



Universidade de Aveiro

Ano Lectivo 2014/2015

Departamento de Química

**INFLUÊNCIA DE UM PROCESSO DE
REMOÇÃO DE COMPOSTOS INDESEJÁVEIS
NAS ROLHAS DE CORTIÇA NATURAL**

SAMUEL

DIOGO MEIRINHO

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Bioquímica – Especialidade Métodos Biomoleculares, realizada sob a orientação científica do Doutor Armando Jorge Domingues Silvestre, Professor Associado com Agregação do Departamento de Química da Universidade de Aveiro e do Engenheiro André Pinheiro, Director do Departamento de Qualidade da *Top Series Unit*, Amorim & Irmãos, S.A.

O júri

Presidente

Prof. Doutor Pedro Miguel Dimas Neves Domingues
Professor e Director do Mestrado em Bioquímica da Universidade de Aveiro

Prof. Doutor Armando Jorge Domingues Silvestre
Professor associado com agregação do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Doutora Paula Cristina de Oliveira Rodrigues Pinto
Investigadora Auxiliar da Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto

Agradecimentos

Ao meu orientador na empresa Amorim & Irmãos – *Top Series Unit*, o Eng.º André Pinheiro, pelos conhecimentos e histórias transmitidas.

Ao meu orientador na Universidade de Aveiro, o Professor Doutor Armando Silvestre, pela preciosa orientação científica e pela disponibilidade imediata em esclarecer as minhas questões.

Um agradecimento especial ao Grupo Amorim pela oportunidade de estágio no Departamento da Qualidade, Amorim & Irmãos SA – *Top Series Unit*.

À Eng.^a Fátima Oliveira e à Analista Glória Espinheira pela simpatia, pelas histórias, pelos momentos e pelas lições.

À Química Cristiana Santos e à Química Lígia Loureiro pela simpatia, pelas histórias e pelas informações úteis.

Ao Joni, Jonathan, Emanuel e Célia pela cooperação e simpatia que sem as quais o estágio seria muito mais difícil de completar.

À Sofia, Abel, Anabela e D.^a Fátima pela cooperação, simpatia e ajuda.

Às estagiárias Joana, Susana e Ana pelos momentos bem passados.

À Doutora Sarah Pontes que sempre demonstrou interesse no estágio e também pelas dicas empresariais e pela orientação científica.

Aos meus pais pelo sacrifício e confiança depositada em mim e que tornaram possível a concretização deste estágio.

Por fim, ao André, pelo apoio e por saber que posso sempre contar contigo.

Palavras-chave

Quercus Suber, Cortiça, rolhas naturais, 2,4,6 – tricloroanisol, mofo, sensorial

Resumo

A cortiça possui um conjunto de características físicas justificadas pela complexidade química e histo-citológica. Com a procura da cortiça para a produção de rolhas naturais e com a elevada exigência dos clientes tornou-se necessário encontrar tecnologias de redução de compostos organolépticos indesejáveis da cortiça, com especial atenção para o 2,4,6 – tricloroanisol (TCA) que devido ao seu baixo limite de percepção sensorial (1,5 – 3 ng/L) e também devido às diversas fontes de contaminação, maioritariamente provenientes de fungos, contamina as rolhas naturais e que por sua vez pode migrar facilmente para as bebidas fornecendo o gosto a “mofo”.

Uma das tecnologias de redução do 2,4,6 – tricloroanisol e implementada na *Top Series Unit* denomina-se como processo INOS II. Através da utilização de água a 50°C e de vários de ciclos de compressão e descompressão esta técnica pode reduzir os níveis de 2,4,6 – tricloroanisol libertável.

Para compreender melhor o impacto deste processo na remoção do TCA libertável, o presente estágio foi dividido numa fase preliminar e em duas fases.

Na fase preliminar foram analisados dados obtidos de vários lotes de rolhas naturais processados pelo INOS II e assim foi realizada uma avaliação relativa da eficiência de redução do INOS II. Nesta fase preliminar, o processo INOS II mostrou possuir um potencial de aumento do 2,4,6 – tricloroanisol libertável.

A 1ª fase revela que a análise, através de macerações compostas, do 2,4,6 – tricloroanisol libertável, sugere que a redução de TCA não é significativa. Por outro lado, a análise individual mostrou que a redução de TCA ocorreu em 63% das rolhas e 30% das rolhas sofreu aumento de TCA.

O potencial de desodorização do processo INOS II mostra ser inconclusivo.

A variação das dimensões, humidade e massa das rolhas pode revelar que o processo INOS II não seja indicado para processar rolhas acabadas. Em 100% das rolhas ocorreu aumento do comprimento e do diâmetro médio, do nível da humidade e da massa.

A variação de TCA em rolhas onde sofreram redução do diâmetro da

rolha (e assim expor uma nova superfície nas rolhas de cortiça), sugere não existirem diferenças significativas. Nomeadamente, a avaliação sensorial mostrou que as rolhas processadas pelo INOS II e que sofreram redução do diâmetro, podem sofrer um aumento de compostos organolépticos. No controlo da classe visual foi verificado que numa situação real pode estar incluído um lote com grande variabilidade de porosidade inter-rolha e assim ocorrer discrepâncias da eficácia do processo INOS II.

Na 2ª fase com a realização das macerações individuais foi verificado que 72% das rolhas sofreram diminuição de TCA e 28% sofreram aumento de TCA. A análise sensorial mostrou que o processo INOS II pode provocar aumento dos desvios organolépticos. A variação dimensional foi diferente da 1ª fase. Foram obtidas rolhas que sofreram redução e aumento do comprimento e do diâmetro médio. Verificou-se um aumento do nível de humidade em 100% das rolhas.

Assim, o processo INOS II pode não ser um processo de redução de TCA eficaz e com potencial de alteração física da rolha. O presente estudo reforça a necessidade de mais amostras para obter conclusões válidas sobre o processo INOS II.

Keywords

QuercusSuber, Cork , natural cork stoppers, 2,4,6 – trichloroanisole, mold, sensorial

Abstract

The cork possesses a wide range of physical characteristics explained by the chemical and hysto-cytologic complexity. With the search of cork for the production of natural cork stoppers and with the high demands by the customers it has become necessary to find efficient reduction of organoleptic compounds technologies.

Specifically, it exists 2,4,6 – trichloroanisole which because of its low odour threshold (1,5 – 3 ng/L) and also because of a wide range of possible origin of synthesis, mainly through bioprocesses occurred only in fungi, it contaminates the natural cork stoppers and this way it gives a “mould” flavour to the drinks.

One of the 2,4,6 – trichloroanisole reduction technologies and implemented in *Top Series Unit* has the name of INOS II process. Through the use of 50°C water and several decompression and compression cycles, the INOS II process may reduce the levels of releasable 2,4,6 – trichloroanisole.

In order to better understand this process, the internship was divided into a preliminary phase and two other phases.

In the preliminary phase it was used data of several natural cork stoppers batches processed by INOS II, this way we could evaluate the reduction efficiency of INOS II. However, INOS II process shows the possibility of rise potential of releasable 2,4,6 – trichloroanisole.

The 1st phase reveals that the analysis, through compost macerations, of the releasable 2,4,6 – trichloroanisole, show a non-significant reduction of TCA levels. However, the individual analysis show that the reduction occurred in 63% of the cork stoppers and 30% of the cork stoppers suffered a rise in TCA levels. The deodorization potential of INOS II process may be inconclusive.

The variation of the dimensions, humidity and mass of the cork stoppers reveals that the INOS II process may not be indicated to process finished cork stoppers. In 100% of the cork stoppers occurred a rise in the length, average diameter, humidity and mass. The analysis of the profound effect INOS II effect, trough diameter reduction of the cork stoppers, suggests there are no differences. The sensorial analysis shows that the cork stoppers processed by INOS II can suffer rise in the organoleptic compounds.

In the visual class analysis it was verified that in a real situation a batch may show great variability of inter-cork stoppers porosity so this way high differences in the efficacy of INOS II process may

occur between different batches.

In the 2nd phase with the realization on individual maceration it was observed that 72% of the cork stoppers suffered a reduction in the TCA levels and 28% suffered a rise in the TCA levels. The sensorial analysis shows that the INOS II process may cause rise on the organoleptic compounds. The dimensional variation was different of the 1st phase. It was obtained cork stoppers that suffered reduction and rise of the length and average diameter. The same was observed in the humidity level and mass.

Therefore, the INOS II process may not be an efficient reduction of TCA levels process and has the potential to physically alter the cork stopper. The present study reinforces the necessity of more samples in order to obtain valid conclusions.

Índice

| | |
|---|----|
| RESUMO | 4 |
| ABSTRACT | 6 |
| ÍNDICE DE FIGURAS | 10 |
| ÍNDICE DE TABELAS | 12 |
| ABREVIATURAS | 13 |
| PREÂMBULO | 15 |
| 1. INTRODUÇÃO | 16 |
| 1.1 CORTIÇA: HISTÓRIA, APLICAÇÕES E SUSTENTABILIDADE | 16 |
| 1.2 A AMORIM & IRMÃOS, S.A. E A CORTIÇA | 17 |
| 1.3 A CORTIÇA | 19 |
| 1.3.1 A BIOLOGIA E QUÍMICA DA CORTIÇA | 19 |
| 1.4 TIPOS DE ROLHAS DE CORTIÇA | 26 |
| 1.5 DESCORTIÇAMENTO DO SOBREIRO | 28 |
| 1.6 PROCESSO DE PRODUÇÃO DE ROLHAS | 29 |
| 2. 2,4,6 – TRICLOROANISOL (TCA) E O <i>OFF FLAVOUR</i> DAS ROLHAS DE CORTIÇA | 33 |
| 2.1 DETEÇÃO DE TCA | 37 |
| 2.2 REDUÇÃO/ELIMINAÇÃO DE TCA | 38 |
| 3. ENQUADRAMENTO E OBJECTIVOS | 43 |
| 4. MATERIAIS E MÉTODOS | 44 |
| 4.1 AMOSTRAS | 44 |
| 4.1.1 FASE PRELIMINAR | 44 |
| 4.1.2 1ª FASE | 44 |
| 4.1.3 2ª FASE | 44 |
| 4.2 METODOLOGIAS | 45 |
| 4.2.1 ANÁLISE ORGANOLÉPTICA | 45 |
| 4.2.2 DETEÇÃO ORGANOLÉPTICA DE ROLHAS CONTAMINADAS COM 2,4,6 - TRICLOROANISOL | 45 |
| 4.2.3 MACERAÇÃO DAS ROLHAS PARA A DETERMINAÇÃO DE 2,4,6 – TRICLOROANISOL LIBERTÁVEL POR HS- SPME-GC/MS OU HS-SPME-GC/ECD | 46 |
| 4.2.4 DETERMINAÇÃO DE 2,4,6 – TRICLOROANISOL LIBERTÁVEL | 47 |
| 4.2.5 MEDIÇÃO DAS DIMENSÕES, MASSA E HUMIDADE | 48 |
| 4.2.6 ANÁLISE DA CLASSE VISUAL | 48 |
| 4.2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA | 48 |
| 5. PROCEDIMENTO | 50 |
| 6. DISCUSSÃO E RESULTADOS | 52 |
| 6.1 FASE PRELIMINAR | 52 |
| 6.2 1ª FASE | 53 |
| 6.2.1 VARIAÇÃO DE $[TCA]_{LIBERTÁVEL}$ | 53 |
| 6.2.2 VARIAÇÃO SENSORIAL | 55 |
| 6.2.3 VARIAÇÃO DE $[TCA]_{LIBERTÁVEL}$ APÓS REDUÇÃO DO DIÂMETRO | 55 |

| | | |
|----------------|--|-----------|
| 6.2.4 | VARIAÇÃO SENSORIAL APÓS REDUÇÃO DO DIÂMETRO..... | 59 |
| 6.2.5 | VARIAÇÃO DIMENSIONAL, DA MASSA E DA HUMIDADE..... | 60 |
| 6.2.6 | ANÁLISE DA CLASSE VISUAL | 61 |
| 6.3 | 2ª FASE | 63 |
| 6.3.1 | VARIAÇÃO DA $[TCA]_{LIBERTÁVEL}$ | 63 |
| 6.3.2 | VARIAÇÃO SENSORIAL..... | 64 |
| 6.3.3 | VARIAÇÃO DIMENSIONAL, DA MASSA E DA HUMIDADE | 64 |
| 7. | CONCLUSÕES | 66 |
| ANEXO I | | 74 |

Índice de figuras

| | |
|--|----|
| Fig. 1 - Logótipo do Grupo Amorim | 17 |
| Fig. 2 - Organigrama do Grupo Amorim..... | 18 |
| Fig. 3 - Representação da secção axial da cortiça de <i>Quercus Suber</i> ; (A) cortiça, (B) câmbio súbero-felogénico, (C) felogénio, (D) floema, (E) câmbio floema-madeira, (F) madeira, (G) casca, (H) canais lenticulares, (I) área de produção de rolhas, (J) anéis de crescimento do sobreiro | 19 |
| Fig. 4 - Estrutura da parede celular da cortiça do sobreiro; (T) Parede terciária, (S) Parede secundária, (W) ceras e suberina, (P) Parede primária, (M) Lamela média, (Le) Lenticelas2. | 20 |
| Fig. 5 - Constituintes químicos da cortiça e a sua abundância. | 21 |
| Fig. 6 - Modelo proposto para a estrutura da suberina do sobreiro. Adaptado25 | 22 |
| Fig. 7 - Percursos da lenhina: (1) álcool p-cumarílico, (2) álcool sinapílico, (3) álcool coniferílico. | 23 |
| Fig. 8 - Exemplo de compostos fenólicos lipofílicos extraíveis da cortiça. (1) ácido betulínico elágico, (2) friedelina e ácido gálico, (3) betulina ácido vanílico. | 24 |
| Fig. 9 - Exemplo de compostos fenólicos extraíveis da cortiça. (1) Ácido elágico, (2) ácido gálico, (3) ácido vanílico (4) ácido 3,4-di-hidroxibenzóico..... | 25 |
| Fig. 10 - Tipos de rolhas de cortiça. A) Natural; B) Colmatada; C) Técnica; D) Aglomerada; E) Champanhe; F) Capsulada; G) Natural Multipeça. | 26 |
| Fig. 11 - Fluxograma da produção de rolhas capsuladas onde existem duas fases, a fase do fornecedor (a azul) e a fase Top Series (a verde). | 29 |
| Fig. 12 - Estrutura química do anisol e dos principais halofenóis e correspondentes haloanisóis envolvidos na contaminação do vinho. | 34 |
| Fig. 13 - Mecanismos de biossíntese que explicam a origem do TCA na cortiça. (1) Síntese directa por biometilação do pesticida TCP, (2) Síntese por halogenação do anisol, (3) Cloração na presença de hipoclorito de sódio e subsequente biometilação do fenol, (4) Desalogenação de anisóis altamente clorados, (5) Catabolismo de compostos altamente clorados ⁶² | 36 |

| | |
|---|----|
| FIG. 14- EQUIPAMENTO INDUSTRIAL DO PROCESSO INOS II. (A) TAMBOR DE REDE DE ALIMENTAÇÃO DE ROLHAS. (B) PROCESSO DE DESINFECÇÃO INOS II; (1) CÂMARA DAS ROLHAS, (2) RESERVATÓRIO DA ÁGUA, (3) CÂMARA DE TRANSIÇÃO ENTRE A CÂMARA DAS ROLHAS E OS TUBOS DE AR COMPRIMIDO, VÁCUO E AR ATMOSFÉRICO, (4) MONITOR DE CONTROLO DO EQUIPAMENTO INDUSTRIAL..... | 41 |
| FIG. 15 – UM FRASCO DE MACERAÇÃO COMPOSTA (A) OU MACERAÇÃO INDIVIDUAL (B).. | 46 |
| FIG. 16 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO PROCEDIMENTO DA 1ª FASE, DIVIDIDA EM DUAS VIAS. A VIA A (A AZUL) SISTEMATIZA A METODOLOGIA PARA AVALIAR VARIAÇÃO DA [TCA]LIBERTÁVEL COM O INOS II E A VIA B (A VERDE) SISTEMATIZA A METODOLOGIA PARA AVALIAR A PROFUNDIDADE DO EFEITO INOS II ATRAVÉS DA ANÁLISE DA VARIAÇÃO [TCA]LIBERTÁVEL COM A REDUÇÃO DO DIÂMETRO DE 1,2 MM E ASSIM EXPOR UMA NOVA SUPERFÍCIE DA ROLHA..... | 51 |
| FIG. 17- VALORES DE [TCA]LIBERTÁVEL MÉDIO DOS LOTES 30X21,5 RAÇA ANTES E DEPOIS DE SEREM PROCESSADOS PELO INOS II. DADOS DE 2014. | 52 |
| FIG. 18 – VALORES DE [TCA]LIBERTÁVEL MÉDIO ANTES E DEPOIS DA AMOSTRA SER PROCESSADA PELO INOS II. | 53 |
| FIG. 19 – PERCENTAGEM DE ROLHAS QUE SOFREU AUMENTO, DIMINUIÇÃO OU NENHUMA ALTERAÇÃO NO [TCA]LIBERTÁVEL COM O PROCESSO INOS II..... | 54 |
| FIG. 20 – PERCENTAGEM DE ROLHAS ONDE OCORREU VARIAÇÃO DA [TCA]LIBERTÁVEL APÓS A REDUÇÃO DO DIÂMETRO. GRUPO DE ROLHAS COM [TCA]LIBERTÁVEL $\leq 1,5$ NG/L ANTES DA REDUÇÃO DO DIÂMETRO. | 56 |
| FIG. 21 – VARIAÇÃO MÉDIA DA PERCENTAGEM DE ROLHAS QUE SOFRERAM AUMENTO OU DIMINUIÇÃO DO [TCA]LIBERTÁVEL APÓS REDUÇÃO DO DIÂMETRO. | 56 |
| FIG. 22- PERCENTAGEM DE ROLHAS ONDE OCORREU VARIAÇÃO DA [TCA]LIBERTÁVEL APÓS A REDUÇÃO DO DIÂMETRO. GRUPO DE ROLHAS COM [TCA]LIBERTÁVEL $> 1,5$ NG/L ANTES DA REDUÇÃO DO DIÂMETRO. | 57 |
| FIG. 23 - VARIAÇÃO MÉDIA DA PERCENTAGEM DE ROLHAS QUE SOFRERAM AUMENTO OU DIMINUIÇÃO DA [TCA]LIBERTÁVEL APÓS REDUÇÃO DO DIÂMETRO. | 58 |
| FIG. 24 - DESVIOS SENSORIAIS DETECTADOS ATRAVÉS DA ANÁLISE SENSORIAL EM ROLHAS QUE SOFRERAM REDUÇÃO DO DIÂMETRO, SEM E COM INOS II..... | 59 |
| FIG. 25 - ANÁLISE DA CLASSE VISUAL DO LOTES E DAS ROLHAS UTILIZADAS NA DETERMINAÇÃO DA [TCA]LIBERTÁVEL E ANÁLISE DAS DIMENSÕES, MASSA E HUMIDADE..... | 61 |
| FIG. 26- PERCENTAGEM DE ROLHAS QUE SOFREU AUMENTO OU DIMINUIÇÃO NA [TCA]LIBERTÁVEL COM O PROCESSO INOS II..... | 63 |

FIG. 27 – PERCENTAGEM DE ROLHAS QUE SOFREU VARIAÇÃO DO COMPRIMENTO (A) E DO DIÂMETRO MÉDIO (B) DEPOIS DE serem processadas pelo INOS II. 64

Índice de tabelas

| | |
|---|----|
| TABELA 1- DESCRIÇÃO DE CADA TIPO DE ROLHA E INDICAÇÃO DA BEBIDA DE DESTINO. | 27 |
| TABELA 2 – A FASE DO FORNECEDOR, 1ª FASE DO PROCESSO DE PRODUÇÃO DE ROLHAS..... | 30 |
| TABELA 3 - A FASE TOP SERIES, 2ª FASE DO PROCESSO DE PRODUÇÃO DE ROLHAS..... | 31 |
| TABELA 4 - NÍVEL MÍNIMO DE DETEÇÃO SENSORIAL DE ALGUNS COMPOSTOS RESPONSÁVEIS PELOS DESVIOS ORGANOLÉPTICOS NAS BEBIDAS..... | 33 |
| TABELA 5 – VALORES OBTIDOS DA VARIAÇÃO DIMENSIONAL, DA MASSA E DO NÍVEL DA HUMIDADE DAS ROLHAS PROCESSADAS PELOS INOS II... | 60 |

Abreviaturas

CIPR - Código Internacional das Práticas Rolheiras

I&D – Amorim & Irmãos, S.A.- Departamento de Investigação & Desenvolvimento

ROSA - *Rate of Optimal Steam Application*

TCA – 2,4,6-tricloroanisol

NASA - *NationalAeronauticsandSpaceAdministration*

ESA - Agência Espacial Europeia

NQ – Não quantificável.

Preâmbulo

Para a realização deste estágio foram estabelecidos vários objectivos, nomeadamente no âmbito da investigação da tecnologia de redução/eliminação de 2,4,6 – tricloroanisol (TCA), assim como acompanhar e ajudar na elaboração de um projecto e funções que se encontram confidenciais pela empresa. Este projecto, de cariz confidencial, relaciona-se com adesivos e as funções passam pela gestão/acompanhamento do controlo de TCA dos lotes de vários fornecedores recepcionados pela empresa, assim como execução do controlo de tratamento de superfície ou pó. Sobre o projecto e as funções apresentamos os seguintes campos:

- pesquisa e validação de compostos adesivos inovadores para capsulagem, onde se inclui testes de resistência térmica, tracção, resistência ao álcool e extracção.

- controlo de 2,4,6- tricloroanisol dos lotes recepcionados, onde se inclui a realização de macerações e análise sensorial.

- controlo do tratamento de superfície ou pó, onde se inclui a quantificação do tratamento superfície ou pó.

Assim o estágio curricular forneceu uma experiência em ambiente empresarial real para além de apenas ser focado na investigação.

1. Introdução

1.1 Cortiça: História, aplicações e sustentabilidade

A casca da *Quercus Suber* (árvore Sobreiro, instituído por unanimidade “Árvore Nacional” em 2011 pela Assembleia da República Portuguesa) mais conhecida por cortiça é utilizada pelo ser humano há milhares de anos¹. A floresta de sobre situa-se na bacia ocidental do Mediterrâneo. Desde o Antigo Egipto e passando pela Grécia Antiga a cortiça é aplicada nas mais variadas utilizações na vedação de utensílios, em instrumentos domésticos, e de caça, bem como no revestimento de casas e bóias dos navios, em especial na época nos descobrimentos portugueses¹.

Actualmente, a valorização da cortiça tem aumentado bastante com o aprofundamento do conhecimento das suas características e novas potenciais aplicações².

A cortiça apresenta várias características, entre elas: elevada capacidade de isolamento térmico³; acústico e vibracional; é hipoalergénica; leve e flutuante; tem elevada elasticidade e compressibilidade e resistência ao fogo, a altas temperaturas e ao atrito; é impermeável a líquidos e gases, e é resistente à degradação natural e reciclável^{1,2}. Tendo em conta todas estas características a cortiça tem sido utilizada para vários fins: produção de rolhas, produção de revestimentos térmicos e acústicos nas áreas de construção e automóvel, utilizada nos materiais desportivos aumentando a performance dos desportistas, utilizada na indústria têxtil e design de interiores e protecção do meio ambiente. Neste último permite a absorção quase instantânea de óleos e solventes orgânicos, excepto a água^{4,5}.

Um aspecto a realçar no uso da cortiça é a sua sustentabilidade. A cortiça permite uma fácil reciclagem e reutilização devido à sua flexibilidade e resistência. No âmbito da indústria rolheira, esta promove o uso de ecopontos para rolhas usadas que irão ser transformadas noutros artigos do dia-a-dia, tais como roupas, revestimentos, entre outros. Além disso um estudo verificou que a pegada de carbono da aplicação de cortiça em rolhas é 10 a 26 vezes inferior do que as rolhas de plástico e alumínio, respectivamente⁶. Assim, a cortiça é classificada como um elemento natural e sustentável com uma variedade múltipla de utilizações

1.2 A Amorim & Irmãos, S.A. e a cortiça

Sendo Portugal o maior produtor e exportador mundial de cortiça⁷ a empresa Amorim & Irmãos, S.A. destaca-se pela internacionalização e alta valorização da cortiça⁸.

Desde 1870 que o Grupo Amorim rege-se pelo lema “nem um só mercado, nem um só cliente, nem uma só divisa, nem um só produto” com o logótipo que o representa conforme Fig. 1. O Grupo aumentou o valor da cortiça através da diversificação das suas aplicações, bem como a sua promoção e investigação e desenvolvimento⁸. Por isso, a sua assinatura está nas rolhas dos melhores vinhos, nos mais improváveis objectos do quotidiano, artigos de desporto olímpico, absorventes de óleos e solventes orgânicos, obras de referência mundial, projectos rodoviários e ferroviários de última geração, naves espaciais, entre outros. Neste sentido rege a sua presença mundial através das 30 unidades industriais, 84 empresas e 296 principais agentes⁹.



Fig. 1 - Logótipo do Grupo Amorim

Com uma estratégia de verticalização de negócio, o Grupo Amorim centrou os seus interesses na Corticeira Amorim S.G.P.S, S.A. que se organizou em 3 macroáreas, Amorim *Cork Composites*, Amorim *Cork Research* e Amorim *Natural Cork*. Estas dividem-se nas seguintes unidades de negócio¹⁰:

- Amorim Florestal, S.A. - responsável pelas actividades de descortiçamento, compra, armazenagem e preparação da matéria-prima, a cortiça¹¹.
- Amorim & Irmãos, S.G.P.S., S.A. – responsável pelo processamento, produção e fornecimento de rolhas de cortiça. Esta unidade de negócio inclui a unidade industrial *Top Series Unit (TS Unit)*¹² responsável pela produção de rolhas de cortiça capsuladas¹³.

- Amorim *Cork Composites*, S.A. - responsável pela pesquisa, desenvolvimento e produção de novos aglomerados compósitos de cortiça, como por exemplo os materiais de protecção das naves espaciais da NASA (*NationalAeronauticsandSpaceAdministration*) e da ESA (Agência Espacial Europeia)¹⁴.
- Amorim Revestimentos, S.A – responsável pela produção e processamento de pavimentos e revestimentos que se conjugam com as características da cortiça¹⁵.
- Amorim Isolamentos, S.A. - responsável pelo processamento de aglomerados de cortiça tais como isolamentos térmicos e acústicos e de uma gama de absorventes hidrofóbicos¹⁶.
- Amorim *Cork Research &Services*, Lda.– responsável pela optimização de processos e de tecnologias e a concepção de novos produtos e negócios¹⁷.

Assim, o Grupo organiza-se de acordo com a Fig. 2.

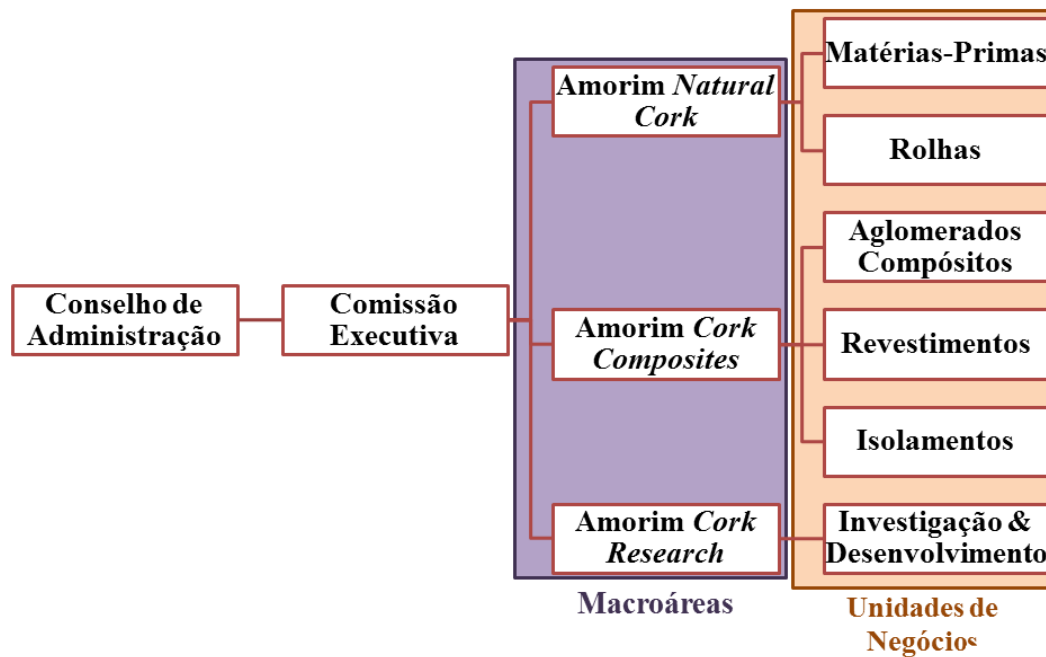


Fig. 2 - Organograma do Grupo Amorim.

1.3 A cortiça

1.3.1 A biologia e química da cortiça

1.3.1.1 Estrutura histológica e celular da cortiça

Quercus Suber L. apresenta a habilidade de manter o seu felema suberoso durante toda a vida. O felema ou cortiça é originado pelo felogénio, que apresenta capacidade merismática, onde, depois da divisão celular as células novas não apresentam as suas dimensões finais e por isso prosseguem o seu crescimento no protoplasma, desta maneira o felogénio engrossa e aumenta o perímetro do tronco (Fig. 3)². Como o felogénio só apresenta actividade entre Abril-Outubro a cortiça apresentará vários anéis de crescimentos anuais escuros, assinalando o final da produção de felema. Com este ciclo de biogénese da cortiça, esta apresentará canais lenticulares denominados de lenticelas que são responsáveis pelas trocas de água e gasosas do tecido meristemático. Assim, deste modo, o descortiçamento permite aumentar a perda de água da parte exposta o que pode causar uma diminuição na actividade estomatal². O descortiçamento ocorre no pico da biogénese da cortiça, visto que o felogénio permite uma fácil remoção. O descortiçamento é renovável e acontece sem qualquer prejuízo na integridade da cortiça.

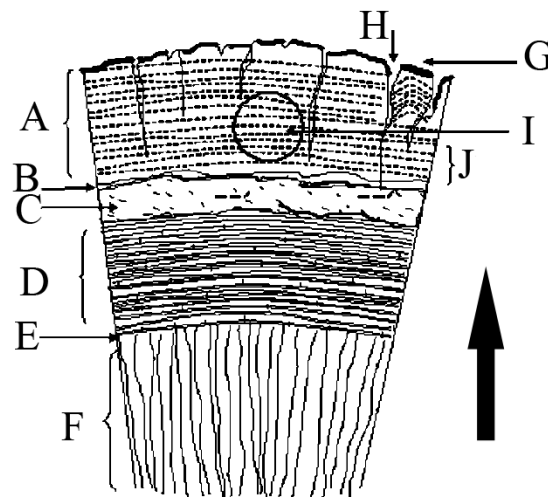


Fig. 3 - Representação da secção axial da cortiça de *Quercus Suber*; (A) cortiça, (B) câmbio súbero-felogénico, (C) felogénio, (D) floema, (E) câmbio floema-madeira, (F) madeira, (G) casca, (H) canais lenticulares, (I) área de produção de rolhas, (J) anéis de crescimento do sobreiro

A parede celular das células mortas da cortiça é constituída por 3 paredes: primária, secundária e terciária (Fig. 4). A parede primária é rica em lignina e apresenta os poros celulares, a parede secundária é constituída maioritariamente por suberina e, também, possui várias ceras e a parede terciária apresenta vários polissacarídeos, como por exemplo a celulose².

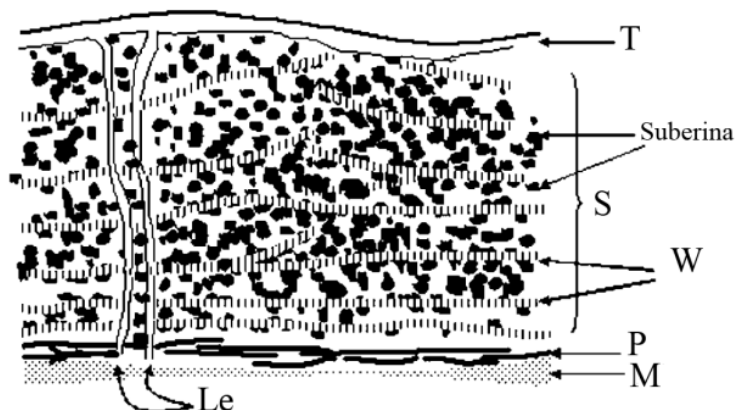


Fig. 4 - Estrutura da parede celular da cortiça do sobreiro; (T) Parede terciária, (S) Parede secundária, (W) ceras e suberina, (P) Parede primária, (M) Lamela média, (Le) Lenticelas².

1.3.1.2 Constituição química da cortiça

A composição química da cortiça tem sido vastamente estudada e verifica-se ser dependente das condições de crescimento, clima, origem genética, dimensões da árvore, idade, condições do solo e origem geográfica¹⁸.

Os constituintes químicos da cortiça são, por ordem decrescente de abundância: suberina (24-70%), lenhina (17-22%), polissacarídeos (11-20%) e extractáveis (8-18%)¹⁸⁻²² (Fig. 5).

Logo, a complexidade química presente na cortiça ajuda a explicar as suas diversas características.

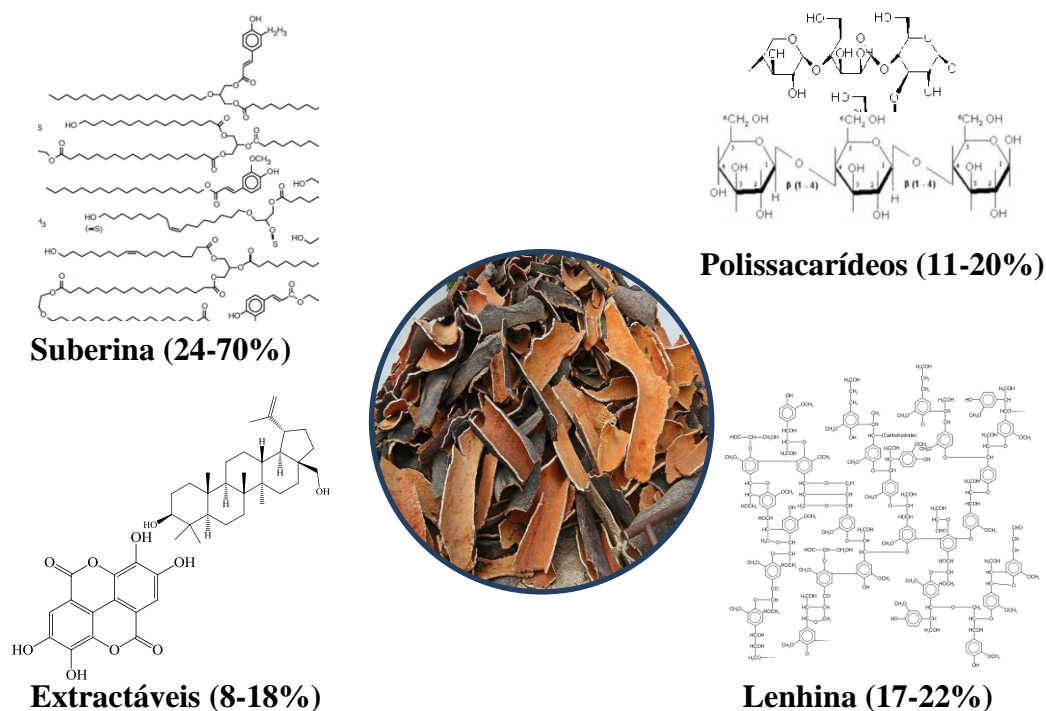


Fig. 5 -Constituintes químicos da cortiça e a sua abundância.

Suberina

A suberina um poliéster reticulado constituído por um domínio alifático, composto por ω -hidroxiácidos gordos, ácidos α,ω -dicarboxílicos, ligados entre si por unidades de glicerol e ligações éster (Fig. 6)., e cadeias médias homólogas de di-hidróxidos ou derivados de epóxidos^{2,23}. A suberina possui, ainda um domínio aromático irregularmente substituído por unidades fenólicas, nomeadamente ácido ferúlico e que estão unidas por ligações éster¹⁸. Os dois domínios podem ser encontrar incorporados um no outro e quando isto se observa o domínio aromático é constituído, sobretudo por unidades de ácido ferúlico esterificadas com glicerol ou ω -hidroxiácidos gordos²⁴.

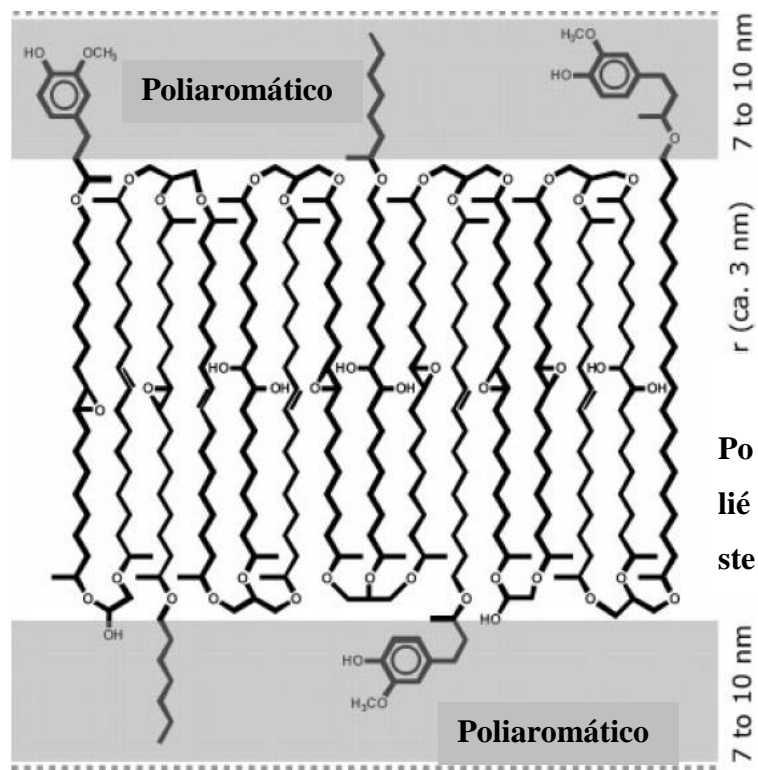


Fig. 6 - Modelo proposto para a estrutura da suberina do sobreiro. Adaptado²⁵

Lenhina

O segundo constituinte químico maioritário da cortiça é a lenhina, resultante da polimerização enzimática de 3 precursores, nomeadamente o álcool *p*-cumarílico, o álcool sinápico e o álcool coniferílico (Fig. 7)^{26,27}.

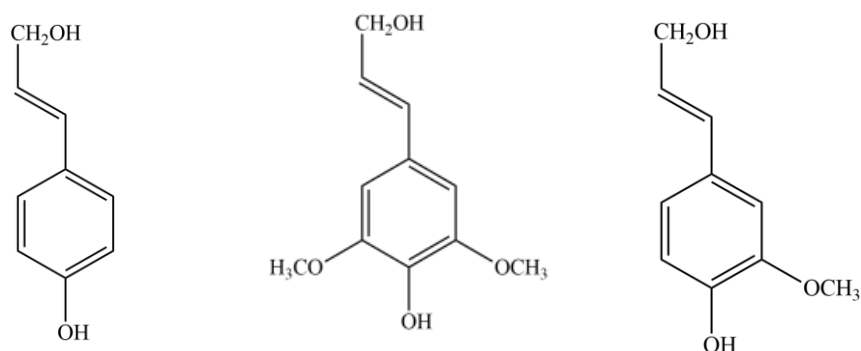


Fig. 7 - Percursos da lenhina: (1) álcool p-cumarílico, (2) álcool sinapílico, (3) álcool coniferílico.

A lenhina caracteriza-se assim como um heteropolímero amorfo, reticulado e não regular, o que ajuda a explicar a rigidez e resistência da cortiça².

Polissacarídeos

Ao nível dos polissacarídeos, a cortiça possui, geralmente, em proporções iguais, celulose e hemicelulose²⁸.

A celulose é um polímero linear constituído por unidades de β -D-glucopiranosose ligadas entre si por ligações glicosídicas β -(1 \rightarrow 4).

As hemiceluloses são um grupo de heteropolissacarídeos que possuem uma estrutura ramificada, amorfa e com peso molecular muito inferior à celulose.

Extractáveis

Os extractáveis são um grupo de compostos que não se encontram quimicamente ligados às paredes celulares e por isso são facilmente extraíveis por extracção de solventes. Com a investigação aprofundada e contínua dos extractáveis verifica-se que este grupo de compostos possui uma enorme variedade de compostos podendo ser divididos em dois sub-grupos: hidrofílicos²⁹⁻³¹ visto que são extraíveis com solventes polares (por exemplo, água ou etanol) e lipofílicos³²⁻³⁵ visto que são extraíveis com solventes apolares (por exemplo, diclorometano). Os principais compostos lipofílicos são triterpenos (friedelina,

betulina, ácido betulínico e esteróis) correspondendo a cerca de 50% dos extractáveis lipofílicos (Fig. 8)^{18,32,33}.

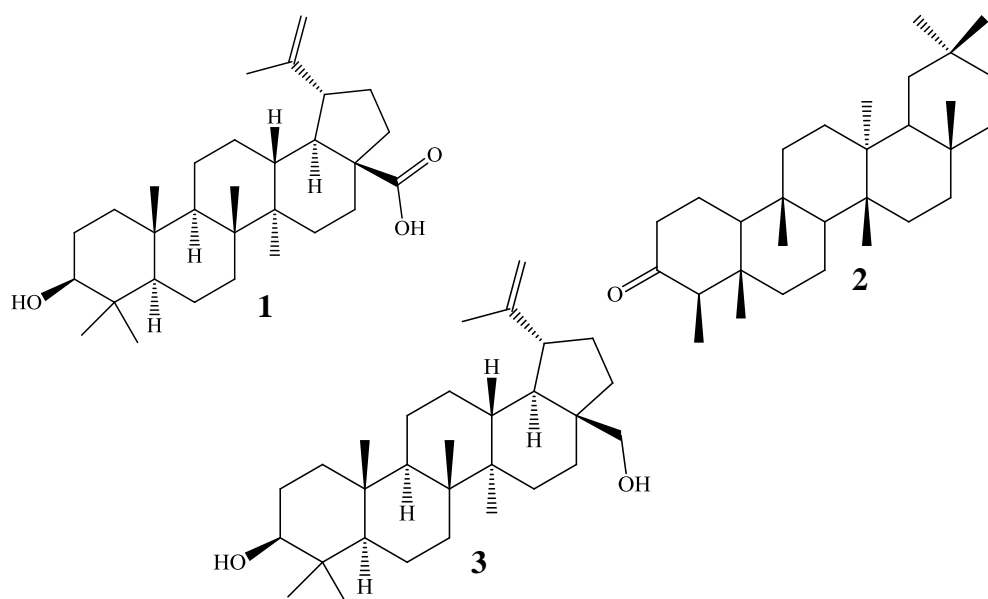


Fig. 8 - Exemplo de compostos fenólicos lipofílicos extraíveis da cortiça. (1) ácidobetulínico, (2) friedelina, (3) betulina.

Os compostos hidrofílicos ocupam a maior fatia dos extractáveis sendo constituídos por compostos fenólicos e taninos. Os compostos fenólicos de baixo peso podem ser derivados de fenóis, ácidos fenólicos, ácidos benzóicos e ácidos cinâmicos^{29,30,36,37}. Os ácidos fenólicos, sendo o grupo mais abundante, são constituídos por ácido gálico (sobretudo glicolisados), derivados do ácido elágico, ácido 3,4-di-hidroxibenzóico e o ácido vanílico (Fig. 9)³⁸.

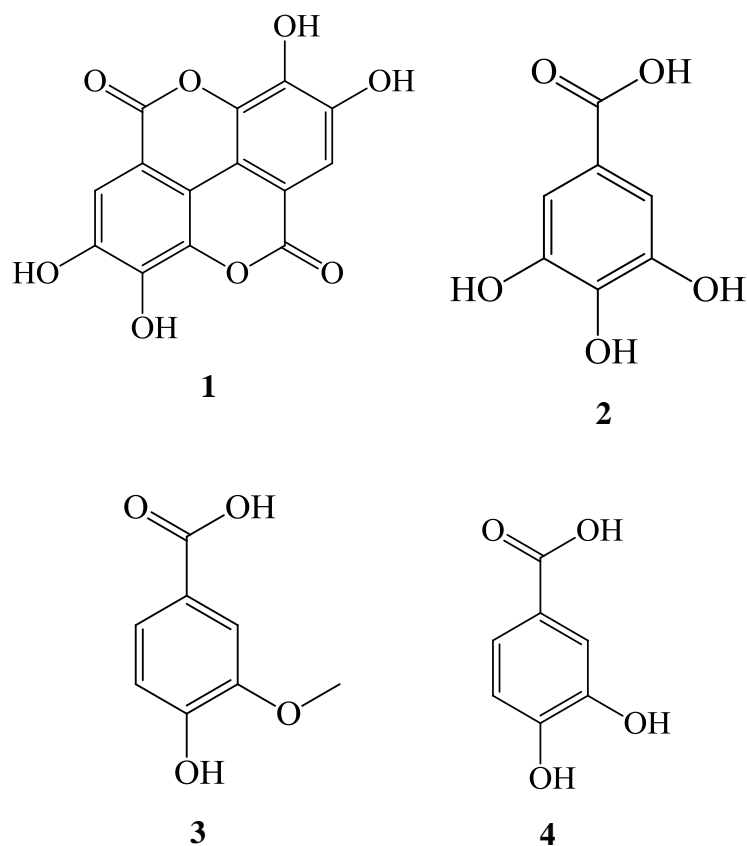


Fig. 9 - Exemplo de compostos fenólicos extraíveis da cortiça. (1) Ácido elágico, (2) ácido gálico, (3) ácido vanílico (4) ácido 3,4-di-hidroxibenzoico.

Os taninos presentes na cortiça são polímeros fenólicos e estão divididos em dois grupos, taninos hidrolisáveis e proantocianidinas^{39,40}. Dos taninos hidrolisáveis dois grupos de compostos estão em maior abundância, os elagitaninos (roburinas A e E, grandinina e castalagina) e os derivados do ácido elágico. As proantocianidinas são responsáveis pela sensação de adstringência nas bebidas.

1.4 Tipos de rolhas de cortiça

A indústria corticeira oferece um vasto leque de rolhas de cortiça (Fig. 10) sendo cada tipo de rolha ideal para diferentes tipos de bebidas. Este leque é constituído pela tradicional rolha de cortiça natural, mas também por rolhas mais complexas, sendo exemplo disso as rolhas com cápsula ou rolhas aglomeradas com discos de cortiça em cada topo. A Tabela 1 contém informação mais detalhada sobre cada tipo de rolha.

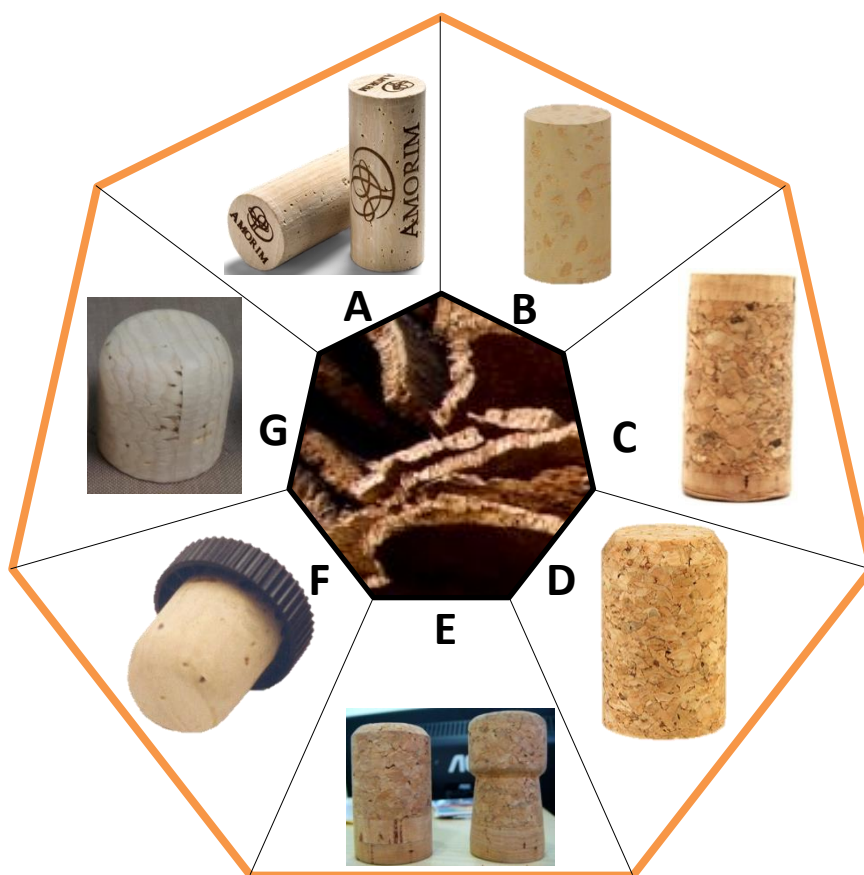


Fig. 10 - Tipos de rolhas de cortiça. A) Natural; B) Colmatada; C) Técnica; D) Aglomerada; E) Champanhe; F) Capsulada; G) Natural Multipeça.

Tabela 1- Descrição de cada tipo de rolha e indicação da bebida de destino.

| Tipo de rolha | Descrição |
|--|---|
| <p>A) Natural</p> | <p>A hermeticidade assegurada pela rolha de cortiça natural proporciona que este tipo de rolha seja indicado para bebidas de longo estágio, nomeadamente o vinho. Com a prolongação do estágio a rolha de cortiça natural permite uma excelente maturação do vinho formando um “bouquet” aromas único através de processos físico-químicos. As rolhas naturais encontram-se divididas em classes, segundo critérios visuais: Flor; Extra; Superior; 1º; 2º; 3º; 4º; 5º. A diferenciação das classes é feita em função do grau de porosidade da rolha^{41,42} o que afecta a sua performance como vedante e tem influência na absorção/libertação de compostos químicos, como o TCA.</p> |
| <p>B) Colmatada</p> | <p>Com a diminuição da classe da rolha natural está associado a aumento do grau de lenticelas (poros) e por sua vez uma diminuição da performance da rolha, por isso, tornou-se interessante usar pó de cortiça para preencher as lenticelas e deste modo melhorar tanto a performance como também o aspecto visual da rolha. O nível de colmatagem varia dependendo do tipo de garrafa e período de estágio, no entanto este tipo de rolha é indicado para bebidas de estágio médio^{41,43}.</p> |
| <p>C) Técnica</p> | <p>As rolhas técnicas são constituídas por um corpo de cortiça aglomerada com discos de cortiça num topo e/ou no outro topo. Como apresentam um corpo homogéneo, as rolhas técnicas são indicadas para bebidas com estágio de 2-3 anos^{41,44}</p> |
| <p>D) Aglomerada</p> | <p>As rolhas aglomeradas são fabricadas com recurso aos sub-produtos da fabricação de rolhas tornando-se um exemplo da reciclagem de cortiça. As rolhas aglomeradas permitem uma excelente vedação até 24 meses^{41,45}</p> |
| <p>E) Champanhe</p> | <p>As rolhas de champanhe são especialmente concebidas para vedar champanhe, vinhos espumantes ou vinhos espumosos (gaseificados) e</p> |

| | |
|------------------------------------|--|
| | sidra. Este tipo de rolha tem um maior diâmetro, imprescindível para suportar as elevadas pressões existentes nas garrafas de vinhos com gás ^{41,46} . |
| F) Capsulada | As rolhas capsuladas são perfeitas para bebidas prontas a serem consumidas e que não são consumidas de uma só vez (por exemplo, vinhos licorosos/generosos ou em bebidas espirituosas) visto que permitem uma fácil reutilização e excelente vedação ^{41,47} . A <i>Top Series Unit</i> produz unicamente este tipo de rolhas apresentando ao cliente um largo leque de cápsulas para a rolha ¹² . |
| G) Natural Múltipla | As rolhas naturais múltipla são fabricadas a partir de duas ou mais peças de cortiça natural coladas entre si através de uma cola válida para estar em contacto com alimentos. As rolhas múltipla são também mais usadas em garrafas de grandes formatos, pois estas garrafas exigem calibres de rolha maiores e, como tal, mais difíceis de fabricar numa só peça ^{41,48} . |

Em suma, a cortiça permite a criação de um variado leque de rolhas para todos os tipos de bebidas e também, em parte, responsável pela maturação ideal da bebida.

1.5 Descortiçamento do sobreiro

Para usufruir do máximo potencial que o sobreiro permite, certos cuidados e certos procedimentos são cumpridos. Deste modo é possível obter o melhor tipo de cortiça indicada para a produção de rolhas, a cortiça *amadia*.

No 1º descortiçamento ou desbóia ocorre aos 25 anos de idade em sobreiros cujo perímetro do tronco, sobre a casca, medido a 2 metros do solo, exceda os 70 centímetros. A cortiça *virgem* obtida apresenta uma estrutura irregular e extrema dureza. Esta cortiça, não sendo ideal para o processamento da produção de rolhas, é utilizada em outras aplicações, como por exemplo, pavimentos ou isolamentos.

O 2º descortiçamento ocorre 9 anos depois do 1º descortiçamento onde se remove a cortiça *secundária*, até 2,5 metros do solo. Como também não apresenta a qualidade necessária para produção de rolhas, a cortiça secundária é triturada e transformada em

aglomerados. O 3º descortiçamento ocorre aos 43 anos sendo que daí se obtém a cortiça *amadia* cujo perímetro do tronco, medido a 3 metros do solo, excede os 70 centímetros. A partir deste momento, o sobreiro será descortiado durante 150 anos, de 9 em 9 anos, obtendo-se sempre a excelente qualidade de cortiça destinada à produção de rolhas.

Em suma, ao realizar diversos descortiçamentos é possível obter a matéria-prima ideal para a fabricação de rolhas não prejudicando o sobreiro.

1.6 Processo de produção de rolhas

A cortiça passa por etapas cuidadosamente definidas pelo Código Internacional das Práticas Rolheiras (CIPR)⁴⁹. Por ordem do processo de produção, passa-se por 5 etapas: preparação de uma matéria-prima destinada à produção de rolhas, fabricação de rolhas ou discos, semi-acabamento de rolhas e acabamento de rolhas totalmente inseridas no gargalo, rolhas capsuladas e rolhas para vinhos efervescentes. O CIPR possui toda a informação obrigatória para um produto final de sucesso, desde a remoção da cortiça da árvore até o produto chegar ao cliente com a máxima qualidade cumprindo todas as normas europeias.

No esquema seguinte representado na Fig. 11 encontra-se o processo simplificado da produção de rolhas capsuladas na *Top Series Unit*, cumprindo sempre o CIPR. Este processo é dividido em duas fases: a fase do fornecedor (Tabela 2) e a fase *Top Series Unit* (Tabela 3).

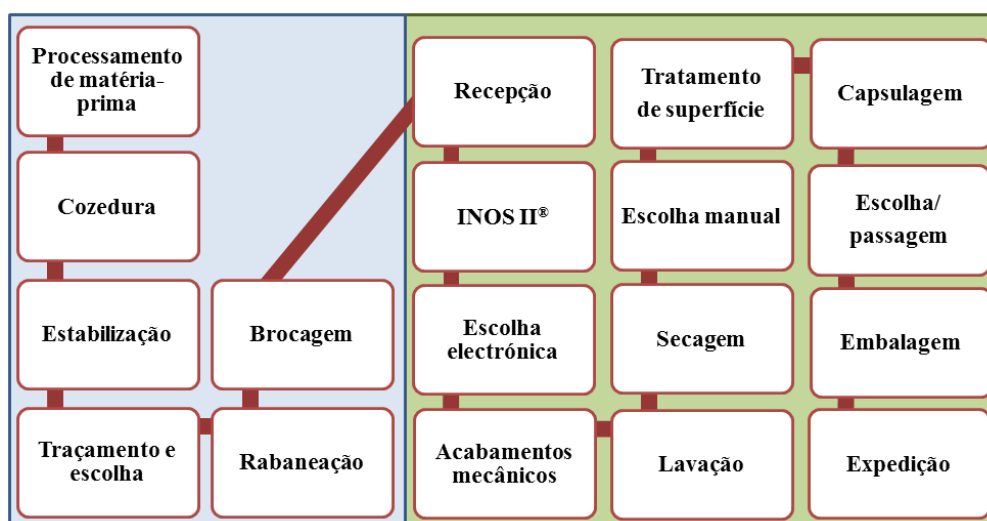


Fig. 11 - Fluxograma da produção de rolhas capsuladas onde existem duas fases, a fase do fornecedor (a azul) e a fase Top Series (a verde).

Tabela 2– A fase do fornecedor, 1ª fase do processo de produção de rolhas.

| | |
|--|--|
| <p>Processamento de matéria-prima</p> | <p>A seguir à extracção da cortiça do sobreiro em forma de prancha, esta passa por um período de repouso, onde permanecem expostas ao ar livre, ao sol e à chuva, no mínimo 6 meses. Estas pilhas são formadas tendo em conta as várias regras do CIPR, como por exemplo, não empilhar as pranchas em madeira ou no solo visto que pode ocorrer contaminação de fungos^{7,49}.</p> |
| <p>Cozedura</p> | <p>A cozedura é a primeira limpeza que a cortiça amadia sofre. As pranchas são imersas em água limpa e a ferver durante 1h onde irão ser extraídas substâncias hidro-sólúveis e outras impurezas. Assim é assegurado a redução de fungos e desinfecção de microrganismos tornando a cortiça mais macia e elástica para facilitar o seu processamento físico^{7,49}.</p> |
| <p>Estabilização</p> | <p>Depois da cozedura segue um período de estabilização que dura entre 1 a 4 semanas (máximo) para a prancha de cortiça aplanar e atingir 8-16% de humidade. Assim obtém-se uma consistência e teor de humidade homogéneos facilitando o traçamento^{7,49}.</p> |
| <p>Traçamento e escolha</p> | <p>Realiza-se o traçamento das pranchas, isto é, realiza-se um leve corte nas arestas das pranchas para analisar melhor a qualidade da cortiça, facilitando a separação das rolhas em diferentes classes. Também realiza-se uma escolha entre cortiça própria e imprópria para produção de rolhas em função da espessura e qualidade (aspecto visual)^{7,49}.</p> |
| <p>Rabaneação</p> | <p>Nesta fase preparam-se as pranchas com o tamanho adequado para obtenção de rolha. Consiste no corte das pranchas de cortiça em tiras com uma largura superior ao comprimento da rolha^{7,49}.</p> |
| <p>Brocagem</p> | <p>Na brocagem é obtida a rolha cilíndrica em conformidade com os limites dimensionais desejados através do processo manual ou semi-automático que consiste em perfurar a tira de cortiça com uma broca.</p> |

| | |
|--|---|
| | Segue-se uma breve rectificação dimensional e é expedido para o cliente, <i>Top Series Unit</i> ^{7,49} . |
|--|---|

Tabela 3 - A fase Top Series, 2ª fase do processo de produção de rolhas.

| | |
|------------------------------|--|
| Recepção e INOS II® | Imediatamente após a recepção na <i>TS Unit</i> dos lotes com rolhas dos fornecedores é realizado a análise do TCA, caso esteja em inconformidade, o lote segue para o INOS II®. No INOS II® é realizado uma lavagem através de ciclos de compressão e descompressão da rolha permitindo uma limpeza da rolha, assim reduz o nível de TCA. Como os objectivos deste trabalho envolvem o INOS II® este será mais aprofundado no capítulo 3.2.5 ^{7,12,49} . |
| Escolha electrónica | A escolha electrónica é a primeira fase de separação das rolhas nas suas diferentes classes visto que a <i>TS Unit</i> recebe os lotes de rolhas em raça (mistura de classes). Esta escolha usa uma selecção automática das classes baseada no contraste das lenticelas com a superfície da rolha ^{7,12,49} . |
| Acabamentos mecânicos | Nesta fase ocorre uma rectificação dimensional e uma modificação dos topos consoante o que o cliente desejar. Na rectificação dimensional ocorre o ponçamento, isto é alteração do diâmetro, e o topejamento, isto é, alteração do comprimento. Existindo a possibilidade de rolhas que não apresentaram contaminação de TCA na recepção, apresentarem após esta etapa contaminação de TCA, a TS UNIT realiza novamente a análise do TCA ^{7,12,49} . |
| Lavação e Secagem | A lavação das rolhas consiste em vários tipos de procedimentos pré-definidos utilizando peróxido de hidrogénio e hidróxido de sódio para atingir uma determinada cor, desinfectar e assegurar uma rolha sem qualquer tipo de detritos. A seguir à lavação segue-se uma secagem para restituir o teor de humidade correcto da rolha, cerca de 4-8% ^{7,12,49} . |

| | |
|--------------------------------------|--|
| Escolha manual | Nesta fase, o rigor e exigência da separação da rolha nas suas diferentes classes e da remoção das rolhas com defeitos é muito maior. Dependendo do lote, os operadores realizam o processo de aferição de classe e/ou remoção dos defeitos do ponto de vista do cliente. Este processo tem-se tornado cada vez mais maquinizado para acelerar e uniformizar o processo ^{7,12,49} . |
| Tratamento de superfície | Aqui é aplicado um tratamento na superfície na rolha que irá permitir um melhor deslize e estanquidade da rolha na garrafa. Como base no tratamento pré-escolhido este pode ter parafina ou silicone ^{7,12,49} . |
| Capsulagem e Escolha/passagem | A capsulagem da rolha é realizada com recurso a uma cola validada pela unidade industrial. A máquina insere a cola na rolha e de seguida insere a capsula com o design do cliente. Imediatamente a seguir à capsulagem é realizada uma breve passagem manual ou electrónica para eliminar rolhas capsuladas que tenham defeitos nas rolhas, defeitos nas cápsulas e defeitos de colagem ^{7,12,49} . |
| Embalagem e Expedição | Após a breve passagem as rolhas capsuladas são embaladas em sacos de polietileno cheios de SO ₂ e seladas sob vácuo, desta forma o desenvolvimento microbiológico é inibido. Depois dos sacos inseridos numa caixa de cartão, esta aguarda a sua expedição ^{7,12,49} . |

2. 2,4,6 – Tricloroanisol (TCA) e o *offflavour* das rolhas de cortiça

Na indústria da produção de vinho existe um conjunto de compostos que provocam um gosto indesejável a mofo/bolor⁵⁰⁻⁵². Este grupo de compostos é de extrema importância para a indústria das bebidas alcoólicas, sobretudo para a vinícola. Não sendo tóxico na sua concentração presente nas bebidas, estes compostos contaminam-nas com o gosto indesejável a mofo/rolha, e conseqüentemente pode criar má reputação à marca tanto da rolha, como da bebida resultando na perda de clientes de milhões de euros.

Esse grupo de compostos são halofenóis e haloanisóis, podendo ter na sua composição dois tipos de halogénios, cloro ou bromo (Fig. 12)⁵³. Os compostos indesejáveis podem ser, por exemplo: o 2,4,6-tricloroanisol (TCA), o 2,3,4,6-tetracloroanisol (2,3,4,6-TeCA), o pentacloroanisol (PCA) ou 2,4,6-tribromoanisol (2,4,6-TBA). Dentro deste grupo destaca-se o TCA pelo seu baixo limite de deteção sensorial em soluções alcoólicas, pela sua grande abundância na cortiça e pelo seu grande efeito supressor na transdução do sinal olfativo^{50,54} (Tabela 4).

Tabela 4 - Nível mínimo de deteção sensorial de alguns compostos responsáveis pelos desvios organolépticos nas bebidas.

| Composto | Nível mínimo de deteção sensorial |
|--------------|---|
| TCA | Em água: 30-300 pg/L ^{55,56} Em solução alcoólica: (vinho): 1,5-3 ng/L ⁵⁷ |
| 2,3,4,6-TeCA | Em água: 4 ng/L ⁵⁶ Em solução alcoólica: (vinho): <ul style="list-style-type: none">• 10-15 ng/L (vinho branco e vinho tinto)⁵²• 5 ng/L (espumantes)⁵² |
| PCA | Nível de deteção muito alto, > 50 (g/L) ⁵² |
| 2,4,6-TBA | Em água: 8 - 30 pg/L ^{58,59} Em solução alcoólica: (vinho): 3,4 ng/L ⁵² |

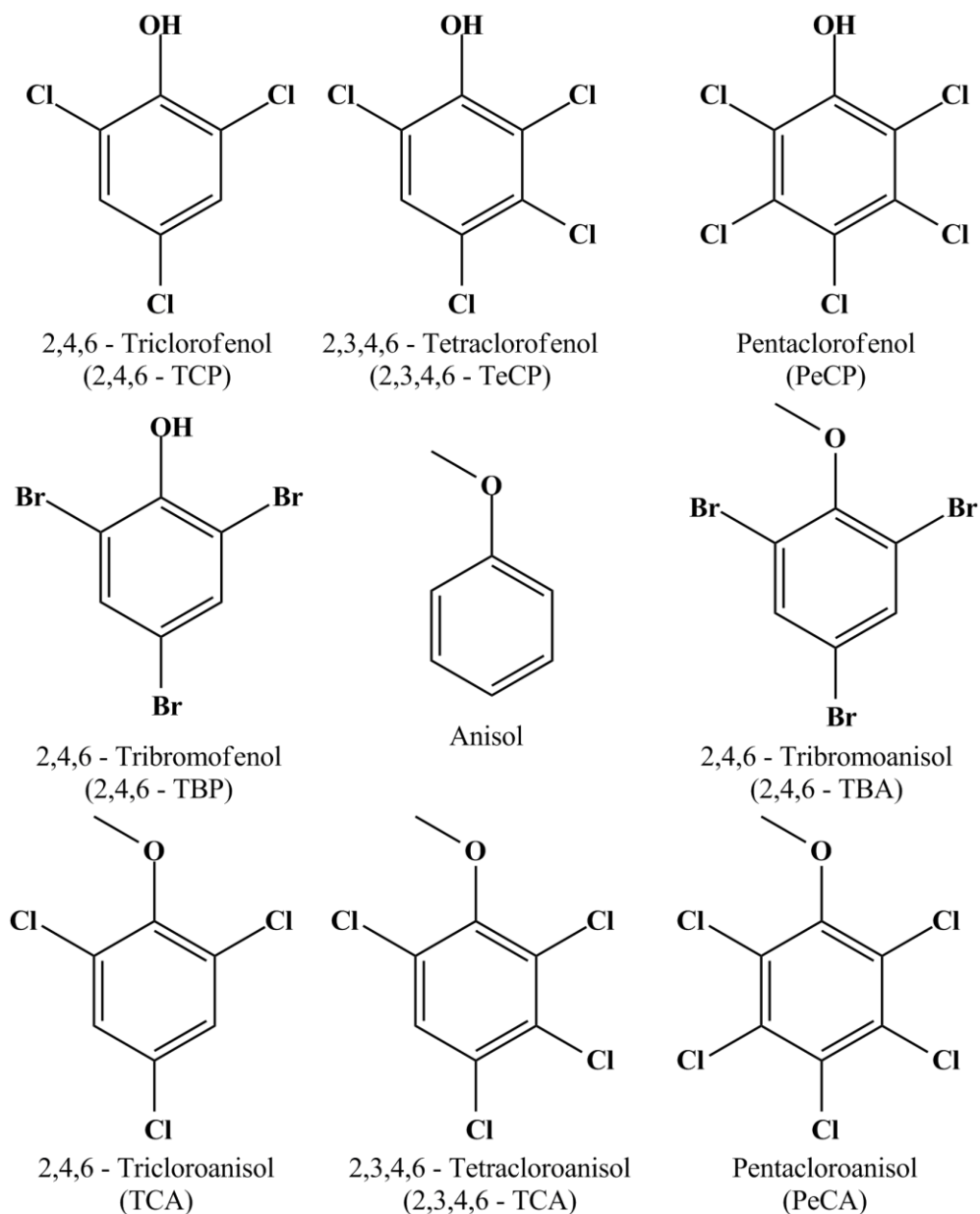


Fig. 12 - Estrutura química do anisol e dos principais halo-fenóis e correspondentes haloanisóis envolvidos na contaminação do vinho.

A origem do TCA, de outros cloroanisóis e clorofenóis é antropogénica. Ao longo das décadas, devido ao uso massivo de pesticidas com clorofenóis e aos intermediários clorofenólicos da indústria, o TCA e outros cloroanisóis e clorofenóis, responsáveis pelo *offflavour* nas bebidas tornaram-se omnipresentes na natureza. A síntese de TCA,

normalmente, é efectuada por fungos filamentosos, como por exemplo, *Fusarium* sp. ou *Penicillium* sp.⁶⁰, realizando a biometilação intracelular de TCP com recurso à enzima clorofenol *O*-metiltransferase⁶¹ para se protegerem da toxicidade dos clorofenóis presentes nos fungicidas.

Além da via descrita anteriormente, existem outras possíveis vias para a sua síntese (Fig. 13)⁶²:

- 1) Os cloroanisóis aparecem na natureza, a partir de microrganismos, directamente da biometilação (*O*-metilação) do respectivo precursor clorofenol.
- 2) O fenol dá origem ao TCA por cloração e por imediata biometilação; se o anisol for o precursor, então a biometilação terá de acontecer antes da cloração.
- 3) Cloração na presença de hipoclorito de sódio e subsequente biometilação do fenol, sendo esta uma das razões da indústria rolheira ter proibido o uso de hipoclorito de sódio (obrigatoriamente usado no passado no processo de lavagem das rolhas). O fenol é sintetizado a partir da glucose dando origem ao ácido shiquímico através da via das pentoses fosfato e originando o TCA posteriormente por cloração.
- 4) O TCA forma-se directamente a partir de cloroanisóis complexos, como o TeCA e o PCA por um processo de desalogenação redutivo.
- 5) Através do catabolismo de compostos altamente clorados como por exemplo, o pentaclorofenol (PCP) e o tetraclorofenol (TeCP) que são compostos altamente tóxicos Os anisóis resultantes são posteriormente desalogenados formando o TCA protegendo o fungo da toxicidade dos fenóis iniciais. O hexaclorociclohexano sofre uma desidrohalogenação dando origem ao 1,3,5-triclorobenzeno, o qual, por sua vez, sofre uma hidroxilação originando TCP, o qual é, por fim, metilado a TCA. Do mesmo modo, a desalogenação redutora do hexaclorobenzeno pode conduzir ao PCP ou ao TCP, os quais são depois os precursores para a reacção de metilação.

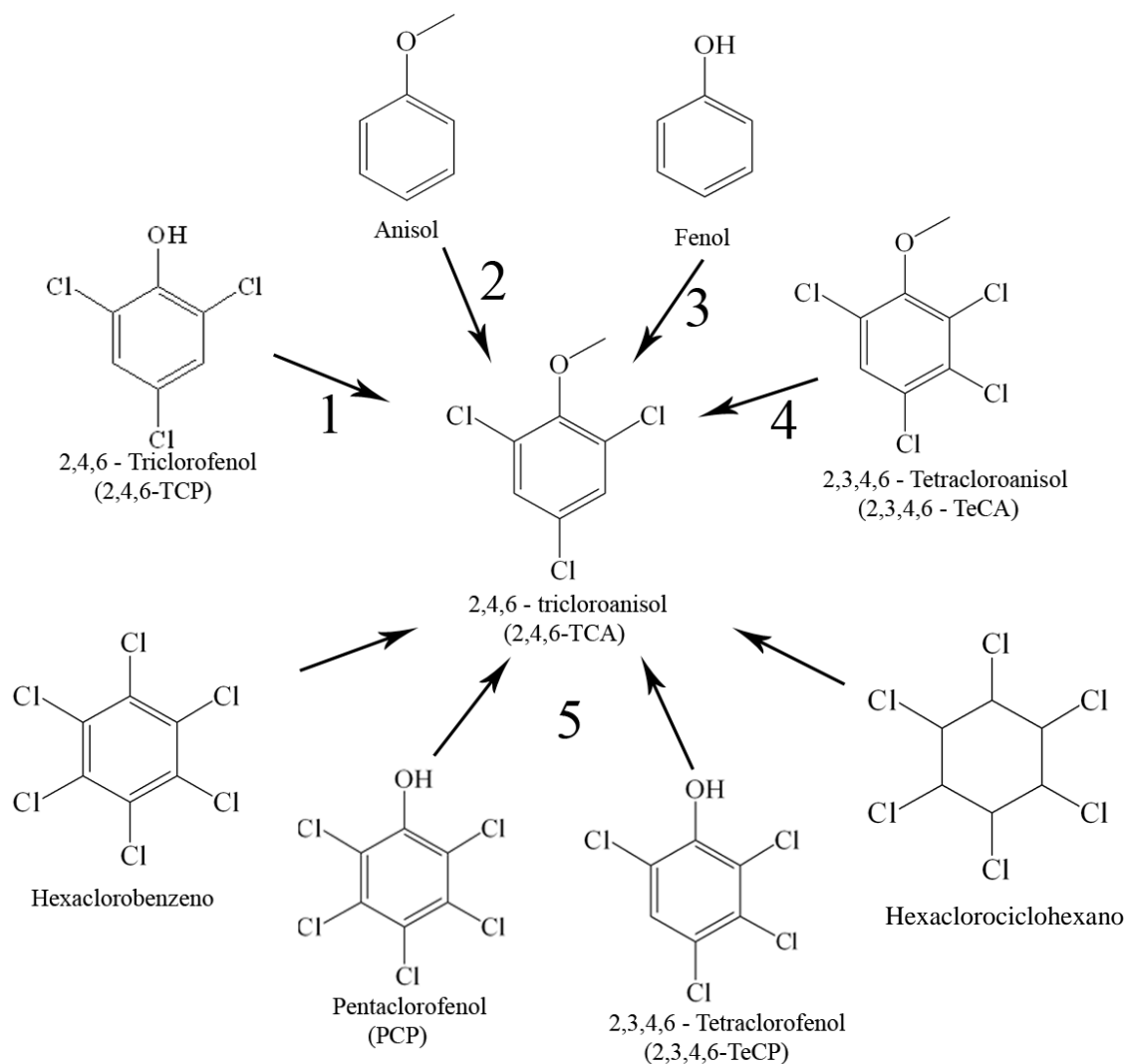


Fig. 13 - Mecanismos de biossíntese que explicam a origem do TCA na cortiça. (1) Síntese directa por biometilação do pesticida TCP, (2) Síntese por halogenação do anisol, (3) Cloração na presença de hipoclorito de sódio e subsequente biometilação do fenol, (4) Desalogenação de anisóis altamente clorados, (5) Catabolismo de compostos altamente clorados⁶².

Assim, devido à diversidade de possíveis fontes de TCA, a indústria rolheira e das bebidas alcoólicas têm investido na investigação de modo a detectar e reduzir/eliminar o TCA.

2.1 Detecção de TCA

O primeiro método de detecção de TCA nas rolhas foi através da análise sensorial realizada após as rolhas serem imersas em vinho branco durante 24 hr. No entanto, com o aumento de actividade da indústria rolheira foi implementada a norma de qualidade ISO/PRF 22308⁶³ que uniformiza o procedimento da análise dos odores exógenos da cortiça. Por outro lado, a investigação melhorou a análise sensorial permitindo a sua realização em rolhas acabadassem que ocorra alterações nas rolhas e sem a necessidade de imergir as rolhas numa solução. Esta nova abordagem de análise sensorial denomina-se *sedry soak*⁶⁴.

Contudo, existindo actualmente técnicas instrumentais de detecção mais rápidas e precisas, a técnica sensorial é realizada como complemento à detecção instrumental de TCA, permitindo obter uma avaliação qualitativa de outros desvios sensoriais, originários de outros compostos organolépticos (Como por exemplo, TBP).⁶⁴⁻⁶⁶

Alternativamente, com a descoberta de técnicas instrumentais mais rápidas e sensíveis, a detecção de TCA ocorre através do uso da cromatografia gasosa (GC).

A detecção de TCA pode ser realizada por microextração em fase-sólida (*Solid-Phase MicroExtraction*, SPME) acoplada à Cromatografia de Gás-Espectrometria de massa (*GasChromatography–MassSpectrometry*, GC-MS) ou a Cromatografia de Gás – Com detecção por captura electrónica (*GasChromatography – Electron Capture Detector*, GC-ECD)^{67,68}.

Através da técnica SPME, a amostra é termostatazadapermitindo a libertação dos compostos voláteis para o *headspace*. Assim, os compostos voláteis adsorvidos na fibra serão termicamente desorvidos no injector do cromatógrafo para, posteriormente, ocorrer separação cromatográfica e de seguida a identificação e quantificação dos compostos voláteis através de MS ou ECD^{69-72,73}.

Para a determinação de TCA através do GC-MS ou GC-ECD é necessário uma preparação da amostra por macerações. Na maceração as rolhas de interesse são maceradas numa solução etanólica (pode ser apenas uma solução de água e etanol ou de vinho) e ao fim de 24h ocorrerá um equilíbrio da concentração de TCA entre as rolhas e a solução. A

concentração de TCA libertada ($[TCA]_{\text{libertável}}$) corresponde a cerca de 0,05%-2% da concentração de TCA presente na rolha⁷⁴ e deste modo é possível realizar macerações sucessivas sem alterações significativas da concentração presente na rolha.

Como a detecção de TCA através do GC-MS ou GC-ECD requer uma preparação da amostra longa, cada vez mais, têm sido exigidas pela indústria técnicas de detecção de TCA mais rápidas e mais sensíveis. A detecção com recurso a voltametria cíclica⁷⁵ mostrou ser um método rápido, barato e sem necessidade de pré-tratamento da amostra atingindo o limite de quantificação de TCA na ordem dos 0,95 ng/L nas pranchas de cortiça; um biossensor celular⁷⁶ com base *Bioelectric Recognition Assay* (BERA) mostrou atingir limites de quantificação de TCA na ordem dos 0,1 ng/L e ser muito selectivo em relação a outros haloanisóis e halofenóis relacionados estruturalmente com o TCA. Recentemente, o uso de espectroscopia de infravermelhos⁷⁷ demonstrou a capacidade de detectar TCA ao longo da superfície da rolha, pré-contaminada na superfície com uma solução etanólica de TCA de 0,01 M.

2.2 Redução/eliminação de TCA

Depois da descoberta da relação directa do TCA com o “gosto a rolha”, a indústria tem investido na pesquisa de tecnologias de redução/eliminação deste composto. De realçar, que no processo de produção das rolhas de cortiça, estas passam por várias etapas (lavação, acabamentos mecânicos, etc.) que podem ter impacto na concentração de TCA.

Muitas das tecnologias de redução/eliminação de TCA têm sido investigadas pelas próprias empresas e, por isso, muitos dos seus detalhes encontram-se sobre sigilo. Por outro lado, tem havido investigação pública para revistas científicas.

Sumariamente, a redução/eliminação do TCA das rolhas pode passar por medidas preventivas até a tecnologias que se focam na remoção directa do TCA das rolhas de cortiça.

Medidas Preventivas

Às medidas preventivas passam sobretudo pela remoção das fontes exogéneas de contaminação de TCA. Foi demonstrado que o teor de TCA é superior na base do tronco dos sobreiros por isso, ao extrair a cortiça do sobreiro, são retirados a partir de

10-20 cm desde a base⁷⁸. Outra medida preventiva tem lugar após a extracção das pranchas de cortiça onde ocorre o contacto directo com o solo evitando o crescimento de fungos. Sendo a ‘mancha amarela’ da cortiça uma colónia visível de fungos⁷⁹ é possível proceder a uma selecção mais restrita da matéria-prima a utilizar no fabrico de rolhas. Outra medida passa por substituir o hipoclorito de sódio por peróxido de hidrogénio na lavagem das rolhas e proibir a presença de hipoclorito de sódio no espaço industrial, evitando a presença dos precursores clorados na síntese de TCA.

Radiação Gama

A utilização de radiação gama aplicada a rolhas acabadas degrada o TCA noutros compostos que têm uma capacidade organoléptica muito reduzida. Verifica-se que a dose ideal é de 100 kGy resultando numa redução de 90% da concentração de TCA em rolhas já embaladas⁸⁰. No entanto, não foi avaliada a segurança alimentar das rolhas depois do tratamento com a radiação gama.

Inibição do desenvolvimento biológico

Através da inibição do desenvolvimento dos fungos responsáveis pela contaminação de TCA nas rolhas de cortiça é possível exercer um efeito preventivo e directo na redução de rolhas contaminadas com TCA.

O processo *Symbios* desenvolvido pelo Centro Tecnológico da Cortiça (CTCOR) com a colaboração das empresas de cortiça portuguesas Sercor e Norcor. O processo, durante a cozedura das pranchas de cortiça, envolve a adição de um aditivo químico (o nome e as características encontram-se sob sigilo) se fixa nas paredes celulares da cortiça inibindo o desenvolvimento microbiológico e a formação de TCA. No entanto, este processo não remove o TCA pré-existente nas pranchas⁶². No entanto, não existe informação sobre a segurança alimentar.

Por outro lado, um outro estudo verificou que o fungo *Chrysonilia sitophilan* não só inibe o desenvolvimento de outros fungos como também não sintetiza TCA na presença de clorofenóis, abrindo as portas à sua aplicação a nível industrial⁸¹.

Vaporização

Na empresa Amorim & Irmãos foi desenvolvido o método ROSA (*Rate of Optimal Steam Application*)⁸² em que através de um processo de um arrastamento de vapor a cerca de 60°C (Temperatura de fusão do TCA) sobre pressão forçando a saída dos compostos voláteis dentro das células da cortiça assim removendo até 75%-80% de TCA presente nas rolhas de cortiça. No entanto, quando aplicado nas rolhas naturais pode resultar na alteração da estrutura celular da cortiça perturbando as propriedades físicas da cortiça sendo necessário realizar uma rectificação dimensional dispendiosa. De maneira a corrigir os efeitos negativos na rolha a empresa irá apresentar em breve o ROSA *EVOLUTION*.

Extracção com diferentes solventes

Submetendo as rolhas de cortiça a diferentes solventes (como por exemplo, etanol) e a diferentes condições é possível extrair eficientemente o TCA.

Na *TS Unit* da Amorim & Irmãos é utilizado o processo INOS II⁸³, adaptado do processo INOS I original de uma empresa italiana. Este processo submete as rolhas naturais de cortiça a vários ciclos de pressão e descompressão utilizando água. O equipamento do INOS II na *TS Unit* tem capacidade, dependendo do calibre da rolha, até 100 mil rolhas (Fig. 14).

Não tendo sido quantificado a eficiência de redução do TCA libertável, este processo apenas demonstrou uma efectiva limpeza da superfície da rolha.



Fig. 14- Equipamento industrial do processo INOS II. (A) Tambor de rede de alimentação de rolhas. (B) Processo de desinfecção INOS II; (1) Câmara das rolhas, (2) Reservatório da água, (3) Câmara de transição entre a câmara das rolhas e os tubos de ar comprimido, vácuo e ar atmosférico, (4) Monitor de controlo do equipamento industrial.

O processo tem a duração de 1 hora, sendo composto por 2 fases. Existe ainda uma fase preliminar, onde a câmara das rolhas é preenchida com água à temperatura de cerca 50°C.

A 1ª fase é composta por 3 ciclos de compressão e de descompressão, variando a pressão interna entre 2 bar e 0 bar. Segue-se mais um ciclo de compressão e descompressão com a câmara das rolhas sem água.

Na 2ª fase é utilizada nova quantidade de água limpa a 50°C onde ocorrerá novamente 3 ciclos de compressão e descompressão. Terminados 3 ciclos nesta fase, a água servirá para preencher o reservatório de água, de modo a que esta possa ser reutilizada no próximo ciclo de desinfecção. Por último, ocorre mais 3 ciclos de compressão e descompressão com a câmara das rolhas sem água.

Depois do processo INOS II as rolhas são alimentadas num secador para se restabelecerem os níveis de humidade, entre 4-8%.

3. Enquadramento e objectivos

A indústria das rolhas de cortiça natural tem beneficiado de um aumento na procura associado a um maior nível de exigência dos clientes. Assim, a indústria tem investido em vários sectores da qualidade, aumentando a sua eficiência, nomeadamente, em sectores que envolvem o TCA.

A pesquisa desenvolvida no sector da qualidade passa por criar novas e mais eficientes tecnologias de redução de [TCA]_{libertável} ou otimizar as tecnologias de redução de [TCA]_{libertável} já existentes, sendo um exemplo, a industrialização do processo INOS II no Grupo Amorim.

O objectivo do presente trabalho é a análise do efeito do INOS II nas rolhas naturais que não tenham sofrido qualquer tipo de tratamento, estando o estudo separado em 3 fases de modo a explorar o potencial de redução dos níveis de TCA e alterações na estrutura da rolha de cortiça.

Na fase preliminar do trabalho foi realizado uma análise dos dados de 2014 relativos à [TCA]_{libertável} de um tipo de rolhas naturais e após serem processadas pelo INOS II com o intuito de obter informação relativa do efeito do processo INOS II à [TCA]_{libertável}.

Na 1ª fase foi realizada uma análise na variação de [TCA]_{libertável} e na variação organoléptica de rolhas naturais processadas pelo INOS II. Para complementar, foram realizadas as mesmas análises após a redução do diâmetro da rolha de cortiça e assim perceber o efeito do INOS II no TCA libertável.

Também, devido ao interesse em aplicar o processo INOS II em rolhas naturais acabadas, sem que haja quaisquer deformações estruturais, foram realizadas análises das dimensões, massa e nível de humidade.

Na 2ª fase foi avaliada a reprodutibilidade dos resultados obtidos na 1ª fase com a realização de cada análise em triplicado, no mesmo lote de rolhas de cortiças de naturais avaliando as mesmas variáveis anteriormente descritas.

4. Materiais e métodos

4.1 Amostras

Foram utilizadas em cada uma das fases, 3 tipos de amostras que estão descritas de seguida. Não é indicada a origem dos lotes por questões de confidencialidade.

4.1.1 Fase preliminar

Os dados de [TCA]_{libertável} utilizados são relativos a lotes de rolhas naturais raça (mistura de classes), provenientes do mesmo fornecedor e com 30 mm de comprimento e 21,5 mm de diâmetro antes e após serem processados pelo INOS II em 2014. A determinação de [TCA]_{libertável} foi realizada através de macerações compostas seguida de análise por HS-SPME-GC/MS ou HS-SPME-GC/ECD.

4.1.2 1ª fase

A amostra usada na 1ª fase foi uma paleta de 87 000 rolhas, originárias de um lote de rolhas de cortiça natural proveniente de um fornecedor. As rolhas não sofreram nenhum processo de lavagem ou tratamento de superfície e possuíam 29 mm de comprimento e 21 mm de diâmetro e foram classificadas como superior/2º. O lote (175 000 rolhas) deu entrada na *Top Series Unit* dividido em duas paletes (apenas uma paleta, de 87 000, foi utilizada para o estudo) e cada uma possuía 8 sacos limpos contendo cada saco cerca de 10 000 rolhas.

4.1.3 2ª fase

A amostra usada nesta fase foi constituída por 3 paletes (cada uma com 70 mil rolhas) originária de um lote de rolhas de cortiça natural proveniente do mesmo fornecedor utilizado na 1ª fase. As rolhas não sofreram nenhum processo de lavagem ou tratamento de superfície e tinham as dimensões 32 mm de comprimento e 24 mm de diâmetro, e foram classificadas como superior/2º.

4.2 Metodologias

As rolhas tratadas pelo processo INOS II nas fases anteriormente discutidas foram estudadas por análise organoléptica, maceração para a determinação de TCA libertável, por medição das dimensões, massa e nível de humidade e análise da classe visual conforme descrito a seguir.

4.2.1 Análise organoléptica

A análise organoléptica, de acordo com a norma NP EN ISO 17025⁶³, foi realizada no Departamento de Qualidade da *Top Series Unit*. O número de analistas do painel de cada análise organoléptica dependia da sua disponibilidade, variando entre 3 analistas (o mínimo aceitável) até ao máximo de 6 analistas. Procedeu-se à maceração de 1 rolha por frasco de 100 mL, devidamente selado com papel de alumínio e tampa, em 100 mL de água destilada durante 24 horas à temperatura ambiente. Após a maceração, introduziu-se uma parte da solução de cada frasco num copo, com o cuidado de fechar o copo com um vidro de relógio. Cada analista classificou o cheiro de cada copo em 6 grupos: Vegetal (V), Decomposição (D), Terroso (T), Bolor (B), Químico (Q) e Outros (O). Caso 50% ou mais dos analistas tenham classificado um copo, independentemente do tipo de grupo, confirmava-se a existência de um desvio organoléptico.

4.2.2 Detecção organoléptica de rolhas contaminadas com 2,4,6 - Tricloroanisol

Um procedimento adaptado do *dry soak*⁶⁴ agilizou o processo de deteção das rolhas contaminadas com TCA. Com recurso a um pulverizador manual, foi aspergido uma vez o interior de um frasco de 60 ml com água destilada e depois inseriu-se a rolha a analisar, selando a abertura do frasco com alumínio e a tampa. Seguiu-se um período de 20 minutos numa estufa a $60 \pm 5^\circ\text{C}$. No fim, uma analista organoléptica identificou as rolhas contaminadas com TCA através da deteção do cheiro a mofo/bolor.

4.2.3 Maceração das rolhas para a determinação de 2,4,6 – Tricloroanisol libertável por HS-SPME-GC/MS ou HS-SPME-GC/ECD

Foram realizados dois tipos de maceração: composta e individual (Fig. 15). Na maceração composta foi preenchido um frasco de vidro de 0,5 L com cerca de 20 rolhas e completado com uma solução etanólica 12%. De seguida o frasco foi selado com a sua própria tampa de vidro. Na maceração individual, foi inserida uma rolha num frasco de vidro de 100 mL e de seguida o frasco foi completado com uma solução etanólica 12%, selando o frasco com alumínio e com a própria tampa (utiliza-se alumínio para bloquear a absorção de TCA por parte do plástico⁸⁴).

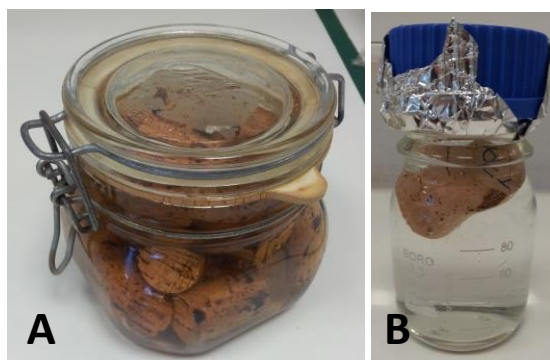


Fig. 15– Um frasco de maceração composta (A) ou maceração individual (B).

Nos dois tipos de maceração, ao fim de 24 h, à temperatura ambiente, foi recolhida uma amostra de solução para um frasco de 60 mL, para análise no laboratório de Investigação e Desenvolvimento do grupo Amorim&Irmãos

Após a recolha da solução, existiu o cuidado de secar as rolhas ao ar durante 24 hr e reserva-las embrulhadas em folha de alumínio para não provocar alteração no nível de TCA presente nas rolhas.

4.2.4 Determinação de 2,4,6 – Tricloroanisol libertável

O equipamento de cromatografia utilizado na determinação de $[TCA]_{\text{libertável}}$ dependeu do tipo de maceração realizada.

Amostras oriundas de macerações compostas foram analisadas por HS-SPME num cromatógrafo GC-ECD *Varian CP3800*, utilizando 2,3,6-TCA como padrão interno. A concentração de TCA foi calculada através de uma recta de calibração na gama de 0,5 ng/L e 20 ng/L ($R^2 \geq 0,995$). O branco foi preparado de uma solução etanólica a 12% e ~3 g de cloreto de sódio.

Amostras oriundas de maceração individuais foram analisadas por HS-SPME num cromatógrafo GC-MS *QP2010 plus NCI* (Negative Chemical Ionization) em modo SIM, onde o padrão interno utilizado foi o d_5 -2,4,6-TCA. A concentração de $[TCA]_{\text{libertável}}$ foi calculada através de uma recta de calibração na gama de 0,5 ng/L a 100 ng/L ($R^2 \geq 0,995$). O branco foi preparado de uma solução etanólica a 12% e ~3 g de cloreto de sódio.

A metodologia utilizada na determinação de TCA foi semelhante nos dois casos. Num tubo de cromatografia de 20 mL com ~3 g de NaCl (com a adição do NaCl foi forçado o equilíbrio dos compostos solúveis para a fase gasosa) adicionou-se 10 mL de solução proveniente do macerado e 100 μ L de padrão interno. Uma vez preparada a amostra, o frasco foi fechado com uma cápsula metálica e um septo de silicone e colocado no suporte automático. Após uma pré-incubação de 2 minutos, a fibra de SPME de poli(dimetilsiloxano) (PDMS) de 100 μ m foi exposta ao *headspace* no tubo durante 8 minutos, a 50 °C com agitação a fim de provocar a adsorção dos compostos voláteis. Os compostos voláteis foram, de seguida, termicamente desorvidos da fibra para o injetor do cromatógrafo a 270 °C. A fibra ficou no injetor durante 4 minutos, em modo *splitless*, fechando a válvula após 2 min. A separação cromatográfica dos compostos injetados ocorreu numa coluna de fraca polaridade, sendo a fase estacionária do tipo DB-5 (comprimento de 30 m, diâmetro de 0,25 mm e espessura de 0,25 μ m). A rampa de temperatura teve as seguintes condições: $T_{\text{inicial}} = 90^\circ\text{C} / 0 \text{ min}$; rampa de temp: (15°C/min) $T_{\text{final}} = 265^\circ\text{C} (12 \text{ min})$.

Utilizou-se o hélio como gás de arraste com um fluxo de 1,0 a 1,6 mL/min.

Os vários parâmetros relativos ao volume de *headspace*/volume de amostra, adição de sal, tempo de sorção e dessorção assim como temperatura de extração foram

estabelecidos com base na ISO/CD 20752⁸⁵. O limite de quantificação dos aparelhos é de 0,50 ng/L.

4.2.5 Medição das dimensões, massa e humidade

A medição dos diferentes parâmetros das rolhas foi feita pelo Sistema Automático de Medição de Rolhas ou MedCork⁸⁶.

As dimensões das rolhas foram determinadas através de paquímetros instalados no MedCork, medindo a altura da rolha apenas uma vez e o diâmetro duas vezes (a segunda medição do diâmetro foi realizada após a rolha rodar 90°, garantindo a uniformidade do diâmetro da rolha). De seguida, pesou-se a rolha com a balança incorporada no MedCork e por último mediu-se o nível de humidade da rolha através de um AquaBoy (medidor do nível da humidade) incorporado no MedCork. O erro na medição das dimensões foi de $\pm 0,01$ mm, da massa foi de $\pm 0,01$ g e da humidade de $\pm 0,1\%$ (limite máximo de medição, 11%).

4.2.6 Análise da classe visual

A escolha electrónica foi realizada por uma máquina que tem como base o contraste entre as lenticelas e a superfície da rolha de cortiça. A escolha manual foi realizada por uma analista profissional, tendo sido realizada nas rolhas contaminadas com TCA e que foram estudadas através de macerações individuais e nas rolhas utilizadas para a análise das dimensões, massa e humidade.

4.2.7 Análise estatística

A análise dos resultados torna-se complexa quando a amostra apresenta grande variabilidade, neste caso, devido às diferenças de porosidade que podem ter impacto significativo no efeito do processo INOS II sobre as rolhas. Por outro lado, de forma a responder às exigências da indústria espera-se que uma tecnologia de redução de

[TCA]_{libertável} tenha uma elevada reprodutibilidade, independentemente da classe, calibre e fornecedor das rolhas.

Para observar a existência ou não existência de diferenças significativas de [TCA]_{libertável} nos diversos tratamentos a que as rolhas são sujeitas foi calculado o intervalo de confiança de 90% (apresentado nos gráficos) com recurso ao Microsoft Office Excel também é apresentado a média com o respectivo desvio padrão (média \pm DP).

5. Procedimento

O estudo do processo INOS II foi separado numa fase preliminar, 1ª fase e 2ª fase.

Na fase preliminar foi realizada uma análise estatística aos dados obtidos em 2014 de $[TCA]_{\text{libertável}}$ com recurso a intervalos de confiança de 90%. Os dados de $[TCA]_{\text{libertável}}$ dos lotes de rolhas de cortiça foram determinados através da realização de macerações compostas de rolhas recolhidas aleatoriamente antes e após o lote de rolhas ser processado pelo INOS II (n= 5 macerações).

A 1ª fase do estudo está dividida em duas vias de análise. Na via A foram realizadas a determinação de $[TCA]_{\text{libertável}}$, análise organoléptica e determinação das dimensões, massa e humidade, antes e após as rolhas serem processadas pelo INOS II. Na via B foi realizado a determinação de $[TCA]_{\text{libertável}}$ e análise organoléptica em rolhas da amostra antes de sofrerem redução de diâmetro, em rolhas que sofreram redução do diâmetro de 21 para 19,8 mm sem terem sido processadas pelos INOS II e após terem sido processadas pelos INOS II (Fig. 16).

Na via A, a determinação de $[TCA]_{\text{libertável}}$ foi concretizada através da realização de macerações compostas e individuais. As rolhas utilizadas nas macerações compostas foram recolhidas aleatoriamente da amostra, antes (n= 10 macerações) e após (n= 20 macerações) serem processadas pelo INOS II. As rolhas contaminadas com TCA (n= 130 rolhas) utilizadas nas macerações individuais foram detectadas através de um *drysoak* adaptado, tendo sido marcadas com um número de modo a acompanhar com exactidão a variação de $[TCA]_{\text{libertável}}$ devida ao processo INOS II. As rolhas (n=100 rolhas) nas quais foram determinadas as dimensões, massa e humidade antes e após serem processadas pelo INOS II, foram aleatoriamente seleccionadas da amostra e numeradas. Para a análise organoléptica, as rolhas (n= 100 rolhas) foram aleatoriamente recolhidas antes e após a amostra ter sido processada pelos INOS II.

Na via B, o $[TCA]_{\text{libertável}}$ foi obtido através de macerações individuais realizadas em rolhas aleatoriamente recolhidas da amostra antes de sofrerem redução de diâmetro (n=50 rolhas), em rolhas que sofreram redução do diâmetro 21 para 19,8 mm sem terem sido processadas pelos INOS II (grupo controlo, n=50 rolhas) e após terem sido processadas pelos INOS II (n= 52 rolhas). Para maior adequação dos resultados e face aos objectivos da empresa, as rolhas foram separadas em dois grupos dependendo

do $[TCA]_{\text{libertável}}$ ser menor, igual ou maior que 1,50 ng/L antes de sofrerem redução de diâmetro. A análise organoléptica foi realizada com rolhas (n=100 rolhas) nas exactas situações mencionadas anteriormente.

A 2ª fase teve o mesmo procedimento aplicado na 1ª fase.

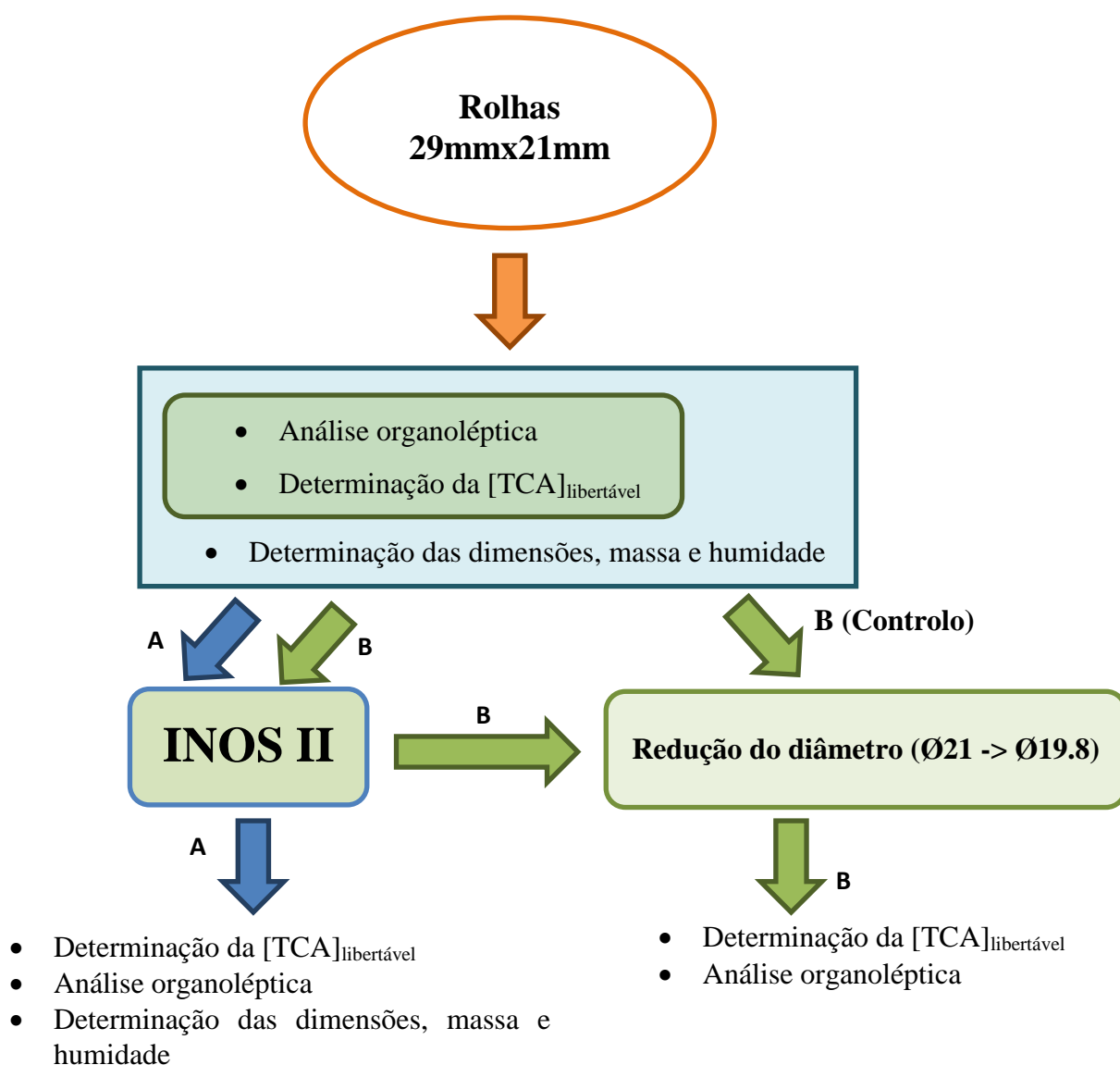


Fig. 16- Representação esquemática do procedimento da 1ª fase, dividida em duas vias. A via A (a azul) sistematiza a metodologia para avaliar variação da $[TCA]_{\text{libertável}}$ com o INOS II e a via B (a verde) sistematiza a metodologia para avaliar a profundidade do efeito INOS II através da análise da variação $[TCA]_{\text{libertável}}$ com a redução do diâmetro de 1,2 mm e assim expor uma nova superfície da rolha.

6. Discussão e Resultados

6.1 Fase preliminar

Afase preliminar permitiu analisar o histórico do $[TCA]_{\text{libertável}}$ dos lotes de rolhas de cortiça processados pelo INOS II e assim avaliar o seu potencial como tecnologia de redução de $[TCA]_{\text{libertável}}$ e se esse potencial atinge o nível de exigência imposto pela indústria corticeira.

Com os dados obtidos (Fig. 17) verifica-se que o INOS II tem potencial de redução de $[TCA]_{\text{libertável}}$, no entanto também é revelado potencial de aumento de $[TCA]_{\text{libertável}}$: de facto, enquanto 13 lotes apresentaram uma redução média de $[TCA]_{\text{libertável}}$ superior a $40\% \pm 17\%$, 7 lotes apresentaram um aumento médio superior a $105 \pm 98\%$.

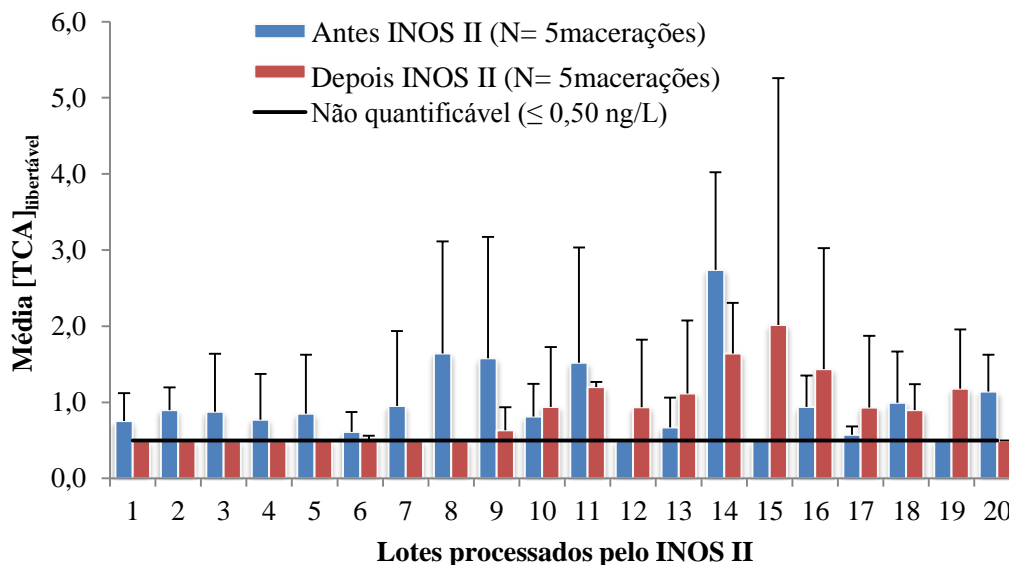


Fig. 17- Valores de $[TCA]_{\text{libertável}}$ médio dos lotes 30x21,5 raça antes e depois de serem processados pelo INOS II. Dados de 2014.

Contudo, ao observar os intervalos de confiança dos valores de $[TCA]_{\text{libertável}}$ médio dos lotes antes e depois de serem processados pelo INOS II, verifica-se que apenas 2 lotes dos 20 analisados (lote nº2 e nº20) apresentaram redução significativa. Adicionalmente através do desvio padrão é observada uma grande variabilidade da redução média e do aumento médio.

Esperava-se que uma tecnologia destinada à redução de $[TCA]_{\text{libertável}}$ apresentasse resultados consistentes, no entanto os resultados obtidos sendo inesperados e inconsistentes entre lotes exigem estudos mais aprofundados, nomeadamente uma análise a nível individual (rolha a rolha) mesmo quando se observa uma redução de $[TCA]_{\text{libertável}}$ porque o processo pode não ter o mesmo grau de incidência em cada rolha de cada lote e assim prejudicar o produto a que são as rolhas destinadas.

6.2 1ª Fase

6.2.1 Variação de $[TCA]_{\text{libertável}}$

A parte inicial da 1ª fase consistiu em analisar o $[TCA]_{\text{libertável}}$ através de macerações compostas das rolhas de cortiça de modo a imitar o controlo do processo INOS II realizado pela a indústria corticeira, assim foram obtidos os resultados apresentados na Fig. 18.

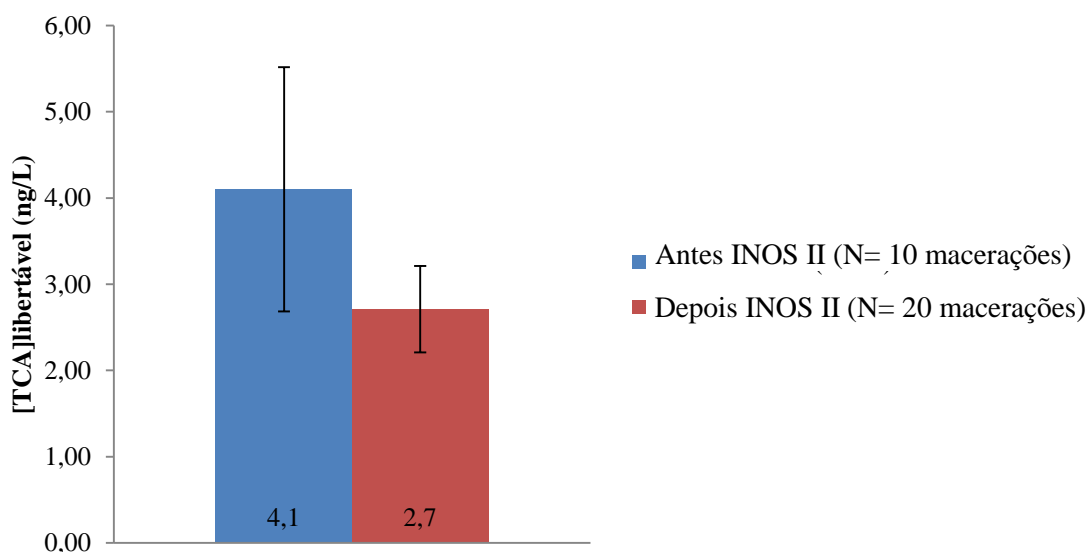


Fig. 18 – Valores de $[TCA]_{\text{libertável}}$ médio antes e depois da amostra ser processada pelo INOS II.

Os resultados obtidos sugerem que a diferença entre os teores de TCA não é significativa e assim a redução de $[TCA]_{\text{libertável}}$ não é significativa.

Com a realização de macerações individuais, e assim ter uma percepção directa do potencial efeito de redução do $[TCA]_{\text{libertável}}$ do processo INOS II foi possível obter os resultados apresentados na Fig. 19.

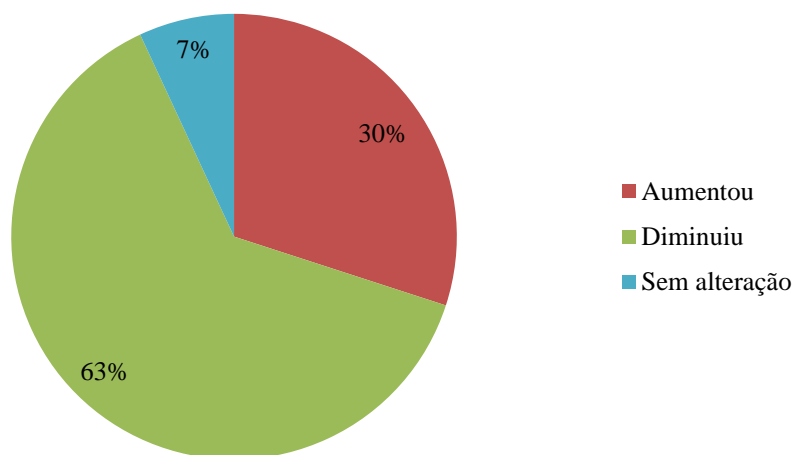


Fig. 19 – Percentagem de rolhas que sofreu aumento, diminuição ou nenhuma alteração no $[TCA]_{\text{libertável}}$ com o processo INOS II.

Observa-se que em cerca de 30% das rolhas o $[TCA]_{\text{libertável}}$ aumentou em média $95 \pm 75\%$. Por outro lado e como esperado, em cerca de 63% das rolhas o $[TCA]_{\text{libertável}}$ diminuiu em média mais de $42 \pm 21\%$ (Aproximadamente igual à redução média calculada na fase preliminar, 40%). Finalmente em 7% das rolhas não ocorreu nenhuma variação de $[TCA]_{\text{libertável}}$ ao serem processadas pelos INOS II.

Os resultados obtidos podem ser explicados pela heterogeneidade das rolhas de cortiça e assim resulta numa variação significativa de sensibilidade inter-rolha para o processo INOS II.

Por outro lado, a identificação das rolhas contaminadas com TCA através do *drysoak*, a conhecida extracção de 0,05%-2% da $[TCA]_{\text{rolha}}$ com a realização das macerações e as condições armazenamento das rolhas após a sua maceração (mesmo existindo o cuidado de envolver individualmente cada uma das rolhas com papel de alumínio) podem ter influência na variação de $[TCA]_{\text{libertável}}$, questionando, por exemplo, as variações pequenas de $[TCA]_{\text{libertável}}$ após o processo INOS II.

Os resultados da análise individual fornecem uma nova perspectiva dos dados obtidos com macerações compostas podendo demonstrar que uma aparente redução de $[TCA]_{\text{libertável}}$ não significa que seja observável em 100% das rolhas e assim possivelmente evidenciar a necessidade de verificar a reprodutibilidade dos resultados e a necessidade de otimizar o processo INOS II.

6.2.2 Variação sensorial

O processo INOS II podendo não ter potencial absoluto e significativo de redução de $[TCA]_{\text{libertável}}$, tornou-se interessante analisar o seu potencial relativo na remoção de outros compostos organolépticos. Foi realizada uma análise a nível individual não sendo reprodutível não foi possível ter uma avaliação directa do efeito do processo INOS II da desodorização das rolhas. De facto, as 100 rolhas analisadas antes de serem processadas pelo INOS II, apenas 5 apresentaram um desvio organoléptico. Os analistas identificaram o desvio de 3 rolhas pertencendo ao grupo BOLOR, 1 rolha ao grupo DECOMPOSIÇÃO e 1 rolha ao grupo VEGETAL.

Após a amostra ser processada pelo INOS II, os analistas detectaram desvios organolépticos, no entanto, os desvios não foram detectados em concordância por isso o resultado da análise sensorial foi inconclusivo.

Assim, devido à diferença de resultados obtidos na análise sensorial não é possível obter conclusões sobre o efeito de desodorização exercido pelo processo INOS II nas rolhas de cortiça natural.

6.2.3 Variação de $[TCA]_{\text{libertável}}$ após redução do diâmetro

Antes e após serem processadas pelo INOS II o diâmetro das rolhas de cortiça foi reduzido 1,2 mm expondo uma nova superfície da rolha e assim provocar uma variação da $[TCA]_{\text{libertável}}$.

Ao separar o grupo de rolhas em dois grupos consoante a $[TCA]_{\text{libertável}}$ antes da redução do diâmetro ($[TCA]_{\text{libertável}}$ menor ou igual a 1,5 ng/L e maior que 1,5 ng/L) permitiu compreender o impacto em rolhas aprovadas ($[TCA]_{\text{libertável}}$ menor ou igual a 1,5

ng/L) para uso alimentar ($[TCA]_{\text{libertável}}$ menor ou igual a 1,5 ng/L) das não aprovadas ($[TCA]_{\text{libertável}}$ maior que 1,5 ng/L).

As rolhas do grupo com $[TCA]_{\text{libertável}} \leq 1,5 \text{ ng/L}$ que não foram processadas pelo INOS II e sofreram redução do diâmetro (situação controlo) apresentaram resultados inesperados (Fig. 20 e Fig. 21).

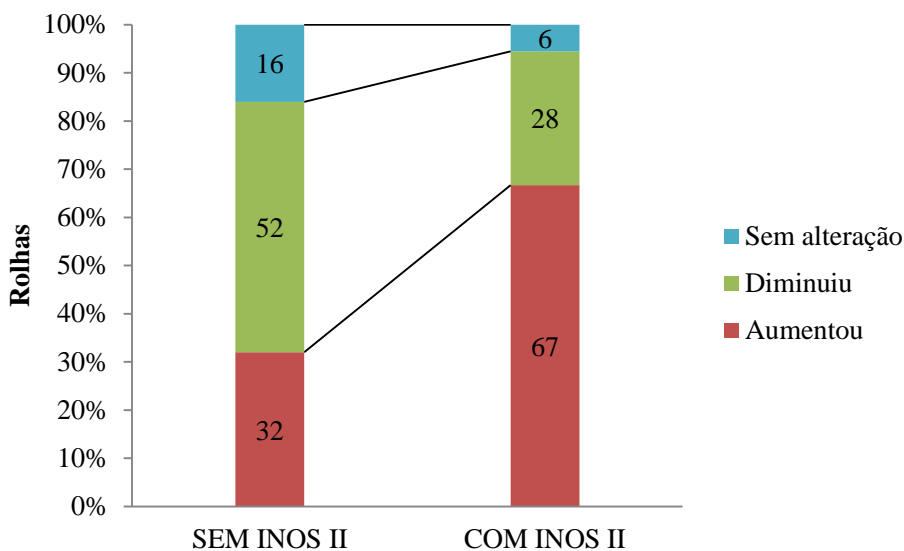


Fig. 20 – Percentagem de rolhas onde ocorreu variação da $[TCA]_{\text{libertável}}$ após a redução do diâmetro. Grupo de rolhas com $[TCA]_{\text{libertável}} \leq 1,5 \text{ ng/L}$ antes da redução do diâmetro.

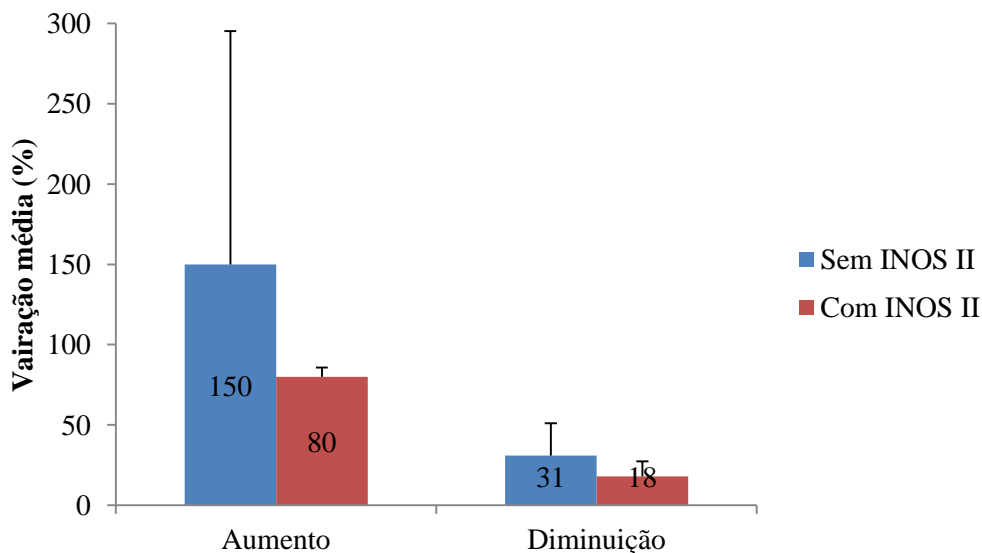


Fig. 21 – Variação média da percentagem de rolhas que sofreram aumento ou diminuição do $[TCA]_{\text{libertável}}$ após redução do diâmetro.

Cerca de 32% apresentaram um aumento médio de $150 \pm 217\%$ da $[TCA]_{\text{libertável}}$, 52% apresentaram uma diminuição média mais de $31 \pm 12\%$ da $[TCA]_{\text{libertável}}$ e 16% não apresentaram qualquer variação nos níveis de TCA libertável. Das rolhas que foram processadas pelos INOS II, 67% apresentaram um aumento médio de $88 \pm 47\%$ da $[TCA]_{\text{libertável}}$, cerca de 28% apresentaram diminuição média mais de $18 \pm 10\%$ e apenas 6% não apresentaram qualquer variação.

Os resultados obtidos apresentam uma situação desfavorável quando se espera uma redução da $[TCA]_{\text{libertável}}$ com o processo INOS II, podendo a redução do diâmetro expor $[TCA]_{\text{libertável}}$ que estava confinado ao interior da rolha ou o processo INOS II promover de alguma forma, a libertação de mais $[TCA]_{\text{libertável}}$ após a rolha sofrer redução do diâmetro.

No entanto, os valores da diminuição média e os valores do aumento médio não são significativamente diferentes entre as rolhas que não foram e foram previamente processadas pelo INOS II revelando que o processo INOS II realizado antes da redução do diâmetro pode não ter efeito na variação da $[TCA]_{\text{libertável}}$.

Do grupo de rolhas que apresentaram $[TCA]_{\text{libertável}} > 1,5 \text{ ng/L}$ antes da redução de diâmetro foram obtidos os resultados expostos na Fig. 22 e Fig. 23

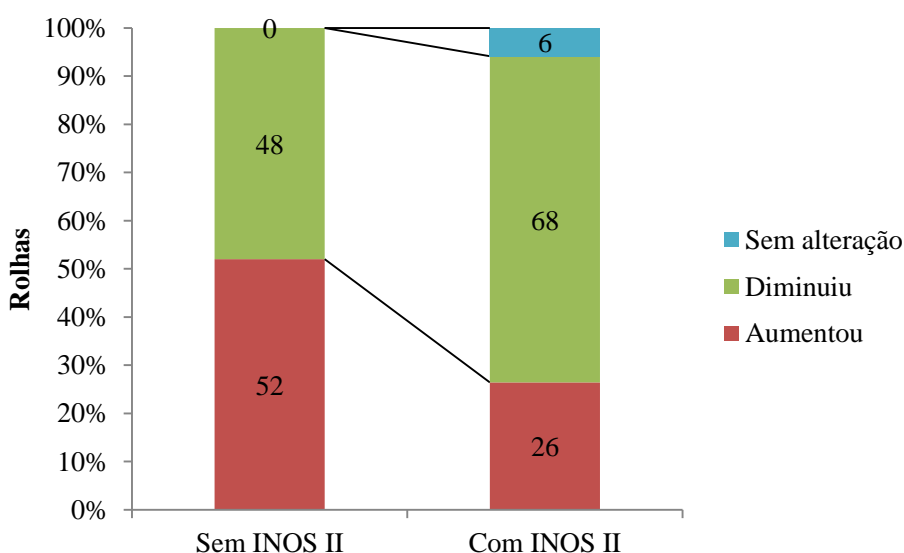


Fig. 22-Percentagem de rolhas onde ocorreu variação da $[TCA]_{\text{libertável}}$ após a redução do diâmetro. Grupo de rolhas com $[TCA]_{\text{libertável}} > 1,5 \text{ ng/L}$ antes da redução do diâmetro.

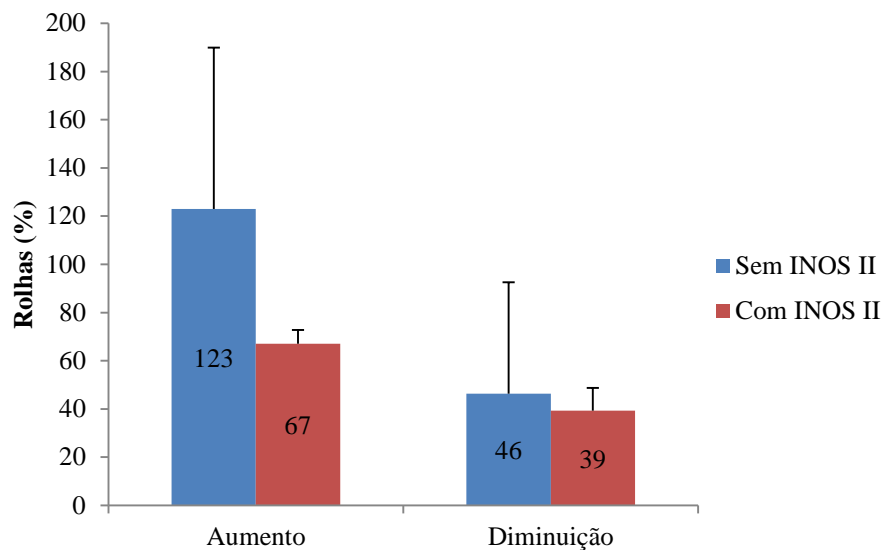


Fig. 23 -Variação média da percentagem de rolhas que sofreram aumento ou diminuição a $[TCA]_{\text{libertável}}$ após redução do diâmetro.

Observou-se que 52% das rolhas sofreram um aumento médio de $123 \pm 135\%$ e 48% sofreram uma diminuição média mais de $46 \pm 15\%$. Das rolhas que foram previamente processadas pelo INOS II apenas 26% sofreram um aumento médio de $67 \pm 75\%$. 68% das rolhas sofreram uma diminuição média mais de $39 \pm 19\%$ e 6% não apresentaram variação da $[TCA]_{\text{libertável}}$.

Neste grupo de rolhas não há diferenças estatisticamente significativas entre a diminuição média e o aumento médio, reforçando que o processo INOS II não tem qualquer efeito significativo na variação da $[TCA]_{\text{libertável}}$ em rolhas que irão sofrer redução de diâmetro.

É importante realçar que nas rolhas que apenas sofreram redução do diâmetro (grupo controlo) em ambos os grupos apresentaram um aumento drástico da $[TCA]_{\text{libertável}}$ o que requerer atenção da indústria corticeira após a rectificação dimensional da rolha.

Outro ponto a salientar passa pelas condições do processo INOS II, onde a baixa variação de pressões (entre 0 e 2 bar) e a utilização da temperatura de cerca de 50°C sugerem empiricamente que o processo INOS II pode não ter qualquer influência no interior da rolha. Assim para comprovar esta hipótese serão necessárias mais amostras processadas pelo INOS II utilizando diferentes ciclos de pressão/descompressão e também de temperatura.

6.2.4 Variação sensorial após redução do diâmetro

A análise foi realizada para avaliar o efeito desodorizante de compostos organolépticos não-típicos.

Os resultados estão apresentados na Fig. 24.

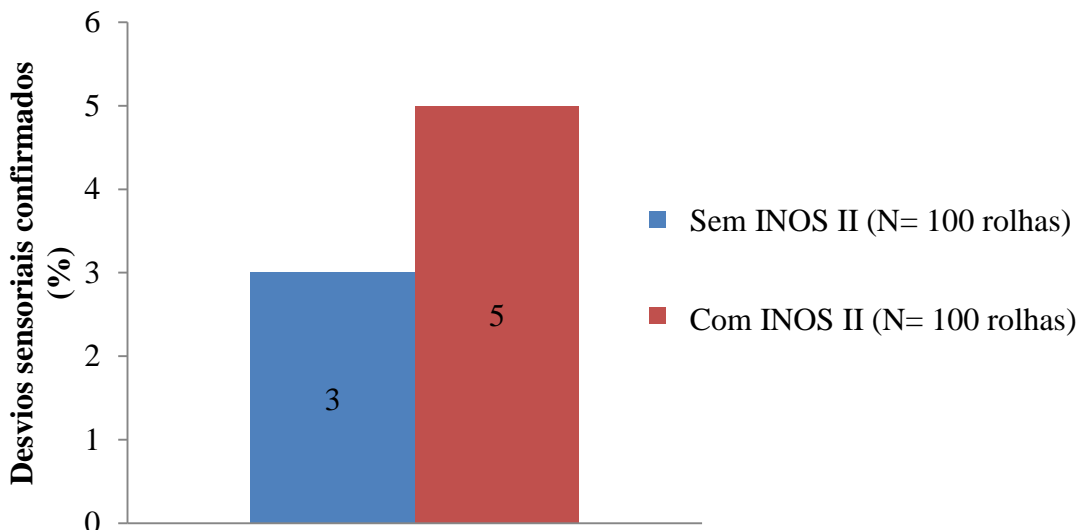


Fig. 24 -Desvios sensoriais detectados através da análise sensorial em rolhas que sofreram redução do diâmetro, sem e com INOS II.

Sem serem processados pelo INOS II as rolhas apresentaram 3 desvios sensoriais, 1 TERROSO e 2 BOLOR. Quando sofreram redução do diâmetro após serem processadas pelo INOS II apresentaram 5 desvios sensoriais que pertenciam ao grupo BOLOR.

Este aumento de desvios sensoriais sugere que o INOS II pode ter um efeito organoléptico indesejável no interior da rolha, por razões desconhecidas. No entanto, como referido anteriormente as condições do processo INOS II sugerem que esta variação pode não ser necessariamente provocada pelo processo.

6.2.5 *Variação dimensional, da massa e da humidade*

Devido aos objectivos da empresa em aplicar tecnologias de redução/eliminação de TCA em rolhas acabadas e devido às exigências em manter as dimensões das rolhas dentro do níveis de tolerância foi realizado a análise das dimensões e nível da humidade.

Os resultados obtidos da variação dimensional, da massa e da humidade encontram-se na Tabela 5:

Tabela 5 – Valores obtidos da variação dimensional, da massa e do nível da humidade das rolhas processadas pelos INOS II.

| | Média | Desvio padrão |
|---------------------|-------|---------------|
| Comprimento (mm) | 0,53 | 0,20 |
| Diâmetro médio (mm) | 0,31 | 0,13 |
| Massa (%) | 13 | 6 |
| Humidade (%) | 5,0 | 1,4 |

O aumento médio registado no comprimento ultrapassa o valor de tolerância estabelecido pela empresa ($\pm 0,50$ mm) e assim possivelmente seria necessário gastar mais tempo em rectificações dimensionais. Já no diâmetro médio o valor registado quase que atinge o valor de tolerância ($\pm 0,40$ mm), reforçando o efeito indesejável que o processo INOS II tem a nível dimensional.

Salienta-se a importância do diâmetro ter que ser necessariamente constante ao longo da produção de rolhas porque as máquinas envolvidas na produção são afinadas para um diâmetro específico de rolha e assim qualquer alteração do diâmetro pode provocar uma interrupção do processo normal da produção de rolhas. Quanto ao comprimento, aquando da rectificação dimensional, grandes variações de comprimento são facilmente corrigidas pela máquina responsável.

Relativamente à humidade, ocorreu um aumento nas rolhas de cortiça ultrapassando os valores de tolerância (4-8 %). Este aumento é resultante da absorção de água no processo INOS II e também possivelmente derivado da ineficiência dos processos responsáveis por restituírem os valores da humidade das rolhas de cortiça após serem processadas pelo INOS II.

Um elevado grau de humidade pode influenciar o processo de produção de rolhas possivelmente devido à grande flexibilidade que a rolha pode apresentar e assim máquinas responsáveis pela rectificação dimensional podem não funcionar correctamente.

6.2.6 *Análise da classe visual*

A amostra utilizada neste estudo classificava-se como Superior/2º, como está representado na Fig. 25.

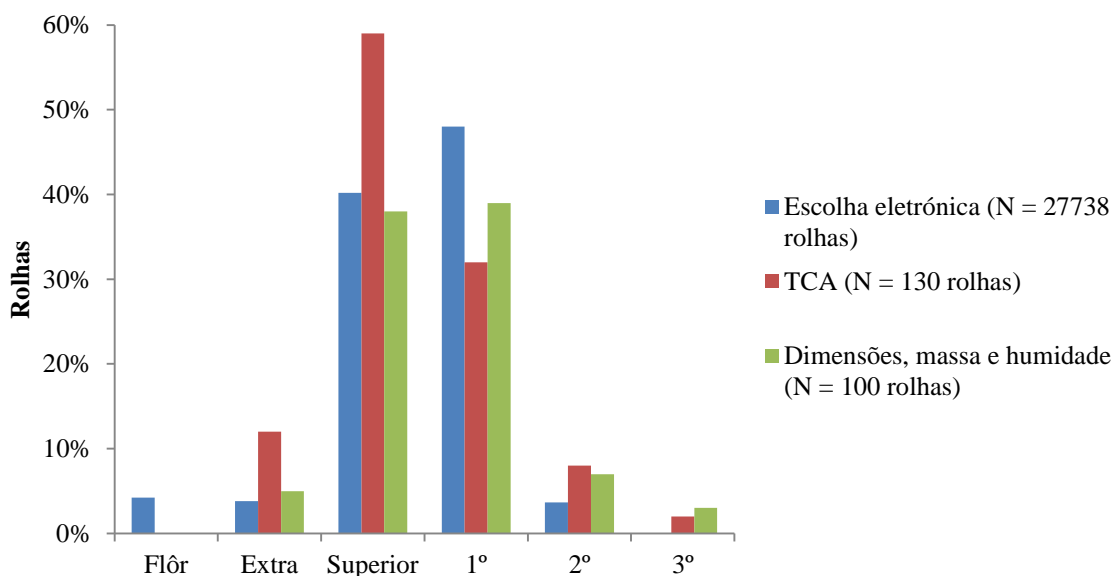


Fig. 25 - Análise da classe visual do lotes e das rolhas utilizadas na determinação da $[TCA]_{\text{libertável}}$ e análise das dimensões, massa e humidade.

Através da escolha electrónica é observado que um lote superior/2º possui maioritariamente rolhas superior e 1º, no entanto também estão presentes rolhas de outras classes. Isto pode demonstrar a variabilidade de classes que o lote pode conter e que se traduz num grau elevado da variabilidade da porosidade, assim, pode influenciar a sua sensibilidade a tecnologias de redução/eliminação da $[TCA]_{\text{libertável}}$ e assim existir uma grande diferença nas variações da $[TCA]_{\text{libertável}}$ após o processo INOS II. Em simultâneo, a variabilidade de classes que um lote pode conter revela a impossibilidade industrial em trabalhar apenas com um lote que seja 100% apenas uma classe, o que invoca a

necessidade de um processo de redução da [TCA]_{libertável} ser eficaz independentemente da classe da rolha.

A classificação visual das rolhas contaminadas com TCA permitiu um controlo em relação aos níveis de referência de que é constituída a classe Superior/2°. Revelou a possibilidade de que uma determinada classe é mais propícia a estar contaminada com, como foi observado.

Nas rolhas utilizadas na análise das dimensões, massa e humidade, novamente, observa-se que a variabilidade de resultados obtidos pode ser provocada pela classe de cada rolha.

6.3 2ª Fase

. As análises realizadas permitiram determinar a variação $[TCA]_{\text{libertável}}$ de 60 rolhas e variação sensorial como também das dimensões, massa e humidade de 100 rolhas.

6.3.1 Variação da $[TCA]_{\text{libertável}}$

Os resultados obtidos encontram-se apresentados na Fig. 26.

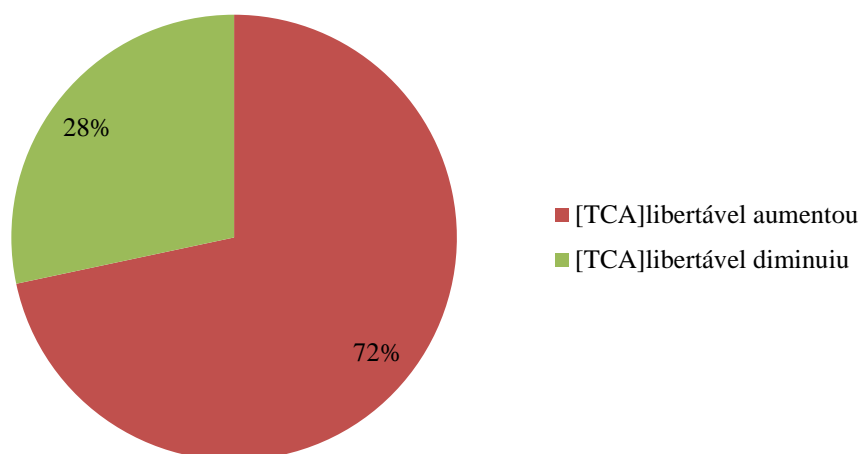


Fig. 26- Percentagem de rolhas que sofreu aumento ou diminuição no $[TCA]_{\text{libertável}}$ com o processo INOS II.

Os resultados apresentaram uma situação oposta aos resultados obtidos na 1ª fase: 72% das rolhas processadas pelos INOS II apresentaram um aumento médio de $173 \pm 241\%$ de $[TCA]_{\text{libertável}}$ e cerca de 28% apresentaram uma diminuição média de $50 \pm 32\%$.

Estes resultados podem ser justificados pelas mesmas razões mencionadas anteriormente e reforçam a necessidade de mais estudos aprofundados da avaliação da reprodutibilidade da variação de $[TCA]_{\text{libertável}}$ do processo INOS II. Estes estudos podem utilizar amostragens médias obtidas através da realização de macerações compostas para a determinação de $[TCA]_{\text{libertável}}$.

6.3.2 *Variação sensorial*

A análise sensorial revelou que a amostra antes de ser processada pelo INOS II apresentava 1 desvio sensorial, podendo ser TERROSO ou BOLOR.

A amostra após ser processada pelo INOS II apresentou 2 desvios sensoriais, sem concordância do grupo organoléptico.

Novamente, foi obtido uma situação desfavorável do efeito do processo INOS II ao nível organoléptico.

6.3.3 *Variação dimensional, da massa e da humidade*

Os resultados obtidos estão apresentados na Fig. 27.

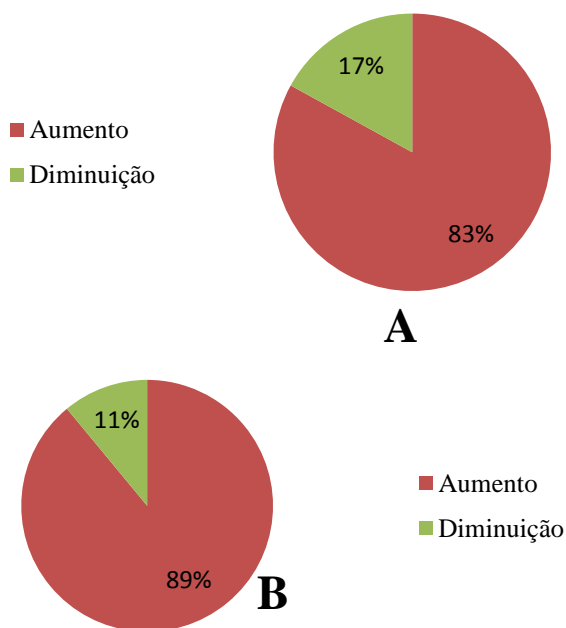


Fig. 27 – Percentagem de rolhas que sofreu variação do comprimento (A) e do diâmetro médio (B) depois de serem processadas pelo INOS II.

Neste caso, a variação do comprimento e do diâmetro da rolha apresentou um aumento e também diminuição.

No comprimento, cerca de 17% sofreram uma diminuição média de $0,29 \pm 0,12$ mm e cerca de 83% das rolhas sofreram um aumento médio de $0,15 \pm 0,20$ mm. No diâmetro médio cerca de 11% das rolhas sofreu uma diminuição média de $0,18 \pm 0,11$ mm e 89% das rolhas sofreu um aumento médio de $0,05 \pm 0,11$ mm.

Os resultados obtidos na 2ª fase são muito diferentes aos resultados obtidos na 1ª fase. Observou-se que o processo INOS II pode também provocar uma diminuição do comprimento e do diâmetro médio da rolha e a variação do comprimento e do diâmetro médio não é diferente dos resultados obtidos na 1ª fase.

O processo INOS II pode não ser indicado para rolhas acabadas porque pode provocar uma variação das dimensões da rolha. Esta hipótese é reforçada por estes resultados obtidos e também demonstra a necessidade de mais estudos no âmbito da variação dimensional.

Ao nível da humidade, observa-se, novamente, um aumento médio, cerca de $3,6 \pm 1,1$ %, resultado provavelmente da absorção de água durante o processo INOS II (ocorreu um aumento de massa de $4 \pm 2\%$).

O aumento da humidade e da massa era previsto tendo em conta os resultados obtidos na 1ª fase.

Assim, é demonstrada a necessidade de mais estudos futuros para verificar a reprodutibilidade do processo INOS II ao nível das dimensões, massa e humidade. Os estudos utilizarão mais amostras para observar a reprodutibilidade dos resultados obtidos neste trabalho.

Conclusões

Conclusões

A realização do estágio permitiu investigar mais sobre o processo INOS II e o seu efeito sobre as rolhas.

Na fase preliminar podemos concluir que o processo INOS II apresenta um potencial de redução e um potencialefeito desfavorável de aumento do [TCA]_{libertável} das rolhas de cortiça. Também, a variabilidade da redução ou aumento da [TCA]_{libertável} mostra que o processo INOS II não é eficaz em lotes com uma elevadavariabilidade de classes.

Na 1ª fase, ao analisar por macerações compostas a variação do [TCA]_{libertável} pode-se observar apenas um potencial de redução do [TCA]_{libertável} do lote processado pelo INOS II, no entanto ao nível individual observou-se que o potencial de redução não é verdadeiro para todo o lote. Assim, o processo INOS II pode não apresentar um potencial de redução do [TCA]_{libertável} real.

O possível efeito do INOS II varia consoante o [TCA]_{libertável} da rolha antes da redução do diâmetro, podendo ter um efeito favorável ou desfavorável na variação do [TCA]_{libertável}.

Ao nível da desodorização, foram obtidos resultados inconclusivos quanto à eficácia do INOS II.

As variações das dimensões, humidade e massa das rolhas que foram processadas pelo INOS II podem revelar que o processo não pode ser aplicado a rolhas acabadas.

Na 2ª fase, em suma, é reforçado a necessidade de mais estudos com mais amostras de cada tipo de análises para fornecer uma conclusão válida do efeito do processo INOS II nas rolhas naturais.

Assim, são necessários mais estudos ao nível da eficiência de redução do [TCA]_{libertável} para ter uma observação válida sobre o processo INOS II e assim também, estudos de optimização do processo, nomeadamente estudar o efeito com variações de temperatura e diferentes ciclos de pressão e descompressão.

Referências

1. *THE ART OF CORK*. (Corticeira Amorim, S.G.P.S., S.A., 2011).
2. Silva, S. P. *et al.* Cork: properties, capabilities and applications. *Int. Mater. Rev.***50**, 345–365 (2005).
3. Şen, A., Van den Bulcke, J., Defoirdt, N., Van Acker, J. & Pereira, H. Thermal behaviour of cork and cork components. *Thermochim. Acta***582**, 94–100 (2014).
4. Olivella, M. À., Jové, P. & Oliveras, A. The use of cork waste as a biosorbent for persistent organic pollutants-Study of adsorption/desorption of polycyclic aromatic hydrocarbons. *J. Environ. Sci. Health. A. Tox. Hazard. Subst. Environ. Eng.***46**, 824–32 (2011).
5. Olivella, M. A., Fernández, I., Cano, L., Jové, P. & Oliveras, A. Role of chemical components of cork on sorption of aqueous polycyclic aromatic hydrocarbons. *Int. J. Environ. Res.***7**, 225–234 (2013).
6. PricewaterhouseCoopers/ECOBILAN. Evaluation of the environmental impacts of Cork Stoppers versus Aluminium and Plastic Closures. 126 (2008). http://www.amorimcork.com/media/cms_page_media/228/Amorim_LCA_Final_Report.pdf (Consultado a Novembro de 2104)
7. Associação Portuguesa da Cortiça. (2014). <http://www.apcor.pt> (Consultado a Novembro de 2104)
8. AMORIM. Quatro gerações, um destino: a excelência. *Cortic. Amorim* <http://www.amorim.com/corticeira-amorim/grupo-amorim/apresentacao> (Consultado a Novembro de 2104)
9. AMORIM. PRESENÇA MUNDIAL. *Cortic. Amorim* <http://www.amorim.com/corticeira-amorim/presenca-mundial> (Consultado a Novembro de 2104)
10. Organigrama do Relatório 2012 da Empresa Corticeira Amorim. at <http://www.corticeiraamorim.com/relatorios2012> (Consultado a Novembro de 2104)
11. AMORIM. Gestão global e integrada. *Unidades de Negócio* <http://www.amorim.com/unidades-de-negocio/materias-primas> (Consultado a Novembro de 2104)
12. Top Series. <http://www.topseriesamorim.com> (Consultado a Novembro de 2104)
13. AMORIM. O líder em quem os líderes confiam. *Unidades de Negócio* <http://www.amorim.com/unidades-de-negocio/rolhas> (Consultado a Novembro de 2104)

14. AMORIM. Soluções de cortiça high-tech. *Unidades de Negócio* <http://www.amorim.com/unidades-de-negocio/aglomerados-compositos> (Consultado a Novembro de 2104)
15. AMORIM. Pavimentos únicos com o conforto da cortiça. *Unidades de Negócio* <http://www.amorim.com/unidades-de-negocio/revestimentos> (Consultado a Novembro de 2104)
16. AMORIM. 100% naturais e de longa durabilidade. *Unidades de Negócio* <http://www.amorim.com/unidades-de-negocio/isolamentos> (Consultado a Novembro de 2104)
17. AMORIM. Sob o desafio permanente da inovação. *Liderança Glob.* <http://www.amorim.com/lideranca-global/i&d-inovacao> (Consultado a Novembro de 2104)
18. Pereira, H. Chemical composition and variability of cork from *Quercus suber* L. *Wood Sci. Technol.***22**, 211–218 (1988).
19. Fengel, D. & Wegener, G. *Wood: chemistry, ultrastructure, reactions*. (Walter de Gruyter & Co., 1984).
20. Conde, E., Cadahía, E., Garcia-Vallejo, M. C. & González-Adrados, J. R. Chemical Characterization of Reproduction Cork from Spanish *Quercus Suber*. *J. Wood Chem. Technol.***18**, 447–469 (1998).
21. Pereira, H. *Cork: Biology, Production and Uses*. (Elsevier, 2007).
22. Cadahía, E., Conde, E., Fernández de Simón, B. & García-Vallejo, M. C. Changes in Tannic Composition of Reproduction Cork *Quercus suber* throughout Industrial Processing. *J. Agric. Food Chem.***46**, 2332–2336 (1998).
23. Gandini, A., Pascoal Neto, C. & Silvestre, A. J. D. Suberin: A promising renewable resource for novel macromolecular materials. *Prog. Polym. Sci.***31**, 878–892 (2006).
24. Bernardis, M. A. Demystifying suberin. *Can. J. Bot.***80**, 227–240 (2002).
25. Graça, J. & Santos, S. Suberin: a biopolyester of plants' skin. *Macromol. Biosci.***7**, 128–35 (2007).
26. Gellerstedt, G. & Henriksson, G. in *Monomers, Polym. Compos. from Renew. Resour.* 201–224 (Elsevier, 2008).
27. Vanholme, R., Demedts, B., Morreel, K., Ralph, J. & Boerjan, W. Lignin biosynthesis and structure. *Plant Physiol.***153**, 895–905 (2010).
28. Popa, I. S. and V. I. in *Monomers, Polym. Compos. from Renew. Resour.* 289–304 (2008).

29. Santos, S. A. O., Pinto, P. C. R. O., Silvestre, A. J. D. & Neto, C. P. Chemical composition and antioxidant activity of phenolic extracts of cork from *Quercus suber* L. *Ind. Crops Prod.***31**, 521–526 (2010).
30. Conde, E., Cadahía, E., García-Vallejo, M. C. & Fernández de Simón, B. Polyphenolic Composition of *Quercus suber* Cork from Different Spanish Provenances. *J. Agric. Food Chem.***46**, 3166–3171 (1998).
31. Fernandes, A., Sousa, A., Mateus, N., Cabral, M. & de Freitas, V. Analysis of phenolic compounds in cork from *Quercus suber* L. by HPLC–DAD/ESI–MS. *Food Chem.***125**, 1398–1405 (2011).
32. Sousa, A. F., Pinto, P. C. R. O., Silvestre, A. J. D. & Pascoal Neto, C. Triterpenic and other lipophilic components from industrial cork byproducts. *J. Agric. Food Chem.***54**, 6888–93 (2006).
33. Conde, E., García-Vallejo, M. C. & Cadahía, E. Waxes composition of *Quercus suber* reproduction cork from different Spanish provenances. *Wood Sci. Technol.***33**, 271–283 (1999).
34. Castola, V., Marongiu, B., Bighelli, A., Floris, C., Lai, A., Casanova, J., Extractives of cork (*Quercus suber* L.): chemical composition of dichloromethane and supercritical CO₂ extracts. *Ind. Crops Prod.***21**, 65–69 (2005).
35. Castola, V. Bighelli, A., Rezzi, S., Melloni, G., Gladiali, S., Desjobert, J., Casanova, J., Composition and chemical variability of the triterpene fraction of dichloromethane extracts of cork (*Quercus suber* L.). *Ind. Crops Prod.***15**, 15–22 (2002).
36. Fernandes, A. Fernandes, I., Cruz, L., Mateus, N., Cabral, M., de Freitas, V., Antioxidant and biological properties of bioactive phenolic compounds from *Quercus suber* L. *J. Agric. Food Chem.***57**, 11154–60 (2009).
37. Santos, S. A. O. Villaverde, J. J., Sousa, A.F., Coelho, J.F.J., Neto, C. P., Silvestre, A.J.D.. Phenolic composition and antioxidant activity of industrial cork by-products. *Ind. Crop. Prod.***47**, 262–269 (2013).
38. Conde, E., Cadahía, E., García-Vallejo, M. C., Fernández de Simón, B. & González Adrados, J. R. Low Molecular Weight Polyphenols in Cork of *Quercus suber*. *J. Agric. Food Chem.***45**, 2695–2700 (1997).
39. Cadahía, E., Conde, E., Fernández de Simón, B. & García-Vallejo, M. C. Changes in Tannic Composition of Reproduction Cork *Quercus suber* throughout Industrial Processing. *J. Agric. Food Chem.***46**, 2332–2336 (1998).
40. Santos-Buelga, C. & Scalbert, A. Proanthocyanidins and tannin-like compounds - nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. *J. Sci. Food Agric.***80**, 1094–1117 (2000).

41. APCOR. *MANUAL TÉCNICO ROLHAS*. (2011).
42. APCOR. Rolhas Naturais. *Rolhas de Cortiça* <http://www.apcor.pt/artigo/242.htm> (Consultado a Novembro de 2104)
43. APCOR. Rolhas Naturais Colmatadas. *Rolhas de Cortiça* <http://www.apcor.pt/artigo/245.htm> (Consultado a Novembro de 2104)
44. APCOR. Rolhas Técnicas. *Rolhas de Cortiça* <http://www.apcor.pt/artigo/247.htm> (Consultado a Novembro de 2104)
45. APCOR. Rolhas Aglomeradas. *Rolhas de Cortiça* <http://www.apcor.pt/artigo/248.htm> (Consultado a Novembro de 2104)
46. APCOR. Rolhas de Champanhe. *Rolhas de Cortiça* <http://www.apcor.pt/artigo/246.htm> (Consultado a Novembro de 2104)
47. APCOR. Rolhas Capsuladas. *Rolhas de Cortiça* <http://www.apcor.pt/artigo/249.htm> (Consultado a Novembro de 2104)
48. APCOR. Rolhas Naturais Multipeça. *Rolhas de Cortiça* <http://www.apcor.pt/artigo/244.htm> (Consultado a Novembro de 2104)
49. Federation, E. C. *Código Internacional das Práticas Rolheiras*.
50. Buser, H. R., Zanier, C. & Tanner, H. Identification of 2,4,6-trichloroanisole as a potent compound causing cork taint in wine. *J. Agric. Food Chem.***30**, 359–362 (1982).
51. Sefton, M. A. & Simpson, R. F. Compounds causing cork taint and the factors affecting their transfer from natural cork closures to wine – a review. *Aust. J. Grape Wine Res.* 226–240 (2005).
52. Chatonnet, P., Bonnet, S., Boutou, S. & Labadie, M.-D. Identification and responsibility of 2,4,6-tribromoanisole in musty, corked odors in wine. *J. Agric. Food Chem.***52**, 1255–62 (2004).
53. Pollnitz, A. P., Pardon, K. H., Liacopoulos, D., Skouroumounis, G. K. & Sefton, M. A. The analysis of 2,4,6-trichloroanisole and other chloroanisoles in tainted wines and corks. *Aust. J. Grape Wine Res.***2**, 184–190 (1996).
54. Takeuchi, H., Kato, H. & Kurahashi, T. 2,4,6-trichloroanisole is a potent suppressor of olfactory signal transduction. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.***110**, 16235–40 (2013).
55. Griffiths, N. M. *Sensory properties of the chloro-anisoles*. *Chem. Sens. Flavor.***1**, (1974).

56. Curtis, RF; Land, DG; Griffiths, MN; Gee, MG; Robinson, D; Peel, J. D. & JM., C. and G. 2,3,4,6-Tetrachloroanisole Association with Musty Taint in Chickens and Microbiological Formation. *Nature***235**, 223–224 (1972).
57. Duerr, P. in *Wine Qual. Eval.* 257–266 (Carvallis, Oregon State University. USA, 1985).
58. Saxby, MJ; WJ, Reid; and GS, W. *Index of chemical taints*. (Leatherhead Food, RA. Leatherhead., 1982).
59. Whitfield, F. B., Hill, J. L. & Shaw, K. J. 2,4,6-Tribromoanisole: a Potential Cause of Mustiness in Packaged Food. *J. Agric. Food Chem.***45**, 889–893 (1997).
60. Alvarez-Rodriguez, M. L. *et al.* Cork Taint of Wines: Role of the Filamentous Fungi Isolated from Cork in the Formation of 2,4,6-Trichloroanisole by O Methylation of 2,4,6-Trichlorophenol. *Appl. Environ. Microbiol.***68**, 5860–5869 (2002).
61. Luisa, A. Characterization of an Inducible Chlorophenol O -Methyltransferase from *Trichoderma longibrachiatum* Involved in the Formation of Chloroanisoles and Determination of Its Role in Cork Taint of Wines. **69**, 5089–5095 (2003).
62. Coque, J. J. R., Pérez, E. R., Goswami, M., Martínez, R. F., García, S. C., Rodríguez, M. L. Á., Martín, J. F. M. *Wine Contamination by Haloanisoles: Towards the development of biotechnological strategies to remove chloroanisoles from cork stoppers*. (INBIOTEC, 2006).
63. ISO 22308:2005 - Cork stoppers -- Sensory analysis.
http://www.iso.org/iso/catalogue_detail.htm?csnumber=34938 (*Consultado a Noviembre de 2104*)
64. Juanola, R., Guerrero, L., Subirà, D., Salvadó, V., Insa, S., Garcia Regueiro, J.A., Anticó, E. Relationship between sensory and instrumental analysis of 2,4,6-trichloroanisole in wine and cork stoppers. *Anal. Chim. Acta***513**, 291–297 (2004).
65. Prescott, J., Norris, L., Kunst, M. & Kim, S. Estimating a ‘consumer rejection threshold’ for cork taint in white wine. *Food Qual. Prefer.***16**, 345–349 (2005).
66. Macku, C., Gonzalez, L., Schleussner, C., Mesquita, A. C., Herwatt, J. W., Kirch, L. C., Schwartz, R. J. Sensory screening for large-format natural corks by ‘dry soak’ testing and its correlation to headspace solid-phase microextraction (SPME) gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) releasable trichloroanisole (TCA) analysis. *J. Agric. Food Chem.***57**, 7962–8 (2009).
67. Evans, T. J., Butzke, C. E. & Ebeler, S. E. Analysis of 2,4,6-trichloroanisole in wines using solid-phase microextraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A***786**, 293–298 (1997).

68. Alzaga, R., Ortiz, L., Sánchez-Baeza, F., Marco, M.-P. & Bayona, J. M. Accurate determination of 2,4,6-trichloroanisole in wines at low parts per trillion by solid-phase microextraction followed by GC-ECD. *J. Agric. Food Chem.***51**, 3509–14 (2003).
69. Pawliszyn, J. *Handbook of Solid Phase Microextraction*. (2011).
70. Valente, A. & Augusto, F. Microextração por fase sólida. *Quim. Nova* (2000). **23**, 523-530 (2000).
71. Pawliszyn, J. *Applications of Solid Phase Microextraction*. (Royal Society of Chemistry, 1999).
72. Kataoka, H., Lord, H. L. & Pawliszyn, J. Applications of solid-phase microextraction in food analysis. *J. Chromatogr. A***880**, 35–62 (2000).
73. Fontana, A. R. Analytical methods for determination of cork-taint compounds in wine. *TrAC Trends Anal. Chem.***37**, 135–147 (2012).
74. Hervé, E., Price, S., Burns, G. & Weber, P. Chemical Analysis of TCA As a Quality Control Tool For Natural Corks. (1999). (*Consultado a Novembro de 2104*)
75. Peres, A. M., Freitas, P., Dias, L. G., Sousa, M. E B C., Castro, L. M., Veloso, A. C. A Cyclic voltammetry: a tool to quantify 2,4,6-trichloroanisole in aqueous samples from cork planks boiling industrial process. *Talanta***117**, 438–44 (2013).
76. Varelas, V., Sanvicens, N., M-Pilar-Marco & Kintzios, S. Development of a cellular biosensor for the detection of 2,4,6-trichloroanisole (TCA). *Talanta***84**, 936–40 (2011).
77. Garcia, A. R., Lopes, L. F., Barros, R. B. de & Ilharco, L. M. The Problem of 2,4,6-Trichloroanisole in Cork Planks Studied by Attenuated Total Reflection Infrared Spectroscopy: Proof of Concept. *J. Agric. Food Chem.* (2014).
78. Simpson, R. F. & Sefton, M. A. Origin and fate of 2, 4, 6-trichloroanisole in cork bark and wine corks. *Aust. J. Grape Wine Res.***13**, 106–116 (2007).
79. Santos, M. N., Bragança, M. H. & Casimiro, P. P. Microrganismos Associados à Cortiça em Diferentes Fases da sua Fileira. *Silva Lusit.***13**, 75–93 (1992).
80. Pereira, C., Gil, L. & Carriço, L. Reduction of the 2,4,6-trichloroanisole content in cork stoppers using gamma radiation. *Radiat. Phys. Chem.***76**, 729–732 (2007).
81. Silva P. C., Pires, A., Valle, M. J., Vilas Boas, L., Figueiredo Marques, J. J., San Romao, M. V. Role of *Chrysonilia sitophila* in the quality of cork stoppers for sealing wine bottles. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.***24**, 256–261

82. Cabral, M. Cork product treatment system and apparatuses by extraction of compounds dragged in water vapour. Patente nº WO2004014436 A1 (2004).
83. Leal Ferreira, J. M. Method of solid-liquid extraction applied to cork products. Patente nº EP1108507 B1 (2001).
84. Capone, D. L., Skouroumounis, G.K., Barker, D.A., Mclean, H.J., Pollnitz, A.P., Sefton, M.A.. Absorption of chloroanisoles from wine by corks and by other materials. *Aust. J. Grape Wine Res.* **5**, 91–98 (1999).
85. ISO 20752:2014 - Cork stoppers -- Determination of releasable 2, 4, 6-trichloroanisol (TCA).
http://www.iso.org/iso/catalogue_detail.htm?csnumber=62646 (*Consultado a Fevereiro de 2105*)
86. MedCork - Sistema Automático de Medição de Rolhas.
<<http://www.egitron.pt/client/skins/portuguese/produtos.asp?produto=377>
(*Consultado a Fevereiro de 2105*)

Anexo 1

Resultados

Fase preliminar

Tabela A 1 - Determinação da [TCA]_{libertável} dos lotes 30x21,5 raça antes e depois de serem processados pelo INOS II. Dados de 2014. NQ ≤ 0,50 ng/L.

| Lote | | [TCA] _{libertável} (ng/L) | | | | | Média (ng/L) | Desvio Padrão (ng/L) | IC _{90%} (ng/L) | Variação (%) |
|------|----------------|------------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------|
| | | | | | | | | | | |
| 1 | Antes INOS II | 0,5 | 0,8 | 0,5 | 0,6 | 1,4 | 0,8 | 0,4 | 0,4 | 35 |
| | Depois INOS II | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,0 | 0,0 | |
| 2 | Antes INOS II | 0,5 | 0,8 | 0,5 | 0,6 | 1,4 | 0,8 | 0,4 | 0,4 | 45 |
| | Depois INOS II | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,0 | 0,0 | |
| 3 | Antes INOS II | 0,6 | 0,5 | 0,5 | 2,3 | 0,5 | 0,9 | 0,8 | 0,8 | 44 |
| | Depois INOS II | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,0 | 0,0 | |
| 4 | Antes INOS II | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 1,9 | 0,5 | 0,8 | 0,6 | 0,6 | 37 |
| | Depois INOS II | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,0 | 0,0 | |
| 5 | Antes INOS II | 0,5 | 2,3 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,9 | 0,8 | 0,8 | 42 |
| | Depois INOS II | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,0 | 0,0 | |
| 6 | Antes INOS II | 1,1 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,6 | 0,3 | 0,3 | 16 |
| | Depois INOS II | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,6 | 0,5 | 0,0 | 0,0 | |
| 7 | Antes INOS II | 0,5 | 0,5 | 2,8 | 0,5 | 0,5 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 49 |
| | Depois INOS II | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,0 | 0,0 | |
| 8 | Antes INOS II | 1,0 | 4,4 | 0,8 | 1,1 | 0,9 | 1,6 | 1,5 | 1,5 | 70 |
| | Depois INOS II | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,0 | 0,0 | |
| 9 | Antes INOS II | 0,6 | 0,9 | 0,5 | 1,4 | 4,5 | 1,6 | 1,7 | 1,6 | 60 |
| | Depois INOS II | 1,2 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,6 | 0,3 | 0,3 | |
| 10 | Antes INOS II | 1,4 | 1,2 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,8 | 0,4 | 0,4 | -15 |
| | Depois INOS II | 0,5 | 2,4 | 0,5 | 0,5 | 0,8 | 0,9 | 0,8 | 0,8 | |
| 12 | Antes INOS II | 4,3 | 0,5 | 1,1 | 1,2 | 0,5 | 1,5 | 1,6 | 1,5 | 21 |
| | Depois INOS II | 1,1 | 1,2 | 1,3 | 1,2 | 1,2 | 1,2 | 0,1 | 0,1 | |
| 12 | Antes INOS II | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,0 | 0,0 | -91 |
| | Depois INOS II | 0,5 | 0,5 | 0,6 | 2,6 | 0,5 | 0,9 | 0,9 | 0,9 | |
| 13 | Antes INOS II | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 1,4 | 0,7 | 0,4 | 0,4 | -66 |
| | Depois INOS II | 0,5 | 2,8 | 0,5 | 0,5 | 1,3 | 1,1 | 1,0 | 1,0 | |

| | | | | | | | | | | |
|----|----------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|
| 14 | Antes INOS II | 5,1 | 2,0 | 2,0 | 2,0 | 2,6 | 2,7 | 1,3 | 1,3 | 40 |
| | Depois INOS II | 2,0 | 1,1 | 1,1 | 1,3 | 2,7 | 1,6 | 0,7 | 0,7 | |
| 15 | Antes INOS II | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,0 | 0,0 | -310 |
| | Depois INOS II | 8,1 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 2,0 | 3,4 | 3,2 | |
| 16 | Antes INOS II | 0,7 | 1,5 | 0,7 | 1,3 | 0,5 | 0,9 | 0,4 | 0,4 | -53 |
| | Depois INOS II | 4,4 | 0,9 | 0,6 | 0,8 | 0,5 | 1,4 | 1,7 | 1,6 | |
| 17 | Antes INOS II | 0,7 | 0,5 | 0,5 | 0,7 | 0,5 | 0,6 | 0,1 | 0,1 | -62 |
| | Depois INOS II | 0,5 | 0,5 | 2,7 | 0,5 | 0,5 | 0,9 | 1,0 | 0,9 | |
| 18 | Antes INOS II | 0,5 | 0,5 | 0,6 | 2,1 | 1,3 | 1,0 | 0,7 | 0,7 | 10 |
| | Depois INOS II | 0,5 | 1,1 | 1,4 | 0,7 | 0,8 | 0,9 | 0,4 | 0,3 | |
| 19 | Antes INOS II | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,0 | 0,0 | -139 |
| | Depois INOS II | 2,3 | 0,7 | 0,6 | 1,8 | 0,5 | 1,2 | 0,8 | 0,8 | |
| 20 | Antes INOS II | 2,0 | 0,9 | 0,8 | 1,2 | 0,8 | 1,1 | 0,5 | 0,5 | 57 |
| | Depois INOS II | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,0 | 0,0 | |

1ª fase

- Variação da $[TCA]_{\text{libertável}}$

Tabela A 2 - -- Determinação da $[TCA]_{\text{libertável}}$ da amostra antes e depois de ser processada pelo INOS II e determinada através da preparação de macerações compostas

| Antes INOS II | | Depois INOS II | |
|-------------------|--|----------------|--|
| Nº Frasco | $[TCA]_{\text{libertável}}(\text{ng/L})$ | Nº Frasco | $[TCA]_{\text{libertável}}(\text{ng/L})$ |
| 1 | 6,5 | 1 | 1,0 |
| 2 | 10,5 | 2 | 1,2 |
| 3 | 3,6 | 3 | 2,4 |
| 4 | 2,1 | 4 | 1,9 |
| 5 | 2,1 | 5 | 2,8 |
| 6 | 3,3 | 6 | 2,3 |
| 7 | 1,8 | 7 | 1,8 |
| 8 | 2,7 | 8 | 1,7 |
| 9 | 2,8 | 9 | 3,2 |
| 10 | 5,6 | 10 | 2,2 |
| Média | 4,1 | 11 | 2,5 |
| Desvio Padrão | 2,7 | 12 | 5,1 |
| IC _{90%} | 1,4 | 13 | 1,5 |
| | | 14 | 2,0 |
| | | 15 | 2,8 |
| | | 16 | 2,2 |
| | | 17 | 3,3 |
| | | 18 | 5,8 |

| | |
|-------------------|-----|
| 19 | 2,8 |
| 20 | 5,7 |
| Média | 2,7 |
| Desvio Padrão | 1,4 |
| IC _{90%} | 0,5 |

Tabela A 3 – Determinação da [TCA]_{libertável} em rolhas antes e depois de serem processadas pelo INOS II

| Rolha | [TCA] _{libertável} (ng/L) | | Variação (%) |
|-------|------------------------------------|----------------|--------------|
| | Antes INOS II | Depois INOS II | |
| 162 | 10,2 | 39,0 | -282 |
| 180 | 9,9 | 34,2 | -245 |
| 148 | 5,6 | 18,2 | -225 |
| 208 | 0,7 | 2,2 | -214 |
| 201 | 3,2 | 9,8 | -206 |
| 169 | 14,2 | 40,9 | -188 |
| 112 | 0,8 | 2,3 | -188 |
| 213 | 24,9 | 66,5 | -167 |
| 129 | 8,1 | 20,7 | -156 |
| 147 | 0,5 | 1,2 | -140 |
| 224 | 14,1 | 32,7 | -132 |
| 190 | 38,1 | 86,6 | -127 |
| 173 | 24,9 | 56,4 | -127 |
| 151 | 0,5 | 1,1 | -120 |
| 215 | 6,1 | 13,2 | -116 |
| 149 | 0,5 | 1,0 | -100 |
| 202 | 1,0 | 1,9 | -90 |
| 175 | 0,7 | 1,3 | -86 |
| 163 | 1,7 | 2,9 | -71 |
| 131 | 1,6 | 2,7 | -69 |
| 184 | 0,6 | 1,0 | -67 |
| 210 | 0,9 | 1,5 | -67 |
| 186 | 9,8 | 15,3 | -56 |
| 83 | 1,5 | 2,3 | -53 |
| 189 | 13,3 | 19,4 | -46 |
| 135 | 23,3 | 32,0 | -37 |
| 155 | 9,4 | 12,9 | -37 |
| 178 | 19,3 | 26,4 | -37 |
| 216 | 12,9 | 17,6 | -36 |
| 152 | 2,9 | 3,9 | -34 |

| | | | |
|-----|------|------|-----|
| 195 | 0,6 | 0,8 | -33 |
| 71 | 1,1 | 1,4 | -27 |
| 192 | 1,9 | 2,4 | -26 |
| 225 | 2,5 | 3,1 | -24 |
| 79 | 1,0 | 1,2 | -20 |
| 183 | 0,7 | 0,8 | -14 |
| 204 | 8,3 | 9,4 | -13 |
| 230 | 1,6 | 1,8 | -13 |
| 212 | 26,1 | 26,6 | -2 |
| 72 | 1,9 | 1,9 | 0 |
| 80 | 1,6 | 1,6 | 0 |
| 102 | 1,1 | 1,1 | 0 |
| 141 | 1,5 | 1,5 | 0 |
| 150 | 0,5 | 0,5 | 0 |
| 177 | 0,9 | 0,9 | 0 |
| 191 | 1,0 | 1,0 | 0 |
| 219 | 1,6 | 1,6 | 0 |
| 223 | 1,5 | 1,5 | 0 |
| 140 | 3,8 | 3,6 | 5 |
| 231 | 1,3 | 1,2 | 8 |
| 194 | 1,2 | 1,1 | 8 |
| 117 | 16,6 | 15,0 | 10 |
| 75 | 1,0 | 0,9 | 10 |
| 41 | 6,7 | 6,0 | 10 |
| 165 | 1,9 | 1,7 | 11 |
| 110 | 31,7 | 28,3 | 11 |
| 113 | 1,3 | 1,1 | 15 |
| 107 | 1,2 | 1,0 | 17 |
| 207 | 2,9 | 2,4 | 17 |
| 198 | 2,1 | 1,7 | 19 |
| 182 | 1,0 | 0,8 | 20 |
| 206 | 4,9 | 3,9 | 20 |
| 199 | 1,8 | 1,4 | 22 |
| 166 | 1,3 | 1,0 | 23 |
| 203 | 1,7 | 1,3 | 24 |
| 114 | 1,2 | 0,9 | 25 |
| 130 | 2,3 | 1,7 | 26 |
| 164 | 1,1 | 0,8 | 27 |
| 132 | 2,8 | 2,0 | 29 |
| 229 | 0,7 | 0,5 | 29 |
| 197 | 1,0 | 0,7 | 30 |
| 196 | 1,3 | 0,9 | 31 |
| 136 | 3,8 | 2,6 | 32 |

| | | | |
|-----|------|------|----|
| 154 | 1,5 | 1,0 | 33 |
| 211 | 1,8 | 1,2 | 33 |
| 74 | 4,4 | 2,9 | 34 |
| 218 | 1,7 | 1,1 | 35 |
| 76 | 1,6 | 1,0 | 38 |
| 40 | 23,4 | 14,5 | 38 |
| 171 | 2,0 | 1,2 | 40 |
| 104 | 2,2 | 1,3 | 41 |
| 115 | 21,0 | 12,2 | 42 |
| 160 | 1,9 | 1,1 | 42 |
| 185 | 1,4 | 0,8 | 43 |
| 161 | 2,1 | 1,2 | 43 |
| 126 | 1,6 | 0,9 | 44 |
| 103 | 0,9 | 0,5 | 44 |
| 111 | 0,9 | 0,5 | 44 |
| 134 | 0,9 | 0,5 | 44 |
| 139 | 0,9 | 0,5 | 44 |
| 137 | 2,0 | 1,1 | 45 |
| 179 | 1,5 | 0,8 | 47 |
| 188 | 1,7 | 0,9 | 47 |
| 227 | 2,1 | 1,1 | 48 |
| 209 | 2,0 | 1,0 | 50 |
| 221 | 1,0 | 0,5 | 50 |
| 105 | 4,3 | 2,1 | 51 |
| 119 | 2,7 | 1,3 | 52 |
| 120 | 1,7 | 0,8 | 53 |
| 144 | 4,9 | 2,3 | 53 |
| 125 | 1,3 | 0,6 | 54 |
| 143 | 1,3 | 0,6 | 54 |
| 93 | 1,1 | 0,5 | 55 |
| 94 | 1,1 | 0,5 | 55 |
| 214 | 1,8 | 0,8 | 56 |
| 226 | 1,8 | 0,8 | 56 |
| 128 | 2,3 | 1,0 | 57 |
| 159 | 1,9 | 0,8 | 58 |
| 193 | 2,0 | 0,8 | 60 |
| 217 | 1,5 | 0,6 | 60 |
| 167 | 1,3 | 0,5 | 62 |
| 168 | 1,3 | 0,5 | 62 |
| 106 | 3,2 | 1,2 | 63 |
| 205 | 2,2 | 0,8 | 64 |
| 121 | 1,4 | 0,5 | 64 |
| 222 | 1,4 | 0,5 | 64 |

| | | | |
|-----|-----|-----|----|
| 187 | 2,3 | 0,8 | 65 |
| 77 | 9,1 | 3,1 | 66 |
| 92 | 1,5 | 0,5 | 67 |
| 170 | 2,8 | 0,8 | 71 |
| 228 | 1,8 | 0,5 | 72 |
| 220 | 1,9 | 0,5 | 74 |
| 123 | 3,9 | 1,0 | 74 |
| 172 | 3,3 | 0,8 | 76 |
| 156 | 2,7 | 0,6 | 78 |
| 109 | 3,0 | 0,6 | 80 |
| 138 | 3,2 | 0,6 | 81 |
| 101 | 3,4 | 0,5 | 85 |
| 118 | 4,4 | 0,5 | 89 |
| 142 | 4,6 | 0,5 | 89 |

- Variação sensorial

Tabela A 4 – Análise organoléptica da amostra antes de ser processada pelo INOS II

| Grupo organoléptico Analista | Q | V | T | B | D | Rolhas com desvio |
|---------------------------------|---|---|---|---|---|---|
| 1 | | | | 2 | | 41 (B), 42 (B) |
| 2 | | 1 | | 2 | | 40 (V), 41 (B), 42 (B) |
| 3 | | 3 | | 4 | 2 | 3 (V), 40 (V), 48 (V), 36 (B), 41 (B), 42 (B), 7(D), 49 (D), 12(B) |
| 4 | | | | 1 | 1 | 7 (D), 12 (B) |

Tabela A 5 - Análise organoléptica da amostra depois de ser processada pelo INOS II

| Grupo organoléptico Analista | Q | V | T | B | D | Rolhas com desvio |
|---------------------------------|---|---|---|---|---|-------------------------------|
| 1 | | | | | | |
| 2 | | | | 1 | | 66 (B) |
| 3 | | | 1 | 2 | | 3 (B), 24 (T), 86 (B) |
| 4 | | 1 | | 2 | 1 | 7 (B), 64 (V), 66 (B), 88 (D) |
| 5 | | 1 | | | | 59 (V) |
| 6 | | 2 | | 1 | | 5 (B), 17 (V), 23 (V) |

- Variação da $[TCA]_{\text{libertável}}$ após redução do diâmetro

Tabela A 6 – Determinação da $[TCA]_{\text{libertável}}$ antes e depois da redução do diâmetro em rolhas não processadas pelo INOS II. Grupo de rolhas com $[TCA]_{\text{libertável}} \leq 1,5$ ng/L antes da redução.

| Rolha | $[TCA]_{\text{libertável}}$ antes redução (ng/L) | $[TCA]_{\text{libertável}}$ depois redução (ng/L) | Variação (%) |
|-------|---|--|--------------|
| 20 | 0,5 | 3,9 | -680 |
| 127 | 1,2 | 3,0 | -150 |
| 19 | 0,5 | 0,9 | -80 |
| 90 | 1,1 | 2,0 | -82 |
| 91 | 1,1 | 1,9 | -73 |
| 84 | 1,3 | 2,1 | -62 |
| 35 | 0,5 | 0,7 | -40 |
| 36 | 0,8 | 1,1 | -38 |
| 146 | 0,5 | 0,5 | 0 |
| 24 | 0,5 | 0,5 | 0 |
| 40 | 0,9 | 0,9 | 0 |
| 22 | 0,5 | 0,5 | 0 |
| 25 | 0,8 | 0,7 | 13 |
| 31 | 1,2 | 1,0 | 17 |
| 29 | 1,0 | 0,8 | 20 |
| 14 | 0,8 | 0,6 | 25 |
| 26 | 0,7 | 0,5 | 29 |
| 28 | 0,7 | 0,5 | 29 |
| 30 | 0,7 | 0,5 | 29 |
| 23 | 1,5 | 1,0 | 33 |
| 9 | 1,3 | 0,8 | 38 |
| 21 | 0,8 | 0,5 | 38 |
| 34 | 0,8 | 0,5 | 38 |
| 38 | 0,8 | 0,5 | 38 |
| 4 | 1,2 | 0,5 | 58 |

Tabela A 7 - Determinação da $[TCA]_{\text{libertável}}$ antes e depois da redução do diâmetro em rolhas previamente processadas pelo INOS II. Grupo de rolhas com $[TCA]_{\text{libertável}} \leq 1,5$ ng/L antes da redução.

| Rolha | $[TCA]_{\text{libertável}}$ antes redução (ng/L) | $[TCA]_{\text{libertável}}$ depois redução (ng/L) | Variação (%) |
|-------|---|--|--------------|
| 93 | 0,5 | 1,4 | -180 |

| | | | |
|-----|-----|-----|------|
| 168 | 0,5 | 1,2 | -140 |
| 101 | 0,5 | 1,2 | -140 |
| 92 | 0,5 | 1,0 | -100 |
| 151 | 1,1 | 2,1 | -91 |
| 114 | 0,9 | 1,7 | -89 |
| 111 | 0,5 | 0,9 | -80 |
| 126 | 0,9 | 1,6 | -78 |
| 150 | 0,5 | 0,8 | -60 |
| 102 | 1,1 | 1,6 | -45 |
| 75 | 1,0 | 1,4 | -40 |
| 113 | 1,1 | 1,3 | -18 |
| 104 | 1,3 | 1,3 | 0 |
| 94 | 1,1 | 1,0 | 9 |
| 123 | 1,0 | 0,9 | 10 |
| 125 | 1,3 | 1,1 | 15 |
| 121 | 1,4 | 1,1 | 21 |
| 107 | 1,2 | 0,8 | 33 |

Tabela A 8 -Determinação da $[TCA]_{\text{libertável}}$ antes e depois da redução do diâmetro em rolhas não processadas pelo INOS II. Grupo de rolhas com $[TCA]_{\text{libertável}} > 1,5$ ng/L antes da redução.

| Rolha | $[TCA]_{\text{libertável}}$ antes redução (ng/L) | $[TCA]_{\text{libertável}}$ depois redução (ng/L) | Variação (%) |
|-------|---|--|--------------|
| 37 | 2,7 | 13,6 | -404 |
| 133 | 10,0 | 42,9 | -329 |
| 8 | 8,7 | 35,2 | -305 |
| 34 | 3,9 | 9,9 | -154 |
| 122 | 6,4 | 13,9 | -117 |
| 1 | 6,4 | 12,2 | -91 |
| 108 | 1,7 | 2,6 | -53 |
| 6 | 6,2 | 8,8 | -42 |
| s36 | 2,1 | 2,8 | -33 |
| s33 | 19,2 | 24,8 | -29 |
| 7 | 7,8 | 9,5 | -22 |
| 27 | 7,2 | 8,0 | -11 |
| 42 | 10,9 | 11,9 | -9 |
| 2 | 6,8 | 5,5 | 19 |
| 48 | 2,6 | 1,9 | 27 |
| 116 | 3,1 | 2,1 | 32 |
| 124 | 3,3 | 2,0 | 39 |
| 32 | 2,6 | 1,5 | 42 |
| 153 | 2,5 | 1,4 | 44 |
| 174 | 3,1 | 1,6 | 48 |

| | | | |
|-----|------|-----|----|
| 158 | 2,4 | 1,2 | 50 |
| 181 | 2,4 | 1,0 | 58 |
| 3 | 2,7 | 1,0 | 63 |
| s16 | 11,9 | 4,0 | 66 |
| 157 | 2,7 | 0,9 | 67 |

Tabela A 9 - Determinação da [TCA]libertável antes e depois da redução do diâmetro em rolhas processadas pelo INOS II. Grupo de rolhas com [TCA]libertável > 1,5 ng/L antes da redução.

| Rolha | [TCA]libertável antes redução (ng/L) | [TCA]libertável depois redução (ng/L) | Varição (%) |
|-------|--------------------------------------|---------------------------------------|-------------|
| 41 | 6,0 | 18,6 | -210 |
| 117 | 15,0 | 41,3 | -175 |
| 110 | 28,3 | 47,8 | -69 |
| 192 | 1,9 | 3,0 | -58 |
| 202 | 1,9 | 2,4 | -26 |
| 140 | 3,6 | 4,4 | -22 |
| 115 | 12,2 | 14,9 | -22 |
| 204 | 9,4 | 11,3 | -20 |
| 40 | 23,4 | 23,7 | -1 |
| 198 | 2,1 | 2,1 | 0 |
| 208 | 2,2 | 2,2 | 0 |
| 77 | 9,1 | 8,7 | 4 |
| 190 | 86,6 | 75,0 | 13 |
| 207 | 2,9 | 2,5 | 14 |
| 74 | 4,4 | 3,7 | 16 |
| 219 | 1,6 | 1,3 | 19 |
| 105 | 4,3 | 3,3 | 23 |
| 206 | 4,9 | 3,6 | 27 |
| 165 | 1,7 | 1,1 | 35 |
| 72 | 1,9 | 1,2 | 37 |
| 159 | 1,9 | 1,2 | 37 |
| 201 | 9,8 | 6,0 | 39 |
| 132 | 2,8 | 1,7 | 39 |
| 120 | 1,7 | 1,0 | 41 |
| 76 | 1,6 | 0,9 | 44 |
| 80 | 1,6 | 0,9 | 44 |
| 128 | 2,3 | 1,2 | 48 |
| 156 | 2,7 | 1,4 | 48 |
| 119 | 2,7 | 1,3 | 52 |
| 144 | 4,9 | 2,3 | 53 |
| 136 | 3,8 | 1,7 | 55 |
| 130 | 2,3 | 0,9 | 61 |

| | | | |
|-----|-----|-----|-----|
| 118 | 4,4 | 1,3 | 70 |
| 109 | 3,0 | 0,5 | >84 |

- Variação sensorial após redução do diâmetro

Tabela A 10 - Análise organoléptica da amostra com redução do diâmetro antes de ser processada pelo INOS II

| Grupo organoléptico Analista | Q | V | T | B | D | Rolhas com desvio |
|---------------------------------|---|---|---|---|---|--|
| 1 | | | 1 | 1 | | 48 (T), 65 (B) |
| 2 | | | 1 | 1 | | 48 (T), 60 (B) |
| 3 | | | | 5 | | 2 (B), 48 (B), 60 (B), 65 (B), 87 (B), |
| 4 | | 2 | 1 | 2 | | 29 (V), 48 (T), 60 (V), 65 (B), 88 (B) |
| 5 | | | 2 | 1 | | 48 (T), 60 (T), 65 (B) |

Tabela A 11 - Análise organoléptica da amostra com redução do diâmetro depois de ser processada pelo INOS II

| Grupo organoléptico Analista | Q | V | T | B | D | Rolhas com desvio |
|---------------------------------|---|---|---|---|---|--|
| 1 | | | | 4 | | 6 (B), 42 (B), 13 (B), 81 (B) |
| 2 | | | | 5 | | 6 (B), 13 (B), 42 (B), 81 (B), 93 (B) |
| 3 | | | 1 | 2 | 1 | 6 (B), 13 (B), 15 (D), 81 (T) |
| 4 | | 1 | | 4 | | 13 (B), 42 (B), 81 (B), 93 (B), 59 (V) |
| 5 | | | 1 | 2 | | 13 (T), 81 (B), 93 (B) |
| 6 | 1 | 3 | | 1 | | 11 (V), 67 (V), 73 (V), 15 (Q), 81 (B) |

- Dimensões, massa e humidade

Tabela A 12 - Determinação do comprimento e diâmetro médio

| 'Rolha' | Antes INOS II | | Depois INOS II | | Variação do comprimento (mm) | Variação do diâmetro (mm) |
|---------|------------------|---------------------|------------------|---------------------|------------------------------|---------------------------|
| | Comprimento (mm) | Diâmetro médio (mm) | Comprimento (mm) | Diâmetro médio (mm) | | |
| 1 | 29,37 | 20,97 | 29,71 | 21,04 | 0,34 | 0,07 |
| 2 | 29,11 | 20,84 | 29,59 | 21,10 | 0,48 | 0,26 |
| 3 | 29,52 | 21,02 | 29,79 | 21,12 | 0,27 | 0,10 |
| 4 | 29,36 | 21,04 | 29,71 | 21,15 | 0,35 | 0,11 |
| 5 | 29,47 | 21,08 | 30,77 | 21,48 | 1,30 | 0,40 |
| 6 | 29,44 | 21,06 | 29,72 | 21,17 | 0,28 | 0,11 |
| 7 | 29,28 | 20,96 | 29,92 | 21,32 | 0,64 | 0,36 |
| 8 | 29,21 | 21,01 | 29,78 | 21,62 | 0,57 | 0,61 |
| 9 | 29,28 | 20,99 | 29,72 | 21,17 | 0,44 | 0,18 |
| 10 | 29,28 | 20,97 | 29,83 | 21,33 | 0,55 | 0,36 |
| 11 | 29,30 | 21,03 | 29,68 | 21,24 | 0,38 | 0,21 |
| 12 | 29,21 | 21,04 | 29,72 | 21,35 | 0,51 | 0,31 |
| 13 | 29,22 | 20,91 | 29,51 | 21,15 | 0,29 | 0,24 |
| 14 | 29,17 | 20,88 | 29,53 | 21,13 | 0,36 | 0,25 |
| 15 | 29,11 | 21,07 | 29,37 | 21,16 | 0,26 | 0,09 |
| 16 | 29,12 | 20,95 | 29,83 | 21,33 | 0,71 | 0,38 |
| 17 | 29,12 | 21,03 | 29,60 | 21,59 | 0,48 | 0,56 |
| 18 | 29,14 | 20,93 | 29,70 | 21,28 | 0,56 | 0,35 |
| 19 | 29,00 | 20,78 | 29,63 | 21,07 | 0,63 | 0,29 |
| 20 | 29,15 | 20,90 | 29,49 | 21,05 | 0,34 | 0,15 |
| 21 | 29,34 | 20,98 | 29,80 | 21,34 | 0,46 | 0,36 |
| 22 | 29,23 | 20,98 | 29,46 | 21,20 | 0,23 | 0,22 |
| 23 | 29,29 | 21,03 | 29,66 | 21,22 | 0,37 | 0,19 |
| 24 | 29,34 | 20,97 | 30,06 | 21,31 | 0,72 | 0,34 |
| 25 | 29,19 | 20,98 | 29,56 | 21,13 | 0,37 | 0,15 |
| 26 | 29,06 | 20,87 | 29,50 | 21,16 | 0,44 | 0,29 |
| 27 | 29,04 | 20,94 | 30,15 | 21,35 | 1,11 | 0,41 |
| 28 | 29,06 | 20,89 | 29,62 | 21,35 | 0,56 | 0,46 |
| 29 | 29,33 | 21,02 | 29,79 | 21,19 | 0,46 | 0,17 |
| 30 | 29,53 | 21,03 | 30,17 | 21,84 | 0,64 | 0,81 |
| 31 | 29,30 | 20,88 | 29,72 | 21,16 | 0,42 | 0,28 |
| 32 | 29,16 | 20,99 | 29,59 | 21,23 | 0,43 | 0,24 |
| 33 | 29,40 | 21,14 | 29,70 | 21,24 | 0,30 | 0,10 |
| 34 | 28,96 | 20,84 | 29,76 | 21,18 | 0,80 | 0,34 |
| 35 | 29,14 | 21,02 | 29,75 | 21,35 | 0,61 | 0,33 |
| 36 | 29,31 | 21,15 | 30,00 | 21,60 | 0,69 | 0,45 |

| | | | | | | |
|----|-------|-------|-------|-------|------|------|
| 37 | 29,44 | 21,04 | 29,72 | 21,32 | 0,28 | 0,28 |
| 38 | 29,15 | 21,05 | 29,66 | 21,32 | 0,51 | 0,27 |
| 39 | 29,18 | 20,94 | 29,80 | 21,21 | 0,62 | 0,27 |
| 40 | 29,38 | 21,01 | 29,92 | 21,32 | 0,54 | 0,31 |
| 41 | 29,15 | 20,94 | 29,61 | 21,15 | 0,46 | 0,21 |
| 42 | 29,06 | 20,92 | 29,69 | 21,35 | 0,63 | 0,43 |
| 43 | 29,31 | 20,92 | 30,25 | 21,38 | 0,94 | 0,46 |
| 44 | 29,18 | 21,19 | 29,94 | 21,55 | 0,76 | 0,36 |
| 45 | 29,46 | 20,97 | 29,95 | 21,29 | 0,49 | 0,32 |
| 46 | 29,27 | 21,18 | 29,73 | 21,41 | 0,46 | 0,23 |
| 47 | 29,31 | 20,95 | 29,70 | 21,31 | 0,39 | 0,36 |
| 48 | 29,48 | 21,02 | 30,16 | 21,31 | 0,68 | 0,29 |
| 49 | 29,37 | 21,01 | 29,78 | 21,22 | 0,41 | 0,21 |
| 50 | 29,40 | 21,06 | 30,10 | 21,45 | 0,70 | 0,39 |
| 51 | 29,41 | 21,05 | 29,76 | 21,22 | 0,35 | 0,17 |
| 52 | 29,29 | 21,00 | 29,61 | 21,41 | 0,32 | 0,41 |
| 53 | 29,04 | 20,82 | 29,61 | 21,21 | 0,57 | 0,39 |
| 54 | 29,17 | 21,07 | 29,73 | 21,38 | 0,56 | 0,31 |
| 55 | 28,97 | 20,83 | 29,53 | 21,20 | 0,56 | 0,37 |
| 56 | 29,25 | 20,97 | 29,87 | 21,24 | 0,62 | 0,27 |
| 57 | 29,29 | 20,92 | 29,95 | 21,25 | 0,66 | 0,33 |
| 58 | 29,37 | 20,98 | 29,96 | 21,44 | 0,59 | 0,46 |
| 59 | 29,09 | 20,88 | 29,69 | 21,19 | 0,60 | 0,31 |
| 60 | 29,39 | 21,00 | 30,36 | 21,58 | 0,97 | 0,58 |
| 61 | 29,07 | 20,83 | 29,61 | 21,18 | 0,54 | 0,35 |
| 62 | 29,49 | 21,02 | 30,14 | 21,52 | 0,65 | 0,50 |
| 63 | 29,47 | 21,00 | 29,90 | 21,31 | 0,43 | 0,31 |
| 64 | 29,27 | 20,96 | 29,66 | 21,28 | 0,39 | 0,32 |
| 65 | 29,36 | 21,04 | 29,61 | 21,13 | 0,25 | 0,09 |
| 66 | 29,29 | 21,13 | 30,22 | 21,45 | 0,93 | 0,32 |
| 67 | 29,46 | 21,03 | 30,11 | 21,33 | 0,65 | 0,30 |
| 68 | 28,98 | 20,75 | 29,81 | 21,22 | 0,83 | 0,47 |
| 69 | 29,44 | 21,02 | 29,78 | 21,24 | 0,34 | 0,22 |
| 70 | 29,25 | 20,97 | 30,06 | 21,19 | 0,81 | 0,22 |
| 71 | 29,23 | 21,00 | 30,05 | 21,44 | 0,82 | 0,44 |
| 72 | 29,18 | 21,07 | 30,04 | 21,43 | 0,86 | 0,36 |
| 73 | 29,24 | 21,09 | 29,67 | 21,31 | 0,43 | 0,22 |
| 74 | 29,18 | 21,05 | 29,74 | 21,42 | 0,56 | 0,37 |
| 75 | 29,26 | 21,19 | 30,08 | 21,74 | 0,82 | 0,55 |
| 76 | 29,24 | 21,19 | 29,44 | 21,38 | 0,20 | 0,19 |
| 77 | 29,30 | 21,14 | 29,67 | 21,37 | 0,37 | 0,23 |
| 78 | 29,27 | 21,21 | 29,84 | 21,38 | 0,57 | 0,17 |
| 79 | 29,30 | 21,02 | 29,67 | 21,54 | 0,37 | 0,52 |
| 80 | 29,27 | 21,09 | 29,62 | 21,30 | 0,35 | 0,21 |
| 81 | 29,03 | 21,11 | 29,32 | 21,24 | 0,29 | 0,13 |

| | | | | | | |
|-----|-------|-------|-------|---------------|------|------|
| 82 | 29,01 | 21,24 | 29,35 | 21,30 | 0,34 | 0,06 |
| 83 | 29,36 | 20,96 | 29,97 | 21,30 | 0,61 | 0,34 |
| 84 | 29,27 | 21,24 | 29,67 | 21,39 | 0,40 | 0,15 |
| 85 | 29,30 | 20,94 | 29,86 | 21,36 | 0,56 | 0,42 |
| 86 | 29,26 | 21,18 | 29,60 | 21,52 | 0,34 | 0,34 |
| 87 | 29,45 | 21,53 | 30,10 | 21,80 | 0,65 | 0,27 |
| 88 | 29,27 | 21,14 | 30,25 | 21,43 | 0,98 | 0,29 |
| 89 | 29,04 | 21,21 | 29,53 | 21,75 | 0,49 | 0,54 |
| 90 | 29,32 | 21,24 | 29,70 | 21,38 | 0,38 | 0,14 |
| 91 | 29,29 | 21,10 | 29,64 | 21,30 | 0,35 | 0,20 |
| 92 | 29,27 | 20,99 | 29,97 | 21,33 | 0,70 | 0,34 |
| 93 | 29,15 | 21,04 | 29,64 | 21,41 | 0,49 | 0,37 |
| 94 | 29,05 | 21,26 | 29,50 | 21,52 | 0,45 | 0,26 |
| 95 | 29,31 | 21,13 | 29,80 | 21,40 | 0,49 | 0,27 |
| 96 | 29,26 | 21,11 | 29,85 | 21,38 | 0,59 | 0,27 |
| 97 | 29,42 | 21,46 | 30,02 | 21,70 | 0,60 | 0,24 |
| 98 | 29,27 | 21,15 | 29,69 | 21,50 | 0,42 | 0,35 |
| 99 | 29,25 | 21,06 | 29,73 | 21,42 | 0,48 | 0,36 |
| 100 | 29,25 | 21,19 | 29,87 | 21,50 | 0,62 | 0,31 |
| | | | | Média | 0,53 | 0,31 |
| | | | | Desvio Padrão | 0,20 | 0,13 |

Tabela A 13 - Determinação da humidade

| | Antes INOS II | Depois INOS II | |
|-------|---------------|----------------|-------------|
| Rolha | Humidade (%) | Humidade (%) | Varição (%) |
| 1 | 4,8 | 7,7 | 2,9 |
| 2 | 5,2 | 11 | >5,8 |
| 3 | 4,6 | 8,1 | 3,5 |
| 4 | 5,1 | 11 | >5,9 |
| 5 | 5,0 | 11 | >6,0 |
| 6 | 4,7 | 11 | >6,3 |
| 7 | 5,5 | 11 | >5,5 |
| 8 | 5,5 | 11 | >5,5 |
| 9 | 4,8 | 11 | >6,2 |
| 10 | 5,1 | 7,9 | 2,8 |
| 11 | 4,8 | 9,5 | 4,7 |
| 12 | 4,9 | 11 | >6,1 |
| 13 | 4,8 | 6,7 | 1,9 |
| 14 | 4,9 | 11 | >6,1 |
| 15 | 5,1 | 7,8 | 2,7 |
| 16 | 5,6 | 11 | >5,4 |

| | | | |
|----|-----|------|------|
| 17 | 4,9 | 11 | >6,1 |
| 18 | 5,0 | 11 | >6,0 |
| 19 | 5,2 | 11 | >5,8 |
| 20 | 4,9 | 9,8 | 4,9 |
| 21 | 5,0 | 8,1 | 3,1 |
| 22 | 5,6 | 11 | >5,4 |
| 23 | 5,3 | 10,7 | 5,4 |
| 24 | 4,8 | 11 | >6,2 |
| 25 | 5,6 | 6,8 | 1,2 |
| 26 | 4,8 | 7,5 | 2,7 |
| 27 | 4,8 | 11 | >6,2 |
| 28 | 5,3 | 11 | >5,7 |
| 29 | 4,6 | 8,6 | 4,0 |
| 30 | 4,5 | 11 | >6,5 |
| 31 | 4,7 | 8,9 | 4,2 |
| 32 | 4,9 | 11 | >6,1 |
| 33 | 6,1 | 11 | >4,9 |
| 34 | 5,4 | 11 | >5,6 |
| 35 | 4,4 | 11 | >6,6 |
| 36 | 4,6 | 11 | >6,4 |
| 37 | 5,5 | 11 | >5,5 |
| 38 | 5,2 | 11 | >5,8 |
| 39 | 4,4 | 11 | >6,6 |
| 40 | 4,7 | 8,7 | 4,0 |
| 41 | 5,2 | 11 | >5,8 |
| 42 | 5,1 | 9,9 | 4,8 |
| 43 | 5,2 | 11 | >5,8 |
| 44 | 4,5 | 11 | >6,5 |
| 45 | 4,7 | 11 | >6,3 |
| 46 | 4,6 | 11 | >6,4 |
| 47 | 4,7 | 8,8 | 4,1 |
| 48 | 5,2 | 11 | >5,8 |
| 49 | 5,0 | 7,2 | 2,2 |
| 50 | 4,9 | 11 | >6,1 |
| 51 | 4,9 | 9,1 | 4,2 |
| 52 | 4,8 | 8,2 | 3,4 |
| 53 | 4,9 | 8,2 | 3,3 |
| 54 | 5,2 | 11 | >5,8 |
| 55 | 5,6 | 11 | >5,4 |
| 56 | 5,0 | 11 | >6,0 |
| 57 | 4,6 | 11 | >6,4 |
| 58 | 5,2 | 11 | >5,8 |
| 59 | 4,9 | 11 | >6,1 |
| 60 | 4,6 | 11 | >6,4 |
| 61 | 4,9 | 5,4 | 0,5 |

| | | | |
|-----|-----|---------------|------|
| 62 | 4,6 | 11 | >6,4 |
| 63 | 6,6 | 11 | >4,4 |
| 64 | 4,5 | 8,2 | 3,7 |
| 65 | 4,7 | 8,3 | 3,6 |
| 66 | 4,7 | 7 | 2,3 |
| 67 | 4,7 | 11 | >6,3 |
| 68 | 4,9 | 11 | >6,1 |
| 69 | 4,6 | 10 | 5,4 |
| 70 | 4,7 | 7,8 | 3,1 |
| 71 | 4,5 | 10,9 | 6,4 |
| 72 | 5,8 | 11 | >5,2 |
| 73 | 5,5 | 11 | >5,5 |
| 74 | 5,2 | 11 | >5,8 |
| 75 | 5,4 | 11 | >5,6 |
| 76 | 5,8 | 11 | >5,2 |
| 77 | 6,2 | 7,4 | 1,2 |
| 78 | 5,0 | 11 | >6,0 |
| 79 | 5,5 | 8,9 | 3,4 |
| 80 | 5,7 | 10,8 | 5,1 |
| 81 | 5,0 | 11 | >6,0 |
| 82 | 5,6 | 11 | >5,4 |
| 83 | 4,9 | 11 | >6,1 |
| 84 | 6,1 | 9,3 | 3,2 |
| 85 | 5,2 | 11 | >5,8 |
| 86 | 5,4 | 11 | >5,6 |
| 87 | 6,2 | 11 | >4,8 |
| 88 | 5,4 | 11 | >5,6 |
| 89 | 4,9 | 11 | >6,1 |
| 90 | 5,7 | 11 | >5,3 |
| 91 | 7,3 | 11 | >3,7 |
| 92 | 5,7 | 11 | >5,3 |
| 93 | 5,0 | 11 | >6,0 |
| 94 | 5,4 | 11 | >5,6 |
| 95 | 5,2 | 9,6 | 4,4 |
| 96 | 6,6 | 9,0 | 2,4 |
| 97 | 4,8 | 9,9 | 5,1 |
| 98 | 4,9 | 9,2 | 4,3 |
| 99 | 6,2 | 8,0 | 1,8 |
| 100 | 5,4 | 11 | >5,6 |
| | | Média | 5,0 |
| | | Desvio Padrão | 1,4 |

Tabela A 14 - Determinação da massa

| Rolha | Antes INOS II | Depois INOS II | Variação (g) | Variação (%) |
|-------|---------------|----------------|--------------|--------------|
| | Massa (g) | Massa (g) | | |
| 1 | 1,83 | 1,94 | 0,11 | -6 |
| 2 | 2,27 | 2,62 | 0,35 | -15 |
| 3 | 1,63 | 1,86 | 0,23 | -14 |
| 4 | 1,78 | 2,08 | 0,30 | -17 |
| 5 | 2,26 | 2,65 | 0,39 | -17 |
| 6 | 1,78 | 1,87 | 0,09 | -5 |
| 7 | 2,07 | 2,44 | 0,37 | -18 |
| 8 | 1,95 | 2,26 | 0,31 | -16 |
| 9 | 1,55 | 1,69 | 0,14 | -9 |
| 10 | 1,79 | 1,93 | 0,14 | -8 |
| 11 | 1,82 | 1,92 | 0,10 | -5 |
| 12 | 1,42 | 1,57 | 0,15 | -11 |
| 13 | 1,90 | 2,10 | 0,20 | -11 |
| 14 | 1,93 | 2,18 | 0,25 | -13 |
| 15 | 1,95 | 2,02 | 0,07 | -4 |
| 16 | 1,41 | 1,64 | 0,23 | -16 |
| 17 | 1,59 | 1,73 | 0,14 | -9 |
| 18 | 1,59 | 1,90 | 0,31 | -19 |
| 19 | 1,75 | 2,05 | 0,30 | -17 |
| 20 | 1,73 | 1,88 | 0,15 | -9 |
| 21 | 2,03 | 2,28 | 0,25 | -12 |
| 22 | 1,75 | 1,89 | 0,14 | -8 |
| 23 | 1,95 | 2,13 | 0,18 | -9 |
| 24 | 1,97 | 2,34 | 0,37 | -19 |
| 25 | 1,92 | 2,07 | 0,15 | -8 |
| 26 | 1,85 | 2,04 | 0,19 | -10 |
| 27 | 2,07 | 2,54 | 0,47 | -23 |
| 28 | 1,74 | 1,92 | 0,18 | -10 |
| 29 | 2,58 | 2,89 | 0,31 | -12 |
| 30 | 2,46 | 3,09 | 0,63 | -26 |
| 31 | 1,40 | 1,56 | 0,16 | -11 |
| 32 | 1,72 | 1,94 | 0,22 | -13 |
| 33 | 1,62 | 1,89 | 0,27 | -17 |
| 34 | 1,82 | 2,20 | 0,38 | -21 |
| 35 | 1,76 | 2,07 | 0,31 | -18 |
| 36 | 2,24 | 2,72 | 0,48 | -21 |
| 37 | 1,61 | 1,79 | 0,18 | -11 |
| 38 | 1,61 | 1,79 | 0,18 | -11 |
| 39 | 1,66 | 1,89 | 0,23 | -14 |
| 40 | 1,79 | 1,92 | 0,13 | -7 |
| 41 | 1,96 | 2,14 | 0,18 | -9 |

| | | | | |
|----|------|------|------|-----|
| 42 | 1,91 | 2,40 | 0,49 | -26 |
| 43 | 1,84 | 2,40 | 0,56 | -30 |
| 44 | 2,01 | 2,32 | 0,31 | -15 |
| 45 | 2,08 | 2,48 | 0,40 | -19 |
| 46 | 1,84 | 2,03 | 0,19 | -10 |
| 47 | 1,78 | 2,01 | 0,23 | -13 |
| 48 | 2,33 | 2,90 | 0,57 | -24 |
| 49 | 1,73 | 1,84 | 0,11 | -6 |
| 50 | 2,42 | 2,94 | 0,52 | -21 |
| 51 | 1,95 | 2,07 | 0,12 | -6 |
| 52 | 2,14 | 2,32 | 0,18 | -8 |
| 53 | 1,88 | 2,18 | 0,30 | -16 |
| 54 | 1,84 | 2,15 | 0,31 | -17 |
| 55 | 1,55 | 1,77 | 0,22 | -14 |
| 56 | 2,06 | 2,41 | 0,35 | -17 |
| 57 | 2,22 | 2,65 | 0,43 | -19 |
| 58 | 2,07 | 2,44 | 0,37 | -18 |
| 59 | 1,83 | 2,06 | 0,23 | -13 |
| 60 | 2,41 | 2,96 | 0,55 | -23 |
| 61 | 2,16 | 2,34 | 0,18 | -8 |
| 62 | 2,24 | 2,66 | 0,42 | -19 |
| 63 | 1,93 | 2,24 | 0,31 | -16 |
| 64 | 1,59 | 1,72 | 0,13 | -8 |
| 65 | 1,81 | 1,94 | 0,13 | -7 |
| 66 | 1,92 | 2,18 | 0,26 | -14 |
| 67 | 2,52 | 3,10 | 0,58 | -23 |
| 68 | 1,87 | 2,44 | 0,57 | -30 |
| 69 | 1,94 | 2,05 | 0,11 | -6 |
| 70 | 1,55 | 1,63 | 0,08 | -5 |
| 71 | 1,82 | 2,00 | 0,18 | -10 |
| 72 | 1,64 | 2,01 | 0,37 | -23 |
| 73 | 1,71 | 1,91 | 0,20 | -12 |
| 74 | 1,78 | 1,99 | 0,21 | -12 |
| 75 | 3,29 | 3,85 | 0,56 | -17 |
| 76 | 1,75 | 1,84 | 0,09 | -5 |
| 77 | 1,96 | 2,07 | 0,11 | -6 |
| 78 | 1,75 | 1,99 | 0,24 | -14 |
| 79 | 1,48 | 1,63 | 0,15 | -10 |
| 80 | 1,87 | 1,97 | 0,10 | -5 |
| 81 | 1,76 | 1,90 | 0,14 | -8 |
| 82 | 1,55 | 1,65 | 0,10 | -6 |
| 83 | 2,06 | 2,40 | 0,34 | -17 |
| 84 | 1,55 | 1,72 | 0,17 | -11 |
| 85 | 2,29 | 2,71 | 0,42 | -18 |
| 86 | 1,75 | 1,86 | 0,11 | -6 |

| | | | | |
|-----|------|---------------|------|-----|
| 87 | 1,80 | 2,27 | 0,47 | -26 |
| 88 | 1,95 | 2,23 | 0,28 | -14 |
| 89 | 1,90 | 2,17 | 0,27 | -14 |
| 90 | 1,94 | 2,15 | 0,21 | -11 |
| 91 | 1,78 | 2,02 | 0,24 | -13 |
| 92 | 1,68 | 1,95 | 0,27 | -16 |
| 93 | 2,13 | 2,52 | 0,39 | -18 |
| 94 | 2,26 | 2,51 | 0,25 | -11 |
| 95 | 1,88 | 2,07 | 0,19 | -10 |
| 96 | 1,93 | 2,17 | 0,24 | -12 |
| 97 | 2,42 | 2,78 | 0,36 | -15 |
| 98 | 1,53 | 1,62 | 0,09 | -6 |
| 99 | 1,75 | 1,84 | 0,09 | -5 |
| 100 | 2,03 | 2,30 | 0,27 | -13 |
| | | Média | 0,26 | -13 |
| | | Desvio Padrão | 0,14 | 6 |

Tabela A 15 – Análise da classe visual

| | Escolha electrónica (N = 27738 rolhas) | TCA (Manual) (N= 130 rolhas) | Dimensões, massa e humidade (Manual) (N=100 rolhas) |
|-----------|--|------------------------------|---|
| Flôr | 4% | - | - |
| Extra | 4% | 12% | 5% |
| Superior | 40% | 59% | 38% |
| 1° | 48% | 32% | 39% |
| 2° | 4% | 8% | 7% |
| 3° | - | 2% | 3% |
| Defeitos* | | 18% | 8% |

*As rolhas com defeitos são descartadas imediatamente para para por isso não são apresentadas os seus valores.

- 2ª fase

Tabela A 16 - Determinação da [TCA]_{libertável} em rolhas antes e depois de serem processadas pelo INOS II.

| | [TCA] _{libertável} | | |
|-------|-----------------------------|----------------|--------------|
| Rolha | Antes INOS II | Depois INOS II | Variação (%) |
| 246 | 1,6 | 17,3 | -981 |
| 117 | 2,7 | 28,2 | -944 |
| 176 | 1,7 | 15,7 | -824 |
| 96 | 2,3 | 15,7 | -583 |
| 155 | 1,8 | 9,8 | -444 |
| 216 | 1,9 | 8,8 | -363 |
| 181 | 2,1 | 8,4 | -300 |
| 165 | 3,4 | 13,1 | -285 |
| 126 | 2,4 | 7,9 | -229 |
| 59 | 4 | 12,9 | -223 |
| 32 | 1,9 | 5,5 | -189 |
| 185 | 1,6 | 4,5 | -181 |
| 58 | 7 | 18 | -157 |
| 222 | 2,2 | 5,5 | -150 |
| 152 | 2,2 | 5,3 | -141 |
| 148 | 1,8 | 4,2 | -133 |
| 195 | 6,7 | 14,8 | -121 |
| 233 | 39,8 | 83,2 | -109 |
| 147 | 2,5 | 5,1 | -104 |
| 204 | 1,7 | 3,4 | -100 |
| 100 | 2,6 | 5,1 | -96 |
| 170 | 22,3 | 40,8 | -83 |
| 157 | 1,8 | 3 | -67 |
| 110 | 2 | 3,3 | -65 |
| 191 | 1,8 | 2,8 | -56 |
| 236 | 1,1 | 1,7 | -55 |
| 248 | 2,6 | 3,8 | -46 |
| 21 | 9,1 | 13,2 | -45 |
| 82 | 2,9 | 4,2 | -45 |
| 202 | 1,6 | 2,2 | -38 |
| 205 | 6,7 | 9,2 | -37 |
| 198 | 15,4 | 20,8 | -35 |
| 196 | 10,3 | 13,7 | -33 |
| 239 | 4,3 | 5,7 | -33 |
| 169 | 4,6 | 5,9 | -28 |
| 172 | 1,9 | 2,4 | -26 |
| 207 | 1,7 | 2,1 | -24 |
| 218 | 25,6 | 31,5 | -23 |

| | | | |
|-----|------|------|-----|
| 227 | 1,7 | 2 | -18 |
| 156 | 2,7 | 3,1 | -15 |
| 92 | 2,9 | 3,2 | -10 |
| 212 | 1,8 | 1,9 | -6 |
| 229 | 77,9 | 81,3 | -4 |
| 224 | 2 | 1,9 | 5 |
| 208 | 1,8 | 1,7 | 6 |
| 228 | 1,7 | 1,6 | 6 |
| 150 | 1,9 | 1,6 | 16 |
| 217 | 36,2 | 29,9 | 17 |
| 112 | 2,7 | 1,7 | 37 |
| 186 | 10,3 | 5,9 | 43 |
| 183 | 43,2 | 22,6 | 48 |
| 141 | 2,5 | 1,2 | 52 |
| 122 | 7,3 | 3,3 | 55 |
| 238 | 2,1 | 0,9 | 57 |
| 93 | 7,2 | 2,1 | 71 |
| 173 | 16,8 | 4,7 | 72 |
| 190 | 10,7 | 1,5 | 86 |
| 105 | 100 | 10,5 | 90 |
| 104 | 30,2 | 2 | 93 |
| 109 | 34,1 | 2 | 94 |

Tabela A 17 - Análise organoléptica da amostra antes de ser processada pelo INOS II.

| Grupo organoléptico Analista | Q | V | T | B | D | Rolhas com desvio |
|---------------------------------|---|---|---|---|---|-----------------------------------|
| | 1 | 1 | 1 | | 1 | |
| 2 | | 2 | | 2 | 1 | 11(D), 63(B), 76(V), 91(B), 93(V) |
| 3 | | 1 | | 1 | | 32 (V), 69 (B) |
| 4 | | | 1 | 1 | | 47(B), 91(T) |

Tabela A 18 - Análise organoléptica da amostra antes de ser processada pelo INOS II.

| Grupo organoléptico Analista | Q | V | T | B | D | Rolhas com desvio |
|---------------------------------|---|---|---|---|---|----------------------------|
| 1 | | 2 | 1 | 1 | | 9(V), 11(V), 32(B), 68(T) |
| 2 | | | | 2 | 1 | 68B), 74(B), 92(D) |
| 3 | | 2 | 1 | 1 | | 17 (B), 60(T), 68(V) 92(V) |
| 4 | | | | | | - |

Tabela A 19 - Determinação do comprimento e diâmetro médio

| 'Rolha' | Antes INOS II | | Depois INOS II | | Variação do comprimento (mm) | Variação do diâmetro (mm) |
|---------|------------------|---------------------|------------------|---------------------|------------------------------|---------------------------|
| | Comprimento (mm) | Diâmetro médio (mm) | Comprimento (mm) | Diâmetro médio (mm) | | |
| 1 | 33,09 | 23,94 | 33,04 | 24,17 | -0,05 | 0,23 |
| 2 | 32,48 | 24,01 | 32,82 | 24,03 | 0,34 | 0,02 |
| 3 | 32,80 | 23,90 | 32,81 | 24,18 | 0,01 | 0,28 |
| 4 | 33,03 | 24,07 | 33,33 | 24,23 | 0,30 | 0,16 |
| 5 | 32,83 | 24,04 | 33,40 | 24,16 | 0,57 | 0,12 |
| 6 | 32,73 | 24,00 | 33,12 | 24,24 | 0,39 | 0,24 |
| 7 | 32,94 | 23,91 | 32,97 | 23,92 | 0,03 | 0,01 |
| 8 | 32,51 | 24,07 | 33,09 | 24,12 | 0,58 | 0,05 |
| 9 | 33,44 | 24,04 | 33,40 | 24,21 | -0,04 | 0,17 |
| 10 | 32,59 | 24,10 | 33,12 | 24,29 | 0,53 | 0,19 |
| 11 | 32,25 | 24,03 | 33,07 | 24,22 | 0,82 | 0,19 |
| 12 | 33,15 | 24,06 | 33,78 | 24,35 | 0,63 | 0,29 |
| 13 | 32,81 | 23,75 | 32,90 | 24,22 | 0,09 | 0,47 |
| 14 | 32,39 | 24,22 | 33,34 | 24,38 | 0,95 | 0,16 |
| 15 | 33,27 | 24,08 | 33,54 | 24,25 | 0,27 | 0,17 |
| 16 | 32,56 | 23,95 | 32,89 | 24,22 | 0,33 | 0,27 |
| 17 | 32,64 | 24,04 | 33,06 | 24,13 | 0,42 | 0,09 |
| 18 | 32,12 | 24,09 | 32,20 | 23,96 | 0,08 | -0,13 |
| 19 | 32,72 | 24,07 | 32,90 | 24,25 | 0,18 | 0,18 |
| 20 | 32,92 | 24,07 | 32,81 | 24,11 | -0,11 | 0,04 |
| 21 | 32,69 | 23,98 | 33,22 | 24,13 | 0,53 | 0,15 |
| 22 | 33,33 | 24,04 | 33,16 | 24,07 | -0,17 | 0,03 |
| 23 | 32,96 | 24,02 | 33,23 | 24,40 | 0,27 | 0,38 |
| 24 | 32,54 | 24,06 | 32,81 | 23,99 | 0,27 | -0,07 |
| 25 | 32,80 | 24,17 | 33,44 | 24,20 | 0,64 | 0,03 |
| 26 | 32,80 | 24,21 | 33,15 | 24,12 | 0,35 | -0,09 |
| 27 | 33,12 | 24,00 | 33,44 | 24,55 | 0,32 | 0,55 |

| | | | | | | |
|----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 28 | 32,31 | 24,07 | 32,23 | 24,05 | -0,08 | -0,02 |
| 29 | 32,80 | 24,09 | 32,97 | 24,13 | 0,17 | 0,04 |
| 30 | 33,43 | 24,25 | 33,25 | 24,26 | -0,18 | 0,01 |
| 31 | 33,14 | 24,05 | 32,73 | 24,00 | -0,41 | -0,05 |
| 32 | 34,82 | 23,97 | 35,07 | 24,84 | 0,25 | 0,87 |
| 33 | 33,25 | 24,21 | 33,33 | 24,32 | 0,08 | 0,11 |
| 34 | 33,45 | 24,03 | 33,70 | 24,13 | 0,25 | 0,10 |
| 35 | 33,11 | 23,75 | 32,65 | 23,97 | -0,46 | 0,22 |
| 36 | 35,10 | 24,08 | 35,30 | 24,20 | 0,20 | 0,12 |
| 37 | 30,86 | 23,77 | 31,12 | 24,28 | 0,26 | 0,51 |
| 38 | 32,94 | 24,05 | 33,08 | 24,11 | 0,14 | 0,06 |
| 39 | 30,92 | 24,06 | 31,05 | 24,36 | 0,13 | 0,30 |
| 40 | 33,29 | 23,93 | 33,68 | 23,63 | 0,39 | -0,30 |
| 41 | 32,71 | 24,11 | 32,86 | 24,31 | 0,15 | 0,20 |
| 42 | 32,95 | 24,06 | 33,15 | 24,15 | 0,20 | 0,09 |
| 43 | 32,23 | 24,01 | 32,65 | 24,07 | 0,42 | 0,06 |
| 44 | 33,13 | 23,92 | 33,53 | 24,39 | 0,40 | 0,47 |
| 45 | 32,50 | 24,14 | 32,40 | 23,95 | -0,10 | -0,19 |
| 46 | 32,87 | 23,82 | 33,34 | 24,16 | 0,47 | 0,34 |
| 47 | 31,28 | 24,11 | 31,46 | 24,24 | 0,18 | 0,13 |
| 48 | 32,81 | 24,29 | 32,87 | 23,85 | 0,06 | -0,44 |
| 49 | 32,80 | 23,95 | 32,96 | 24,29 | 0,16 | 0,34 |
| 50 | 34,79 | 23,97 | 35,05 | 24,26 | 0,26 | 0,29 |
| 51 | 30,57 | 24,09 | 30,95 | 24,24 | 0,38 | 0,15 |
| 52 | 31,94 | 23,89 | 32,25 | 24,09 | 0,31 | 0,20 |
| 53 | 32,63 | 23,89 | 32,77 | 24,18 | 0,14 | 0,29 |
| 54 | 33,28 | 23,96 | 33,72 | 24,31 | 0,44 | 0,35 |
| 55 | 33,50 | 24,02 | 33,90 | 24,27 | 0,40 | 0,25 |
| 56 | 33,00 | 24,04 | 33,06 | 24,13 | 0,06 | 0,09 |
| 57 | 32,89 | 23,95 | 33,17 | 24,21 | 0,28 | 0,26 |
| 58 | 32,79 | 23,95 | 33,10 | 24,26 | 0,31 | 0,31 |
| 59 | 34,94 | 23,83 | 35,53 | 24,41 | 0,59 | 0,58 |
| 60 | 32,92 | 23,93 | 33,32 | 24,61 | 0,40 | 0,68 |
| 61 | 32,49 | 24,02 | 32,69 | 23,97 | 0,20 | -0,05 |
| 62 | 33,13 | 24,01 | 33,23 | 24,27 | 0,10 | 0,26 |
| 63 | 33,12 | 24,25 | 33,03 | 24,14 | -0,09 | -0,11 |
| 64 | 32,04 | 24,10 | 32,60 | 23,96 | 0,56 | -0,14 |
| 65 | 31,36 | 24,07 | 31,13 | 24,19 | -0,23 | 0,12 |
| 66 | 32,80 | 23,91 | 32,73 | 23,96 | -0,07 | 0,05 |
| 67 | 32,28 | 24,03 | 32,61 | 24,13 | 0,33 | 0,10 |
| 68 | 33,23 | 24,09 | 33,32 | 24,24 | 0,09 | 0,15 |
| 69 | 33,06 | 24,14 | 32,94 | 24,25 | -0,12 | 0,11 |
| 70 | 33,12 | 24,06 | 33,31 | 24,39 | 0,19 | 0,33 |
| 71 | 32,74 | 24,00 | 32,88 | 23,72 | 0,14 | -0,28 |
| 72 | 33,29 | 24,03 | 33,47 | 24,17 | 0,18 | 0,14 |

| | | | | | | |
|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 73 | 32,78 | 24,08 | 33,10 | 24,18 | 0,32 | 0,10 |
| 74 | 32,68 | 24,13 | 32,87 | 24,08 | 0,19 | -0,05 |
| 75 | 32,63 | 24,03 | 32,47 | 24,28 | -0,16 | 0,25 |
| 76 | 32,77 | 23,96 | 32,86 | 24,11 | 0,09 | 0,15 |
| 77 | 32,23 | 24,01 | 32,54 | 24,15 | 0,31 | 0,14 |
| 78 | 33,53 | 24,01 | 33,67 | 24,19 | 0,14 | 0,18 |
| 79 | 33,41 | 24,08 | 33,42 | 24,19 | 0,01 | 0,11 |
| 80 | 32,65 | 23,76 | 33,14 | 24,03 | 0,49 | 0,27 |
| 81 | 32,74 | 23,99 | 33,06 | 24,19 | 0,32 | 0,20 |
| 82 | 33,03 | 24,17 | 33,17 | 24,18 | 0,14 | 0,01 |
| 83 | 32,49 | 23,85 | 32,61 | 24,06 | 0,12 | 0,21 |
| 84 | 32,62 | 23,99 | 33,22 | 24,03 | 0,60 | 0,04 |
| 85 | 32,83 | 23,97 | 33,44 | 24,15 | 0,61 | 0,18 |
| 86 | 32,92 | 23,85 | 33,01 | 24,17 | 0,09 | 0,32 |
| 87 | 32,84 | 24,03 | 33,20 | 23,93 | 0,36 | -0,10 |
| 88 | 32,96 | 24,04 | 33,00 | 24,30 | 0,04 | 0,26 |
| 89 | 32,49 | 24,03 | 32,84 | 24,23 | 0,35 | 0,20 |
| 90 | 33,00 | 24,07 | 33,18 | 24,18 | 0,18 | 0,11 |
| 91 | 33,01 | 23,91 | 33,14 | 24,20 | 0,13 | 0,29 |
| 92 | 33,47 | 23,93 | 33,48 | 24,35 | 0,01 | 0,42 |
| 93 | 32,74 | 23,75 | 33,28 | 24,22 | 0,54 | 0,47 |
| 94 | 33,19 | 24,13 | 33,56 | 24,09 | 0,37 | -0,04 |
| 95 | 33,03 | 23,64 | 33,11 | 24,23 | 0,08 | 0,59 |
| 96 | 32,39 | 24,11 | 32,48 | 23,98 | 0,09 | -0,13 |
| 97 | 33,46 | 24,17 | 33,34 | 24,10 | -0,12 | -0,07 |
| 98 | 33,01 | 24,10 | 33,05 | 23,94 | 0,04 | -0,16 |
| 99 | 32,50 | 24,07 | 32,46 | 24,25 | -0,04 | 0,18 |
| 100 | 33,04 | 24,28 | 32,95 | 24,03 | -0,09 | -0,25 |

Tabela A 20 – Determinação da humidade

| | Antes INOS II | Depois INOS II | |
|-------|---------------|----------------|--------------|
| Rolha | Humidade (%) | Humidade (%) | Variação (%) |
| 1 | 7,1 | 11 | >3,9 |
| 2 | 7,2 | 10,3 | 3,1 |
| 3 | 6,6 | 11 | >4,4 |
| 4 | 5,7 | 9,8 | 4,1 |
| 5 | 6,4 | 11 | >4,6 |
| 6 | 7,9 | 11 | >3,1 |
| 7 | 7,2 | 11 | >3,8 |
| 8 | 5,6 | 11 | >5,4 |
| 9 | 7,0 | 10,7 | 3,7 |
| 10 | 7,1 | 11 | >3,9 |
| 11 | 6,7 | 11 | >4,3 |
| 12 | 10,6 | 11 | >0,4 |
| 13 | 7,0 | 11 | >4,0 |

| | | | |
|----|------|------|------|
| 14 | 8,6 | 11 | >2,4 |
| 15 | 7,2 | 11 | >3,8 |
| 16 | 7,8 | 11 | >3,2 |
| 17 | 6,6 | 11 | >4,4 |
| 18 | 6,8 | 10,4 | 3,6 |
| 19 | 6,3 | 10,2 | 3,9 |
| 20 | 6,8 | 11 | >4,2 |
| 21 | 5,8 | 5,9 | 0,1 |
| 22 | 6,3 | 11 | >4,7 |
| 23 | 7,3 | 11 | >3,7 |
| 24 | 6,6 | 11 | >4,4 |
| 25 | 6,2 | 11 | >4,8 |
| 26 | 6,1 | 11 | >4,9 |
| 27 | 6,4 | 11 | >4,6 |
| 28 | 7,9 | 11 | >3,1 |
| 29 | 6,4 | 11 | >4,6 |
| 30 | 6,5 | 11 | >4,5 |
| 31 | 7,3 | 11 | >3,7 |
| 32 | 8,0 | 11 | >3,0 |
| 33 | 6,8 | 11 | >4,2 |
| 34 | 6,2 | 8,4 | 2,2 |
| 35 | 6,4 | 11 | >4,6 |
| 36 | 6,7 | 11 | >4,3 |
| 37 | 7,0 | 10,5 | 3,5 |
| 38 | 7,2 | 10,6 | 3,4 |
| 39 | 8,1 | 11 | >2,9 |
| 40 | 11,0 | 11 | >0,0 |
| 41 | 10,0 | 11 | >1,0 |
| 42 | 5,9 | 11 | >5,1 |
| 43 | 6,5 | 11 | >4,5 |
| 44 | 7,2 | 11 | >3,8 |
| 45 | 6,6 | 10 | 3,4 |
| 46 | 6,5 | 11 | >4,5 |
| 47 | 7,2 | 11 | >3,8 |
| 48 | 6,1 | 11 | >4,9 |
| 49 | 7,8 | 10 | 2,2 |
| 50 | 7,2 | 11 | >3,8 |
| 51 | 7,1 | 11 | >3,9 |
| 52 | 5,6 | 11 | >5,4 |
| 53 | 6,1 | 11 | >4,9 |
| 54 | 6,9 | 11 | >4,1 |
| 55 | 6,3 | 11 | >4,7 |
| 56 | 6,9 | 11 | >4,1 |
| 57 | 6,9 | 11 | >4,1 |
| 58 | 7,6 | 11 | >3,4 |

| | | | |
|-----|-----|---------------|------|
| 59 | 7,2 | 11 | >3,8 |
| 60 | 7,4 | 11 | >3,6 |
| 61 | 6,7 | 11 | >4,3 |
| 62 | 7,2 | 11 | >3,8 |
| 63 | 6,1 | 9,8 | 3,7 |
| 64 | 6,3 | 11 | >4,7 |
| 65 | 7,2 | 11 | >3,8 |
| 66 | 5,8 | 10,5 | 4,7 |
| 67 | 6,6 | 11 | >4,4 |
| 68 | 7,9 | 11 | >3,1 |
| 69 | 6,1 | 10,3 | 4,2 |
| 70 | 6,5 | 11 | >4,5 |
| 71 | 7,7 | 11 | >3,3 |
| 72 | 5,7 | 10 | 4,3 |
| 73 | 6,4 | 6,7 | 0,3 |
| 74 | 6,9 | 11 | >4,1 |
| 75 | 6,6 | 9,8 | 3,2 |
| 76 | 7,7 | 11 | >3,3 |
| 77 | 6,6 | 11 | >4,4 |
| 78 | 7,3 | 8,6 | 1,3 |
| 79 | 6,2 | 9,9 | 3,7 |
| 80 | 8,2 | 11 | >2,8 |
| 81 | 7,6 | 11 | >3,4 |
| 82 | 6,4 | 11 | >4,6 |
| 83 | 7,7 | 11 | >3,3 |
| 84 | 6,1 | 9 | 2,9 |
| 85 | 6,7 | 10,4 | 3,7 |
| 86 | 7,2 | 11 | >3,8 |
| 87 | 5,6 | 8,2 | 2,6 |
| 88 | 7,5 | 9,2 | 1,7 |
| 89 | 8,6 | 11 | >2,4 |
| 90 | 8,2 | 11 | >2,8 |
| 91 | 6,3 | 11 | >4,7 |
| 92 | 6,3 | 10,2 | 3,9 |
| 93 | 6,0 | 7,9 | 1,9 |
| 94 | 5,7 | 8,8 | 3,1 |
| 95 | 5,7 | 7,1 | 1,4 |
| 96 | 6,1 | 11 | >4,9 |
| 97 | 8,2 | 11 | >2,8 |
| 98 | 6,4 | 9,8 | 3,4 |
| 99 | 6,2 | 9,8 | 3,6 |
| 100 | 7,3 | 8,6 | 1,3 |
| | | Média | 3,6 |
| | | Desvio Padrão | 1,1 |

Tabela A 21 – Determinação da massa

| | Antes INOS II | Depois INOS II | | |
|-------|---------------|----------------|-------------|-------------|
| Rolha | Massa (g) | Massa (g) | Varição (g) | Varição (%) |
| 1 | 2,53 | 2,59 | 0,06 | -2 |
| 2 | 2,88 | 3,00 | 0,12 | -4 |
| 3 | 2,78 | 2,86 | 0,08 | -3 |
| 4 | 3,14 | 3,21 | 0,07 | -2 |
| 5 | 2,98 | 3,10 | 0,12 | -4 |
| 6 | 3,16 | 3,38 | 0,22 | -7 |
| 7 | 1,97 | 2,05 | 0,08 | -4 |
| 8 | 2,20 | 2,29 | 0,09 | -4 |
| 9 | 2,59 | 2,69 | 0,1 | -4 |
| 10 | 2,05 | 2,13 | 0,08 | -4 |
| 11 | 2,50 | 2,56 | 0,06 | -2 |
| 12 | 3,80 | 4,33 | 0,53 | -14 |
| 13 | 2,63 | 2,72 | 0,09 | -3 |
| 14 | 2,20 | 2,30 | 0,1 | -5 |
| 15 | 2,63 | 2,86 | 0,23 | -9 |
| 16 | 2,50 | 2,59 | 0,09 | -4 |
| 17 | 2,32 | 2,39 | 0,07 | -3 |
| 18 | 3,17 | 3,23 | 0,06 | -2 |
| 19 | 2,59 | 2,70 | 0,11 | -4 |
| 20 | 2,10 | 2,18 | 0,08 | -4 |
| 21 | 2,75 | 2,83 | 0,08 | -3 |
| 22 | 2,37 | 2,45 | 0,08 | -3 |
| 23 | 3,07 | 3,27 | 0,2 | -7 |
| 24 | 2,62 | 2,72 | 0,1 | -4 |
| 25 | 3,18 | 3,34 | 0,16 | -5 |
| 26 | 2,35 | 2,43 | 0,08 | -3 |
| 27 | 4,43 | 4,60 | 0,17 | -4 |
| 28 | 1,89 | 1,96 | 0,07 | -4 |
| 29 | 2,85 | 2,97 | 0,12 | -4 |
| 30 | 2,56 | 2,64 | 0,08 | -3 |
| 31 | 2,46 | 2,60 | 0,14 | -6 |
| 32 | 2,51 | 2,60 | 0,09 | -4 |
| 33 | 2,60 | 2,74 | 0,14 | -5 |
| 34 | 2,20 | 2,32 | 0,12 | -5 |
| 35 | 1,92 | 2,01 | 0,09 | -5 |
| 36 | 2,99 | 3,08 | 0,09 | -3 |
| 37 | 3,35 | 3,40 | 0,05 | -1 |
| 38 | 2,10 | 2,19 | 0,09 | -4 |
| 39 | 2,82 | 2,91 | 0,09 | -3 |
| 40 | 2,85 | 2,79 | -0,06 | 2 |

| | | | | |
|----|------|------|------|----|
| 41 | 2,52 | 2,64 | 0,12 | -5 |
| 42 | 2,95 | 3,06 | 0,11 | -4 |
| 43 | 2,20 | 2,28 | 0,08 | -4 |
| 44 | 2,38 | 2,49 | 0,11 | -5 |
| 45 | 2,93 | 3,01 | 0,08 | -3 |
| 46 | 1,96 | 2,12 | 0,16 | -8 |
| 47 | 3,03 | 3,12 | 0,09 | -3 |
| 48 | 2,49 | 2,58 | 0,09 | -4 |
| 49 | 2,94 | 3,02 | 0,08 | -3 |
| 50 | 3,91 | 4,13 | 0,22 | -6 |
| 51 | 2,93 | 2,97 | 0,04 | -1 |
| 52 | 2,52 | 2,68 | 0,16 | -6 |
| 53 | 2,70 | 2,79 | 0,09 | -3 |
| 54 | 3,11 | 3,22 | 0,11 | -4 |
| 55 | 2,48 | 2,57 | 0,09 | -4 |
| 56 | 2,71 | 2,79 | 0,08 | -3 |
| 57 | 2,08 | 2,16 | 0,08 | -4 |
| 58 | 3,34 | 3,50 | 0,16 | -5 |
| 59 | 2,86 | 2,93 | 0,07 | -2 |
| 60 | 2,83 | 2,94 | 0,11 | -4 |
| 61 | 2,77 | 2,85 | 0,08 | -3 |
| 62 | 2,63 | 2,71 | 0,08 | -3 |
| 63 | 2,33 | 2,38 | 0,05 | -2 |
| 64 | 2,81 | 2,88 | 0,07 | -2 |
| 65 | 2,57 | 2,64 | 0,07 | -3 |
| 66 | 2,34 | 2,40 | 0,06 | -3 |
| 67 | 2,42 | 2,52 | 0,1 | -4 |
| 68 | 3,15 | 3,34 | 0,19 | -6 |
| 69 | 3,22 | 3,36 | 0,14 | -4 |
| 70 | 3,75 | 3,89 | 0,14 | -4 |
| 71 | 2,48 | 2,63 | 0,15 | -6 |
| 72 | 2,77 | 2,83 | 0,06 | -2 |
| 73 | 2,90 | 3,00 | 0,1 | -3 |
| 74 | 2,25 | 2,31 | 0,06 | -3 |
| 75 | 2,27 | 2,34 | 0,07 | -3 |
| 76 | 2,24 | 2,32 | 0,08 | -4 |
| 77 | 3,51 | 3,72 | 0,21 | -6 |
| 78 | 2,36 | 2,45 | 0,09 | -4 |
| 79 | 2,66 | 2,77 | 0,11 | -4 |
| 80 | 2,72 | 2,81 | 0,09 | -3 |
| 81 | 2,36 | 2,42 | 0,06 | -3 |
| 82 | 2,63 | 2,74 | 0,11 | -4 |
| 83 | 2,37 | 2,42 | 0,05 | -2 |
| 84 | 3,31 | 3,37 | 0,06 | -2 |
| 85 | 2,69 | 2,73 | 0,04 | -1 |

| | | | | |
|-----|------|---------------|------|----|
| 86 | 2,83 | 3,06 | 0,23 | -8 |
| 87 | 2,59 | 2,68 | 0,09 | -3 |
| 88 | 2,27 | 2,34 | 0,07 | -3 |
| 89 | 2,30 | 2,45 | 0,15 | -7 |
| 90 | 2,49 | 2,55 | 0,06 | -2 |
| 91 | 3,02 | 3,15 | 0,13 | -4 |
| 92 | 2,39 | 2,42 | 0,03 | -1 |
| 93 | 2,42 | 2,43 | 0,01 | 0 |
| 94 | 2,45 | 2,52 | 0,07 | -3 |
| 95 | 2,22 | 2,28 | 0,06 | -3 |
| 96 | 2,26 | 2,33 | 0,07 | -3 |
| 97 | 2,07 | 2,22 | 0,15 | -7 |
| 98 | 2,52 | 2,58 | 0,06 | -2 |
| 99 | 2,01 | 2,07 | 0,06 | -3 |
| 100 | 2,00 | 2,06 | 0,06 | -3 |
| | | Média | 0,10 | -4 |
| | | Desvio Padrão | 0,06 | 2 |