



UNIVERSIDADE DE ÉVORA

ESCOLA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA

DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA

**A cor dos vinhos como ferramenta de
diferenciação de vinhos tintos. Aplicação da
espectrofotometria de UV-Vis**

Ana Cristina Cabeça Encarnação

Orientação:

Professora Doutora Maria João Cabrita

Mestrado em Viticultura e Enologia

Dissertação

Évora, 2019

Orientador: Professora Doutora Maria João Cabrita

Arguente: Doutora Raquel Marta dos Santo Neves Garcia

Coordenador do curso: Professor Doutor João Mota Barroso



UNIVERSIDADE DE ÉVORA

ESCOLA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA

DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA

**A cor dos vinhos como ferramenta de
diferenciação de vinhos tintos. Aplicação da
espectrofotometria de UV-Vis**

Ana Cristina Cabeça Encarnação

Orientação:

Professora Doutora Maria João Cabrita

Mestrado em Viticultura e Enologia

Dissertação

Évora, 2019

Ao meu filho Pedro

A realização desta dissertação de mestrado não teria sido possível sem a contribuição de diversas pessoas, que de uma forma ou de outra me ajudaram na sua execução.

Primeiro devo agradecer à professora Maria João Cabrita que, com todo o seu conhecimento científico e disponibilidade, contribui para a orientação desta dissertação.

Aos meus familiares, principalmente ao Manel e aos meus pais, pelo encorajamento, paciência e ajuda nesta fase da minha vida. À minha sobrinha Catarina Pechincha por ser tão prestável e por partilhar comigo os seus conhecimentos.

À minha grande amiga Fernanda Fiúza, o meu enorme agradecimento por estar sempre ao meu lado. À Ana Catarina Luz e à Susana Igreja pela vossa amizade.

À Confraria dos Enófilos do Alentejo, à Comissão Vitivinícola do Alentejo e em especial ao Eng.º Óscar Gato pela disponibilidade em dispensarem as amostras de vinhos tintos presentes no IV Concurso “Melhores Vinhos do Alentejo” 2016.

Aos colaboradores do laboratório de Enologia da Universidade de Évora, Rui e Dona Albina, pela ajuda e disponibilidade para facilitar a realização dos ensaios laboratoriais.

A todos os professores do curso de Mestrado em Viticultura e Enologia pelos ensinamentos e por despertarem em mim a grande paixão pelo mundo da vinha e do vinho.

RESUMO

A cor é o primeiro atributo no processo de identificação dos vinhos a ser considerada no momento da escolha de um vinho por parte do consumidor.

Como forma de conhecer as características cromáticas e a natureza polifenólica de vinhos tintos foram analisados parâmetros de cor (L^* , a^* , b^* , C^* , H^* , IC e TC), compostos fenólicos (FT, FnA e AT), pH e acidez total em vinhos dos anos de 2013, 2014 e 2015.

Através de uma análise estatística comparam-se os resultados dos vinhos dos 3 anos. Existem diferenças em alguns parâmetros de cor atribuídas às diferentes idades dos vinhos e consequentes às alterações inerentes ao envelhecimento. Valores de IC, FT e FnA não se explicam com uma variação temporal. Os resultados mostram que as características dos vinhos estão condicionadas pelas características do ano de colheita.

Palavras-Chave: Vinho tinto, cor, CIElab, antocianinas, flavonóides

ABSTRACT

Color is the first attribute in the wine identification process to be considered by the consumer when is choosing a wine.

Color parameters (L^* , a^* , b^* , C^* , H^* , IC and TC), phenolic compounds (FT, FnA and AT), pH and total acidity were analyzed as a way to know the color characteristics and polyphenolic nature or red wines from the years 2013, 2014 and 2015.

Through a statistical analysis, the results are compared between the years. There are differences in some color parameters attributed to the different ages of the wines and consequent to the changes inherent to aging. IC, FT and FnA values can not be explained with a temporal variation. The results show that the characteristics of the wines are conditioned by the characteristics of the harvest year.

Key words: Red wine, color, CIElab, anthocyanins, flavonoids

LISTA DE ABREVIATURAS

Abs – Absorvância

a* – Contribuição das cores vermelho/verde

AT – Antocianinas

b* – Contribuição das cores amarelo/azul

C* – Croma ou saturação

CIE – Commission Internationale d'Éclairage

DOC – Denominação de Origem Controlada

FnA – Flavonóides não antociânicos

FT – Flavonóides Totais

H* – Hue ou tonalidade da cor

IC – Intensidade da cor

IG – Indicação Geográfica

L* – Luminosidade

OIV – Organização Internacional da Vinha e do Vinho

TC – Tonalidade

UV/Vis – Ultravioleta/Visível

ÍNDICE

RESUMO	VI
ABSTRACT	VII
LISTA DE ABREVIATURAS	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS	XI
ÍNDICE DE TABELAS	XII
CAPÍTULO 1 INTRODUÇÃO	1
1.1 OBJECTIVOS	2
1.2 ORGANIZAÇÃO E ESTRUTURA DA TESE	2
CAPÍTULO 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 IMPORTÂNCIA DA COR DO VINHO	3
2.2 COR DO VINHO TINTO	3
2.3 COMPOSTOS FENÓLICOS E A COR DO VINHO TINTO	4
2.3.1 <i>Compostos de natureza não flavonóide</i>	5
2.3.2 <i>Compostos de natureza flavonoide</i>	7
2.3.2.1 Flavonóis	7
2.3.2.2 Flavanóis	8
2.3.2.3 Antocianinas	9
2.4 FATORES QUE INFLUENCIAM A ESTABILIDADE DAS ANTOCIANINAS	10
2.4.1 <i>pH</i>	11
2.4.2 <i>Dióxido de enxofre</i>	11
2.5. REAÇÕES DE DEGRADAÇÃO DAS ANTOCIANINAS	12
2.5.1 <i>Temperatura</i>	12
2.5.2 <i>Oxigénio e luz</i>	13
2.6. REAÇÕES DAS ANTOCIANINAS COM OUTROS COMPOSTOS	14
2.6.1 <i>Copigmentação</i>	14
2.6.2 <i>Auto-associação das antocianinas</i>	15
2.6.3 <i>Reações de condensação entre antocianinas e taninos</i>	15
2.7 COR DO VINHO AO LONGO DO TEMPO	16
2.8 ANÁLISE DA COR DO VINHO	17
2.8.1 <i>Métodos convencionais – espectrofotométricos</i>	18
2.8.2 <i>Métodos estabelecidos pela CIE</i>	20
CAPÍTULO 3 MATERIAIS E METODOLOGIA	23

3.1 ACIDEZ TITULÁVEL E PH	23
3.2 CARACTERÍSTICAS CROMÁTICAS DAS AMOSTRAS	23
3.2.1 <i>Intensidade Corante</i>	24
3.2.2 <i>Tonalidade</i>	24
3.2.3 % dA	24
3.2.4 <i>Método CIELab</i>	25
3.2.4.1 Valor de L*	26
3.2.4.2 Valor de a*	26
3.2.4.3 Valor de b*.....	26
3.2.4.4 Valores de C* e H*	27
3.3 DETERMINAÇÃO DOS FLAVONÓIDES TOTAIS (FT), FLAVONÓIDES NÃO ANTOCIÂNICOS (FNA) E ANTOCIANINAS TOTAIS (AT) DOS VINHOS	27
CAPÍTULO 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
4.1 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS.....	30
4.2 VALORES DE PH E ACIDEZ TOTAL	32
4.3 VALORES DE L*, A* E B*	32
4.4 VALORES DE C* E H*	34
4.5 VALORES DE IC E % AMARELO, VERMELHO E AZUL.....	36
4.6 VALORES DE TC E % dA.....	39
4.7 VALORES DOS FLAVONÓIDES TOTAIS (FT), FLAVONÓIDES NÃO ANTOCIÂNICOS (FNA) E ANTOCIANINAS TOTAIS (AT) DOS VINHOS	40
4.8 ANÁLISE CANÔNICA DISCRIMINANTE	43
CAPÍTULO 5 CONCLUSÕES.....	47
5.1 CONSIDERAÇÕES FINAIS	47
5.2 LIMITAÇÕES E PERSPETIVAS FUTURAS.....	48
BIBLIOGRAFIA	49
ANEXOS.....	54

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1 - ESQUEMA REPRESENTATIVO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS NOS VINHOS	5
FIGURA 2 - ESTRUTURA QUÍMICA DO ÁCIDO CINÂMICO E DOS SEUS DERIVADOS	6
FIGURA 3 - ESTRUTURA QUÍMICA DOS ÁCIDOS HIDROXICINAMILTARTÁRICOS	6
FIGURA 4 - ESTRUTURA QUÍMICA DOS ÁCIDOS BENZOICOS	6
FIGURA 5 - ESTRUTURA QUÍMICA DOS FLAVONÓIS	8
FIGURA 6 - ESTRUTURAS QUÍMICAS DOS 3-FLAVANÓIS	8
FIGURA 7 - ESTRUTURA QUÍMICA DAS ANTOCIANINAS	10
FIGURA 8 - COR DAS ANTOCIANINAS A DIFERENTES VALORES DE PH	11
FIGURA 9 - ESQUEMAS REPRESENTATIVOS DO SISTEMA DE COORDENADAS CIELAB	21
FIGURA 10 - GRÁFICO EXEMPLIFICATIVO DOS REGISTOS DAS ABSORVÂNCIAS (EIXO DAS ORDENADAS), COMPRIMENTOS DE ONDA (EIXO DAS ABCISSAS) E TRAÇADOS DAS RETAS	28
FIGURA 11 - MÉDIAS DOS VALORES DE L* PARA OS ANOS DE 2013, 2014 E 2015	33
FIGURA 12 - MÉDIAS DOS VALORES DE A* E B* PARA OS ANOS DE 2013, 2014 E 2015	34
FIGURA 13 - MÉDIAS DOS VALORES DE C* PARA OS ANOS DE 2013, 2014 E 2015	35
FIGURA 14 - MÉDIAS DOS VALORES DE H* PARA OS ANOS DE 2013, 2014 E 2015	36
FIGURA 15 - MÉDIAS DOS VALORES DA INTENSIDADE CORANTE (IC) PARA OS ANOS DE 2013, 2014 E 2015	37
FIGURA 16 - CONTRIBUIÇÃO EM % DAS CORES VERMELHO, AMARELO E AZUL NA COMPOSIÇÃO DA COR DOS VINHOS DE 2013, 2014 E 2015	38
FIGURA 17 - VALORES DAS MÉDIAS DA TONALIDADE PARA OS ANOS DE 2013, 2014, 2015	39
FIGURA 18 - VALORES DAS MÉDIAS DAS % DE DA PARA OS ANOS DE 2013, 2014 E 2015	40
FIGURA 19 - VALORES DAS MÉDIAS DOS FLAVONÓIDES TOTAIS E FLAVONÓIDES NÃO ANTOCIÂNICOS PARA OS ANOS DE 2013, 2014 E 2015	41
FIGURA 20 - VALORES DAS MÉDIAS DAS ANTOCIANINAS PARA OS ANOS DE 2013, 2014, 2015	42
FIGURA 21 - ANÁLISE CANÓNICA DISCRIMINANTE	43

ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 1 - DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS DE GLORIES COM BASE NA MEDIÇÃO DA ABSORVÂNCIA A DIFERENTES COMPRIMENTOS DE ONDA.....	19
TABELA 2 – VALORES DAS MÉDIAS \pm DESVIO PADRÃO DOS PARÂMETROS PH, ACIDEZ TOTAL, L*, A*, B*, C*, H*, IC, TC, % DA, % AMARELO, % VERMELHO, % AZUL, FT, FNA E AT PARA OS ANOS DE 2013, 2014 E 2015.....	31
TABELA 3 - % DE VARIÂNCIA	44
TABELA 4 - LAMBDA DE WILKS	44
TABELA 5 - RESULTADOS DA CLASSIFICAÇÃO.....	45
TABELA 6 - COEFICIENTES DAS FUNÇÕES DISCRIMINANTES CANÓNICAS PADRONIZADOS	46

Capítulo 1 | INTRODUÇÃO

A cor é um atributo sensorial dos vinhos a ser considerada no momento da escolha de um vinho por parte do consumidor (Meléndez *et al.* 2001). No processo de prova dos vinhos a cor é a primeira característica a ser avaliada podendo dar algumas indicações sobre a qualidade do produto (Hernández *et al.*, 2010). Ao observar a cor do vinho, o consumidor poderá ter a percepção da idade, da evolução no tempo e também de possíveis defeitos existentes no vinho (Araújo *et al.* 2005). No entanto, segundo Parr *et al.*, (2003), a cor do vinho pode levar o consumidor ativar uma descrição previamente estabelecida criando expectativas sobre as suas características organolépticas que podem não estar presentes.

Segundo Meléndez *et al.*, (2001), a cor é considerada um fator psicofísico: ‘psico’ por ser um atributo da visão que está dependente da percepção de cada indivíduo e ‘físico’ por ser uma caracterização da luz. Sabe-se que, de um ponto de vista mais técnico, a cor do vinho é resultado dos compostos fenólicos presentes nas uvas, que por sua vez são extraídos durante o esmagamento, maceração e fermentação e que, com o tempo, sofrem diferentes evoluções dependentes de vários fatores: a própria natureza dos compostos fenólicos e a sua reatividade, o pH do meio e a temperatura são alguns exemplos que irão ser abordados neste trabalho.

Como a cor é um conceito difícil de caracterizar objetivamente, alguns autores desenvolveram vários métodos para a sua definição, alguns exemplos são os métodos desenvolvidos por Sudraud, Roubert e Glories (Sudraud, 1958; Roubert, 1977; Glories, 1984). A Organização Internacional do Vinho e da Vinha (OIV) recomenda a utilização dos parâmetros do CieLab (L^* , a^* , b^*) como variáveis da cor.

1.1 Objectivos

Com esta dissertação pretendeu-se estudar a cor dos vinhos tintos alentejanos através dos seus parâmetros cromáticos (L^* , a^* , b^* , C^* , H^* , IC e TC), se as cores dos vinhos em estudo apresentam ou não uma relação com o ano de produção (2013, 2014 e 2015) e se existe ou não uma relação entre as cores dos vinhos amostrados.

1.2 Organização e estrutura da tese

O trabalho encontra-se organizado em 5 capítulos.

O presente capítulo 1, introdutório, é dedicado à justificação do trabalho, ao seu enquadramento geral e específico e à apresentação dos objetivos do trabalho.

No capítulo 2 são apresentadas as bases teóricas que fundamentam o estudo da cor dos vinhos sustentadas numa revisão bibliográfica.

No capítulo 3 apresenta-se a metodologia utilizada para o estudo da cor dos vinhos tintos.

No capítulo 4 são apresentados os resultados e sua discussão.

No capítulo 5 apresentam-se as conclusões do trabalho, limitações e perspectivas futuras.

Capítulo 2 | REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Importância da cor do vinho

A cor é um dos atributos mais importantes na identificação de um vinho e o fator que mais influencia na altura da escolha por parte do consumidor (Meléndez *et al.* 2001).

A cor do vinho é o primeiro parâmetro sensorial na avaliação da sua qualidade, sendo um fator importante para a aceitação do vinho. De um modo geral, a análise visual da cor está intimamente relacionada com a percepção das restantes características organoléticas, como o aroma, o sabor e a textura (Clydesdale, 1984; Morrot *et al.* 2001; Parr *et al.* 2003; Rodríguez-Méndez *et al.* 2004; Pangborn 1963).

A cor do vinho, para além de ser essencial na distinção dos vinhos “tinto”, “rosé” e “branco”, pode indicar a variedade das uvas utilizadas na sua produção, o estilo de produção, a prática de vinificação, a evolução ao longo do tempo e a idade do vinho (Birse, 2007; Araújo *et al.*, 2005; González-Neves *et al.*, 2004; Keller *et al.*, 2003; Revilla & González-Sanjosé, 2001; Revilla *et al.*, 2005; Hernández *et al.*, 2010).

2.2 Cor do vinho tinto

A cor do vinho tinto é influenciada essencialmente pela sua composição fenólica que está dependente de variados fatores. São exemplos, o solo em que a videira é plantada, as castas utilizadas na produção do vinho, as técnicas de vinificação e tecnologias enológicas utilizadas (Birse, 2007). Num vinho tinto existem inúmeros compostos fenólicos que, devido à sua elevada reatividade, alteram constantemente a cor do vinho (Somers e Evans 1986). Esta reatividade é potenciada pela elevada complexidade da matriz dos vinhos tintos, composta por uma grande variedade de compostos extraídos da uva e metabolitos libertados durante o processo de

fermentação (Fernandes *et al.* 2017). Assim, a cor do vinho depende não só dos pigmentos, mas também da sua estrutura molecular, das suas características físico-químicas e das condições do meio condicionadas por fatores como o pH e temperatura (Ribéreau-Gayon, 1973; Timberlake e Bridle, 1976; Cabrita *et al.*, 2003).

2.3 Compostos fenólicos e a cor do vinho tinto

Os compostos fenólicos desempenham funções importantes associadas principalmente à adaptação das plantas às condições climáticas sendo responsáveis pela coloração, sabor e aroma da uva influenciando a qualidade e as características organolépticas, sendo responsável pela cor do vinho tinto, adstringência e corpo dos vinhos (Teixeira *et al.*, 2013). Estes englobam uma série de compostos, flavonóides e não flavonóides, altamente reativos devido à sua estrutura química. Tal como o nome indica, estas moléculas contêm a presença de um anel benzénico hidroxilado (o grupo fenol).

Os compostos fenólicos são sintetizados nas células da uva, estando os diferentes tipos de compostos distribuídos desigualmente pelas diferentes partes do fruto: polpa, película, grainha e vasos fibrovasculares.

Os compostos fenólicos, nomeadamente as antocianinas e os taninos, são os principais responsáveis pelos fenómenos de oxidação dos vinhos, ocorrendo alterações de cor (acastanhamento) e evolução do gosto (diminuição ou aumento da adstringência) (Cabrita *et al.*, 2003).

Como já referido, os compostos fenólicos podem dividir-se em dois grandes grupos (Figura 1), os de natureza não flavonóide e os de natureza flavonóide. Dentro do grupo dos não flavonóides encontramos os ácidos fenólicos que são os ácidos hidroxibenzoicos e os ácidos hidroxicinâmicos e ainda os estilbenos. Os compostos fenólicos de natureza flavonóide dividem-se em flavanóis, flavonóis e antocianinas (Garrido e Borges, 2013).

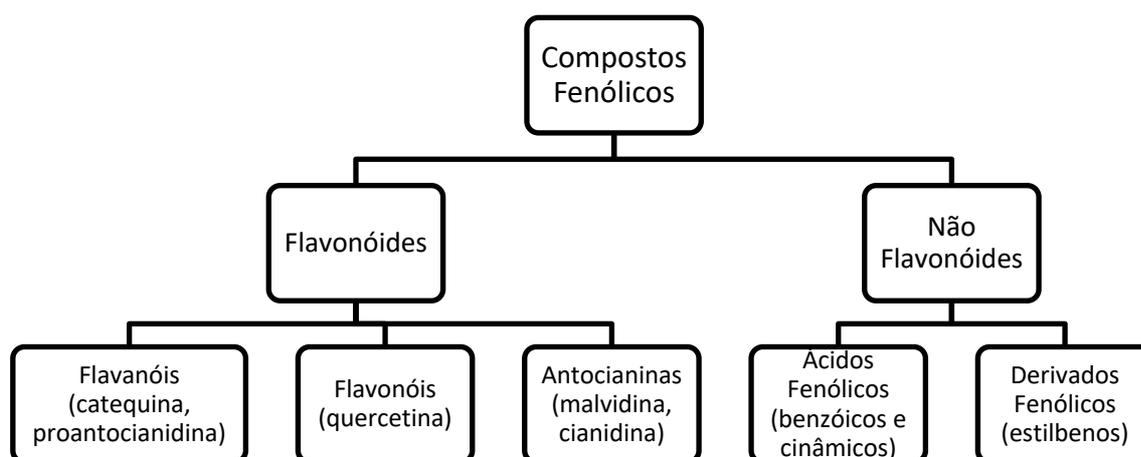


Figura 1 - Esquema representativo dos compostos fenólicos nos vinhos

2.3.1 Compostos de natureza não flavonóide

Os ácidos fenólicos encontram-se nas uvas e no vinho em concentrações que podem atingir os 100-200 mg/L nos vinhos tintos e 10-20 mg/L nos vinhos brancos (Dias, 2012).

Neste grupo de compostos fenólicos encontram-se os ácidos hidroxicinâmicos, com estrutura química C_6-C_3 (Figura 2), que existem maioritariamente na polpa e na película das uvas. Apesar de não serem muito influentes nas propriedades organolépticas dos vinhos, estão relacionados com o surgimento de fenóis voláteis com as consequentes alterações aromáticas. Estes compostos, ricos em grupos hidroxilo, são as primeiras substâncias fenólicas a serem oxidadas, através das enzimas fenoloxidásicas, nas respetivas quinonas, contribuindo para fenómenos de oxidação com moléculas de origem não fenólica, originando o acastanhamento dos vinhos brancos. Estes ácidos, ácidos ferúlico, ácido *p*-cumárico e ácido cafeico encontram-se nas uvas combinados com o ácido tartárico (Figura 3) dando origem aos respetivos ácidos hidroxicinamiltartáricos (Cabrita *et al.*, 2003; Teixeira *et al.* 2013).

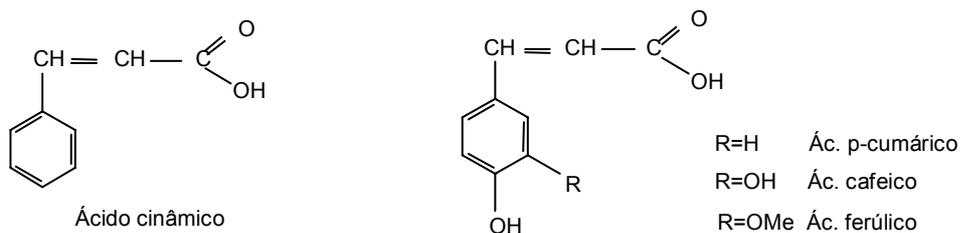


Figura 2 - Estrutura química do ácido cinâmico e dos seus derivados

(Cabrita et al., 2003)

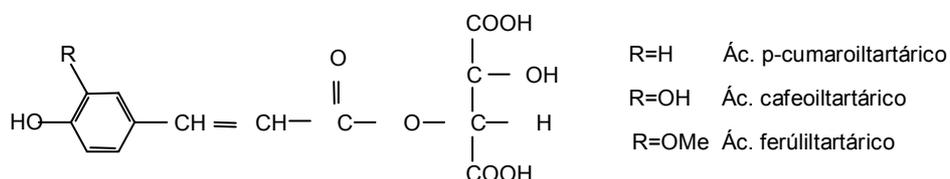


Figura 3 - Estrutura química dos ácidos hidroxicinamiltartáricos

(Cabrita et al., 2003)

Os ácidos benzoicos, com estrutura química $\text{C}_6\text{-C}_1$ (Figura 4), existem em menor quantidade nos vinhos comparados com os ácidos hidroxicinâmicos. As formas mais comuns encontradas nos bagos incluem o ácido gentísico, o ácido salicílico, o ácido gálico e o *p*-hidroxibenzoico. Estes ácidos são mais comuns em vinhos novos tendo tendência para baixar a sua concentração ao longo do tempo por reagirem com outras moléculas nomeadamente os taninos (Quideau *et al.*, 2011).



Figura 4 - Estrutura química dos ácidos benzoicos

(Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006)

Nesta classe de polifenóis também se inserem os estilbenos que, em embora existam em concentrações reduzidas nos vinhos, são de enorme importância devido aos efeitos benéficos na saúde humana. Neste grupo pode destacar-se o resveratrol por ser o estilbeno mais produzido nas uvas aquando ataques patogénicos e *stress* do meio (Conde *et al.*, 2007; Teixeira *et al.*, 2013).

2.3.2 Compostos de natureza flavonoide

Os flavonóides constituem a grande parte dos compostos fenólicos existentes nas uvas, caracterizam-se por possuírem 2 anéis de benzeno ligados por um grupo pirano, representados pela fórmula C₆-C₃-C₆. De acordo com o estado de oxidação do grupo pirano, estes compostos são representados por duas classes maioritárias que são as antocianinas e as proantocianinas ou taninos e por outras duas minoritárias que são os flavonóis e os flavano-3-óis mais simples (Teixeira *et al.*, 2013).

2.3.2.1 Flavonóis

Os flavonóis caracterizam-se pela existência de uma insaturação do anel heterocíclico e um grupo hidroxilo na posição 3. Esta classe é sintetizada nas películas dos bagos, na forma de glucósido sendo o quempferol, a quercetina e a miricetina as agliconas mais importantes que se encontram nos vinhos tintos por terem sofrido hidrólise durante a fermentação (Figura 5). Apesar de serem uma família que existe em baixas concentrações nas uvas, determinam, através de processos de copigmentação com as antocianinas, a forma de evolução da cor dos vinhos tintos (Cabrita *et al.*, 2003).

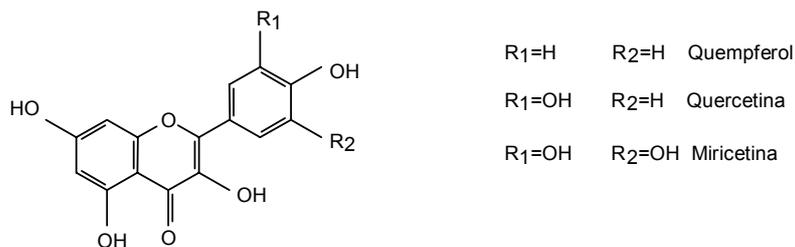


Figura 5 – Estrutura química dos flavonóis

(Cabrita et al., 2003)

2.3.2.2 Flavanóis

Os flavano-3-ol e as proantocianidinas ou taninos são os compostos que se destacam entre os flavanóis, sendo a classe de polifenóis mais abundante nas uvas. Os flavano-3-ol caracterizam-se por possuir um anel heterocíclico saturado, sendo os seus principais monómeros a (+)-catequina e a (-)-epicatequinas (Figura 6). As catequinas encontram-se essencialmente nas grainhas, um pouco nas películas e por último na polpa, sendo responsáveis pelo sabor amargo dos vinhos (Teixeira *et al.*, 2013).

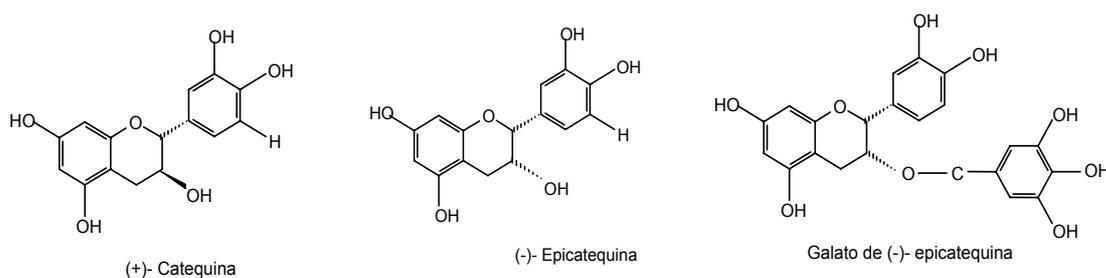


Figura 6 -Estruturas químicas dos 3-flavanóis

(Cabrita et al., 2003)

Os taninos são compostos fenólicos com a propriedade de produzirem reações estáveis com as proteínas ou outros polímeros, fazendo-as precipitar. A sensação de

adstringência não é mais do que esta reação provocada por uma diminuição do efeito de lubrificação da saliva (Cabrita *et al.*, 2003; Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006).

Os taninos são polímeros de compostos fenólicos, tanto de natureza flavonóide como de natureza não flavonóide, que podem classificar-se como hidrolisáveis e condensados. Os taninos hidrolisáveis, baseados em fenóis de natureza não flavonóide, encontram-se em forma de ésteres podendo-se decompor ou hidrolisar. Por sua vez, os taninos condensados, também conhecidos por procianidinas não se podem decompor facilmente por hidrólise (Zoecklein *et al.*, 2001).

Os taninos hidrolisáveis, que não aparecem naturalmente das uvas, resultam da ligação de um açúcar a um composto fenólico, geralmente ao ácido gálico ou ao ácido elágico, presentes na madeira que serve para armazenamento e envelhecimento dos vinhos ou por adição de taninos enológicos (Cabrita *et al.*, 2003; Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006).

Os taninos condensados originários das partes sólidas das uvas (películas, grainhas e engaços) solubilizam-se no vinho durante a maceração. As suas concentrações em vinhos tintos variam de acordo com as castas e diferentes métodos de vinificação podendo encontrar-se valores entre 1 a 4 g/L (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006). São polímeros de moléculas de flavano-3-ol, com alto peso molecular, incolores, detectados por espectrofotometria de UV-Vis ao comprimentos de onda de 280 nm, tendo a capacidade de, em condições aquecidas do meio ácido e alcoólico, libertarem cianidina (polímeros de catequina e epicatequina) ou delphinidina (galocatequinas e epigalocatequinas), denominando-se, assim procianidinas ou prodelfinidinas respectivamente (Kennedy, 2008)

2.3.2.3 Antocianinas

As antocianinas são compostos fenólicos pertencentes à família dos flavonóides, responsáveis pela pigmentação vermelha das uvas, presentes maioritariamente nas películas e, no caso das castas tintureiras, na polpa dos bagos. Também estão presentes em grandes quantidades nas folhas no fim do crescimento vegetativo ((Ribéreau-Gayon

et al., 2006). A cor dos vinhos tintos jovens resulta maioritariamente das antocianinas extraídas das uvas no processo de vinificação e fermentação (Birse, 2007).

Do ponto de vista estrutural, as antocianinas são glucósidos de polihidroxi ou polimetoxi dos sais de flavílio (2-fenil-benzopirilo). Podem diferenciar-se pelo número de grupos hidroxilo e o grau de metilação destes grupos no anel lateral, pela natureza e número dos açúcares ligados à molécula e pela natureza e número das cadeias alifáticas ou aromáticas com os açúcares (Guerra, 1997 em Cabrita *et al.*, 2003).

As agliconas das antocianinas chamam-se antocianidinas, são instáveis em água e menos solúveis que antocianinas (Timberlake e Bridle, 1976 em Cabrita *et al.* 2003). Por esta razão pensa-se que a glicosilação origine estabilidade e solubilidade a estes pigmentos (Cabrita *et al.*, 2003).

As antocianidinas encontradas em uvas do género *Vitis vinífera* são a malvidina, delfinidina, cianidina, petunidina e peonidina (Figura 7) que, por sua vez, se ligam a uma molécula de glucose na posição 3. A esterificação destas moléculas é feita pelos ácidos acético, *p*-cumárico ou cafeico (Birse, 2007).

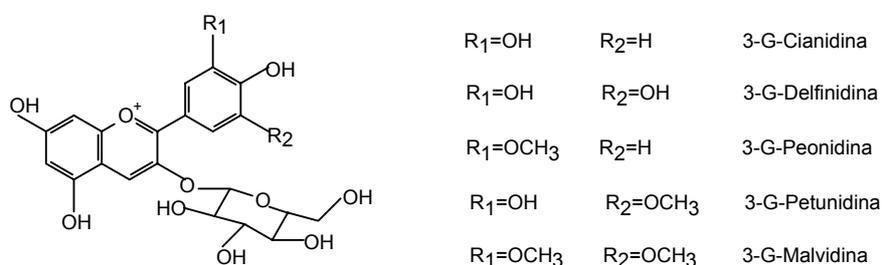


Figura 7 - Estrutura química das Antocianinas

(Cabrita *et al.*, 2003)

2.4 Fatores que influenciam a estabilidade das antocianinas

As antocianinas têm uma estabilidade variável, influenciada por fatores como o pH, temperatura, luz, oxigénio, presença de açúcares em solução aquosa (Wahyuningsih *et al.*, 2017) e pela aplicação de dióxido de enxofre (Birse, 2007).

2.4.1 pH

As diferentes estruturas das antocianinas e condições físico-químicas do meio originam pigmentações de cores diferentes (Figura 8). Em soluções com pH muito ácido, as antocianinas exibem uma cor vermelha apresentando-se na forma de catião flavílio e a valores de pH mais básicos, superiores a 7, é formada uma forma aniônica quinoidal azul (Wahyuningsih *et al.*, 2017).



Figura 8 - Cor das antocianinas a diferentes valores de pH

(Wahyuningsih *et al.*, 2017)

2.4.2 Dióxido de enxofre

É prática comum a utilização de dióxido de enxofre nas uvas ou no vinho como antioxidante e antisséptico, no entanto, quando utilizado em excesso, o dióxido de enxofre provoca uma lixiviação das antocianinas visto que a sua reação com os catiões flavílio origina um complexo incolor (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006).

O dióxido de enxofre aplicado aos vinhos afeta as suas características corantes. Num vinho que tenha sofrido arejamento, a fração livre de sulfuroso provoca um abrandamento nas reações de copolimerização entre as antocianinas e os taninos ao qual resulta uma diminuição dos valores de antocianinas, verificando-se também uma diminuição nos níveis de condensação dos taninos. Além disso, para valores

relativamente altos de sulfuroso livre (40 mg/l) estas reações podem ficar bloqueadas, comprometendo a evolução natural do vinho (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006).

De uma forma geral, pode-se considerar que o dióxido de enxofre combina-se parcialmente como o oxigénio dissolvido, inativando-o e deixando-o incapaz de se combinar com os constituintes do vinho. Outro resultado da presença de dióxido de enxofre é a sua combinação com as antocianinas e, portanto, inativando a sua condensação com os taninos na presença de acetaldeído, e ainda a própria reação do sulfuroso com o acetaldeído (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006).

Desta forma, é importante a regulação dos valores de dióxido de enxofre nos vinhos. A sua concentração deve ser suficiente baixa para que as reações ocorram de uma forma natural e suficientemente altas para a estabilidade microbiana (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1983).

2.5. Reações de degradação das antocianinas

As moléculas de antocianinas não são muito estáveis e sua concentração diminui bastante ao longo do tempo. Esta diminuição deve-se às reações de combinação com outros compostos presentes no vinho, especialmente com os taninos e também a reações de degradação.

2.5.1 Temperatura

As antocianinas quando sujeitas a altas temperaturas podem sofrer uma mudança no equilíbrio entre as chalconas e as formas incolores. Estas reações são mais evidentes quanto maior for o tempo de exposição a temperaturas elevadas, sendo estas reações irreversíveis independentemente das condições subsequentes (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006).

2.5.2 Oxigénio e luz

A natureza insaturada da estrutura das antocianinas torna-as suscetíveis ao oxigénio provocando o seu escurecimento. A presença de oxigénio dissolvido no meio é um fator significativo na degradação das antocianinas quer por mecanismos de oxidação direta ou indireta em que constituintes oxidados do meio reagem com as antocianinas produzindo pigmentos incolores ou acastanhados (Jackman *et al.*, 1987).

Segundo Ribéreau-Gayon *et al.* (1983), o arejamento é um fator com forte impacto na alteração dos constituintes da cor de vinhos tintos jovens, desde o fim da vinificação até ao engarrafamento. Na sua conservação em barricas, em que o arejamento ocorre de forma espontânea através da porosidade da madeira (cerca de 40 mg/litro de oxigénio dissolvido por ano) ou de trasfegas, ou quando o vinho é armazenado em depósitos, a dissolução de oxigénio ocorre apenas durante as trasfegas (máximo de 9 mg/litro de oxigénio dissolvido), no entanto os arejamentos intensos podem induzir as mesmas reações químicas que os suaves arejamentos que ocorrem através em barricas de madeira.

Uma consequência da oxidação é a produção de acetaldeído pela auto-oxidação do etanol e compostos fenólicos. Verifica-se uma formação de acetaldeído quando o vinho sofre oxidação, mas também uma diminuição progressiva dos seus níveis à medida que o acetaldeído se vai combinando com outros constituintes do vinho. Estes fenómenos oxidativos estão associados à diminuição dos níveis de antocianinas no vinho (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006).

Podem ocorrer várias reações que incluem a copolimerização entre os taninos e as antocianinas que, na presença de acetaldeído, origina um elevado aumento da intensidade da cor, uma diminuição na quantidade de antocianinas nas suas formas livres e um aumento do seu nível de combinação como os taninos. O fenómeno oxidativo também induz um aumento dos níveis de condensação dos taninos originando uma diminuição na sua adstringência (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006).

De uma forma geral, os autores concluem que, a presença de acetaldeído em vinhos tintos potencia a polimerização dos taninos e também a copolimerização entre as antocianinas e os taninos. Como resultado destas reações verifica-se um aumento da intensidade corante. No entanto, quando as moléculas obtêm uma grande dimensão

verifica-se uma precipitação das mesmas com uma consequente diminuição da intensidade da cor. A presença de acetaldeído potencia a intensidade corante quando as reações ocorrem em baixas concentrações. Para altas concentrações de acetaldeído verifica-se uma diminuição da intensidade da cor (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006).

A luz é outro fator de enorme importância na alteração da cor das antocianinas. A sua transformação é mais intensa quando o fator luz é combinado com o efeito do oxigénio (Marco *et al.*, 2008). Segundo Palamidis e Markakis (1975) em Heldmen e Lund (2007) existe um decréscimo acentuado no número de antocianinas em condições de exposição à luz fluorescente ou à luz solar durante o armazenamento.

2.6. Reações das antocianinas com outros compostos

2.6.1 Copigmentação

As antocianinas estão presentes no vinho nas mais diversas formas, dependendo em muito do pH do meio condicionando assim, a tonalidade e a intensidade corante. A presença de compostos fenólicos permite a estabilização das antocianinas na sua forma de ião flavílio e consequentemente a estabilização da cor dos vinhos tintos.

Os processos de copigmentação consistem em reações entre moléculas de antocianinas e copigmentos incolores (Fernandes *et al.*, 2017). Os compostos orgânicos que reagem como copigmentos podem ser de natureza flavonoide ou não flavonoide, apesar de aminoácidos (como a prolina e a arginina), ácidos orgânicos, polissacáridos e purinas poderem também estar envolvidos nestas reações (Jackson, 2008).

Nos vinhos tintos existem várias moléculas com potencial de copigmentação extraídas das uvas ou resultantes das várias reações químicas ocorridas no processo de vinificação. O processo de copigmentação depende da estrutura das antocianinas e em muito da estrutura dos copigmentos, por exemplo os flavonóis (como a quercetina) têm mais afinidade do que os flavano-3-ol.

A copigmentação origina geralmente um aumento da absorvância e um deslocamento no sentido positivo do pico máximo da absorvância no visível (Fernandes *et al.* 2017), estimando-se que contribua entre 30 a 50% para a cor dos vinhos tintos jovens (Boulton, 2001).

2.6.2 Auto-associação das antocianinas

Este processo caracteriza-se pela organização entre as antocianinas originando estruturas de maior peso molecular. Ocorre quando as antocianinas sofrem um empilhamento vertical dos anéis aromáticos, prevenindo assim um ataque nucleofílico por parte da água presente no meio e evitando a perda de cor (Fernandes *et al.*, 2017).

Contrariamente aos processos de copigmentação, a auto-associação das antocianinas caracteriza-se por uma diminuição dos valores máximos de absorvância (Boulton, 2001).

2.6.3 Reações de condensação entre antocianinas e taninos

Embora os níveis de antocianinas decresçam ao longo do tempo, a cor vermelha dos vinhos tintos mantem-se estável ou até mais intensa. Este facto deve-se à formação de complexos mais estáveis, mesmo com variações de pH e de sulfuroso do meio (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006).

A formação de complexos entre antocianinas e taninos são reações de estabilização que dependem, não só das condições do meio (temperatura e oxigénio) como também do tipo de taninos e do rácio tanino/antocianina. A cor dos pigmentos resultantes destas reações varia entre o “malva” e o laranja.

Estas reações podem ser diretas:

- Antocianinas (+) e taninos (-), em que as moléculas que são formadas são incolores, mas tornam-se vermelhas quando o meio oxida.

- Taninos (+) e antocianinas (-), em que as moléculas formadas são vermelhas-alaranjadas, sendo esta reação independente das condições oxidativas do meio.

No caso de as reações serem indiretas verifica-se uma ação do etanal, que se forma através da oxidação do etanol, e que serve de elo de união entre as moléculas de taninos e antocianinas. Os pigmentos formados são de cor “malva”.

2.7 Cor do vinho ao longo do tempo

A cor do vinho depende de vários fatores como a composição da uva, as técnicas de vinificação e as numerosas reações que acontecem durante o seu armazenamento (Auw *et al.*, 1996 em Gil-Muñoz *et al.*, 1997). Durante a vinificação e o armazenamento do vinho verificam-se constantes mudanças na composição da cor e alterações nas suas características sensoriais, no entanto, segundo Somers e Evans, (1986) em Gil-Muñoz *et al.*, 1997, é durante o primeiro ano onde se verificam as mudanças mais rápidas da composição da cor dos vinhos.

Durante a maturação e envelhecimento do vinho, os níveis de antocianinas descem, uma vez que estes compostos facilmente reagem com outras substâncias presentes na matriz do vinho. Os compostos fenólicos, as antocianinas e os taninos em particular, são os principais constituintes dos vinhos implicados em fenómenos de oxidação, implicando efeitos de alterações de cor (acastanhamento) e por uma evolução do gosto (perda ou aumento da adstringência). Ao longo do envelhecimento de um vinho tinto assiste-se a uma diminuição de antocianinas monoméricas que depende tanto das condições de armazenamento como das características iniciais do vinho (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006).

O processo de conservação dos vinhos, em que ocorrem diversas reações químicas, pode ser dividido em duas diferentes fases. A fase de maturação, que vai desde o fim da vinificação até ao engarrafamento, em que o vinho é armazenado em barricas ou depósitos e que condicionam a sua exposição a diferentes níveis de oxigénio,

e uma segunda fase, uma fase de envelhecimento, em que o vinho se encontra engarrafado na ausência de oxigénio (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1983).

Durante a fase de maturação dos vinhos tintos, desde o fim da fermentação até ao engarrafamento, a presença de oxigénio é responsável por transformações químicas dos pigmentos responsáveis pela cor, essenciais ao envelhecimento. Assiste-se a uma autooxidação do etanol, que em presença de compostos fenólicos origina pequenas quantidades de acetaldeído, que por sua vez provoca a co-polimerização de antocianinas e taninos (Timberlake e Bridle, 1976; Ribéreau-Gayon, 1973; Cabrita *et al.*, 2003).

Durante o envelhecimento, as antocianinas precipitam devido a diversas reações (redução, oxidação ou polimerização) que ocorrem com outras moléculas presentes nos vinhos, originando compostos mais estáveis (Fernandes *et al.* 2017).

A cor do vinho, que inicialmente tem tons perto do vermelho cereja, altera-se gradualmente para vermelho escuro e depois para vermelho tijolo, até podendo aparecer tonalidades laranja nos vinhos mais velhos (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006).

2.8 Análise da cor do vinho

Em adegas, análises de rotina à cor do vinho são essenciais para a avaliação e controlo da sua qualidade ao longo das várias fases de produção e armazenamento. Para além disso, a análise da cor do vinho é de elevada importância para determinar a aparência do produto. Durante uma degustação, a cor do vinho é avaliada juntamente com as suas restantes propriedades organoléticas. Ao colocar o copo de vinho inclinado 45°, o vinho dispõe-se numa forma oval com diferentes profundidades desde a periferia até ao centro oval, e ao colocá-lo em frente a uma superfície branca, pode-se, a olho nu e de uma maneira mais informal, determinar a luz refletida, dispersa e transmitida pelo vinho, nas suas diferentes profundidades, criando uma gama completa de nuances de cor do vinho (Hernández *et al.*, 2010). No entanto, uma análise objetiva da cor dos vinhos nem sempre é fácil. Desta forma, métodos laboratoriais foram desenvolvidos para uma determinação da cor do vinho de forma mais exata.

2.8.1 Métodos convencionais – espectrofotométricos

Vários métodos espectrofotométricos têm sido utilizados, como métodos de rotina para a avaliação das características cromáticas do vinho, em adegas. Alguns exemplos são os métodos desenvolvidos por Sudraud, Roubert e Glories (Sudraud, 1958; Roubert, 1977; Glories, 1984). Tradicionalmente, estes métodos baseiam-se na medição da absorvância ou transmitância a diferentes comprimentos de onda significativos para a quantificação da cor do vinho (Araújo *et al.*, 2005). Os valores da absorvância medida nas diferentes amostras são importantes indicadores da composição do vinho, uma vez que providenciam informação acerca da concentração dos pigmentos que conferem cor ao vinho (Versari *et al.*, 2008). Este tipo de metodologias requer que as amostras sejam colocadas em *cuvettes* de plástico ou quartzo com caminhos óticos específicos dependendo do tipo de vinho. Para análise da cor do vinho tinto, o percurso ótico das *cuvettes* deve variar entre 1 mm a 2 mm e para análise da cor de vinhos mais transparentes, como o branco, entre 10 mm a 20 mm (Hernández *et al.*, 2010).

O método de Glories, um dos mais utilizados (Cristea, 2014), baseia-se na medição da absorvância ou transmitância a três comprimentos de onda diferentes na zona do visível do espectro da luz: 420 nm, 520 nm e 620 nm (Glories, 1984). Com recurso à utilização destes três comprimentos de onda, podem ser avaliados diferentes parâmetros da cor do vinho, chamados os parâmetros de Glories (Tabela 1): tonalidade, intensidade de cor (IC) e percentagem de amarelo, vermelho e azul (Glories, 1984) (Hernández *et al.*, 2010). Particularmente, a absorvância a 420 nm é usada como um indicador de acastanhamento/escurecimento (Peng *et al.*, 1998). A absorvância a 620 nm é utilizada como indicador das formas quinonas das antocianinas livres e combinadas em vinhos com pH próximo de 4 (Cabrita *et al.*, 2003)

Tabela 1 - Determinação dos parâmetros de Glories com base na medição da absorvância a diferentes comprimentos de onda

Parâmetros	Determinação
Tonalidade (TC)	Ab_{S420} / Ab_{S520}
Intensidade da cor (IC)	$Ab_{S420} + Ab_{S520} + Ab_{S620}$
Percentagem de amarelo	$100 \times Ab_{S420} / IC$
Percentagem de vermelho	$100 \times Ab_{S520} / IC$
Percentagem de azul	$100 \times A_{620} / IC$
% dA	$dA (\%) = \left(d_{520} - \frac{(d_{420} + d_{620})}{2} \right) \times \frac{1}{d_{520}} \times 100$

O espectro dos vinhos jovens tintos apresenta um máximo de absorvância mais ou menos estreito aos 520 nm, devido à presença de antocianinas sob a forma de ião flavílio (Glories, 1984), que diminui com o envelhecimento, aumentando a absorvância aos 420nm, na região dos amarelos/castanhos (Bakker *et al.*, 1986), onde o espectro apresenta um mínimo (Glories, 1984).

A Organização Internacional da Vinha e do Vinho (OIV) estabeleceu, em 1990, um método de referência para a determinação da cor do vinho, que se baseia na determinação da absorvância do vinho a quatro comprimentos de onda: 445 nm, 495 nm, 550 nm e 625 nm (OIV, 2006).

Contudo, a avaliação da cor do vinho por observação e por utilização de métodos espectrofotométricos, mostrou-se ser pouco exata e precisa, especialmente em vinhos tintos (Huertas *et al.*, 2003; Little, 1980).

2.8.2 Métodos estabelecidos pela CIE

A CIE (Comissão Internationale d'Eclairage) estabeleceu sistemas de cor como o CIE XYZ, o CIE LUV e o CIE LAB, independentes de fatores externos e que se aproximam o mais possível da percepção humana da cor. Os elementos-chave destes sistemas são a definição de padrões e especificações para o observador, o que os tornam métodos precisos para a medição da cor e úteis na caracterização e diferenciação da cor dos vinhos. A cor é descrita espacialmente, usando coordenadas de cor como função das propriedades espectrais das amostras e não só em função de um único comprimento de onda. Atualmente, estes modelos têm sido usados extensivamente na avaliação das características cromáticas do vinho, especialmente o CIE LAB, um dos métodos mais utilizados (García-Marino *et al.*, 2013; Meléndez *et al.*, 2001; Hernández *et al.*, 2010; Araújo *et al.*, 2005).

O CIE LAB é um sistema que expressa a cor tridimensionalmente mediante coordenadas psicofísicas e assenta na descoberta de que o estímulo da cor é traduzido na retina em distinções entre luz e escuridão, vermelho e verde, e azul e amarelo. Assim, tendo em conta que as cores enunciadas são opostas, foi definido um sistema de 3 eixos: L^* , a^* , e b^* (Figura 9). O eixo central vertical representa a luminosidade (L^*), cujos valores são determinados entre 0 (preto) e 100 (branco). Nos dois restantes eixos, os valores são determinados entre positivo e negativo. No eixo $a-a'$, valores positivos indicam maiores quantidades de vermelho e valores negativos indicam maiores quantidades de verde. No eixo $b-b'$, valores positivos indicam amarelo e negativos indicam azul. Para ambos os eixos, 0 (zero) é um tom neutro cinzento.

Para além dos parâmetros acima descritos são ainda propostos os valores de croma (C^*) e *hue* ou tonalidade da cor (H^*) (Figura 9). Estas magnitudes são obtidas a partir dos parâmetros L^* , a^* e b^* . O valor de C^* corresponde ao grau de saturação ou pureza da cor e representa a distância ao eixo de luminosidade iniciando no centro que corresponde a zero. O valor de H^* corresponde ao ângulo que começa no eixo $+a^*$ com o valor de zero (vermelho) (Birise, 2007).

Usando este método, as amostras são testadas com recurso a um espectrofotómetro onde os valores de transmitância são medidos em todos os comprimentos de onda ao longo de todo o espectro da luz visível.

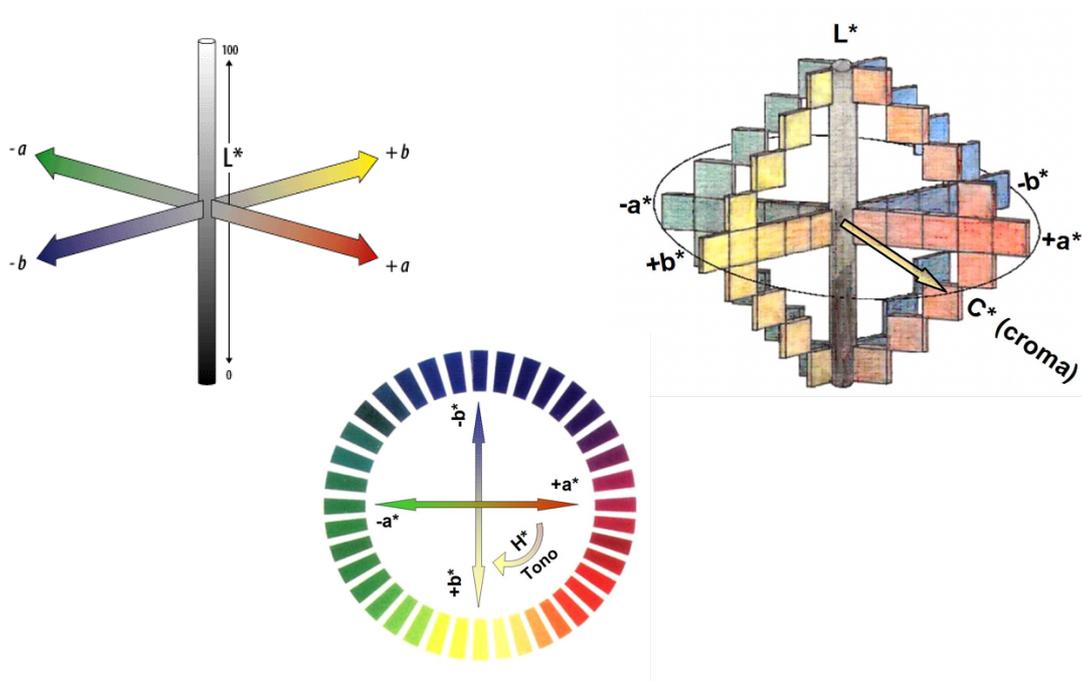


Figura 9 - Esquemas representativos do sistema de coordenadas CIELAB
(Meléndez et al., 2001; OIV, 2006)

Expressando a cor em coordenadas CIELAB, tem sido conseguida uma medição instrumental objetiva da cor e reprodutível com a avaliação visual efetuada em degustações, quando efetuada sob condições semelhantes. Para isso, é fundamental o uso de amostras de vinho padronizadas, simulação de iluminação solar, distribuição geométrica amostra-observador-iluminação semelhante e fundo branco (Hernández et al., 2009; Gamasa et al., 2009). Em amostras de vinho tinto, 85% das medições em amostras testadas conseguiram eficientemente reproduzir a cor definida durante uma prova de degustação dos mesmos vinhos (Hernández et al., 2009). Em amostras de vinho branco e rosé, esta correlação aproximou-se dos 100%, nas amostras testadas (Gamasa et al., 2009).

Este modelo estabelece uma ferramenta mais precisa na definição da cor de um vinho, quando comparado aos métodos de Glories e o método de referência pela OIV. No entanto, exige o uso de instrumentos capazes de varrer toda a zona do visível do espectro de luz e software adequado, o que não é praticável na generalidade das adegas (Huertas *et al.* 2003).

Capítulo 3 | Materiais e Metodologia

Para o presente estudo foram recolhidas 74 amostras de vinhos tintos presentes no IV Concurso “Melhores Vinhos do Alentejo” 2016, organizado pela Confraria dos Enófilos do Alentejo em colaboração com a Comissão Vitivinícola Regional Alentejana. As amostras foram recolhidas, logo após o júri as ter provado, para garrafas de vidro escuro, totalmente cheias e fechadas com tampa de rosca,. Posteriormente levadas para o laboratório e armazenadas em frigorífico. As análises foram realizadas nos dias subsequentes. Todos os vinhos são certificados como Denominação de Origem Controlada (DOC) ou Vinho Regional Alentejano (IG). No universo de 74 amostras, 30 correspondem ao ano de 2013, 29 ao ano de 2014 e 15 ao ano de 2015.

3.1 Acidez titulável e pH

Para a determinação da acidez total (por titulação potenciométrica) e do pH dos vinhos tintos foi utilizado um titulador automático Crison Compact Tritator.

3.2 Características cromáticas das amostras

Para realizar o estudo da cor dos vinhos recorreu-se a metodologias espectrofotométricas. Para a medição das absorvâncias utilizou-se um espectrofotómetro UV/VIS DR5000 Hach Lange. As amostras foram filtradas em filtro de 0,4 micra da Whatman. Por serem vinhos tintos utilizaram-se células de quartzo de 1 mm de percurso ótico realizando-se um varrimento no espectro do visível, entre os comprimentos de onda de 380 e 750 nm, com intervalos de 10 nm. Para a calibração da linha base utilizou-se água destilada numa célula também com 1 mm de espessura. Em todas as amostras realizaram-se 3 repetições.

Uma vez obtidos os espectros das amostras, procedeu-se à transferência dos dados para o programa Microsoft[®] Excel onde foram calculados a Intensidade Corante, a Tonalidade, dA, as diferentes percentagens de cor e por fim a aplicou-se o método CIELab que permite uma perceção mais detalhada das características cromáticas dos vinhos por estabelecer a cor num sistema tridimensional.

3.2.1 Intensidade Corante

A Intensidade Corante (IC) foi calculada através da soma das absorvâncias a 420, 520 e 620 nm, que correspondem às três componentes da cor, amarelo, vermelho e azul, respetivamente (Glories, 1984):

$$IC = (Abs\ 420 + Abs\ 520 + Abs\ 620)$$

3.2.2 Tonalidade

A tonalidade (TC) corresponde ao quociente das absorvâncias a 420 e a 520 nm (Sudraud, 1958):

$$TC = \left(\frac{Abs\ 420}{Abs\ 520} \right)$$

3.2.3 % dA

Para o cálculo de dA (Glories, 1984) aplicou-se a seguinte fórmula:

$$dA (\%) = \left(d520 - \frac{(d420 + d620)}{2} \right) \times \frac{1}{d520} \times 100$$

Posteriormente calculou-se as percentagens de cor amarelo, vermelho e azul, respetivamente:

$$\% \text{ Amarelo} = \left(\frac{Abs\ 420}{IC} \right) \times 100$$

$$\% \text{ Vermelho} = \left(\frac{Abs\ 520}{IC} \right) \times 100$$

$$\% \text{ Azul} = \left(\frac{Abs\ 620}{IC} \right) \times 100$$

3.2.4 Método CIELab

Para a aplicação do método CIELab, os espectros obtidos foram transferidos para um programa específico que converte os valores das absorvâncias em valores tridimensionais, L* (luminosidade), a* (vermelho-verde), b* (amarelo-azul), bem como os parâmetros C*(croma) e H* (tonalidade) através das seguintes fórmulas (OIV, 2006):

3.2.4.1 Valor de L^*

Diretamente relacionada com a sensação visual de luminosidade, este valor varia entre 0 e 100% (completamente opaco a transparente):

$$L^* = 116(Y/Y_n)^{1/3} - 16$$

3.2.4.2 Valor de a^*

Corresponde aos tons de vermelho (a^*)/verde ($-a^*$) e define-se através da seguinte função matemática:

$$a^* = 500[(X/X_n) - (Y/Y_n)]$$

3.2.4.3 Valor de b^*

Corresponde aos tons de amarelo (b^*)/azul ($-b^*$), definindo-se através da seguinte equação matemática:

$$b^* = 200 - [(Y/Y_n)^{1/3} - (Z/Z_n)^{1/3}]$$

3.2.4.4 Valores de C* e H*

São obtidos a partir das coordenadas de L*, a* e b* através das seguintes fórmulas:

$$C^* = \sqrt{(a^{*2} + b^{*2})}$$

$$H^* = \text{tg}^{-1}(b^*/a^*)$$

3.3 Determinação dos flavonóides totais (FT), flavonóides não antociânicos (FnA) e antocianinas totais (AT) dos vinhos

Para a realização das leituras das amostras de vinho no espectrofotómetro UV/VIS primeiramente foi necessário preparar reagente etanol clorídrico. Deste modo juntou-se, num balão volumétrico de 100 cm³, 70 cm³ de etanol, com 30 cm³ de água destilada e 1 cm³ de ácido clorídrico.

Posteriormente diluiu-se o vinho com o etanol clorídrico. Por se tratar de amostras de vinhos relativamente jovens procedeu-se a uma diluição de 1/50, em que se mediu 0,4 cm³ de vinho para um balão volumétrico de 20 cm³ e completou-se o volume com etanol clorídrico.

Por fim leram-se as absorvâncias no espectrofotómetro, com uma célula de quartzo com 1 cm de percurso ótico, com um varrimento entre 230 nm e 600 nm, com intervalos de 10 nm, frente a um branco de etanol clorídrico, realizando-se duas repetições por amostra.

Uma vez realizadas todas as leituras, os espectros foram inseridos numa folha de cálculo para se poder traçar os gráficos (Figura 10), onde a partir dos quais se fizeram os seguintes cálculos:

$$Ea\ 280 = \text{Abs máx. visível} / 3,5$$

$$E' 280 = (MT/AB) \times Et$$

MT – Representa a distância da reta MT em cm;

AB – Representa a distância da reta AB em cm;

ET – Representa o valor máximo de absorvância apresentado na reta AB.

$$E'' 280 = E' 280 - Ea 280$$

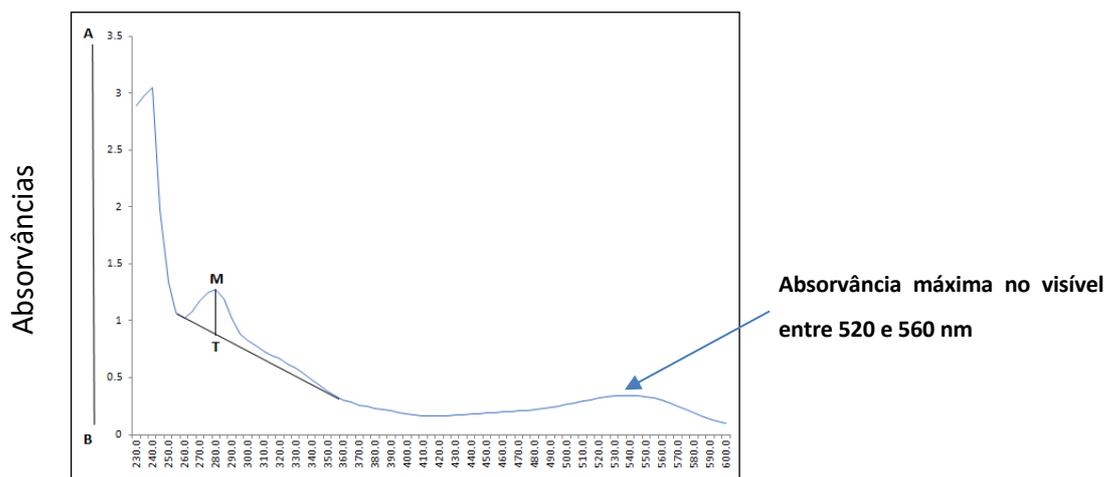


Figura 10 - Gráfico exemplificativo dos registos das absorvâncias (eixo das ordenadas), comprimentos de onda (eixo das abcissas) e traçados das retas

Já com os cálculos realizados procedeu-se à determinação dos valores de FT, FnA e AT através das seguintes fórmulas:

$$\text{FT (mg catequina/dm}^3\text{)} = E' 280 \times 82,4 \times \text{diluição}$$

$$\text{FnA (mg catequina/dm}^3\text{)} = E'' 280 \times 82,4 \times \text{diluição}$$

$$\text{AT (mg malvidina/dm}^3\text{)} = \text{Abs } 540 \times 26,6 \times \text{diluição}$$

Capítulo 4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Uma vez obtidos os resultados experimentais elaborou-se uma tabela (ANEXO) onde constam todos os vinhos analisados com os seus correspondentes valores de L*, a*, b*, C*, H*, IC, TC, da, % de amarelo, % de vermelho, % de azul, FT, FnA, At e também os valores de pH e Acidez Total.

4.1 Análise estatística dos resultados

Após as análises laboratoriais procedeu-se ao tratamento estatístico dos resultados com auxílio do programa Microsoft® Excel. Os resultados foram expressos em média \pm desvio padrão (Tabela 2). Para a determinação de existência ou não de diferenças significativas entre as múltiplas variáveis analisadas, utilizou-se o programa NCSS11, recorrendo-se à análise de variância (ANOVA), com um nível de significância $<0,05$ com um grau de confiança de 95 %.

Tabela 2 – Valores das médias \pm desvio padrão dos parâmetros pH, Acidez Total, L*, a*, b*, C*, h*, IC, TC, % dA, % amarelo, % vermelho, % azul, FT, FnA e AT para os anos de 2013, 2014 e 2015

Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente entre si ($p < 0,05$)

Parâmetros	2013	2014	2015
pH	3,57 \pm 0,148 ^(b)	3,58 \pm 0,14 ^(b)	3,69 \pm 0,13 ^(a)
A.T. (Ác. Tart. g/dm ³)	5,44 \pm 0,44	5,33 \pm 0,50	5,18 \pm 0,44
L*	65,4 \pm 6,11	67,26 \pm 5,94	68,33 \pm 4,82
a*	33,72 \pm 6,59	32,98 \pm 7,05	32,33 \pm 5,41
b*	10,25 \pm 2,44 ^(a)	7,64 \pm 2,28 ^(b)	4,72 \pm 2,70 ^(c)
C*	35,35 \pm 6,45	34,00 \pm 6,69	32,82 \pm 5,15
H*	17,36 \pm 4,59 ^(a)	13,73 \pm 5,77 ^(b)	8,73 \pm 5,81 ^(c)
IC	1,38 \pm 0,28 ^(a)	1,27 \pm 0,27 ^(ab)	1,19 \pm 0,21 ^(b)
TC	0,80 \pm 0,07 ^(a)	0,78 \pm 0,08 ^(ab)	0,75 \pm 0,06 ^(b)
% dA	47,44 \pm 3,93	48,83 \pm 4,40	49,77 \pm 3,62
% amarelo	38,92 \pm 1,82 ^(a)	38,28 \pm 2,14 ^(ab)	37,38 \pm 1,82 ^(b)
% vermelho	48,82 \pm 1,86	49,51 \pm 2,14	49,94 \pm 1,74
% azul	12,26 \pm 0,82 ^(ab)	12,21 \pm 0,59 ^(b)	12,68 \pm 0,63 ^(a)
FT (mg catequina/dm ³)	2156 \pm 304 ^(a)	1978 \pm 291 ^(b)	1915 \pm 357 ^(b)
FnA (mg catequina/dm ³)	1807 \pm 281 ^(a)	1563 \pm 265 ^(b)	1497 \pm 333 ^(b)
AT (mg malvidina/dm ³)	394 \pm 94 ^(b)	470 \pm 94 ^(a)	472 \pm 91 ^(a)

4.2 Valores de pH e Acidez Total

As análises de pH e acidez total das amostras foram realizadas com o intuito de verificar se as amostras se encontravam dentro dos parâmetros estabelecidos para vinhos tintos e de se perceber se há diferenças significativas entre os anos estudados.

Os valores de pH (Tabela em Anexo) encontram-se compreendidos entre 3,33 e 3,94, sendo valores que se encontram na média dita normal para vinhos tintos. Observando a tabela 1 pode verificar-se que o valor da média \pm desvio padrão do pH do ano de 2015 é o mais alto e significativamente diferente dos restantes anos em estudo.

Os valores de acidez total (Tabela em Anexo) variam entre 4,14 e 6,84 g/dm³, encontrando-se entre os valores normais para vinhos tintos. Os valores das médias \pm desvio padrão para os anos estudados não são significativamente diferentes entre si (Tabela 1). Todos os vinhos apresentaram uma acidez total superior a 3,5g/dm³, valor estabelecido por lei como mínimo obrigatório.

4.3 Valores de L*, a* e b*

Pela observação da tabela em Anexo, verificou-se que os valores de luminosidade variam entre 53,36 e 78,93 numa escala de 0 a 100 (de completamente opaco até completamente branco). Os valores das médias \pm desvio padrão não são significativamente diferentes entre os anos estudados. Na Figura 11 pode observar-se que variam entre os valores 65,40 e 68,33. Sendo o valor de L* usado para descrever se a cor é escura ou clara, pode-se observar que os vinhos tintos analisados têm valores de luminosidade medianos estando de acordo com os registos encontrados na bibliografia consultada: García-Marino *et al.*, (2013) referem valores de 57,8 \pm 4,7, Birse, (2007) menciona valores de 66,6 \pm 1,0, Pérez-Margariño e Gonzáles-Sanjosé, (2003) indicam valores de L* muito variados entre os 64,33 e 93,07.

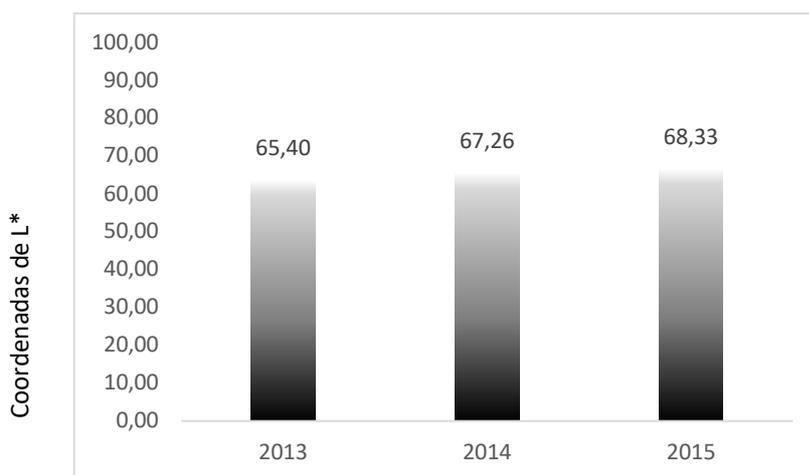


Figura 11 - Médias dos valores de L* para os anos de 2013, 2014 e 2015

Em relação ao parâmetro a^* , os valores variam entre 18,76 e 47,08 (Tabela em Anexo). Estes resultados, por serem positivos, indicam que a componente vermelha dos vinhos analisados é superior à cor verde.

Em relação ao parâmetro b^* , os valores variam entre 2,05 e 17,15 (Tabela em Anexo). Como os resultados são positivos significa que a cor amarela é superior à cor azul nas amostras analisadas.

Na Figura 12 podem observar-se as médias de cada ano estudado referentes aos valores a^* (cores vermelho/verde) e b^* (cores amarelo/azul). A análise estatística realizada para estes parâmetros não revelou diferenças significativas entre os anos em estudo para o parâmetro a^* mas, por outro lado, revelou diferenças significativas entre todos os anos para os valores de b^* .

O ano de 2013 foi o que revelou valores de b^* mais elevados, seguindo-se do ano 2014 e, por fim, com valores mais baixos de contribuição da cor amarela, aparecem os vinhos mais recentes relativos ao ano de 2015. Estes valores estão de acordo com a natural evolução da cor dos vinhos ao longo do tempo.

Segundo a bibliografia consultada, García-Marino *et al.*, (2013) referem valores de a^* na ordem dos $38,3 \pm 3,0$, Araújo *et al.*, (2005) indicam valores de $31,75 \pm 11,71$ e $56,78 \pm 7,83$. Para os valores de b^* García-Marino *et al.*, (2013) indicam valores de

5,7±0,5 para vinhos com um ano, Pérez-Margariño e Gonzáles-Sanjosé, (2003) referem valores que variam entre 2,53 para um vinho com dois anos, 14,12 para um vinho com 3 anos mas também indicam valores de 6,43 para um vinho com sete anos. Estes valores verificados na bibliografia confirmam que os resultados de a* e b* obtidos neste trabalho estão em conformidade com os valores esperados para vinhos tintos, no entanto é necessário salvaguardar as diferenças que se podem encontrar no processo de comparação de vinhos com características distintas.

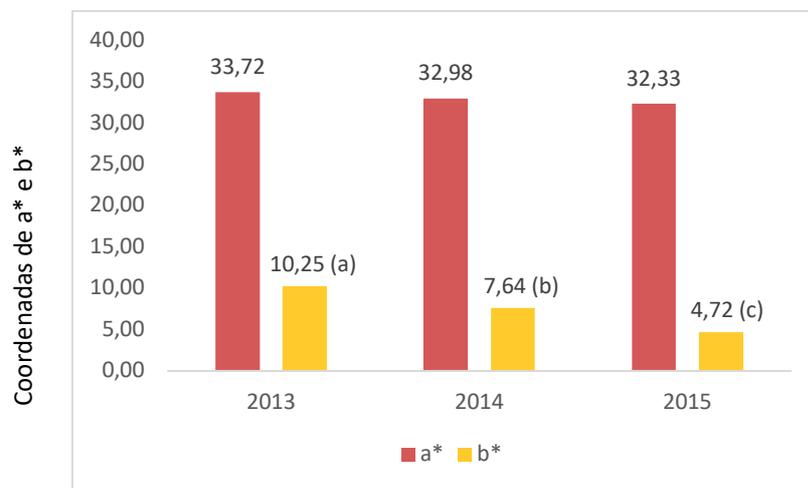


Figura 12 - Médias dos valores de a* e b* para os anos de 2013, 2014 e 2015

Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente entre si (p<0,05)

4.4 Valores de C* e H*

A saturação ou croma (C*) corresponde ao brilho da cor, descrevendo como é a sua intensidade, se são cores vivas ou cores baças. Segundo Gil-Muñoz et al., (1997), é um parâmetro que indica a contribuição de a* (avermelhado) e de b* (amarelado) e, quando apresenta valores perto de 50 ou mais altos, corresponde a cores vivas.

Os valores de C* das amostras deste estudo estão compreendidos entre 21,96 e 48,01 (Tabela em Anexo). O ano de 2013 apresenta valores de $35,35 \pm 6,45$, o ano de 2014 com valores de $34,00 \pm 6,69$ e o ano de 2015 com $32,82 \pm 5,15$. As médias \pm desvio padrão entre os 3 anos não são significativamente diferentes entre si. Todos os vinhos apresentam cores com características intermédias entre vivas e baças.

Na bibliografia consultada foi possível encontrar variados valores de C*: 31,86 e 57,18 (Araújo *et al.*, 2005), Pérez-Margariño e Gonzáles-Sanjosé, (2003) referem valores entre os 7,61 e 31,74 enquanto que García-Marino *et al.*, (2013) indicam valores de 38,7.

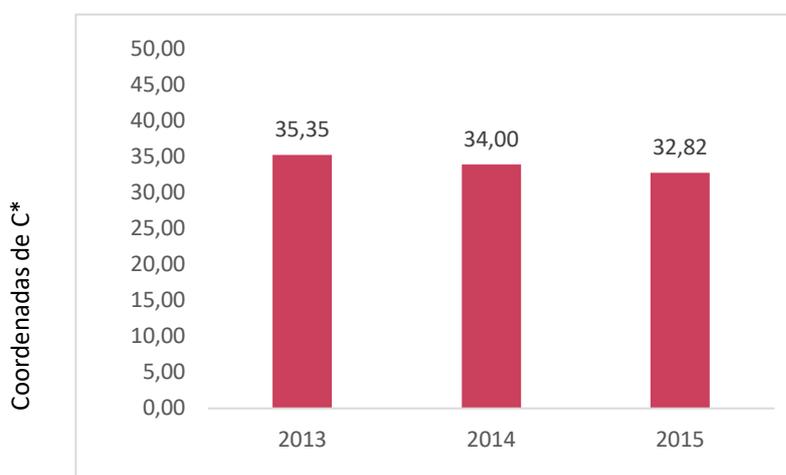


Figura 13 - Médias dos valores de C* para os anos de 2013, 2014 e 2015

Os valores de H* indicam a tonalidade da cor e são indicadores do primeiro atributo da cor que é observada. Este valor corresponde a um ângulo calculado com as coordenadas a* e b* e, Segundo Birse, (2007), quando apresenta valor de 0° significa que está localizado no eixo +a* (vermelho), 90° encontra-se no eixo +b* (amarelo), 180° representa o eixo -a* (verde) e 270° encontra-se no eixo -b* (azul). O mesmo autor refere o exemplo de valores de H* de -45° (vermelho-violeta) poderem corresponder a vinhos novos e valores de +45°(vermelho-laranja) representarem vinhos envelhecidos.

Os valores de H* deste estudo encontram-se compreendidos entre 3,24 e 31,23 (tabela em Anexo). Segundo a análise estatística, todas as médias \pm desvio padrão dos

três anos do estudo são significativamente diferentes entre si, correspondendo o valor da média mais baixa ao ano de 2015 ($8,73 \pm 5,81$) e o valor da média mais alta referente ao ano de 2013 ($17,36 \pm 4,59$). Estes resultados permitem verificar que os valores de H^* para os vinhos em estudo encontram-se entre os valores de 0 e 45 isto é, com uma forte aproximação do vermelho e alguma de amarelo notando-se que os vinhos mais recentes apresentam valores mais baixos de H^* e vinhos com mais anos apresentem valores mais altos. Na bibliografia consultada, García-Marino *et al.*, (2013) referem valores de H^* de $8,4 \pm 0,1$ para vinhos com um ano. Pérez-Margariño e Gonzáles-Sanjosé, (2003) apresentam resultados de 10,59 para vinhos com dois anos e de 26,42 para vinhos com três anos, no entanto os últimos autores também indicam valores de H^* , para vinhos com 6 e 7 anos, de 5,52 e 14,71 respetivamente. Estes últimos valores confirmam a grande variabilidade de resultados que se podem obter quando se comparam vinhos com características diferentes.

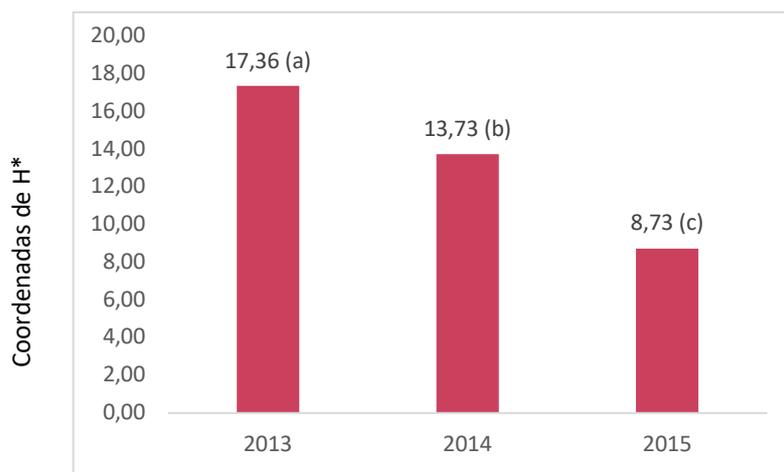


Figura 14 - Médias dos valores de H^* para os anos de 2013, 2014 e 2015

Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente entre si ($p < 0,05$)

4.5 Valores de IC e % amarelo, vermelho e azul

Os valores da Intensidade Corante (IC) correspondem à soma das absorvâncias nos comprimentos de onda de 420, 520 e 620 nm (Glories, 1984), índice este que inclui a

componente azul (absorvância nos 620 nm) que deve ser tomada em conta principalmente em vinhos com pH próximo de 4 devido às formas quinonas das antocianinas livres e combinadas. Nos vinhos analisados a IC varia entre 0,82 e 2,01 (Tabela em Anexo). As médias \pm desvio padrão dos valores de IC (Tabela 2) para o ano 2013 são as que apresentam valores superiores e significativamente diferentes das médias \pm desvio padrão dos vinhos do ano de 2015, cujos valores são os mais baixos no estudo. Na Figura 15 pode observar-se o gráfico com os respectivos valores de cada ano do estudo e as suas diferenças representadas.

Segundo Ribéreau-Gayon *et al.*, (2006) a IC varia muito de um vinho para outro, indicando valores entre 0,3 e 1,8.

De acordo com a bibliografia consultada (Heredia e Guzman-Chozas, 1993; Babincev *et al.*, 2016) durante o processo de envelhecimento dos vinhos, as reações de polimerização e condensação das antocianinas com outros compostos fenólicos originam uma diminuição da IC.

Os resultados deste trabalho revelam valores de IC maiores nos vinhos com mais anos, o que evidencia a influência do ano de colheita nas características da cor de um vinho.

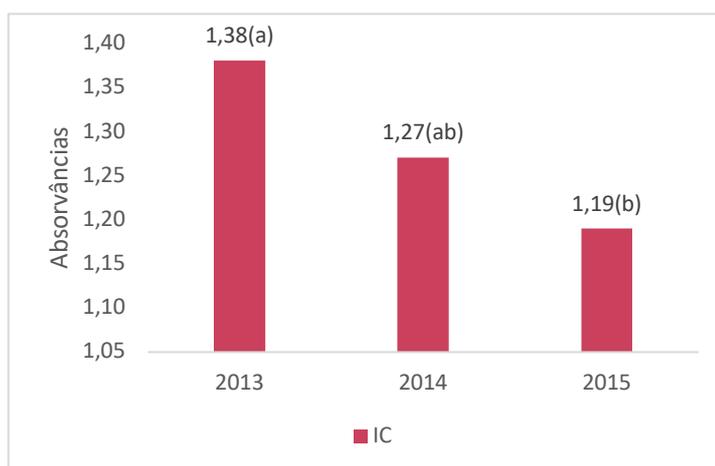


Figura 15 - Médias dos valores da Intensidade Corante (IC) para os anos de 2013,2014 e 2015

Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente entre si ($p < 0,05$)

Para a avaliar a contribuição que cada cor tem no valor da IC procedeu-se ao cálculo das percentagens correspondentes de amarelo, vermelho e azul (Figura das 16). Pode verificar-se que o vermelho (absorvância nos 520 nm) é a cor que mais contribui para os vinhos de todos os anos em estudo, não havendo diferenças significativas entre os anos. Em relação à cor amarela (absorvância nos 420 nm) é a segunda cor que mais contribui para as características cromáticas dos vinhos já existindo diferenças significativas entre os vinhos de 2013 e os vinhos de 2015, sendo os vinhos de 2013 os que apresentam valores mais altos (38,92%). Quanto à contribuição da cor azul, os vinhos de 2015 são os que apresentam as percentagens mais elevadas (12,68%), representando estes valores diferenças significativas em relação aos vinhos de 2014, que são os vinhos que apresentam médias mais baixas (12,21%). Facto é que, os vinhos de 2015 são os que apresentam valores significativamente mais altos de pH e que, por sua vez, são os vinhos em que a contribuição da cor azul é a mais elevada.

Figueiredo-González, *et al.*, (2013) indicam valores de % de amarelo entre os 29,76 e 39,22, de % de vermelho entre o 46,33 e 59,37 e de % de azul entre 10,87 e 14,45.

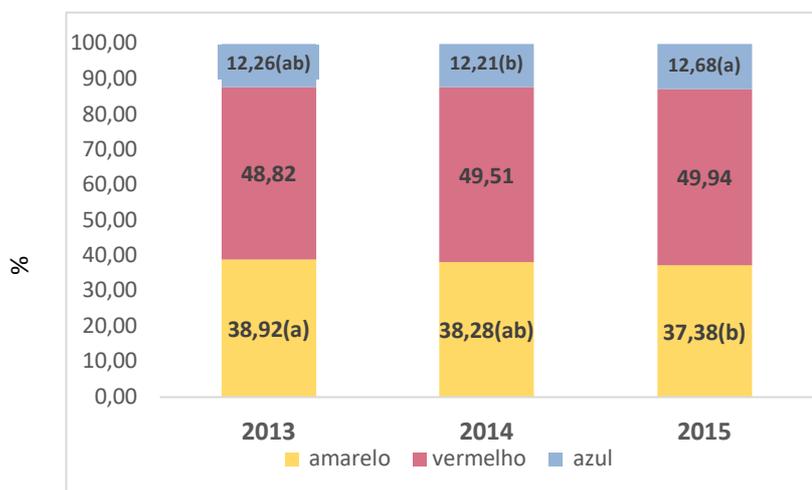


Figura 16 - Contribuição em % das cores vermelho, amarelo e azul na composição da cor dos vinhos de 2013, 2014 e 2015

Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente entre si ($p < 0,05$)

4.6 Valores de TC e % dA

Sendo a Tonalidade o quociente das absorvâncias a 420 nm pelas absorvâncias a 520 nm, este indicador projeta a importância relativa do amarelo sobre o vermelho. No caso dos vinhos em estudo (Figura 17), o ano de 2013 é o que apresenta o valor da Tonalidade mais elevado (média \pm desvio padrão = 0,80), sendo este valor, segundo a análise estatística realizada, significativamente diferente do ano de 2015, ano este que apresenta a média mais baixa (0,75). Verifica-se então, que os vinhos com mais anos apresentam uma contribuição maior da cor amarela na sua composição cromática, distanciando-se das cores vermelho vivo que apresentam os vinhos mais jovens. Esta característica vai de encontro à bibliografia consultada em que vinhos menos jovens apresentam genericamente tons alaranjados, vermelho tijolo.

Segundo Ribéreau-Gayon *et al.*, (2006) a Tonalidade em vinhos jovens varia entre 0,5 e 0,7 e vai aumentando com o envelhecimento atingindo um limite de 1,2 a 1,3.

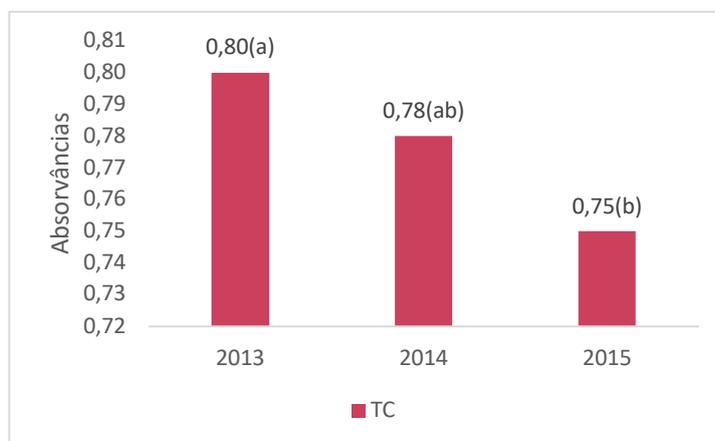


Figura 17 - Valores das médias da Tonalidade para os anos de 2013, 2014, 2015

Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente entre si ($p < 0,05$)

No que respeita aos valores de % dA estes encontram-se compreendidos entre 38,27 e 57,49 (Tabela 1). Os valores das médias (Figura 18) não são significativamente

diferentes entre si. De acordo com Glories em 1984, quando o valor de dA se situa entre os 60 e os 80% o vinho apresenta uma cor vermelha brilhante e, por outro lado, quando se situa abaixo dos 40% os vinhos são de um vermelho mais escuro, cor de telha devido à dominância das cores amarelas e azuis em comparação com o vermelho. Nos vinhos em estudo as % de dA situam-se em valores intermédios do acimas descritos.

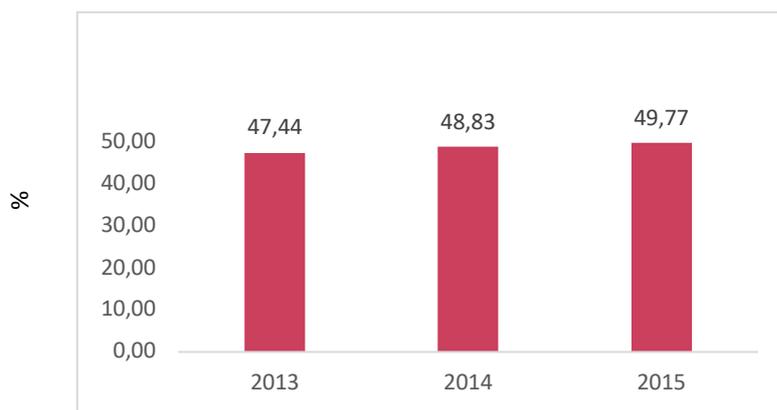


Figura 18 - Valores das médias das % de dA para os anos de 2013, 2014 e 2015

4.7 Valores dos flavonóides totais (FT), flavonóides não antociânicos (FnA) e antocianinas totais (At) dos vinhos

Os Valores de TF encontram-se compreendidos entre os 1191 e os 3098 mg catequina/dm³ (Tabela em Anexo). O ano de 2013 é o que apresenta os valores mais altos (2156 mg catequina/dm³) e significativamente diferentes dos anos de 2014 e 2015 com valores de 1978 e 1915 mg catequina/dm³ respetivamente, não apresentando, estes últimos, diferenças significativas entre si (Figura 19).

Os valores de FnA encontram-se compreendidos entre os 765 e 2682 mg catequina/dm³ (Tabela em Anexo). Este parâmetro acompanha a tendência dos valores de FT onde o ano de 2013 é novamente o ano que apresenta valores mais altos (1807 mg catequina/dm³) e significativamente diferentes dos anos de 2014 e 2015 (1563 e 1497 mg catequina/dm³).

Valdanta, S. (2013) obteve valores de FT entre 2040 ± 200 e 2564 ± 60 mg catequina/dm³. Em relação aos valores de FnA indica resultados entre 1501 ± 96 e 2002 ± 47 mg catequina/dm³.

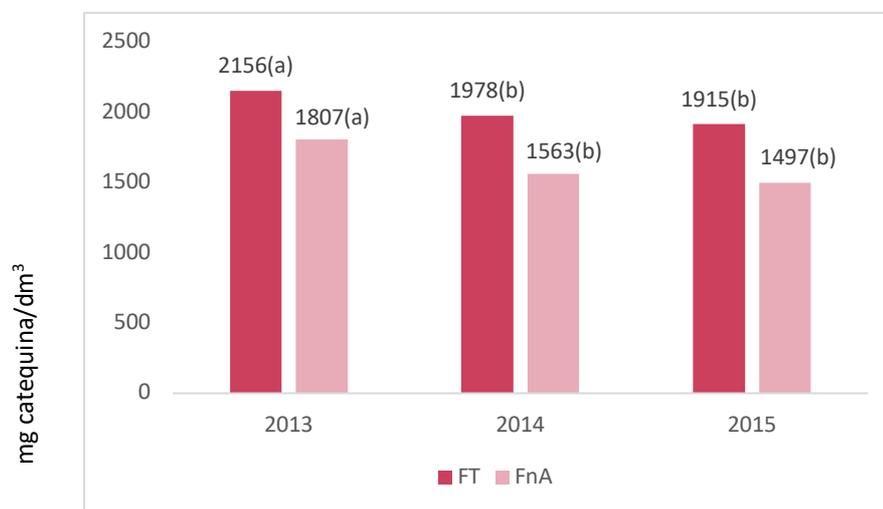


Figura 19 - Valores das médias dos Flavonóides Totais e Flavonóides não Antociânicos para os anos de 2013, 2014 e 2015

Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente entre si ($p < 0,05$)

Das amostras utilizadas neste estudo apenas se sabe que são vinhos tintos e que correspondem aos anos de 2013, 2014 ou 2015. Desconhece-se de todo a sua origem, como por exemplo as castas dos quais provieram e respectivas maturações fenólicas ou técnicas de vinificação. Desta forma, aos resultados obtidos dos valores de FT e FnA não se pode atribuir nenhuma relação específica à idade do vinho, mas sim a uma soma de fatores desconhecidos que permitiram que o ano de 2013 apresentasse valores significativamente diferentes dos restantes anos.

Em relação aos valores das antocianinas os valores variaram entre 247 e 666 mg malvidina/dm³ (Tabela em Anexo). Os anos de 2014 e 2015 apresentam valores de 470 e 472 mg malvidina/dm³ respetivamente, sendo estes significativamente mais altos do que o ano de 2013 que apresenta uma média de valores de AT de 394 mg malvidina/dm³ (Figura 20).

Valdanta, S. (2013) obteve valores de AT entre 583 ± 48 e 648 ± 18 mg malvidina/dm³, num estudo realizado também com vinhos do Alentejo.

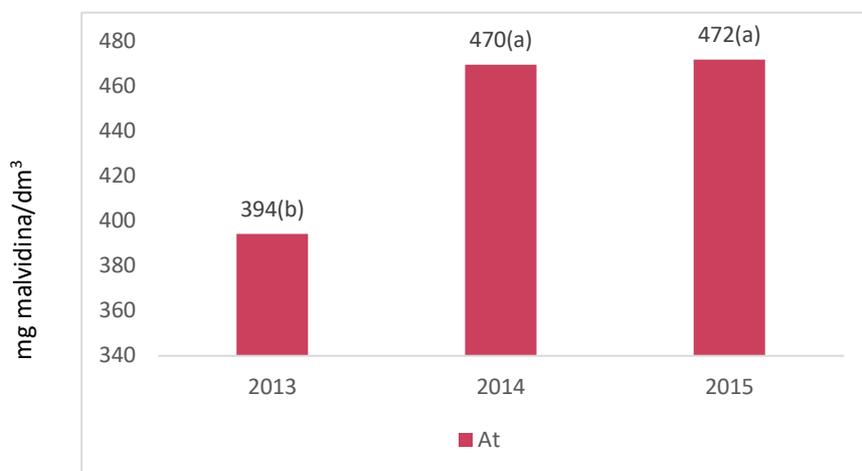


Figura 20 - Valores das médias das Antocianinas para os anos de 2013, 2014, 2015.

Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente entre si ($p < 0,05$)

Segundo Somers e Evans, (1986) é no primeiro ano em que ocorrem as mudanças mais rápidas na composição da cor do vinho, principalmente um decréscimo acentuado nos valores das antocianinas. Os vinhos mais novos utilizados neste estudo tinham cerca de um ano aquando a realização das análises laboratoriais. Teria sido interessante poder analisá-los após a término das fermentações e depois comparar os resultados com os obtidos um ano depois. Desta forma, não é possível confirmar a evolução deste parâmetro no primeiro ano dos vinhos. No entanto, os vinhos de 2015 e 2014 apresentam valores das médias \pm desvio padrão das antocianinas significativamente superiores aos valores dos vinhos com mais anos (2013), que por sua vez até apresentavam valores de FT significativamente superiores aos anos mais recentes, o que confirma que existe uma tendência generalizada para a diminuição do conteúdo em antocianinas com o passar do tempo.

4.8 Análise Canónica discriminante

Tendo por base todos os parâmetros anteriormente analisados neste trabalho, realizou-se uma análise canónica discriminante, utilizando o programa IBM SPSS Statistics 25, com o objetivo de avaliar a relação entre a cor dos vinhos e o ano de colheita, cujos resultados se apresentam na Figura 21 e onde é possível observar os conjuntos diferenciados apesar de ocorrerem algumas sobreposições.

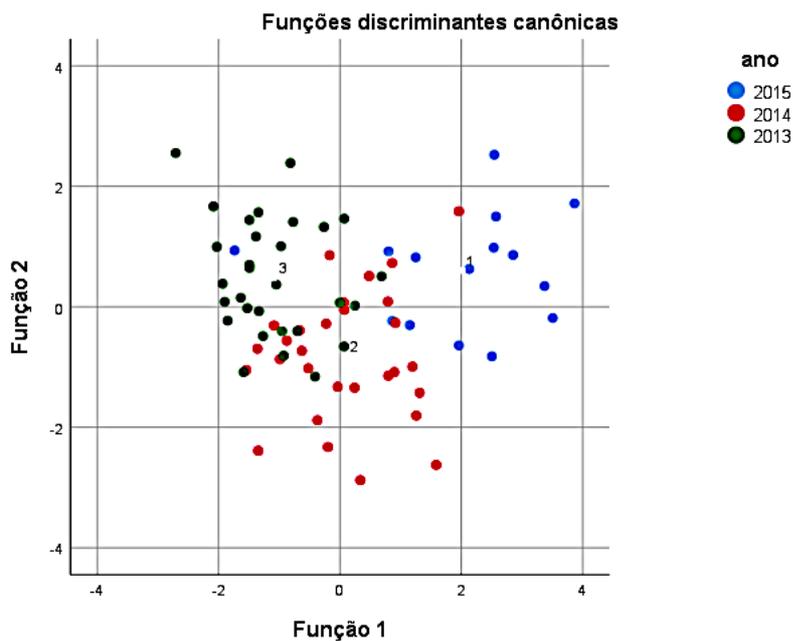


Figura 21 - Análise canónica discriminante

Os quadros seguintes permitem avaliar a importância das funções discriminantes.

Por observação da Tabela 3 é possível verificar que a primeira função discriminante explica 75,3% da variância entre amostras e a segunda função tem uma capacidade explicativa bastante menor com 24,7% da variância.

Tabela 3 - % de variância

<i>Função</i>	<i>Autovalor</i>	<i>% de variância</i>	<i>% cumulativa</i>	<i>Correlação canônica</i>
1	1,366a	75,3	75,3	0,760
2	0,447a	24,7	100,0	0,556

a. As primeiras 2 funções discriminantes canônicas foram usadas na análise.

O Lambda de Wilks comprova a significância estatística das funções discriminantes. Quando os valores de lambda são baixos (próximos de zero) indicam que as funções discriminantes provocam muita variabilidade entre os grupos e pouca dentro deles. Valores altos (próximos de 1) indicam que não há variabilidade entre os grupos. Esta situação acontece quando os autovalores, as % de variância e as correlações canônicas são baixas (Ángeles e D'Ancona, 2016). Na Tabela 4 pode observar-se que o valor de Lambda de Wilks é de 0,292 o que significa uma forte e significativa separação entre as amostras de vinho de acordo com o ano.

Tabela 4 - Lambda de Wilks

<i>Teste de funções</i>	<i>Lambda de Wilks</i>	<i>Qui-quadrado</i>	<i>df</i>	<i>Sig.</i>
1 até 2	0,292	81,231	22	0,000
2	0,691	24,403	10	0,007

Quanto aos resultados da classificação (Tabela 5), relativamente ao ano de 2015 foram classificadas 12 amostras no primeiro grupo o que representa 80% do total. As restantes 3 amostras classificaram-se nos segundo e terceiro grupos representando os

restantes 20%. Em relação ao ano de 2014, no universo das 29 amostras, 23 foram classificadas no segundo grupo (79,3%), 2 amostras classificadas no primeiro grupo (6,9%) e 4 amostras no terceiro grupo (13,8%). Relativamente ao ano de 2013, no total de 30 amostras, 23 foram classificadas no terceiro grupo (76,7%) e 7 foram classificadas no segundo grupo (23,3%).

Tabela 5 - Resultados da classificação

Resultados da classificação ^{a,c}

		Associação ao grupo prevista				
		ano	1	2	3	Total
<i>Original</i>	<i>Contagem</i>	1	12	2	1	15
		2	2	23	4	29
		3	0	7	23	30
	<i>%</i>	1	80,0	13,3	6,7	100,0
		2	6,9	79,3	13,8	100,0
		3	0,0	23,3	76,7	100,0
<i>Com validação cruzada ^b</i>	<i>Contagem</i>	1	9	4	2	15
		2	2	19	8	29
		3	1	9	20	30
	<i>%</i>	1	60,0	26,7	13,3	100,0
		2	6,9	65,5	27,6	100,0
		3	3,3	30,0	66,7	100,0

a. 78,4% de casos agrupados originais classificados corretamente.

b. A validação cruzada é feita apenas para os casos da análise. Na validação cruzada, cada caso é classificado pelas funções derivadas de todos os casos diferentes desse caso.

c. 64,9% de casos agrupados com validação cruzada classificados corretamente.

Por último, a Tabela 6 mostra os coeficientes padronizados das funções discriminantes canónicas em que, para evitar os problemas de escala que existem entre as variáveis, é estabelecida uma tipificação das variáveis classificadoras para que tenham média de 0 e desvio padrão de 1. Por isto, a magnitude dos coeficientes padronizados são um indicador da importância que cada variável tem na equação (Fernández, 2011). Com o objetivo de se testar a possibilidade ou não de se agruparem as diferentes amostras em função dos respetivos parâmetros de cor procedeu-se a uma análise classificatória por classificação hierárquica onde se pode verificar que para a função 1 as variáveis que mais condicionam a função discriminante são o L*, a*, IC e TC e para a função 2 são o L*, a*, FT e FnA

Tabela 6 - Coeficientes das funções discriminantes canónicas padronizados

	Função	
	1	2
L*	12,087	5,131
a*	8,884	3,741
b*	0,316	1,003
H*	-1,729	-2,208
IC	4,256	2,581
TC	5,049	-0,560
ama	-3,493	1,298
FT	-1,209	-5,647
FnA	0,990	5,672
pH	1,054	1,617
acidez	-0,070	-0,032

Capítulo 5 | CONCLUSÕES

5.1 Considerações finais

Este estudo teve como objetivo a comparação de vinhos tintos dos anos de 2013, 2014 e 2015, do ponto de vista das suas características cromáticas e fenólicas.

Desta maneira foi possível caracterizar os vinhos de 2013 como vinhos que apresentam valores mais altos de contribuição da cor amarela (b^* , % amarelo, H^* e TC). Por outro lado, são os vinhos que apresentam valores de Antocianinas Totais mais baixos que os restantes. Todas estas características estão de acordo com as descrições de vinhos com mais evolução encontradas na bibliografia consultada. Em relação aos valores de IC, FT e FnA, foram os vinhos que apresentaram valores mais altos, no entanto, não se justifica este resultado com o tempo decorrido, mas sim por características próprias dos vinhos que são desconhecidas, como por exemplo as castas, técnicas de vinificação ou tipo de armazenamento.

Os vinhos de 2015 são os vinhos que apresentam valores de pH mais altos em consonância com os valores mais altos de contribuição da cor azul. Estes vinhos, por serem mais recentes, apresentam valores de b^* , H^* , % amarelo, TC mais baixos e, por sua vez, valores mais altos de Antocianinas Totais. Quanto aos valores de IC, FT e FnA são os vinhos que, a par dos vinhos de 2014, apresentam valores mais baixos, mas, como nos vinhos de 2013, não se pode justificar estes resultados com o tempo decorrido, mas sim pelas próprias características destes vinhos.

Os vinhos de 2014 apresentam característica intermédias no que respeita aos valores de b^* , H^* , % amarelo, IC, TC em comparação com os vinhos de 2013 e 2015. Em relação ao FT e FnA apresentam também valores intermédios apesar de não serem significativamente diferentes dos vinhos de 2015 que têm os valores mais baixos. Quanto aos valores de Antocianinas Totais são, a par dos vinhos de 2015, os que apresentam níveis mais elevados. São os vinhos que apresentam valores mais baixos de % azul na sua cor.

No que respeita aos parâmetros acidez total, L^* , a^* , C^* e % dA não revelaram diferenças significativas entre os anos estudados.

De uma forma geral pode-se concluir que as características da cor distinguem vinhos mais recentes de vinhos com mais evolução. Porém os resultados obtidos evidenciam de forma clara que a cor dos vinhos e as suas características fenólicas estão muito dependentes das características do ano, castas, tipos de vinificação ou diferentes formas de armazenamento.

5.2 Limitações e perspectivas futuras

Neste estudo a amostragem consiste em 74 vinhos tintos, 30 do ano de 2013, 29 de 2014 e 15 do ano de 2015. Não se conhecem mais características destes vinhos.

Apesar do teste da análise canónica discriminante nos indicar uma forte e significativa separação entre as amostras de vinho de acordo com o ano, existem variáveis como a IC que contrariam a tendência de evolução dos vinhos com o tempo registada na bibliografia consultada.

Seria interessante para estudo futuro o acompanhamento do mesmo vinho ao longo do tempo, podendo até comparar diferentes castas, tipos de vinificações diferentes ou tecnologias enológicas. O estudo do mesmo vinho ao longo dos anos permitiria descartar variáveis que variam muito de vinho para vinho e, partindo de uma base em que as características do próprio vinho são conhecidas, o único fator que mudaria era o tempo.

BIBLIOGRAFIA

Ángeles, M.; D'Ancona, C. (2016). Cuadernos Metodológicos. Análises discriminante. Centro de Investigaciones Sociológicas. Madrid.

Araújo, I.; Linhares, J.; Pereira, O.; Nascimento, S.; Oliveira, J. (2005). Características cromáticas de vinhos Verdes tintos. *7º Encontro de Química dos Alimentos, Viseu*, pp.1–7.

Babincev, L. M.; Guresic, D. M.; Simonovic, R. M. (2016). Spectrophotometric characterization of red wine color from the vineyard region of Metohia. *Journal of Agricultural Sciences*. Vol. 61, No.3. pp.282-290.

Birse, M.J. (2007). The Colour of Red Wine. Ph.D. thesis. School of Agriculture, Food & Wine. Faculty of Sciences. The University of Adelaide.

Boulton, R., (2001). The Copigmentation of Anthocyanins and Its Role in the Color of Red Wine: A critical review. *American Journal of Enology and Viticulture*, 52(2), pp.67–87.

Cabrita, M.J.; Ricardo-da-Silva, J.; Laureano, O. (2003). Os Compostos Polifenólicos Das Uvas E Dos Vinhos. *I Seminário Internacional de Vitivinicultura*, pp.61–102.

Clydesdale, F.M. (1984). The Influence of Colour on Sensory Perception and Food Choices. In: Developments in Food Colours. 2nd Ed. by J. Walford. *Applied Science Publishers Ltd*. London, England. 75-112.

Conde, C.; Silva, P.; Fontes, N.; Dias, A. C. P.; Tavares, R. M.; Sousa, M. J.; Agasse, A.; Delrot, S.; Gerós, H. (2007). Biochemical Changes throughout Grape Berry Development and Fruit and Wine Quality. *Global Science Books*, pp1-22.

Cristea, E. (2014). Determination of the optimal Phenolic Extration yield in red wines using the Glories method. Master Thesis. Escola Superior de Biotecnologia. Universidade Católica Portuguesa. Porto.

Dias, C. B. (2012). Apontamentos apoio aos alunos. Química e Bioquímica Enológicas). Universidade de Évora.

Fernandes, A.; Oliveira, J.; Teixeira, N.; Mateus, N.; Freitas, V. (2017). A review of the current knowledge of red wine colour. *OENO One*, 51(1), pp.1–21.

Fernández, S. (2011). Análises discriminante. Fac. Ciencias Económicas e Empresariales. Universidad Autonoma de Madrid.

Figueiredo-González, M.; Cancho-Grande, B.; Simal-Gándara, J. (2013). Garnacha Tintorera-based sweet wines: Chromatic properties and global phenolic composition by means of UV-Vis spectrophotometry. *Food Chemistry*, pp.217-224.

Gamasa, C. S.; Hernández, B.; Santiago, J. V.; Alberdi, C.; Alfonso, S.; Diñeiro, J. M. (2009). Measurement of the colour of white and rosé wines in visual tasting conditions. *European Food Research and Technology*, 229(2), pp.263–276.

García-Marino, M.; Escudero-Gilete, M. L.; Heredia, F. J.; Escribano-Bailón, M. T.; Rivas-Gonzalo, J. C. (2013). Color-copigmentation study by tristimulus colorimetry (CIELAB) in red wines obtained from Tempranillo and Graciano varieties. *Food Research International*, 51(1), pp.123–131.

Garrido, J., e Borges, F. (2013). Wine and grape polyphenols - A chemical perspective. *Food Research International*, 54(2), 1844–1858.

Gil-Muñoz, R.; Gómez-Plaza, E.; Martínez, A.; López-Roca, J. M. (1997). Evolution of the CIELAB and other spectrophotometric parameters during wine fermentation. Influence of some pre and postfermentative factors. *Food Research International*, 30(9), pp.699–705.

Glories, Y. (1984). La couleur des vins rouges. 2^a partie: mesure, origine et interpretation. *Connaissance Vigne Vin* 18 (4): 253-271.

González-Neves, G.; Charamelo, D.; Balado, J.; Barreiro, L.; Bochicchio, R.; Gatto, G.; Gil, G.; Tessore, A.; Carbonneau, A.; Moutounet, M. (2004). Phenolic potential of Tannat, Cabernet-Sauvignon and Merlot grapes and their correspondence with wine composition. *Analytica Chimica Acta*, 513(1), pp.191–196.

Heldman, D. R. e Lund, D. B. (2007). Handbook of Food Engineering. Second edition. Taylor & Francis Group. Florida.

Hernández, B.; Sáenz, C.; Hoz, J. F.; Alberdi, C.; Alfonso, S.; Diñeiro, J. M. (2009). Assessing the color of red wine like a taster's eye. *Color Research and Application*, 34(2), pp.153–162.

Hernández, B.; Sáenz, C.; Alberdi, C.; Alfonso, S.; Diñeiro, J. M. (2010). Colour evolution of rosé wines after bottling. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 32(1), pp.42–50.

Heredia, F. J. e Guzman-Chozas, M. (1993). The color of wine: A historical perspective. I. spectral evaluations. *Journal of Food Quality*. 16(6), pp.429-437.

Huertas, R.; Yebra, A.; Pérez, M. M.; Melgosa, M.; Negueruela, A. I. (2003). Color Variability for a Wine Sample Poured into a Standard Glass Wine Sampler. *Color Research and Application*, 28(6), pp.473–479.

Jackman, R. L.; Yada, R. Y.; Tung, M. A.; Speers, R. A (1987). Anthocyanins as food colorants - A review. *Journal of Food Biochemistry*.

Jackson, R. S. (2008). *Wine Science. Principles and Applications. Elsevier.*

Keller, M.; Pool, R.M.; Henick-Kling, T. (2003). Excessive nitrogen supply and shoot trimming can impair colour development in Pinot Noir grapes and wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 5(2), pp.45–55.

Kennedy J. A.,(2008) Grape and wine phenolics: Observations and recent findings, *Ciencia e Investigación AGRARIA*, 35 (2), 107 – 120.

Little, A.C., 1980. Colorimetry of Wines. *Color Research & Application*, 5(1), pp.51-56.

Marco, P. H.; Poppi, R. J.; Scarminio, I. S. (2008). Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos naturais. *Química Nova* vol.31 nº5. São Paulo.

Meléndez, M. E.; Sánchez, M. S.; Íñiguez, M.; Sarabia, L. A.; Ortiz, M. C. (2001). Psychophysical parameters of colour and the chemometric characterisation of wines of the certified denomination of origin “Rioja.” *Analytica Chimica Acta*, 446(1-2), pp.159–169.

Morrot, G.; Brochet, F. e Dubourdieu, D. (2001). The Color of Odors. *Brain and Language*, 79(2), pp.309–320.

OIV. (2006). Determination of chromatic characteristics according to CIE Lab. Compendium of International Analysis of Methods, (Chromatic Characteristics), pp.1–16.

Parr, W. V.; White, K. G.; Heatherbell, D. A. (2003). The nose knows: Influence of colour on perception of wine aroma. *Journal of Wine Research*, 14(2-3), pp.79–101.

Peng, Z.; Duncan, B.; Pocock, K. F.; Sefton, M. A. (1998). The effect of ascorbic acid on oxidative browning of white wines and model wines. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 4(3), pp.127–135.

Pérez-Margariño, S. e Gonzáles-Sanjosé, M. L. (2003). Application os absorbance values used in wineries for estimating CIELAB parameters in red wines. *Food Chemistry* 81, pp.301-306.

Quideau, S.; Deffieux, D.; Douat-Casassus, C.; Pouységu, L. (2011). Plant polyphenols: Chemical Properties, Biological Activities, and Synthesis. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2011, 50, 586-621.

Revilla, E.; López, J. F.; Ryan, J-M. (2005). Anthocyanin pattern of Tempranillo wines during ageing in oak barrels and storage in stainless-steel tanks. *European Food Research and Technology*, 220(5-6), pp.592–596.

Revilla, I. e González-Sanjosé, M.L. (2001). Evolution During the Storage of Red Wines Treated with Pectolytic Enzymes: New Anthocyanin Pigment Formation. *Journal of Wine Research*, 12(3), pp.183–197.

Ribéreau-Gayon, P. (1973). Interprétation chimique de la couleur des vins rouges. *Vitis*, 12, pp.119–142.

Ribéreau-Gayon, P; Pontallier, P; Glories, Y. (1983). Some Interpretations of Colour in Young Red Wines During Their Conservation. *J. Sei. Food Agric.* 34, 505-516.

Ribéreau-Gayon, P.; Glories, Y.; Maujean, A.; Dubouedieu, D. (2006). Handbook of Enology, Volume 2, The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments. 2nd Edition; John Wiley & Sons, Ltd. England.

Roubert, J. (1977). Determination rapide du “nombre de couleurs” des vins rouges. *La France Viticole*, 9:pp. 71- 73.

Rodríguez-Méndez, M. L.; Arrieta, A. A.; Parra, V.; Bernal, A.; Vegas, A.; Villanueva, S.; Gutiérrez-Osuna, R. (2004). Fusion of three sensory modalities for the multimodal characterization of red wines. *IEEE Sensors Journal*, 4(3), pp.348–354.

Pangborn, R. M; H.W.B. and B.H., (1963). The Influence of Color on Discrimination of Sweetness in Dry Table-Wine. *The american journal of psychology*, 76(3), pp.492–495.

Soares, S. E. (2002). Ácidos fenólicos como antioxidantes. *Revista de Nutrição. vol.15 no.1 Campinas*.

Somers, T.C. e Evans, M.E. (1986). Evolution of red wines I. Ambient influences on colour composition during early maturation. *Vitis*, 25, pp.31–39.

Sudraud, P. (1958). Interpretation des courbes d’absorption des vins rouges, *Ann. Technol. Agric.* 7 (2): 203-208.

Teixeira, A.; Eiras-Dias, J.; Castellarin, S.D.; Gerós, H. (2013). Berry phenolics os grapevine under challenging environments. *INT. J. Mol. Sci.*, 14, 18711-18739.

Timberlake, C.F. e Bridle, P. (1976). The effect of processing and other factors on the colour characteristics of some red wines. *Vitis*, 15, pp.37–49.

Valdanta, S. (2013). Capacidade antioxidante e compostos fenólicos de madeiras com uso enológico: influência do grau de tosta. Tese Mestrado em Viticultura e Enologia. Universidade de Évora.

Versari, A.; Boulton, R. B.; Parpinello, G. P. (2008). A comparison of analytical methods for measuring the color components of red wines. *Food Chemistry*, 106(1), pp.397–402.

Wahyuningsih, S.; Wulandari, L.; Wartono, M. W.; Munawaroh, H.; Ramelan, A. H. (2017). The Effect of pH and Color Stability of Anthocyanin on Food Colorant. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 193, pp.012-047.

Zoecklein, B. W.; Fugelsang, K. C.; Gump, B. H.; Nury (2001). Análisis y producción de vino. Huesca: Acribia.

Roubert, J. (1977). Determinacion rapide du "nombre de couleurs" des vins rouges. *La France Viticole*, 9:pp. 71- 73.

ANEXOS

codigo amostra	ano	L*	a*	b*	C*	H*	IC	TC	% da	% amar.	% verm.	% azul	FT	FnA	At	pH	Acidez Total
230	2015	69,63	31,36	5,78	31,89	10,44	1,13	0,74	50,70	37,21	50,35	12,44	1662	1251	465	3,73	4,9
231	2015	74,85	24,86	6,24	25,63	14,08	0,92	0,82	46,31	39,33	48,22	12,45	1681	1286	446	3,87	4,47
232	2015	73,36	28,85	2,20	28,94	4,35	0,94	0,72	52,06	36,80	51,05	12,15	1827	1405	477	3,63	5,13
233	2015	67,92	31,64	11,88	33,80	20,58	1,29	0,84	46,35	40,57	48,24	11,20	1973	1739	265	3,43	5,71
234	2015	57,53	42,78	2,42	42,85	3,24	1,66	0,69	52,53	35,15	51,30	13,55	1973	1517	515	3,56	5,2
235	2015	70,34	28,88	2,42	28,98	4,78	1,08	0,80	45,94	38,25	48,05	13,70	1553	1144	463	3,85	5,43
236	2014	73,38	25,93	9,23	27,53	19,59	1,01	0,84	45,49	40,36	47,84	11,80	1973	1650	366	3,59	5,37
237	2014	64,67	34,31	6,97	35,01	11,48	1,36	0,79	47,19	38,37	48,63	12,99	2179	1590	666	3,71	5,3
238	2014	78,93	18,78	11,38	21,96	31,23	0,83	0,98	38,27	43,98	44,75	11,27	1660	1394	301	3,75	4,29
239	2014	72,51	28,36	4,89	28,78	9,79	1,00	0,77	49,16	38,31	49,58	12,11	1557	1208	395	3,51	5,43
240	2014	55,65	47,08	7,58	47,69	9,15	1,83	0,65	56,28	34,74	53,35	11,91	2334	1791	613	3,4	5,54
241	2014	65,88	32,71	7,81	33,63	13,42	1,32	0,80	46,54	38,66	48,33	13,01	2076	1662	469	3,65	5,15
242	2014	67,69	33,08	2,51	33,18	4,34	1,18	0,73	50,34	36,74	50,17	13,09	1669	1145	592	3,59	5,08
243	2014	68,13	33,07	5,48	33,52	9,40	1,19	0,74	50,83	37,30	50,42	12,28	1191	765	481	3,57	5,5
244	2014	64,62	36,83	2,94	36,95	4,56	1,31	0,71	51,98	36,12	51,01	12,87	1549	1160	440	3,48	5,9
245	2014	70,15	29,20	8,20	30,33	15,69	1,15	0,82	46,38	39,46	48,25	12,28	1965	1584	431	3,71	5,28
246	2014	54,18	46,86	10,42	48,01	12,54	1,94	0,68	54,34	35,55	52,27	12,18	2385	1855	600	3,43	5,81
247	2013	61,35	37,94	17,15	41,64	24,32	1,67	0,80	48,46	39,45	49,24	11,31	1932	1581	396	3,49	5,87
248	2013	64,99	35,94	8,43	36,91	13,20	1,34	0,75	50,59	37,80	50,30	11,90	2027	1727	339	3,37	5,81
249	2013	57,88	41,18	4,57	41,43	6,33	1,66	0,73	49,82	36,34	49,91	13,75	2114	1619	559	3,71	5,09
250	2013	61,64	36,73	9,94	38,05	15,15	1,52	0,73	50,15	36,34	50,08	13,59	1936	1560	425	3,71	4,91
251	2013	70,03	29,11	8,84	30,42	16,90	1,15	0,84	45,39	40,12	47,80	12,09	1726	1344	432	3,61	5,29
252	2013	63,06	32,86	13,79	35,64	22,77	1,56	0,90	40,90	41,46	45,83	12,71	1607	1339	303	3,67	5,17
253	2013	66,75	31,48	10,82	33,29	18,97	1,32	0,85	44,65	40,37	47,46	12,17	2385	2078	348	3,68	5,11
254	2013	53,36	46,61	11,42	47,99	13,77	2,01	0,70	53,30	36,06	51,71	12,23	3098	2682	470	3,35	6,45
255	2013	68,39	29,54	13,46	32,46	24,50	1,28	0,91	42,21	42,05	46,39	11,56	2085	1782	342	3,62	5,73
256	2013	60,09	39,68	11,93	41,44	16,73	1,64	0,75	50,26	37,68	50,13	12,19	2142	1647	560	3,55	5,76
276	2015	60,66	40,88	4,74	41,16	6,61	1,53	0,68	53,52	35,47	51,83	12,70	2859	2330	599	3,63	5,15
277	2015	71,73	29,90	2,72	30,03	5,20	1,01	0,74	50,49	37,37	50,25	12,38	1430	977	511	3,7	5,44
278	2015	68,83	33,29	4,20	33,56	7,20	1,15	0,72	52,13	36,84	51,09	12,08	2204	1706	563	3,6	5,25
279	2014	63,90	37,99	5,85	38,43	8,75	1,38	0,70	52,91	36,27	51,50	12,23	2266	1794	533	3,55	5,78
280	2014	59,16	44,74	7,14	45,30	9,06	1,65	0,64	57,49	34,51	54,05	11,44	2204	1705	564	3,33	5,77
281	2014	74,39	26,56	7,52	27,60	15,81	0,95	0,78	49,62	38,61	49,81	11,58	1936	1606	373	3,66	4,79
282	2014	76,29	21,89	8,32	23,42	20,80	0,89	0,90	41,68	41,65	46,16	12,19	2266	1729	607	3,85	4,14
283	2014	67,76	29,96	8,36	31,10	15,59	1,25	0,85	43,76	39,80	47,06	13,13	1607	1169	494	3,74	4,96
284	2014	66,87	33,31	7,09	34,05	12,02	1,26	0,74	50,32	37,18	50,16	12,65	2085	1669	470	3,64	5,15
285	2014	68,96	29,66	9,59	31,17	17,93	1,20	0,82	46,17	39,33	48,15	12,52	2431	1991	497	3,73	5,12

codigo amostra	ano	L*	a*	b*	C*	H*	IC	TC	% da	% amar.	% verm.	% azul	FT	FnA	At	pH	Acidez Total
286	2014	69,92	30,17	4,01	30,44	7,58	1,10	0,77	48,28	37,80	49,15	13,04	2258	1870	438	3,7	5,03
287	2014	60,40	41,56	6,60	42,08	9,02	1,55	0,70	53,08	36,27	51,59	12,15	2258	1755	568	3,44	5,43
288	2013	64,07	36,65	7,90	37,49	12,17	1,38	0,74	50,98	37,27	50,50	12,24	2262	1943	360	3,38	5,51
289	2013	59,02	38,36	14,06	40,85	20,14	1,73	0,81	46,50	39,15	48,31	12,54	2503	2190	354	3,57	5,21
290	2013	70,28	24,22	11,36	26,76	25,13	1,19	0,91	38,77	40,71	44,95	14,34	2027	1787	271	3,94	5,1
291	2013	67,48	33,95	11,62	35,89	18,89	1,29	0,76	51,23	38,35	50,62	11,03	2385	2008	426	3,5	5,45
292	2013	70,70	29,73	8,58	30,94	16,10	1,12	0,79	48,70	39,01	49,36	11,63	2027	1737	327	3,59	5,32
293	2013	78,18	20,98	8,60	22,67	22,28	0,82	0,90	43,10	41,95	46,77	11,28	1965	1746	247	3,52	5,51
294	2013	64,56	37,76	9,52	38,94	14,14	1,39	0,74	52,33	37,72	51,20	11,09	2385	1890	559	3,49	5,86
295	2013	66,53	32,98	10,97	34,76	18,39	1,33	0,81	47,63	39,37	48,84	11,79	2501	2150	396	3,51	5,49
296	2013	61,58	36,96	7,64	37,74	11,68	1,53	0,78	47,68	38,02	48,87	13,12	2266	1856	464	3,67	5,08
297	2013	59,27	42,55	11,73	44,14	15,42	1,69	0,71	53,55	36,77	51,84	11,39	2266	1832	491	3,35	6,13
314	2015	66,12	34,89	3,84	35,10	6,27	1,27	0,72	51,29	36,45	50,65	12,89	1788	1323	526	3,75	4,91
315	2015	65,09	37,06	3,77	37,25	5,80	1,32	0,68	53,78	35,44	51,96	12,59	2408	1943	525	3,68	6,2
316	2015	67,40	34,48	2,05	34,54	3,41	1,18	0,70	52,35	35,87	51,20	12,93	1846	1373	534	3,6	5,41
317	2015	67,92	31,58	5,02	31,98	9,02	1,21	0,76	48,32	37,44	49,17	13,39	1850	1473	426	3,84	4,99
318	2015	68,28	32,41	4,62	32,74	8,11	1,17	0,74	50,11	37,21	50,06	12,73	1936	1521	469	3,6	5,06
319	2015	75,23	22,08	8,88	23,80	21,91	0,94	0,90	40,60	41,29	45,71	13,01	1726	1471	289	3,84	4,45
320	2014	63,58	38,62	6,42	39,15	9,44	1,41	0,71	53,07	36,61	51,58	11,81	2204	1782	477	3,46	5,29
321	2014	74,71	23,90	8,68	25,43	19,96	0,96	0,88	43,20	41,15	46,82	12,03	1850	1542	348	3,62	5,22
322	2014	70,74	28,68	10,29	30,47	19,74	1,13	0,84	45,87	40,36	48,02	11,63	1908	1473	491	3,59	5,05
323	2014	65,48	36,71	7,30	37,43	11,25	1,32	0,73	52,10	37,47	51,07	11,46	1965	1641	366	3,35	4,98
324	2014	61,18	38,52	9,10	39,58	13,30	1,56	0,75	49,79	37,65	49,89	12,46	1908	1476	487	3,54	5,75
325	2014	70,95	28,70	11,46	30,90	21,77	1,14	0,83	46,63	40,24	48,37	11,39	1788	1463	368	3,54	5,45
326	2014	71,76	29,08	7,43	30,01	14,33	1,06	0,77	49,43	38,51	49,72	11,77	2027	1702	367	3,5	5,68
327	2014	67,43	30,31	8,82	31,56	16,23	1,27	0,84	44,09	39,68	47,21	13,11	1965	1602	410	3,76	5,56
328	2014	61,29	39,89	10,14	41,16	14,26	1,56	0,74	51,66	37,54	50,84	11,62	1908	1542	413	3,34	6,84
329	2013	63,46	34,09	8,62	35,16	14,19	1,45	0,82	44,94	39,25	47,59	13,16	2142	1785	404	3,69	5,62
330	2013	76,84	21,35	9,37	23,31	23,70	0,89	0,92	41,14	42,11	45,93	11,96	1846	1611	265	3,69	5,24
331	2013	72,38	26,60	9,69	28,31	20,02	1,05	0,80	46,91	38,94	48,50	12,56	1908	1667	272	3,68	4,73
332	2013	61,85	36,45	7,55	37,22	11,70	1,50	0,77	48,00	37,59	49,02	13,39	1726	1353	422	3,58	5,05
333	2013	65,39	34,29	9,42	35,56	15,37	1,35	0,78	48,70	38,33	49,36	12,31	2324	1849	537	3,66	5,2
334	2013	64,63	35,74	9,04	36,87	14,19	1,38	0,76	50,07	37,91	50,04	12,06	2266	1966	339	3,37	5,7
335	2013	77,31	21,98	9,42	23,91	23,20	0,86	0,87	44,07	41,25	47,20	11,55	1788	1509	315	3,72	4,57
336	2013	71,75	26,48	9,69	28,20	20,10	1,09	0,87	43,35	40,98	46,88	12,14	2147	1906	272	3,53	5,28
337	2013	63,04	35,23	9,54	36,50	15,15	1,47	0,80	46,70	38,79	48,40	12,81	2385	2016	417	3,62	5,56
338	2013	56,21	44,35	12,84	46,17	16,15	1,87	0,71	53,04	36,52	51,57	11,91	2501	2043	517	3,37	6,46