de 420, 520 e 620 nm

Amostra	[SO ₂] (mg/L)	VAR 420 nm (%)	VAR 520 nm (%)	VAR 620 nm (%)
A.1	14,3	-	-	-
A.2	85,6	3,08%	20,32%	8,54%
A.3	106	7,32%	27,67%	15,83%
A.4	159	8,41%	30,34%	17,84%
A.5	300	8,47%	32,35%	17,84%
A.6	408	12,00%	36,83%	24,12%
A.7	732	13,80%	38,93%	25,13%
A.8	997	10,98%	37,02%	21,61%
A.9	1194	13,99%	40,08%	26,88%

Analisando os resultados da verificou-se que para a absorvância a 520 nm, para uma concentração de SO₂ de 85,58 mg/L (A.2), ocorre uma variação de 20,32 % em relação à amostra A.1. No caso das absorvâncias a 420 e 620 nm, a variação foi menor, sendo de 3,08 % e 8,54 %, respetivamente. Se for analisada a variação para um nível de SO₂ próximo dos 300 mg/L, verificou-se que esta é de 8,47, 32,35 e 17,84 %, para 420, 520 e 620 nm. Desta forma,

foi possível concluir que um pequeno aumento da quantidade de SO₂ representou uma alteração considerável na estrutura das antocianinas.

Na próxima análise PCA foram utilizados resultados obtidos através do JAZ, para a gama do NIV e VIS, nos comprimentos de onda entre 339,46 e 1027,79 nm. Na Figura 4.3 encontram-se representados graficamente os *scores* para análise em questão.

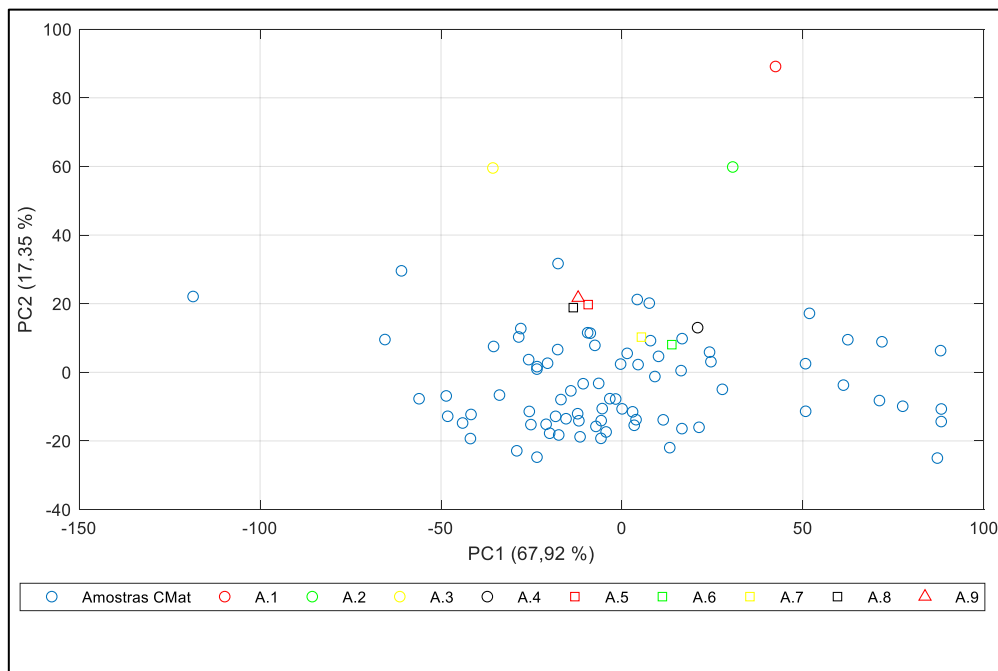


Figura 4.3 - Representação gráfica dos *scores* do PCA aplicado aos resultados do JAZ, para o ensaio de SO₂, das amostras CMat19

Na análise dos resultados da Figura 4.3 observa-se que as amostra A.1, A.2 e A.3 se encontram distanciadas das demais. Observa-se então que as amostras com uma maior concentração de SO₂, (neste caso, SO₂>300 mg/L, correspondendo às amostras A.5 a A.9), são mais semelhantes com os mostos obtidos durante o controlo de maturação, em que a concentração deste composto é baixa, que as amostras com um nível menor de SO₂, A.1 a A.4, sendo esperado o oposto.

Desta forma, como os resultados das amostras do controlo de maturação representados na Figura 4.3, foram obtidos após a descongelação das amostras, foi efetuado um estudo para perceber qual influência do processo de congelação das amostras.

4.2. Influência do processo de congelação das amostras

Como foi referido anteriormente, as amostras recolhidas ao longo do controlo de maturação de 2019 foram analisadas no *OenoFOSS* e JAZ, pela primeira vez, durante o período de controlo de maturação, e a segunda vez, após a congelação destas. O objetivo desta análise, foi verificar de forma o processo de congelação das amostras influencia a avaliação dos resultados, após a análise multivariável.

Na Figura 4.4 encontram-se representados os resultados dos scores da análise de PCA, aplicada aos parâmetros obtidos através do equipamento *OenoFOSS*, já referidos anteriormente.

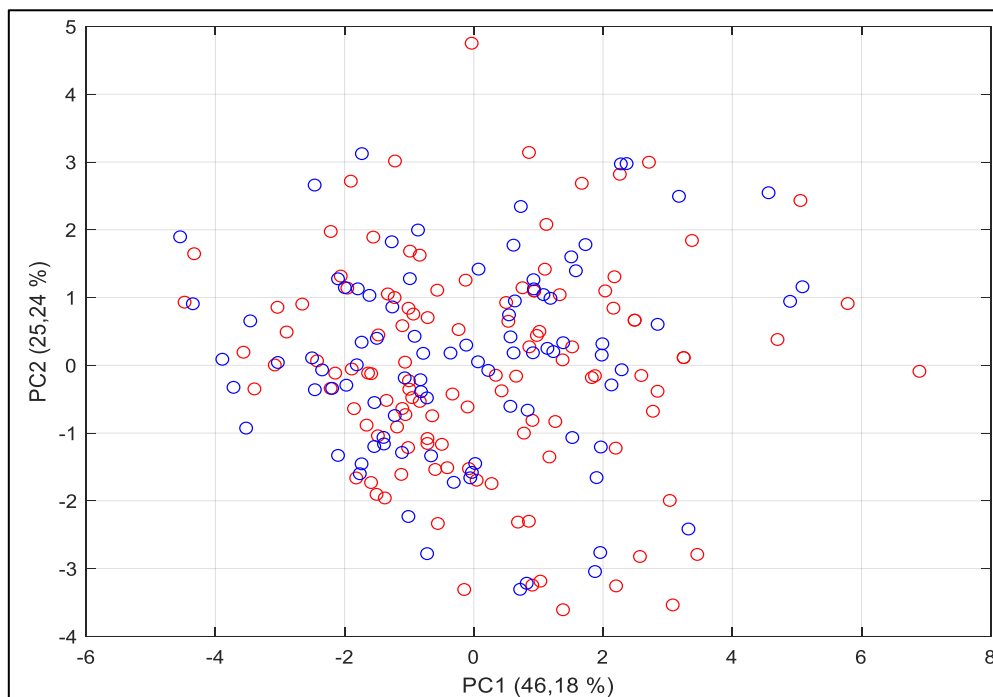


Figura 4.4 - Representação gráfica dos scores do PCA aplicado aos parâmetros do *OenoFOSS*, das amostras antes e após congelação, das amostras CMat19.

Pela análise da Figura 4.4 verifica-se que não existiu uma distinção entre os resultados antes (a vermelho) e após a congelação (a azul). Desta forma, foi possível afirmar que o processo de congelação não alterou de forma significativa os resultados dos parâmetros obtidos após a análise do mosto, no *OenoFOSS*.

Por outro lado, quando aplicada a análise de componentes principais (PCA) ao espectro das amostras, na região do NIV e MIV, 1364 – 2500 nm e 2500 – 8100 nm, respetivamente,

verificou-se uma distinção entre as análises antes e após o processo de congelação, como é possível observar na Figura 4.5.

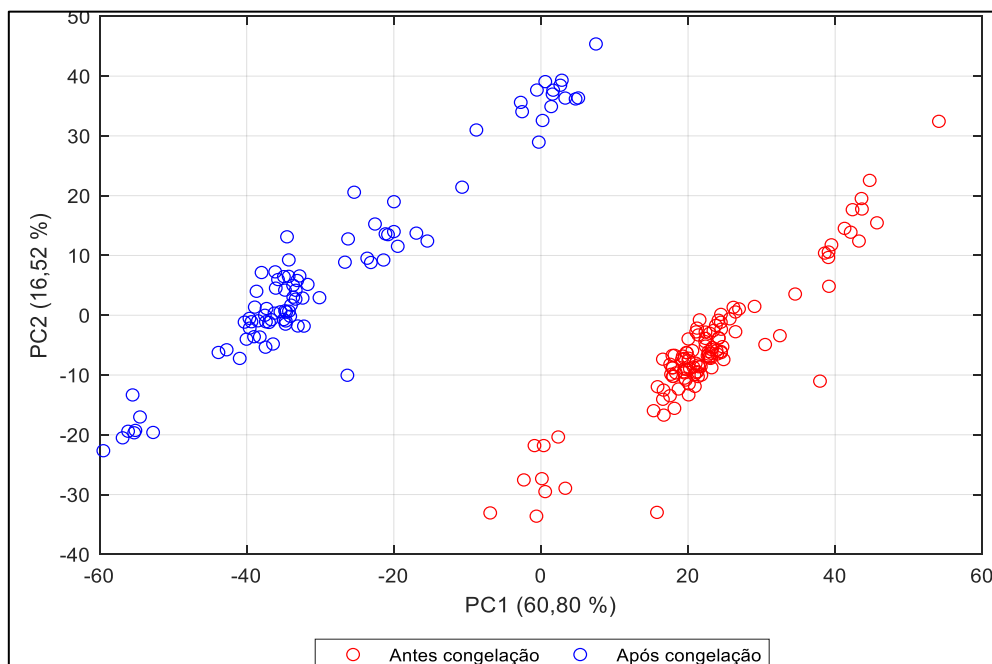


Figura 4.5 - Representação gráfica dos *scores* do PCA aplicado às absorvâncias NIR-MIR do *OenoFOSS*, das análises antes e após a congelação, das amostras CMat19

Tendo em consideração estas duas situações, verificou-se que o *OenoFOSS* contém procedimentos para o pré-tratamento dos espectros, de forma a minimizar as interferências que ocorreram entre a preparação da amostra e a leitura destas. Desta forma, a utilização do espectro obtido através do *OenoFOSS* para o NIV – MIV, não apresentou vantagens para ser utilizado como técnica para se atingir os objetivos propostos.

Comparando agora os resultados recolhidos do JAZ, antes e após a congelação, verificou-se uma distinção entre os resultados antes e após a congelação, como se pode observar na Figura 4.6. No entanto, alguns dos resultados das amostras antes de congelação encontraram-se no *cluster* dos resultados referentes a análise efetuada após este processo. Esta situação pode estar relacionada com o tempo de espera entre a preparação da amostra, e a sua leitura no equipamento JAZ. Como as absorvâncias adquiridas nos comprimentos de onda, neste equipamento, foram maioritariamente na gama do VIS, se o tempo de espera for grande, poderá ter ocorrido uma oxidação da amostra, alterando assim a composição das antocianinas.

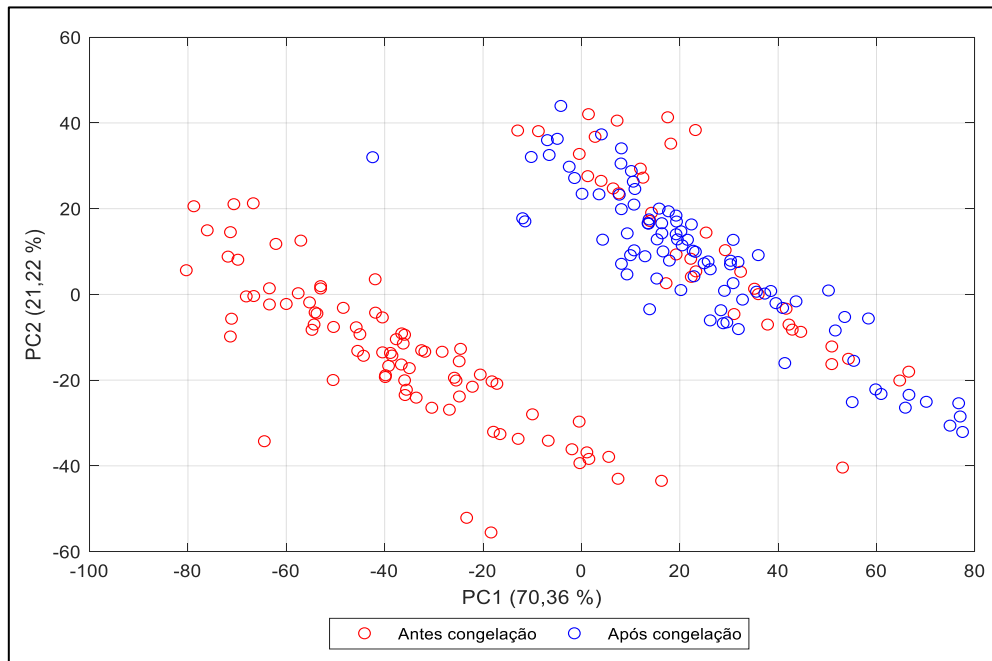


Figura 4.6 - Representação gráfica dos *scores* do PCA aplicado às absorvâncias VIS-NIR do JAZ, das análises antes e após a congelação, das amostras CMat19

Tendo em consideração os resultados obtidos nos subcapítulos 4.1 e 4.2, optou-se então por utilizar apenas as amostras que apresentassem uma concentração de SO_2 inferior a 300 mg/L, para as amostras CMat18, CMat19, LotasVP18 e LotasVP19. Também foi decidido utilizar os parâmetros obtidos através do *OenoFOSS*, e não o espectro adquirido pelo *OenoFOSS* pois esta última opção, apresenta diversas interferências.

4.3. Concentração de SO_2 nas amostras

Neste subcapítulo são avaliadas as concentrações de SO_2 , nas amostras em estudo, para verificar se estas se encontram dentro dos parâmetros definidos no subcapítulo anterior.

Em relação às amostras obtidas durante o controlo de maturação, em 2018 a média da concentração de SO_2 foi de $12,45 \pm 9,1$ mg/L, enquanto que no ano de 2019 a média foi de $24,35 \pm 13,9$ mg/L. Tendo em consideração estes resultados, verificou-se que as amostras de controlo de maturação poderiam ser utilizadas para a análise multivariável.

No que diz respeito às lotas de VP, foram elaborados histogramas para cada origem, para verificar os níveis de SO₂, pois nestas amostras as concentrações deste composto eram muito diferentes entre amostras.

Analisando os resultados das amostras LotasVP18, representados na Figura 4.7, verificou-se que existiam 86 com uma concentração de SO₂ inferior a 300 mg/L, nas diferentes origens (CAV, BFM, SR e VES). No entanto, dessas amostras 80,7 % eram provenientes da origem BFM, pelo que a análise de PCA foi inviável, considerando que a variação nesta análise era a origem da amostra.

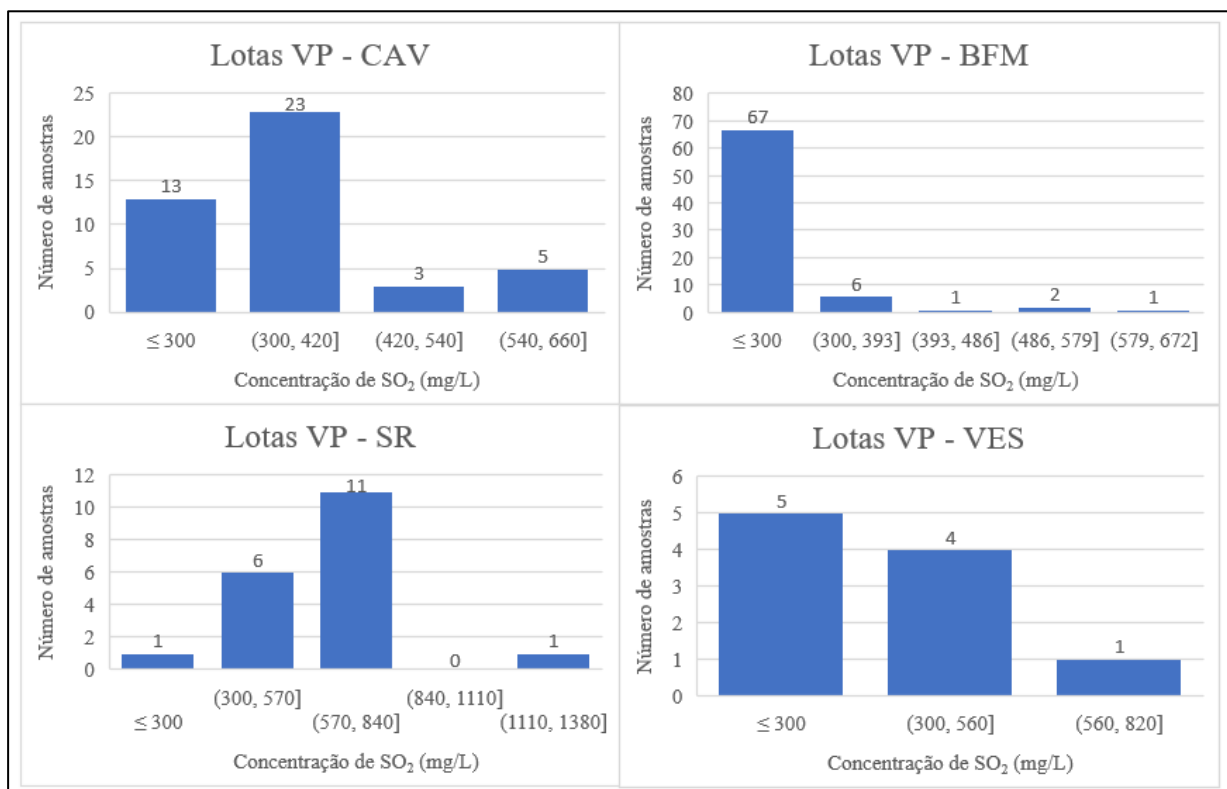


Figura 4.7 - Distribuição das lotas de VP, em cada origem, de acordo com a concentração de SO₂, de 2018

Observando agora os resultados das amostras LotasVP19, apresentados na Figura 4.8, o número de amostras com níveis de SO₂ inferiores ao definido no capítulo 4.1 foi inferior ao do ano de 2018, ou seja, são 30, em que 60 % são provenientes da origem SR.

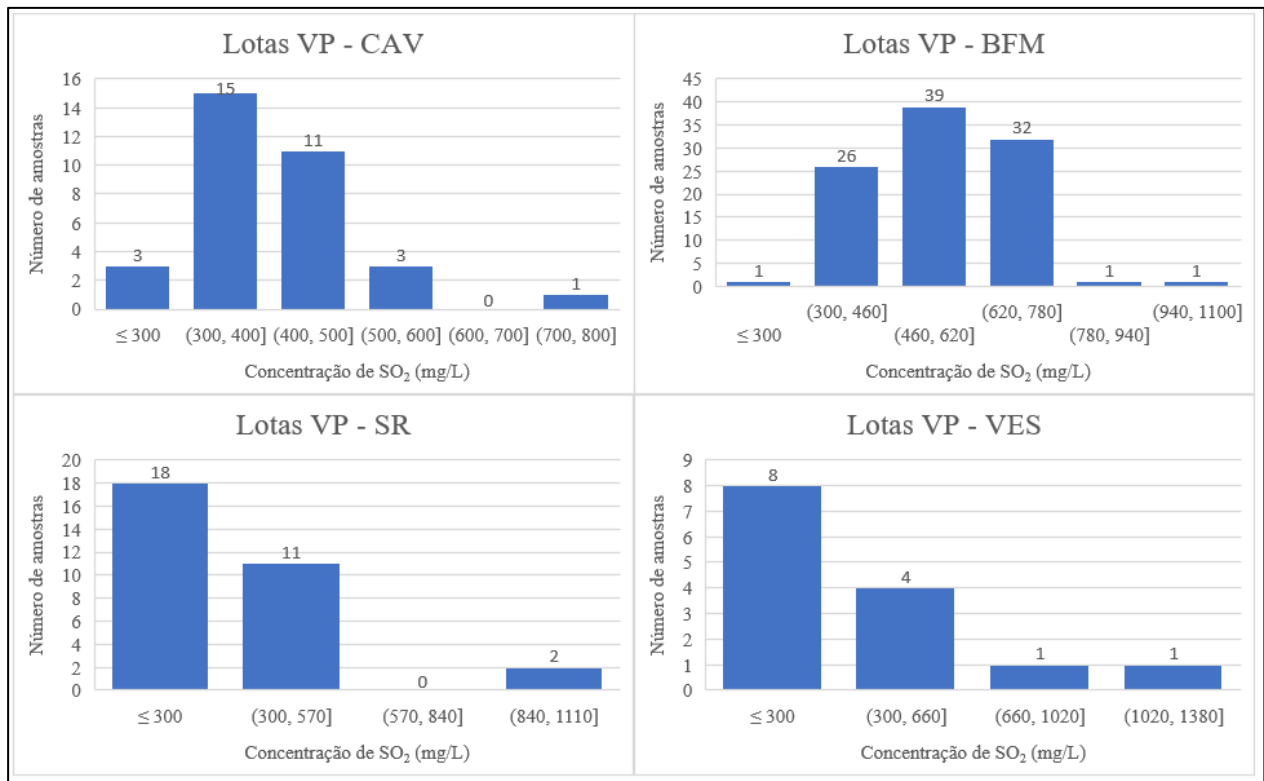


Figura 4.8 - Distribuição das lotas de VP, em cada origem, de acordo com a concentração de SO₂, de 2018

Tendo em consideração este estudo, optou-se por utilizar os resultados das amostras obtidas durante o controlo de maturação, pois estas apresentam baixos níveis de SO₂, não interferindo, assim, na análise de PCA.

4.4. Evolução dos parâmetros ao longo de controlo de maturação

Neste ponto é analisada a cinética de alguns parâmetros chave a ter em conta durante o controlo de maturação, nos anos de 2018 e 2019. Os parâmetros analisados foram obtidos através da análise do *OenoFOSS*.

Um dos principais parâmetros a ter atenção ao longo de controlo de maturação, é o baumé, °Bé. O grau de °Bé aumentou ao longo do controlo de maturação, como se observa na Figura 4.9. Este aumento deve-se ao aumento da quantidade de açúcar no bago, estabilizando no final deste processo, indicando assim o *plateau* da maturação.

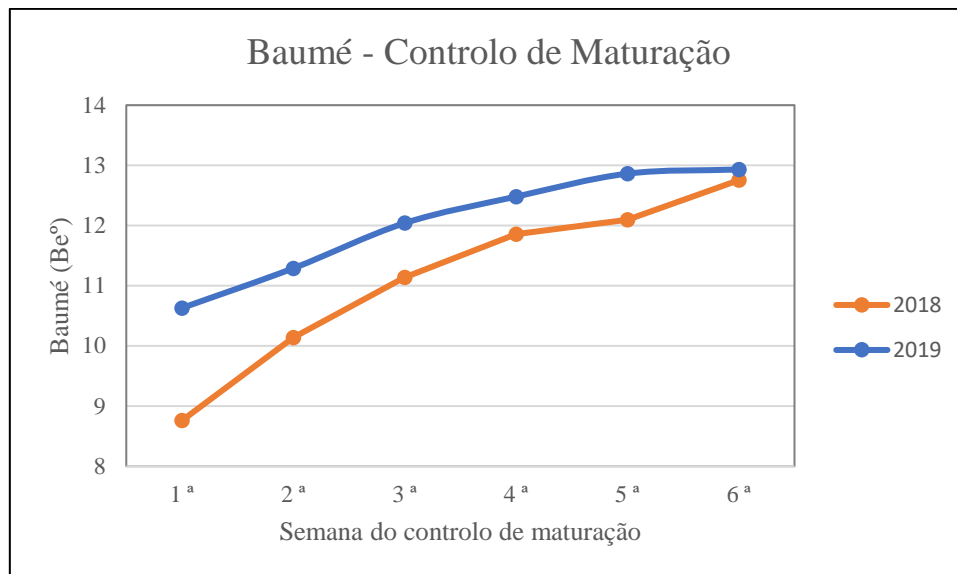


Figura 4.9 - Cinética de evolução baumé ao longo do controlo de maturação no ano de 2018 e 2019

O pH e a acidez total da amostra são outros dois parâmetros importantes durante o controlo de maturação e que se encontram diretamente relacionadas entre elas. A acidez total, como foi mencionado anteriormente, deve-se essencialmente aos seguintes ácidos orgânicos: ácido tartárico, ácido málico e ácido cítrico. Com o aumento do volume do bago, a concentração destes ácidos diminuiu, como se verifica na Figura 4.10, e consequentemente o valor de pH da amostra aumentou, Figura 4.11.

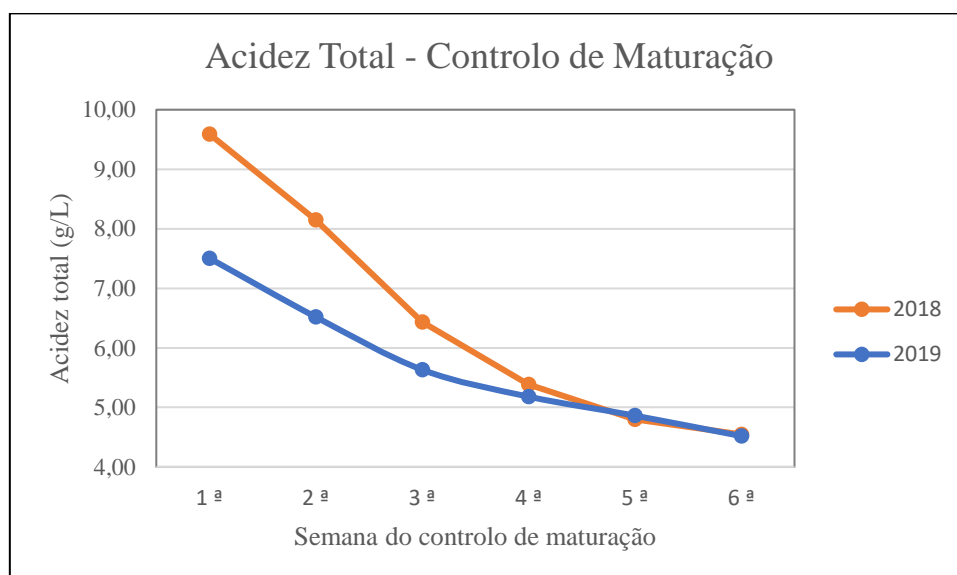


Figura 4.10 - Cinética de evolução da acidez total ao longo do controlo de maturação no ano de 2018 e 2019

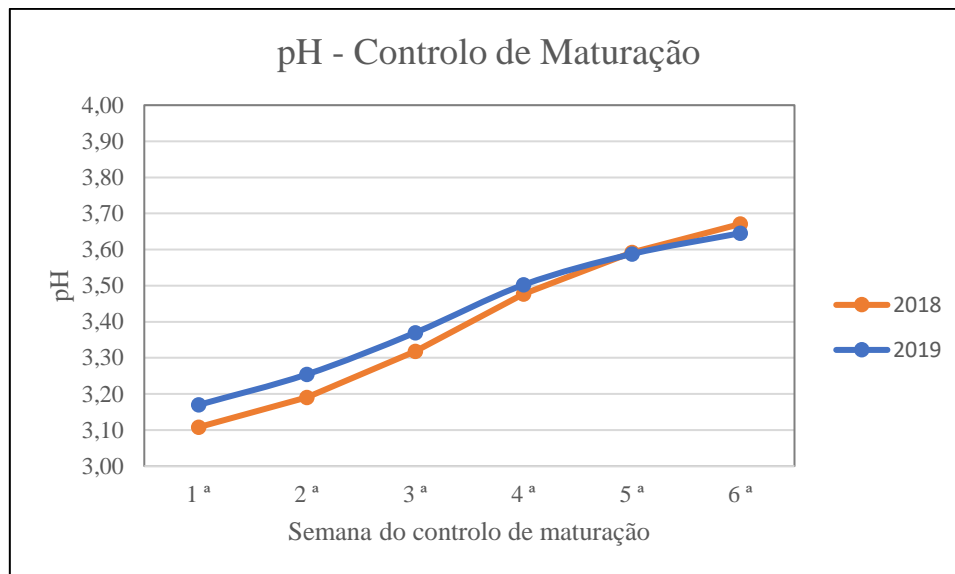


Figura 4.11 - Cinética de evolução do pH ao longo do controlo de maturação no ano de 2018 e 2019

Na Figura 4.12 é possível observar a diminuição da concentração do ácido málico ao longo do controlo de maturação, como foi dito anteriormente.

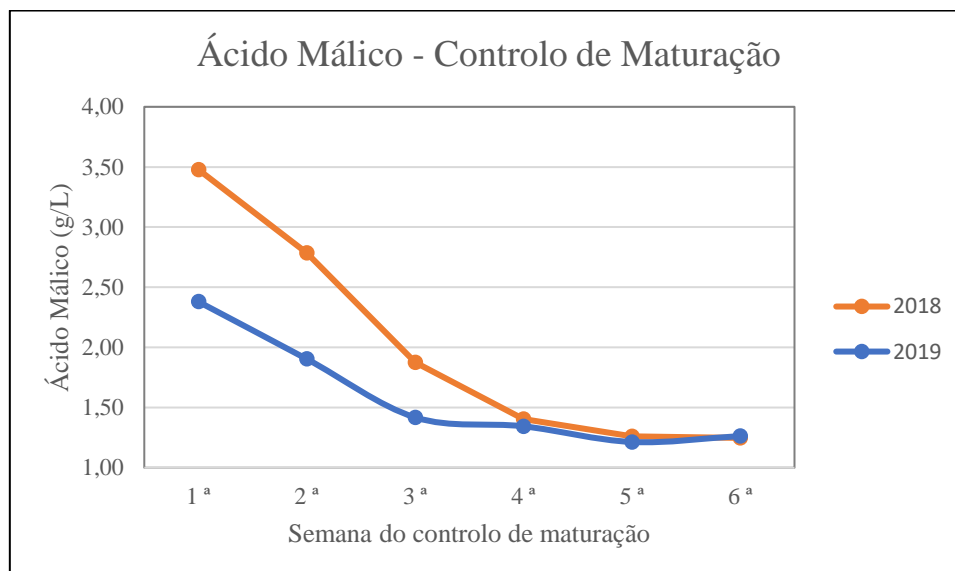


Figura 4.12 - Cinética de evolução da concentração de ácido málico ao longo do controlo de maturação no ano de 2018 e 2019

Como nos dois anos em estudo, a cinética dos parâmetros mais importantes durante o controlo de maturação (densidade, pH e AT) foi muito diferente, optou-se por comparar os resultados em semanas que o valor do grau de °Bé fosse semelhante. Desta forma, foi escolhida

a 5^a semana do controlo de maturação do ano de 2018, e a 4^a semana do ano de 2019, em que a variação do grau de °Bé foi de 3,14 % (12,10 °Bé no ano de 2018, e 12,48 °Bé no ano de 2019).

4.5. Análise de componentes principais durante o controlo de maturação, em diferentes origens

Neste subcapítulo foram analisados os resultados das amostras obtidas durante os controlos de maturação de 2018 e 2019, de sete diferentes origens: ATD, BFM, CAV, MAL, RZ, SR e VES. As análises em questão foram análises de PCA, tendo como variáveis os parâmetros do *OenoFOSS*, as absorvâncias dos pigmentos obtidas através do BioTek *PowerWave XS* e também dos espetros adquiridos através do *JAZ*.

Tendo em consideração que o controlo de maturação teve diferentes cinéticas nos anos de 2018 e 2019, como se verificou no subcapítulo 4.4, foram analisadas semanas diferentes do respetivo controlo de maturação, para se entender as diferenças entre origens. Em relação ao ano de 2018 foi analisada a 5^a semana de controlo de maturação, enquanto que no ano de 2019 analisou-se a 4^a semana, pois a densidade média, expressa em °Bé, das 7 origens em estudo apresenta uma variação de 3,14 %, entre os dois anos, entre as semanas referidas no capítulo 4.4.

Analisando os resultados da análise de PCA, tendo como variáveis os parâmetros físico-químicos obtidos através do *OenoFOSS*, verificou-se que no ano de 2018 as origens BFM-MAL, *cluster* verde, apresentaram uma semelhança, em relação às variáveis em estudo, como se verifica na Figura 4.13. Desta forma, pela análise dos *loadings* e *scores* verificou-se que as amostras provenientes das origens, referidas anteriormente apresentaram maiores quantidades de nutrientes (YAN, N “orgânico”, N “inorgânico”), e também uma densidade e pH mais elevado que as restantes origens, ATD, CAV, RZ, SR e VES (*cluster* azul), pelo que estas últimas exibiram uma maior acidez.

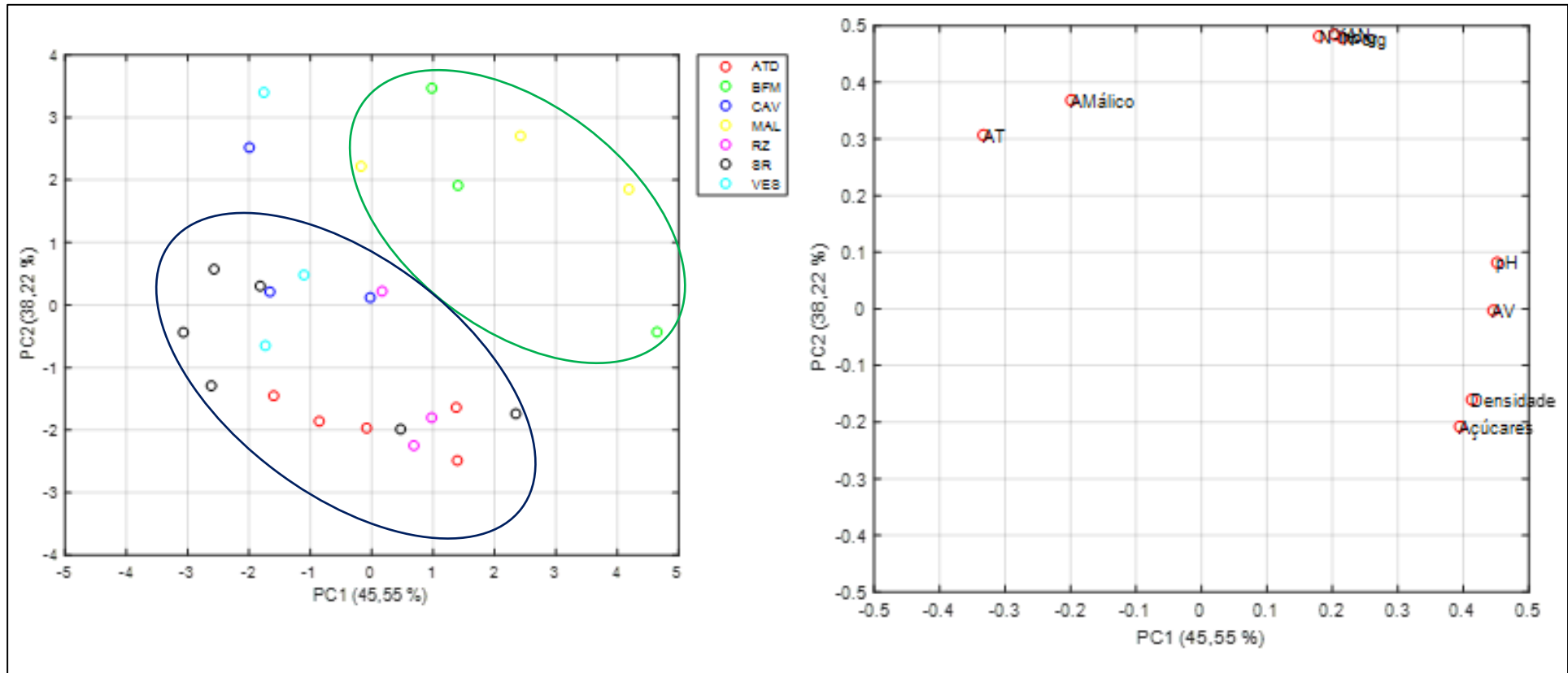


Figura 4.13 - Análise PCA da 5ª semana de controlo de maturação, de 2018, tendo como variáveis os parâmetros do *OenoFOSS* (scores à esquerda e loadings à direita)²

² A variável “Açúcares” representada no gráfico dos *loadings* representa a densidade expressa em °Bé, enquanto que a variável “Densidade” representa a densidade expressa em g/mL.

Analisando agora os resultados da 4ª semana de controlo de maturação do ano de 2019, utilizando as mesmas variáveis, observou-se que apareceu o mesmo *cluster* com as origens BFM-MAL (*cluster verde*), e também a origem VES, como se verifica na Figura 4.14. No entanto, neste caso foi possível ainda distinguir dois novos *clusters*, compostos pelas origens ATD-CAV (*cluster azul*) e SR-RZ (*cluster vermelho*). Nesta análise de PCA, os dois primeiros componentes principais representam 78,9 %. No ano de 2019 continuou-se a verificar que o *cluster* com as origens BFM e MAL continuam a apresentar um maior grau de °Bé, de pH e de nutrientes como se verificou no ano de 2018.

Após este estudo, foram efetuadas novas análises, tendo em conta, além dos parâmetros do *OenoFOSS*, os pigmentos presentes nas amostras, que foram quantificados através das absorvâncias a 420, 520 e 620 nm, no espectrofotômetro *BioTek PowerWave XS*.

Analisando estes novos resultados, verificou-se que se formaram os mesmos *clusters* das análises anteriores, ou seja, no ano de 2018 observaram-se os seguintes: BFM-MAL (*cluster verde*) e ATD-CAV-RZ-SR-VES (*cluster azul*), enquanto que no ano de 2019 se formaram BFM-MAL-VES (*cluster verde*), ATD-CAV (*cluster azul*), SR-RZ (*cluster vermelho*), como se verifica nas Figura 4.15 e Figura 4.16, respetivamente.

No entanto, a inserção dos pigmentos na análise do controlo de maturação de 2018 inverteu a posição dos *scores* e *loadings* em relação ao PC1, verificando-se que as amostras de BFM e MAL apresentaram uma menor quantidade de pigmentos que as restantes amostras. Essa situação já foi contrária no ano de 2019, ou seja, desta vez a quantidade de pigmentos foi maior nas amostras provenientes de BFM e MAL.

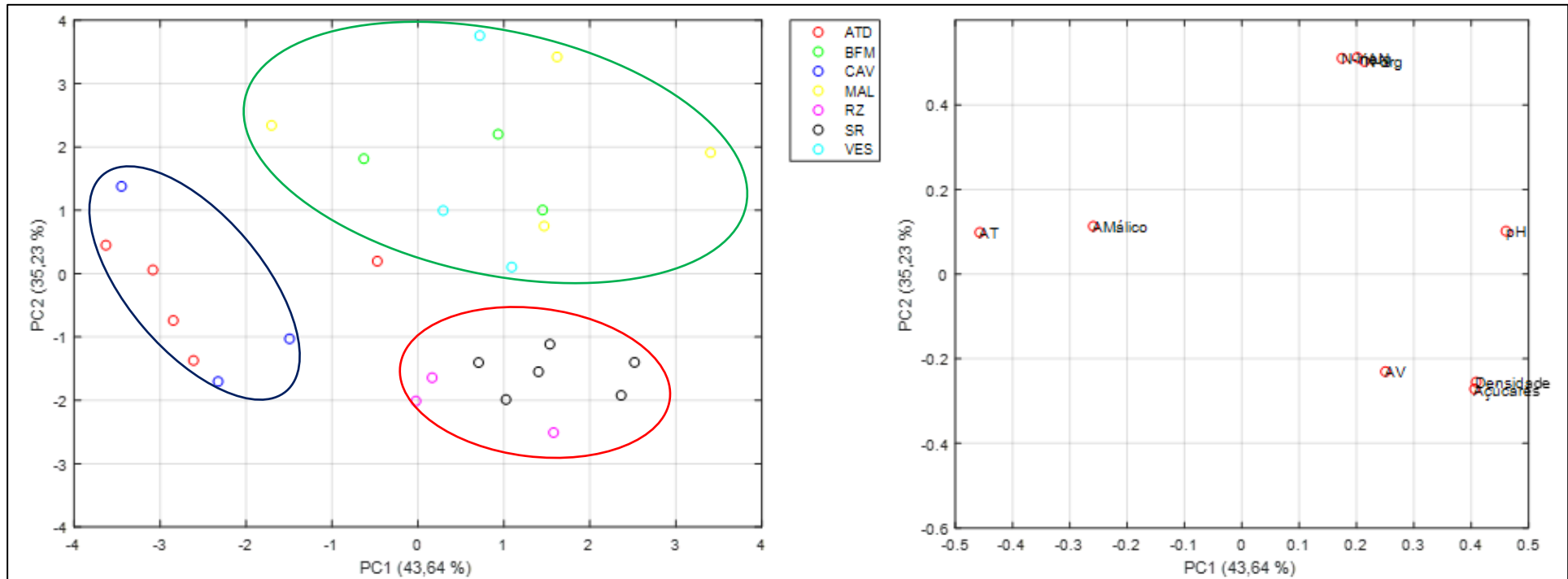


Figura 4.14 - Análise PCA da 4ª semana de controlo de maturação, de 2019, tendo como variáveis os parâmetros do OenoFOSS (scores à esquerda e loadings à direita)³

³ A variável “Açúcares” representada no gráfico dos loadings representa a densidade expressa em °Bé, enquanto que a variável “Densidade” representa a densidade expressa em g/mL.

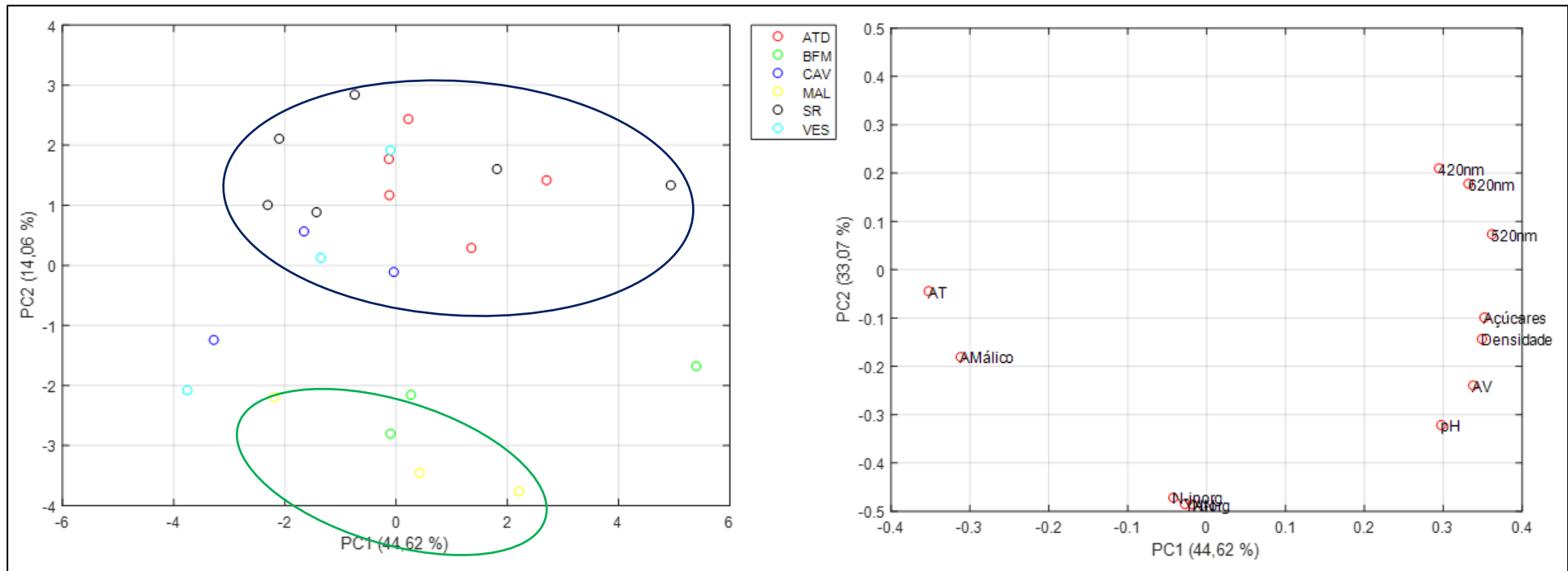


Figura 4.15 - Análise PCA da 5ª semana de controlo de maturação, de 2018, tendo como variáveis os parâmetros do *OenoFOSS* e as absorvâncias a 420, 520 e 620 nm (scores à esquerda e loadings à direita)⁴

⁴ A variável “Açúcares” representada no gráfico dos *loadings* representa a densidade expressa em °Bé, enquanto que a variável “Densidade” representa a densidade expressa em g/mL.

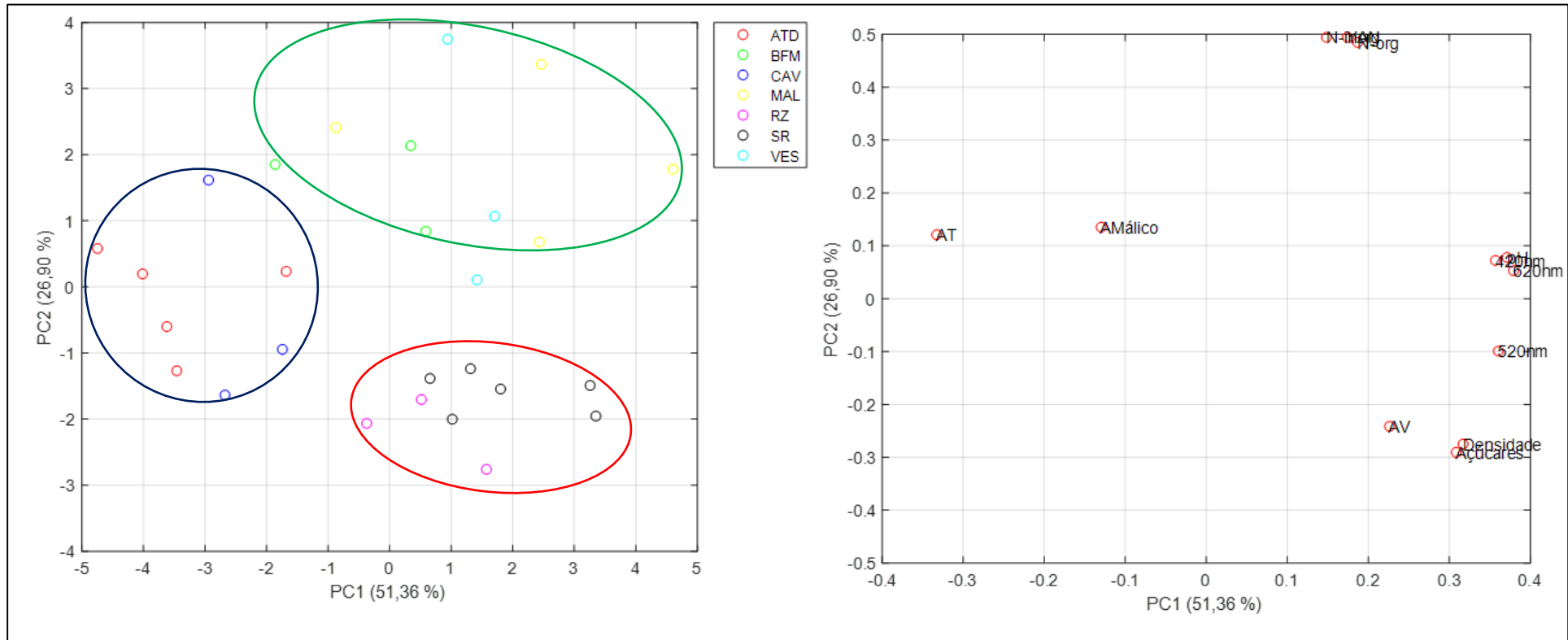


Figura 4.16 - Análise PCA da 4ª semana de controlo de maturação, de 2019, tendo como variáveis os parâmetros do *OenoFOSS* e as absorvâncias a 420, 520 e 620 nm (*scores* à esquerda e *loadings* à direita)

De forma a perceber melhor a situação anterior, analisou-se a precipitação na origem BFM. Considerando que a 5ª semana do controlo de maturação de 2018 situou-se entre os dias 10 e 14 de setembro desse mesmo ano, e a 4ª semana do controlo de maturação de 2019 ocorreu durante os dias 2 e 6 setembro, através da análise da Figura 4.17, verificou-se que a precipitação, em mm, foi mais baixa no ano de 2019. Desta forma, é possível que no ano de 2018, na 5ª semana, possa ter ocorrido uma diluição dos pigmentos nas amostras, explicando assim a diferença entre os dois anos em estudo.

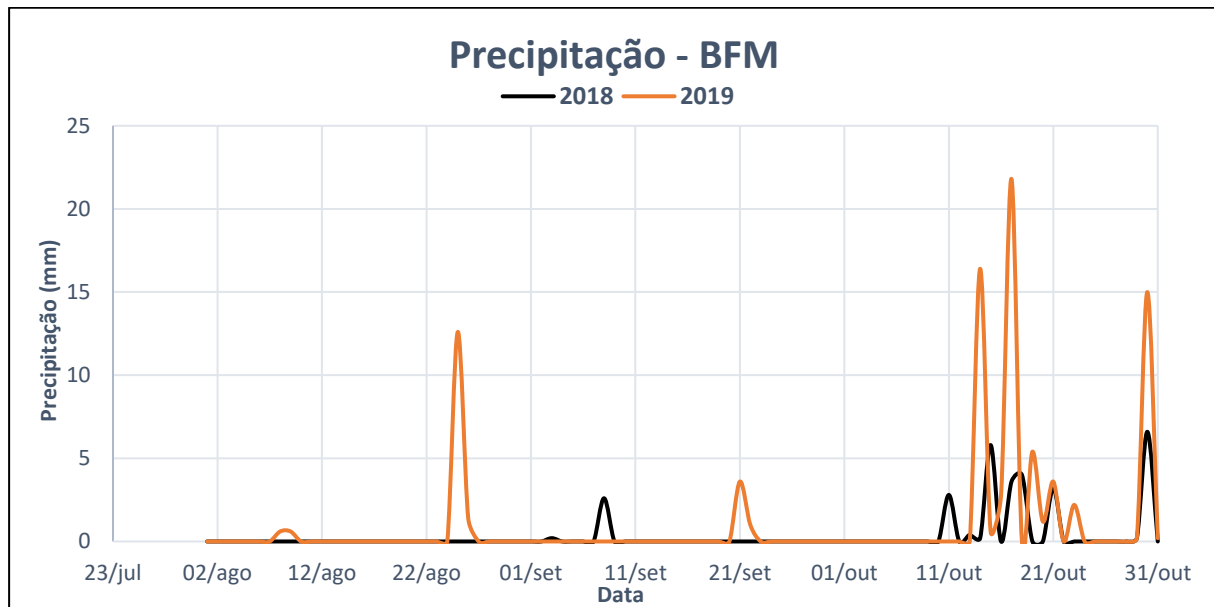


Figura 4.17 - Precipitação, em mm, nos anos de 2018 e 2019, na origem BFM

Tendo em vista os objetivos propostos, também foram realizadas análises PCA, com os resultados obtidos pelo JAZ, para as amostras analisadas neste subcapítulo. No entanto, os resultados obtidos não permitiram obter conclusões claras acerca das qualidades dos mostos entre origens.

Em relação aos VP produzidos através da utilização das uvas de Touriga Nacional, provenientes das origens acima referidas, não foi possível efetuar análises físico-químicas nos equipamentos referidos, nem análise sensorial, devido as complicações dos tempos atuais, mais precisamente, devido à COVID-19. No entanto, o objetivo com este tipo de produto, era tentar entender se os tipos de vinhos produzidos entre as diferentes origens apresentavam alguma relação, e se essas relações eram confirmadas pelas relações encontradas entre os mostos, nessas mesmas origens.

5. Conclusões

As características físico-químicas de um vinho e do mosto são muito importantes para perceber a qualidade destes produtos, sendo alguns parâmetros quantificados por métodos espectrofotométricos, necessitam da aplicação de modelos matemáticos e estatísticos, para a utilização dos dados em adega. As análises físico-químicas realizadas originaram um elevado número de variáveis, sendo necessário, assim, a utilização da análise multivariável para interpretação dos resultados de modo a atingir o objetivo do estágio: classificar a qualidade em quintas e em adega, por *clusters*

Neste trabalho, o objeto de estudos foram as amostras de controlo de maturação e as lotas de VP, dos anos 2018 e 2019, da *Symington Family Estates*. As amostras de controlo de maturação foram recolhidas, como já é indicado ao longo do processo do controlo de maturação, e as lotas dizem respeito as amostras de vindima, antes de se iniciar o processo fermentativo. Estas amostras foram analisadas pelos seguintes métodos espectrofotométricos: espectrofotometria de absorção MIV e NIV, com a aplicação do modelo FTIR e espectrofotometria de absorção no VIS.

Pela análise de SO_2 verificou-se que as amostras do controlo de maturação de ambos os anos se encontravam aptas para a análise de componentes principais ($\text{SO}_2 < 300 \text{ mg/L}$), pois a média de SO_2 era de $12,45 \pm 9,1$ e $24,3 \pm 13,9 \text{ mg/L}$, nos anos de 2018 e 2019, respetivamente. No entanto, no caso das lotas de VP verificou-se que apenas 57,7 % das amostras, no ano de 2018 estavam dentro do limite definido, e 80,7 % dessas amostras eram da origem Bomfim (BFM), inviabilizando assim a análise de componentes principais (PCA). Em relação ao ano de 2019, a percentagem de amostras com $\text{SO}_2 < 300 \text{ mg/L}$ era menor, 21,1 %, sendo 60,0 % da origem Senhora da Ribeira (SR). Desta forma só foram efetuados PCA as amostras do controlo de maturação.

Antes de se iniciar a análise de PCA nas amostras do controlo de maturação, foi estudada a cinética de alguns parâmetros chave nesta fase (densidade, expressa em °Bé, pH e acidez total). Através deste estudo verificou-se que a cinética nos dois anos foi diferente Desta forma, para facilitar esta análise, considerou-se um período em cada ano que o °Bé fosse semelhante, o que aconteceu na 5ª semana de controlo de maturação de 2018 e na 4ª semana de 2019. A variação entre estes dois períodos foi de 3,14 %.

Assim sendo, através da análise dos *scores* e *loadings* das análises físico-químicas referidas anteriormente, concluiu-se que, em ambos os anos, as origens BFM e Malvedos (MAL) apresentaram teores mais elevados de nutrientes, mostos mais doces, ou seja, com maior grau de °Bé, e menos ácidos, enquanto que nas origens Ataíde (ATD), Cavadinha (CAV), Roriz (RZ) e Senhora da Ribeira (SR), os mostos eram mais ácidos.

Em relação à quantidade de pigmentos, verifica-se que, no ano de 2019, as origens BFM e MAL apresentam um teor mais elevados de pigmentos, enquanto que no ano de 2018 a situação é o oposto. Este comportamento poderá ser explicado, pelo facto de que no ano de 2018 a precipitação foi maior, levando a uma diluição dos pigmentos no bago.

Em relação aos objetivos propostos, não foi possível realizar as análises físico-químicas e sensoriais aos VP produzidos nas origens em análise, devido às restrições da COVID-19. O objetivo deste trabalho era encontrar padrões neste tipo de vinhos, e relacionar com os padrões encontrados nos mostos, para que no futuro, sabendo as características de um determinado mosto pudesse ser previsto que tipo de vinho se esperaria obter. Também não foi possível obter conclusões adequadas aos resultados das análises dos espectros de absorção obtidos no equipamento de absorção de visível, devido as interferências das amostras, por exemplo oxidação destas.

Desta forma, para trabalhos futuros recomenda-se o pré-processamento dos dados do JAZ, assim como os espectros obtidos através do *OenoFOSS*, com a aplicação técnicas de análise multivariada tais como regressão dos mínimos quadrados (PLS) e regressão multi-linear (MLR), e a inserção das análises dos compostos fenólicos nos PCA, para entender a influência deste tipo de compostos.

Bibliografia

- [1] Symington Family Estates. “História”. <https://pt.symington.com/a-nossa-historia> (acedido em 24 de abril de 2020)
- [2] Figueiredo, Castanheira, E, Ferreira, A, Trindade, H, Freire, F. 2014. “Avaliação de Ciclo de Vida do Vinho Fileira do Vinho”.http://www2.dem.uc.pt/CenterIndustrialEcology/projects/Outputs%20Ecodeep/Relatorios/Ecodeep_Relatorio%20fileira%20do%20vinho.pdf (acedido a 17 de abril de 2020)
- [3] AEVP – Associação das Empresas de Vinho do Porto. “Vinho do Porto/Douro”. <http://www.aevp.pt/Vinhos-do-Porto> (acedido a 09 de setembro de 2020)
- [4] Cruz, R (2018). *Estudo da influência das aguardentes na qualidade do Vinho do Porto – Interação entre os compostos fenólicos e os aldeídos das aguardentes*, Tese de Mestrado em Viticultura e Enologia, Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa, 85pp.
- [5] Meireles, A (2013) *Controlo de Maturação e Clarificação do Mosto*, Tese de Mestrado em Engenharia Agrónoma, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto. 150pp.
- [6] Reynier, A, 2001, *Manual de Viticultura – 6ª edición*. Madrid (Espanã): Artes Gráficas Cuesta, S.A.
- [7] Ribéreau-Gayon, P; Dubourdieu, D; Donèche, B & Lonvaud, A, 2006, *Handbook of Enology. Volume 1 – The Microbiology of Wine and Vinifications*. West Sussex (England): John Wiley & Sons, Ltd. 79-113pp.
- [8] Tomaz, F (2013), *Estudo da Evolução dos Compostos da Uva ao Longo da Maturação em Clima Semi-Árido*, Tese de Mestrado em Viticultura e Enologia, Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa. 82pp.
- [9] Mata, J (2018), *Comparação de técnicas de amostragem para controlo da evolução da maturação na vinha*, Tese de Mestrado em Viticultura e Enologia, Instituto Superior de Agronomia – Universidade de Lisboa. 47 pp.

- [10] Dai, Z, Vivin, P, Barrieu, F, Ollat, N, Delrot, S (2010). *Physiological and modelling approaches to understand water and carbon fluxes during grape berry and quality development: a review*, *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 16 (1), 70-85.
- [11] Dokoozlian, N.K. (2000). *Grape Berry Growth and Development*. Raisan Product Manual: Agriculture & Natural Resources, 30-37.
- [12] Downey, M., Dokoozlian, N., & Krstic, M. (2006). *Cultural practice and environmental impacts on the flavonoid composition of grapes and wine: a review of recent research*. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57, 257-268.
- [13] Cozzolino, D, Smyth, H., Gishen, M. (2003). *Feasibility Study on the Use of Visible and Near-Infrared Spectroscopy Together with Chemometrics to Discriminate between Commercial White Wines of Different Varietal Origins*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(26), 7703-7708
- [14] Queiroz, M (2015), *Evolução das antocianinas, atividades antioxidante e parâmetros de cor no Vinho do Porto ao longo do seu envelhecimento*, Teste de Mestrado em Controlo de Qualidade – Ramo de Especialização Água e Alimento, Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, 103pp.
- [15] Sem, I., Ozturk, B., Tokatli, F. (2016). *Combination of visible and mid-infrared spectra for the prediction of chemical parameters of wines*, *Talanta*, 161, 130-137
- [16] Skoog, D., Foller, F., & Nieman, T. (1998). *Princípios de Análise Experimental*. Porto Alegre: Bookman.
- [17] Cozzolino, D. (2015). *Sample presentation, sources of error and future perspectives on the application of vibrational spectroscopy in the wine industry*, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95 (1), 861-868.
- [18] Burns, D., & Ciurczak (2007). *Handbook of Near-Infrared Analysis 3rd Edition*. CRC Press
- [19] Bevin, C., Fergusson, A., Perry, W. et al (2006). *Development of a rapid "fingerprinting" system for wine authenticity by mid-infrared spectroscopy*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(26), 9713-9718

- [20] FOSS. “OenoFOSS™”. Janeiro, 2019. <https://www.fossanalytics.com/en/products/oenofoss> (acedido em 30 de junho de 2020).
- [21] FOSS Analytical, 2014, *FTIR Calibrator – Software Manual*, Denmark
- [22] Miller, J. N., & Miller, J. C. (2005). *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry* (5ª edição). Edinburgh Gate, Harlow, England: Pearson - Prentice Hall. ISBN 0 131 29192 0
- [23] Smith, Lindsay. 2002. *A tutorial on Principal Component Analysis*. University of Otago. (Versão PDF do documento descarregada em 31 de março de 2020).
- [24] Brereton, R. (2003). *Chemometrics: Data Analysis for the Laboratory and Chemical Plant*. Wiley. ISBN – 0-471-48977-8.
- [25] Shlens, Jonathan. 2014. A Tutorial on Principal Component Analysis – Derivation, discussion and singular Value Decomposition: Cornell University. arXiv:1404.1100 (versão PDF do documento acedido a 31 de março de 2020)
- [26] Reis, M. 2012. *Engenharia de Processos e Sistemas – Modelação matemática de base estatística/empírica*. Departamento de Engenharia Química – Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra. (versão de PDF do documento descarregada em 20 de abril de 2020)
- [27] Open Source Computer Vision. “*Introduction to Principal Component Analysis (PCA)*”. 9 de outubro, 2019. https://docs.opencv.org/3.4.8/d1/dee/tutorial_introduction_to_pca.html (acedido a 30 de março de 2020).
- [28] Pádua, L., Marques, P., Adão, T, *et al.* (2018). *Deteção automática de vinha e extração de parâmetros individuais das plantas por imagem aérea de alta resolução*, IX Conferência Nacional de Cartografia e Geodesia.
- [29] LabX. “BioTek PowerWave XS”. <https://www.labx.com/product/biotek-powerwave-xs> (acedido em 29 de setembro de 2020).
- [30] Ocean Optics (2010). *JAZ – Installation and Operation Manual*, Ocean Optics, Inc.
- [31] Cole-Parmer. “Ocean Optics Jaz UV/Visible Spectrophotometer with Remote Probe”. <https://www.coleparmer.com/i/ocean-optics-jaz-uv-visible-spectrophotometer-with-remote-probe/8350020> (acedido em 30 de setembro de 2020).

[32] Megazyme. “Total Sulfite Assay KIT”. <https://www.megazyme.com/total-sulfite-assay-kit> (acedido a 30 de setembro de 2020)

Anexos

Anexo A – Procedimento *Matlab*

Neste anexo encontram-se os comandos utilizados no *Matlab*, para o método de PCA.

1. % Normalização dos dados (*Variance scaling* - divisão dos valores, pelo desvio padrão de cada variável)
data=data';
sdcolumn=std(data');
normalized_data=bsxfun(@rdivide,data',sdcolumn);
2. % A matriz a trabalhar tem de estar na forma $P \times N$, em que P corresponde à variáveis (linha) e N ao número de casos (colunas).
normalized_data=normalized_data';
3. % Tamanho da matriz "normalized_data"
[p n]=size(normalized_data);
4. % Cálculo da média de cada uma das variáveis (obtêm-se um vetor coluna)
meancolumn=mean(normalized_data,2);
5. % Subtrair a média à matriz "normalized_data", de forma a centralizar a matriz
X=normalized_data-repmat(meancolumn,1,n);
6. % Tamanho da matriz "X"
[p n]=size(X);
7. % Calcular a matriz de covariância
covX=(X*X')/(n-1);
8. % Cálculo dos valores próprios (L) e dos vetores próprios (Q)
[Q L]=eig(covX);
9. % Ordenação dos valores próprios na forma descendente
L=diag(L);
[L,index]=sort(L,'descend');
10. % Cálculos dos scores
Q=Q(:,index);
Y=Q'*X;
11. % Cálculo da variância dos 5 primeiros PC
varPC=L(1:5)/sum(L);