

Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia

## Mestrado em Viticultura e Enologia

Dissertação

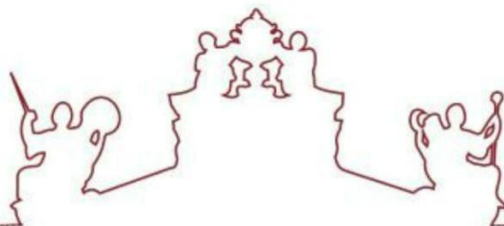
O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

André Ribeiro

Orientador (es) | Maria João Cabrita

Évora 2020





Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia

## Mestrado em Viticultura e Enologia

Dissertação

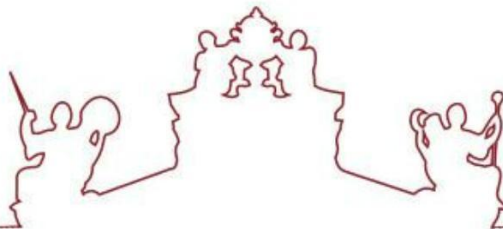
O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

André Ribeiro

Orientador (es) | Maria João Cabrita

Évora 2020





A dissertação foi objeto de apreciação e discussão pública pelo seguinte júri nomeado pelo Diretor da Escola de Ciências e Tecnologia:

- Presidente | João Manuel Mota Barroso (Universidade de Évora)
- Vogal | Maria João Pires de Bastos Cabrita (Universidade de Évora)
- Vogal | Cristina Maria Barrocas Dias (Universidade de Évora)

Évora 2020



*“This is the real secret of life – to be completely engaged with what you are doing in the here and now. And instead of calling it work, realize it is play.”*

- Alan Wilson Watts -



## **O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico.**

Este estudo pretende-se avaliar o perfil de aminoácidos de três castas brancas autóctones dos Açores: “Arinto dos Açores”, “Verdelho” e o “Terrantez do Pico”. Para cada casta pretende-se também verificar se existem diferenças entre os vinhos originados a partir da primeira fração do mosto obtido na prensagem e dos vinhos obtidos da restante fração.

O perfil de aminoácidos pode ser uma ferramenta importante para futuros estudos destas três castas brancas, pois têm um papel importante tanto na cinética fermentativa como também enquanto precursores de aromas. Para além disso, também pode servir como uma base de dados para ajudar a esclarecer a genuinidade e autenticidade de produtos.

Os resultados foram obtidos através da técnica de cromatografia líquida de alta eficiência com o detetor *Diode Array* (HPLC – DAD).

Foram encontradas diferenças significativas no teor de aminoácidos entre as castas e entre os dois tipos de vinhos resultantes das diferentes frações de mosto.

**Palavras-chave:** Arinto dos Açores, Verdelho, Terrantez do Pico, Aminoácidos, HPLC – DAD.

## **Amino acids profile of wines made by indiginous grape varieties of Azores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico**

In this study it was evaluated the amino acids profile of the three indigenous white grape varieties of the Azores: “Arinto dos Açores”, “Verdelho” e o “Terrantez do Pico”. The goal was to verify, for each grape variety, significant differences between them and also between wines resulted from first press are different than the ones resulted from the remaining press.

The amino acid profile of the three Azorean white grape varieties can be a very useful tool in future studies. The amino acids play a very important role in the fermentation kinetics as well as in aroma precursors. It also can be served as a data base to help to find out if the product is genuine.

The results where obtain from high pressure liquid chromatography with *Diode Array* detector (HPLC – DAD).

Significant differences were found in the quantities of amino acids between the grape varieties and also between the two types of wine resulted from different must fractions.

**Key-words:** Arinto dos Açores, Verdelho, Terrantez do Pico, Amino acids, HPLC – DAD.

## **Agradecimentos**

Em primeiro lugar quero agradecer à Universidade de Évora por dispor toda a ajuda possível para a realização do meu trabalho, desde materiais e aparelhos eletrónicos fornecidos, aos professores, alunos e funcionários que ajudam o quanto possível, e trabalham com dedicação e paixão em prol de uma coisa que temos todos em comum, crescer com base no conhecimento e experiências de vida. Um especial agradecimento à professora Maria João Cabrita e à Catarina Mendes.

Em segundo lugar, agradecer à minha família por nunca ter hesitado em me apoiar nos estudos e na vida em si, com um especial agradecimento à minha mãe, pai, avós e namorada.

Em terceiro, agradecer aos meus amigos com quem partilhei a experiência universitária e às empresas onde estagiei que contribuíram muito na minha aprendizagem e paixão pela enologia e viticultura, nomeadamente a Azores Wine Company e a Fitapreta.



# Índice

Resumo .....	I
Abstract .....	II
Agradecimentos .....	III
Índice.....	IV
Índice de figuras .....	VI
Índice de tabelas .....	VIII
Índice de gráficos.....	X
Abreviações e siglas.....	XII
1. INTRODUÇÃO .....	1
1.1. Breve Introdução .....	1
1.2. Enquadramento.....	3
1.3. Âmbito e objetivos.....	3
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1. Considerações Gerais.....	4
2.2. História das Vinhas e dos Vinhos da Ilha do Pico.....	5
2.3.1. Caracterização Edafo-Climática - Localização.....	12
2.3.2. Caracterização Edafo-Climática - Clima.....	13
2.3.3. Caracterização Edafo-Climática - Solos.....	15
2.4.1. Composição dos vinhos .....	18
2.4.2. Composição dos vinhos - Compostos azotados .....	19
2.4.3. Compostos azotados no vinho – aminos biogénicas.....	21
3.1. Métodos analíticos na identificação dos aminoácidos.....	23
3.2. Agente de derivatização .....	24
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	26
4.1. Descrição das amostras .....	26
4.2. Metodologia analítica para a quantificação dos aminoácidos .....	28

4.3. Quantificação dos aminoácidos .....	31
4.4. Análise estatística utilizada .....	35
5. ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS DADOS .....	36
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	51
7. LIMITAÇÕES DO ESTUDO .....	52
8. BIBLIOGRAFIA .....	53
9. ANEXOS.....	60

## Índice de figuras

**Figura 1.** Representação geográfica da área de produção de vinho DO da Ilha do Pico. (retirado do SIARAM)

**Figura 2.** Esquema da estrutura organizacional típica das vinhas do Pico (jancisrobinson.com). <https://www.jancisrobinson.com/articles/the-volcanic-wines-of-the-azores>

**Figura 3.** Fotografia aérea da organização estrutural das paredes e currais (jancisrobinson.com) <https://www.jancisrobinson.com/articles/the-volcanic-wines-of-the-azores>

**Figura 4.** Ilustrações dos pâmpanos jovens das três castas emblemáticas Açorianas e alguns nomes diferentes associados (retirado do site CVR Açores). <https://www.cvrcores.pt/>

**Figura 5.** Folhas e cachos do verdelho (cima), arinto dos açores (meio) e terrantez do pico (baixo). (Eira-Dias *et al*, 2006)

**Figura 6.** Diagrama do grau de parentesco entre as castas estudadas. (Imagem retirada do artigo científico de A. Maçanita et al, 2018)

**Figura 7.** Mapa da localização dos Açores e da ilha do Pico. <https://www.google.pt/maps/>

**Figura 8.** Fotografia da vinha na ilha do Pico a menos de 100 metros de distância do mar num dia de tempestade. <http://azoreswinecompany.antoniomacanita.com/en/gallery/>

**Figura 9.** Fotografia do chão típico de lajido, <https://siaram.azores.gov.pt/patrimonio-cultural/vinhas-pico/Galeria-Paisagem-Cultural/18.html>

**Figura 10.** Fotografia do chão típico de biscoito, (<https://siaram.azores.gov.pt/patrimonio-cultural/vinhas-pico/Galeria-Paisagem-Cultural/68.html>)

**Figura 11.** Fotografia da paisagem cultural da vinha do Pico classificada pela UNESCO. Iloveazores, 16 de dezembro, 2018. ([https://www.instagram.com/p/BrdV5UAF7X3/?utm\\_source=ig\\_embed](https://www.instagram.com/p/BrdV5UAF7X3/?utm_source=ig_embed)).

**Figura 12.** Fotografia que representa na direita o perfil de solo de um chão de biscoito e na esquerda de lajido (Fotos de autoria própria)

**Figura 13.** Diagrama dos Aminoácidos precursores das aminas biogénicas (Fonte: Ancin-Azpilicueta., 2008)

**Figura 14.** Ilustração estrutural dos derivados aminoenonas: Representação da reação de derivatização (A); derivado de aminoácido primário (B); derivado de aminoácido secundário (C). (Fonte: Gomez-Alonso; Hermosin-Gutierrez; Garcia-Romero., 2007)

**Figura 15.** Esquema de fotografias de acordo com os procedimentos (Fontes: <https://www.spectralabsci.com/equipment/waters-e2695-hplc-system-with-2998-pda/> (discos de vials); <https://www.fishersci.se/shop/products/wheaton-glass-sample-vials-vial-file-12/11571205> (Vial); <https://pt.vwr.com/store/product/555654/filtros-de-seringa-puradisctm-whatmantm> (seringa com filtro); <https://www.dutral.com.br/vidraria/tubo-de-ensaio-com-tampa-rosqueavel#group-img> (Tubo de ensaios na estante);

**Figura 16.** Imagem fotográfica do sistema HPLC Alliance e indicação dos vários subsistemas. (Fonte: <https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/720000370pb.pdf>)

**Figura 17.** Fotografia da filtração do eluente A com a bomba de vácuo no lado direito

**Figura 18.** Cromatograma retirado do *software Empower 3* de uma amostra analisada no HPLC

**Figura 19.** Gráfico representativo das funções discriminantes canônicas para a primeira análise.

**Figura 20.** Gráfico representativo das funções discriminantes canônicas para a segunda análise.

## Índice de tabelas

**Tabela 1.** Cf. Apêndice 7, Quadros I a XXI das exportações da ilha do Faial entre 1800 e 1820, in Ricardo Manuel Madruga da Costa, *Os Açores em finais do regime de Capitania-Geral. 1800-1820*, Horta, Núcleo Cultural da Horta; Câmara Municipal das Horta, 2005, pp. 133-170

**Tabela 2.** Cf. Apêndice 7, I a XXI das exportações da ilha do Faial entre 1800 e 1820, in Ricardo Manuel Madruga da Costa, *Os Açores em finais do regime de Capitania-Geral. 1800-1820*, Horta, Núcleo Cultural da Horta; Câmara Municipal das Horta, 2005, pp. 339

**Tabela 3.** Valores obtidos de análises de solo de 2019. Tabela foi elaborada com resultados obtidos a partir da empresa Azores Wine Company.

**Tabela 4.** Teores médios constituintes essenciais do vinho. Marie-line Carvalho dos Santos, (2018). *Caracterização físico-química de dois vinhos brancos (Monovarietal vs Multivarietal) na Adega Cooperativa de Vila Real*. Tecnologia e Ciência Alimentar. Departamento de Química e Bioquímica.

**Tabela 5.** Valores recolhidos de aminoácidos (mg/g) em uvas da casta *Verdejo* (ORTEGA-HERAs *et al.*, 2014).

**Tabela 6.** Análises físico-químicas das amostras estudadas. (Valores obtidos a partir do laboratório regional de enologia).

**Tabela 7.** Percentagens das fases móveis por gradiente ao longo do tempo de análise.

**Tabela 8.** Lista dos aminoácidos em estudo e respetivas siglas.

**Tabela 9.** Valores retirados do *software Empower 3* de uma amostra analisada no HPLC.

**Tabela 10.** Retas de calibração dos respetivos aminoácidos.

**Tabela 11.** Média das concentrações (ppm) de aminoácidos em cada amostra.

**Tabela 12.** Funções discriminantes na primeira análise e suas distribuições.

**Tabela 13.** Teste de funções com valores de Lambda de Wilks

**Tabela 14.** Lista dos coeficientes padronizados de cada aminoácido para as 2 funções.

**Tabela 15.** Funções discriminantes na primeira análise e suas distribuições.

**Tabela 16.** Teste de funções com valores de Lambda de Wilks da primeira análise.

**Tabela 17.** Lista dos coeficientes padronizados de cada aminoácido para as 2 **funções**.

**Tabela 18.** Valores correspondentes ao gráfico 22 (DP-desvio padrão).

**Tabela 19.** Teor de aminoácidos dos vinhos engarrafados de 2018.

## **Índice de gráficos**

**Gráfico 1.** Teor de á. aspártico para cada casta.

**Gráfico 2.** Teor de á. glutâmico para cada casta.

**Gráfico 3.** Teor de asparagina para cada casta.

**Gráfico 4.** Teor de serina para cada casta.

**Gráfico 5.** Teor de histidina para cada casta.

**Gráfico 6.** Teor de glutamina para cada casta.

**Gráfico 7.** Teor de glicina para cada casta.

**Gráfico 8.** Teor de treonina para cada casta.

**Gráfico 9.** Teor de arginina para cada casta.

**Gráfico 10.** Teor de alanina para cada casta.

**Gráfico 11.** Teor de valina para cada casta.

**Gráfico 13.** Teor de á. aspártico para cada casta e o seu respetivo tipo de vinho originado.

**Gráfico 14.** Teor de á. glutâmico para cada casta e o seu respetivo tipo de vinho originado.

**Gráfico 15.** Teor de asparagina para cada casta e o seu respetivo tipo de vinho originado.

**Gráfico 16.** Teor de histidina para cada casta e o seu respetivo tipo de vinho originado.

**Gráfico 17.** Teor de glutamina para cada casta e o seu respetivo tipo de vinho originado.

**Gráfico 18.** Teor de glicina para cada casta e o seu respetivo tipo de vinho originado.

**Gráfico 19.** Teor de arginina para cada casta e o seu respetivo tipo de vinho originado.

**Gráfico 20.** Teor de serina para cada casta e o seu respetivo tipo de vinho originado.

**Gráfico 21.** Funções discriminantes canônicas da segunda análise.

**Gráfico 22.** Teor médio de cada aminoácido da média de todas as amostras.

**Gráfico 23.** Teor médio de aminoácido do vinho resultante da primeira e segunda fração de mosto das três castas.

**Gráfico 24.** Teor médio de aminoácido

**Gráfico 25.** Comparação do teor de aminoácidos total das amostras de 2018 e 2019.



## Abreviações e siglas

### Instituições

UE	Universidade de Évora
UNESCO	United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization
IVV	Instituto da Vinha e do Vinho
UTAD	Universidade de Trás-os-Montes e do Alto Douro
CVR	Comissão Vitivinícola Regional

### Outras

ANOVA	Análise de variância
AP	Álcool Provável
Ar	Arinto dos Açores
DAD	Detetor <i>Diode Array</i>
DAP	Diamónio de Fosfato
DEEMM	Etoximetilenomalonato de Dietilo
DO	Denominação de Origem
DP	Desvio Padrão
FMOC-CI	Cloroformato de 9-Fluorenilmetil
HPLC	<i>High Pressure Liquid Chromatography</i>
mL	Mililitros
mm	Milímetro
mM	Milimolar
MS	Espectrometria de Massas
nm	Nanómetro

OPA	Ortoftaldeído
PDA	<i>Photo Diode Array</i>
PI	Padrão Interno
Te	Terrantez do Pico
UV	Ultravioleta
Ve	Verdelho
$\mu\text{L}$	Microlitro
$\mu\text{m}$	Micrómetro

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1. Breve Introdução

Portugal embora pequeno tem uma riqueza vasta de diferentes “terroirs” devido à sua diversidade geológica, climática e genética. Das regiões existentes no país, os vinhos brancos dos Açores têm ganho recentemente uma excelente reputação de qualidade. A junção do clima ameno, da proximidade do mar, dos solos basálticos e das castas autóctones da região elevam os vinhos a um patamar de qualidade e singularidade alto uma vez que é difícil encontrar brancos frescos, texturados e salinos num só vinho.

Atualmente em Portugal existem aproximadamente 190.000 hectares de vinha, sendo o décimo primeiro país com mais produção de vinho no mundo, a rondar normalmente entre os 6 e os 7 milhões de hectolitros (IVV, 2019). Nos Açores a produção de 2018/2019 foi de 13.285 hectolitros, no entanto menos de um terço desse volume foi certificado com dominação de origem (3.452 hectolitros). Desse volume, aproximadamente 3090 hectolitros provem do concelho da Madalena na ilha do Pico. Pode-se dizer seguramente que o Pico é a ilha que mais se dedica a expressar o “terroir” Açoriano por uma esmagadora percentagem relativamente às restantes ilhas (IVV, 2019). O vinho para ter a certificação de dominação de origem, além de outros pressupostos, tem de ter no mínimo dois fatores essenciais, o primeiro é pertencer à área delimitada estabelecida como pertencente à denominação de origem, e segundo é o vinho ser elaborado essencialmente de castas tradicionais, neste caso as três brancas conhecidas como “arinto dos açores”, “verdelho” e “terrantez do pico” (CVR, 2020).

Devido à área vitivinícola ser de tamanho reduzido e de recentemente se ter comprovado que as castas brancas têm uma genética e ampelografia diferente existem ainda poucos estudos sobre as mesmas (MAÇANITA, *et al.*, 2018). Por isso, este trabalho visa contribuir para o estudo da enologia e viticultura insular portuguesa com intuito de repetir novamente história e elevar os vinhos do Pico ao mais alto nível internacional, pois certamente a qualidade dos vinhos merecem um lugar reservado para tal.



# **O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico**

---

## **1.2. Enquadramento**

O perfil de aminoácidos é uma ferramenta importante nos dias de hoje pois pode servir de caminho para chegar, ou reforçar conclusões novas sobre a viticultura e enologia. Pode servir como uma “impressão de identidade ou de local”, fornecer valores de quantidade e qualidade de fontes de azoto para a cinética fermentativa, de influenciar na complexidade aromática e de nos alertar para a probabilidade de os vinhos poderem conter substâncias nocivas para a saúde do consumidor (SOUFLEROS *et al.*, 2003). Nos dias de hoje, é cada vez mais comum a desonestidade e fraudulência no mundo dos vinhos, daí poder a vir ser cada vez mais utilizado o perfil de aminoácidos de um produto como forma ou como complemento para comprovar a autenticidade ou não de um produto.

## **1.3. Âmbito e objetivos**

O objetivo deste projeto consiste em perceber se existem diferenças significativas no perfil de aminoácidos entre as castas autóctones dos Açores: arinto dos açores, verdelho e terrantez do Pico. Além disso averiguar se existem também diferenças significativas entre os vinhos derivados de mosto obtido da primeira fração de prensagem e o mosto obtido da última fração.

Após a revisão literária sobre os objetos de estudo e no processo para a obtenção de dados, foi realizado no laboratório de enologia da Universidade de Évora uma análise em cromatografia líquida de alta precisão (HPLC) em todas as amostras para a quantificação de aminoácidos. Os dados obtidos foram tratados com um programa estatístico com objetivo de averiguar se existem diferenças significativas entre os perfis de aminoácidos entre as castas e entre os vinhos derivados da primeira e da última fração de mosto.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Considerações Gerais

Para compreender melhor esta região particular vitícola de Portugal foi elaborada uma pesquisa da história da ilha do Pico, dando particular atenção à importância cultural e mundial da atividade socioeconómica da viticultura e da produção de vinho. Ao longo do tempo otimizou-se as vinhas e melhorou-se o vinho, conforme conhecimento se adquiriu com base na experiência e observação. Para isso foi necessário compreender o mar, o clima, a terra, as castas e até a forma de vinificação para poder otimizar essencialmente o rendimento, pois muitas famílias viviam, e até hoje vivem do trabalho árduo por cima de chão onde nada crescia.

Hoje em dia, graças à evolução da ciência podemos observar coisas para além do olho nu, por isso a complexidade de compreensão está cada vez mais atingindo níveis tão particulares que sabe-se que a mínima diferença externa ou interna pode mudar a constituição final de um produto.

A composição de um vinho é algo que nos diz muito sobre a sua região, produtor e ano. De entre muitos compostos que estão presentes no vinho, os aminoácidos, que pertencem à família dos compostos azotados, podem ter particular interesse na contribuição para a singularidade e distinção do produto.

# O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

## 2.2. História das Vinhas e dos Vinhos da Ilha do Pico

A cultura da vinha na ilha do Pico foi introduzida pelos primeiros povoadores. É citado em várias obras escritas que Frei Pedro Gigante adquiriu bacelos importados da ilha de Chipre e da ilha da Madeira (TOMAZ, 2001). O escritor faialense Ernesto Rebello refere que a origem da casta verdelho é da ilha de Chipre (MESTRE, 2016) e o general Francisco Soares de Lacerda Machado reafirma essa origem acrescentando também a ilha Madeira. Diz-se que essa introdução se realizou entre os anos 1460 e 1470 (MACHADO, 1991).

Especula-se que nos finais do século XVI, o Pico ainda não tinha entrado na tal revolução vitivinícola, pois o escritor Frutuoso não refere vinhas, nem embarcações de vinho nessa respetiva altura. Já nos meados do século XVII (1646-1654) existem referências de que a ilha era abundante em vinhas em todo o arredor e que já se produzia uma quantidade significativa de vinho (CHAGAS, 1989). Nos finais dos anos seiscentos, após a criação de taxas e de um corpo de provadores, a rentabilidade da viticultura representou um enorme peso económico (MENESES, 2011). No início do século XVIII também é mencionado a dedicação da ilha às vinhas e a preciosidade do vinho (CORDEIRO, 1981). A partir desta altura, todo o litoral costeiro delineado ainda hoje como zona protegida, desde a zona do Cabrito até à Prainha do Galeão, se encontrava ocupado por vinhas, e, em algumas zonas as vinhas se estendiam para o interior mais de dois quilómetros (TOMAZ, 2001). Em anexo encontra-se as figuras 19 e 20 com um mapa de precipitação acumulada e de temperatura média anual da ilha do Pico. Ao observar esses mapas compreende-se o porquê da localização das vinhas.

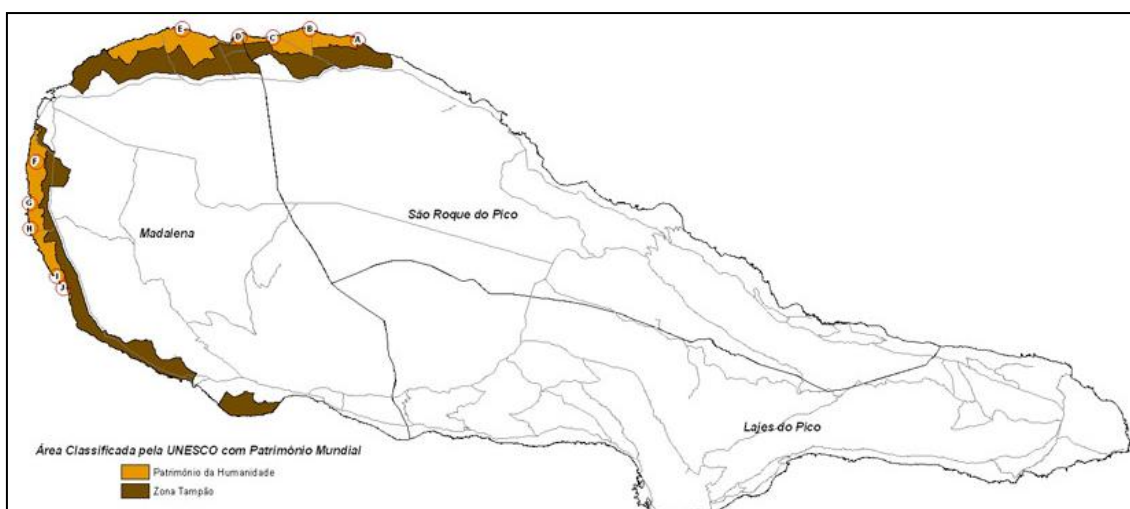


Figura 1. Representação geográfica da área de produção de vinho DO da Ilha do Pico. (retirado do SIARAM)

## O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

---

A única cultura que podia dar algum benefício económico para os Picarotos, nos terrenos constituídos basicamente por rocha-mãe sem solo nenhum, era e é, ainda hoje a videira. Com a escassez de solo, foi importado solo da ilha do Faial para dar algum sustento às plantas que eram plantadas em buracos e fendas encontradas no meio do manto basáltico. Muitas vezes tinham de se abrir novos lugares para plantar, e, dizem que para “arrumar” a pedra sobrada começaram a fazer paredes. Rapidamente se apercebeu que as paredes ofereciam abrigo às plantas de ventos fortes e da rebentação das ondas do mar que arrastam água salgada para o interior dos terrenos. Foi um labor sobre-humano que se efetuou em aproximadamente 120 quilómetros quadrados em torno da montanha junto à costa (TOMAZ, 2001). Atualmente a maioria dessa área encontra-se sob a designação de “DO”, de acordo com os critérios estabelecidos pela CVR dos Açores. A figura 1 demonstra visualmente a área apta.

Durante a crescente fama do vinho, de maiores e mais longas exportações, inicia-se o fabrico de aguardentes. Foi uma forma de aproveitar o vinho quando era produzido em excesso e de aumentar a sua conservação pela sua fortificação. Existem valores do provedor da fazenda real que confirma esta produção em 1766 (MENESES, 2011).

Conseguiram tirar proveito de uma área em que nada rendia, fazia-se um vinho generoso de excelência, mas, graças ao aumento das viagens internacionais, foi em 1850 que apareceu o oídio (*Oidium tuckeri*) pela primeira vez nos Açores e avassalou com grande significância a atividade vitícola. Para solucionar os problemas daquela altura começou-se a plantar uma casta mais resistente importada do continente Americano, a *Vitis labrusca*, conhecida como “isabela”. Pouco depois também surgiu das Américas mais castas híbridas não-viníferas, como o “jacquez” (seibel) e “herbemont” (uva da madeira). Mas ao trazer mais material vegetal de fora, também trouxeram mais doenças e pragas, nomeadamente o míldio (*Plasmopara viticola*) e a filoxera, praga que avassalou uma parte enorme das vinhas não só nos Açores como na Europa também. A combinação destas doenças e da filoxera levou ao abandono quase total das castas nobres e a continuação do uso de castas híbridas (TOMAZ, 2001). Ainda hoje se faz vinho nos Açores com estas castas, a que chamam o tal vinho de “cheiro” devido ao aroma varietal da isabela.



## O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

Para demonstrar a importância socio-económica do vinho “verdelho” produzido na ilha do Pico, apresentam-se tabelas com valores de exportações registadas nos registos de alfândega da Horta num período entre 1800 a 1820. Na tabela 1 pode-se verificar que se exportava principalmente para a Europa do Norte e para os Estados Unidos da América durante esse tempo. É de salientar que o vinho de melhor qualidade, o vinho passado ou amoroso, podia chegar até 3 vezes ou mais o valor do vinho comum (COSTA, 2015). Este autor refere que com base neste estudo, permite afirmar de forma solidamente fundamentada, que a vitivinicultura picoense, observada à luz das exportações efetuadas entre 1800 e 1820, constituía a mais importante riqueza dos Açores. A tabela 2 demonstra os valores gerados das exportações nessas datas.

**Tabela 1. Exportações de Vinho do Pico por Áreas de Exportação entre 1800-1820**

Áreas de exportação	Vinho comum			Vinho passado		
	Pipas	Barricas	Barris	Pipas	Barricas	Barris
Inglaterra e colónias	29.419	1.376	497	—	—	—
E.U.A.	8.424	34	64	12	1	—
Rússia	4.868	139	105	43	—	14
Báltico	3.085	11	14	3	—	2
Outros Europa	284	—	—	1	—	1
Outros diversos	621	3	—	—	2	13
<b>Totais</b>	<b>46.701</b>	<b>1.563</b>	<b>680</b>	<b>59</b>	<b>3</b>	<b>30</b>

**Tabela 2. Comparação dos Direitos de Exportação Cobrados em S. Miguel, Terceira e Faial entre 1800-1820.**

Anos	Valores			Total	Percentagem do total		
	S. Miguel	Terceira	Faial		S. Miguel	Terceira	Faial
1800	681\$400	—	5:874\$970	6:556\$370	10,4	—	89,6
1801	836\$928	—	6:885\$970	7:722\$898	10,8	—	89,2
1802	1:792\$366	—	1:751\$735	3:544\$101	50,6	—	49,4
1803	604\$180	690\$020	2:569\$608	3:863\$808	15,6	17,9	66,5
1804	2:297\$972	465\$000	2:814\$902	5:577\$874	41,2	8,3	50,5
1805	746\$960	420\$680	3:160\$775	4:328\$415	17,3	9,7	73,0
1806	1:826\$990	308\$870	1:636\$980	3:772\$840	48,4	8,2	43,4
1807	1:186\$260	194\$100	2:182\$550	3:562\$910	33,3	5,4	61,3
1808	2:475\$381	729\$708	2:419\$135	5:624\$224	44,0	13,0	43,0
1809	564\$150	1:843\$647	6:176\$775	8:584\$572	6,6	21,5	71,9
1810	1:644\$790	918\$600	7:030\$922	9:594\$312	17,1	9,6	73,3
1811	—	587\$882	4:832\$383	5:420\$265	—	10,8	89,2
1812	2:509\$390	283\$540	1:613\$900	4:406\$830	56,9	6,4	36,7
1813	3:097\$846	140\$210	1:435\$282	4:673\$338	66,3	3,0	30,7
1814	2:108\$060	60\$050	6:247\$425	8:415\$535	25,0	0,7	74,3
1815	3:555\$592	242\$630	2:611\$999	6:410\$221	55,5	3,8	40,7
1816	2:245\$115	283\$910	5:444\$208	7:973\$233	28,2	3,6	68,2
1817	1:510\$530	396\$400	7:787\$581	9:694\$511	15,6	4,1	80,3
1818	1:490\$726	316\$396	5:240\$425	7:047\$547	21,2	4,5	74,3
1819	2:101\$858	354\$510	2:946\$641	5:403\$009	38,9	6,6	54,5
1820	1:807\$600	370\$140	7:279\$383	9:457\$123	19,1	3,9	77,0
<b>Totais</b>	<b>35:084\$094</b>	<b>8:606\$293</b>	<b>87:943\$549</b>	<b>131:633\$936</b>	<b>26,6</b>	<b>6,5</b>	<b>66,9</b>

Como se pode observar, sabendo que, o vinho produzido vinha da ilha do Pico para o porto da Horta na ilha do Faial para ser exportado, de acordo com estes dados, o Pico gerou mais de 65% da riqueza produzida por exportação nos Açores nos primeiros 20 anos do século XIX.

## O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

A organização das vinhas era feita em propriedades que rondavam os 6 ou 3 hectares, referido como um “moio” e “meio moio”. Estas áreas eram bem definidas por paredes mais altas e largas. Conforme o tamanho e forma da vinha, são organizadas por outras paredes interiores designadas de “jeirões” dos quais correm outras paredes transversais chamadas de “servidões”. Juntos a estes desembocam as “canadas” (TOMAZ, 2001). Estas canadas são subdivididas em espaços regulares pelas “travessas”, que assim formam os ditos “currais” (retângulos de terreno com uma área compreendida aproximadamente entre 6 a 2,5 metros quadrados). Dito isto assim fica a videira afundada no “curral”, que atua como uma estufa e protege de ventos e maresias (EIRAS-DIAS, *et al.*, 2006). As figuras 2 e 3 mostram a estrutura organizacional típica das vinhas do Pico e a organização estrutural das paredes e dos currais.

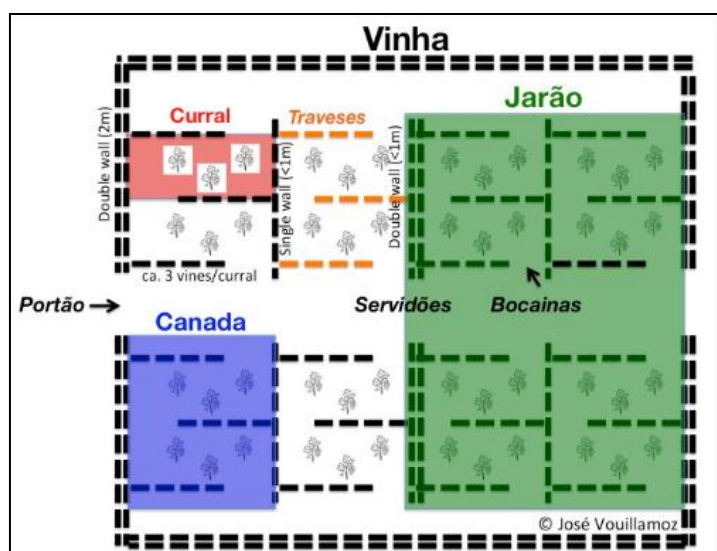


Figura 2. Esquema da estrutura organizacional típica das vinhas do Pico (retirado de [jancisrobison.com](http://jancisrobison.com)).



Figura 3. Fotografias aéreas da organização estrutural das paredes e currais (retirado de [jancisrobison.com](http://jancisrobison.com)).

# O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

A organização das vinhas pode variar muito conforme a disponibilidade de pedra solta, do relevo do terreno e de certa forma, da personalidade do viticultor/proprietário.

A casta principal usada foi sempre o verdelho, no entanto existiam outras castas que tinham funções específicas no melhoramento organoléptico do vinho: alicante, boal, galego, terrantez, bastardo e tinta negra (saborinho). No entanto, outros autores referem que as castas principais utilizadas para o fazer o antigo vinho do pico eram apenas o verdelho, arinto, terrantez e bastardo (SILVA, 1950).

Atualmente já é certo que o encepamento mais antigo dos Açores é constituído por 3 castas brancas: “verdelho”, “arinto dos Açores” e o “terrantez do Pico”. Para além disso também se sabe que a casta “verdelho” existente nos Açores é a mesma que existe na ilha da Madeira, confirmação obtida por análises moleculares. Esta distingue geneticamente e ampelograficamente o “verdelho” do “gouveio”, casta que é referenciada muitas vezes por “verdelho” em Portugal continental. (EIRAS-DIAS, *et al.*, 2006; VELOSO, *et al.*, 2010).

A casta “arinto dos Açores” encontra-se atualmente em maiores quantidades na ilha do Pico, juntamente com o “verdelho”, constitui a maior parte das vinhas. O nome oficial da casta até 2012 era “terrantez da Terceira”, tendo sido alterado para “arinto dos Açores” pela portaria nº 380/2012 de 22 de Novembro do Ministério de Agricultura, do Mar, do Ambiente e do Ordenamento do Território. Esta casta é significativamente diferente do “arinto” cultivado no território continental português, de acordo com análises moleculares (VELOSO, *et al.*, 2010), aliás, nunca foi encontrada a casta “arinto dos Açores” em Portugal continental. Na figura 4 apresenta a extremidade dos rebentos jovens do arinto à esquerda, terrantez do pico no centro e do verdelho na direita.



Figura 4. Ilustrações dos pâmpanos jovens das três castas emblemáticas Açorianas e alguns nomes diferentes associados ([www.cvracores.pt](http://www.cvracores.pt)).

## O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

Não é referido nos escritos mais antigos o nome “arinto” contudo o nome “arinho” aparece referido no relatório dos serviços phylloxéricos de 1889 como casta existente em São Jorge (BARROS, 1892).

O “terrantez do Pico” já é uma casta que apresenta um problema acrescido devido à confusão com os outros ditos “terrantezes” que eram usado nas outras ilhas, como a Terceira e Graciosa como sinónimo de “arinto dos Açores”. Foi possível identificar recentemente esta casta apenas no território da ilha do Pico. Características da casta parecem encaixar com a descrição escrita por Rebello (1885) para a casta “terrantez do monte”, descrevendo assim: “bago redondo, bagulho pequeno, casca muito fina, cor esverdeada e produzindo muito sumo”. Esta distingue-se do “terrantez” cultivado no continente e da casta conhecida por nome igual na ilha da Madeira que por sua vez, corresponde à casta “Folgasão”. Atualmente não foi encontrada ou identificada esta casta para além da ilha do Pico.

As particularidades ampelográficas mais fáceis para a distinção das três castas são a forma da folha e do cacho/bago. Por exemplo, a folha mais arredondada é a do verdelho, os cachos de bago mais pequeno são os do arinto e de bago maior são do terrantez do pico. A figura 5 mostra imagens das folhas e dos cachos do verdelho a cima, arinto no meio e terrantez em baixo.

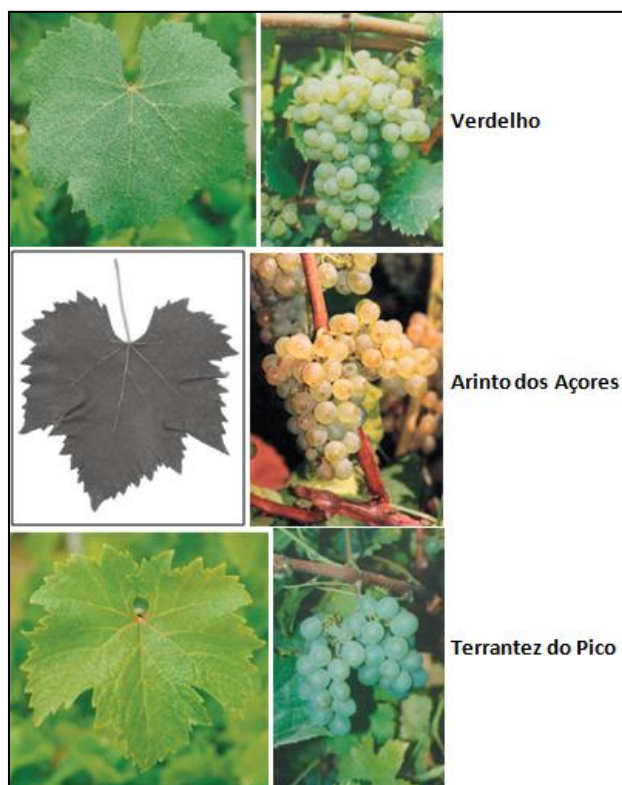
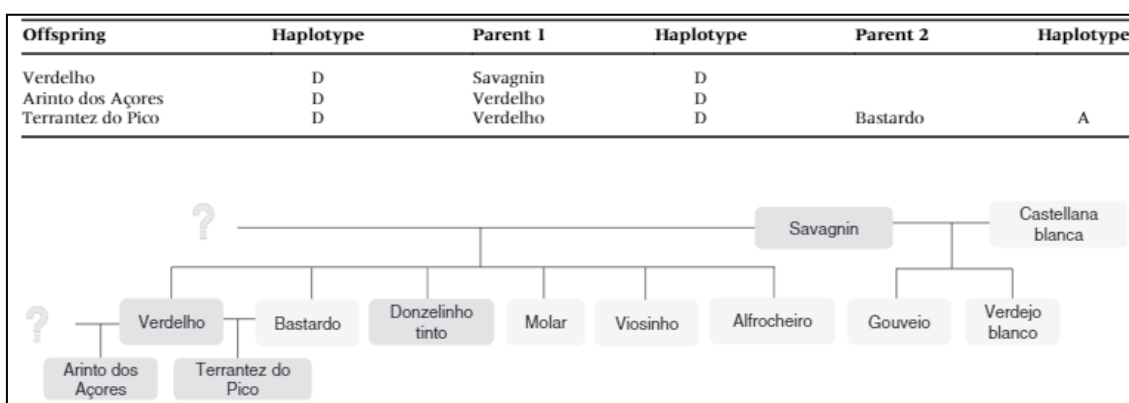


Figura 5. Folhas e cachos do verdelho (cima), arinto dos açores (meio) e terrantez do pico (baixo). (Eira-Dias *et al*, 2006)



## O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

É difícil saber com fidedignidade, mesmo com as fontes documentais históricas a origem destas 3 castas Açorianas, no entanto, com a aplicação de análise de ADN e obtenção de perfis moleculares de microssatélites é possível concluir que existe uma forte probabilidade de que o “arinto dos Açores” e o “terrantez do Pico” serem castas descendentes do “verdelho” (MESTRE, 2016). No caso do “verdelho”, é de salientar uma possível existência de uma relação de parentesco com as castas “Chenin” e “Traminer/ savagnin”. Também existem estudos de um possível segundo progenitor proveniente do noroeste da península ibérica, o que sugere a hipótese de ser essa a região de origem da casta verdelho (MESTRE, 2016). No entanto estudos genéticos mais recentes afirmam que não existe relação entre o verdelho e o chenin blanc mas sim com a casta savagnin ou traminer (MAÇANITA, *et al.*, 2018). A figura 5 representa um diagrama do grau de parentesco das castas em estudo.



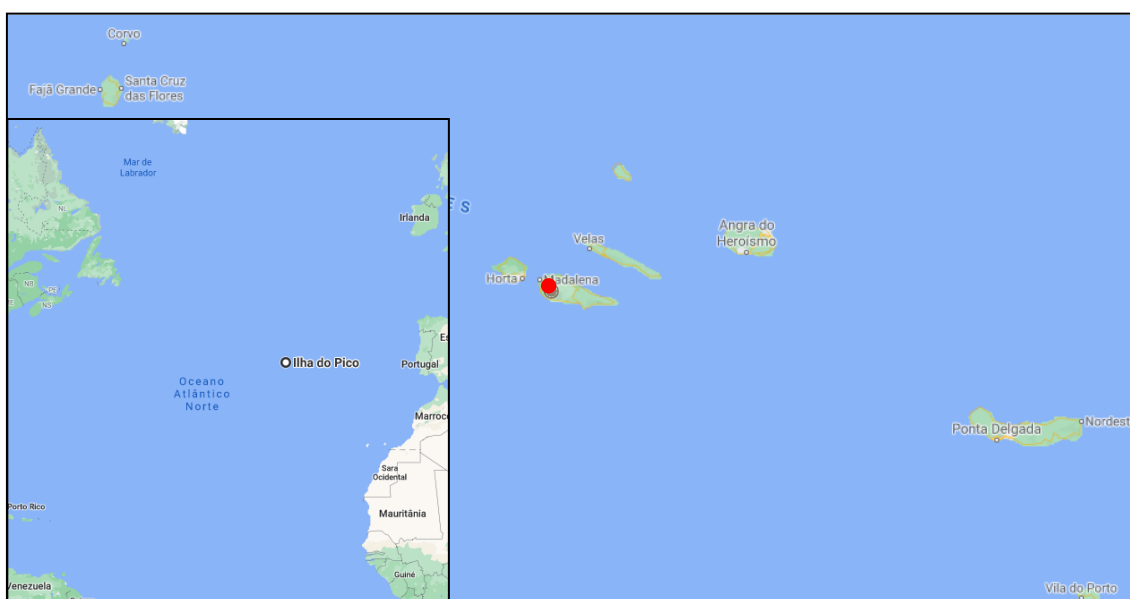
**Figura 6. Diagrama do grau de parentesco entre as castas estudadas. (MAÇANITA *et al.*, 2018)**

Na caracterização do tipo de perfil de vinho originado a partir destas castas varia significativamente entre elas sendo que normalmente o arinto é a casta com maior acidez e frescura com aromas cítricos, o verdelho mais salino com um leque aromático mais complexo a frutas tropicais e o terrantez uma mistura aromática cítrica/floral com notas salinas.

# O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

## 2.3.1. Caracterização Edafo-Climática - Localização

Situada entre as coordenadas 38° 24` e 38° 34` de latitude N e 29° 02` e 28° 33` de longitude WG, a ilha do Pico é a maior ilha do grupo central e a segunda maior do arquipélago dos Açores. Sendo a ilha dos Açores com maior número de aparelhos vulcânicos bem conservados (107), o Pico é uma ilha vulcânica e as erupções mais recentes, à parte da erupção do vulcão dos Capelinhos na ilha do Faial, ocorreram num período entre 1718 e 1720. A ilha tem uma superfície de 447,74 km<sup>2</sup>, tem 46 km de comprimento, 5 a 16 km de largura e tem um perímetro costeiro aproximadamente de 117 km. A montanha do Pico é um enorme cone vulcânico que é largo na base mas a partir dos 1200 metros de altitude estreita rapidamente atingindo declives médios de 65%. A montanha é a maior de Portugal atingindo os 2351 metros de altitude. Toda a parte ocidental da ilha, que é onde se encontra as melhores condições para a cultura da vinha, é formada por extensos campos de lava cujos derrames são originários das várias bocas encontradas na base da montanha ou dos aparelhos secundários.



**Figura 7. Mapa da localização dos Açores e da ilha do Pico (ponto vermelho) (google maps).**

Os Açores estão rodeados da imensidão do oceano atlântico (Figura 7), e por isso, sofrem influência de um clima acentuadamente marítimo. Este clima é caracterizado por temperaturas amenas de fraca amplitude térmica diária e anual, precipitação e humidade relativa do ar geralmente elevada.

# O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

---

## 2.3.2. Caracterização Edafo-Climática - Clima

Na orla costeira da ilha do Pico a temperatura média anual ronda os 17 a 18°C e a amplitude média diurna anual ronda os 5°C. A temperatura média do Inverno é à volta dos 14°C e a de Verão 21°C. Em Agosto a temperatura média máxima ronda os 25°C e em Fevereiro a temperatura média mínima é aproximadamente de 11,5°C. A humidade relativa média anual ronda os 75%, raramente assumindo valores abaixo dos 60%. Para altitudes iguais a precipitação é bastante superior na costa Norte em comparação com a costa Sul, para além, a zona mais seca, ao ocidente da montanha (Madalena e Criação Velha) foi e é atualmente a zona mais propícia à viticultura. A precipitação de origem frontal é reforçada pela precipitação de origem orográfica no interior da ilha (DREPA 13/88, 1988?).

A base de dados recolhida até hoje na realidade pode não ser correspondente às condições existentes dentro de um “curral” tradicional de vinha. Pela experiência de viticultores picarotos atenciosos, sabe-se que dentro da maioria das vinhas as temperaturas são mais altas e a humidade relativa mais baixa do que fora do seu redor. Vários fatores contribuem para a criação deste “microclima” criado pelos muros e pela ausência de vegetação. Primeiramente a cor do chão e das paredes gira à volta dos tons negros do basalto, o que faz absorver calor durante o dia e libertar calor durante a noite. Segundo, porque os muros, normalmente de 1 metro de altura, da forma como são estruturados, não só abrigam as videiras do vento e do sal como também ajudam a reter algum calor podendo atuar assim como uma espécie de estufa. Não existem ainda números que comprovem este efeito, no entanto, para quem pratica viticultura dos “currais” no Pico sente estas variações de temperatura.

O clima dos Açores segundo a classificação de Koppen está dentro do grupo C, o clima temperado quente, descrito por apresentarem verão e inverno e a temperatura média mais do mês mais frio ser inferior a 18°C mas superior a -3°C. No entanto na ilha do Pico, devido ao seu tamanho existem lugares que podem ter a subclassificação de Csb e Cfb que significa respetivamente um clima chuvoso temperado com verão seco e um clima chuvoso temperado, húmido em todas as estações com temperaturas médias do mês mais quente a não ultrapassar os 22°C (AZEVEDO, 2001).

## O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

---

A nível de insolação, as ilhas apresentam um índice baixo, a rondar os 35% em média anual. Isto traduz-se em 1600 horas de sol descoberto por ano aproximadamente. A insolação é significativamente maior junto ao mar devido ao afastamento maior das zonas mais montanhosas que por muitas vezes atuam como um “íman” de nuvens.

A precipitação média anual ao nível do mar varia geralmente entre os 700 e os 900 mm, mas nas ilhas este valor é superior devido ao impulso orográfico. Geralmente os meses de setembro a março representam 75% da precipitação anual total, havendo alguma irregularidade inter-anual.

O vento, um dos maiores inimigos da vinha na ilha do Pico, sopra de forma regular durante todo o ano, sendo mais calmo no verão e mais intenso no Inverno. Durante o ano todo predominam os ventos do quadrante oeste/ sudoeste e a direção do vento junto ao litoral é muitas vezes “viciada” pela topografia do terreno e da sua posição em relação à montanha. É raro o ano ou talvez não exista um ano em que não haja rajadas de vento a ultrapassar os 100 quilómetros por hora (AZEVEDO, 2001). É quase inevitável a vinha no Pico escapar aos estragos do vento todos os anos, não só estes arrastam a água salgada para o interior da costa, queimando as partes vegetativas da planta, como também quebram pâmpanos (desnoca), muitas vezes devido à presença da escoriose. A figura 8 mostra, num dia tempestuoso, a proximidade entre o mar e a vinha.



**Figura 8. Fotografia de uma vinha na ilha do Pico a menos de 100 metros de distância do mar num dia de tempestade (<http://azoreswinecompany.com>)**



# O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

---

## 2.3.3. Caracterização Edafo-Climática - Solos

Muito se ouve falar que bons vinhos vêm de vinhas que se encontram em solos delgados e rochosos, onde normalmente, outras culturas agrícolas têm muito dificuldade em se desenvolver. É o caso dos solos de *lajido* (Figura 9) ou de *biscoito* (Figura 10), assim designados nos Açores (MADRUGA *et al.*, 2015).



Figura 9. Fotografia do chão típico de *lajido* (siaram.azores.gov.pt).



Figura 10. Fotografia do chão típico de *biscoito* (siaram.azores.gov.pt).



## O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

O melhor exemplo preservado até hoje, e a região vitivinícola que sobreviveu à crise do ódio e da filoxera até hoje, é a paisagem classificada pela UNESCO como património mundial (aproximadamente 987 hectares), situada na freguesia da Criação Velha. A figura 11 mostra uma parte dessa zona protegida junto ao moinho dos frades.



Figura 11. Paisagem Cultural da Vinha do Pico classificada pela UNESCO ([www.instagram.com](http://www.instagram.com))

A sua origem é vulcânica e relativamente recente, apresentando por isso solos delgados ou por vezes inexistentes, constituídos por rochas basálticas de vários tamanhos, traquites, andesites e algumas formações argilosas. No Pico, nas zonas onde existem vinhas, existem principalmente dois tipos de solos. O “chão de lajido” que é essencialmente mantos de rocha-mãe pouco inalterados e o “chão de biscoito” em que a rocha mãe já é mais evoluída e tem uma camada de escória vulcânica desagregada. Ambos os tipos pertencem aos solos litólicos não húmidos e litossolos sobre substrato consolidado de basalto ou rochas derivadas, correspondente a lavas recentes, associadas a afloramentos rochosos, por vezes com material pedregoso disseminado e manto lávico consolidado à superfície (Decreto-lei nº17/94, 1994).



Figura 12. Na esquerda o perfil de solo de um chão de *biscoito* e na direita de *lajido* (fotografia do autor)

## O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

Estes solos são maioritariamente do tipo de perfil CR, podendo apresentar um horizonte A de baixo teor orgânico com alguns fragmentos da rocha mãe. Devido a este perfil e da fraca formação de argila, uma vez que são solos novos, a capacidade de infiltração é extremamente elevada e o escoamento superficial é quase nulo, resultando deste modo em perfis acentuadamente secos, que foram então ocupados por culturas resistentes ao stress hídrico, como a vinha e previamente os vimieiros (PGRH, 2010).

Quanto ao perfil químico dos solos do Pico, foram analisadas 10 amostras de solo de algumas vinhas de várias idades em várias localidades pelo laboratório de análises de solos e plantas da Universidade Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD). Estes valores podem ser observados na tabela 3. De todas as amostras as vinhas de mais idade são as que mais saem fora da média, isto pode ser devido às práticas de viticultura como os tratamentos fitosanitários e as adubações. Por exemplo nessas mesmas vinhas os valores de fósforo e cobre são maiores e de matéria orgânica menores. É de salientar uma quantidade média de potássio ( $140,6 \text{ mg K}_2\text{O Kg}^{-1}$ ) e manganês alta ( $99,0 \text{ Mn Kg}^{-1}$ ) e muito alta de ferro ( $338,8 \text{ mg Fe Kg}^{-1}$ ), zinco ( $33,9 \text{ mg Zn Kg}^{-1}$ ), boro ( $3,9 \text{ mg B Kg}^{-1}$ ) e cobre ( $30,0 \text{ mg Cu Kg}^{-1}$ ). Também a condutividade eléctrica em média é reduzida ( $0,2 \text{ dS/m}$ ) e o pH ácido rondando uma média de 5,7. É de salientar que o fato de os mostos da ilha do Pico serem ricos em potássio faz com que a instabilidade tartárica seja muito elevada, ocorrendo assim com maior tendência bitartaratos de potássio, reduzindo a quantidade de ácido tartárico livre que, conseqüentemente aumenta os valores do pH (MPELASOKA *et al.*, 2003).

Tabela 3. Valores obtidos de análises de solo de 2019 (tabela do autor).

Vinhas	pH	M.O.	C.E. dS/m	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> mg/Kg	K <sub>2</sub> O mg/Kg	B mg/Kg	Cu mg/Kg	Zn mg/Kg	Fe mg/Kg	Mn mg/Kg
C. Velha +80 anos	5,6	9,9	0,18	668	119	0,6	89,3	27,4	266,2	14,2
S. Luzia 3 anos	5,4	50,4	0,24	57	167	6,4	17,2	53,6	379,2	158,5
S. Mateus 4 anos 1	5,7	37,3	0,45	37	143	4,1	26,9	25,3	373,1	126,3
S. Mateus 4 anos 2	5,8	37,9	0,2	14	112	3,8	29,4	35,8	367,9	47
S. Mateus 4 anos 3	5,8	38,5	0,22	20	142	3,9	14,6	35,8	346,6	47,8
S. Mateus 4 anos 4	5,7	25,6	0,19	26	134	2,9	11,8	14,6	328,9	32,7
S. Mateus 8 anos	6,1	31,4	0,16	125	127	2,8	76,1	44,4	332	22,6
Bandeiras 4 anos	6,4	34,2	0,23	30	125	4,6	8,1	17,9	310,2	114,3
Bandeiras 3 anos	5,5	48,5	0,26	34	139	6,4	21,2	47,3	363,6	239,8
P. Norte 1-2 ano	5	55,0	0,23	53	198	3,62	5,45	37,1	320,4	186,4
Média	5,7	36,9	0,2	106,4	140,6	3,9	30,0	33,9	338,8	99,0

# O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

## 2.4.1. Composição dos vinhos

O vinho é um meio essencialmente hidro-alcóolico e ácido, influenciado por fatores abióticos e bióticos, como a variedade genética, condições edafo-climáticas, processos tecnológicos de vinificação, entre outros. Como estes fatores na maioria não são estáticos a composição e qualidade do vinho varia anualmente (MENESES, 2015). O principal composto do vinho é a água (70 a 90%), seguindo-se o álcool etílico (8,5 a 17%) e o glicerol (SANTOS, 2018). Alguns elementos encontram-se solubilizados no mosto/vinho sob a forma de sais orgânicos, tal como tartaratos, malatos, succinatos, acetatos, sais minerais, cloretos, sulfatos, fosfatos e substâncias azotadas (CATARINO, 2006). O sódio, potássio, magnésio e cálcio são os elementos minerais mais abundantes e as suas concentrações variam entre 10 a 1000 mg/L (CATARINO; CURVELO-GARCIA., 2011). Existem ainda os micronutrientes como o ferro, cobre, alumínio, manganês, zinco, molibdénio, entre outros, que se encontram em concentrações de 0,1 a 10 mg/L (CATARINO *et al.*, 2007).

Tabela 4. Teores médios constituintes essenciais do vinho em 1000 gramas (SANTOS, 2018).

	Constituintes	Proporções	Observações
<b>Produtos Voláteis</b>	Água	700-900 g	23% Vinhos especiais  Segundo o modo vinificação  Expresso em H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
	Álcool Etílico	8,5-17% Vol.	
	Álcoois Superiores	0,15-0,50 g	
	Acetaldeído	0,005-0,5 g	
	Ésteres	0,5-1,5 g	
	Ácidos Voláteis (ácido acético)	0,3-0,5 g	
<b>Ácidos Orgânicos</b>	Tartarato	5-10 g	Depende da origem da uva  Segundo a vinificação com ou sem FML Até 1g em vinhos especiais
	Málico	0-1 g	
	Láctico	0,2-1,2 g	
	Sucínico	0,5-1,5 g	
	Cítrico	0-0,5 g	
<b>Produtos Fixos</b>	Açúcares	0,8-180 g	Segundo o modo vinificação
	Glicerol	5-12 g	
	Taninos e matérias corantes	0,4-4g	
	Gomas e matérias pécicas	1-3 g	
<b>Gás dissolvido</b>	CO <sub>2</sub>	0,2-0,7 g	Mais nos vinhos novos Legislação Mais nos vinhos frágeis
	SO <sub>2</sub> Total	80-200 mg	
	SO <sub>2</sub> Livre	10-50 mg	
<b>Metais</b>	Potássio	0,7-1,5 g	
	Cálcio	0,06-0,9 g	
	Cobre	0,0001-0,003	
	Ferro	0,002-0,005	
	Chumbo	<0,003 g	
<b>ácidos Minerais</b>	Sulfatos	0,10-0,40 g	
	Cloretos	0,02-0,25 g	
	Fosfatos	0,08-0,50 g	

# O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

---

## 2.4.2. Composição dos vinhos - Compostos azotados

Os nitratos do solo, maioritariamente na forma do catião de amónio, são a fonte principal de compostos azotados. Estes compostos, por absorção radicular, vão ser direcionados em grande parte para as uvas, especialmente a partir da floração até à maturação. Ao longo da maturação a forma de azoto inorgânico diminui enquanto a forma de azoto orgânico aumenta (MAGALHÃES, 2010). O azoto total das uvas, mosto ou vinho, tem uma forma inorgânica, nomeadamente o ião de amónio, e várias formas orgânicas. Esta inclui os aminoácidos, oligopeptídeos, polipéptidos, proteínas, amins biogénicas, amidas e pirazinas (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 2016).

Os aminoácidos correspondem entre 30 a 40 % do total de azoto contido num vinho e a sua qualificação e quantificação pode ser originada de vários fatores, tais como a fertilização, clima, tempo de maceração, envelhecimento, ocorrência de fermentação malolática, safra, casta, práticas de viticultura, esquemas e tecnologias de vinificação, entre outros. Primeiramente existem os aminoácidos provenientes da própria uva, os quais alguns vão ser assimilados pelas leveduras durante a fermentação alcoólica como fonte de azoto, essencial para o crescimento das mesmas (SOUFLEROS *et al.*, 2003). A concentração destes compostos aumenta com a maturação da uva (BAUZA *et al.*, 2007). A segunda fonte de aminoácido é originada a partir dos metabolitos excretados pelas leveduras vivas e ainda das leveduras mortas que libertam compostos durante a autólise. No fim ainda é salientada a presença dos aminoácidos produzidos pela degradação enzimática das proteínas da uva (SOUFLEROS *et al.*, 2003). No princípio do processo fermentativo as leveduras usam o azoto sob a forma amoniacal para o seu desenvolvimento, seguido por aminoácidos livres, particularmente a arginina, ácido glutâmico, glutamina, ácido aspártico, asparagina, treonina e serina, que são os preferencialmente assimilados (MORENO-ARRIBAS; POLO, 2009).

O total de azoto na forma de aminoácidos livres, com exceção da prolina que não é assimilada pelas leveduras, é usado como indicador de qualidade do mosto, uma vez que os seus baixos valores podem refletir uma insuficiência nutricional para o desenvolvimento das leveduras, podendo assim haver um prolongamento no tempo de fermentação (HERBERT *et al.*, 2000). Além da importância que os compostos azotados têm no desempenho fermentativo, eles também têm influência positiva no “bouquet” final num vinho.

## O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

A composição aromática de um vinho em parte é formada a partir do metabolismo de aminoácidos que podem dar origem a ésteres, álcoois superiores e ácidos gordos voláteis que contribuem para o “bouquet”. Devido a estas razões, é bastante comum o uso de sais de amônio como suplemento ao mosto, no entanto esta adição deve cumprir os limites legais e ser criteriosa uma vez que excesso de azoto pode gerar instabilidade microbiológica, nomeadamente crescimento bacteriano, e gerar também cabamato de etilo, que é uma substância cancerígena (GARDE-CERDÁN *et al.*, 2009; ANCÍN-AZPILICUETA *et al.*, 2008). A tabela 5 mostra quantidades em que compreendem os aminoácidos em uvas provenientes da região de Rueda, na Espanha, da casta *Verdejo*.

Tabela 5. Teores de aminoácidos (mg/g) obtidos em uvas da casta *Verdejo* provenientes da região de Rueda no centro norte de Espanha (ORTEGA-HERAS *et al.*, 2014).

Compound	Non-irrigated		
	Prematurity	Maturity	Over-maturity
L-Aspartic acid	0.025 <sup>a</sup>	0.037 <sup>b</sup>	0.038 <sup>b</sup>
L-Glutamic acid	0.075 <sup>b</sup>	0.034 <sup>a</sup>	0.033 <sup>a</sup>
L-Asparagine	0.004 <sup>b</sup>	0.004 <sup>b</sup>	0.003 <sup>a</sup>
L-Serine	0.046 <sup>b</sup>	0.047 <sup>b</sup>	0.039 <sup>a</sup>
L-4-Hydroxyproline	ND	ND	ND
L-Histidine	ND	0.021 <sup>b</sup>	0.015 <sup>a</sup>
L-Glutamine	0.073 <sup>c</sup>	0.060 <sup>b</sup>	0.048 <sup>a</sup>
L-Glycine	0.003 <sup>c</sup>	0.003 <sup>b</sup>	0.002 <sup>a</sup>
L-Threonine	0.065 <sup>b</sup>	0.072 <sup>c</sup>	0.047 <sup>a</sup>
L-Arginine	0.658 <sup>b</sup>	0.703 <sup>c</sup>	0.455 <sup>a</sup>
L- $\alpha$ -Alanine	0.057 <sup>b</sup>	0.057 <sup>b</sup>	0.043 <sup>a</sup>
$\gamma$ -Aminobutyric acid (GABA)	0.113 <sup>c</sup>	0.098 <sup>b</sup>	0.093 <sup>a</sup>
L-Proline	0.071 <sup>a</sup>	0.173 <sup>b</sup>	0.255 <sup>c</sup>
L-Tyrosine	0.011 <sup>c</sup>	0.005 <sup>b</sup>	0.005 <sup>a</sup>
Ammonium chloride	0.055 <sup>c</sup>	0.041 <sup>b</sup>	0.032 <sup>a</sup>
L-Valine	0.023 <sup>a</sup>	0.024 <sup>b</sup>	0.027 <sup>c</sup>
L-Methionine + L-cysteine	0.005 <sup>a</sup>	0.012 <sup>b</sup>	0.014 <sup>c</sup>
L-Isoleucine	0.007 <sup>a</sup>	0.010 <sup>b</sup>	0.017 <sup>c</sup>
L-Tryptophan acid	0.019 <sup>c</sup>	0.017 <sup>b</sup>	0.015 <sup>a</sup>
L-Leucine	0.011 <sup>a</sup>	0.014 <sup>b</sup>	0.021 <sup>c</sup>
L-Phenylalanine	0.010 <sup>a</sup>	0.011 <sup>b</sup>	0.016 <sup>c</sup>
L-Ornithine	0.004 <sup>b</sup>	0.005 <sup>c</sup>	0.002 <sup>a</sup>
L-Lysine	0.0048 <sup>c</sup>	0.0046 <sup>b</sup>	0.0025 <sup>a</sup>

Como mostra na tabela 5, a maturação têm uma influência enorme na quantidade de aminoácidos (ORTEGA-HERAS *et al.*, 2014).



# O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

## 2.4.3. Compostos azotados no vinho – aminas biogénicas

Para além dos aminoácidos ainda existem as aminas biogénicas, que podem ser formadas em todos os alimentos que contêm proteínas ou aminoácidos livres, e que têm condições de ser metabolizados por atividade microbiana ou bioquímica. Estas aminas biogénicas são compostos azotados básicos e de baixo peso molecular que, em base com a sua forma química podem ser classificadas como alifáticas (putrescina, cadaverina, etilamina, metilamina, espermina e espermidina), aromáticas (tiramina e feniletilamina) e heterocíclicas (histamina e triptamina) (SILLA-SANTOS, 1996). Estas aminas são formadas pela descarboxilação dos seus aminoácidos precursores por meio da atividade das leveduras, bactérias lácticas ou ainda por outros micro-organismos contaminantes (LONVAUD-FUNEL, 2001). Parâmetros físico-químicos como o pH, teor alcoólico, dióxido de enxofre e ainda a temperatura condicionam a atividade enzimática (SMIT *et al.*, 2008). A figura 13 mostra um diagrama de alguns aminoácidos precursores de aminas biogénicas.

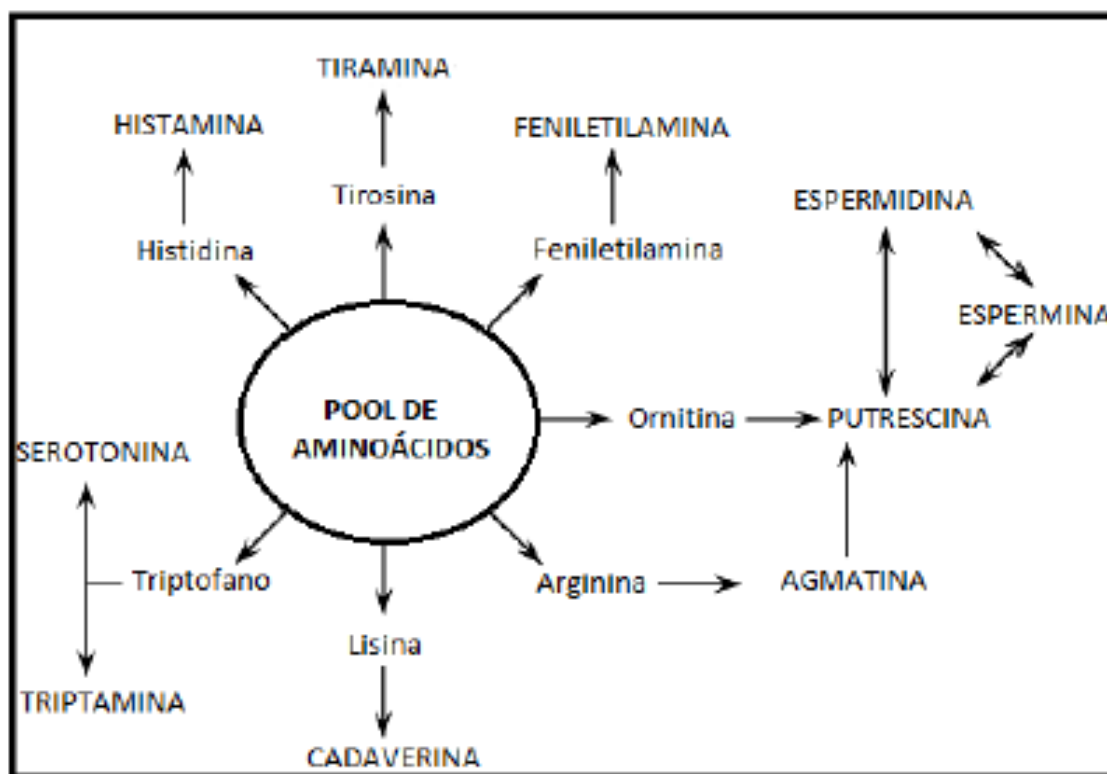


Figura 13. Diagrama dos aminoácidos precursores das aminas biogénicas (ANCIN-AZPILICUETA, 2008).

## O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

---

As amins biogénicas são dos compostos azotados que mais preocupa os consumidores devido aos seus efeitos nocivos, especialmente aos indivíduos com mais sensibilidade. O exemplo da histamina, que pode provocar dores de cabeça e outros sintomas alérgicos como hipotensão, diarreia, palpitações, vômitos, edema, entre outros. O álcool, acetaldeído, outras amins biogénicas e antidepressivos podem potenciar o efeito tóxico da histamina, tiramina e feniletilamina (HUSNIK *et al.*, 2006). Devido a estes problemas alguns países optaram por definir limites de concentração de histamina nos vinhos, no entanto existem muitos países que ainda não têm restrições, como ainda não foi estabelecida lei nenhuma a respeito deste assunto pelo OIV (MARQUES *et al.* 2008).



# O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

---

## 3.1. Métodos analíticos na identificação dos aminoácidos

Devido aos pequenos valores de concentração dos compostos azotados, a metodologia utilizada para analisar os aminoácidos deve apresentar baixos limites de deteção e um tempo de análise relativamente curto uma vez que os produtores de vinho têm datas a cumprir para certificação de vinhos ou de adquirir valores que as práticas enológicas estão dependentes. (HERBERT *et al.* 2000).

Os métodos cromatográficos mais utilizados para determinar quantitativamente os aminoácidos e as aminas são a cromatografia em fase gasosa e a cromatografia em fase líquida de alta eficiência (PEREIRA *et al.*, 2008). Dentro das metodologias referidas a cromatografia em fase líquida é a ferramenta analítica mais usada devido à sua alta resolução e sensibilidade (AUGUSTINI, 2011). A cromatografia líquida de alta eficiência é uma técnica normalmente utilizada para amostras de alimentos, água, solo, sangue, urina, entre outros. Este tipo de tecnologia só obteve um avanço considerável a partir da década dos 70. Deste essa época veio-se a desenvolver melhoramentos, como colunas preenchidas por partículas de tamanho muito reduzido e de vários detetores aperfeiçoados. Esta tecnologia tem capacidade de separar e analisar quantitativamente uma grande quantidade de compostos presentes em vários tipos de amostras, em pouco tempo e com alta resolução (GRUBERT, 2018). A deteção de aminoácidos e aminas biogénicas pode ser feita com recurso a detetores como o de ultravioleta-visível (DAD) ou espectrometria de massas (MS), apesar de não detetar todos. Porém a análise direta de aminoácidos e aminas biogénicas é difícil porque estes compostos não possuem um cromóforo específico, e assim sendo não absorvem luz na região ultravioleta-visível (GOMEZ-ALONSO *et al.*, 2007; SMIT *et al.*, 2008), o que implica uma etapa de derivatização que pode ser pré ou pós a separação cromatográfica.

# O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

## 3.2. Agente de derivatização

Existem vários agentes de derivatização, como o clorofornato de 9-fluorenilmétilo (FMOC-Cl), ortoftaldeído (OPA) e o etoximetilenomalonato de dietilo (DEEMM) o que traz compostos derivatizados que são detetados por ultravioleta. Tem a vantagem de reagir com aminoácidos e de não produzir interferentes na cromatografia por excesso de reagente. O DEEMM promove a reação de derivatização aproximadamente entre 30 – 50 minutos (CALLEJÓN *et al.*, 2010), mas possui a desvantagem de produzir derivados instáveis da prolina e hidroxiprolina (GOMEZ-ALONSO *et al.*, 2007). A derivatização ocorre entre o DEEMM e o grupo amino presente nos aminoácidos, e nas aminas é uma substituição do grupo etóxi (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O—) no DEEMM pelo grupo amino. Se na reação o grupo amino envolvido é primário (R-NH<sub>2</sub>), como acontece na maior parte dos aminoácidos e nas aminas biogénicas, a aminoenona resultante estabiliza pela criação de uma ponte de hidrogénio entre o hidrogénio amínico livre e o oxigénio de um dos grupos carbonilo do agente de derivatização. Na figura 14 a ilustração “a” exemplifica a reação de derivatização. Esta ponte de hidrogénio faz com que o grupo aminoenona adote uma conformação planar, resultando numa ligação azoto-carbono mais forte na aminoenona.

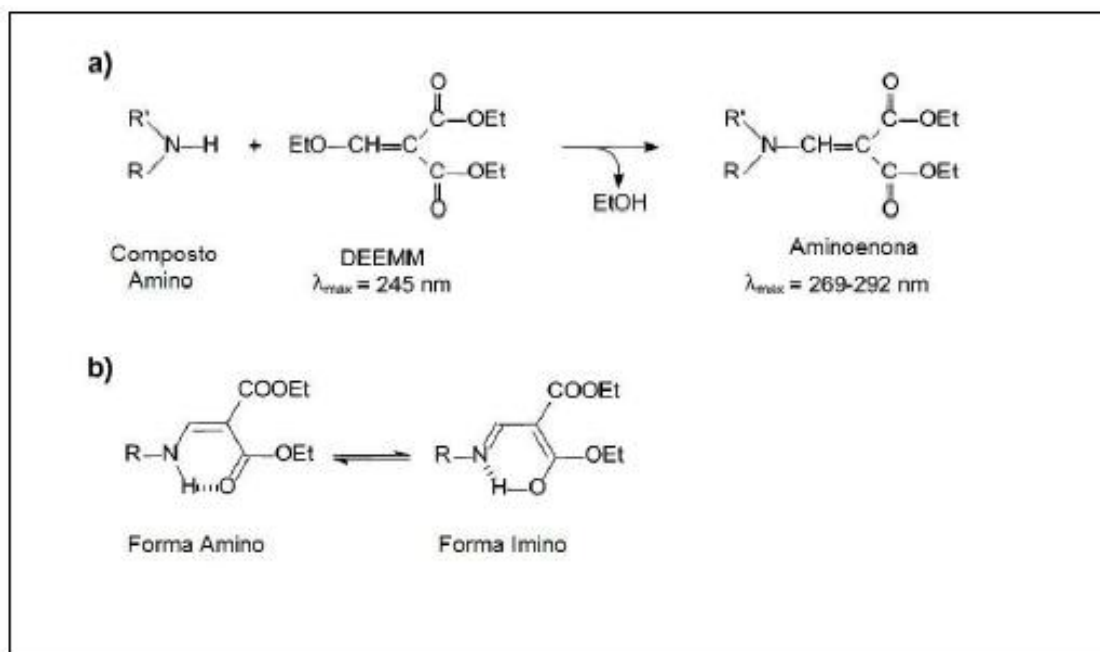


Figura 14. Ilustração estrutural dos derivados aminoenonas: Representação da reação de derivatização (A); derivado de aminoácido primário (B); (GOMEZ-ALONSO *et al.*, 2007).

## O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

---

Na prolina e na hidroxiprolina, a ponte de hidrogénio não se forma na aminoenona resultante porque não há hidrogénio livre ligado à molécula de azoto, assim, não havendo uma conformação planar, a ligação azoto-carbono é mais fraca, sendo os derivados aminoenonas da prolina e da hidroxiprolina mais instáveis e precisam de ser quantificados dentro de 24 horas da reação de derivatização (GOMEZ-ALONSO *et al.*, 2007).

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Descrição das amostras

Os vinhos/amostras analisadas foram ao todo quinze, seis vinho de arinto dos açores, seis vinhos de verdelho e três de terrantez do pico, e todos tiveram origem no concelho da Madalena na ilha do Pico (exceto uma amostra), embora de diferentes vinhas e viticultores. Estes vinhos de 2019 não foram submetidos a nenhum tratamento de clarificação e/ou filtração. Dos seis vinhos de arinto dos açores, três são vinhos derivados de mostos obtidos da primeira fração de prensagem e os outros três são os respetivos vinhos obtidos pelo restante e ultima fração de mosto. O mesmo aconteceu para os vinhos de verdelho. No caso do terrantez do Pico, só foi possível arranjar duas amostras de primeiras frações de mosto, em que uma delas é de origem da ilha de S. Miguel, e apenas uma amostra de segunda fração de mosto.

O esquema de vinificação praticado na elaboração dos vinhos foi, por ordem de processos: seleção de uvas, prensagem de cachos inteiros, separação de mostos, defecação, passagem a limpo, e fermentação com inoculação de leveduras e nutrição. Após o final de fermentação, a devida sulfitação e estágio sobre borras. A amostra de vinho de terrantez do pico obtido a partir da segunda fração de mosto na prensagem (Te.BS.NP.2<sup>as</sup>) não foi sulfitada para a realização da fermentação malolática em barrica de carvalho francês. Na seleção de uvas é de salientar que todas as castas foram recebidas um pouco antes da altura ideal de maturação uma vez que o tempo foi bastante adverso em Agosto com precipitação acima da média. A casta que apresentou maior maturação e conseqüentemente podridão foi o verdelho. O provável teor em álcool provável (AP) encontrava-se entre 10,0° a 12,0°. Na separação de mostos, o procedimento consistia em fazer o corte das primeiras para as segundas frações de mosto quando no depósito já se encontrava 70 a 75% do volume do rendimento de prensagem (66-70%). O restante volume fazia parte já do lote de segundas prensas que normalmente acabava por ser consolidado com outros mostos do mesmo género (da mesma casta) devido à necessidade de gestão de capacidade volúmica de adega. A fração do mosto de lágrima ou das primeiras prensas vai normalmente até aos 0,8 a 1,0 bares, enquanto, a fração final ou as segundas prensas, vai até aos 1,9 bares. Após terminada a prensagem os devidos mostos ficam a decantar/defecar de 12 a 24 horas em cubas com camisas térmicas que rondam a temperatura de 12 a 14 C°.

## O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

Após as defecações dos mostos fizeram-se as passagens a limpo e seguidamente as inoculações. Para o arinto dos açores, as leveduras comerciais utilizadas foram a do tipo EC1118, para o verdelho e terrantez as QA23. Para os mostos de que fermentaram em barricas de carvalho, as leveduras utilizadas foram as do tipo CY. Em relação às nutrições, foi adicionado diamónio de fosfato (DAP) e leveduras liofilizadas (Fermaid) ao longo da fermentação para fortalecer o desempenho fermentativo. A dose de DAP foi igual para todos os vinhos (20g/hl). Durante este processo todo, só foi utilizado dióxido de enxofre na passagem a limpo e no fim da fermentação, normalmente apontando para valores de 15 a 20 mg/L de dióxido de enxofre livre. A caracterização físico-química dos vinhos foi feita pelo laboratório regional de enologia da ilha do pico e é apresentada na tabela 6:

**Tabela 6. Análises físico-químicas das amostras estudadas.**

Vinhos 2019	Código	Depósito	Sulfuroso (mg/L)		D-glucose + D-frutose	Acidez (g/L)		Teor alcoólico (% vol.)	pH	Extrato Seco Total (g/L)	
			Livre	Total		Volátil (a.a.)	Total (a.t.)				
Arinto dos Açores	1ª prensas	Ar. Bruto 1ªas	F3	16	62	<0,375	0,42	7,5	11,17	3,45	22,4
		Ar. 30/08 1ªas	F2	14	57	<0,375	0,36	8,1	12,95	3,34	26,2
		Ar. A.M. 1ªas	D7	10	35	<0,375	0,31	8	12,2	3,34	23,9
	2ª prensas	Ar. Bruto 2ªas	D5	17	68	<0,375	0,46	5,8	11,91	3,67	21,4
		Ar. 30/08 2ªas	C7 (Deitada)	15	61	<0,375	0,31	6,3	12,67	3,43	24,8
		Ar. A.M. 2ªas	D6	14	61	<0,375	0,38	5,7	11,87	3,66	22,2
Verdelho	1ª prensas	Ve. P.M.1ªas	C1 (Deitada)	10	36	0,4	0,38	7,4	13,3	3,37	25,6
		Ve. Vários 1ªas	S1 (Deitada)	15	55	<0,375	0,37	7,2	13,3	3,37	24,4
		Ve. 17/08 1ªas	A6 (Deitada)	18	64	<0,375	0,49	6	12,51	3,45	25,6
	2ª prensas	Ve. P.M.2ªas	A7 (Deitada)	16	60	<0,375	0,41	6,3	13,73	3,45	25,7
		Ve. Vários 2ªas	S2 (Deitada)	15	61	<0,375	0,35	6,4	12,38	3,45	23,2
		Ve. SA.JP. 2ªas	Ba7	16	63	<0,375	0,39	6,7	12,28	3,48	25,5
Terrantez do Pico	1ª prensas	Te. BS. NP. 1ªas	CC (Deitada)	14	55	<0,375	0,34	7,9	12,61	3,37	25,6
		Te. SM. 1ªas	SC300	9	34	<0,375	0,62	5,4	12	3,48	22,4
	2ª prensas	Te. BS.NP. 2ªas	Ba1	13	55	0,4	0,44	6,8	12,4	3,45	26,6

Ao observar os parâmetros físico-químicos das amostras/vinhos verifica-se que os valores de pH estão compreendidos entre valores de 3,34 a 3,6 com um valor médio de 3,45. O teor alcoólico está compreendido entre os 11,17% e os 13,3 % com um valor médio de 12,48%. A acidez total variou entre as 5,4 g/L e as 8,1 g/L de ácido tartárico, com um valor médio de 6,77 g/L. Todos os vinhos encontram-se secos, ou seja com valores muito baixos de açúcar residual e acidez volátil dentro dos limites legais. Genericamente a maioria dos vinhos originados a partir das primeiras prensas (primeira fração de mosto extraído) contêm mais acidez e um pH menor do que os vinhos obtidos a partir das segundas prensas (última fração de mosto extraído).

# O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

## 4.2. Metodologia analítica para a quantificação dos aminoácidos

Foi preparado uma solução de referência, contendo o padrão interno (PI) e uma quantidade conhecida de cada um dos aminoácidos. Esta solução foi feita numa solução em HCl a 0.1 N e seguidamente diluiu-se em concentrações entre 300 e 20 mg/L para todos os aminoácidos com exceção à prolina que variou entre 1000 a 100 mg/L. Posteriormente as soluções padrão foram sujeitos ao mesmo processo de derivatização que as amostras de vinho.

Cada amostra foi analisada em triplicado. Para isso foram feitos os seguintes passos para cada amostra e para cada solução padrão:

1. 1,75 mL de tampão borato;
2. 750  $\mu$ L de metanol;
3. 1 mL de vinho a analisar;
4. 20  $\mu$ L de PI (ácido 2-aminoadípico, 1g/L);
5. 30  $\mu$ L de agente derivatizante (DEEMM);
6. Homogeneizar suavemente as amostras;
7. Colocar em água fria com ultra-sons por 30 min;
8. Colocar numa estufa a 70°C por 2 horas.

Foi também preparado um branco que consiste em substituir vinho por 1 mL de HCl a 0.1 N. Após o passo nº8 as amostras foram filtradas com filtros de membrana de 0,45  $\mu$ m para vials de HPLC que forma colocados no amostrador automático (Figura 15).

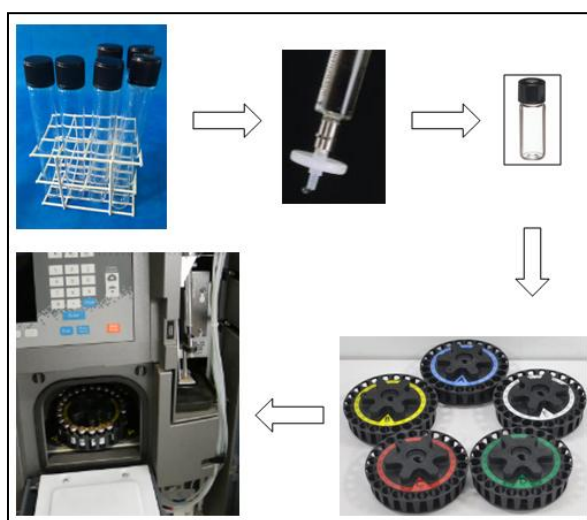
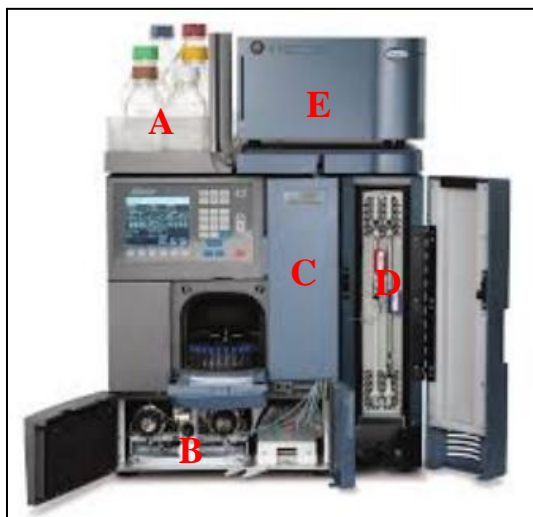


Figura 15. Esquema de fotografias de acordo com os procedimentos.

## O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

O aparelho utilizado para a análise cromatográfica foi um *HPLC Alliance Waters* com um detetor *Diode Array (DAD)* e software *Empower*. O equipamento de HPLC a utilizar neste trabalho é designado por cromatógrafo líquido e é constituído por 6 sistemas, sendo eles:

- Sistema de reservatório de fase móvel (A);
- Sistema de bombeamento de fase móvel (B);
- Sistema de injeção (C);
- Sistema analítico que é constituído pela coluna cromatográfica (D);
- Sistema de deteção (UV, fluorescência, espectrofotometria de massas, etc) (E);
- Sistema de aquisição e registo de dados (Computador com software).



**Figura 16.** Imagem fotográfica do sistema HPLC Alliance e indicação dos vários subsistemas ([www.waters.com](http://www.waters.com)).

Foram selecionados os comprimentos de onda de 289, 269 e 300 nm. A fase estacionária consistiu numa coluna de fase reversa ACE C18-HL (25mm x 4,6mm) com 5  $\mu$ m de porosidade. O volume da amostra injetado foi de 50  $\mu$ L e as fases móveis A e B foram doseadas no sistema a um fluxo de 0,9 mL por minuto e consistem:

- Fase móvel A: 25 mM tampão acetato pH=5,8 com 0,02% de azido de sódio;
- Fase móvel B: 80:20 (acetonitrilo:MeOH).

## O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

Os eluentes foram filtrados com uma membrana de 0,45  $\mu\text{m}$  e uma bomba de vácuo para outro recipiente para não conter impurezas.



Figura 17. Fotografia da filtração do eluente A (fase móvel A) com a bomba de vácuo no lado direito (foto do autor).

O gradiente de eluição encontra-se na tabela 7. Este método analítico foi adaptado de Gómez-Alonso *et al.*, 2007.

Tabela 7. Percentagens das fases móveis ao longo do tempo de análise.

Minutos	Fase Móvel A (%)	Fase Móvel B (%)
0	90	10
20	90	10
30,5	83	17
33,5	83	17
65	60	40
73	28	72
78	18	82
82	0	100
85	0	100



# O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

## 4.3. Quantificação dos aminoácidos

Os aminoácidos analisados no HPLC foram 22, apresentam-se na tabela 8 com os seus nomes e respetivas siglas usualmente conhecidas.

Tabela 8. Lista dos aminoácidos em estudo e respetivas siglas

Asp	Ácido aspartico	Pro	Prolina
Glu	Ácido glutâmico	Tyr	Tirosina
Asn	Asparagina	Val	Valina
Ser	Serina	Met	Metionina
His	Histidina	Cys	Cisteína
Gln	Glutamina	Ile	Isoleucina
Gly	Glicina	Trp	Triptofano
Thr	Treonina	Leu	Leucina
Arg	Arginina	Phe	Fenilalanina
Ala	Alanina	Orn	Ornitina
GABA	Á. gama-aminobutírico	Lys	Lisina

Os aminoácidos foram identificados por comparação do tempo de retenção com o tempo de retenção do padrão respetivo, e com ajuda do *software* foram calculadas as áreas de cada pico, incluindo o padrão interno. As áreas foram convertidas em concentração utilizando retas de calibração estabelecidas.

A título de exemplo, na amostra de verdelho “Ve.1.2\_3”, obteve-se o cromatograma representado na figura 19. A partir desse cromatograma, identificaram-se os aminoácidos pelo tempo de retenção. Depois de calculadas as áreas de cada pico obteve-se a tabela 9. A partir dos dados desta tabela converteu-se a área dos picos para um valor de concentração usando as conhecidas retas de calibração. Após isso fez-se a média das 3 repetições de cada amostra e inseriu-se numa tabela final que serviu como base para a análise estatística.

# O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

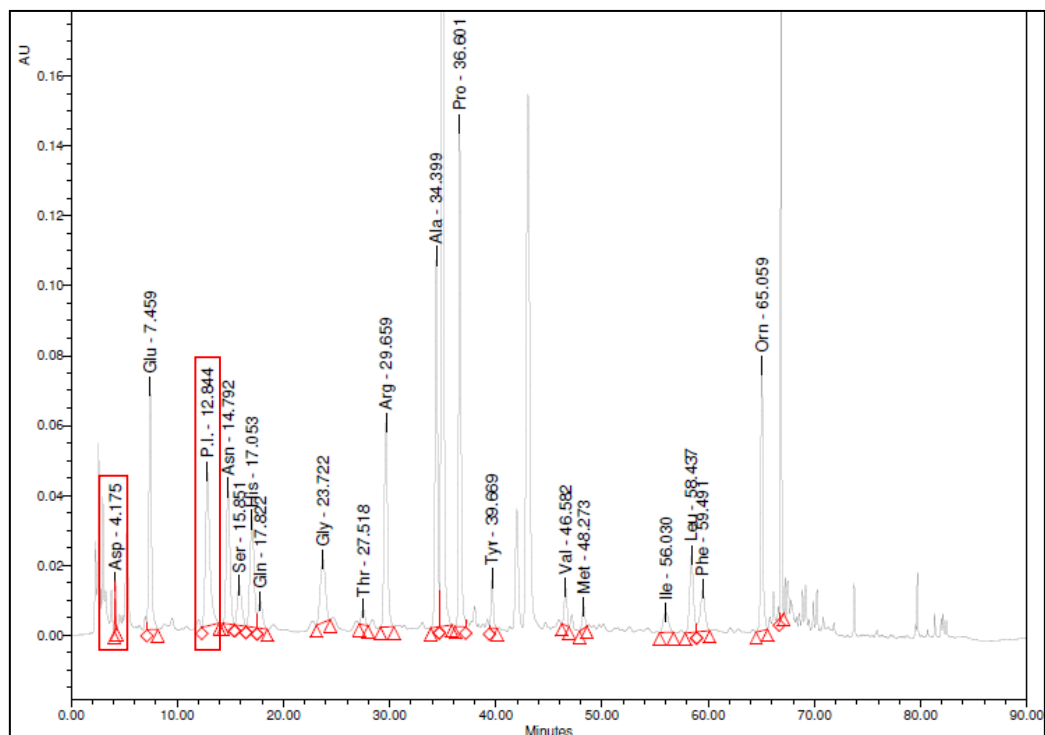


Figura 18. Cromatograma retirado do *software Empower 3* de uma amostra analisada no HPLC.

Tabela 9. Valores retirados do *software Empower 3* de uma amostra analisada no HPLC.

	Name	Retention Time (min)	Area ( $\mu\text{V}\cdot\text{sec}$ )	% Area	Height ( $\mu\text{V}$ )	Int Type	Amount	Units	Peak Type	Peak Codes
1	Asp	4.175	50617	0.26	13710	BB			Found	Q20
2	Glu	7.459	1138937	5.86	69725	VB			Found	Q20
3	P.I.	12.844	1243362	6.39	44254	VB			Found	Q20
4	Asn	14.792	918986	4.73	39046	BV			Found	Q20
5	Ser	15.851	332712	1.71	11502	VV			Found	Q20
6	His	17.053	851788	4.38	30777	VV			Found	Q20
7	Gln	17.822	229377	1.18	7872	VB			Found	Q20
8	Gly	23.722	609435	3.13	18060	BB			Found	Q20
9	Thr	27.518	105463	0.54	4604	BB			Found	Q20
10	Arg	29.659	1283431	6.60	58490	BB			Found	Q20
11	Ala	34.399	1697445	8.73	106355	BV			Found	Q20
12	GABA	34.974	4743818	24.40	330880	VB			Found	Q20
13	Pro	36.601	2101740	10.81	144014	BV			Found	Q20
14	Tyr	39.669	205595	1.06	14325	VB			Found	Q20
15	Val	46.582	185250	0.95	10962	BB			Found	Q20
16	Met	48.273	110206	0.57	6258	BB			Found	Q20
17	Cys	50.500				Missing			Missing	
18	Ile	56.030	202705	1.04	5557	BB			Found	Q20
19	Trp	57.000				Missing			Missing	
20	Leu	58.437	545416	2.81	22108	BV			Found	Q20
21	Phe	59.491	374958	1.93	12071	VB			Found	Q20
22	Orn	65.059	1099760	5.66	76091	BB			Found	Q20
23	Lys	66.853	1411723	7.26	199331	VB			Found	Q20

# O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

Tabela 10. Retas de calibração dos respetivos aminoácido.

Aminoácido	Equação da reta ( $y = mx - b$ )
Á. Aspártico	$y = 0,0223x - 0,462$
Ácido Glutâmico	$y = 0,0235x - 0,4427$
Asparagina	$y = 0,0235x - 0,4326$
Serina	$y = 0,0337x - 0,6507$
Histidina	$y = 0,0209x - 0,4059$
Glutamina	$y = 0,0306x - 0,6769$
Glicina	$y = 0,0445x - 0,8511$
Treonina	$y = 0,0479x - 0,9183$
Arginina	$y = 0,0157x - 0,3018$
Alanina	$y = 0,0377x - 0,6828$
GABA	$y = 0,0323x - 0,6016$
Prolina	$y = 0,0041x - 0,0334$
Tirosina	$y = 0,0137x - 0,132$
Valina	$y = 0,0292x - 0,531$
Metionina	$y = 0,0227x - 0,4416$
Cisteína	$y = 0,006x - 0,0974$
Isoleucina	$y = 0,0256x - 0,4807$
Triptofano	$y = 0,0166x - 0,3182$
Leucina	$y = 0,0229x - 0,433$
Fenilalanina	$y = 0,0256x - 0,5408$
Ornitina	$y = 0,0555x - 1,0676$
Lisina	$y = 0,034x - 0,624$

Como o “y” equivale ao rácio da área do respetivo aminoácido sobre a área do padrão interno e queremos saber “x” então:

Sendo  $y = 0.26 / 6.39 \Leftrightarrow y = 0.040689$

Então...  $y = 0.0223x - 0.462$

$$\Leftrightarrow 0.040689 + 0.462 = 0.0223x$$

$$\Leftrightarrow 0.502689 = 0.0223x$$

$$\Leftrightarrow 0.502689 / 0.0223 = x$$

$$\Leftrightarrow x \approx \mathbf{21.57 \text{ ppm}}$$

# O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

Após a conversão dos valores de todas as áreas para concentrações e da obtenção das médias das três repetições de cada amostra, obteve-se a tabela 11 com todos os dados recolhidos.

Tabela 11. Média das concentrações (ppm) de aminoácidos em cada amostra.

A.A./ Amostra	Ar. Bruto 1 <sup>as</sup>	Ar. Bruto. 2 <sup>as</sup>	Ar. 30.08. 1 <sup>as</sup>	Ar. 30.08. 2 <sup>as</sup>	Ar. A.M. 1 <sup>as</sup>	Ar. A.M. 2 <sup>as</sup>	Ve. P.M. 1 <sup>as</sup>	Ve. P.M. 2 <sup>as</sup>	Ve. Vários. 1 <sup>as</sup>	Ve. Vários. 2 <sup>as</sup>	Ve. 17.08. 1 <sup>as</sup>	Ve. Ba5. 2 <sup>as</sup>	Te.BS. NP. 1 <sup>as</sup>	Te.BS. NP. 2 <sup>as</sup>	Te. SM. 1 <sup>as</sup>
Asp	21,6	16,1	21,3	16,7	22,4	16,1	21,6	16,1	21,6	15,9	21,8	22,7	23,2	21,5	20,6
Glu	34,1	27,6	37,0	42,3	44,3	29,3	62,2	37,9	58,0	45,1	44,1	106,1	55,7	63,6	25,2
Asn	27,8	23,7	50,6	79,8	57,2	19,7	131,3	29,9	51,4	27,4	44,5	49,2	99,9	35,5	n.d.
Ser	25,0	19,0	24,5	21,3	25,5	18,5	34,2	19,5	28,0	21,6	25,6	33,2	29,1	25,7	n.d.
His	n.d.	18,7	27,6	66,9	24,8	18,4	78,9	31,9	53,9	33,3	42,2	39,6	31,8	29,5	n.d.
Gln	24,8	18,8	26,9	24,2	27,2	17,9	34,5	19,1	28,5	24,5	26,6	n.d.	31,6	26,5	n.d.
Gly	23,0	18,0	22,6	24,5	23,7	17,2	37,8	21,8	30,6	22,7	28,9	41,3	30,6	29,0	n.d.
Thr	21,1	16,0	20,6	16,3	n.d.	n.d.	22,3	17,0	21,0	18,6	23,2	27,1	22,8	21,8	n.d.
Arg	37,2	30,0	41,5	56,7	50,1	37,9	137,6	148,1	87,6	201,5	109,0	n.d.	77,6	48,7	n.d.
Ala	29,3	23,5	30,5	39,2	36,7	26,9	61,5	40,8	55,7	57,2	43,4	103,1	53,2	59,9	22,7
GABA	25,8	22,9	27,8	87,2	29,7	20,2	209,6	95,5	141,3	110,9	110,6	38,4	42,0	27,4	21,7
Pro	481,5	465,5	279,9	356,6	472,4	420,2	733,0	187,9	486,4	207,5	238,1	575,7	247,3	235,1	72,8
Tyr	16,1	13,0	17,1	18,5	19,4	12,1	30,1	14,5	22,1	14,1	20,5	18,9	27,5	17,4	n.d.
Val	22,0	17,3	20,9	19,3	22,5	16,1	26,9	17,6	23,7	18,3	23,4	31,2	25,6	22,8	19,5
Met	22,4	17,4	22,2	19,2	24,1	16,8	27,8	18,1	23,6	18,0	24,0	26,8	26,9	22,8	n.d.
Ile	23,8	18,8	23,1	21,3	25,6	17,2	29,7	18,6	25,3	18,1	25,3	33,6	29,5	23,8	n.d.
Leu	34,6	27,6	32,7	35,3	42,9	24,6	54,2	27,1	38,8	24,1	39,7	63,2	58,1	36,5	23,7
Phe	29,7	22,9	29,8	27,5	35,5	21,8	41,0	21,4	33,4	21,0	30,3	39,3	38,5	29,0	23,2
Orn	n.d.	15,6	20,7	18,7	22,5	27,7	25,8	18,4	35,8	21,6	24,4	53,8	21,8	21,3	n.d.
Lys	43,2	33,4	42,0	48,2	54,5	30,2	73,7	31,1	53,0	27,6	48,7	86,0	79,0	44,9	27,7

n.d. – não detetado

Esta tabela foi a base de dados primária para o estudo estatístico deste trabalho.

Em anexo a figura 21 mostra um gráfico de barras com as médias do teor de cada aminoácido para cada casta e na figura 22 um gráfico de barras com as médias do teor de aminoácidos para cada tipo de vinho (1<sup>o</sup> e 2<sup>o</sup> fração de mosto) dentro de cada casta.

Como o limite de quantificação foi de 10 ppm, não foi encontrado nenhum valor de cisteína (Cys) e triptofano (Trp) em nenhuma amostra na análise por HPLC, o que não significa que não exista alguma quantidade. Idealmente poderia ter-se recorrido a um detetor de espectrômetro de massas para obter um limite de deteção ainda mais baixo.

#### 4.4. Análise estatística utilizada

Uma parte dos valores foram obtidos com tratamento estatístico com auxílio do programa “EXCEL”, representados em média e com o seu respetivo desvio padrão. Para avaliar se existiu diferenças significativas os resultados obtidos foram analisados com ANOVA a um nível de significância  $<0,05$ , correspondente a um grau de confiança de 95%.

Utilizou-se uma análise de discriminante canônica, que é uma técnica para a redução de dimensão multivariada. A correlação canônica tem como objetivo expor a relação entre dois grupos de variáveis, encontrando assim um número reduzido de combinações lineares, para cada um dos conjuntos de variáveis de modo a maximizar as correlações possíveis entre os grupos. Esta análise tem vantagens no estudo de dependências multivariadas, que significa que uma variável dependente é explicada por outras variáveis independentes. A análise multivariada da variância é um procedimento de comparação de médias amostrais multivariadas, é usada quando há duas ou mais variáveis dependentes e é normalmente seguida por testes de significância envolvendo variáveis dependentes individuais separadamente. No caso desta análise usou-se valores baseados nas raízes da matriz de Lambda de Wilks. Esta análise ajuda a perceber se as mudanças nas variáveis independentes (casta) têm efeitos significantes nas variáveis dependentes (aminoácido).

# O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

## 5. ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS DADOS

Consideramos 2 estudos nesta análise. Primeiro foi verificar se existem diferenças significativas do perfil de aminoácidos entre as 3 castas, e segundo, se existem diferenças significativas entre os vinhos derivados da primeira fração de prensagem e vinhos derivados da última fração de prensagem dentro de cada casta. Na primeira análise consideramos 3 grupos, o 1 (arinto dos açores), 2 (verdelho) e o 3 (terrantez do pico). Na segunda análise temos o dobro dos grupos, uma vez que a análise é sobre os vinhos derivados da primeira e última fração de mosto por cada casta, ou seja, o grupo 1 significa que é vinho de arinto originado pelas primeiras frações de mosto e o grupo 2 pelas últimas frações de mosto de arinto, e assim sucessivamente com o grupo 3 e 4 para o verdelho e o 5 e 6 para o terrantez do pico.

Para o primeiro estudo analítico, as proporções de variância de cada função discriminante canônica, proporções cumulativas de variância total e correlação canônica das duas funções discriminantes canônicas obtidas podem ser representadas nas tabelas 12 e 13 bem como os valores de Wilks' Lambda para os dois testes de funções. Quanto menor é este valor maior é o poder discriminante resultante. Nas tabela 14 também contem a lista dos coeficientes padronizados de cada aminoácido para as duas funções.

Tabela 12. Funções discriminantes na primeira análise e suas distribuições.

Autovalores				
Função	Autovalor	% de variância	% cumulativa	Correlação canônica
1	92,219 <sup>a</sup>	87,0	87,0	,995
2	13,820 <sup>a</sup>	13,0	100,0	,966

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

Tabela 13. Teste de funções com valores de Lambda de Wilks da primeira análise.

Lambda de Wilks				
Teste de funções	Lambda de Wilks	Qui-quadrado	df	Sig.
1 até 2	,001	43,386	22	,004
2	,067	16,176	10	,095

# O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

Tabela 14. Lista dos coeficientes padronizados de cada aminoácido para as 2 funções.

	Função		
	1	2	
Pro <sup>a</sup>	-,094 <sup>*</sup>	-,046	
Tyr <sup>a</sup>	-,093 <sup>*</sup>	-,008	
Lys <sup>a</sup>	-,083 <sup>*</sup>	,009	
Phe <sup>a</sup>	-,049 <sup>*</sup>	,047	
Leu <sup>a</sup>	-,034 <sup>*</sup>	,022	
Orn <sup>a</sup>	,056	-,299 <sup>*</sup>	
Ala	,045	,245 <sup>*</sup>	
Gly	,036	,214 <sup>*</sup>	
Thr	,023	,193 <sup>*</sup>	
Glu	,026	,190 <sup>*</sup>	
Ser	,018	,150 <sup>*</sup>	
Val	,014	,150 <sup>*</sup>	
Arg	,065	,140 <sup>*</sup>	
GABA <sup>a</sup>	-,066	,119 <sup>*</sup>	
Met <sup>a</sup>	,029	,112 <sup>*</sup>	
Asp	-,019	,103 <sup>*</sup>	
His	,048	,093 <sup>*</sup>	
Ile <sup>a</sup>	-,008	,088 <sup>*</sup>	
Asn	-,004	,078 <sup>*</sup>	
Gln	-,027	,037 <sup>*</sup>	

Correlações entre grupos no conjunto entre variáveis discriminantes e funções discriminantes canônicas padronizadas  
 Variáveis ordenadas por tamanho absoluto de correlação na função.  
 \*. Maior correlação absoluta entre cada variável e qualquer função discriminante  
 a. Essa variável não é usada na análise.

Nesta análise os aminoácidos Pro, Tyr, Lys, Phe, Leu, Orn, GABA, Met e Ile não foram usados para a análise uma vez que não foram encontradas diferenças significativas.

# O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

Segue-se gráficos do 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 e 11 da primeira análise representantes do teor de aminoácidos entre as castas que foram considerados relevantes para o estudo.

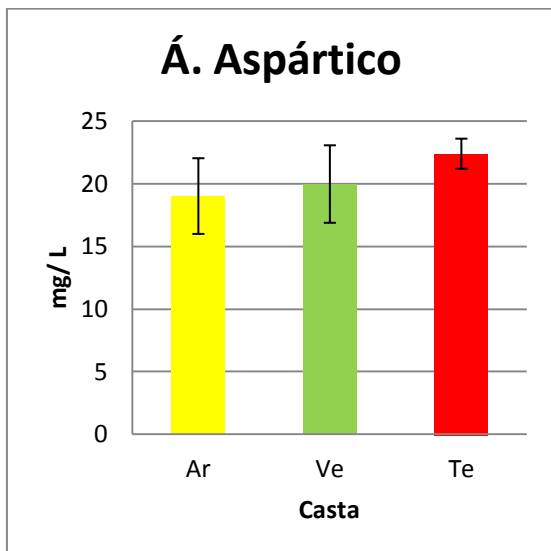


Gráfico 1. Teor de á. aspártico para cada casta.

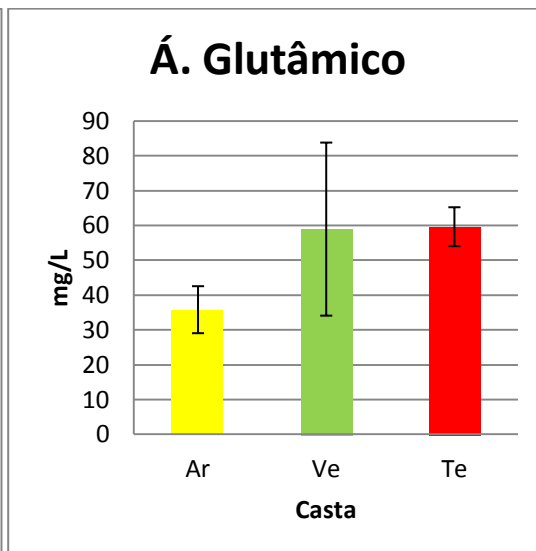


Gráfico 2. Teor de á. glutâmico para cada casta.

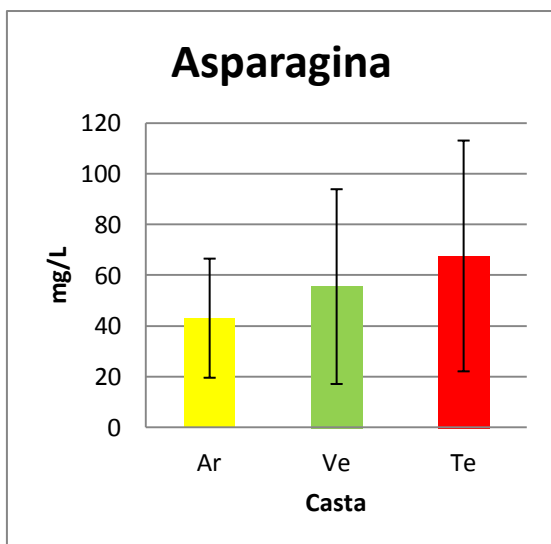


Gráfico 3. Teor de asparagina para cada casta.

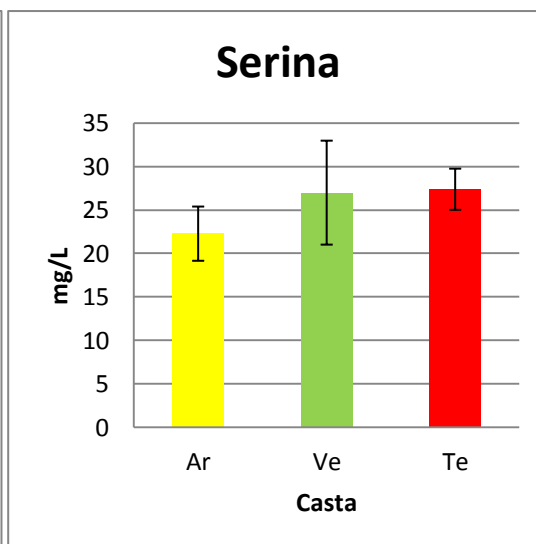


Gráfico 4. Teor de serina para cada casta.



# O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

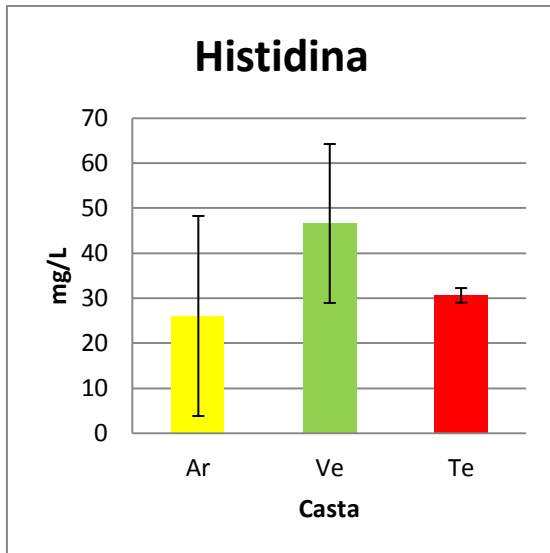


Gráfico 5. Teor de histidina para cada casta.

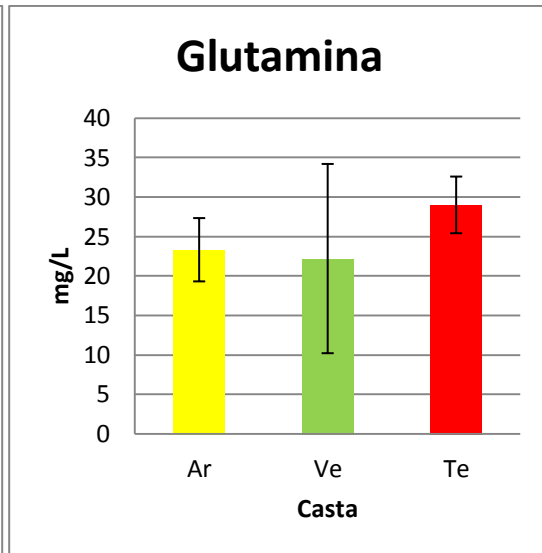


Gráfico 6. Teor de glutamina para cada casta.

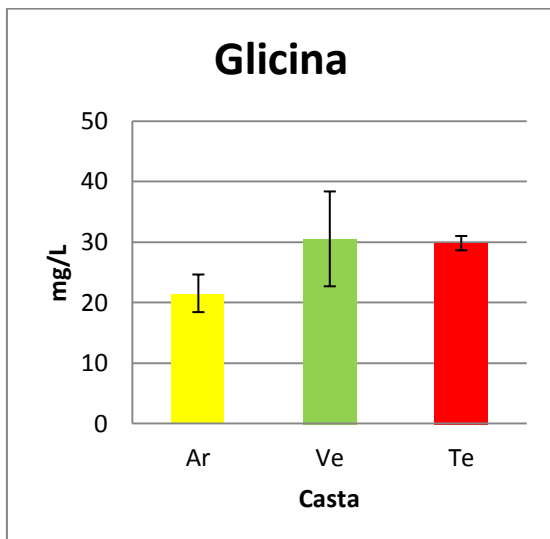


Gráfico 7. Teor de glicina para cada casta.

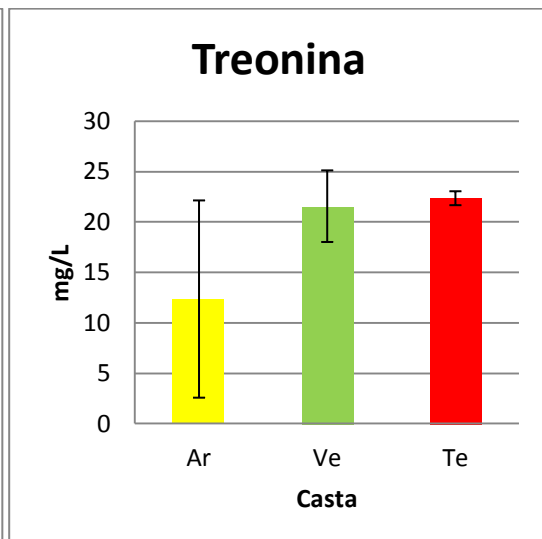


Gráfico 8. Teor de treonina para cada casta.

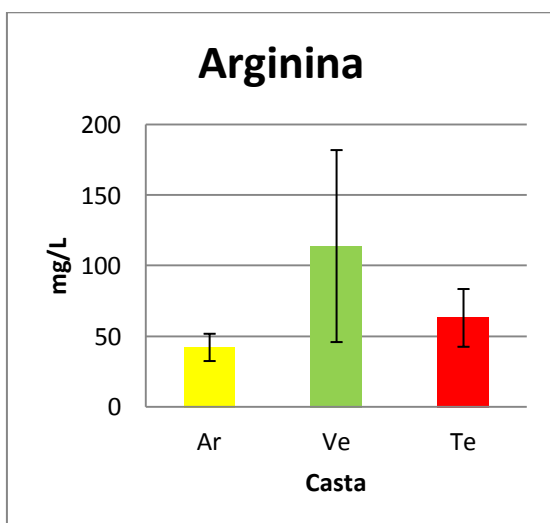


Gráfico 9. Teor de arginina para cada casta.

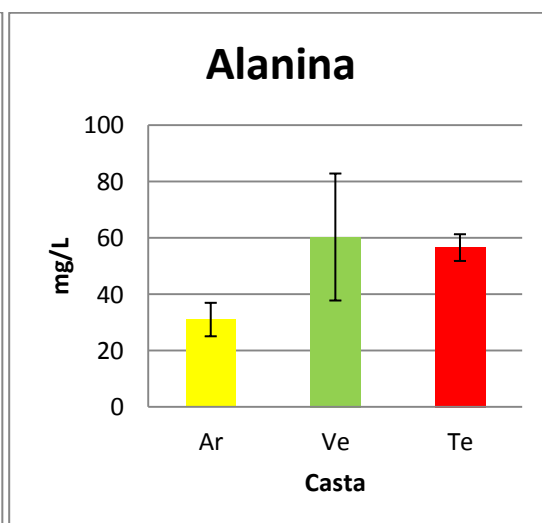


Gráfico 10. Teor de alanina para cada casta.

# O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

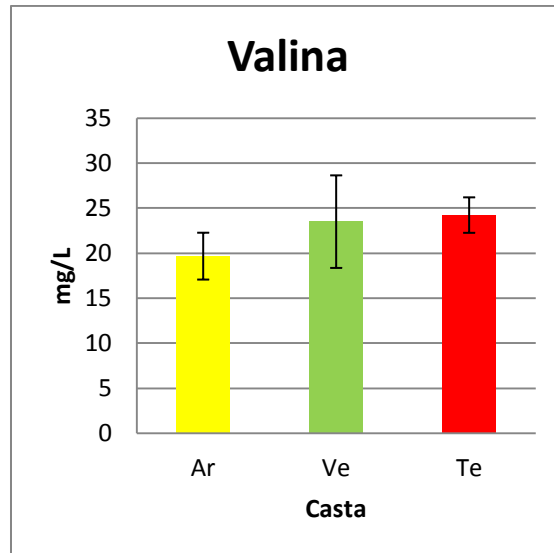


Gráfico 11. Teor de valina para cada casta.

Numa visualização genérica consegue-se encontrar um padrão significativo no teor de aminoácidos entre as castas, como é o caso do arinto dos açores em relação ao verdelho e terrantez do pico. Com exceção da glutamina, o teor de aminoácidos no arinto dos açores é inferior ao das outras castas.

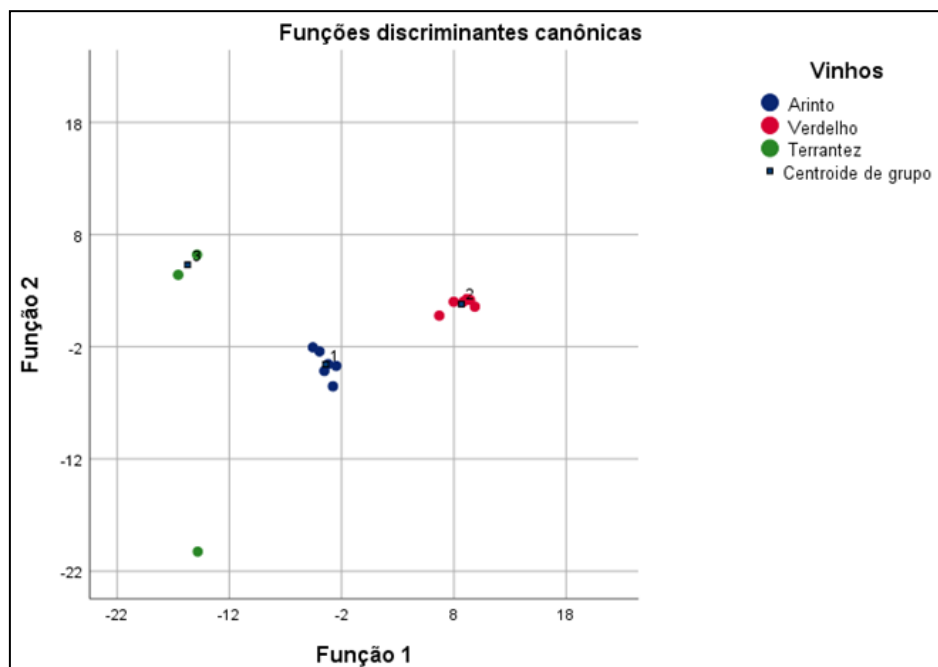


Gráfico 12. Gráfico representativo das funções discriminantes canônicas para a primeira análise.

O gráfico 12 mostra evidentemente que é possível agrupar as castas em grupos em função da composição dos seus aminoácidos. Os grupos estão bem distintos e é possível distinguir as castas entre eles mesmos, com exceção ao terrantez do pico que tem uma variável distante do centróide do grupo.

# O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

Já na segunda análise, em comparação dos vinhos elaborados a partir da primeira e última fração de mosto, figura 21 também mostra claramente que os grupos estão bem definidos e que divergem entre si. À parte do terrantez do pico que apresenta valores não tão concisos. Nas tabelas abaixo encontram-se os autovalores, os valores de Wiki's Lambda para as 5 funções estudadas, e a matriz de estrutura para os aminoácidos.

Tabela 15. Funções discriminantes na primeira análise e suas distribuições.

Autovalores				
Função	Autovalor	% de variância	% cumulativa	Correlação canônica
1	1966,650 <sup>a</sup>	95,9	95,9	1,000
2	62,173 <sup>a</sup>	3,0	98,9	,992
3	16,654 <sup>a</sup>	,8	99,7	,971
4	5,487 <sup>a</sup>	,3	100,0	,920
5	,742 <sup>a</sup>	,0	100,0	,653

a. As primeiras 5 funções discriminantes canônicas foram usadas na análise.

Tabela 16. Teste de funções com valores de Lambda de Wilks da primeira análise.

Lambda de Wilks				
Teste de funções	Lambda de Wilks	Qui-quadrado	df	Sig.
1 até 5	,000	102,158	40	,000
2 até 5	,000	56,651	28	,001
3 até 5	,005	31,776	18	,023
4 até 5	,088	14,550	10	,149
5	,574	3,331	4	,504

# O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

Tabela 17. Lista dos coeficientes padronizados de cada aminoácido para as 2 funções.

Matriz de estruturas					
	Função				
	1	2	3	4	5
Pro <sup>a</sup>	-.002	.301 <sup>~</sup>	.128	-.100	-.115
Ala <sup>a</sup>	-.021	-.119	.260 <sup>~</sup>	.086	.031
Val <sup>a</sup>	.067	-.052	.217 <sup>~</sup>	.030	-.125
Asp	.031	-.026	.205 <sup>~</sup>	-.048	.077
Ile <sup>a</sup>	.080	-.013	.189 <sup>~</sup>	-.018	-.174
Glu	-.004	-.040	.173 <sup>~</sup>	.053	.023
Thr <sup>a</sup>	.292	-.384	-.206	.660 <sup>~</sup>	-.222
Asn	.011	-.018	.056	.021	-.726 <sup>~</sup>
Tyr <sup>a</sup>	.035	.082	.135	.028	-.633 <sup>~</sup>
GABA <sup>a</sup>	-.073	.068	.047	.248	-.628 <sup>~</sup>
His	-.001	-.082	.011	.220	-.578 <sup>~</sup>
Orn <sup>a</sup>	-.085	-.095	-.062	-.240	.376 <sup>~</sup>
Gln	.024	.001	.024	.115	-.319 <sup>~</sup>
Met <sup>a</sup>	.070	-.022	.214	-.094	-.271 <sup>~</sup>
Gly	.004	-.071	.177	.089	-.255 <sup>~</sup>
Arg	-.005	-.081	.104	-.005	-.255 <sup>~</sup>
Leu <sup>a</sup>	.071	.044	.209	-.092	-.254 <sup>~</sup>
Lys <sup>a</sup>	.040	.043	.181	-.029	-.239 <sup>~</sup>
Phe <sup>a</sup>	.058	.092	.187	-.070	-.237 <sup>~</sup>
Ser	.013	-.064	.161	.012	-.203 <sup>~</sup>

Correlações entre grupos no conjunto entre variáveis discriminantes e funções discriminantes canônicas padronizadas

Variáveis ordenadas por tamanho absoluto de correlação na função.

\*. Maior correlação absoluta entre cada variável e qualquer função discriminante

a. Essa variável não é usada na análise.

As variáveis: pro, ala, val, ile, thr, tyr, GABA, orn, met, leu, lys e phe não foram usadas nesta segunda análise uma vez que não houve diferenças significativas.

# O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

Segue-se os gráficos 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 e 20 da segunda análise que representam o teor de aminoácidos entre as castas que foram considerados relevantes para o estudo. As barras azuis simbolizam os vinhos originados da primeira fração de mosto obtida na prensagem (1<sup>as</sup>) e as barras marrons os vinhos obtidos da segunda/última fração de mosto obtida na prensagem (2<sup>as</sup>). Não houve valores para o desvio padrão do terrantez do pico uma vez que os dados eram insuficientes uma vez que só houve duas amostras de primeiras frações e uma de segundas, no total três.

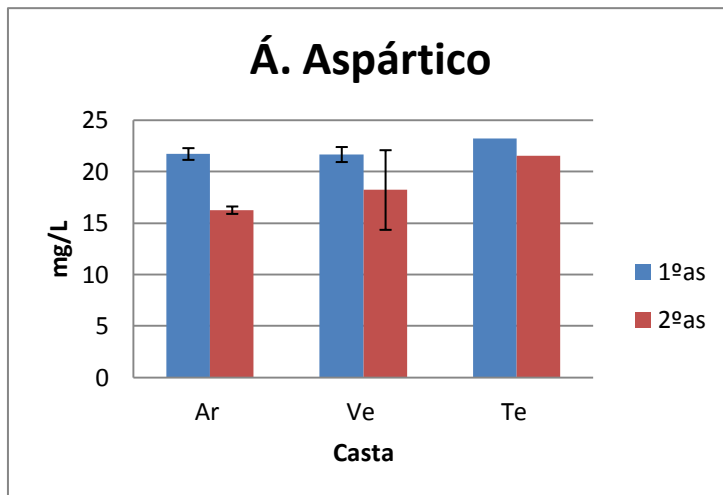


Gráfico 13. Teor de á. aspártico para cada casta e o seu respetivo tipo de vinho originado.

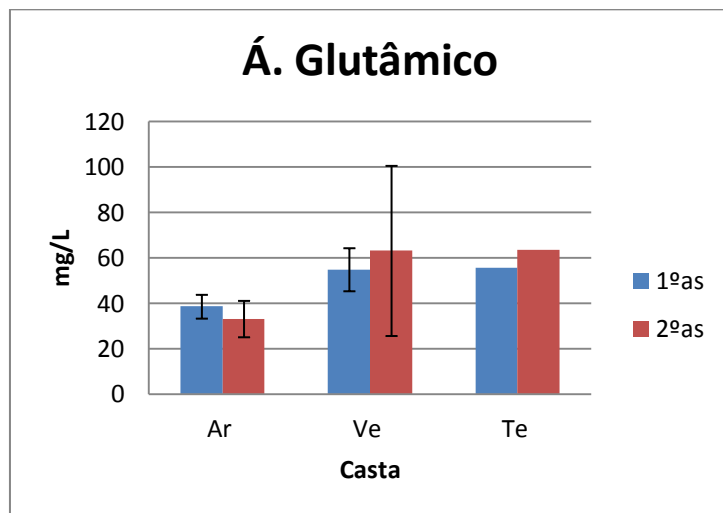


Gráfico 14. Teor de á. glutâmico para cada casta e o seu respetivo tipo de vinho originado.

# O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

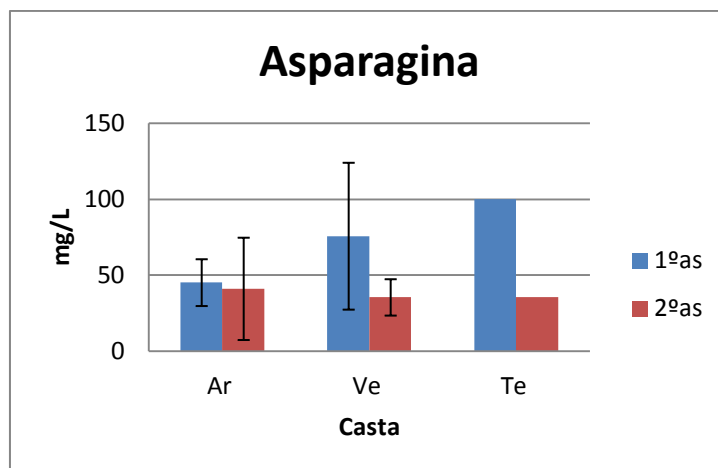


Gráfico 15. Teor de asparagina para cada casta e o seu respetivo tipo de vinho originado.

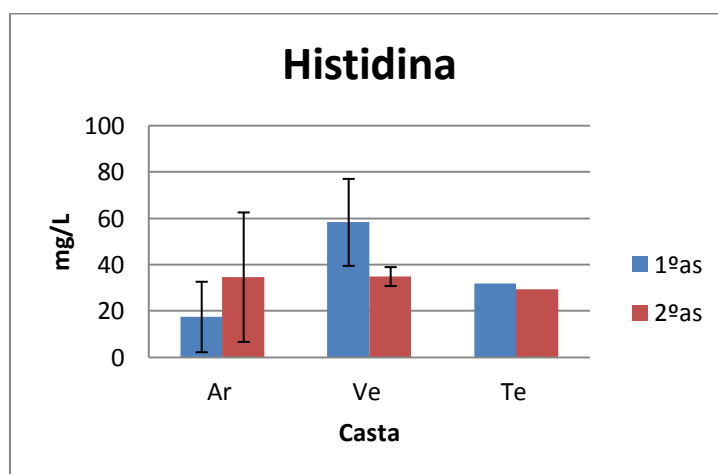


Gráfico 16. Teor de histidina para cada casta e o seu respetivo tipo de vinho originado.

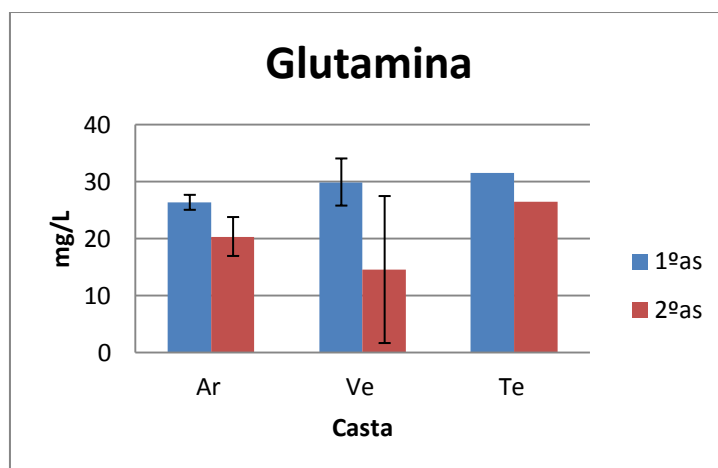


Gráfico 17. Teor de glutamina para cada casta e o seu respetivo tipo de vinho originado.

# O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

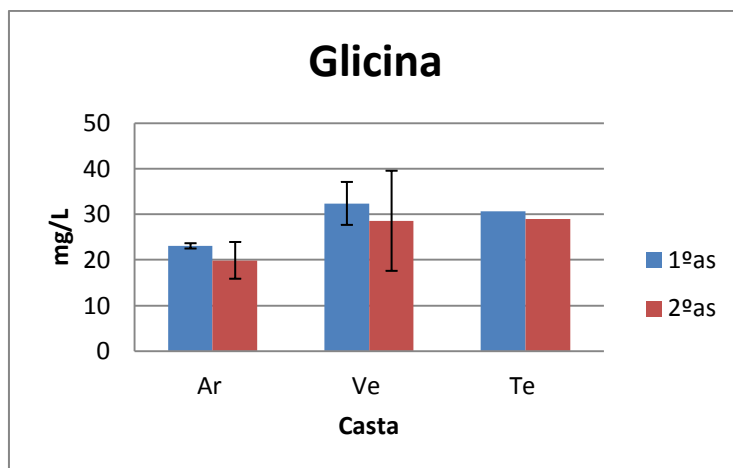


Gráfico 18. Teor de glicina para cada casta e o seu respetivo tipo de vinho originado.

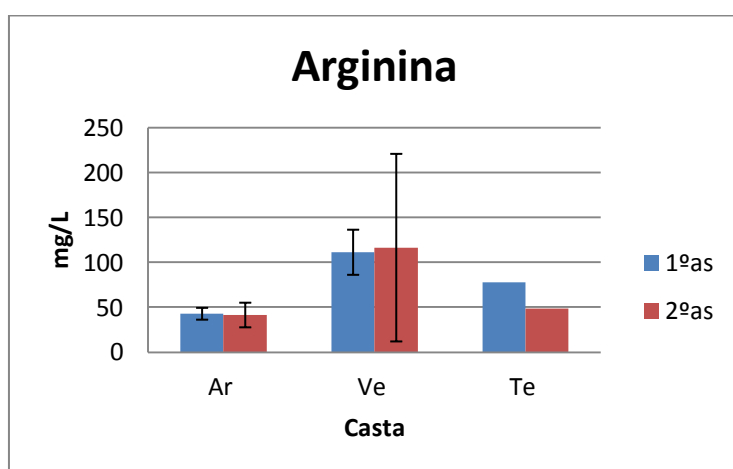


Gráfico 19. Teor de arginina para cada casta e o seu respetivo tipo de vinho originado.

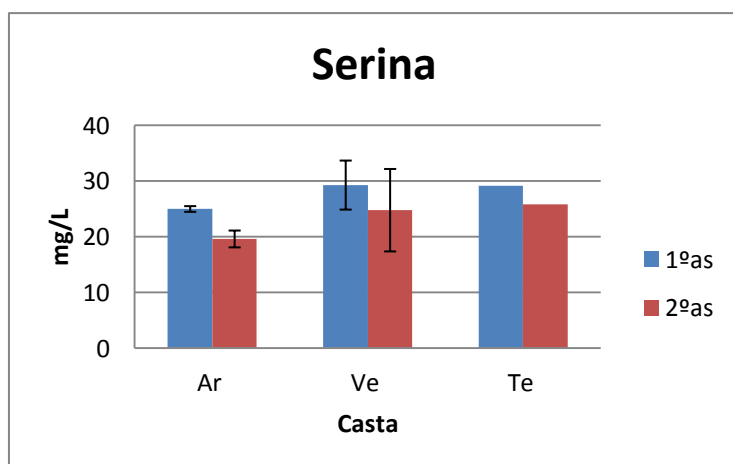


Gráfico 20. Teor de serina para cada casta e o seu respetivo tipo de vinho originado.

Na interpretação gráfica pode-se afirmar que a maioria do teor de aminoácidos é superior nos vinho originados da primeira fração de mosto extraída da prensagem. Com exceção ao ácido glutâmico, histidina no arinto dos açores e arginina no verdelho.

## O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

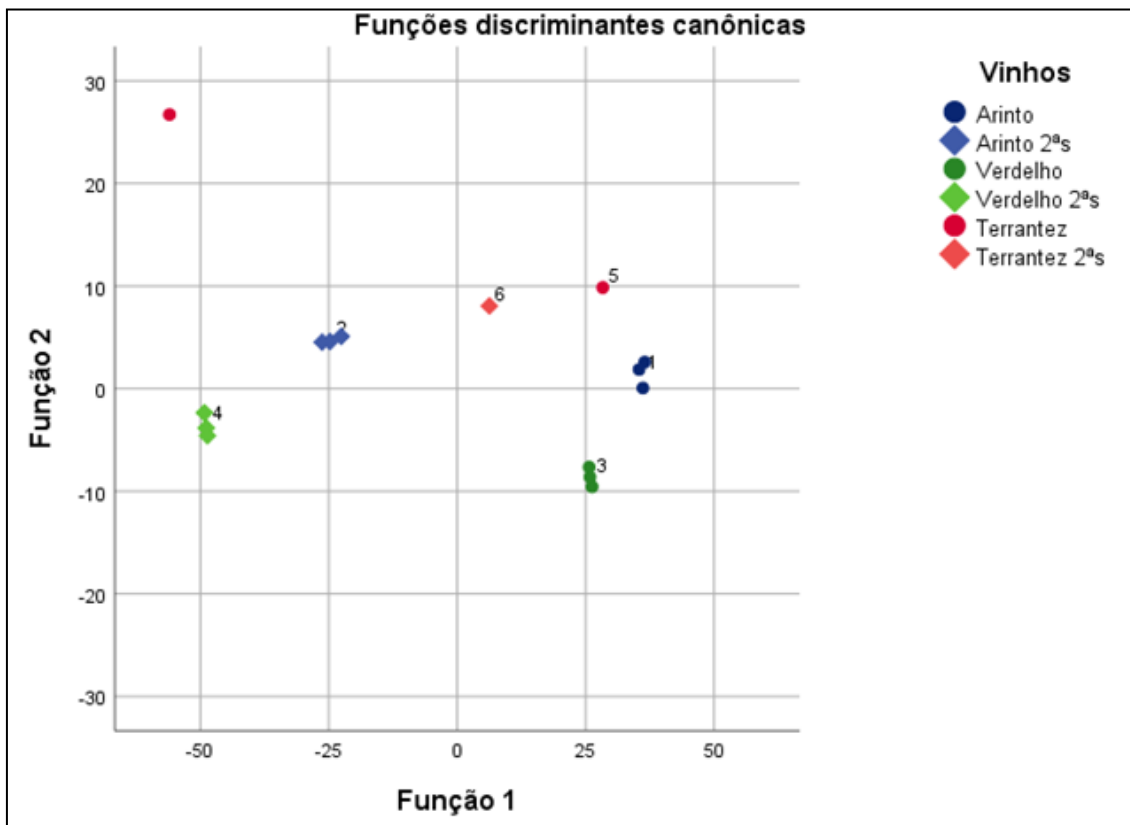


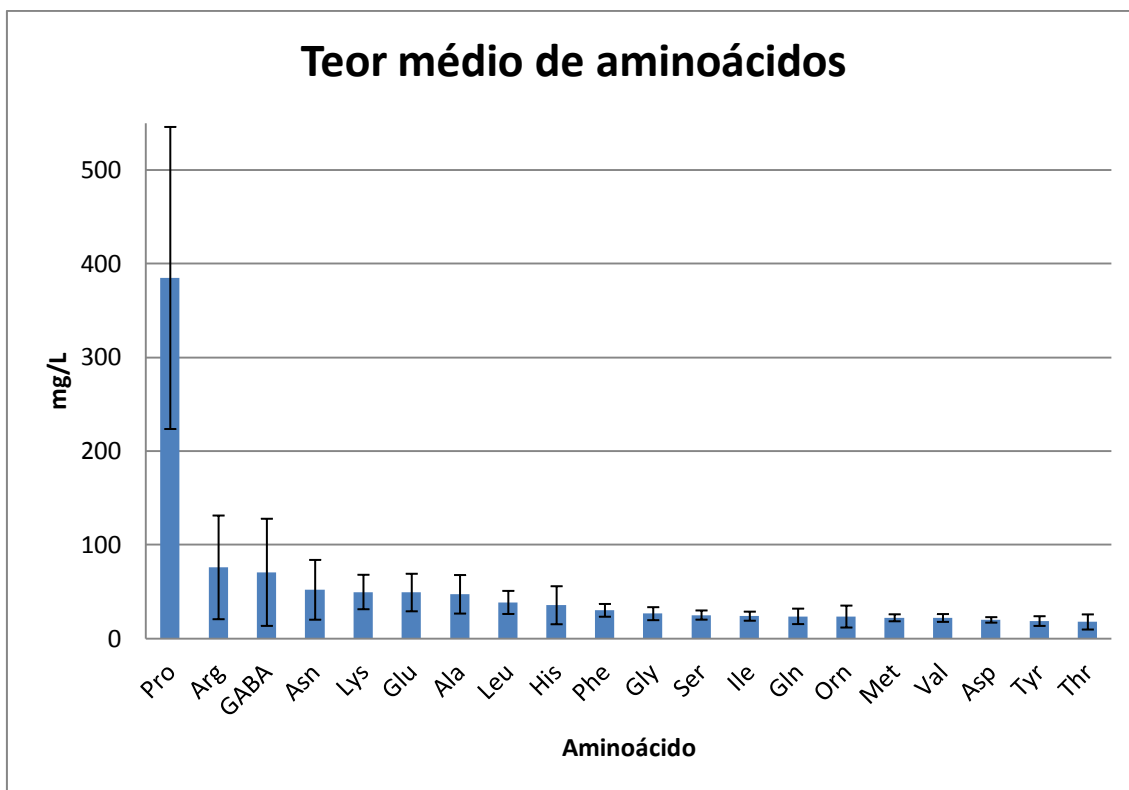
Gráfico 21. Funções discriminantes canônicas da segunda análise.

Com a base de dados obtida pelo programa estatístico pode-se afirmar que na primeira análise existem diferenças significativas para certos aminoácidos entre o arinto dos açores, verdelho e terrantez do pico.

Com base no gráfico 21, na segunda análise existem diferenças significativas de vinhos obtidos de mosto da primeira fração de prensagem e de segunda/última fração de prensagem no arinto dos açores e no verdelho. No entanto o terrantez do pico não mostrou uma correlação suficiente para afirmar isso uma vez que os valores foram muito discrepantes.



## O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico



**Gráfico 22.** Teor médio de cada aminoácido da média de todas as amostras.

O gráfico 22 mostra da esquerda para a direita os aminoácidos com maior concentração nos vinhos. A prolina, como é usual nas uvas e nos vinhos, é o aminoácido que se encontra com maior quantidade neste caso com uma média de 384,8 mg/L, em segundo a arginina com 75,9 mg/L e em terceiro o ácido gama-aminobutírico (GABA) com 70,7 mg/L. Na tabela 17 encontra-se os restantes valores do teor de aminoácidos correspondente ao gráfico 22.

**Tabela 18.** Valores correspondentes ao gráfico 22 (DP-desvio padrão).

A.A.	Pro	Arg	GABA	Asn	Lys	Glu	Ala	Leu	His	Phe	Gly	Ser	Ile	Gln	Orn	Met	Val	Asp	Tyr	Thr
mg/L	384,8	76,0	70,7	52,0	49,7	49,1	47,2	38,5	35,5	30,1	26,5	25,1	23,9	23,7	23,5	22,1	22,0	19,9	18,6	17,7
DP	161,2	55,3	57,2	31,9	18,4	20,0	20,6	12,3	20,3	6,8	6,9	4,9	4,9	8,2	11,7	3,7	4,2	2,9	5,2	8,1

Em anexo apresenta-se os gráficos 26 e 27 para uma visualização mais completa do perfil de aminoácidos entre castas e entre os seus dois tipos de vinhos originados.

# O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

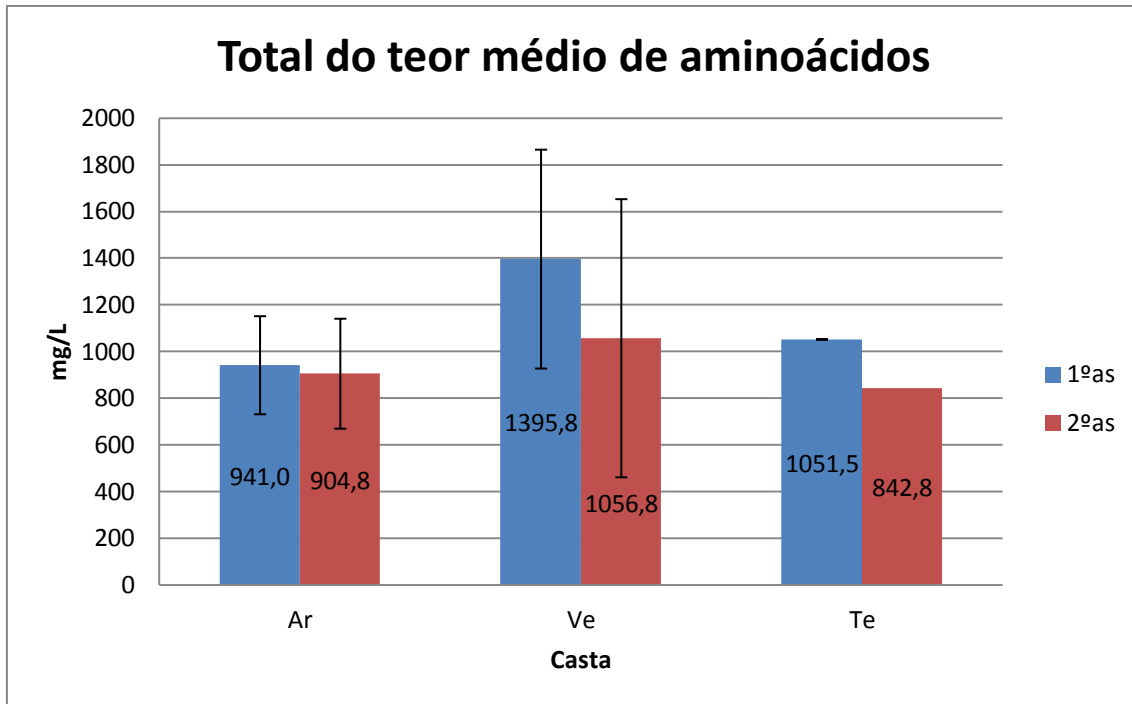


Gráfico 23. Teor médio de aminoácido do vinho resultante da primeira e segunda fração de mosto das três castas.

No gráfico 23, os vinhos originados da primeira fração de mosto extraída da prensagem são os que contêm mais quantidade de aminoácidos.

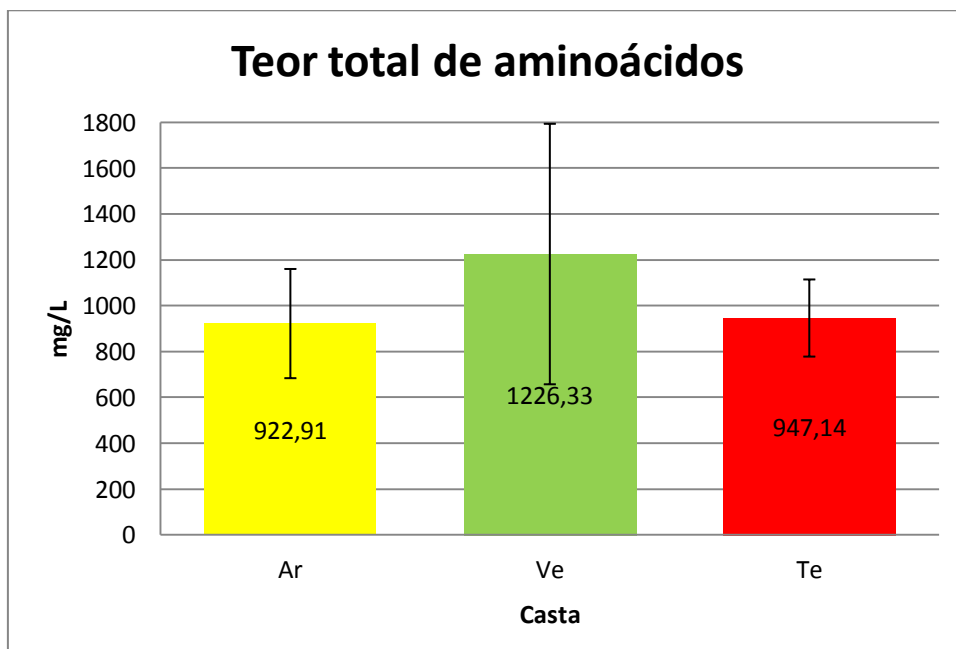


Gráfico 24. Teor médio de aminoácidos.

Com base no gráfico 24, o verdelho foi a casta originou vinhos mais ricos em aminoácidos, seguido pelo terrantez do pico e por último o arinto dos açores.

## O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

Como complemento ao estudo, embora não fosse o objetivo principal, analisou-se vinho de 2018 já clarificado, estabilizado e engarrafado. Estas amostras eram três sendo monocasta de arinto dos açores, verdelho e terrantez do pico. Com base na tabela 18 comparativamente com os vinhos de 2019, as diferenças principais consistem nos valores de histamina que é nulo e no teor de aminoácidos ser genericamente superior. O fato dos valores de histidina serem nulos leva a crer que os vinhos realizaram a fermentação malolática e que a histidina fora convertida em histamina por processo de descarboxilação (SOUZA *et al.*, 2015).

Tabela 19. Teor de aminoácidos dos vinhos engarrafados de 2018.

A.A./Amostra	Ar.18	Ve.18	Te.18
Asp	21,61	21,85	22,24
Glu	44,60	50,50	64,83
Asn	41,18	68,22	67,40
Ser	29,41	31,65	35,41
His	n.d.	n.d.	n.d.
Gln	27,56	28,36	30,10
Gly	30,53	32,44	35,85
Thr	26,54	27,31	29,08
Arg	77,89	102,10	82,06
Ala	48,84	66,15	63,74
GABA	52,09	78,48	84,25
Pro	330,58	403,20	458,06
Tyr	26,02	26,99	34,89
Val	29,11	28,94	34,82
Met	27,44	27,91	30,51
Cys	n.d.	n.d.	n.d.
Ile	30,63	29,76	36,92
Trp	n.d.	n.d.	n.d.
Leu	56,19	55,28	71,53
Phe	35,92	35,96	41,72
Orn	22,04	22,92	25,21
Lys	66,59	65,33	85,32
Total	1024,79	1203,34	1333,96

Os aminoácidos que têm um peso mais significativo na complexidade aromática nos vinhos são particularmente a leucina, valina, isoleucina e a fenilalanina, uma vez que estes são precursores de aroma (SRYGER *et al.*, 2011). Neste caso o terrantez do pico, conhecido pela sua superioridade e complexidade aromática, confirma-se, na tabela 18, que estes aminoácidos referidos têm teores maiores comparativamente ao arinto dos açores e verdelho.

## O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

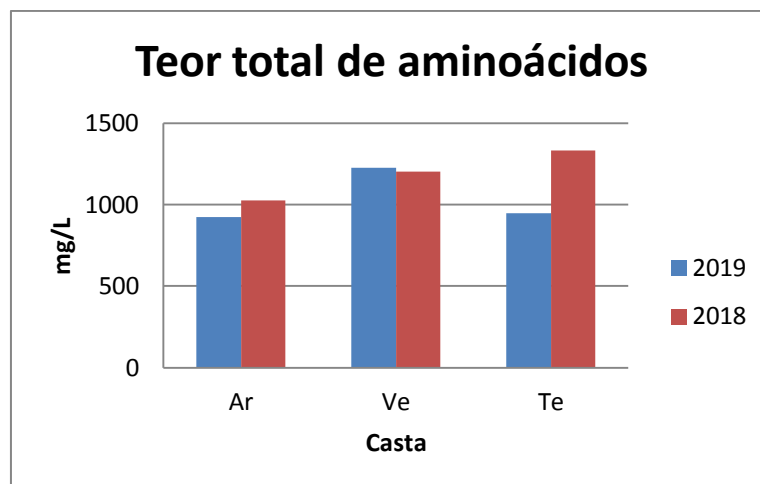


Gráfico 25. Comparação do teor de aminoácidos total das amostras de 2018 e 2019.

Com exceção ao verdelho, a concentração total de aminoácidos foi superior no arinto dos açores e terrantez do pico nas amostras de 2018 em comparação às amostras de 2019. Em teoria compreende-se este fenómeno uma vez que as maturações foram melhores em 2018 devido a um clima mais propício para isso. Há parte disso mais uma vez confirma-se que o teor total de aminoácidos é novamente inferior no arinto dos açores.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar da quantidade de fatores que podem afetar quantitativamente e qualitativamente os aminoácidos num vinho, muitos cientistas têm obtido sucesso com o uso do perfil de aminoácidos nos vinhos como ferramenta para auxiliar na diferenciação e genuinidade do produto (SOUFLEROS *et al.*, 2003). Mas para além disso os aminoácidos têm um papel fundamental na cinética fermentativa e na contribuição aromática (STRYGER *et al.*, 2011).

Neste estudo mostrou-se que existiam diferenças significativas no perfil de aminoácidos entre as castas e dentro do próprio vinho originado dentro das mesmas, nesta caso o vinho resultante da primeira e segunda/última fração extraída da prensagem. Em geral os vinhos elaborados de mosto de primeira fração mostraram-se mais ricos em aminoácidos e que as castas mais precoces, neste caso o verdelho e terrantez do pico, continham maior quantidade de aminoácidos.

É provável que as maturações das uvas sejam o fator com maior peso na quantidade de aminoácidos, no entanto, fazendo uma comparação de entre um ano de boa maturação e um de má, neste caso 2018 e 2019, apercebe-se que o arinto dos açores é na mesma, a casta com concentração de aminoácidos inferior. Praticamente esta conclusão faz sentido uma vez que é a casta mais direta e menos complexa aromaticamente falando, comparativamente ao verdelho e terrantez do pico.

Sendo comum haver alguns amuos ou criação de aromas redutivos no fim das fermentações estas conclusões podem redefinir a racionalização de azoto nas adegas dos açores. Poderá ser necessária reajustar a quantidade de azoto a adicionar a vinhos originados a partir de mostos de segunda fração ou mesmo de primeira sendo de castas menos ricas em aminoácidos, neste caso o arinto dos açores. Poder-se-á também ponderar a substituição de azoto inorgânico para orgânico nas fermentações de forma a enriquecer aromaticamente os vinhos açorianos.

## 7. LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Idealmente, as amostras de cada casta deveriam ter sido originárias de uma vinha específica e não de várias, isto porque fatores como por exemplo, a idade da vinha, microclima, estado nutricional do solo e aplicações fitofarmacêuticas tem influência na quantidade de compostos azotados. (MENESES, 2015).

As leveduras utilizadas deveriam ter sido as mesmas para todos os vinhos uma vez que cada estirpe de leveduras tem um metabolismo diferente, resultando por isso numa produção diferente de aminoácidos (DIAS, 2019). Idealmente as os vinhos deveriam ter sido elaborados a partir de fermentações indígenas de modo a estabelecer uma relação mais real do “terroir” dos açores.

Também os resultados ao terrantez do pico ficaram comprometidos pela quantidade de amostras ser inferior, neste caso três, em relação ao arinto dos açores e verdelho que foram seis. Para além disso ouve uma amostra de verdelho e outra de terrantez do pico que fermentaram em barrica de carvalho francês. O número de amostras, idealmente, seria também superior.

Para complementar o estudo era também suposto realizar o perfil de amins biogénicas e de elementos minerais do vinho, no entanto, devido à falta de tempo e de recursos tal não foi possível.

# O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

---

## 8. BIBLIOGRAFIA

- Amerine, M. A.; Ough, C.S. (1974). *Wine and Must Analysis*, 73-79.
- Ancín-Azpilicueta, C.; González-Marco, A.; Jiménez-Moreno, N. (2008). *Current knowledge about the presence of amines in wine*. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Boca Raton, v. 48 , p. 257-275.
- Augustini, C. B. (2011). *Carecterização de vinhos de uvas Vitis labrusca por meio do seu conteúdo em aminoácidos e aminos bioativas*. Universidade Federal do Paraná.
- Azevedo, E. B. (2001). *Condicionantes Dinâmicas do Clima do Arquipélago dos Açores. Elementos para o seu – AÇOREANA*. Boletim da Sociedade Afonso de Chaves. VOL. IX; FASC. III
- Bach, B; Quere, S. L; Vuchot, P; Grinbaum, M; Barnavon, L (2012). *Validation of a method for the analysis of biogenic amines: Histamine instability during wine sample storage*. *Analytical Chimica Acta*, 732, 114 – 119. (doi: 10.1016/j.aca.2011.12.036).
- Barrado, E.; Rodriguez, J. A.; Castrillejo, Y. (2009). *Determination of primary amino acids in wines by high performance liquid magnet-chromatography*. *Talanta*, Seattle, v. 78 , p. 672-675.
- Barros A.C. (1892). *Serviços de inspecção às vinhas nas circumscripções agronomicas do sul e norte em 1889*. Direcção Geral de Agricultura, Imprensa Nacional, 93 pp.
- Bauza, T.; Kelly, M. T.; Blaise, A. (2007). *Study of polyamines and their precursor amino acids in Grenache noir and Syrah grapes and wine of the Rhone Valley*. *Food Chemistry*. v. 105, n.1, p. 405-413.
- Callejón, R. M.; Troncoso, M. L; Morales, M. L. (2010). *Determination of amino acids in grape-derived products: A review*. *Talanta*. Volume 81, Issues 4–5, Pages 1143-1152. (doi.org/10.1016/j.talanta.2010.02.040).
- Catarino, S. C. G. (2006). *Metais contaminantes nos vinhos. Ocorrência por influências das bentonites*. Instituto Superior de Agronomia. Lisboa, Universidade Técnica de Lisboa. Doutoramento.

# O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

---

Catarino, S. C. G.; Curvelo-Garcia, A. S. (2011). *Composição mineral do vinho - Ocorrência de metais contaminantes*. Viticultura e enologia: 48-60.

Catarino, S. C. G.; Curvelo-Garcia, A. S.; Bruno de Sousa, R. (2007). *Elementos contaminantes nos vinhos*. Ciência e Técnica Vitivinícola, 22 (2): 45-61.

Chagas. F. D. (1989). *Espelho Cristalino em Jardim de Várias Flores*, Angra do Heroísmo, Secretaria Regional da Educação e Cultura.

Cordeiro, P. A. (1981). *História Insulana das Ilhas a Portugal Sugeytas no Oceano Occidental*, ed. Fac-similada de ed. Príncipeps de 1717, Angra do Heroísmo, Secretaria Regional da Educação e Cultura.

Costa, R. M. M. (2015). *Relevância das exportações de vinho do Pico na economia dos Açores nas duas primeiras décadas do século XIX*. Boletim do núcleo cultural da Horta, 24: 207-261.

Dias, T.H. (2019). *Avaliação do perfil em aminoácidos de vinhos brancos da casta Arinto fermentados em barricas com leveduras *Saccharomyces* e leveduras nativas*. Universidade de Évora – Escola de Ciências e Tecnologia. Dissertação.

Eira-Dias, J. E.; Paulos, V.; Mestre, S.; Martins, J. T. M.; Goulart, I. (2006). *O encepamento do arquipélago dos Açores – Ciência Téc. Vitiv. 21. (2), 99-112*.

Escudero, A. *et al.* (2000). *Clues about the role of methional as character impact odorant of siome oxidizewine*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Davis, v. 48, p. 4268-4272.

Frutuoso, G. (1978). *Livro Sexto das Saudades da Terra*. Ponta Delgada, Instituto Cultural de Ponta Delgada.

Garde-Cerdán, T. *et al.* (2009). *Study of the evolution of nitrogen compounds during grape ripening. Application to differential grape varieties and cultivated system*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Davis, v. 57, n. 6, p. 2410-2419.



# O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

---

Gomes, A. S.; Herмосín, G. I.; García, R. E. (2007). *Simultaneous HPLC Analysis of Biogenic Amines, Amino Acids, and Ammonium Ion as Aminoenone Derivatives in Wine and Beer Samples*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. v. 55, n.3, p. 608 – 613. (doi: 10.1021/jf062820m)..

Herbert, P. *et al.* (2000). *HPLC Determination of Amino Acids in Musts and Port Wine Using OPA/FMOC Derivatives*. Journal of Food Science. v. 65, n.7, p. 1130-1133.

Herbert, P.; Santos, L.; Alves, A. (2001). *Simultaneous quantification of primary, secondary amino acids, and biogenic amines in musts and wines using OPA/3-MPA/FMOC-Cl-fluorescent derivatives*. Journal of Food Science, Malden, v. 66, n. 9, p. 1319-1325.

Hernández-Orte, P. *et al.* (2005). *Effect of the addition of ammonium and amino acids to musts of Airen variety on aromatic composition and sensory properties of the obtained wine*. Food Chemistry, Reading, v. 89, p. 163-174.

Husnik, J. I. *et al.* (2006). *Metabolic engineering of malolactic wine yeast*. Metab Eng. v. 8, n.4, p. 315-23.

Kutlán, D.; Molnár-Perl, I. (2003). *New aspects of the simultaneous analysis of amino acids and amines as their o-phthalaldehyde derivatives by high-performance liquid chromatography: Analysis of wine, beer and vinegar*. Journal of Chromatography A. v. 987, n.1-2, p. 311-322.

Lonvaud-Funel, A. (2001). *Biogenic amines in wines: role of lactic acid bacteria*. FEMS Microbiology Letters. v. 199, n.1, p. 9-13.

Maçanita, A.M.; Santos, R.; Gomes, A. C. (2018). *Unravelling the origin of *Vitis vinifera* L. Verdelho*. Australian Journal of Grape and Wine Research 24, 450–460.

Machado, F. S. L (1991); *Vocabulário Regional*. reedição fac-simile da ed. De 1917, Câmara Municipal das Lajes do Pico.

## O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

---

Madruga, J, *et al.*, (2015). Analysis and definition of potential new areas for viticulture in the Azores (Portugal). University of the Azores. SOIL, 1, 515-526.

Magalhães, N. (2010). *Tratado de Viticultura – A Videira, a Vinha e o Terroir*. Esfera Poética.

Marques, A. P.; Leitão, M. C.; San Romão, M. V. (2008). *Biogenic amines in wines: Influence of oenological factors*. Food Chem. v. 107, p. 853-860.

Meneses, A. F. (2011). *O vinho na história dos Açores – a introdução, a cultura e a exportação*. ARQUIPÉLAGO- HISTÓRIA, 2ª série, XIV – XV, 177-186.

Meneses, C. F. (2015). *Contribuição para o estudo da composição mineral de alguns vinhos açorianos comercializados*. Universidade dos Açores – Departamento de Ciências Agrárias.

Mestre, S. G. (2016). *Castas de videira tradicionais dos Açores: notas sobre a sua origem, ciência Téc. Vitiv. 31(2) 63-72*.

Moreno-Arribas, M. V.; Polo, M. C. (2009). *Nitrogen compounds - Wine chemistry and biochemistry*. Madrid: Springer. cap. 6, p. 161-230.

Mpelasoka, B.S.; *et al.* (2003). *Review of potassium nutrition in grapevines with special emphasis on berry accumulation*. Australian Journal of Grape and Wine Research, Adelaide, v.9, n.3, p.154-168.

Ortega, H. M, *et al.*, (2014). *Study of the effect of vintage, maturity degree, and irrigation on the amino acid and biogenic amine content of a white wine from the Verdejo variety*. Journal of the science of food and agriculture, vol. 94, issue. 10, 2073-2082. (doi:10.1002/jsfa.6526).

Pereira, V. *et al.* (2008). *Simultaneous analysis of free amino acids and biogenic amines in honey and wine samples using in loop orthophthalaldehyde derivatization procedure*. Journal of Chromatography A. v. 1189, n.1-2, p. 435-443.

# O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

---

Rebello, E (1885). *Notas Açorianas, Archivo dos Açores*, Volume VII, Ponta Delgada, 74-75 pp.

Ribéreau-Gayon, P *et al.*, (2006). *The Microbiology of Wine and Vinification. Handbook of Enology - Volume 1*. John Wiley & Sons, Ltd.

Santos, M. C. (2018). *Caracterização físico-química de dois vinhos brancos (Monovarietal vs Multivarietal) na Adega Cooperativa de Vila Real*. Tecnologia e Ciência Alimentar. Departamento de Química e Bioquímica.

Silla-Santos, M. H. (1996). *Biogenic amines: their importance in foods*. International Journal of Food Microbiology. v. 29, n.2-3, p. 213-231.

Silva, M. R. (1950). “A Ilha do Pico sob o ponto de vista vitivinícola”, p. 48.

Silva, P. D. (2012). *Determinação de compostos fenólicos por HPLC*. Universidade da beira interior-Covilhã.

Silveira, P. S. (2005). *Para uma História da vinha e do Vinho nos Açores (1760-1950)*. Boletim do Instituto Histórico da ilha Terceira, vol. LXII, Angra do Heroísmo, pp. 57-159.

Smit, A. Y.; Du Toit, W. J.; Du Toit, M. (2008). *Biogenic Amines in Wine: Understanding the Headache*. South African Journal of Enology and Viticulture. v. 29, n.2, p. 109-127.

Soufleros, E. H. *et al.* (2003). *Primary amino acid profiles of Greek white wines and their use in classification according to variety, origin and vintage*. Food Chemistry, Reading, v. 80, p. 261-273.

Souza, A. L. M. *et al.*, (2015). *Histamina e rastreamento de pescado: revisão de literatura*. Arq. Inst. Biol. Vol.82. São Paulo. (doi.org/10.1590/1808-1657000382013).

# O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

---

Styger, G.; Prior, B.; Bauer, F. (2011). *Wine flavor and aroma*. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology. 38, 1145–1159. (doi.org/10.1007/s10295-011-1018-4)

Terceij, D. (1965). *Table Wines: The Technology of Their Production*. Ann. Technol. Agr. 14, 307-319.

Tomaz D. J (2001); *O vinho do Pico - Cadernos de História*.

Veloso M.; Almandanin, M. C.; Baleiras-Couto, M.; Pereira, H.S.; Carneiro, L.C.; Feveireiro, P.; Eiras-Dias, J. (2010). *Microsatellite database of grapevine (Vitis vinífera L.) cultivars for wine production in Portugal*. Ciência e Téc. Vitiv., 25(2); 53-6.

Wang, Y. Q.; Ye. D. Q.; Zhu, B. Q.; Wu, G. F.; Duan, C. Q. (2014). *Rapid HPLC analysis of amino acids and biogenic amines in wines during fermentation and evaluation of matrix effect*. Food Chemistry, 163, 6 – 15. (doi: 10.1016/j.foodchem.2014.04.064)

## **Outras referências:**

Arquivo dos Açores, edição fac-similada da edição original, Ponta Delgada, Instituto Universitário dos Açores/ Universidade dos Açores, 1980-1984, 15 vols.

Batista, P. (2017). *Formação HPLC, UPLC e Empower Básico*. Hovione, Waters Corporation. Power-point.

Comissão Vitivinícola Regional dos Açores, Manual de apoio à certificação, 2020. <https://www.cvracores.pt/>

Decreto-lei nº17/94 de 25 de Janeiro. (1994). *Cria zonas vitivinícolas na Região Autónoma dos Açores*.

DREPA (Departamento regional de estudos e planeamento), Região Autónoma dos Açores, PICO – Caracterização, 13/88, pag17-19.

# O perfil de aminoácidos de vinhos das castas autóctones dos Açores: Arinto dos Açores, Verdelho e Terrantez do Pico

---

Grubert, L. C. (2018). Freitag laboratórios – blog. <https://freitag.com.br/blog/o-que-e-a-cromatografia-liquida-de-alta-eficiencia>

IVV, Informação-Produção. <https://www.ivv.gov.pt/np4/163.html>;  
<https://www.ivv.gov.pt/np4/35/>

PGRH, Açores, Vol.6, Plano de Gestão de Recursos Hídricos da Ilha do Pico –

Caracterização e diagnóstico da situação de referência, (2010). pág 27-43, 56, 62, 63  
[http://servicos-sraa.azores.gov.pt/grastore/DRA/PGRH/PGRH-A\\_RT\\_cap2\\_vol6\\_pico.pdf](http://servicos-sraa.azores.gov.pt/grastore/DRA/PGRH/PGRH-A_RT_cap2_vol6_pico.pdf)

<http://arquivo.ufv.br/saeg/saeg45.htm>

<http://arquivo.ufv.br/saeg/saeg47.htm>

[https://pt.wikipedia.org/wiki/An%C3%A1lise\\_multivariada\\_da\\_vari%C3%A2ncia](https://pt.wikipedia.org/wiki/An%C3%A1lise_multivariada_da_vari%C3%A2ncia)

## 9. ANEXOS

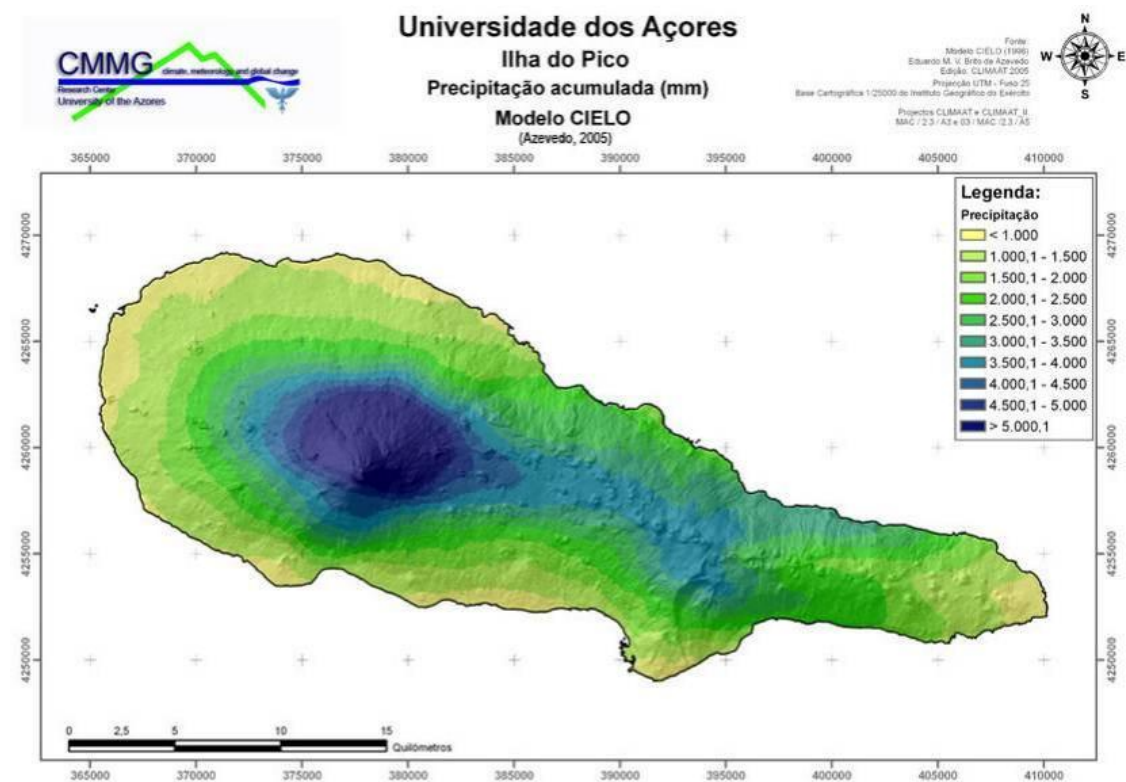


Figura 19. Mapa da precipitação acumulada na ilha do Pico.

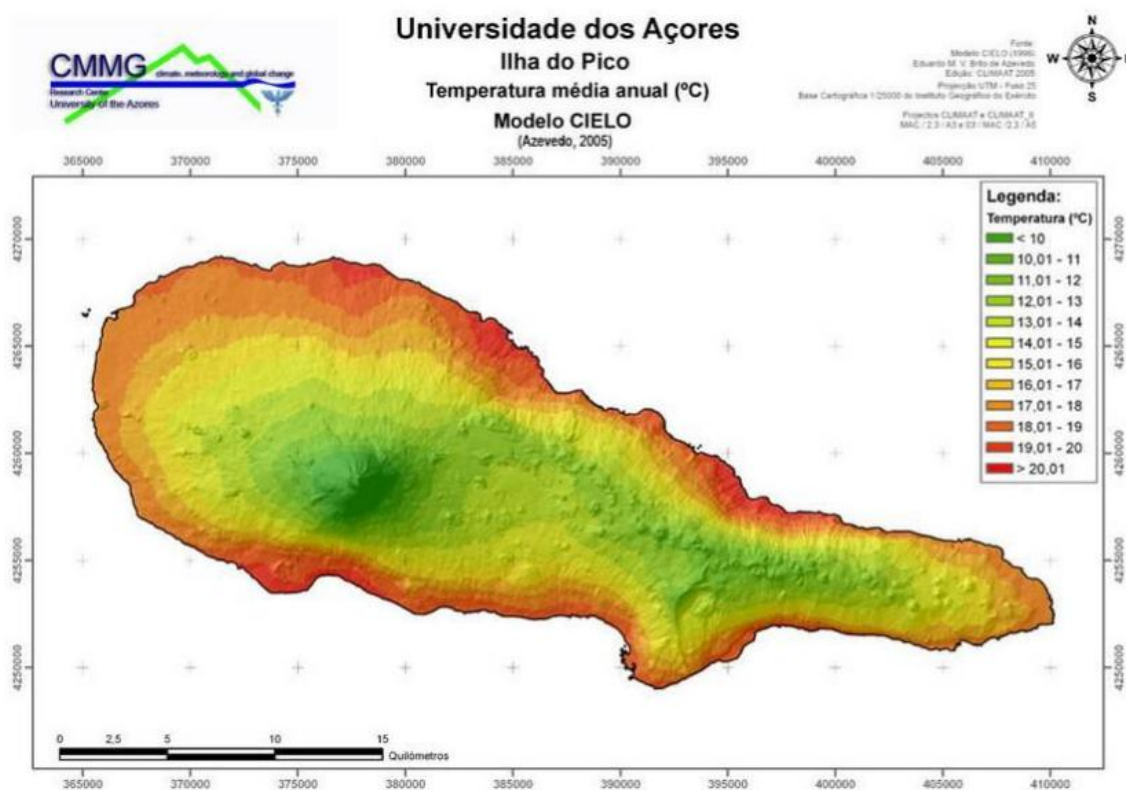


Figura 20. Mapa da temperatura média anual na ilha do Pico

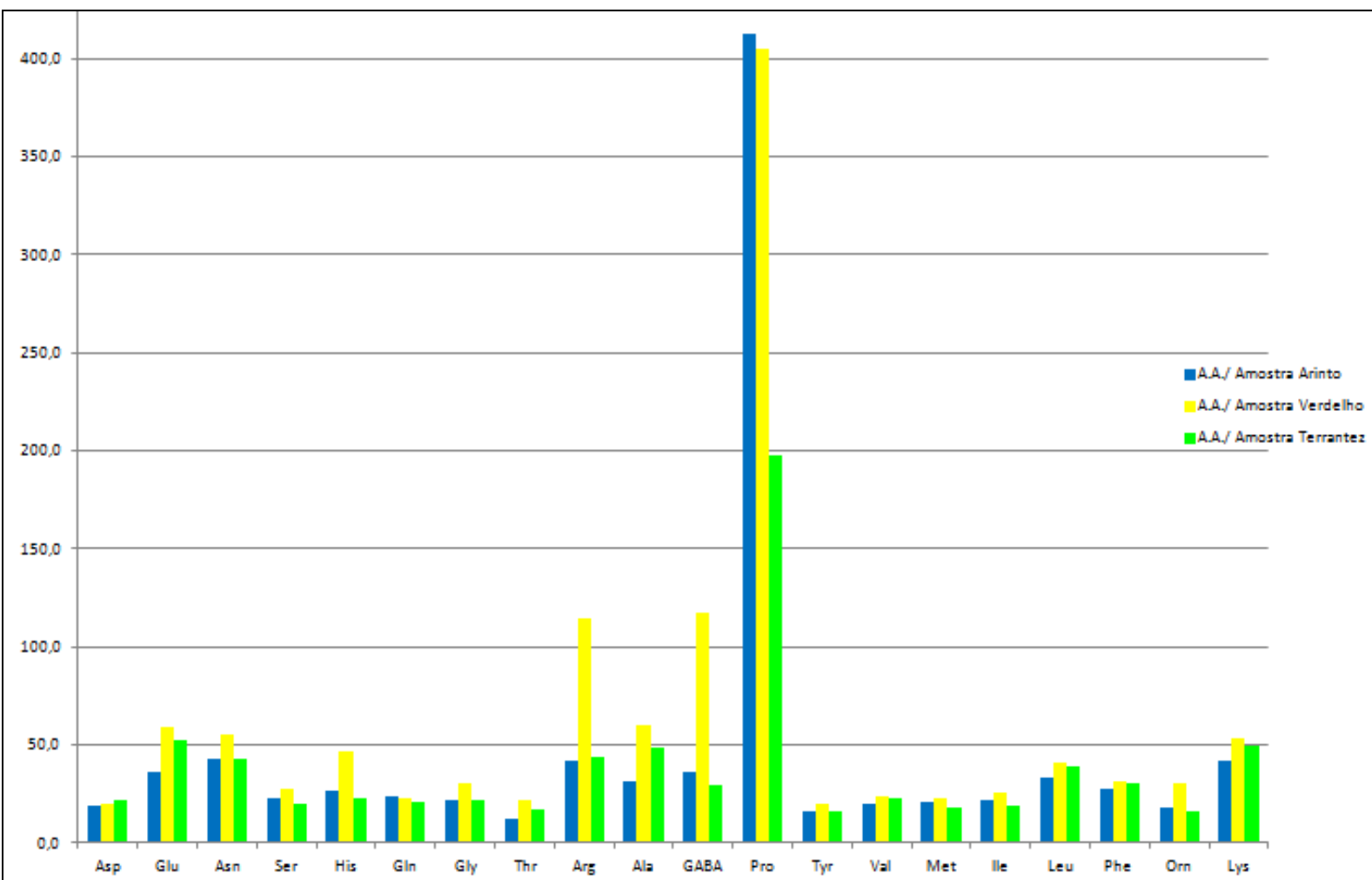


Figura 26. Gráfico de barras das médias dos teores de aminoácidos para cada casta.

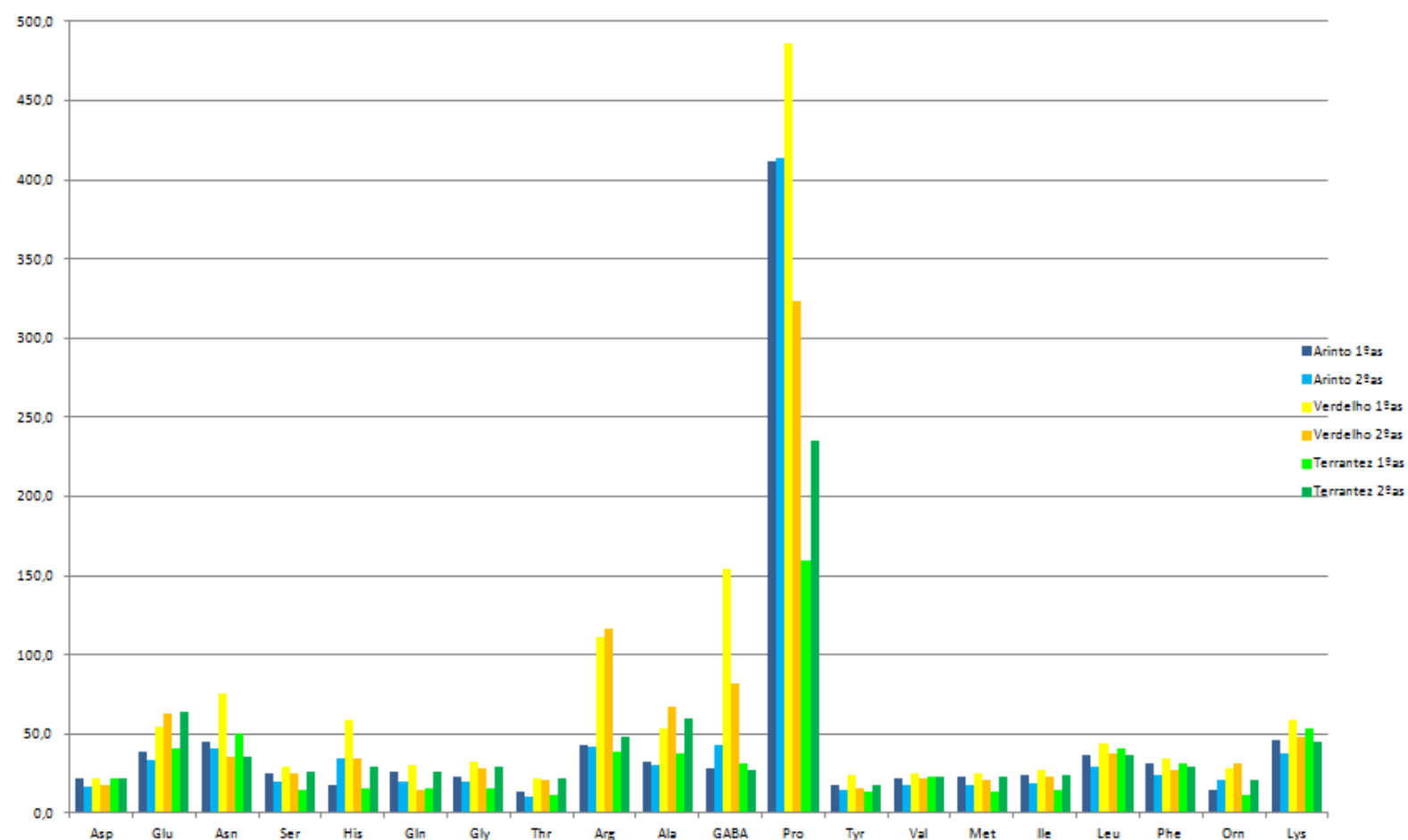


Figura 27. Gráfico de barras das médias dos teores de aminoácidos para vinhos originados da primeira e segunda fração de mosto para cada casta.