



**André dos
Santos Cruz**

**Estabilização tartárica de vinhos com resinas
de troca catiónica**

**Avaliação da eficiência das resinas e alteração das
características físico-químicas e composição volátil
dos vinhos**

**Tartaric stabilization of wines with cation
exchange resins**

**Evaluation of the efficiency of the resins and
alteration of physicochemical characteristics and
volatile composition of wines**



André dos Santos Cruz **Estabilização tartárica de vinhos com resinas de troca catiónica**

Avaliação da eficiência das resinas e alteração das características físico-químicas e composição volátil dos vinhos

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Química, especialidade em Química Analítica e Qualidade, realizada sob a coorientação científica da Doutora Eduarda Santos, Professora Auxiliar do Departamento de Química da Universidade de Aveiro e do Doutor Manuel António Coimbra, Professor Associado com agregação do Departamento de Química da Universidade de Aveiro e orientação da Eng^a. Agostinha Marques, Enóloga na Empresa Idealdrinks.

o júri

presidente

Prof. Doutor Artur Manuel Soares da Silva

Professor catedrático do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Prof. Doutora Marta Otero Cabero

Investigadora no Departamento de Química e Física Aplicadas da Universidade de León, Espanha

Prof. Doutora Maria Eduarda Bastos Henriques dos Santos

Professora Auxiliar do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Agradecimentos

Aos meus pais, irmã e restantes familiares pelo doce sabor que sinto sempre que regresso a casa.

À Mariana por ter mostrado que todos os dias são únicos e apresentam oportunidades para sermos sempre melhores.

À Doutora Eduarda Santos e ao Doutor Manuel António Coimbra por todo o conhecimento científico transmitido, orientação e apoio prestados ao longo de todo este processo de aprendizagem.

À Idealdrinks pelo acolhimento para a realização do estágio curricular, em particular ao Eng. Carlos Rodrigues e à Eng^a. Agostinha Marques pelos conhecimentos transmitidos ao longo do período de estágio.

palavras-chave

Vinho, estabilização tartárica, permuta iónica, resinas, compostos voláteis.

resumo

O uso de resinas de troca iónica para a estabilização tartárica foi permitido em 2009, através do Regulamento (CE) Nº 606/2009, que permite a estabilização tartárica com resinas poliméricas de estireno e divinilbenzeno funcionalizadas com grupos sulfónicos (fortemente ácidos), regeneradas em solução ácida. A sua aplicação baseia-se no facto de as resinas trocarem iões hidrogénio por catiões presentes no vinho, essencialmente potássio, fazendo diminuir a sua concentração e impedindo assim a precipitação dos respectivos sais tartáricos.

Neste trabalho, foram estudados os efeitos da estabilização com uma resina de troca catiónica, na composição e propriedades de diversos tipos de vinho. Os resultados evidenciaram variações significativas das suas características, nomeadamente aumento da acidez, diminuição do pH, diminuição no teor de catiões metálicos e alteração da cor, sendo essas variações proporcionais ao volume de vinho permutado. Relativamente à matriz volátil, de um modo geral e salvo um número reduzido de exceções, não se observaram variações significativas do teor dos ésteres e terpenos analisados por GCxGC-TOF-MS, num total de 59 compostos.

Keywords

Wine, tartaric stabilization, ion exchange, resins, volatile compounds.

Abstract

The use of ion exchange resins for tartaric stabilization was accepted in 2009 by Regulation (CE) Number 606/2009, which allows the tartaric stabilization with styrene and divinylbenzene polymeric resins functionalized with sulfonic groups (strongly acidic), regenerated in acid solution. Their application is based on the fact that resins are able to exchange hydrogen cations by metal cations present in wine, essentially potassium, decreasing its concentration and hence the precipitation of tartaric salts.

In this work, the effects of stabilization with a cation exchange resin, on the composition of different types of wine were studied. The results showed significant variations of the wine characteristics, including increased acidity, decreased pH, decreased content of metal cations and changes in colour. These variations were proportional to the volume of wine exchanged. For the volatile matrix, with only a few exceptions, no significant changes were in the contents of the esters and terpenes analyzed by GCxGC-TOF-MS, in a total of 59 compounds.

Índice

1.Enquadramento	1
2.Introdução	3
2.1.Processos de produção de vinhos	3
2.2.Acidez dos vinhos	5
2.3.Catiões metálicos nos vinhos	8
2.4.Precipitação tartárica	11
2.5. Estabilização tartárica	15
2.5.1.Estabilização por frio	15
2.5.2.Estabilização com recurso a inibidores de cristalização.....	16
2.5.3.Estabilização por diminuição da concentração dos iões precipitantes	17
Resinas de troca catiónica	18
2.6. Métodos de avaliação da estabilidade tartárica	19
2.7.Métodos de caracterização dos vinhos antes e após estabilização	21
2.7.1.Acidez Total	21
2.7.2.Acidez Volátil	22
2.7.3.Teor Alcoólico.....	22
2.7.4.pH.....	23
2.7.5.Catiões.....	23
2.7.6.Índice de cor.....	24
2.7.7.Composição Volátil.....	25
2.7.8. Caracterização de vinhos por FTIR.....	26
2.8. Alterações na constituição dos vinhos em consequência da estabilização com resinas de troca iónica.....	27
3.Objetivos	33
4.Materiais e Métodos.....	35
4.1.Amostras	35
4.2. Aplicação das resinas	37
4.2.1. Capacidade de troca das resinas	37
4.2.2. Regeneração das resinas.....	38
4.2.3.Montagem.....	38
4.3.Análises	39
4.3.1.Acidez Total	39
4.3.2.Acidez Volátil	40
4.3.3.Teor Alcoólico.....	41

4.3.4.pH.....	41
4.3.5.FTIR	41
4.3.6.Estabilidade Tartárica.....	42
4.3.7.Catiões	42
4.3.7.Determinação da cor.....	43
4.3.8.Composição Volátil.....	44
5.Resultados e Discussão	45
5.1. Eficiência das resinas na troca de iões e estabilização de vinhos.....	45
5.1.1.Alteração nas concentrações de potássio, cálcio e sódio.....	45
5.1.2.Eficiência da estabilização	49
5.2. Efeito da estabilização com resinas de troca catiónica nas características dos vinhos.....	52
5.2.1. Acidez Total	53
5.2.2. Acidez Volátil	54
5.2.3. Teor Alcoólico.....	55
5.2.4. pH.....	57
5.2.5. Índice de Cor	58
5.2.6. Constituição Volátil.....	62
5.3. Efeito da estabilização com resinas de troca iónica no decurso da fermentação malolática em vinhos tintos	72
6.Conclusão.....	73
Bibliografia	75
Anexos.....	83
Anexo 1- Determinação da saturação em ácido tartárico, potássio e cálcio de alguns vinhos provenientes da região da Bairrada	83
Anexo 2- Ficha técnica das resinas de troca iónica da marca pentacque, modelo vinostab....	85

Índice de Figuras:

Figura 1. Principais ácidos presentes na matriz de um vinho e respectivos isómeros mais abundantes (adaptado de Gayon P.R. ³).	5
Figura 2- Representação esquemática da carboximetilcelulose (adaptado de Guise, R. et al (2014) ³⁹).	17
Figura 3 – Representação de um destilador utilizado para determinação da acidez volátil. (Adaptado de: http://www.spazianistore.it/ ¹¹¹).....	22
Figura 4- Esquematização do sistema CIELab utilizado para a caracterização da cor. (Adaptado de: http://a-cordosdias.blogspot.pt/ ¹¹²)	24
Figura 5-Representação da amostragem com HS – SPME. (Adaptado de: http://www.chem.agilent.com/ ¹¹³)	25
Figura 6 - Exemplo de um éster(a), acetato de isoamilo, uma lactona (b), butirolactona, e um terpeno (c), limoneno.	Erro! Marcador não definido.
Figura 7- Equipamento de análise de vinhos por espectroscopia de F.T.I.R. (adaptado de http://www.t-d-i.es/2014/productos/) ¹¹⁴	42
Figura 8- Curva de calibração e respetivas curvas de limites de confiança superiores e inferiores para a determinação de potássio.....	46
Figura 9- Curva de calibração e respetivas curvas de limites de confiança superiores e inferiores para a determinação de cálcio.	46
Figura 10- Curva de calibração e respetivas curvas de limites de confiança superiores e inferiores para a determinação de sódio.....	47
Figura 11- Representações gráficas da variação da condutividade com a percentagem de vinho permutado e das equações da recta de ajuste linear.	50
Figura 12- Distribuição das amostras, através de valores médios e respectivos desvios padrão, num eixo bidimensional relativamente aos parâmetros a* e b*.....	61
Figura 13- Representação tridimensional de uma porção de um cromatograma obtido na análise da composição volátil dos vinhos através de GCxGC-TOFMS para picos com massas de 93, 169 e 204 (típicos de terpenos).	62
Figura 14- Representação de um cromatograma bidimensional com destaque para os tempos de eluição típicos para cada crupo de compostos.....	63
Figura 15- Evolução dos ácidos málico e láctico ao longo da fermentação malolática para os vinhos, testemunha e com diferentes percentagens de vinho permutado.	72

Índice de tabelas:

Tabela 1. Valores de pH, concentração de ácido tartárico e acidez total, de vinhos polivarietais e monovarietais produzidos na Bairrada entre 1990 e 2011, onde a cor amarela representa vinhos brancos, a cor rosa mais escura representa os vinhos tintos e a mais clara os vinhos rosés.....	7
Tabela 2. Valores concentração potássio, cálcio e sódio de vinhos produzidos e castas cultivadas na Bairrada entre 1990 e 2011, onde a cor amarela representa vinhos brancos, a cor rosa mais escura representa os vinhos tintos e a mais clara os vinhos rosés.	10
Tabela 3. Variação das percentagens de ácido tartárico, bitartarato e tartarato relativamente à variação de pH (adaptado de Boulton, et al. (1996).	13
Tabela 4. Variação da solubilidade do bitartarato de potássio (g/L) com a variação de temperatura e teor alcoólico(adaptado de Boulton, et al. (1996).	14
Tabela 5- Vinhos sujeitos a estabilização, volumes de vinho tratado e de vinho permutado assim como outras informações relevantes acerca de cada vinho.	35
Tabela 6- Padrões utilizados para obter curva de calibração e respetivas concentrações.	43
Tabela 7- Valores de concentração e variação de concentração para potássio, cálcio e sódio determinados nos vinhos em estudo com recurso a espectroscopia de absorção atómica.	47
Tabela 8- Percentagens de recuperação relativas aos testes de recuperação, com spikes, realizados nas amostras.	48
Tabela 9- Variação de condutividade, medidos para os diferentes vinhos e ensaios de estabilização em estudo.....	49
Tabela 10- Representação dos valores médios de acidez total e intervalos de confiança, os valores de F crítico e F calculado da análise de variância realizada na comparação dos vinhos e ensaios de estabilização e ainda valores de t calculado e t crítico obtidos do teste de t emparelhado para comparação de métodos.....	53
Tabela 11- Representação dos valores médios de acidez volátil e intervalos de confiança, valores de F crítico e F calculado da análise de variância e valores de t crítico e t calculado do teste de t emparelhado para comparação de métodos.....	55
Tabela 12- Representação dos valores médios de teor alcoólico e intervalos de confiança, valores de F crítico e F calculado da análise de variância, valores de p obtidos no teste de Tukey realizada na comparação dos vinhos e ensaios de estabilização e valores de t crítico e t calculado do teste de t emparelhado para comparação de métodos.....	56
Tabela 13- Representação dos valores médios de pH e intervalos de confiança, valores de F crítico e F calculado da análise de variância, valores de p obtidos no teste de Tukey realizada na comparação dos vinhos e ensaios de estabilização e valores de t crítico e t calculado obtido no teste de t emparelhado para comparação de métodos.....	57
Tabela 14- Tabela com valores médios de L*, a* e b* obtidos da caracterização da cor dos vinhos e respectivos ensaios de estabilização, bem como os valores de t crítico e t calculado da comparação estatística dos valores médios.	59
Tabela 15- Tabela com valores de p calculados a partir do teste de Tukey para os parâmetros L*, a* e b* obtidos da comparação dos diferentes vinhos, testemunha e diferentes métodos de estabilização.	60
Tabela 16- Lista de ésteres identificados e respectivas áreas médias, obtidas de quatro réplicas, num vinho rosé (VR _{Test.}) e o mesmo vinho sujeito a ensaio de estabilização com 30% de volume permutado (VR1/3 _{30%}) e testes de t para comparação de médias (* médias obtidas com rejeição de um valor anómalo determinado através do teste de dixon).	65

Tabela 17- Lista de compostos terpénicos identificados e respectivas áreas médias, obtidas de quatro réplicas, num vinho rosé (VR _{Test.}) e o mesmo vinho sujeito a ensaio de estabilização com 30% de volume permutado (VR1/3 _{30%}) e testes de t para comparação de médias.	66
Tabela 18- Ésteres identificados e respectivas áreas médias, obtidas de duas réplicas, de um vinho tinto (VTFM _{Test.}) e do mesmo vinho sujeito a ensaios de estabilização com 15 e 25% de volume permutado (VTFM _{H15%} e VTFM _{H25%}) e testes de t para comparação de médias.	Erro!
Marcador não definido.	
Tabela 19- Lista de compostos terpénicos identificados e respectivas áreas médias, obtidas de duas réplicas, de um vinho tinto (VTFM _{Test.}) e do mesmo vinho sujeito a ensaios de estabilização com 15 e 25% de volume permutado (VTFM _{H15%} e VTFM _{H25%}) e testes de t para comparação de médias.	68
Tabela 20- Ésteres identificados e respectivas áreas médias, obtidas de duas réplicas, de um vinho espumante (test.) e do mesmo vinho sujeito a ensaios de estabilização com 15 e 25% de volume permutado com e sem a adição de carboximetilcelulose (CMC) e testes de t para comparação de médias.	69
Tabela 21- Lista de compostos terpénicos identificados e respectivas áreas médias, obtidas de duas réplicas, de um vinho espumante (test.) e do mesmo vinho sujeito a ensaios de estabilização com 15 e 25% de volume permutado com e sem a adição de carboximetilcelulose (CMC) e testes de t para comparação de médias.....	70
Tabela 22- Massas molares de potássio, cálcio, hidrogenotartarato, tartarato, hidrogenotartarato de potássio e tartarato neutro de cálcio e solubilidades em g/L e em mmol/L de hidrogenotartarato de potássio e tartarato neutro de cálcio. ^a solubilidade em solução hidroalcoólica a 12% de etanol a 10°C; ^b solubilidade em solução hidroalcoólica a 12% de etanol; ^c	83
Tabela 23- Concentração, em g/L e mmol/L de potássio, cálcio, hidrogeno tartarato, tartarato, hidrogenotartarato de potássio e tartarato neutro de cálcio. ^a valores calculados para pH 3,20 e concentração de H ₂ T 2,80g/L; ^b valores calculados a pH 3,20 e concentração de H ₂ T 4,07g/L.	83
Tabela 24- Concentração e número de moles por litro de potássio, cálcio, hidrogeno tartarato, tartarato. ^a pH 3,40 e concentração de H ₂ T 4,60g/L; ^b pH 3,40 e concentração de H ₂ T 5,30g/L; ^c pH 3,20 e concentração de H ₂ T 5,20g/L; ^d pH 3,20 e concentração de H ₂ T 5,80g/L; ^e pH 3,20 e concentração de H ₂ T 6,00g/L ; ^f pH 3,20 e concentração de H ₂ T 6,60g/L.....	84

1.Enquadramento

A presente tese de mestrado encontra-se relacionada com a produção de vinhos, centrando-se na estabilização tartárica dos mesmos, e na utilização de resinas de troca iónica na prevenção da precipitação de sais tartáricos. O trabalho prático desenvolvido resulta da colaboração entre a Universidade de Aveiro e a Idealdrinks, sediada em Coimbra.

A Idealdrinks é uma Sub-holding do Grupo Idealtower, especializada na produção de vinhos, destilados e azeites¹. Esta empresa detém quintas em diversas regiões vitivinícolas portuguesas, nomeadamente na Bairrada, Dão e Vinhos Verdes, onde produz vários tipos de vinhos, sendo eles espumante branco e rosé, e os tranquilos (sem gás) brancos, tintos e rosés¹.

Durante o período de estágio, foram realizadas atividades relacionadas com o trabalho quotidiano da empresa, mais concretamente no seu laboratório, realizando as diversas análises de rotina aos vinhos produzidos pela Idealdrinks. No entanto, a maior parte do trabalho produzido ao longo do estágio recaiu sobre o estudo da estabilização tartárica com o uso de resinas de troca catiónica em diferentes tipos de vinho e os efeitos da aplicação deste tipo de tratamento sobre as características dos mesmos. Para além da realização de ensaios de estabilização, foi, também, necessário proceder à caracterização dos vinhos resultantes destes ensaios, por forma a poder avaliar algumas alterações nas suas características físico-químicas e ainda na composição volátil dos vinhos.

2.Introdução

2.1.Processos de produção de vinhos

Considerando que este trabalho de estágio foi desenvolvido no âmbito de um Mestrado em Química, especialização em Química Analítica e Qualidade, torna-se útil apresentar uma breve descrição de alguns aspetos ligados à indústria vitivinícola, para contextualização dos assuntos abordados na tese, facilitando a análise dos mesmos por parte de um Químico ou leitor menos informado sobre os processos e termos relacionados com a produção de vinhos.

Produção de vinho tinto

A produção de vinhos tintos inicia com a receção das uvas na adega, onde são desengaçadas (processo mecânico de libertação dos bagos do caule do cacho) e simultaneamente, ou não, sofrem uma ligeira pressão, provocando pequenas roturas na película para que ocorra a libertação dos sucos durante o processo de fermentação.

A fermentação alcoólica, nos vinhos tintos, ocorre na presença dos bagos (polpa, películas e grainhas) e é levada a cabo por leveduras, sendo a mais comum a *Saccharomyces cerevisiae*, que converte o açúcar das uvas em etanol e CO₂. Após a fermentação alcoólica ocorre a fermentação malolática, isto é, a conversão do ácido málico em ácido láctico, por ação de bactérias lácticas. A ocorrência da fermentação malolática provoca a diminuição da acidez no vinho, dado que a primeira constante de acidez do ácido málico é superior à constante de acidez do ácido láctico. Contribui também para o aumento do pH o facto do ácido málico ser um ácido diprótico (cede dois catiões de H⁺ em solução), enquanto o ácido láctico é um ácido monoprótico.

Após a ocorrência dos processos de fermentação, os vinhos tintos, geralmente, são sujeitos a um período de estágio em barricas de madeira, depósitos de inox, ou de outro tipo de matérias agora em voga como o caso das talhas de barro, o qual contribui para aumentar a sua limpidez, estabilidade da cor e tartárica. Após estágio, os vinhos podem, ainda, ser sujeitos a processos de tratamento adicionais com vista a garantir estes mesmos objetivos. No final os vinhos são engarrafados.

Produção de vinho branco e rosé

Os vinhos *rosés* devem ser produzidos na Bairrada de acordo com o decreto-lei nº70/91² através do mesmo método de produção dos vinhos brancos. A produção inicia-se com a receção das uvas, na adega, onde, estas são encaminhadas para o desengace e esmagamento. Segue-se então a prensagem dos bagos em prensas, mecânicas ou pneumáticas, onde o sumo é extraído da uva sem destruir as películas e as grainhas, através de prensagens leves (até 2 bar). O primeiro sumo extraído (sem qualquer pressão exercida para além da gravidade) é chamado o mosto de lágrima sendo considerado o melhor. Com a prensagem liberta-se o mosto de prensa, com mais cor e taninos provenientes da película. Os mostos são encaminhados para depósitos diferentes onde ocorre a decantação (separação de compostos sólidos do líquido). A parte líquida é retirada e fermentada. Após a fermentação alcoólica, o vinho pode ser sujeito a tratamentos que permitam garantir a sua limpidez e estabilidade da cor, proteica, tartárica, para, posteriormente, poder seguir para engarrafamento.

Produção de vinho espumante

A produção do vinho base de espumante é semelhante à produção de vinhos tranquilos. Este pode ser espumantizado através de dois métodos: método *charmat* e método clássico (champanês), sendo, este último, descrito nos parágrafos seguintes. Apenas é explicado o método tradicional por ter sido o utilizado na realização prática.

O vinho espumante obtém-se da adição do licor de tiragem (solução aquosa com açúcar e leveduras) ao vinho base. Esta mistura é engarrafada para que a fermentação ocorra na garrafa e as garrafas são colocadas na horizontal num local fresco (12 a 14°C) onde permanecem por um período mínimo de 6 meses, podendo ser este tempo alargado dependendo do objectivo do produtor e denominação de origem protegida a que pertence.

Na preparação do espumante para consumo procede-se à *remuage* que consiste em colocar as garrafas na posição vertical (gargalo para baixo) a partir da posição inicial, horizontal. Assim, procede-se à rotação e inclinação das garrafas seguindo determinadas regras. Após a *remuage* procede-se ao *dégorgement*, que consiste na remoção da cápsula e do depósito presente no topo do gargalo (através do congelamento do mesmo) seguindo-se a adição do licor de expedição (que define o tipo de espumante: extra-bruto, bruto, seco, meio-seco ou doce) para atesto da garrafa compensando o vinho expelido na abertura da mesma.

2.2.Acidez dos vinhos

A acidez é uma das mais importantes características químicas dos vinhos, por ser determinante em alguns dos principais fatores físico-químicos que caracterizam o seu processo evolutivo^{3,4}. A acidez dos vinhos condiciona a atividade microbológica ao longo de todo o processo de vinificação e influencia as características organolépticas do vinho³.

Da constituição ácida do vinho destacam-se os ácidos, tartárico, málico e cítrico, com origem natural e os ácidos, láctico e acético, originários do processo de fermentação (figura 1)⁴. Estes são objeto de destaque por se apresentarem em maiores concentrações e/ou por apresentarem maior influência sobre as características organolépticas apresentadas pelo vinho³.

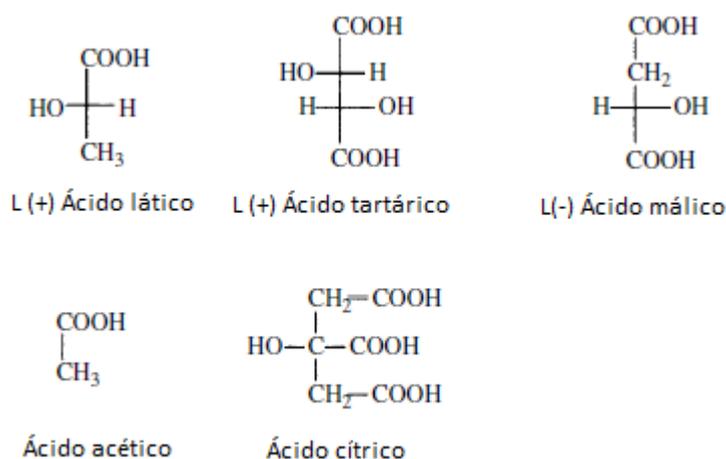


Figura 1. Principais ácidos presentes na matriz de um vinho e respectivos isômeros mais abundantes (adaptado de Ribéreau-Gayon *et al*⁴).

Os ácidos apresentados na Figura 1 podem ser divididos em dois grupos, ácidos orgânicos não volatilizáveis, de que fazem parte os ácidos tartárico, málico, cítrico e láctico, os quais desempenham um papel fundamental nos equilíbrios ácido-base³ e ácidos voláteis, grupo constituído por ácidos gordos, cujo principal constituinte é o ácido acético, com cerca de 90%⁴. Elevadas quantidades destes ácidos gordos no vinho, provocam a perda das suas qualidades organolépticas⁴.

Ácido tartárico

A uva é a única fruta de cultivo, de origem Europeia, onde se verifica a acumulação de quantidades significativas de ácido tartárico, sendo este ácido responsável por uma elevada percentagem de acidez titulável, denominada de acidez total. Quanto à sua evolução ao longo do desenvolvimento das uvas, este pode ser encontrado, em uvas verdes, em concentrações à volta de 15 g/L^{3,4}. A concentração de ácido tartárico diminui ao longo da maturação da uva, sendo essa variação dependente de fatores como casta, clima, exposição aos fatores climáticos e *terroir*, entre outros^{3,4}. Este é um ácido relativamente forte com pKa de 3,1, que lhe permite, devido à gama de concentrações a que se pode encontrar nos vinhos, garantir um valor de pH ácido^{3,4}.

O teor de ácido tartárico varia entre vinhos espumantes, brancos e tintos, sendo maior a sua concentração nos vinhos espumantes do que nos brancos e nos tintos, pois o vinho espumante é produzido a partir de uvas colhidas antes de atingirem o estado ideal de maturação⁵⁻⁷. Por outro lado os vinhos tintos apresentam menor acidez e maiores valores de pH⁵⁻⁷. Esta disparidade nos valores de concentração de ácido tartárico e de pH também se deve às diferenças entre castas, sendo as castas brancas, geralmente, mais ácidas do que as tintas^{3,4}.

Na tabela 1 encontram-se apresentados dados retirados de artigos e manuais, referentes a estudos realizados sobre vinhos polivarietais e monovarietais produzidos na região da Bairrada, que permitem identificar os valores de pH, acidez total e concentração de ácido tartárico, típicos desta região. É possível identificar variabilidade entre os valores apresentados pelos diversos autores. Tal variabilidade pode ser explicada pela influência que os fatores, anteriormente citados, apresentam sobre o processo de maturação das uvas.

Tabela 1. Valores de pH, concentração de ácido tartárico e acidez total, de vinhos polivarietais e monovarietais produzidos na Bairrada entre 1990 e 2011, onde a cor amarela representa vinhos brancos, a cor rosa mais escura representa os vinhos tintos e a mais clara os vinhos rosés.

Referência	Vinho polivarietal (P) ou monovarietal (M)	pH	Ác. Tart.(g/L)	Ac. Total(g/L)
Rodrigues <i>et al</i> ⁵	(P) Tinto	3,45-3,70	-	-
	(P) Branco	3,40- 3,55	-	-
Pinho ⁸	(P) Tinto	3,38-3,70	-	5,33-7,80
	(P) Branco	2,99-3,51	-	4,80-7,73
Jordão <i>et al</i> ⁷	(P) Espumante	2,54-3,22	-	4,20-6,90
Andrade <i>et al</i> ⁹	(M) Baga	3,06-3,32	5,00-6,10	7,23-8,20
	(M) Camarate	3,19- 3,35	4,90-5,60	5,40- 7,33
	(M) T. Nacional	3,23- 3,29	5,20-5,80	6,67-7,90
	(M) Aragonês	3,36- 3,44	4,60-5,30	5,40-6,60
	(M) Sirah	3,22-3,29	6,00-6,60	6,33-7,30
Castro <i>et al</i> ¹⁰	(M) T. Nacional	3,61-3,85	-	6,20-6,50
Lopes ¹¹	(M) Água Santa	3,07-3,24	5,14-6,25	5,00-9,55
Andrade <i>et al</i> ¹²	(M) Baga	3,31-3,44	-	7,70-8,30
Cardoso ¹³	(M) Baga	3,11-3,15	-	7,08-8,00
	(M) Cercial	2,97-3,07	-	8,90-10,00
	(M) Bical	3,08-3,18	-	7,80-8,00
	(M) Maria Gomes	3,22-3,24	-	7,50-7,60
	(M) Arinto	2,96-3,05	-	9,40-10,80
Coelho <i>et al</i> ¹⁴	(M) Fernão Pires	-	-	4,50-6,20
Sarmiento <i>et al</i> ¹⁵	(M) Cercial	2,93	-	-
	(M) Rabo Ovelha	3,13	-	-
	(M) Maria Gomes	3,13	-	-
	(M) Arinto	2,99	-	-

Analisando a tabela, verifica-se que o pH acaba por ser o parâmetro que permite mais facilmente fazer a distinção entre os vinhos da região, sendo que os vinhos espumantes apresentam menores valores de pH (2,50 a 3,40^{7,13}), seguidos dos vinhos brancos (2,99 a 3,55^{5,8}), e, por fim, os vinhos tintos, que apresentam maiores valores de pH (3,06 a 3,85^{5,8,11,12}). Estas diferenças de pH estão de acordo com as gamas de pH para vinhos portugueses em geral e não apenas da região da Bairrada: 3,20 e 4,00^{9,13,14,16,19-23} para vinhos tintos e 2,80 e 3,70^{14,16,20,22,23} para vinhos brancos e para vinhos espumantes.

Relativamente a vinhos brancos monovarietais é possível verificar que algumas castas podem ser distinguíveis de outras, a partir das suas características ácidas. Assim verifica-se na Tabela 1 que os vinhos produzidos a partir da casta Maria Gomes apresentam, em dois estudos distintos, os valores mais elevados de pH, quando comparados com outros vinhos brancos monovarietais. No que respeita aos vinhos tintos monovarietais, a casta Baga apresenta, em três estudos diferentes, valores médios de acidez total muito próximos e, geralmente, superiores aos valores de acidez total apresentada pelas outras castas tintas referidas na tabela.

Relativamente à comparação da acidez dos vinhos da Bairrada com os vinhos produzidos nas restantes regiões, Rodrigues *et al*⁵ apresentam valores de pH dos vinhos tintos da Bairrada ligeiramente superiores aos vinhos das regiões do Dão e Alentejo, enquanto os vinhos brancos apresentam tendência inversa em relação a vinhos produzidos nas regiões do Dão, Alentejo e Vinhos Verdes.

2.3.Catiões metálicos nos vinhos

O extrato seco de um vinho corresponde ao peso do resíduo seco obtido após evaporação de todos os compostos voláteis presentes nos vinhos, sendo essa evaporação realizada por forma a que os compostos não volatilizados apresentem alteração mínima⁴. No extrato seco encontra-se presente matéria orgânica e inorgânica⁴. Durante a combustão do extrato seco há a libertação de água e dióxido de carbono, libertados ao longo da combustão da matéria orgânica, restando, nas cinzas, carbonatos ligados aos diversos cationes presentes no vinho (p.e. K_2CO_3) e sais minerais anidros. Desta forma, através das cinzas, é possível estimar a quantidade de matéria inorgânica presente no vinho^{3,4}.

O potássio é o catião que se apresenta em maiores concentrações no mosto, representando cerca de 50% da matéria mineral presente no vinho, sendo também possível encontrar catiões de cálcio, magnésio, sódio²⁵. Também é possível encontrar iões de ferro e cobre, normalmente em concentrações vestigiais²⁵.

Relativamente à constituição mineral do vinho, é dada elevada importância à monitorização dos catiões devido ao risco de provocarem uma certa turvação consequente da presença destes catiões em elevadas concentrações⁴. As precipitações mais comuns, identificadas em vinhos, encontram-se relacionadas com elevadas concentrações de potássio, cálcio, ferro e cobre⁴.

O potássio e o cálcio, catiões provenientes da polpa e película da uva²⁶, precipitam nos vinhos, sob a forma de tartaratos (principalmente hidrogenotartarato de potássio e tartarato de cálcio). Ao longo do processo de maturação na vinha, as uvas vão acumulando potássio²⁶, de forma que, posteriormente, os vinhos resultantes, apresentam teores de potássio entre 0,5 e 2 g/L, sendo, estes valores, superiores para vinhos tintos²⁸. O tartarato de cálcio apresenta menor solubilidade que o tartarato de potássio nos vinhos, no entanto a concentração de cálcio disponível, nos vinhos, para precipitar sob a forma deste sal é bastante inferior ao teor disponível de potássio, situando-se entre 80 e 140 mg /L^{26,27}.

Na tabela 2 são apresentados os valores de concentração de potássio, cálcio e sódio obtidos a partir de diferentes estudos, para vinhos monovarietais e polivarietais, produzidos na região da Bairrada. É de notar que a casta Baga é uma casta tinta, mas o vinho a que se referem os dados da tabela é um vinho *rosé* produzido a partir desta casta. Assim, este vinho foi obtido da fermentação do mosto na ausência dos bagos, ao contrário da fermentação do mosto dos vinhos tintos apresentados na tabela. Uma vez que a película das uvas é rica em potássio, o teor de potássio presente num vinho é superior se a sua fermentação ocorre em contacto com os bagos, denominada de maceração pelicular.

Tabela 2. Valores concentração potássio, cálcio e sódio de vinhos produzidos e castas cultivadas na Bairrada entre 1990 e 2011, onde a cor amarela representa vinhos brancos, a cor rosa mais escura representa os vinhos tintos e a mais clara os vinhos rosés.

Referência	Vinho polivarietal (P) ou monovarietal (M)	K ⁺ (mg/L)	Ca ²⁺ (mg/L)	Na ⁺ (mg/L)
Rodrigues <i>et al</i> ⁵	(P) Tinto	850-1200	50-90	5-12
	(P) Branco	500-800	75-110	10-25
Pinho ⁸	(P) Tinto	808-1426	75-181	8-14
	(P) Branco	428-1029	55-151	6-19
Jordão <i>et al</i> ⁷	(P) Espumante	505-718	-	-
Lopes ¹¹	(M) Água Santa	1100-1200	-	-
Almeida ²⁰	(M) Camarate	1009-1128	101-140	-
Cardoso ¹³	(M) Baga	589-685	-	-
	(M) Cercial	626-701	-	-
	(M) Bical	646-704	-	-
	(M) Maria Gomes	505-520	-	-
	(M) Arinto	550-718	-	-
Sarmiento <i>et al</i> ¹⁵	(M) Cercial	507	91,4	15,7
	(M) Rabo Ovelha	755	54,0	12,5
	(M) Maria Gomes	704	58,7	13,6
	(M) Arinto	615	82,3	12,5

Os dados apresentados por diversos estudos, realizados em vinhos produzidos na Bairrada, entre 1990 e 2011, apresentam vinhos brancos com concentrações de potássio entre 428 e 1029 mg/L^{5,6,8,15} e concentrações de cálcio entre 55 e 151 mg/L^{5,8,15}, enquanto os vinhos tintos apresentam concentrações de potássio entre 808 e 1426 mg/L^{5,8,11,21} e concentrações de cálcio entre 50 e 181 mg/L^{5,8,21}. Assim verifica-se que os vinhos tintos apresentam maiores teores de potássio porque resultam do processo de maceração pelicular, isto é, a fermentação ocorre na presença dos bagos, ao contrário da fermentação em vinhos brancos, resultando na passagem de uma maior fração de potássio, dos bagos para o vinho⁴.

O fator casta acaba por não apresentar grande influência no teor de potássio nos vinhos. Analisando a tabela 2 é possível verificar que castas como a Cercial, Maria Gomes e Arinto apresentam valores máximos e mínimos de potássio muito próximos.

No que respeita à influência da região de origem, Rodrigues et al⁵ compararam um número bastante elevado de vinhos tintos de três regiões e concluíram que as concentrações de potássio para vinhos tintos do Alentejo e da Bairrada são bastante próximas, mas nos vinhos tintos da região do Dão apresentam valores significativamente superiores. Das análises comparativas feitas pelos mesmos autores, conclui-se que, no caso dos vinhos brancos, os vinhos da região dos Vinhos Verdes apresentam teores de potássio significativamente superiores aos restantes.

Quanto aos teores de cálcio Rodrigues et al⁵ identificam que para as regiões do Alentejo, Dão, Vinhos Verdes e Bairrada os vinhos produzidos não apresentam valores de concentração significativamente diferentes, situando-se, esses valores entre os 40 e 110 mg/L.

2.4.Precipitação tartárica

O processo de cristalização dos tartaratos, como o processo de cristalização de outros sais, passa por três fases: sobressaturação, nucleação e crescimento.

- Fase de sobressaturação:

Quando a uva começa a ganhar pigmentação, a chamada fase do pintor, acumula, também, ácido tartárico e potássio²⁹. No mosto o bitartarato de potássio é muito solúvel, contudo, no decorrer da fermentação alcoólica as leveduras vão desdobrando os açúcares em etanol e dióxido de carbono. Como o bitartarato de potássio é insolúvel em álcool, o aumento do teor alcoólico faz com que se atinja facilmente a fase de sobressaturação^{29,30}.

A solubilidade de um sal corresponde à concentração máxima de soluto que é possível dissolver numa solução a uma determinada temperatura³¹. A partir do momento em que a concentração desse soluto é superior à sua solubilidade é atingida a sua sobressaturação na solução. Assim, o nível de sobressaturação do bitartarato de potássio pode ser medido através da comparação entre a concentração de soluto em solução, Q , e a sua solubilidade (concentração no equilíbrio), s , para a mesma temperatura e teor alcoólico^{31,32}:

$$\text{Sobressaturação relativa} = \frac{Q - s}{s} \quad (2 - I)$$

Apesar de ser fácil determinar com exatidão o ponto de sobressaturação, dado que este apenas depende do teor de álcool e da temperatura do vinho, a formação de núcleos de cristalização, na fase de nucleação, é um processo extremamente lento, devido à barreira energética que é necessário ultrapassar para a formação desses núcleos, conferindo aos sais de tartarato e hidrogenotartarato uma zona de meta-estabilidade muito alargada³.

-Fase de nucleação:

A formação de um pequeno cristal, conhecido como núcleo, numa fase líquida, corresponde à formação de uma interface entre estas duas fases e requer uma grande quantidade de energia, conhecida como energia de superfície interfacial⁴.

A nucleação pode apresentar duas origens distintas, a nucleação primária ou espontânea, que ocorre naturalmente, e a nucleação secundária ou induzida. A nucleação espontânea requer baixas temperaturas e tempo de indução alargado para o aparecimento de núcleos de cristalização⁴. A nucleação secundária ou induzida resulta da adição ou presença de pequenas partículas da mesma natureza ou natureza semelhante em solução. Desta forma é obtida a interface núcleo-solução aquosa que permite que os iões do sal, em excesso na solução, migrem para os núcleos de cristalização levando ao seu crescimento e à diminuição da concentração do sal em solução⁴. A nucleação é homogénea quando os cristais são da mesma natureza química e heterogénea quando os cristais são de natureza diferente do sal a precipitar⁴.

Na precipitação de hidrogenotartarato de potássio (KHT) é possível induzir nucleação homogénea e heterogénea, podendo, neste último caso usar-se de núcleos de tartarato de cálcio (CaT) que promovem a precipitação do hidrogenotartarato de potássio, contudo, só é possível verificar a precipitação de CaT com a indução de nucleação homogénea⁴.

-Fase de crescimento:

Com a formação de núcleos estáveis, verifica-se o seu crescimento pela ligação de iões do sal precipitante nos pontos ativos da superfície dos núcleos de cristalização, permitindo aos cristais atingir dimensões suficientemente grandes para depositarem²⁹.

Os sais tartáricos não apresentam qualquer risco para a saúde do consumidor, contudo a presença de turvação ou precipitados num vinho é algo indesejável, normalmente associada a produtos de menor qualidade. Torna-se, então, necessário o desenvolvimento de estratégias eficazes para garantir a limpidez de um vinho produzido desde que este sai da adega até chegar à mesa do consumidor. Desta forma a estabilização dos vinhos é um processo importante na garantia da qualidade dos vinhos.

A precipitação tartárica ocorre naturalmente nos vinhos devido à presença de ácido tartárico, catiões de potássio e cálcio e ao intervalo de pH dos vinhos, garantindo condições essenciais para que esta ocorra⁴. Os sais tartáricos que se podem formar são:

- Bitartarato ou hidrogenotartarato de potássio (KHT);
- Tartarato de potássio (K₂T);
- Tartarato de cálcio (CaT);
- Tartarato de cálcio e potássio;
- Tartromalato de cálcio.

Dos sais tartáricos que se podem formar, o tartarato de cálcio e potássio e o tartromalato de cálcio só apresentam estabilidade a pH igual ou superior a 4,5⁴, dado que a valores de pH inferiores a 4,5 a percentagem de tartarato não protonado não permite atingir o produto de solubilidade destes sais. Na gama de pH típica do vinho, o ácido tartárico prevalece na sua forma ácida (H₂T) e de hidrogenotartarato (HT⁻) (Tabela 3). Nestas condições, há formação, em maior extensão, de KHT, sendo este sal o principal contribuinte para a presença de precipitados.

Tabela 3. Variação das percentagens de ácido tartárico, bitartarato e tartarato relativamente à variação de pH (adaptado de Boulton, *et al.*³⁴).

pH	% Ácido tartárico	% Bitartarato	% Tartarato
2.80	66.60	32.80	0.55
3.00	55.50	43.30	1.15
3.20	43.70	54.00	2.28
3.40	32.40	63.40	4.24
3.60	22.60	70.00	7.43
3.80	14.80	72.90	12.26
4.00	9.19	71.70	19.10
4.20	5.38	66.50	28.10

O KHT apresenta elevada solubilidade em água. Contudo, para soluções hidroalcoólicas, essa solubilidade vai diminuindo com o aumento do teor de etanol em solução (tabela 4).

Tabela 4. Variação da solubilidade do bitartarato de potássio (g/L) com a variação de temperatura e teor alcoólico (adaptado de Boulton *et al.*³⁴).

T (°C)	Teor alcoólico (% V/V)				
	0	10	12	14	20
0	2.25	1.26	1.11	0.98	0.68
5	2.66	1.58	1.49	1.24	0.86
10	3.42	2.02	1.81	1.63	1.10
15	4.17	2.45	2.25	2.03	1.51
20	4.92	3.08	2.77	2.51	1.82

Geralmente, as concentrações de potássio e hidrogenotartarato em vinhos, encontram-se suficientemente elevadas para poderem precipitar sob a forma de hidrogenotartarato de potássio, tendo em conta a solubilidade deste em solução hidroalcoólica⁴.

No anexo 1 apresentam-se os valores de concentração para potássio, cálcio, bitartarato, tartarato, calculados a partir de dados de dois estudos feitos sobre vinhos monovarietais produzidos na região da Bairrada. Assim, é possível verificar se existem condições para a precipitação de tartaratos nos vinhos originários desta região.

Para uma solução hidroalcoólica com 12% de etanol a 10°C, a solubilidade de KHT é 1,81 g/L, o que corresponde a 9,6 mmol/L. Assim, no anexo 1 mostra-se que, para todos os exemplos utilizados, as concentrações mais baixas de potássio e bitartarato que podem existir num vinho, são sempre superiores à solubilidade do KHT. Desta forma, pode-se afirmar que a precipitação de KHT é um fenómeno espontâneo. Quanto à precipitação do CaT, para soluções hidroalcoólicas, com teor de álcool próximo de 12%, a solubilidade do CaT desce para metade da sua solubilidade em água (0,53 g/L)³⁵. No anexo 1, é possível verificar que as concentrações de cálcio e, principalmente, de tartarato nos vinhos nem sempre são superiores à concentração de tartarato de potássio que o vinho consegue dissolver. Por outro lado, o ácido málico, que atua como inibidor de precipitação, também apresenta influência sobre o deslocamento

do equilíbrio de solubilidade³⁶. Assim é possível concluir que a instabilidade tartárica destes vinhos está, sobretudo, associada à precipitação do hidrogenotartarato de potássio.

Durante a fase de crescimento dos cristais existem macromoléculas que competem com o hidrogenotartarato pela ligação à superfície dos núcleos formados e pela ligação com os catiões de potássio. A adsorção destas macromoléculas protetoras à superfície dos cristais resulta na inibição do seu crescimento, criando o efeito de coloides protetores, sendo este um fator que intervém no equilíbrio de solubilização do KHT³⁷. Devido às suas características e elevada concentração nos vinhos, macromoléculas como os polifenóis e polissacarídeos atuam como coloides protetores revestindo a superfície dos núcleos de KHT formados impedindo o crescimento²⁹. Com o decorrer do tempo, a concentração destes coloides vai diminuindo, ao ponto de permitir que se verifique, posteriormente, a formação de mais núcleos de KHT, provocando, assim, uma retardação na sua precipitação³⁸.

2.5. Estabilização tartárica

Para evitar o aparecimento dos precipitados que podem, indesejavelmente, ocorrer no vinho, após o engarrafamento, torna-se necessário recorrer a técnicas que permitam diminuir o estado de sobressaturação do vinho relativamente aos sais ácidos anteriormente referidos. Várias técnicas podem ser utilizadas para garantir a estabilidade tartárica de um vinho, umas aceleram o processo de cristalização de forma a que este se dê ainda antes do engarrafamento, enquanto outras sugerem um tratamento ao vinho que garanta a inibição da cristalização do hidrogenotartarato de potássio, seja por adição de inibidores de cristalização seja pela diminuição do estado de sobressaturação do KHT⁴. A seguir são descritos os principais métodos de estabilização:

2.5.1. Estabilização por frio

Uma das características mais importantes do KHT está relacionada com a variação da sua solubilidade com a variação da temperatura. Portanto, a estabilização com recurso a baixas temperaturas é o método tradicional e o mais utilizado para garantir a estabilidade tartárica aos vinhos³⁹. Este processo pode ser feito de diferentes formas, estabilização lenta sem sementeira de cristais e estabilização rápida, com sementeira de cristais que pode ser executada num processo estático ou dinâmico^{4,39}.

Para todos os casos o princípio de tratamento do vinho é semelhante, numa primeira fase coloca-se o vinho a uma temperatura ligeiramente superior á sua temperatura de congelação, definida como temperatura de tratamento^{4,39} que é calculada através de uma fórmula empírica⁴:

$$T.T. = - \left(\frac{\%Vol. EtOH}{2} - 1 \right) \quad (2.2)$$

onde T.T. corresponde à temperatura de tratamento e %Vol. EtOH corresponde ao teor de álcool presente no vinho.

Numa segunda fase o vinho é mantido a essa temperatura, durante um determinado período de tempo, por forma a promover a cristalização do KHT, para, numa terceira fase se proceder à filtração do vinho, a baixas temperaturas, retendo todo o precipitado formado ao longo deste tratamento^{4,39}.

2.5.2.Estabilização com recurso a inibidores de cristalização

Os compostos que atuam como inibidores da cristalização são adicionados aos vinhos com o objetivo de evitar a precipitação dos sais tartáricos, atuando segundo os mesmos mecanismos de inibição que os coloides protetores dos vinhos. Podem ser utilizados como inibidores de precipitação o ácido metatartárico, as manoproteínas ou Carboximetilcelulose (CMC).

O ácido metatartárico é produzido a partir da esterificação, do ácido tartárico, entre a função ácida de uma molécula e a função álcool de uma segunda molécula deste ácido, recorrendo a um aquecimento sob baixas pressões⁴. Desta forma é obtido um polímero que, quando adicionado aos vinhos, previne o crescimento dos cristais de KHT e cuja eficácia é tanto maior quanto maior for o seu grau de esterificação⁴⁰.

Vinhos brancos estagiados sobre as borras apresentam maior estabilidade tartárica devido à presença das manoproteínas existentes nas paredes celulares das leveduras⁴. As manoproteínas são extraídas das paredes celulares das leveduras com recurso a uma preparação de β -(1-3)- e β -(1-6)-glucanases, e adicionadas aos vinhos para promover a sua estabilização tartárica⁴. Estes polissacarídeos atuam como coloides protetores, ligando-se aos núcleos de hidrogenotartarato de potássio, impedindo o seu crescimento⁴.

A carboximetilcelulose (CMC) é um derivado de celulose obtido por esterificação dos grupos álcool primários livres das unidades de glucopirranose através de ligações glicosídicas β (1-4) (Figura 2).

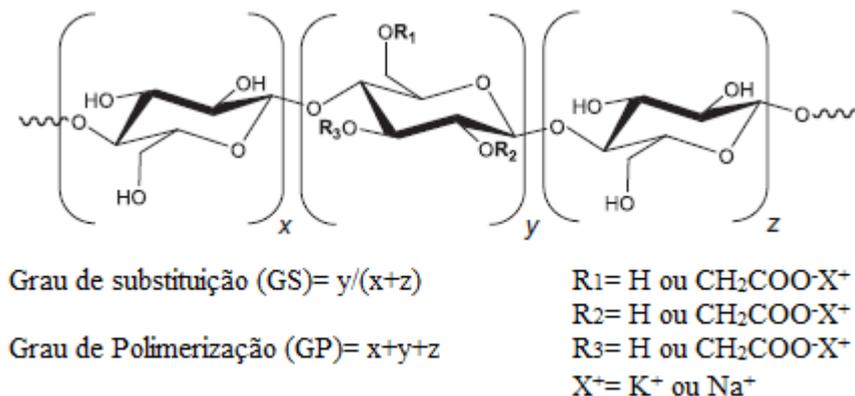


Figura 2- Representação esquemática da carboximetilcelulose (adaptado de Guise, R. et al (2014)⁴¹).

Tendo em conta que a CMC apresenta carga negativa no intervalo de pH típico dos vinhos⁴¹, a sua efetividade na prevenção da precipitação de sais tartáricos é verificada a partir de dois mecanismos distintos. Devido à sua carga negativa, a carboximetilcelulose pode complexar com os catiões de potássio, diminuindo a sua disponibilidade para provocar o crescimento dos núcleos de KHT⁴², podendo, ainda, ligar-se à superfície dos núcleos de KHT formados devido ao facto de estes apresentarem uma carga positiva na sua superfície, resultante da presença de elevadas concentrações de catiões de potássio em solução⁴³.

Relativamente à sua aplicação, a CMC é utilizada para a estabilização tartárica de vinhos brancos e espumantes, dado que o seu uso em vinhos tintos provoca a sua turvação, resultante da agregação entre a CMC e os polifenóis que leva à precipitação de matéria corante^{4,40}.

2.5.3. Estabilização por diminuição da concentração dos iões precipitantes

Estes procedimentos recorrem à utilização de técnicas que resultam na diminuição da concentração dos iões que podem precipitar sob a forma dos sais indesejados. As duas principais técnicas utilizadas para a diminuição da concentração dos iões precipitantes são a electrodiálise e as resinas de troca catiónica.

A electrodiálise permite separar iões através do uso de membranas selectivas que são permeáveis aos iões de acordo com a sua carga, sendo que a migração dos iões é provocada pela aplicação de uma voltagem^{4,39,44}.

Resinas de troca catiónica

O fenómeno de troca iónica é descrito pela capacidade que uma matriz, contendo iões de troca, apresenta para ceder iões para um meio, captando, desse meio, iões que apresentam maior afinidade para o permutador de iões⁴⁵. As resinas de troca iónica encontram-se divididas em diferentes categorias dependendo dos monómeros que lhes dão origem e do método utilizado para as sintetizar. Assim, as resinas são classificadas como orgânicas ou inorgânicas dependendo da sua natureza e ainda como naturais ou sintéticas, sendo estas últimas obtidas por polimerização ou condensação. A troca de iões ocorre nos grupos funcionais, ligados à matriz das resinas de troca iónica, que podem ser definidos como grupos funcionais ácidos ou básicos devido à capacidade de trocar catiões ou aniões respetivamente.

As resinas de troca iónica podem ser utilizadas no tratamento de vinhos para garantir a sua estabilidade removendo catiões ou aniões que quando presentes em concentrações suficientemente elevadas podem provocar alterações indesejadas como as precipitações de proteínas⁴⁶, ferro^{47,48}, cobre⁴⁸ e, o objecto de estudo deste trabalho, a precipitação de tartaratos^{45,49,50}.

O tipo de resinas que podem ser empregues para uso enológico encontra-se referido no Códex Enológico Internacional (O.I.V.) e no regulamento (CE) nº 606/2009 da comissão europeia, onde se refere que o seu uso se deve restringir ao tratamento de estabilização tartárica. As resinas usadas são de troca catiónica e o objetivo da sua aplicação é remover o potássio, podendo ainda remover outros catiões presentes na matriz do vinho. O tipo de resinas que podem ser utilizadas para o tratamento de estabilização tartárica são obtidas da polimerização de estireno com divinilbenzeno, o qual garante a total insolubilização das resinas em meio aquoso, estando este último presente em percentagens entre 3 a 10%⁵¹. As resinas devem responder a determinadas exigências como resistência mecânica, insolubilidade total no vinho, ausência de gostos estranhos e possibilidade de ser regeneradas para uso em vários ciclos de estabilização⁵¹.

Quanto ao grupo funcional, as resinas permitidas para a estabilização tartárica são funcionalizadas com grupos sulfónicos (SO_3^-) garantindo características fortemente ácidas^{45,49,50}, onde a sua afinidade aumenta com o aumento da valência dos catiões a reter. No caso de os catiões apresentarem a mesma valência, a sua afinidade aumenta

com o aumento do número atómico⁴. As resinas, quando aplicadas, podem ter estes grupos funcionais ligados a catiões como H⁺ ou Na⁺, no entanto, o regulamento (CE) n° 606/2009 da comissão europeia refere que só a estabilização com resinas de troca catiónica regeneradas em meio ácido são permitidas para o tratamento de estabilização uma vez que as restantes alternativas podem causar alterações significativas nas características organoléticas do vinho.

Durante um ensaio de troca iónica, as resinas podem ser mergulhadas no vinho a estabilizar ou uma percentagem do mesmo pode ser feito passar através de uma coluna contendo as resinas de troca iónica, sendo, no último caso necessário controlar o caudal de vinho que vai passar na coluna, de modo a que este seja suficientemente baixo para permitir que o equilíbrio de troca ocorra.

2.6. Métodos de avaliação da estabilidade tartárica

Existe um conjunto de testes que permitem avaliar, de uma maneira mais lenta ou mais rápida, a eficiência da estabilização de vinhos, seja pela verificação da formação de precipitados no vinho ou pela avaliação de determinadas características físico-químicas que permitem retirar informações sobre a estabilidade dos mesmos⁴:

- Teste do frigorífico;
- Teste de mini contato;
- Teste de Wurdig e determinação de temperatura de saturação;

A estabilidade dos diferentes vinhos ensaiados é avaliada, no laboratório da Idealdrinks, através do teste de mini-contacto.

Teste de mini contato

Este teste tem como principio a nucleação homogénea induzida, que ocorre mais rapidamente do que a nucleação a primária. No entanto, este teste não leva em conta o tamanho das partículas de tartarato adicionadas^{4,52}.

São adicionados 4 g/L de bitartarato de potássio numa amostra de vinho mantida a uma temperatura de 0°C durante 2 horas, em constante agitação, sendo posteriormente filtrada a frio para medição da massa retida no filtro^{4,52}. O aumento da massa do filtro revela que houve precipitação de bitartarato de potássio no vinho. É também possível dissolver o precipitado num volume conhecido de água quente e medir o aumento da

acidez, em comparação com os 4 g/l de bitartarato de potássio exógeno adicionado ao vinho^{4,52}.

A fim de tornar o teste de Mini-Contato fiável, surge uma alternativa onde, após a adição dos cristais de bitartarato a uma amostra de vinho, a avaliação da estabilidade da amostra é feita através da leitura da variação de condutividade da mesma à temperatura de 0°C^{4,52}:

1. Queda até 5% da condutividade inicial do vinho (medida antes da adição do bitartarato de potássio), pode ser considerado adequadamente tratado e estabilizado.
2. Queda da condutividade é superior a 5%, o vinho é considerado instável.

Como este teste é baseado na medição da condutividade elétrica do vinho, apresenta a vantagem de não ser necessário recolher o precipitado, poupando tempo e diminuindo erros provenientes da filtração e redissolução de cristais. Existem dois testes que podem ser realizados, curto e longo. O teste curto pode ser feito em 10-15 minutos e permite extrapolar valores de condutividade para tempo infinito. Deste modo são obtidos resultados em tempos muito curtos^{4,52}. No teste longo a variação de condutividade é monitorizada ao longo de 4 horas e apresenta resultados mais representativos, sendo então mais adequada para a avaliação da estabilidade^{4,52}. Além disso, em comparação com a primeira variante do teste de mini-contato, o aumento da superfície de contacto (de 4 para 10 g/l) e, conseqüentemente, do estado de supersaturação do vinho torna-o mais preciso para avaliar a estabilidade de um vinho^{4,52}.

Cálculo do grau de instabilidade tartárica

A condutividade é monitorizada, para a mesma temperatura, desde o início (λ_i) até ao final (λ_f) do teste^{4,52}. Geralmente, o equipamento utilizado para estes ensaios é controlado a partir de um computador, por meio de um software próprio. Deste modo o software permite acompanhar a cinética da diminuição da condutividade e prever o valor de condutividade para tempo infinito ($\lambda_f(\text{inf})$). Deste modo, é possível calcular o Grau de Instabilidade Tartárica (GIT):

$$GIT(\%) = \frac{\lambda_i - \lambda_f(\text{inf})}{\lambda_i} \times 100 \quad (2 - III)$$

Escudier considera que para valores de GIT abaixo dos 3%, o vinho está estável.No entanto, Moutounet e Bartle propõem que a análise do GIT seja feita do seguinte modo:

- Se $GIT < 5\%$, o vinho é considerado estável;
- Se $5\% < GIT < 10\%$, o vinho é considerado ligeiramente instável e a decisão de tratar é puramente económica;
- Se $GIT > 10\%$, o vinho é considerado instável, neste caso, a taxa de desionização a aplicar no tratamento é igual ao GIT.

2.7.Métodos de caracterização dos vinhos antes e após estabilização

A utilização das resinas de troca iónica na estabilização tartárica de vinhos leva à obtenção de produtos finais que podem apresentar diferenças, ligeiras ou mais acentuadas, relativamente ao vinho inicial. Desta forma torna-se necessário avaliar, para além da estabilidade tartárica dos vinhos iniciais e respetivos ensaios de estabilização, outras características físico-químicas dos vinhos que podem sofrer alterações, as quais podem resultar num produto com características diferentes do produto inicial. A Organização Internacional da Vinha e do Vinho (O.I.V.) e a Comunidade Europeia regulamentam quais os métodos de referência para determinar os valores relativos a parâmetros como a acidez volátil e total, pH, teor alcoólico, entre outros. A caracterização dos vinhos vai ser realizada com recurso aos métodos oficiais e a Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR). Alguns vinhos também vão ser sujeitos a determinação do teor de catiões, composição volátil e índice de cor, recorrendo-se ao equipamento disponível nos laboratórios da Universidade de Aveiro e a métodos previamente implementados para as análises em questão.

2.7.1.Acidez Total

A acidez total de um vinho é definida como a soma de todos os ácidos tituláveis até pH igual a 7, não sendo incluída a contribuição do ácido carbónico e a acidez proveniente da adição de anidrido sulfuroso no vinho^{53,54}. A determinação da acidez total é baseada na norma portuguesa NP-2139 e consiste numa titulação ácido-base recorrendo a uma solução alcalina de hidróxido de sódio como titulante e azul de bromotimol como indicador⁵⁴.

2.7.2.Acidez Volátil

A acidez volátil corresponde à fração dos ácidos volatilizáveis nos vinhos e é determinada a partir de destilação por arrastamento de vapor e titulação com recurso a solução alcalina de hidróxido de sódio e o método geralmente utilizado tem como base a NP – 2140^{53,54}. A fração dos ácidos voláteis corresponde aos ácidos que pertencem à série acética da qual o ácido acético é o principal constituinte, sendo necessário remover o ácido carbónico do vinho antes da destilação e proceder a uma titulação iodométrica, após titulação com a solução alcalina de NaOH, para poder subtrair, ao conteúdo de ácidos no destilado, a fração correspondente ao dióxido de enxofre que foi volatilizado^{53,54}.

Na Figura 3 é apresentado um esquema típico de um destilador utilizado para a determinação da acidez volátil, onde a amostra é colocada no chapinador (1) e este por sua vez num balão (2) com água destilada e sujeito a aquecimento. Quando a água começa a ferver tapa-se o tubo (3) que se encontra em contacto com o exterior para forçar o vapor de água a passar através da amostra, arrastando consigo os compostos volatilizáveis. O vapor é arrastado até um condensador (4) e o líquido recolhido num matraz (5) para posterior titulação. À amostra é adicionado ácido tartárico para aumentar a disponibilidade de H^+ , permitindo, desta forma, aumentar a fração de ácidos volatilizáveis presentes na forma de ácido neutro.

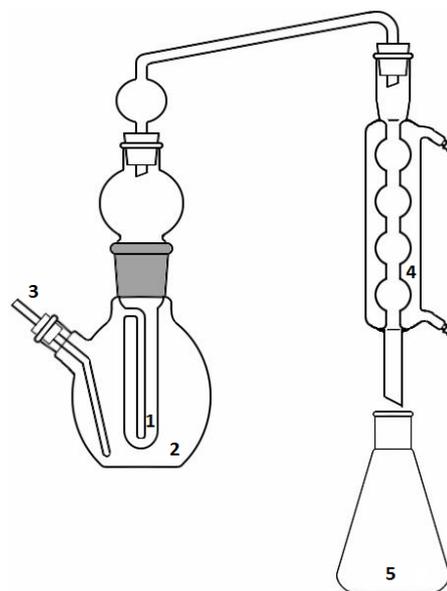


Figura 3 – Representação de um destilador utilizado para determinação da acidez volátil. (Adaptado de: <http://www.spazianistore.it>¹¹³)

2.7.3.Teor Alcoólico

O teor alcoólico em volume de um vinho é caracterizado pela quantidade, em mL, de etanol contido em 100 mL desse vinho, sendo a sua medição feita à temperatura de 20°C^{53,54}. A metodologia utilizada para a obtenção do teor alcoólico é baseada na NP-753, e consiste na destilação simples de uma amostra de vinho alcalinizada e determinação do teor alcoólico do destilado com recurso a um alcoómetro^{53,54}. A alcalinização da amostra é importante para manter os ácidos volatilizáveis na forma de

sais, fixando-os nos vinhos, evitando que estes possam atuar como interferentes da determinação do teor alcoólico.

2.7.4.pH

O pH é traduzido como sendo a disponibilidade real de iões H^+ no vinho, sendo, este parâmetro, muito importante em variados aspetos da produção de vinhos. A influência sobre a atividade e desenvolvimento das leveduras, bactérias lácticas e acéticas e algumas enzimas, bem como o grau de protonação dos diversos ácidos são alguns dos aspetos em que o pH apresenta elevada importância na produção de vinhos⁵⁴. O método para determinação do pH encontra-se descrito no Regulamento CEE 2676/90^{53,54}.

2.7.5.Catiões

A determinação de metais alcalinos e alcalino-terrosos, em vinhos, pode ser realizada através de diversas técnicas, nomeadamente espectroscopia de absorção atômica de chama^{5,55}. Nesta técnica, a amostra é feita passar por um nebulizador onde a amostra é nebulizada e misturada com um gás de combustão, acetileno, e com um gás comburente, oxigénio para posteriormente ser conduzida até à chama. No equipamento é colocada uma lâmpada de cátodo oco que emite um feixe de luz com energia suficiente para excitar os eletrões de determinados átomos neutros presentes na solução em estudo. O feixe de luz é direcionado para um monocromador e ao longo do seu percurso atravessa a chama, aí é absorvida tanto mais energia do feixe quanto maior a concentração de átomos de um determinado metal existir em solução.

O uso desta técnica de análise em matrizes complexas como o vinho leva a que a análise dessas amostras se encontre sujeita a algumas interferências de matriz^{5,55}. O elevado teor em potássio pode influenciar fortemente os processos de ionização, agindo como um tampão de ionização, importante para a determinação de elementos com baixas energias de excitação. Por outro lado, o fosfato pode causar interferência química através da formação de compostos refratários (exemplo: fosfato de cálcio) e, ainda, o teor em álcool etílico influencia a viscosidade das amostras e as suas propriedades de transporte através dos dispositivos de atomização do equipamento. No entanto, tendo em conta a diluição a que o vinho é sujeito para este tipo de análises o efeito do teor alcoólico acaba por ser atenuado ou, eventualmente, desprezável.

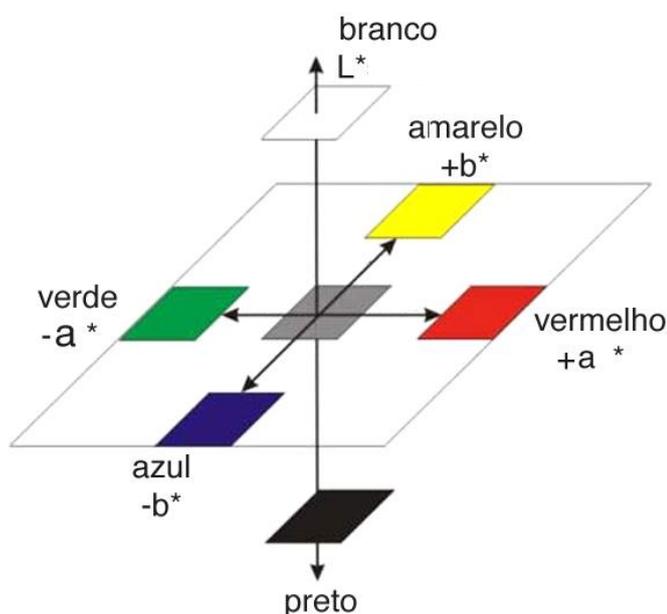
Para além da diluição, as amostras de vinho sofrem um tratamento de acidificação, com adição de ácido nítrico concentrado, levando o pH das amostras para

valores próximos de 1,5⁵⁵. Esta acidificação permite prevenir processos de fermentação, minimizar a precipitação de metais, libertar os metais dos seus ligandos, aumentando a fração livre dos metais e ainda prevenir a adsorção dos metais nas paredes dos recipientes⁵⁵.

2.7.6.Índice de cor

Relativamente às características visuais, para além da limpidez, conceito relacionado com a precipitação tartárica e sua prevenção, a cor é uma característica igualmente importante na afirmação da qualidade do produto. A cor de um vinho reflete a sua composição e características físico-químicas^{56,57}, o bom ou mau estado de conservação e ainda o tipo de tratamentos a que este foi sujeito antes de se encontrar disponível para consumo^{45,58}.

A determinação da cor é feita com recurso a uma técnica de espectrofotometria, onde a amostra é atravessada por radiação com comprimentos de onda compreendidos entre os 380 nm e os 780 nm, em intervalos de 1 a 5 nm, sendo, posteriormente, medida a quantidade de radiação absorvida ou transmitida. Um software é utilizado para fazer o tratamento dos dados obtidos, para, através de uma série de cálculos, apresentar as



características cromáticas do vinho sob a forma de um sistema

Figura 4- Esquematização do sistema CIELab utilizado para a caracterização da cor. (Adaptado de: <http://a-cordosdias.blogspot.pt>¹¹⁴)

de caracterização da cor, denominado de CIELab (Figura 4). O CIELab funciona como um sistema de três eixos (Figura 4) que permite apresentar as características de uma cor, onde a coordenada L^* representa a luminosidade, com unidades que vão de 0 a 100, sendo o 0 equivalente ao preto, luminosidade mínima, e 100 ao branco, onde a luminosidade atinge o valor máximo. A coordenada a^* correlaciona o vermelho ($+a^*$) com o verde ($-a^*$) e a coordenada b^* correlaciona o amarelo ($+b^*$) com o azul ($-b^*$). A

combinação destas três coordenadas permite distinguir e comparar a cor apresentada pelos diferentes vinhos.

2.7.7.Composição Volátil

Os vinhos apresentam um perfil aromático complexo, formado por um número elevado de compostos voláteis, sendo possível verificar, entre álcoois, esterés, ácidos, aldeídos, cetonas, lactonas, terpenoides e fenóis, a presença de 800 diferentes compostos voláteis em vinhos⁵⁹. A complexidade da matriz volátil dos vinhos e concentrações na ordem dos $\mu\text{g/L}$ que estes compostos voláteis apresentam, levam à necessidade de desenvolver técnicas de extração e análise, que permitam a identificação e quantificação do maior número de compostos possível.

A extração de compostos voláteis dos vinhos tem sido levada a cabo através de diversas técnicas de extração, destacando-se a micro extração de fase sólida em espaço de cabeça (HS-SPME, do inglês head space solid phase microextraction)^{60,61} e extração por sorção em barra de agitação (SBSE, do inglês stir bar sorptive extraction)⁶², utilizadas em diversos trabalhos, relacionados com o estudo da matriz volátil dos vinhos. No corrente trabalho a extração de compostos voláteis é levada a cabo com recurso a HS-SPME, uma técnica que permite realizar extrações repetíveis, rápidas, simples, evitando o recurso a solventes⁶⁰. A extração por HS-SPME é realizada, como se encontra representado na figura 5, com um volume fixo, previamente medido para um *vial*, garantindo a existência de um espaço em vazio, o espaço de cabeça, que permita a passagem dos compostos voláteis da fase líquida para a fase gasosa. Perfurando a tampa com o sistema de SPME, coloca-se uma fibra de sílica com um revestimento específico para o tipo de extração pretendido em contacto com a fase gasosa durante um período de tempo e, após o período de extração retira-se a fibra do *vial* para posterior análise. Assim, é possível perceber que existem dois equilíbrios de partição dos compostos voláteis, que se estabelecem na extração em HS-SPME. Um primeiro entre a amostra no estado líquido e o espaço de cabeça

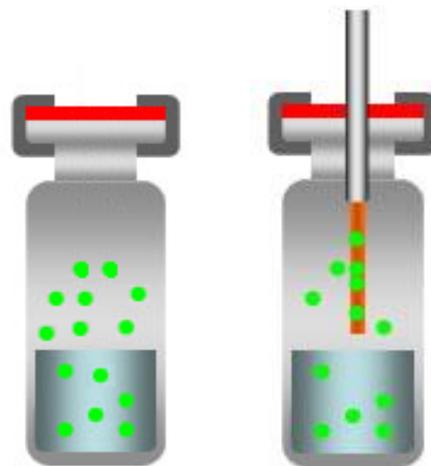


Figura 5-Representação da amostragem com HS-SPME. (Adaptado de: <http://www.chem.agilent.com/>¹¹⁵)

para onde os compostos mais voláteis apresentam maior capacidade de passar e um

segundo entre o espaço de cabeça e a fibra, onde os compostos de maiores dimensões (menos voláteis) apresentam maior capacidade se serem fixados na fibra. A determinação das condições de extração, tais como, termostatização, tempo de extração, velocidade de agitação da amostra, é importante, não só para garantir a repetibilidade da extração, mas também na definição de quais os compostos voláteis de interesse para análise^{60,61}.

A análise da matriz volátil dos vinhos tem sido realizada com recurso a cromatografia gasosa que permite a separação dos compostos a partir das diferentes afinidades que estes apresentam com uma coluna capilar, geralmente apolar. Apesar da elevada capacidade de separação das colunas de cromatografia gasosa, a complexidade da matriz volátil dos vinhos leva a que alguns picos sejam resultado da co-eluição de dois ou mais compostos⁶⁰.

A cromatografia bidimensional (GCxGC) recorre a duas colunas de separação, uma apolar e uma segunda polar ligadas em série, que permitem, após a separação realizada pela passagem na primeira coluna, obter um aumento de resolução dos picos com a passagem dos compostos pela segunda coluna. Desta forma obtém-se um cromatograma com duas dimensões onde os compostos co eluídos na primeira coluna sofrem uma segunda separação, aumentando o potencial de separação da técnica⁶³. Para além da maior separação o recurso a esta técnica permite garantir melhor sensibilidade e limites de deteção devido à melhor resolução dos picos e diferenciação entre os analitos e o ruído⁶⁴.

2.7.8. Caracterização de vinhos por FTIR

O recurso à espectroscopia de infravermelho com transformada de fourier (FTIR) permite realizar, numa única análise, a determinação de diversos parâmetros, alguns dos quais já acima referidos. A espectroscopia de infravermelho (IV) baseia-se na alteração da energia vibracional das moléculas provocada pela absorção de radiação infravermelha. Moléculas de compostos diferentes apresentam frequências de vibração específicas a que correspondem diferentes níveis de energia vibracional. Assim, compostos diferentes apresentam espectros distintos permitindo a sua quantificação em solução^{65,66}.

O recurso a transformada de Fourier em espectroscopia de infravermelho, FTIR, permite obter o espectro de infravermelho mais rapidamente, pois a frequência da luz

infravermelha monocromática não vai sendo variada, em vez disso, todos os comprimentos de onda são usados e conduzidos para um interferómetro. No interferómetro a radiação é dividida para dois espelhos, um móvel e um fixo. Depois de refletidos, os dois feixes voltam a encontrar-se, sendo a interferência diferente para cada comprimento de onda da radiação e dependente da posição do espelho móvel⁶⁷. Desta forma é obtido um interferograma, ao qual é aplicado transformada de Fourier para ser obtido um espectro idêntico ao da espectroscopia de infravermelho convencional ou dispersiva, com um aumento significativo de sensibilidade e com menor quantidade de amostra^{66,67}.

O vinho apresenta uma série de compostos, na forma molecular ou iónica, capazes de absorver energia a comprimentos de onda na gama dos infravermelhos, sendo a absorvância proporcional à concentração dos seus constituintes. Assim, cada vinho vai apresentar um espectro distinto onde, através da análise multivariada é possível quantificar cada constituinte do vinho sem eliminar os interferentes⁶⁶. A utilização de FTIR para a caracterização de vinhos permite obter informação sobre diversos parâmetros físicos e químicos em simultâneo a partir de análises rápidas, precisas, com gasto de amostra e reagente mínimo, boa resolução média e elevado grau de autonomia⁶⁶.

2.8. Alterações na constituição dos vinhos em consequência da estabilização com resinas de troca iónica

O tratamento de estabilização de vinhos com recurso a resinas de troca catiónica tem sido alvo de estudo por parte de vários autores, nomeadamente na identificação e do tipo e extensão de alterações que o uso deste tipo de tratamento de estabilização tartárica pode causar nos vinhos. Nesta secção é feita uma revisão sobre algumas alterações identificadas por alguns autores no que respeita a pH, matriz ácida, catiões, características organoléticas e ainda sobre a matriz volátil, responsável pelas características aromáticas dos vinhos.

O uso das resinas de troca iónica na estabilização tartárica de vinhos leva, logo à partida, a que se verifiquem alterações significativas nas concentrações de determinados catiões logo após a realização de um ensaio de estabilização. Alguns autores realizaram análise da concentração de catiões comparando vinhos tratados com os mesmos vinhos não tratados por forma a avaliar a eficiência do tipo de tratamento.

Andrade¹⁸ observa um decréscimo na concentração de potássio na ordem de 24,1, 28,3 e 27,8% onde o primeiro valor corresponde a um ensaio realizado com 30% de volume de vinho permutado e os restantes valores correspondem a ensaios de estabilização realizados com 35% de volume de vinho permutado. Estes valores dizem respeito a ensaios realizados para três diferentes vinhos tintos da região do Ribatejo. Quanto à capacidade de remover o catião de cálcio Andrade¹⁸ obtém uma redução da concentração inicial de cálcio de 15, 10 e 12 mg/L para percentagens de vinho permutado de 30, 35 e 35% respetivamente. Essa redução corresponde a uma variação de 31,2, 25,6 e 26,1% respetivamente, sendo essa taxa de redução, semelhante à do potássio.

Lasanta *et al.*⁴⁵ apresentam uma redução, da concentração de potássio, relativamente ao vinho não permutado, à volta de 90% e da concentração de cálcio à volta de 96%, para um ensaio onde 100% do vinho em análise foi feito passar pela coluna. Neste estudo o vinho em estudo é um vinho tinto monovarietal da casta Tempranillo produzido na região de Sherry em Cádiz, Espanha.

Mira *et al.*⁶⁸ apresentam redução no teor de potássio e cálcio na ordem de 100% para vinhos que passaram pela coluna, relativamente aos mesmos vinhos não permutados. Foram alvo de estudo dois vinhos brancos monovariais da casta Fernão Pires de 2001 e de 2002 e dois vinhos tintos monovariais da casta Castelão de 2001 e de 2002.

A aplicação das resinas acaba por provocar alterações adicionais nas características dos vinhos, nomeadamente no que diz respeito ao pH e à acidez, sendo notória uma diminuição do primeiro e um aumento da segunda. Devido à transferência de protões da coluna para o vinho o equilíbrio de dissociação do ácido tartárico é obrigado a deslocar-se na direção da formação do ácido diprótico, aumentando a concentração de ácido titulável. Quando um volume de vinho é feito passar através de resinas regeneradas em ciclo ácido verifica-se á saída uma diminuição dos valores de pH devido à cedência de H⁺ por parte coluna^{18,45,49,68}.

Lasanta *et al.*⁴⁵ e Mira *et al.*⁶⁸ apresentam valores de pH para os vinhos 100% permutados nas resinas de troca iônica que o vinho sofre uma grande alteração de pH à saída da coluna, baixando o pH para valores próximos de 2. Lasanta *et al.*⁴⁵ apresentam valores de pH para o vinho não tratado de 3,80 e de 2,10 para o mesmo vinho à saída da

coluna, e ainda um aumento de acidez total de 1,77g/L para um vinho 100% permutado nas resinas de troca iónica, relativamente ao vinho inicial com valor de acidez total de 5,05g/L. Mira *et al.*⁶⁸ apresentam valores de pH de 3,40 e 3,05 para os vinhos tintos e brancos, ambos não tratados, e valores de 1,80 e 1,78, respetivamente, para os mesmos vinhos à saída da coluna.

Andrade¹⁸ apresenta variações de pH, para os diferentes vinhos, na ordem de 0,27, 0,32 e 0,47 para percentagens de vinho permutado de 30, 35 e 35% respetivamente. De realçar que este trabalho foi realizado com resinas da mesma marca e modelo que as resinas utilizadas no laboratório da Idealdrinks. Mira *et al.*⁴⁹ indicam que o pH vai diminuindo à medida que a percentagem de vinho permutado aumenta no vinho final na ordem de 0,1 a 0,15 valores de pH a cada 10% de vinho permutado. Andrade¹⁸ apresenta ainda variações de acidez total de 0,5, 0,5 e 0,6 g/L para ensaios de estabilização com percentagens de vinho permutado de 30, 35 e 35%

A cor do vinho também sofre alteração quando sujeito a tratamento de estabilização tartárica com resinas de troca iónica. Essa variação pode ter origem em diversos fatores abordados nos parágrafos seguintes.

A cor de vinhos jovens deve-se, na sua maioria, à contribuição das antocianinas provenientes do fruto. À medida que decorre o envelhecimento dos vinhos, a contribuição das antocianinas diminui, passando os pigmentos poliméricos a apresentar maior contribuição para a cor dos vinhos⁶⁹. Os compostos fenólicos e polifenólicos, como as antocianinas e flavonoides, apresentam como base de estrutura anéis benzénicos substituídos com um ou mais grupos álcool. Estes compostos apresentam polaridade variável, podendo ser pouco polares (elevado grau de metilação) ou apresentar maior polaridade (menor grau de metilação)^{45,70-73}. Desta forma, a matriz hidrofóbica e apolar das resinas de troca iónica apresenta capacidade de reter ou retardar a passagem dos compostos com menor polaridade, removendo-os ou diminuindo a sua concentração no vinho permutado.

A reação das antocianinas com taninos ou outras moléculas orgânicas leva à formação de compostos moleculares de maiores dimensões que podem apresentar cor⁷⁴⁻⁷⁷. A copigmentação resulta da reação das antocianinas com compostos como flavonoides, aminoácidos ou ácidos gordos^{76,77}, que tal como a condensação das antocianinas com os taninos^{74,75}, leva à formação de compostos constituídos por moléculas de maiores dimensões.

O pH também apresenta influência na cor dos vinhos, pois a variação da concentração do catião H^+ provoca alteração na estabilização das antocianinas, verificando-se alteração na cor, que pode ir do vermelho, proveniente da presença de maiores concentrações do catião flavílio, mais estável pH mais ácido, até a uma cor azulada, típica da base quinonoidal, estável em valores de pH mais elevados, verificados no vinho⁷⁸. Na revisão bibliográfica relacionada com o efeito do uso das resinas sobre as características dos vinhos verificou-se que este tipo de tratamento para a estabilização tartárica dos vinhos provoca variações significativas nos parâmetros em estudo, que se relacionam com a cor dos vinhos. Lasanta *et al.*⁴⁵ e Andrade¹⁸ caracterizam os vinhos através da sua intensidade de cor e tonalidade e ambos apresentam como resultado um aumento na intensidade de cor e alteração da tonalidade dos vinhos sujeitos a estabilização tartárica com resinas de troca iónica, relativamente aos vinhos testemunha. Por outro lado Mira *et al.*⁶⁸, caracterizam a cor dos vinhos pelo método CIELab, onde se verifica que a passagem de vinhos brancos pelas resinas de troca iónica promove um aumento no valor dos componentes L^* e a^* e diminuição em b^* , enquanto, nos vinhos tintos, verifica-se um aumento nos componentes L^* e b^* e diminuição em a^* .

A composição volátil dos vinhos é afetada por vários fatores ao longo do processo de produção, desde a formação e desenvolvimento da uva até ao momento em que o vinho sai da garrafa para ser degustado. Ao longo do crescimento e desenvolvimento da uva podem-se salientar fatores como a casta, solo, clima, exposição aos fatores climatéricos e diferentes técnicas vitivinícolas⁷⁹. Os aromas presentes no vinho que resultam desses fatores são definidos como aromas varietais, se tiverem origem na variedade de uva utilizada⁸⁰. Os compostos voláteis varietais resultam, geralmente, da hidrólise ácida ou enzimática dos precursores de aroma⁸¹. Algumas castas, como Arinto e Alvarinho, que se definem como castas “aromáticas”, são ricas em compostos que conferem um aroma característico aos mostos e depois aos vinhos⁸². Os precursores aromáticos são, geralmente, substâncias não voláteis como glicosídeos, ácidos fenólicos, ácidos gordos e conjugados de cisteína que apresentam capacidade de originar compostos aromáticos a partir da sua hidólise^{82,83}. Geralmente os precursores de aroma não apresentam características de aroma, mas dão origem a compostos como terpenoides, norisoprenóides em C_{13} e álcoois aromáticos, compostos estes com aromas característicos⁸².

Ao longo das fermentações alcoólica e malolática dá-se a formação da maior parte dos compostos voláteis, devido ao metabolismo dos microrganismos responsáveis pelas fermentações referidas, sendo estes aromas denominados de aromas fermentativos^{80,84}. A formação destes aromas está relacionada com as tecnologias utilizadas na vinificação, tais como as características do depósito onde ocorre a fermentação, tipo, quantidade de leveduras, nutrientes adicionados e temperatura de fermentação^{80,84}. Para os vinhos jovens, o aroma fermentativo é aquele que apresenta maior influência na composição volátil, destacando-se os produtos secundários da fermentação alcoólica, como ésteres, álcoois, compostos de enxofre, ácidos voláteis e fenóis voláteis^{4,13}.

Após a fermentação, os vinhos são armazenados em barricas ou em garrafa onde vão envelhecendo, continuando, nesta fase, a dar-se a estruturação da composição aromática do vinho. Durante o armazenamento o vinho pode garantir outras características aromáticas, denominadas de aromas pós fermentativos⁸⁰, que resultam do rearranjo molecular de alguns compostos, em ambiente redutor⁸⁴.

Práticas enológicas como o uso de resinas de troca iônica, que têm na base um polímero com características hidrofóbicas levam a que compostos hidrofóbicos, como os compostos voláteis fiquem retidos^{4,45,49}.

Ao longo da revisão bibliográfica foram encontrados artigos e teses que apresentam estudos efetuados sobre a aplicação das resinas de troca iônica para a estabilização tartárica de vinhos. Nesses estudos são avaliadas diferentes consequências da aplicação deste método de estabilização, sobre a constituição e qualidades organolépticas dos vinhos tratados. Relativamente ao estudo da influência do uso de resinas de troca iônica sobre a composição volátil dos vinhos a informação disponível é ainda escassa, tendo sido apenas encontrado um artigo referente a este tema. Lasanta *et al.*⁴⁵ apresentam o estudo da influência das resinas de troca catiónica sobre os compostos voláteis de um vinho tinto, mostrando que existe uma diminuição da concentração destes compostos, variando essa diminuição de acordo com os diferentes tipos de compostos. Os ésteres, lactonas e terpenos (Figura 6), devido à sua elevada hidrofobicidade, são adsorvidos na superfície da matriz das resinas, também hidrofóbica, verificando-se perdas maiores à medida que a percentagem de vinho permutado aumenta.

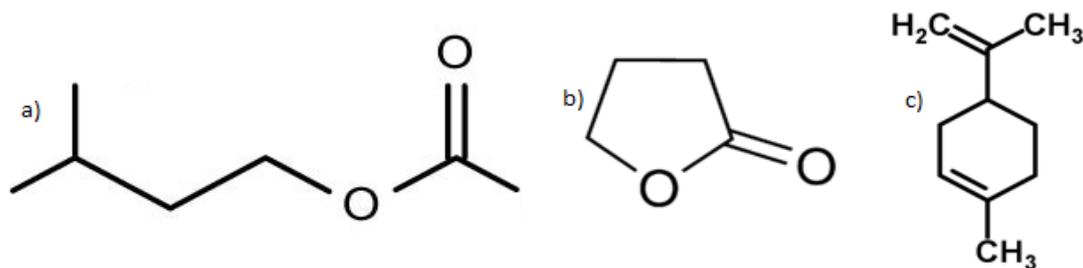


Figura 6- Exemplo de um éster(a), acetato de isoamilo, uma lactona (b), butirolactona, e um terpeno (c), limoneno.

A variação na composição volátil dos vinhos devido ao uso de resinas para a estabilização tartárica provoca também alterações ao nível das características organolépticas, que se vão acentuando com o aumento da percentagem de vinho permutado. Lasanta *et al.*⁴⁵ e Andrade¹⁸ indicam que existem diferenças detetáveis na prova de vinhos com diferentes percentagens de vinhos permutados e dos vinhos testemunha. No entanto, não apresentam uma preferência entre os vinhos testemunha e respectivos vinhos permutados.

3.Objetivos

A estabilização tartárica de vinhos através da aplicação de resinas de troca iónica provoca alterações significativas em determinados parâmetros nos vinhos, podendo promover alterações perceptíveis nas suas características organoléticas. Apesar de existirem alguns trabalhos publicados nesta área, não há registo de trabalhos realizados com vinhos da região demarcada da Bairrada e um vinho da região do Dão. Deste modo ao avaliar as alterações que o uso das resinas de troca iónica provoca em diferentes vinhos provenientes desta região vitivinícola pretende-se colmatar a escassez de informação identificada. Assim, foram realizados ensaios de estabilização em vinhos *rosés* e branco de uvas provenientes da região da Bairrada e em um vinho tinto proveniente da região do Dão.

Os trabalhos publicados relacionados com esta técnica de estabilização apresentam a avaliação de parâmetros como: estabilidade tartárica, acidez total e volátil, pH, teor alcoólico, teor de catiões e cor, sendo, todos estes parâmetros alvo de estudo neste trabalho. No entanto, apenas um artigo apresenta a avaliação da influência da aplicação das resinas de troca catiónica na composição volátil dos vinhos. Tendo em conta a grande influência que o aroma apresenta na avaliação das qualidades de um vinho, o estudo das alterações que as resinas de troca iónica apresentam sobre a composição volátil foi abordado com especial relevância.

Para além do estudo relativo ao uso de resinas de troca iónica na estabilização de vinhos, o estágio curricular realizado apresentou a possibilidade de integração numa empresa, nomeadamente no laboratório de análises químicas, realizando as tarefas de rotina, tais como, quantificação de determinados parâmetros (massa volúmica, teor alcoólico, pH, acidez total e volátil, entre outros) de acordo com os métodos internos definidos, assim como a realização de tarefas referentes aos vários processos de controlo ao longo da produção de vinhos (controlo de maturação das uvas, controlo de fermentação dos mostos e restantes fases de controlo ao longo de todo o processo de produção).

4. Materiais e Métodos

4.1. Amostras

Todas as amostras de vinho utilizadas nas análises correspondem a vinhos produzidos na adega da Idealdrinks entre os anos de 2011 e 2013. Foram sujeitos a ensaios de estabilização um vinho tinto (VT), um vinho *rosé* (VR) e dois vinhos base de espumante (branco e *rosé*, VBBE e VRBE respectivamente). A tabela 5 sumaria quais os vinhos que foram submetidos a estabilização tartárica com resinas de troca iônica, bem como os volumes de vinho tratado e correspondentes volumes de vinho permutado bem como percentagens a que correspondem.

Tabela 5- Vinhos sujeitos a estabilização, volumes de vinho tratado e de vinho permutado assim como outras informações relevantes acerca de cada vinho.

Amostras	Vol. tratado (L)	Vol. permutado/ percentagem permutada	Observações
VTFM _{Test.}	-	0 L /0 %	Ensaio de estabilização realizado no laboratório em vinho tinto de 2013, antes da fermentação malo-lática.
VTFM _{H15%}	50	7,5 L /15 %	
VTFM _{H25%}	50	12,5 L /25 %	
VBBE _{Test.}	-	0 L /0 %	Ensaio de estabilização realizado na adega em vinho branco base de espumante de 2012.
VBBE _{H15%}	50	7,5 L /15 %	
VBBE _{H25%}	50	12,5 L /25 %	
VR _{Test.}	-	0 L /0 %	Ensaio de estabilização realizado na adega em vinho rosé de 2011.
VR1/3 _{H30%}	20	6 L / 30%	
VR2/3 _{H30%}	20	6 L / 30%	
VR3/3 _{H30%}	20	6 L / 30%	
VRBE _{Test.}	-	0 L /0 %	Ensaio de estabilização feito no laboratório em vinho rosé base espumante de 2012. Soluções de regeneração de H ₂ SO ₄ e NaCl.
VRBE _{H15%}	5	0,75 L /15 %	
VRBE _{H25%}	5	1,25 L /25 %	
VRBE _{Na15%}	5	0,75 L /15 %	
VRBE _{Na25%}	5	1,25 L /25 %	

Utilizou-se um vinho *rosé* base de espumante de 2012 para o estudo da eficiência das resinas na troca de iões por forma a poder perceber qual a sua capacidade de troca e quais as diferenças que diferentes iões de troca podem provocar nos vinhos. Sendo, neste, ensaio definidos dois níveis de troca, 15 e 25%, para cada ião de troca.

Para além do ensaio feito para o estudo do efeito do catião de troca nas resinas, definiu-se um ensaio de estabilização para um vinho tinto de 2013, a ser realizado antes da fermentação malo-láctica (VTFM_{Test.}). Um dos objectivos deste ensaio foi verificar se a utilização das resinas de troca catiónica provoca alguma alteração na atividade das bactérias lácticas. Assim foram definidos dois níveis de estabilização, 15 e 25% de volume de vinho permutado, resultando em dois ensaios denominados de VTFM_{H15%} e VTFM_{H25%}.

Foi escolhido um vinho branco base espumante (VBBE_{Test.}) de 2012 para realização de ensaios de estabilização, com dois níveis, 15 e 25% de volume de vinho permutado (VBBE_{H15%} e VBBE_{H25%}). Após a realização destes ensaios procedeu-se à espumantização dos vinhos, tendo esse processo sido feito de acordo com o método champanhês ou tradicional.

Tendo em conta as características hidrofóbicas das resinas de troca catiónica, usadas na estabilização tartárica de vinhos, e a possibilidade das resinas reterem compostos voláteis importantes para as características organoléticas dos vinhos, foi definido um ensaio de estabilização com a intenção de perceber qual a capacidade de retenção de compostos voláteis que as resinas apresentam e como varia essa capacidade com o aumento do volume passado pela coluna. Para este ensaio o desenho experimental concebido consiste em fazer passar um total de 18 L de vinho *rosé* pela coluna de resinas de troca catiónica, sendo esse volume dividido para três depósitos distintos, onde os primeiros 6 L vão para um primeiro depósito, sendo, a esse volume acrescentados 14 L do vinho inicial, num total de 20 L. O mesmo foi feito com os segundos 6 L a sair da coluna e com os últimos 6 L de vinho permutado. Desta forma, para além do vinho testemunha (VR_{Test.}) de 2011 obtiveram-se mais três vinhos distintos, VR1/3_{H30%}, VR2/3_{H30%} e VR3/3_{H30%}.

Todos os vinhos sujeitos a ensaios de estabilização e respetivos vinhos resultantes foram alvo de caracterização, tendo sido em todos os casos, determinado o grau de estabilidade tartárica, acidez total e volátil, pH, teor alcoólico e determinação do índice de cor. Para além destas análises ainda foi feita a análise da constituição volátil para todos os vinhos, exceto o vinho *rosé* base de espumante de 2012 (VRBE) e respetivos vinhos sujeitos a estabilização.

Para a amostragem foram utilizados frascos de vidro brancos, previamente lavados com detergente alcalino, seguidamente passados por água destilada e deixados a secar. Na altura da amostragem promove-se, sempre que possível, a homogeneização do vinho e passagem de uma pequena porção do vinho pelo frasco, a qual é rejeitada (3x), procedendo-se em seguida ao enchimento do frasco até à sua capacidade máxima. Na adega, os vinhos encontram-se a temperaturas iguais ou inferiores a 15°C em depósitos com capacidades entre os 5000 e os 50000 litros, sendo as amostras recolhidas através da torneira de prova. Como os ensaios de estabilização são realizados em escala de bancada (entre 0,75 e 12,5L de vinho permutado nas resinas), são utilizados depósitos de reserva de 50 litros ou bolsas de *bag-in-box* de 5 litros de capacidade. As análises são, sempre que possível, realizadas até um dia após a sua recolha. Apenas as amostras analisadas na Universidade de Aveiro foram analisadas de dois a quinze dias depois da recolha. Nesse caso, os frascos que continham as amostras foram guardados a baixas temperaturas e ao abrigo da luz, por forma a diminuir ao máximo a velocidade das reações que possam ocorrer no vinho ao longo desse período.

4.2. Aplicação das resinas

Para a realização dos ensaios de estabilização usaram-se resinas de permuta catiónica, da marca Pentacque, linha pentafood e modelo vinostab 1.5 (ficha técnica no anexo 2), com matriz hidrofóbica de poliestireno e divinilbenzeno, funcionalizadas com grupos sulfónicos, grupos funcionais fortemente ácidos.

4.2.1. Capacidade de troca das resinas

No estudo da capacidade de troca das resinas, a análise dos dados bibliográficos permitiu verificar que, em média, as diferentes marcas de resinas de troca catiónica disponíveis no mercado apresentam pontos de saturação distintos, que ocorrem, em geral, para volumes de vinho percolado variando entre cerca de vinte e quarenta vezes o volume de leito das resinas^{18,45}.

Na ficha técnica da resina utilizada é apresentada a capacidade total de troca de 2,4 eq/L, o que significa que cada litro da resina tem a capacidade de reter 2,4 mol de potássio, ou seja, 45,6 g deste composto. Desta forma, com a informação obtida da Tabela 2, apresentada no capítulo 2.2 é possível verificar que o teor de potássio pode ir de 500 mg/L nos vinhos brancos a 1500 mg/L nos vinhos tintos, o que permite a cada litro deste tipo de resinas, tratar volumes de vinho que podem ir até um máximo entre

30,4 L e 91,2 L. O volume máximo de vinho percolado pelas resinas, nestes ensaios, foi de 20 litros. Tendo em conta que o potássio é o catião que se encontra em concentrações mais elevadas, nos vinhos, podemos admitir que a fração de catiões de outras espécies, que podem ser captados, é muito inferior à quantidade de catiões de potássio trocados. Assim, pelos cálculos anteriores, podemos considerar que todos os ensaios foram executados dentro dos limites de capacidade de troca das resinas.

4.2.2. Regeneração das resinas

Durante as regenerações, as resinas são sujeitas a uma série de operações que garantem a renovação da capacidade de troca das mesmas. Com base na informação reunida, através da revisão bibliográfica, definiu-se um protocolo envolvendo quatro passos fundamentais^{18,45}.

Numa primeira fase, após a realização da troca a um fluxo de 10 L/h, as resinas sofrem uma lavagem, com injeção em contra-fluxo, de água desionizada, a um fluxo de 12 L/h por litro de resina, durante 20 minutos, para proceder à descolmatação do leito^{18,45}. Seguidamente, procede-se à regeneração das resinas com solução de NaCl (10% m/v), ou H₂SO₄ (5%) a um fluxo aproximadamente igual a 5 L/h por litro de resina ao longo de 30 minutos^{18,45}. Numa terceira fase procede-se à limpeza da resina com recurso a água desionizada a um fluxo de 8 L/h por litro de resina ao longo de 30 minutos, para remoção da solução de regeneração, para que numa quarta fase se proceda à lavagem final das resinas com um fluxo de 12 L/h por litro de resina até que o pH à saída da coluna seja igual ao pH de entrada^{18,45}.

4.2.3. Montagem

As resinas de troca iónica utilizadas nos ensaios de estabilização encontram-se contidas num cartucho cilíndrico que apresenta um volume de leito de 1,5 L com os orifícios de saída e entrada na mesma face. Ligado ao orifício de entrada existe um tubo que faz a comunicação entre o depósito de alimentação e o cartucho. Da mesma forma é feita a ligação entre o orifício de saída do cartucho e o depósito de recolha.

Para ensaios no laboratório, o depósito de alimentação de aço inoxidável encontra-se a 1,40 m de altura, apresenta 1,5 L de capacidade e uma torneira na base que permitiu controlar o fluxo de vinho. Neste caso o fluxo de vinho foi aproximado ao ideal para cada procedimento, regulando a posição da torneira a partir de ensaios de medição do tempo necessário para recolha de um determinado volume de água

destilada. No caso de os ensaios serem realizados na adega, com o tubo de alimentação ligado aos depósitos, não foram realizados ensaios de otimização do fluxo de alimentação. No entanto, foi feita a graduação dos depósitos, utilizando volumes de água e tendo-se marcado o volume de vinho não tratado e o volume de vinho a percolar para obtenção das percentagens de vinho permutado pretendidas. Nesse caso o fluxo foi controlado através da contabilização do tempo necessário para percolar volume de vinho estabelecido para cada percentagem, por forma a garantir que esse vinho seja percolado com fluxos próximos dos estabelecidos.

4.3. Análises

Após os ensaios de estabilização, os diferentes vinhos foram caracterizados relativamente aos diferentes parâmetros descritos no capítulo 2.5. Os métodos de análise encontram-se descritos nos subcapítulos seguintes.

4.3.1. Acidez Total

Para determinação da acidez total, as amostras foram previamente degaseificadas com recurso a um agitador magnético ao longo de 10 minutos a 700 rpm. Após a degaseificação, pipetou-se 10 mL da amostra a titular para um matraz de 200 mL. À amostra adicionou-se 2 mL do indicador azul de bromotimol e titulou-se com solução alcalina de NaOH 0,1 mol/L até à viragem de coloração do indicador de laranja para verde (ponto de viragem a pH 7). Com a aproximação do ponto de viragem do indicador, o ponto de equivalência foi também monitorizado com recurso ao potenciómetro fazendo medições de pH ao titulado. A solução de NaOH foi obtida a partir de NaOH sólido da marca EKA (Suécia, Gotemburgo) e aferida com solução padrão 0,05 mol/L de ácido oxálico da marca Scharlau (Espanha, Barcelona).

A acidez total é representada em g/L de ácido tartárico e calculada a partir de:

$$Acidez\ Total = \frac{1}{2} \times \frac{c_{NaOH} \times v_{NaOH}}{v_{amostra}} \times M_{H_2T} \quad (4 - I)$$

onde c_{NaOH} e v_{NaOH} correspondem à concentração e volume de solução de NaOH utilizada como titulante, $v_{amostra}$ é o volume de amostra utilizado na titulação, correspondendo a 10mL de vinho e ainda M_{H_2T} diz respeito à massa molar de ácido tartárico que corresponde a 150,09 g/mol. Da simplificação desta equação com os

valores apresentados é obtida a equação apresentada na NP-2139 para o cálculo da acidez total.

O ácido tartárico é um ácido diprótico que apresenta constantes de acidez de $9,10 \times 10^{-4}$ e de $4,30 \times 10^{-5}$ para a primeira e segunda dissociações, respetivamente. Dado que apenas para diferenças entre constantes de acidez iguais ou superiores a 10^3 é que se podem distinguir dois pontos de equivalência na curva de titulação, o ácido tartárico é sempre titulado como ácido diprótico e no ponto de equivalência o pH é, aproximadamente, 7 para as concentrações típicas de ácido tartárico nos vinhos.

4.3.2. Acidez Volátil

Introduziu-se no gerador de vapor cerca de 300 mL de água destilada. Mediou-se 10 mL de amostra, com uma pipeta volumétrica, para o chapinador. Adicionou-se 0,5 g de ácido tartárico. Deixou-se a água ferver durante 2 minutos, colocando-se de seguida o taco de vidro e deixa-se que o vapor de água, passando através do tubo abductor, borbulhe no vinho e arraste do destilado todos os ácidos voláteis, até serem obtidos 100 mL de destilado. Titulou-se o destilado com uma solução de hidróxido de sódio 0,1 mol/L (mesma solução usada em 4.3.1.), utilizando 3 gotas de fenolftaleína como indicador, até ao aparecimento de uma leve, mas persistente coloração rósea. De seguida adicionou-se 2 mL de amido, 5 mL de H_2SO_4 (25% v/v) e titulou-se com solução de iodo 0,05 mol/L da marca Fluka (Suíça, Steinheim), aferida com solução de tiosulfato 0,1 mol/L da marca VWR (E.U.A., Pensilvânia).

A acidez volátil é representada em g/L de ácido acético e calculada a partir de:

$$Acidez\ Volátil = \frac{[(v_{NaOH} \times c_{NaOH}) - (v_{I_2} \times c_{I_2})]}{v_{amostra}} \times M_{ac.acético} \quad (4 - II)$$

onde c_{NaOH} e v_{NaOH} correspondem à concentração e volume de solução de NaOH utilizada como titulante do ácido presente no destilado, v_{I_2} e c_{I_2} correspondem à concentração e volume de solução de I_2 utilizada para titular a fração ácida proveniente da adição de anidrido sulfuroso ao vinho, $v_{amostra}$ é o volume de amostra utilizado na titulação, correspondendo a 10 mL de vinho e ainda $M_{ac.acético}$ diz respeito à massa molar de ácidoacético que corresponde a 60,05 g/mol. Substituindo os valores de $v_{amostra}$ e $M_{ac.acético}$ em 4-II, obtém-se a equação apresentada na NP-2140 para o cálculo da acidez volátil.

4.3.3. Teor Alcoólico

Mediram-se 250 mL de amostra de vinho num balão volumétrico e registou-se a temperatura. Transferiu-se o vinho para o balão da montagem de destilação, lavando o balão volumétrico quatro vezes com 5 mL de água, colocando essas porções no balão de destilação. Adicionou-se 10 mL de solução de hidróxido de potássio 1 M até à alcalinização, observada através de uma ligeira variação da cor da amostra. Juntaram-se alguns fragmentos de pedra-pomes. Aqueceu-se a amostra até ebulição, numa manta de aquecimento, e recolheu-se à volta de 220 mL de destilado mesmo balão que serviu para medir a amostra e onde previamente se introduziram 10 mL de água destilada. Agitou-se e perpez-se o volume com água destilada à temperatura a que inicialmente se mediu a amostra ($\pm 2^\circ\text{C}$). Após o acerto do volume, colocou-se o destilado em proveta cilíndrica e introduziu-se o termómetro. Homogeneizou-se o destilado com o termómetro e efetuou-se a leitura da temperatura após 1 minuto. Retirou-se o termómetro e introduziu-se o alcoómetro, fazendo a leitura do teor alcoólico aparente após 1 minuto de repouso.

4.3.4. pH

O pH foi medido com recurso a um potenciómetro da marca Crison, modelo basic 20 e um eléctrodo combinado de pH da marca Crison modelo 52-21. A calibração do equipamento foi realizada diariamente com soluções tampão de pH 4,01 e 7,00. A temperatura do laboratório é mantida a 20°C , com recurso a ar condicionado, de forma a que as calibrações e análises sejam realizadas a uma temperatura próxima da anteriormente referida.

4.3.5. FTIR

O sistema Bacchus II apresentado na figura 7, semelhante ao utilizado no laboratório da Idealdrinks, é um analisador baseado na espectroscopia de FTIR, permitindo a quantificação, numa única análise, dos parâmetros essenciais do vinho, tais como, álcool, densidade, extracto seco, açúcares, acidez volátil e total, pH e ácidos orgânicos. Este sistema assenta em calibrações analíticas, com amostras de vinhos em que os valores dos parâmetros referidos são conhecidos (determinados pelos métodos oficiais da O.I.V.).

Para evitar interferências nos resultados dos parâmetros a determinar, as amostras analisadas em F.T.I.R. podem necessitar de tratamento prévio antes de serem

colocadas nos tubos de análise. Assim, caso necessário, devem ser desgaseificadas para remover ao máximo o CO₂ que atua como contaminante, sendo esta desgaseificação feita de forma semelhante à descrita em 4.3.1. Além disso, a amostra necessita de ser filtrada para evitar que algumas partículas de maior dimensão possam



Figura 7- Equipamento de análise de vinhos por espectroscopia de F.T.I.R. (adaptado de <http://www.t-d-i.es/2014/productos/>)¹⁶

obstruir o circuito por onde esta passa. Para a análise colocou-se a amostra, previamente tratada, em tubos de plástico, fornecidos pelo fabricante, e estes no dispensador automático, conectado ao equipamento. No computador, recorrendo ao programa Bacchus Acquisition, selecionou-se o ícone das análises, selecionando-se o tipo de amostra a ser analisada. Introduziu-se o número de amostras no campo correspondente e respetiva identificação das amostras antes de se dar início à análise.

4.3.6. Estabilidade Tartárica

A determinação da estabilidade tartárica foi realizada com recurso ao equipamento *a* 2008 Life da marca Check Stab, comandado através de um *software*, Check Stab NET, que permite aceder aos resultados das análises, controlar a calibração e tempo de vida da sonda e as condições para cada análise a realizar.

Para cada análise colocou-se 100 mL da amostra e entre 2 a 4 g (2 g para vinhos brancos e 4 g para vinhos *rosés* e tintos) de núcleos de KHT no dispensador do equipamento. No *software* definiram-se os parâmetros relativos à análise a realizar, definindo qual o tipo de vinho a ser analisado, identificação da amostra e do tipo de teste a realizar. Com este equipamento fez-se a medição da condutividade da amostra, inicial, imediatamente após a adição dos cristais de bitartrato e ao longo das quatro horas correspondentes ao teste longo, selecionado para todos os ensaios.

4.3.7. Catiões

A determinação da concentração dos catiões nas amostras foi realizada recorrendo a um espectrofotómetro de absorção atómica de chama (ar – acetileno) modelo AAnalyst 100 da marca Perkin Elmer (Shelton, EUA) com lâmpada de cátodo

oco, específica para o elemento em análise. Os padrões utilizados para as curvas de calibração de cada elemento, foram obtidos a partir de diluição de soluções padrão de qualidade analítica: solução padrão de potássio 1,000 g/L da marca BDH (Inglaterra, Poole), solução padrão de cálcio 1,000 g/L da marca Fluka (Suíça, Steinheim) e solução padrão de sódio 1,000 g/L da marca VWR (E.U.A., Pensilvânia). Como tampão de ionização utilizou-se uma solução de cloreto de cézio (5%), obtida a partir de solução padrão de cloreto de cézio 1,000 g/L de qualidade analítica marca BDH (Inglaterra, Poole). Aos padrões de cálcio adicionou-se solução de cloreto de lantânio (10%), obtida a partir de solução padrão de cloreto de lantânio 1,000 g/L de qualidade analítica marca Fischer Scientific (Leicester, England).

Os padrões para as curvas de calibração foram preparados a partir de soluções diluídas de cada uma das soluções-padrão dos elementos a analisar. As curvas de calibração foram obtidas a partir de cinco padrões para cada elemento. Aos padrões de sódio e de potássio foi adicionada solução cloreto de cézio de forma a obter uma concentração final de 0,5%. Aos padrões de cálcio adicionou-se solução de cloreto de lantânio 10% de forma a obter uma concentração final de 1%. Assim foram preparados quinze padrões com concentrações definidas na Tabela 6.

Tabela 6- Padrões utilizados para obter curva de calibração e respetivas concentrações.

	Potássio (mg/L)	Sódio (mg/L)	Cálcio (mg/L)
Branco	0 (B1)	0 (B1)	0 (B2)
Padrão 1	0,4	0,2	1
Padrão 2	0,8	0,4	2
Padrão 3	1,2	0,6	3
Padrão 4	1,6	0,8	4
Padrão 5	2,0	1,0	5

Para a análise, os vinhos sofreram diluições adequadas à gama de linearidade de cada elemento, procedendo-se à análise com a lâmpada de cátodo oco respetiva a cada elemento, sendo o zero da escala de absorção obtido a partir do branco.

4.3.7. Determinação da cor

A medição da cor foi realizada recorrendo ao sistema CIELab, onde os espectros de absorção foram registados usando um espectrofotómetro PerkinElmer Instruments Lambda 35 (EUA) e células de vidro com um percurso ótico de 10 mm para vinhos

brancos e *rosé* e de 1 mm para vinhos tintos. Usando o Software PerkinElmer UV WinLab, foram determinados os parâmetros CIELab de acordo com os regulamentos da Comissão Internacional de Iluminação: as componentes cor vermelho/verde (a^*), cor amarelo/azul (b^*) e luminosidade (L^*).

4.3.8. Composição Volátil

A extração dos compostos voláteis foi feita por microextração em fase sólida (SPME) com uma fibra de sílica com um revestimento constituído por carboxeno-divinilbenzeno-polidimetilsiloxano (DVB / CAR / PDMS) de 50/30 μm , em suporte manual de SPME da Supelco (Aldrich, Bellefonte, PA, EUA). Num frasco de vidro de 120 mL foram colocados 40 mL de amostra, 8 g de NaCl e uma barra magnética. O frasco foi então selado e procedeu-se à extracção em modo de espaço de cabeça com a amostra em banho termoestabilizado a $40,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$ ao longo de 20 minutos.

Para análise, foi introduzida a fibra de SPME na porta de injeção do GC \times GC-TOF-MS, que se encontrava a 250°C . Esta foi mantida ao longo de 3 min para dessorção dos compostos. A injeção foi feita em modo splitless (30s) utilizando um *liner* de vidro com diâmetro interno de 0,75 mm. O sistema GC \times GC-TOF-MS consiste num cromatógrafo de fase gasosa compreensiva bidimensional Agilent GC 7890A (Agilent Technologies, Burwood, Australia) acoplado a um espectrómetro de massa Pegasus 4D (LECO, St. Joseph, MI, USA) com analisador de tempo de voo (TOF). Na primeira dimensão foi usada uma coluna Equity-5 (30m \times 0,32 μm), com 0,25 μm de espessura (J&W Scientific Inc., Folsom, USA) e na segunda dimensão uma coluna DB-FFAP (1m \times 0,25 μm), com 0,25 μm de espessura (J&W Scientific Inc., Folsom, USA). O hélio foi usado como gás de arraste, com um fluxo constante de 2,50 mL/min. A temperatura do forno principal foi programada de 40°C (1 min) a 230°C (2 min) com uma taxa de aquecimento de $10^\circ\text{C}/\text{min}$. A temperatura do forno secundário foi programada de 70°C (1 min) a 250°C (3 min) com uma taxa de $10^\circ\text{C}/\text{min}$. A temperatura da linha de transferência e da fonte de MS foi de 250°C . O tempo de modulação é de 6s e a temperatura no modulador foi mantida a uma temperatura superior, em 20°C , à temperatura do forno primário. O espectrómetro de massa ToF-MS foi programado a uma taxa de armazenamento de 125 espectros/s, operou a 70 eV numa gama de 35-350 m/z e com uma voltagem do detetor de 1460 V.

5.Resultados e Discussão

5.1. Eficiência das resinas na troca de iões e estabilização de vinhos

Para os ensaios de estabilização usaram-se resinas regeneradas em meio ácido (H_2SO_4 (5% v/v)), sendo este método o único permitido pelo regulamento (CE) n° 606/2009 da comissão europeia. No entanto, a realização de ensaios de estabilização com outras soluções de regeneração é possível e permitida em determinados países (Estados Unidos e Austrália)⁶⁸. Assim, também foram realizados ensaios com resinas regeneradas com solução salina (NaCl (10% m/v)). Deste modo é possível avaliar e comparar as alterações que cada tipo de regeneração provoca nos vinhos. Nestes ensaios foi utilizado um vinho rosé base de espumante e definidos dois níveis de estabilização (15 e 25% de volume de vinho permutado), para os dois tipos de regeneração utilizados. Para além do vinho testemunha ($\text{VRBE}_{\text{Test.}}$) foram analisados os ensaios de estabilização com regeneração ácida ($\text{VRBE}_{\text{H15\%}}$ e $\text{VRBE}_{\text{H25\%}}$) e ensaios de estabilização com regeneração em solução salina ($\text{VRBE}_{\text{Na15\%}}$ e $\text{VRBE}_{\text{Na25\%}}$).

5.1.1.Alteração nas concentrações de potássio, cálcio e sódio

Os catiões de potássio, cálcio e sódio foram alvo de quantificação nos diferentes vinhos, sendo, ainda, realizada a análise dos valores obtidos de modo a retirar conclusões acerca da eficiência da troca das resinas e de quais as consequências que os tipos de regeneração usados provocam na constituição mineral dos vinhos.

As Figuras 8, 9 e 10 apresentam a regressão linear obtida a partir dos padrões usados na determinação de potássio, cálcio e sódio, respetivamente, assim como os intervalos de confiança para cada nível de concentração. Os valores de absorvância obtidos para cada padrão resultam de médias aritméticas de nove réplicas. Quanto às curvas correspondentes aos intervalos de confiança (IC) representadas pelas linhas verdes e vermelhas, estas foram obtidas somando (verde) ou subtraindo (vermelho) o intervalo de confiança calculado nos diferentes pontos da curva de calibração aos valores de y obtidos nesses mesmos pontos. O cálculo dos IC é realizado a partir de:

$$IC = t_{(\alpha, n-2)} s_y \sqrt{\left[\frac{1}{n} + \frac{(X - \bar{x})^2}{s_{xx}} \right]} \quad (5 - I)$$

onde t é o valor tabelado para o nível de confiança 95% ($\alpha= 0,05$), n é o número de padrões utilizados para obtenção da reta, s_y é o desvio padrão do modelo linear, X é a concentração real de cada padrão, \bar{x} é a concentração média dos padrões e s_{xx} é soma dos quadrados dos desvios das concentrações relativamente ao valor médio.

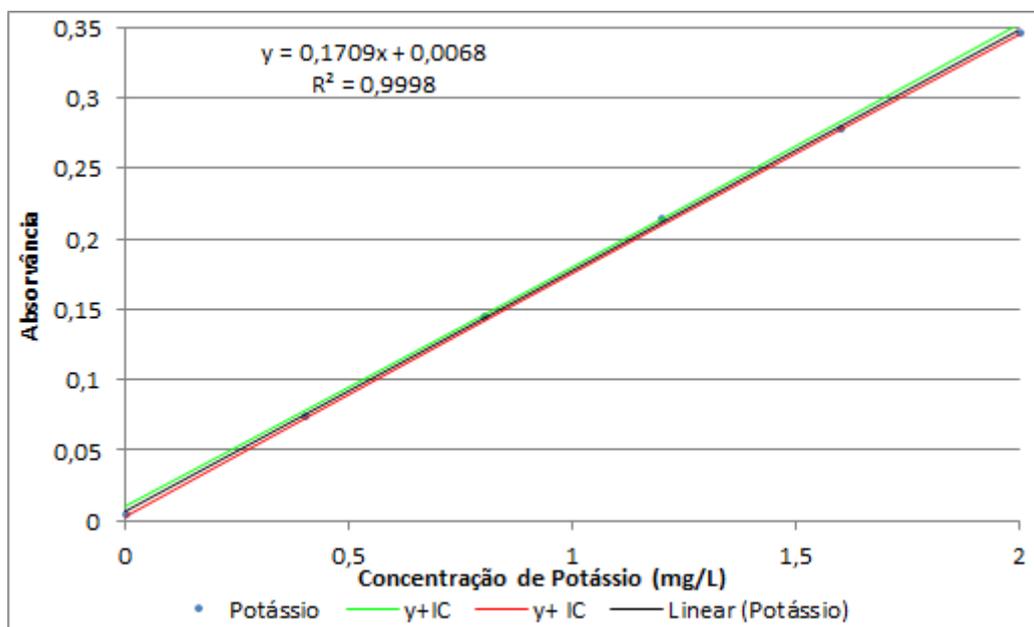


Figura 8- Curva de calibração e respetivas curvas de limites de confiança superiores e inferiores para a determinação de potássio mediante espectroscopia de absorção atômica.

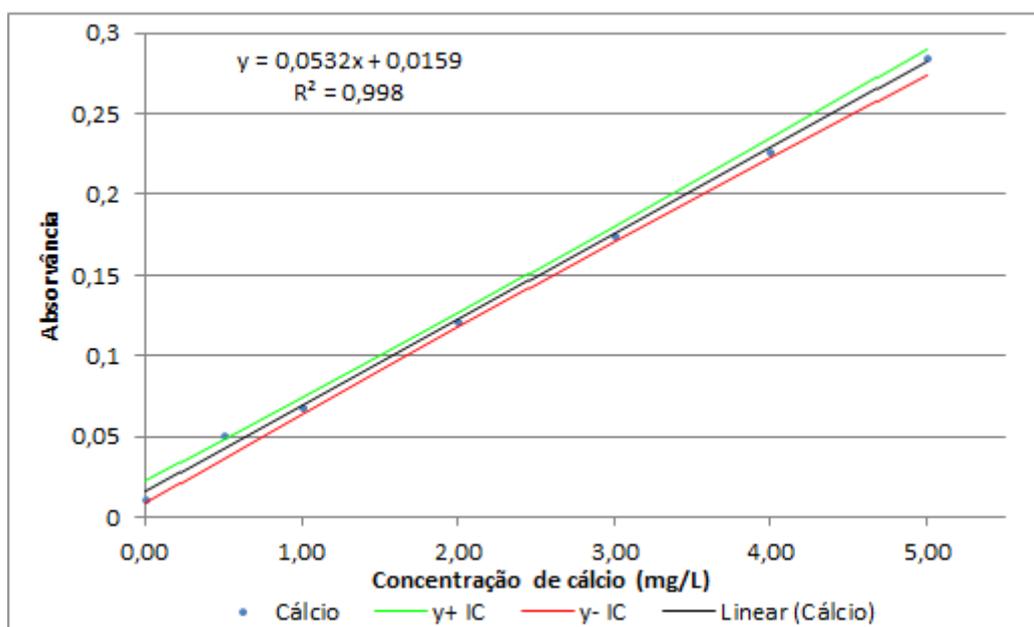


Figura 9- Curva de calibração e respetivas curvas de limites de confiança superiores e inferiores para a determinação de cálcio mediante espectroscopia de absorção atômica.

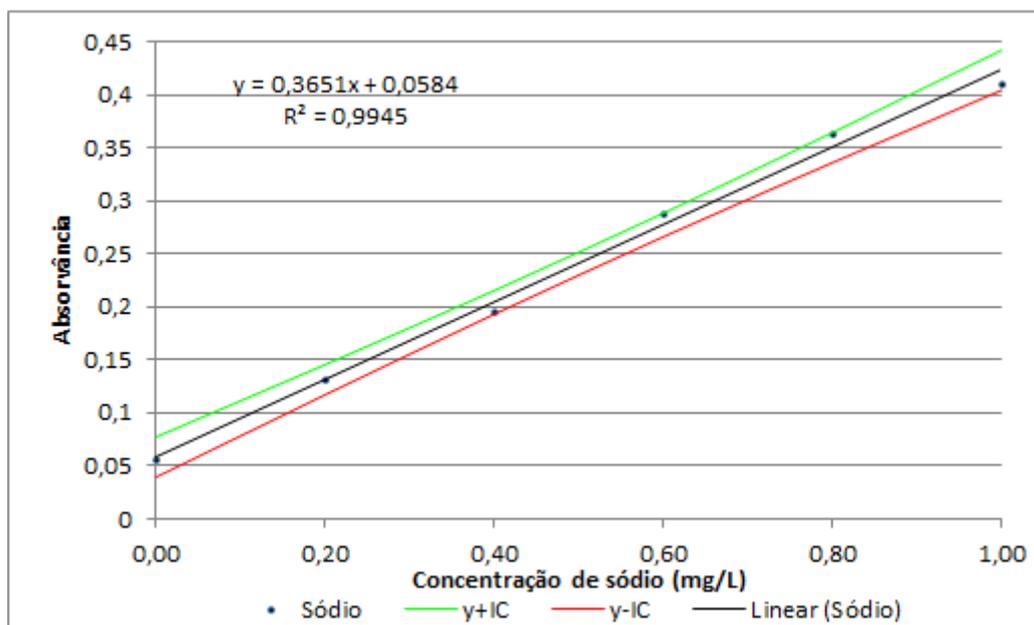


Figura 10- Curva de calibração e respetivas curvas de limites de confiança superiores e inferiores para a determinação de sódio mediante espectroscopia de absorção atómica.

As concentrações dos diferentes catiões, foram retiradas com recurso às curvas de calibração, a partir do valor médio de absorvância (seis réplicas). Quanto ao tratamento da amostra, para a determinação de cálcio as amostras foram diluídas 50 vezes e para a determinação de potássio as amostras sofreram uma diluição de 500 vezes. Para a determinação de sódio, o vinho testemunha e os vinhos resultantes dos ensaios de estabilização com resinas regeneradas em ciclo ácido sofreram diluição de 50 vezes e os restantes dois vinhos sofreram diluição de 200 vezes. Na Tabela 7 estão apresentadas as concentrações dos catiões de potássio, cálcio e sódio, em mg/L, para os diferentes vinhos em estudo. Os intervalos de confiança foram obtidos a partir de:

$$I.C. = x \pm \frac{t_{\alpha, n-2} s_y}{b} \sqrt{\left[\frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \frac{\left(\frac{Y - \bar{y}}{b}\right)^2}{s_{xx}} \right]} \quad (5 - II)$$

onde x é o valor de concentração obtido da curva de calibração, t é obtido na tabela de t Student (nível de confiança 95%), s_y a soma dos quadrados residual, b o declive da curva de calibração, m o número de réplicas, n o número de pontos da curva de calibração, Y o valor do sinal analítico \bar{y} o valor médio do sinal da curva de calibração e s_{xx} é a soma dos quadrados dos desvios das concentrações relativamente ao valor médio.

Tabela 7- Valores de concentração e variação de concentração para potássio, cálcio e sódio determinados nos vinhos em estudo com recurso a espectroscopia de absorção atômica.

Amostra	Concentração (mg/L)			Δ concentração* (mg/L)			Δ concentração* (%)	
	Sódio	Potássio	Cálcio	Sódio	Potássio	Cálcio	Potássio	Cálcio
VRBE _{Test.}	13,4±0,7	758,5±22	53,7±9,1	-	-	-	-	-
VRBE _{H15%}	11,7±0,7	626,8±22	43,4±9,1	-1,64	-131,69	-8,45	-17,36	-16,31
VRBE _{H25%}	10,4±0,7	550,7±22	38,6±9,1	-2,87	-207,78	-13,15	-27,39	-25,39
VRBE _{Na15%}	91,2±5,1	638,5±22	51,8±9,1	77,88	-119,98	-1,88	-15,82	-3,63
VRBE _{Na25%}	173,9±5,1	559,5±22	48,9±9,1	160,58	-199,00	-2,82	-26,24	-5,44

*- A variação de concentração em mg/L e em percentagem é calculada a partir da diferença entre as concentrações dos metais, obtidas no vinho testemunha, e os quatro ensaios de estabilização.

Para validação dos resultados, foram realizados testes de recuperação nos diferentes cátions em diferentes vinhos. Assim, foram feitas duas adições de padrão para cada cátion, em amostras de vinho diferentes, após diluição adequada, tendo sido feito, no total seis adições. Para o sódio e para o potássio foram feitas adições de solução padrão, traduzidas num aumento de concentração na ordem de 0,5 mg/L enquanto para o cálcio o aumento de concentração foi na ordem de 2,0 mg/L. Obtiveram-se boas percentagens de recuperação, superiores a 97%, conforme se pode ver na Tabela 8.

Tabela 8- Percentagens de recuperação relativas aos testes de recuperação, com spikes, realizados nas amostras.

Amostra	% Recuperação		
	Sódio	Potássio	Cálcio
VRBE _{Test.}	103,46	-	-
VRBE _{H15%}	97,22	-	-
VRBE _{H25%}	-	98,91	-
VRBE _{Na15%}	-	-	104,98
VRBE _{Na25%}	-	101,25	104,48

Ao analisar a Tabela 7 é possível verificar que a resina de troca catiónica apresenta capacidade de troca de potássio semelhante, na forma H⁺ e Na⁺. Por outro lado, a capacidade de troca do cálcio é afetada, apresentando menor capacidade de troca as resinas regeneradas com solução salina. Relativamente ao sódio, como seria de esperar, as resinas regeneradas com solução salina de cloreto de sódio, ao captarem os iões do vinho, vão libertar sódio para o meio, aumentando até 12 vezes o seu teor inicial. Dos dados obtidos na Tabela 10 também é possível afirmar que as resinas conseguem captar a totalidade ou quase a totalidade do potássio presente no vinho permutado, dado que a percentagem de variação da concentração deste, no vinho final, é semelhante à percentagem de volume permutado para obtenção desse mesmo vinho.

As diferentes soluções de regeneração das resinas de troca iónica apresentam capacidades semelhantes de captar o potássio, no entanto, o aumento do teor de sódio no vinho, provocado pelo uso de resinas regeneradas em solução salina, pode levar à aquisição de características organoléticas indesejáveis por parte dos vinhos.

5.1.2. Eficiência da estabilização

A eficiência da aplicação das resinas de troca catiónica relativamente à prevenção da precipitação tartárica nos vinhos foi medida recorrendo ao teste de mini-contacto, seguindo o procedimento descrito na parte experimental. Na Tabela 9 encontram-se apresentados todos os vinhos sujeitos a estabilização tartárica e a data de estabilização, bem como os valores de variação de condutividade (Δ cond. (%)) para os diversos vinhos analisados e a data de realização dos testes de estabilidade. De realçar que apenas os vinhos que apresentam valores de variação de condutividade inferior a 5% se podem considerar como estáveis relativamente a precipitação de tartaratos.

Tabela 9- Variação de condutividade, medidos para os diferentes vinhos e ensaios de estabilização em estudo.

Amostra	Data estabilização	Data análise	Δ cond. (%)	Data análise	Δ cond. (%)
VTFM _{H15%}	04/11/2013	28/11/2013	14,7% (instável)	17/03/2014	6,8% (instável)
VTFM _{H25%}	04/11/2013	28/11/2013	10,3% (instável)	17/03/2014	6,3% (instável)
		Data análise		Δ cond. (%)	
VBBE _{Test.}		17/12/2013		19,2% (instável)	
VBBE _{H15%}	16/12/2013	17/12/2013		12,4% (instável)	
VBBE _{H25%}	16/12/2013	18/12/2013		7,9% (instável)	
VR _{Test.}		19/03/2014		14,6% (instável)	
VR1/3 _{30%}	18/03/2014	19/03/2014		2,2% (estável)	
VR2/3 _{30%}	18/03/2014	20/03/2014		2,0% (estável)	
VR3/3 _{30%}	18/03/2014	20/03/2014		2,5% (estável)	
VRBE _{Test.}		04/12/2013		23,6% (instável)	
VRBE _{H15%}	28/11/2013	04/12/2013		17,0% (instável)	
VRBE _{H25%}	28/11/2013	05/12/2013		12,6% (instável)	
VRBE _{Na15%}	28/11/2013	05/12/2013		19,0% (instável)	
VRBE _{Na25%}	28/11/2013	06/12/2013		17,3% (instável)	

Analisando a Tabela 9 é possível verificar que apenas os ensaios de estabilização do vinho rosé de 2011 com 30% de volume de vinho permutado se encontram estáveis. Da informação acima apresentada é possível indicar que a variação de condutividade diminui com o aumento da percentagem de vinho permutado. Na figura 11 está representado, graficamente, o decréscimo da instabilidade, ou seja, da variação de condutividade com o aumento da percentagem de vinho permutado. Note-se que no caso do vinho Rosé de 2011 não foram testadas diferentes percentagens de vinho permutado, pelo que a reta foi obtida apenas com dois pontos.

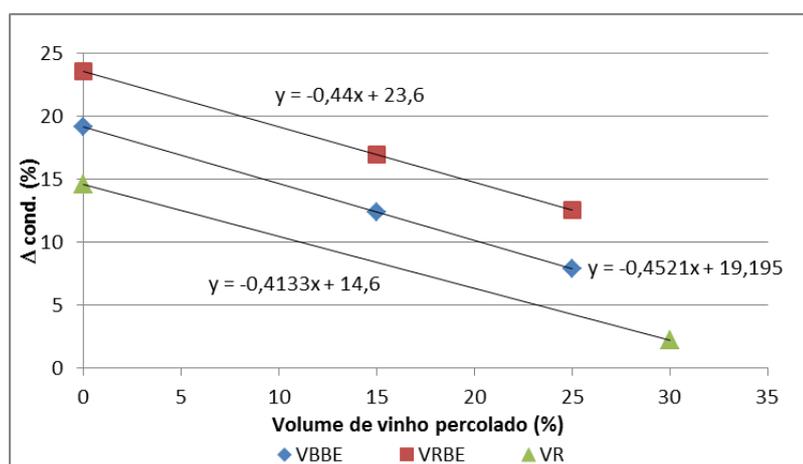


Figura 11- Representações gráficas da variação da condutividade com a percentagem de vinho permutado e das equações da recta de ajuste linear.

Ao analisar a figura 11 é possível verificar que os dados se ajustam bem a uma reta cujo declive é aproximadamente igual para os três vinhos e a ordenada na origem, das retas obtidas, é semelhante ao valor de variação de condutividade obtido nos vinhos não tratados. Das equações das retas, apresentadas na figura 11, ajustadas aos dados através do método dos mínimos quadrados, é possível verificar que o valor do declive é sempre superior a 0,4. Deste modo é possível estimar qual a percentagem de permuta necessária para atingir a estabilidade, ou seja, um valor de variação de condutividade igual ou inferior a 5%. Para o vinho com maior grau de instabilidade avaliado (maior Δ cond. (%)) nestes ensaios, seria necessário permutar um volume de vinho igual ou superior a 47%, uma percentagem superior ao limite de 30% recomendado. Estes resultados mostram que conhecendo-se o grau de instabilidade inicial de um vinho é possível prever se a percentagem máxima de 30% de vinho permutado é suficiente para garantir a estabilidade do vinho.

Os ensaios de estabilização realizados no vinho tinto tinham como principal objectivo verificar se a aplicação das resinas, antes da fermentação malolática, afetava esta mesma fermentação, sendo esses resultados apresentados no capítulo 5.3. Assim não foi feita a determinação do grau de instabilidade do vinho testemunha, pelo que não é possível verificar a eficiência das resinas neste caso. Assim, apenas foram realizados os testes de estabilidade nos vinhos permutados. No entanto, assumindo que, para este vinho, se mantém aproximadamente o declive mínimo de -0,4 para a variação de condutividade com a % de vinho permutado, seria de esperar que a variação da percentagem de vinho permutado de 15 para 25% apresentasse um decréscimo no valor de variação de condutividade de cerca de 4%. Tal é observado nos resultados, verificando-se o decréscimo de 14,7 para 10,3%. É ainda de referir que a instabilidade destes vinhos decresce para valores na ordem de 6% quando a análise é feita quatro meses depois, o que mostra que a combinação de um período de estágio com a aplicação das resinas pode contribuir para a estabilização do vinho.

5.2. Efeito da estabilização com resinas de troca catiônica nas características dos vinhos.

A caracterização dos vinhos no que respeita a pH, acidez total, acidez volátil e teor alcoólico, foi feita por dois métodos distintos. Assim, neste capítulo, para cada um destes parâmetros, começou-se por fazer uma comparação dos resultados obtidos a partir dos dois métodos. Para a análise do efeito do tratamento nos vinhos foram utilizados os resultados obtidos pelos métodos oficiais, uma vez que estes servem como referência, até para a própria calibração do FTIR.

Os resultados obtidos em cada método foram comparados através de um teste t com dados emparelhados. O valor de t é calculado a partir de:

$$t_{\text{calculado}} = \frac{\bar{d} \times \sqrt{n}}{s_d} \quad (5 - III)$$

onde \bar{d} é a média das diferenças entre os resultados obtidos pelos dois métodos para cada amostra, s_d é o desvio padrão dessas diferenças e n é o número de pares de resultados, isto é o número de amostras analisadas pelos dois métodos. Este teste compara o valor de \bar{d} com o valor 0. Assim, se os dois métodos apresentarem resultados não significativamente diferentes, então o valor de $t_{\text{calculado}}$ será inferior ao valor tabelado para um grau de confiança de 95%.

Para cada parâmetro, fez-se a comparação entre os vinhos, testemunha e com diferentes percentagens de vinho permutado, através de uma análise de variância (ANOVA) a uma dimensão. Para o efeito, usou-se o software *IBM SPSS Statistics 20.0*. Antes da comparação das amostras verificou-se a homogeneidade das variâncias dos valores médios do parâmetro em questão para os vinhos a comparar, através do teste de Levene⁸⁵. Verificada a homogeneidade das variâncias para todos os parâmetros, realizou-se a ANOVA a uma dimensão para determinar a presença de diferenças significativas, entre os vinhos, testemunha e com diferentes percentagens de vinho permutado. Para todos os parâmetros onde se verificou a existência de diferenças significativas foi feita comparação dos vinhos dois a dois de modo a identificar a(s) origem(ns) das diferenças. Para essa comparação, foi escolhido o teste de Tukey dado que a comparação é feita para um número reduzido de amostras, com o mesmo número de réplicas e homogeneidade de variâncias⁸⁵. Mesmo assumindo que não existe homogeneidade de variâncias, com a realização do teste Games-Howell, observou-se

que os valores de p, probabilidade da diferença se dever a fatores aleatórios, permitem retirar as mesmas conclusões que os obtidos no teste de Tukey.

5.2.1. Acidez Total

Os valores de acidez total foram obtidos a partir de dois métodos o método oficial e o FTIR. Na tabela 10 apresentam-se as médias e respectivos intervalos de confiança da acidez total de cada vinho, obtidos a partir de três réplicas para cada método e os valores de t crítico e t calculado obtidos do teste t para dados emparelhados, utilizado na comparação dos dois métodos de determinação. Na mesma tabela encontram-se os valores de F crítico e F calculado da ANOVA e valores de p obtidos no teste de Tukey.

Tabela 10- Representação dos valores médios de acidez total e intervalos de confiança, os valores de F crítico e F calculado da análise de variância realizada na comparação dos vinhos e ensaios de estabilização e ainda valores de t calculado e t crítico obtidos do teste de t emparelhado para comparação de métodos.

Amostra	FTIR	Método oficial	Anova(F _{crit.} 5,14)	Tukey		
			F calc.	p		
VTFM _{Test.}	5,53±0,09	5,31±0,01	3188,72	Test./ H _{15%}	Test./ H _{25%}	H _{15%/ H_{25%}}
VTFM _{H15%}	5,79±0,08	5,75±0,01		<0,0001	<0,0001	<0,0001
VTFM _{H25%}	5,88±0,08	6,02±0,01				
VBBE _{Test.}	7,70±0,05	7,67±0,02	838,50	Test./ H _{15%}	Test./ H _{25%}	H _{15%/ H_{25%}}
VBBE _{H15%}	7,92±0,04	7,89±0,01		<0,0001	<0,0001	<0,0001
VBBE _{H25%}	8,08±0,08	8,08±0,01				
VR _{Test.}	6,14±0,04	5,44±0,01	2569,59	Test./ H _{1/3}	Test./ H _{2/3}	Test./ H _{3/3}
VR1/3 _{H30%}	6,63±0,04	6,07±0,01		<0,0001	<0,0001	<0,0001
VR2/3 _{H30%}	6,64±0,03	6,07±0,01		H _{1/3/ H_{2/3}}	H _{1/3/ H_{3/3}}	H _{2/3/ H_{3/3}}
VR3/3 _{H30%}	6,65±0,04	6,07±0,01		1,00	0,98	0,98
VRBE _{Test}	7,13±0,09	6,77±0,01	2657,15	Test./ H _{15%}	Test./ H _{25%}	H _{15%/ H_{25%}}
VRBE _{H15%}	7,44±0,02	7,08±0,01		<0,0001	<0,0001	<0,0001
VRBE _{H25%}	7,58±0,04	7,48±0,02				
VRBE _{Na15%}	7,10±0,02	6,76±0,02	4,88			
VRBE _{Na25%}	7,09±0,04	6,74±0,01				
Teste t dados emparelhados	Observações	t _{crítico} (bilateral)	t _{calculado}	p		
	15	2,14	4,12	<0,001		

Ao comparar os valores de t crítico com os valores de t calculado, da tabela 10, é possível verificar que os métodos comparados apresentam valores de acidez total

significativamente diferentes. Os dados obtidos através do FTIR, para além de estarem sujeitos a variadas fontes de variabilidade e contaminação, são obtidos a partir de calibração multivariada usando vinhos cujos parâmetros a analisar apresentam valores conhecidos. Tendo em conta que a última calibração do equipamento de FTIR foi realizada em Junho de 2013 e que, desde então, já foi sujeito a intervenções de manutenção e não foi sujeito a novas calibrações, é possível que os valores obtidos das análises no FTIR se possam encontrar afastados dos valores reais. Deste modo, os valores resultantes das determinações feitas a partir dos métodos oficiais assumem-se como os mais representativos das características reais dos vinhos analisados.

Como foi referido anteriormente, os resultados do método oficial descrito pela O.I.V. foram os selecionados para o tratamento estatístico utilizado na comparação dos vinhos, testemunha e com diferentes percentagens de vinho permutado. A análise de variância realizada para esta comparação demonstra que a aplicação de resinas de troca catiónica na forma ácida para a estabilização tartárica de vinhos leva a variações significativas nos valores de acidez total. No VRBE, sujeito a estabilização com resinas regeneradas com duas soluções de regeneração distintas, estudou-se, separadamente, o efeito que os iões de troca apresentam nas características do vinho. Assim, embora se tenha observado um efeito significativo da troca catiónica para o ião de troca H^+ , verificou-se que a utilização de resinas na forma de Na^+ não provoca variações significativas na acidez total.

Os valores de p obtidos do teste de Tukey demonstram, em todos os ensaios com ião de troca H^+ , um aumento significativo ($p < 0,05$; teste unilateral) do valor da acidez total com o aumento da percentagem de vinho permutado.

5.2.2. Acidez Volátil

A acidez volátil foi determinada, para todos os vinhos, recorrendo ao método oficial e a FTIR. Para cada método foram realizadas três réplicas, das quais se retiraram os valores médios e respetivos intervalos de confiança apresentados na Tabela 11. Na mesma tabela apresentam-se, ainda, os valores de t crítico e de t calculado obtidos do teste de t emparelhado, realizado para a comparação dos dois métodos de determinação utilizados, concluindo-se que existem diferenças significativas entre os valores de acidez volátil obtidos através dos dois métodos de quantificação.

Os resultados dos métodos oficiais foram utilizados para comparação entre os vinhos, testemunha e com diferentes percentagens de vinho permutado. Os valores de F crítico e F calculado da ANOVA também se encontram apresentados na Tabela 11.

Tabela 11- Representação dos valores médios de acidez volátil e intervalos de confiança, valores de F crítico e F calculado da análise de variância e valores de t crítico e t calculado do teste de t emparelhado para comparação de métodos.

Amostra	FTIR	Método oficial	Anova	
			F crit.	F calc.
VTFM _{Test.}	0,19±0,01	0,26±0,02	5,14	0,41
VTFM _{H15%}	0,18±0,01	0,25±0,01		
VTFM _{H25%}	0,21±0,01	0,25±0,02		
VBBE _{Test.}	0,31±0,01	0,35±0,01	5,14	0,60
VBBE _{H15%}	0,32±0,01	0,35±0,01		
VBBE _{H25%}	0,32±0,01	0,36±0,01		
VR _{Test.}	0,28±0,04	0,34±0,01	5,14	2,00
VR1/3 _{H30%}	0,33±0,01	0,35±0,01		
VR2/3 _{H30%}	0,31±0,02	0,35±0,01		
VR3/3 _{H30%}	0,32±0,01	0,35±0,01		
VRBE _{Test.}	0,35±0,01	0,39±0,01	5,14	1,40
VRBE _{H15%}	0,36±0,01	0,39±0,01		
VRBE _{H25%}	0,35±0,01	0,40±0,01		
VRBE _{Na15%}	0,31±0,02	0,38±0,01	5,14	3,50
VRBE _{Na25%}	0,28±0,01	0,37±0,01		
Teste t dados emparelhados	Observações	t _{crítico} (bilateral)	t _{calculado}	p
	15	2,14	9,43	<0,0001

Em todos os casos o valor de F_{calculado} na análise de variância a uma dimensão é inferior ao valor de F_{crítico}, podendo assim concluir-se que a aplicação das resinas de troca catiónica em vinhos não provoca alterações significativas na acidez volátil.

5.2.3. Teor Alcoólico

Foi realizada a determinação do teor alcoólico a todos os vinhos, através do método oficial e do FTIR, a partir de três réplicas em cada método. A tabela 12 apresenta os valores médios de teor alcoólico e respetivos intervalos de confiança e ainda os valores de F crítico e F calculado da análise de variância realizada, valores de p obtidos no teste de Tukey para comparação dos vinhos, testemunha e com diferentes

percentagens de vinho permutado, e os valores de t crítico e de t calculado obtido no teste t emparelhado, realizado para a comparação de métodos.

Tabela 12- Representação dos valores médios de teor alcoólico e intervalos de confiança, valores de F crítico e F calculado da análise de variância, valores de p obtidos no teste de Tukey realizada na comparação dos vinhos e ensaios de estabilização e valores de t crítico e t calculado do teste de t emparelhado para comparação de métodos.

Amostra	FTIR	Método oficial	Anova($F_{crit. 5,14}$)	Tukey					
			F calc.	p					
VTFM _{Test.}	12,97±0,07	12,93±0,07	6,33	Test./ H _{15%} 0,16	Test./ H _{25%} 0,03	H _{15%/ H_{25%} 0,39}			
VTFM _{H15%}	12,77±0,08	12,83±0,07							
VTFM _{H25%}	12,57±0,05	12,77±0,07							
VBBE _{Test.}	12,17±0,03	11,97±0,07	2,33						
VBBE _{H15%}	12,11±0,02	11,93±0,07							
VBBE _{H25%}	12,17±0,04	11,87±0,07							
VR _{Test.}	12,65±0,03	12,57±0,07	0,25						
VR1/3 _{H30%}	12,63±0,06	12,53±0,07							
VR2/3 _{H30%}	12,67±0,03	12,53±0,07							
VR3/3 _{H30%}	12,65±0,05	12,53±0,07							
VRBE _{Test.}	12,11±0,06	11,97±0,07	4,33						
VRBE _{H15%}	12,06±0,02	11,93±0,07							
VRBE _{H25%}	12,23±0,06	11,83±0,07							
VRBE _{Na15%}	12,01±0,03	11,97±0,07	0,00						
VRBE _{Na25%}	12,11±0,03	11,97±0,07							
Teste t dados emparelhados	Observações	t _{crítico} (bilateral)	t _{calculado}				P		
	15	2,14	4,07				<0,001		

Através do teste t para dados emparelhados permitem verificar que existem diferenças significativas entre os valores de teor alcoólico obtidos através dos dois métodos de quantificação.

A aplicação da ANOVA aos resultados obtidos pelos métodos oficiais e a comparação dos valores de $F_{calculado}$ e $F_{crítico}$ permitem verificar que, na maior parte dos casos, não existem diferenças significativas do teor alcoólico. Apenas se verificam variações significativas para os resultados obtidos no vinho tinto (VTFM). Os valores de p obtidos no teste de Tukey, realizado na comparação das amostras do VTFM, mostram que as variações significativas verificadas resultam da comparação entre o ensaio com 25% de vinho permutado e o vinho testemunha ($p < 0,05$; teste bilateral).

5.2.4. pH

Os valores de pH foram obtidos, para todos os vinhos, a partir de dois métodos distintos, o método oficial e ainda através de FTIR. Foram realizadas três réplicas para cada um dos diferentes métodos de quantificação.

Na tabela 13 encontram-se os valores médios de pH e respectivos intervalos de confiança, os valores de F crítico e F calculado da ANOVA e de p obtidos no teste de Tukey, realizados para comparação entre os vinhos, testemunha e com diferentes percentagens de vinho permutado. Nesta tabela também se encontram apresentados os valores de t crítico e de t calculado obtidos do teste t para dados emparelhados, realizado para a comparação dos dois métodos de determinação utilizados.

Tabela 13- Representação dos valores médios de pH e intervalos de confiança, valores de F crítico e F calculado da análise de variância, valores de p obtidos no teste de Tukey realizada na comparação dos vinhos e ensaios de estabilização e valores de t crítico e t calculado obtido no teste de t emparelhado para comparação de métodos.

Amostra	FTIR	Método oficial	Anova(F _{crit.} 5,14)	Tukey		
			F calc.	P		
VTFM _{Test.}	3,72±0,07	3,71±0,01	1561,33	Test./ H _{15%}	Test./ H _{25%}	H _{15%/ H_{25%}}
VTFM _{H15%}	3,51±0,05	3,55±0,01		<0,0001	<0,0001	<0,0001
VTFM _{H25%}	3,41±0,06	3,45±0,01				
VBBE _{Test.}	2,83±0,07	3,11±0,01	819,00	Test./ H _{15%}	Test./ H _{25%}	H _{15%/ H_{25%}}
VBBE _{H15%}	2,61±0,05	3,00±0,01		<0,0001	<0,0001	<0,0001
VBBE _{H25%}	2,51±0,05	2,92±0,01				
VR _{Test.}	2,97±0,02	3,20±0,01	1070,69	Test./ H _{1/3}	Test./ H _{2/3}	Test./ H _{3/3}
VR1/3 _{H30%}	2,74±0,02	2,88±0,01		<0,0001	<0,0001	<0,0001
VR2/3 _{H30%}	2,76±0,03	2,87±0,01		H _{1/3/ H_{2/3}}	H _{1/3/ H_{3/3}}	H _{2/3/ H_{3/3}}
VR3/3 _{H30%}	2,74±0,01	2,88±0,01		0,40	0,96	0,75
VRBE _{Test.}	2,89±0,03	3,24±0,01	916,33	Test./ H _{15%}	Test./ H _{25%}	H _{15%/ H_{25%}}
VRBE _{H15%}	2,75±0,02	3,11±0,01		<0,0001	<0,0001	<0,0001
VRBE _{H25%}	2,69±0,02	3,04±0,01				
VRBE _{Na15%}	2,86±0,02	3,23±0,01	4,33			
VRBE _{Na25%}	2,88±0,01	3,25±0,01				
Teste t dados emparelhados	Observações	t _{crítico} (bilateral)	t _{calculado}	p		
	15	2,14	6,25	<0,0001		

Da comparação dos valores de t crítico com os valores de t calculado para o teste t para dados emparelhados, apresentados na tabela 13, é possível verificar que os dois

métodos apresentam valores de pH significativamente diferentes, sendo, portanto, possível concluir que o sistema Bacchus II se encontra descalibrado, como se verificou para os parâmetros anteriores. Tal como em todas as determinações anteriores, opta-se pelos resultados obtidos através do método oficial para a realização da comparação entre os vinhos, testemunha e com diferentes percentagens de vinho permutado.

Comparando os valores de F, calculados nas ANOVA, com os valores de $F_{\text{crítico}}$ verifica-se que a utilização das resinas de troca catiónica na forma de H^+ na estabilização de vinhos provoca variações significativas no pH. Os valores de p obtidos do teste de Tukey demonstram que, em todos os ensaios com ião de troca H^+ , verifica-se uma diminuição significativa do pH ($p < 0,05$; teste unilateral) com o aumento da percentagem de vinho permutado. No caso do VRBE, sujeito a estabilização com resinas regeneradas com duas soluções de regeneração distintas estudou-se, em separado, o efeito dos iões de troca nas características do vinho, verificando-se variações significativas para os vinhos sujeitos a estabilização com resinas na forma H^+ . No entanto, nos ensaios com resinas na forma de Na^+ não se verificam variações significativas do pH.

5.2.5. Índice de Cor

Na tabela 14 são apresentados os valores médios dos parâmetros L^* , a^* e b^* , obtidos a partir de três réplicas, para os vinhos sujeitos a análise e os respetivos valores de F crítico e F calculado na ANOVA, relativos à comparação entre vinhos, testemunha e com diferentes percentagens de vinho permutado. Foi feita a análise de cor aos vinhos, tinto testemunha e com diferentes percentagens de vinho permutado e *rosé* (estudo da capacidade de retenção de compostos voláteis por parte das resinas) testemunha e com diferentes percentagens de vinho permutado. Foi ainda feita a análise ao vinho branco espumante (VB Esp._{Test.}), obtido da espumantização do vinho branco base de espumante (VBBE) e respetivos vinhos sujeitos a ensaios de estabilização (VB Esp_{H15%}, VB Esp_{H25%}, VB Esp_{H15%+CMC} e VB Esp_{H25%+CMC}), onde dois dos vinhos (VB Esp_{H15%+CMC} e VB Esp_{H25%+CMC}) diferem dos restantes ensaios devido à adição de carboximetilcelulose (CMC), na concentração de 0,1g/L, sendo a CMC utilizada para a estabilização tartárica de vinhos.

Tabela 14- Tabela com valores médios de L*, a* e b* obtidos da caracterização da cor dos vinhos e respectivos ensaios de estabilização, bem como os valores de t crítico e t calculado da comparação estatística dos valores médios.

Vinho	L*	a*	b*	F crítico	F calculado		
					L*	a*	b*
VTFM _{Test.}	66,49±1,50	31,71±0,39	-3,52±1,04	5,14	54,34	49,94	1,12
VTFM _{H15%}	59,59±0,61	32,85±0,35	-2,96±0,92				
VTFM _{H25%}	57,36±0,92	34,60±0,33	-2,31±1,00				
VR _{Test.}	89,64±0,14	9,48±0,23	10,86±1,03	4,06	100,90	7,20	3,03
VR1/3 _{30%}	83,05±0,51	10,20±0,10	12,78±1,19				
VR2/3 _{30%}	82,85±0,50	9,81±0,30	12,91±0,23				
VR3/3 _{30%}	83,70±0,84	10,10±0,07	12,97±1,12				
VB Esp _{Test}	93,91±0,16	-1,55±0,26	6,69±0,78	3,48	37,40	44,59	69,88
VB Esp _{H15%}	92,34±0,14	-2,14±0,19	9,72±0,19				
VB Esp _{H25%}	91,73±0,12	-2,69±0,29	11,64±0,83				
VB Esp _{H15%+CMC}	92,14±0,45	-0,40±0,27	2,92±0,88				
VB Esp _{H25%+CMC}	91,01±0,44	-1,00±0,13	5,38±0,69				

Na Tabela 14 é possível verificar, para todos os vinhos, que a utilização das resinas de troca iônica provoca variações significativas ($F_{\text{calculado}} > F_{\text{crítico}}$), nos parâmetros L* e a*. Relativamente ao parâmetro b*, as variações significativas detetadas dizem respeito apenas aos vinhos branco espumante testemunha e restantes vinhos brancos espumantes sujeitos a ensaio de estabilização.

Tendo sido identificadas variações significativas, na análise de variância, para os parâmetros L*, a* e b*, realizou-se o teste de Tukey comparando as amostras de vinho duas a duas, para poder compreender a tendência de variação dos valores dos parâmetros em relação à variação de volume de vinho permutado e adição de carboximetilcelulose nos vinhos. Assim, na tabela 15, encontram-se os valores de p obtidos no teste de Tukey, realizado para a comparação dos vinhos, testemunha e com diferentes métodos de estabilização.

Tabela 15- Tabela com valores de p calculados a partir do teste de Tukey para os parâmetros L*, a* e b* obtidos da comparação dos diferentes vinhos, testemunha e diferentes métodos de estabilização.

Vinho	p								
	L*			a*			b*		
VTFM	Test./ H _{15%}	Test./ H _{25%}	H _{15%} / H _{25%}	Test./ H _{15%}	Test./ H _{25%}	H _{15%} / H _{25%}	Test./ H _{15%}	Test./ H _{25%}	H _{15%} / H _{25%}
	7,20E ⁻⁴	1,40E ⁻⁴	9,63E ⁻²	1,87E ⁻²	1,50E ⁻⁴	2,30E ⁻³	7,79E ⁻¹	3,58E ⁻¹	7,13E ⁻¹
VR	Test./ H _{1/3}	Test./ H _{2/3}	Test./ H _{3/3}	Test./ H _{1/3}	Test./ H _{2/3}	Test./ H _{3/3}	Test./ H _{1/3}	Test./ H _{2/3}	Test./ H _{3/3}
	2,65E ⁻⁶	1,84E ⁻⁶	5,16E ⁻⁶	1,43E ⁻³	1,27E ⁻²	2,22E ⁻³	4,18E ⁻¹	1,22E ⁻¹	1,10E ⁻¹
	H _{1/3} / H _{2/3}	H _{1/3} / H _{3/3}	H _{2/3} / H _{3/3}	H _{1/3} / H _{2/3}	H _{1/3} / H _{3/3}	H _{2/3} / H _{3/3}	H _{1/3} / H _{2/3}	H _{1/3} / H _{3/3}	H _{2/3} / H _{3/3}
	8,95 E ⁻¹	6,52 E ⁻¹	3,07 E ⁻¹	3,34E ⁻¹	9,78E ⁻¹	5,22E ⁻¹	7,84E ⁻¹	7,44E ⁻¹	9,98E ⁻¹
VB Esp.	Test./ H _{15%}	6,35E ⁻⁴	Test./ H _{15%}	6,93E ⁻²	Test./ H _{15%}	3,00E ⁻³			
	Test./ H _{25%}	3,79E ⁻⁵	Test./ H _{25%}	1,01E ⁻³	Test./ H _{25%}	5,51E ⁻⁵			
	Test./ H _{15%+CMC}	2,29E ⁻⁴	Test./ H _{15%+CMC}	9,85E ⁻⁴	Test./ H _{15%+CMC}	5,54E ⁻⁴			
	Test./ H _{25%+CMC}	2,86E ⁻⁶	Test./ H _{25%+CMC}	9,55E ⁻²	Test./ H _{25%+CMC}	2,49E ⁻⁷			
	H _{15%} / H _{25%}	1,67E ⁻¹	H _{15%} / H _{25%}	9,30E ⁻²	H _{15%} / H _{25%}	5,02E ⁻²			
	H _{15%} / H _{15%+CMC}	9,13E ⁻¹	H _{15%} / H _{15%+CMC}	2,97E ⁻⁵	H _{15%} / H _{15%+CMC}	3,12E ⁻⁶			
	H _{15%} / H _{25%+CMC}	2,21 ⁻³	H _{15%} / H _{25%+CMC}	1,03E ⁻³	H _{15%} / H _{25%+CMC}	1,73E ⁻⁴			
	H _{25%} / H _{15%+CMC}	4,97E ⁻¹	H _{25%} / H _{15%+CMC}	2,36E ⁻⁶	H _{25%} / H _{15%+CMC}	2,95E ⁻⁷			
	H _{25%} / H _{25%+CMC}	9,32E ⁻²	H _{25%} / H _{25%+CMC}	3,72E ⁻⁵	H _{25%} / H _{25%+CMC}	6,62E ⁻⁶			
	H _{15%+CMC} /H _{25%+CMC}	7,34E ⁻³	H _{15%+CMC} /H _{25%+CMC}	6,57E ⁻²	H _{15%+CMC} /H _{25%+CMC}	1,24E ⁻²			

Ao analisar a Tabela 15 é possível concluir que, para os diferentes tipos de vinho, a utilização das resinas de troca iônica leva à diminuição significativa no parâmetro L*, sendo essa diminuição tanto maior quanto maior o volume de vinho permutado. Também referente ao parâmetro L* é possível verificar, a partir dos valores de p obtidos para as comparações H_{15%}/ H_{15%+CMC} e H_{25%}/ H_{25%+CMC}, que a utilização da CMC não afeta significativamente a luminosidade do vinho. Quanto ao parâmetro a* verifica-se, nos vinhos, tinto e rosé, um aumento significativo no valor deste parâmetro, com o aumento de percentagem de vinho permutado. Relativamente ao vinho branco, verifica-se uma diminuição significativa do valor do parâmetro a*, com o aumento de vinho permutado, enquanto a adição da CMC provoca um aumento significativo. No caso do parâmetro b* não se verificam alterações significativas para os vinhos provenientes de uvas tintas (tintos e rosés). Por outro lado, a utilização da resina leva a um aumento significativo no valor do parâmetro b*, enquanto a adição da CMC provoca uma diminuição significativa.

Na figura 12 encontra-se um gráfico que permite verificar a distribuição das amostras analisadas num eixo bidimensional onde as amostras se encontram distribuídas relativamente aos parâmetros a^* (eixo das abcissas) e b^* (eixo das ordenadas) e onde se encontram apresentados os valores médios e respetivos desvios padrão.

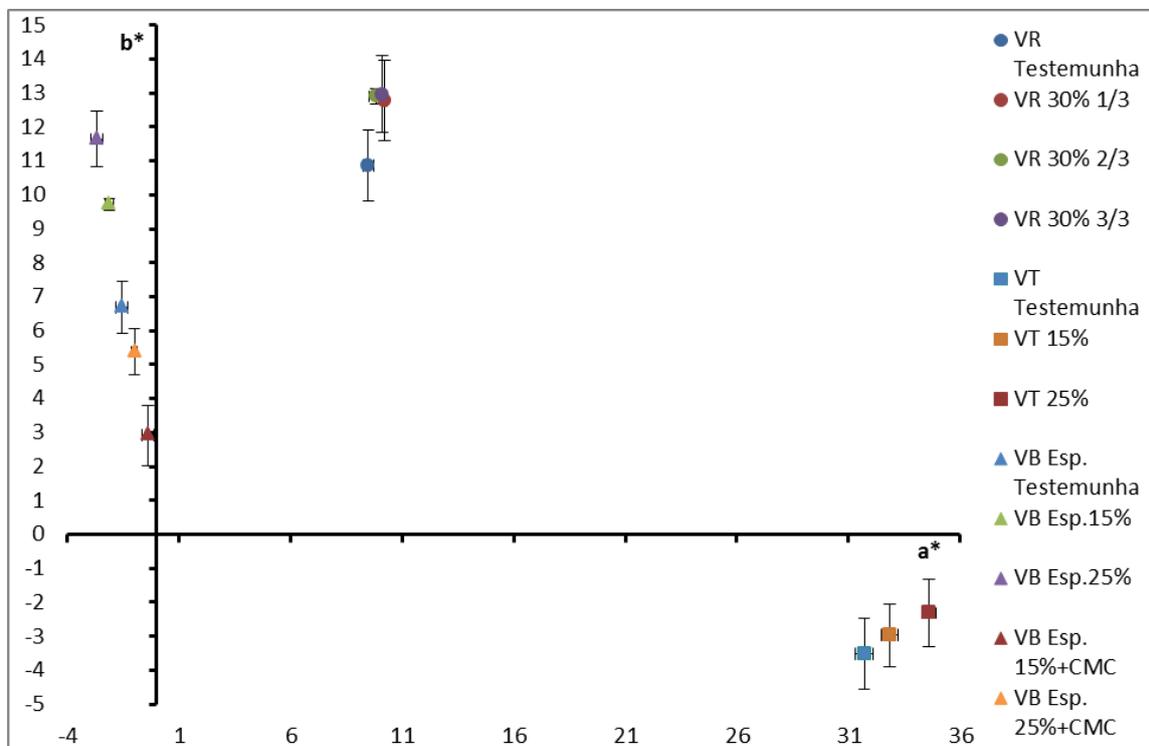


Figura 12- Distribuição das amostras, através de valores médios e respetivos desvios padrão, num eixo bidimensional relativamente aos parâmetros a^* e b^* .

O gráfico apresentado na figura 12 resume a informação anteriormente apresentada relativamente às diferenças verificadas entre vinhos brancos, tintos e *rosés* e entre os vinhos, testemunha e com diferentes métodos de estabilização.

Apesar de se verificarem diferenças significativas nos dados analíticos obtidos, é necessário referir que visualmente, e principalmente para um consumidor, os vinhos, testemunha e com diferentes métodos de estabilização, não são distinguíveis.

5.2.6. Constituição Volátil

A visualização dos cromatogramas, identificação dos compostos responsáveis pelo aparecimento dos picos e determinação das áreas desses picos é feita com recurso ao software Pegasus 4D GCxGC-TOFMS. A técnica de separação GCxGC-TOFMS utilizada na análise da composição volátil dos vinhos permite obter cromatogramas com separação a duas dimensões, onde a intensidade dos picos se encontra representada na terceira dimensão, como se encontra representado na figura 13.

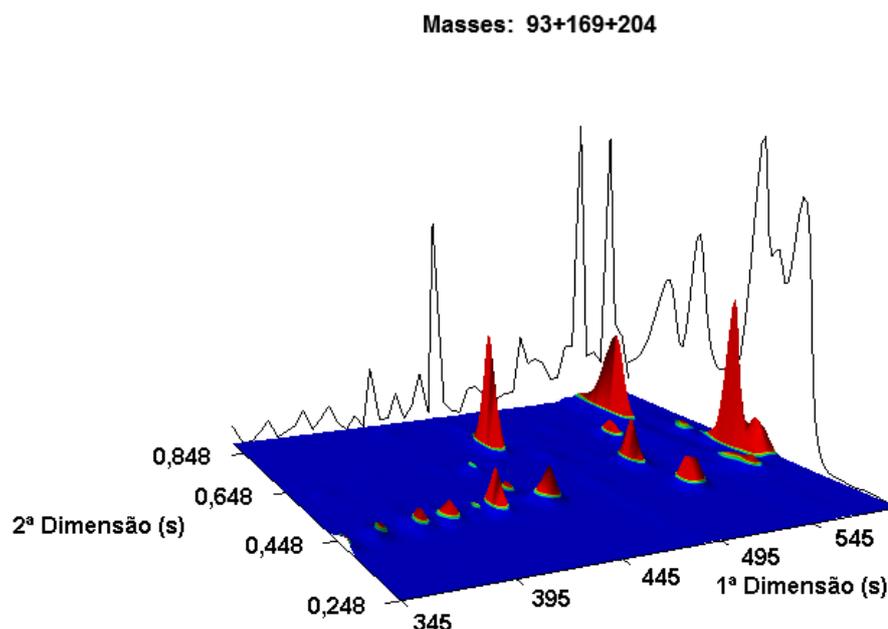


Figura 13- Representação tridimensional de uma porção de um cromatograma obtido na análise da composição volátil dos vinhos através de GCxGC-TOFMS para picos com massas de 93, 169 e 204 (típicos de terpenos).

Tendo em conta as características hidrofóbicas das resinas definiu-se, de entre as centenas de compostos voláteis presentes na matriz do vinho, a identificação de um determinado número de compostos pertencentes aos ésteres e compostos terpénicos devido ao facto de apresentarem menor polaridade e contribuírem positivamente para o aroma dos vinhos. Deste modo foi feita a identificação e determinação da área de um grupo de compostos representativo de cada classe escolhida, por forma a permitir perceber o seu comportamento em relação à aplicação das resinas de troca iónica.

Como se encontra representado na figura 14 os cromatogramas obtidos apresentam duas dimensões de separação, sendo a primeira apresentada no eixo das abcissas e onde os compostos são separados segundo a sua volatilidade, onde os compostos mais voláteis são eluídos primeiro. A segunda dimensão, representada no

correspondente ao primeiro volume de vinho recolhido das resinas (VR1/3_{H30%}). Tendo em conta que, da análise dos dados obtidos nos parâmetros anteriores, não se verificaram diferenças significativas entre os três ensaios com 30% de vinho permutado, optou-se por fazer a comparação de apenas um ensaio de estabilização com o vinho testemunha. Assim a escolha recaiu sobre o ensaio de estabilização realizado com o primeiro terço de volume percolado devido ao facto de as resinas de troca iónica apresentam maior capacidade de adsorver compostos hidrofóbicos nos primeiros volumes de vinho percolado, desta forma, a serem verificadas variações significativas entre o vinho testemunha e o ensaio de estabilização, estas são mais perceptíveis entre os vinhos escolhidos. Dos dados obtidos foi verificada a homogeneidade através do teste de Levene, para posteriormente poder realizar um teste de Tukey para comparar duas amostras com variâncias iguais.

A análise aos vinhos, tinto e espumante branco, teve em conta os diferentes níveis de estabilização realizados. Deste modo, os dados foram sujeito ao teste de Levene e posteriormente a uma ANOVA e teste post hoc, sendo escolhido o teste de Tukey pelas mesmas razões apresentadas para os parâmetros anteriores, para verificar se existem diferenças significativas entre os vinhos testemunha e ensaios de estabilização e qual a origem dessas diferenças.

As tabelas 16 a 21 apresentam os valores médios das áreas obtidas para ésteres e terpenos identificados na análise da composição volátil para cada vinho e respetivos ensaios de estabilização, bem como os dados obtidos do tratamento estatístico. No vinho rosé foram realizadas quatro réplicas e nos restantes foram realizadas duas.

Tabela 16- Lista de ésteres identificados e respectivas áreas médias, obtidas de quatro réplicas, num vinho rosé (VR_{Test.}) e o mesmo vinho sujeito a ensaio de estabilização com 30% de volume permutado (VR1/3_{30%}) e testes de t para comparação de médias (* médias obtidas com rejeição de um valor anômalo determinado através do teste de dixon).

Tempo de retenção (s)	Nome	CAS	Fórmula	Índice retenção Calc	Índice retenção lit	Médias				F crit.	t crit.
						VR _{Test.}	RSD%	VR1/3 _{30%}	RSD%	9,28	2,45
										F calc.	t calc.
95, 0,432	Acetato de etilo	141-78-6	C ₄ H ₈ O ₂	600	618 ⁸⁶	2,09E+08	18	2,32E+08	7	4,87	1,32
135, 0,440	Propanoato de etilo	105-37-3	C ₅ H ₁₀ O ₂	679	705 ⁸⁷	1,49E+07	13	1,60E+07	13	1,22	0,36
135, 0,456	Acetato de propilo	109-60-4	C ₅ H ₁₀ O ₂	679	708 ⁸⁸	3,59E+06	12	3,61E+06*	8	2,26	0,27
165, 0,432	Isobutirato de etilo	97-62-1	C ₆ H ₁₂ O ₂	745	755 ⁸⁹	3,61E+07	13	2,94E+07	13	1,39	1,56
175, 0,448	Acetato de isobutilo	110-19-0	C ₆ H ₁₂ O ₂	768	770 ⁹⁰	8,69E+06	17	6,78E+06	18	1,41	1,47
195, 0,512	Butanoato de etilo	105-54-4	C ₆ H ₁₂ O ₂	806	800 ⁹⁰	7,45E+07	13	6,75E+07	10	1,97	1,34
235, 0,448	Etil-2-metil butirato	7452-79-1	C ₇ H ₁₄ O ₂	853	849 ⁹⁰	1,53E+07	15	1,40E+07	14	1,37	0,19
235, 0,464	Etil-3-metil butirato	108-64-5	C ₇ H ₁₄ O ₂	854	842 ⁹⁰	3,45E+07	9	3,34E+07	12	1,66	0,33
255, 0,536	Ester (m/z 43/70/55)			877		2,75E+08	8	2,16E+08	8	1,61	3,18
370, 0,450	Hexanoato de etilo	123-66-0	C ₈ H ₁₆ O ₂	998	1001 ⁹¹	3,08E+08	15	2,91E+08	14	1,32	0,23
375, 0,552	3-Hexenol acetato	3681-71-8	C ₈ H ₁₄ O ₂	1006	1007 ⁹⁰	3,03E+06	6	2,37E+06*	11	2,03	2,60
385, 0,512	Acetato de hexilo	142-92-7	C ₈ H ₁₆ O ₂	1017	1015 ⁹⁰	9,27E+07	11	7,89E+07	10	1,61	1,78
410, 0,560	Hex-2-enoato de etilo	27829-72-7	C ₈ H ₁₄ O ₂	1045	1040 ⁹⁰	9,33E+06	7	8,18E+06	9	1,51	1,87
460, 0,488	Heptanoato de etilo	106-30-9	C ₉ H ₁₈ O ₂	1101	1100 ⁹⁰	4,95E+06	7	4,25E+06	10	1,42	1,74
485, 0,520	Octanoato de metilo	111-11-5	C ₉ H ₁₈ O ₂	1128	1126 ⁹²	2,24E+07	7	2,07E+07	9	1,25	1,62
540, 0,768	Butanodiato de dietilo	123-25-1	C ₈ H ₁₄ O ₂	1190	1182 ⁹¹	2,32E+08	14	2,02E+08	7	4,51	1,30
560, 0,584	Octanoato de etilo	106-32-1	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	1213	1205 ⁹³	1,49E+09	11	1,51E+09	5	4,76	0,98
595, 0,480	Hexanoato de isopentilo	2198-61-0	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	1254	1251 ⁹³	6,53E+07	8	6,26E+07	8	1,12	0,53
630, 0,480	Nonanoato de etilo	123-29-5	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	1295	1292 ⁹⁴	2,25E+07	19	2,54E+07	11	2,13	0,69
715, 0,896	Decanoato de etilo	110-38-3	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	1401	1397	1,29E+09	12	1,42E+09	4	7,87	1,71
855, 0,576	Dodecanoato de etilo	106-33-2	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	1594	1595	1,16E+08	12	9,29E+07	13	1,21	1,80

Tabela 17- Lista de compostos terpênicos identificados e respectivas áreas médias, obtidas de quatro réplicas, num vinho rosé (VR_{Test.}) e o mesmo vinho sujeito a ensaio de estabilização com 30% de volume permutado (VR1/3_{30%}) e testes de t para comparação de médias.

Tempo de retenção (s)	Nome	CAS	Fórmula	Índice retenção Calc	Índice retenção lit	Médias				F crít.	t crít.
						VR _{Test.}	RSD%	VR1/3 _{30%}	RSD%	9,28	2,78
Monoterpenos										F calc.	t calc.
395, 0,504	<i>p</i> -Cimeno	99-87-6	C ₁₀ H ₁₄	1028	1030 ⁹⁵	1,75E+06	17	1,77E+06	8	4,86	0,41
425, 0,464	γ -Terpineno	99-85-4	C ₁₀ H ₁₆	1062	1080 ⁶⁰	1,71E+06	13	1,81E+06	7	2,11	1,39
440, 0,624	Óxido de Linalol	5989-33-3	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	1079	1078 ⁹⁶	6,55E+05	13	5,75E+05	14	1,19	1,01
455, 0,600	<i>p</i> -Cimeno	1195-32-0	C ₁₀ H ₁₂	1095	1091 ⁹⁷	1,59E+06	7	1,62E+06	6	1,15	0,62
465, 0,712	Linalol	78-70-6	C ₁₀ H ₁₈ O	1106	1109 ⁶⁰	4,80E+06	16	4,91E+06	7	5,24	0,85
470, 0,816	Hotrienol	20053-88-7	C ₁₀ H ₁₆ O	1112	1114 ⁶⁰	7,54E+05	15	7,69E+05	9	2,79	0,24
475, 0,504	Óxido de Rosa (isómero)	16409-43-1	C ₁₀ H ₁₈ O	1117	1117 ⁹⁶	3,56E+05	6	3,19E+05	8	1,27	1,31
490, 0,504	Óxido de Rosa (isómero)	4610-11-1	C ₁₀ H ₁₈ O	1134	1130 ⁹⁶	5,62E+05	12	5,00E+05	7	3,80	1,30
510, 0,568	Óxido de Nerol	71030-55-2	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	1156	1172 ⁶⁰	1,75E+06	11	1,49E+06	9	1,99	1,69
525, 0,440	Monoterpeno (<i>m/z</i> 71/41/93)			1178		1,85E+06	10	1,83E+06	8	1,87	0,01
535, 0,688	4-Terpineol	3682-42-6	C ₇ H ₁₂ O ₃	1184	1180 ⁹⁸	8,71E+05	10	8,31E+05	9	1,25	0,36
560, 0,792	α -Terpineol	10482-56-1	C ₁₀ H ₁₈ O	1213	1224 ⁶⁰	3,75E+06	9	3,49E+06	9	1,06	0,76
565, 0,504	Monoterpeno (<i>m/z</i> 159/131/91)			1218		9,15E+06	7	9,90E+06	5	1,66	1,28
570, 0,664	Ment-1-en-9-al	29548-14-9	C ₁₀ H ₁₆ O	1224	1254 ⁶⁰	1,95E+05	18	1,96E+05	8	4,57	0,01
575, 0,656	β -Ciclocitral	432-25-7	C ₁₀ H ₁₆ O	1230	1243 ⁹⁹	7,27E+05	7	6,13E+05	8	1,04	2,83
580, 0,560	2-Borneno	464-17-5	C ₁₀ H ₁₆ O	1236	1240 ¹⁰⁰	2,90E+06	11	2,74E+06	8	2,46	0,44
585, 0,544	Cimen-8-ol	1197-01-9	C ₁₀ H ₁₄ O	1242	1211 ⁶⁰	1,04E+06	13	9,97E+05	13	1,12	0,16
Sesquiterpenos											
730, 0,632	β -Gurjuneno	17334-55-3	C ₁₅ H ₂₄	1421	1423 ¹⁰¹	4,60E+06	12	4,03E+06	7	3,71	1,12
795, 0,504	α -Muuroleno	31983-22-9	C ₁₅ H ₂₄	1508	1505 ¹⁰²	3,75E+06	8	3,57E+06	8	1,35	1,03
800, 0,672	Elixeno	08-08-3242	C ₁₅ H ₂₄	1515	1513 ¹⁰³	8,65E+05	6	8,30E+05	5	2,00	0,77
825, 0,608	α -Calacoreno	21391-99-1	C ₁₅ H ₂₀	1551	1554 ⁹⁶	1,39E+06	10	1,30E+06	9	1,37	0,96
835, 0,672	Nerolidol	7212-44-4	C ₁₅ H ₂₆ O	1565	1568 ⁹⁶	3,75E+06	9	3,55E+06	9	1,34	0,57
880, 0,472	Nerolidol	7212-44-4	C ₁₅ H ₂₆ O	1632	1608 ¹⁰⁴	5,28E+05	8	4,98E+05	7	1,47	0,97
885, 0,736	γ -Eudesmol	1209-71-8	C ₁₅ H ₂₆ O	1640	1637 ¹⁰⁵	1,03E+06	8	1,01E+06	5	2,57	0,80
920, 0,720	α -Bisabolol	515-69-5	C ₁₅ H ₂₆ O	1693	1693 ¹⁰⁶	1,11E+06	13	1,05E+06	14	1,12	0,46

Tabela 18 - Ésteres identificados e respectivas áreas médias, obtidas de duas réplicas, de um vinho tinto (VTFM_{Test.}) e do mesmo vinho sujeito a ensaios de estabilização com 15 e 25% de volume permutado (VTFM_{H15%} e VTFM_{H25%}) e testes de t para comparação de médias

Tempo de retenção (s)	Nome	CAS	Fórmula	Índice retenção Calc	Índice retenção lit	VTFM _{Test.}	RSD %	VTFM _{H15%}	RSD %	Tukey	VTFM _{H25%}	RSD %	Tukey
										p			p
95, 0,456	Acetato de etilo	141-78-6	C ₄ H ₈ O ₂	589	590 ⁹⁰	2,97E+08	1	2,87E+08	6	0,68	2,92E+08	3	0,89
135, 0,456	Propanoato de etilo	105-37-3	C ₅ H ₁₀ O ₂	680	708 ⁸⁷	1,51E+07	9	1,51E+07	7	1,00	1,52E+07	8	0,99
165, 0,432	Isobutirato de etilo	97-62-1	C ₆ H ₁₂ O ₂	745	755 ⁸⁹	1,86E+07	4	1,73E+07	9	0,54	1,70E+07	5	0,42
195, 0,512	Butanoato de etilo	105-54-4	C ₆ H ₁₂ O ₂	801	800 ⁹⁰	3,78E+07	4	3,54E+07	5	0,33	3,47E+07	2	0,21
235, 0,464	Etil-2-metil butirato	7452-79-1	C ₇ H ₁₄ O ₂	847	849 ⁹⁰	1,41E+07	7	1,32E+07	3	0,56	1,29E+07	7	0,44
255, 0,536	Ester (m/z43/70/55)		C ₇ H ₁₄ O ₃	877		1,79E+08	2	1,75E+08	6	0,88	1,65E+08	4	0,33
370, 0,450	Hexanoato de etilo	123-66-0	C ₈ H ₁₆ O ₂	995	1001	2,42E+08	6	2,16E+08	2	0,20	1,97E+08	7	0,05
380, 0,472	3-Metilbutil 2-metilpropanoato	2050-01-3	C ₉ H ₁₈ O ₂	1010	1018	1,04E+07	2	9,73E+06	4	0,20	8,88E+06	2	0,03
385, 0,512	Acetato de hexilo	142-92-7	C ₈ H ₁₆ O ₂	1012	1015 ⁹⁰	7,18E+06	1	7,10E+06	1	0,62	6,98E+06	1	0,16
410, 0,560	Etil 2-hexenoato	27829-72-7	C ₈ H ₁₄ O ₂	1045	1040 ⁹⁰	6,79E+06	1	6,79E+06	1	1,00	6,82E+06	1	0,87
420, 0,480	Butirato de isoamilo	106-27-4	C ₉ H ₁₈ O ₂	1056	1056	3,21E+06	8	3,14E+06	5	0,94	3,05E+06	3	0,70
425, 0,784	Etil-2-hidroxi-4-metilpentanoato	10348-47-7	C ₈ H ₁₆ O ₂	1062	1078	1,21E+07	7	1,18E+07	5	0,92	1,14E+07	7	0,70
460, 0,488	Heptanoato de etilo	106-30-9	C ₉ H ₁₈ O ₂	1101	1100 ⁹⁰	8,76E+06	7	8,85E+06	5	0,99	8,48E+06	8	0,89
485, 0,520	Octanoato de metilo	111-11-5	C ₉ H ₁₈ O ₂	1123	1126	2,90E+07	8	2,81E+07	4	0,89	2,85E+07	6	0,96
510, 0,472	Hexanoato de isobutilo	105-79-3	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	1151	1148	2,79E+06	3	2,74E+06	2	0,74	2,71E+06	2	0,45
530, 0,816	Butanodiato de dietilo	123-25-1	C ₈ H ₁₄ O ₂	1179	1182	1,85E+08	1	1,82E+08	1	0,44	1,80E+08	2	0,23
560, 0,584	Octanoato de etilo	106-32-1	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	1201	1205 ⁹³	6,86E+08	6	6,58E+08	8	0,84	6,49E+08	7	0,74
595, 0,480	Hexanoato de isopentilo	2198-61-0	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	1248	1251 ⁸⁷	2,75E+07	3	2,67E+07	4	0,63	2,63E+07	3	0,38
630, 0,480	Nonanoato de etilo	123-29-5	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	1295	1294	2,84E+07	4	2,82E+07	5	0,99	2,81E+07	3	0,95
715, 0,896	Decanoato de etilo	110-38-3	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	1388	1397 ⁸⁷	7,01E+08	7	6,75E+08	3	0,74	6,59E+08	3	0,49
745, 0,504	Octanoato de isopentilo	2035-99-6	C ₁₃ H ₂₆ O ₂	1441	1446	5,15E+07	7	4,85E+07	6	0,69	4,67E+07	8	0,44

Tabela 19- Lista de compostos terpénicos identificados e respectivas áreas médias, obtidas de duas réplicas, de um vinho tinto (VTFM_{Test.}) e do mesmo vinho sujeito a ensaios de estabilização com 15 e 25% de volume permutado (VTFM_{H15%} e VTFM_{H25%}) e testes de t para comparação de médias.

Tempo de retenção (s)	Nome	CAS	Fórmula	Índice retenção Calc	Índice retenção lit	VTFM _{Test.}	RSD%	VTFM _{H15%}	RSD%	Tukey	VTFM _{H25%}	RSD%	Tukey
Monoterpenos										p		p	
395 , 0,456	Limoneno	138-86-3	C ₁₀ H ₁₆	1028	1052 ⁶⁰	2,46E+06	4	2,31E+06	5	0,49	2,21E+06	6	0,24
425 , 0,464	γ-Terpineno	99-85-4	C ₁₀ H ₁₆	1062	1080 ⁶⁰	3,32E+06	5	2,98E+06	4	0,29	2,79E+06	8	0,12
450 , 0,472	p-Cimeno	1195-32-0	C ₁₀ H ₁₂	1089	1091 ⁹⁷	1,12E+06	7	1,01E+06	7	0,43	9,54E+05	7	0,21
465 , 0,712	Linalol	78-70-6	C ₁₀ H ₁₈ O	1106	1109 ⁶⁰	1,30E+07	4	1,24E+07	7	0,73	1,20E+07	7	0,50
525 , 0,440	Monoterpeno (m/z 71/41/93)			1178		6,72E+06	3	6,31E+06	5	0,33	6,21E+06	3	0,22
530 , 0,696	4-Terpineol	3682-42-6	C ₁₀ H ₁₈ O	1179	1180 ⁹⁸	1,17E+06	5	1,10E+06	5	0,50	1,01E+06	7	0,15
545 , 0,808	α-Terpineol (isómero)	98-55-5	C ₁₀ H ₁₈ O	1195	1196 ¹⁰⁷	1,10E+06	5	1,07E+06	7	0,93	1,04E+06	7	0,69
580 , 0,560	2-Borneno	464-17-5	C ₁₀ H ₁₆	1236	1240 ¹⁰⁰	7,20E+05	5	6,83E+05	6	0,65	6,72E+05	5	0,52
585 , 0,544	Cimen-8-ol	1197-01-9	C ₁₀ H ₁₄ O	1242	1213 ⁶⁰	2,57E+06	7	2,42E+06	6	0,64	2,34E+06	7	0,42
600 , 0,528	Monoterpeno (m/z 93/121/43)			1259		7,14E+06	2	7,07E+06	3	0,91	7,02E+06	2	0,77
530 , 0,688	Óxido de nerol	71030-55-2	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	1178	1172 ⁶⁰	1,17E+06	5	1,10E+06	5	0,38	1,04E+06	3	0,14
570 , 0,664	Ment-1-en-9-al	29548-14-9	C ₁₀ H ₁₆ O	1224	1254 ⁶⁰	9,95E+06	2	9,49E+06	2	0,16	9,19E+06	2	0,05
585 , 0,520	Monoterpeno (m/z 71/41/93)			1242		2,57E+06	7	2,42E+06	6	0,60	2,13E+06	6	0,11
Sesquiterpenos													
730 , 0,632	β-Gurjuneno	17334-55-3	C ₁₅ H ₂₄	1421	1423 ⁹⁶	2,49E+06	9	2,50E+06	10	1,00	2,37E+06	7	0,85
795 , 0,504	α-Muuroleno	31983-22-9	C ₁₅ H ₂₄	1508	1505 ¹⁰²	6,82E+06	1	6,57E+06	3	0,40	6,47E+06	3	0,24
835 , 0,672	Nerolidol (isómero)	(142-50-7; 7212-44-4)	C ₁₅ H ₂₆ O	1565	1564 ¹⁰⁸	1,46E+07	2	1,37E+07	3	0,35	1,36E+07	6	0,30
880 , 0,472	Nerolidol (isómero)	7212-44-4	C ₁₅ H ₂₆ O	1632	1608 ¹⁰⁴	5,62E+06	8	5,54E+06	6	0,97	5,56E+06	4	0,98
920 , 0,720	α-Bisabolol	515-69-5	C ₁₅ H ₂₆ O	1693	1693 ¹⁰⁶	1,30E+06	4	1,23E+06	4	0,62	1,17E+06	8	0,28
950 , 0,520	Farnesol	4602-84-0	C ₁₅ H ₂₆ O	1739	1742 ¹⁰⁹	7,49E+05	7	7,15E+05	5	0,74	6,99E+05	5	0,55
955 , 0,552	Sesquiterpeno (m/z 41/93/69)		C ₁₅ H ₂₄	1747		6,99E+05	4	6,91E+05	6	0,97	6,80E+05	6	0,86

Tabela 20- Ésteres identificados e respectivas áreas médias, obtidas de duas réplicas, de um vinho espumante (test.) e do mesmo vinho sujeito a ensaios de estabilização com 15 e 25% de volume permutado com e sem a adição de carboximetilcelulose (CMC) e testes de t para comparação de médias.

Tempo de retenção (s)	Nome	CAS	Fórmula	RI Calc/ RI lit	Test.	RSD %	15% Perm.	RSD %	Tukey	15% Perm. + CMC	RSD %	Tukey	25% Perm.	RSD %	Tukey	25% Perm. + CMC	RSD %	Tukey		
									p				p				p			
95, 0,456	Acetato de etilo	141-78-6	C ₄ H ₈ O ₂	600/ 590 ⁹⁰	1,18E+08	5	1,16E+08	3	0,97	1,18E+08	1	1,00	1,11E+08	4	0,49	1,11E+08	3	0,47		
135, 0,456	Propanoato de etilo	105-37-3	C ₅ H ₁₀ O ₂	679/ 708 ⁸⁷	3,14E+06	2	3,09E+06	1	0,99	3,02E+06	5	0,86	2,96E+06	4	0,62	2,95E+06	6	0,60		
165, 0,432	Isobutirato de etilo	97-62-1	C ₆ H ₁₂ O ₂	745/ 755 ⁸⁹	7,35E+06	8	6,95E+06	3	0,90	6,82E+06	8	0,79	6,91E+06	7	0,87	6,89E+06	5	0,85		
195, 0,512	Butanoato de etilo	105-54-4	C ₆ H ₁₂ O ₂	800/ 800 ⁹⁰	3,36E+07	7	3,28E+07	1	0,98	3,26E+07	2	0,95	3,17E+07	5	0,68	3,21E+07	4	0,83		
235, 0,464	Etil-2-metil butirato	7452-79-1	C ₇ H ₁₄ O ₂	848/ 849 ⁹⁰	3,72E+06	7	3,60E+06	7	0,97	3,61E+06	5	0,98	3,66E+06	3	1,00	3,70E+06	4	1,00		
235, 0,464	Etil-3-metil butirato	108-64-5	C ₇ H ₁₄ O ₂	853/ 842 ⁹⁰	8,65E+06	5	8,64E+06	4	1,00	8,64E+06	2	1,00	8,47E+06	3	0,98	8,52E+06	4	0,99		
255, 0,536	Ester (m/z43/70/55)		C ₇ H ₁₄ O ₃	877	1,25E+08	5	1,19E+08	4	0,86	1,16E+08	5	0,68	1,14E+08	7	0,54	1,14E+08	4	0,51		
370, 0,450	Hexanoato de etilo	123-66-0	C ₈ H ₁₆ O ₂	1001/ 1001 ⁹¹	2,63E+08	6	2,57E+08	6	0,99	2,59E+08	5	1,00	2,49E+08	8	0,98	2,51E+08	7	1,00		
385, 0,512	Hexil acetato	142-92-7	C ₈ H ₁₆ O ₂	1012/ 1015 ⁹⁰	4,89E+07	6	4,59E+07	4	0,68	4,58E+07	6	0,68	4,52E+07	5	0,54	4,53E+07	3	0,56		
530, 0,816	Butanodiato de dietilo	123-25-1	C ₈ H ₁₄ O ₂	1184/ 1182	1,41E+08	4	1,36E+08	5	0,96	1,38E+08	8	0,99	1,33E+08	7	0,79	1,33E+08	3	0,79		
560, 0,584	Octanoato de etilo	106-32-1	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	1201/ 1205 ⁹³	8,57E+08	5	8,35E+08	1	0,98	8,36E+08	1	0,98	8,12E+08	4	0,80	8,11E+08	9	0,78		
595, 0,480	Hexanoato de isopentilo	2198-61-0	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	1248/ 1251 ⁸⁷	2,15E+07	4	2,09E+07	6	0,97	2,10E+07	6	0,99	2,05E+07	6	0,88	2,07E+07	3	0,92		
600, 0,872	Acetato de feniletilo	103-45-7	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	1260/ 1260 ⁸⁷	1,04E+08	7	9,88E+07	7	0,82	9,65E+07	1	0,58	9,42E+07	4	0,38	9,50E+07	3	0,45		
630, 0,480	Nonanoato de etilo	123-29-5	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	1295/ 1294 ⁸⁷	1,28E+07	8	1,19E+07	8	0,81	1,15E+07	5	0,62	1,17E+07	8	0,70	1,16E+07	6	0,63		
715, 0,896	Decanoato de etilo	110-38-3	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	1395/ 1397 ⁸⁷	6,24E+08	2	6,17E+08	1	0,98	6,17E+08	2	0,97	6,02E+08	3	0,42	6,07E+08	2	0,64		
735, 0,688	Ester (m/z 101, 129,155)			1428	1,16E+07	6	1,14E+07	7	0,99	1,13E+07	7	0,98	1,01E+07	4	0,30	1,00E+07	7	0,27		
745, 0,504	Octanoato de isopentilo	2035-99-6	C ₁₃ H ₂₆ O ₂	1594/ 1446 ¹¹⁰	1,23E+08	7	1,19E+08	6	0,96	1,19E+08	5	0,98	1,16E+08	5	0,83	1,16E+08	4	0,83		

Tabela 21- Lista de compostos terpênicos identificados e respectivas áreas médias, obtidas de duas réplicas, de um vinho espumante (test.) e do mesmo vinho sujeito a ensaios de estabilização com 15 e 25% de volume permutado com e sem a adição de carboximetilcelulose (CMC) e testes de t para comparação de médias.

Tempo de retenção (s)	Nome	CAS	Fórmula	RI Calc/ RI lit	Test.	RSD%	15% Perm.	RSD%	Tukey	15% Perm. + CMC	RSD%	Tukey	25% Perm.	RSD%	Tukey	25% Perm. + CMC	RSD%	Tukey
Monoterpenos									p			p			p			p
385 , 0,440	α -Terpineno	141-78-6	C ₁₀ H ₁₆	1017/ 1019 ¹¹¹	3,03E+05	4	2,99E+05	4	0,99	3,01E+05	3	1,00	2,94E+05	2	0,88	2,95E+05	2	0,91
395 , 0,448	Limoneno	105-37-3	C ₁₀ H ₁₆	1028/ 1052 ⁶⁰	7,78E+06	7	7,62E+06	4	1,00	7,54E+06	8	0,98	6,76E+06	7	0,36	6,89E+06	7	0,46
435 , 0,640	Dihidromircenol	97-62-1	C ₁₀ H ₂₀ O	1072/ 1076 ⁶⁰	1,40E+06	8	1,33E+06	6	0,88	1,33E+06	4	0,86	1,13E+06	6	0,10	1,11E+06	7	0,07
455 , 0,600	<i>p</i> -Cimeno	105-54-4	C ₁₀ H ₁₂	1089/ 1091 ⁹⁷	3,66E+05	9	3,61E+05	8	1,00	3,59E+05	7	1,00	3,52E+05	8	0,99	3,53E+05	8	0,99
460 , 0,720	Linalol	7452-79-1	C ₁₀ H ₁₈ O	1101/ 1109 ⁶⁰	7,47E+06	2	7,02E+06	1	0,38	7,04E+06	4	0,42	6,54E+06	2	0,04	6,64E+06	5	0,07
525 , 0,440	Monoterpeno (m/z 71/41/93)	108-64-5		1173	5,65E+05	4	5,79E+05	2	0,95	5,55E+05	4	0,98	5,55E+05	2	0,98	5,42E+05	5	0,77
530 , 0,688	4-Terpineol	562-74-3	C ₁₀ H ₁₈ O	1179/ 1215 ⁶⁰	1,58E+06	4	1,40E+06	3	0,10	1,37E+06	5	0,06	1,20E+06	5	0,04	1,17E+06	3	0,03
585 , 0,520	Monoterpeno (m/z 93/41/121)	123-66-0		1242	1,58E+06	4	1,42E+06	5	0,38	1,46E+06	6	0,59	1,35E+06	5	0,16	1,32E+06	8	0,10
Sesquiterpenos																		
730 , 0,632	β -Gurjuneno	2198-61-0	C ₁₅ H ₂₄	1421/ 1423 ⁹⁶	2,80E+06	6	2,74E+06	5	0,99	2,72E+06	1	0,97	2,57E+06	8	0,54	2,53E+06	3	0,40
755 , 0,488	β -Farneseno	103-45-7	C ₁₅ H ₂₄	1454/ 1457 ¹¹²	4,91E+06	5	4,62E+06	3	0,78	4,68E+06	6	0,88	4,47E+06	3	0,49	4,37E+06	8	0,34
785 , 0,680	Sesquiterpeno (m/z 41/79/51)	123-29-5	C ₁₅ H ₂₆ O	1494	1,68E+06	5	1,57E+06	4	0,77	1,56E+06	6	0,67	1,46E+06	5	0,25	1,45E+06	9	0,22
790 , 0,496	α -Farneseno	110-38-3	C ₁₅ H ₂₄	1501/ 1501	5,82E+06	5	5,74E+06	2	1,00	5,76E+06	2	1,00	5,40E+06	2	0,40	5,38E+06	6	0,40
795 , 0,592	Sesquiterpeno (m/z 81/41/93)			1508	1,96E+06	6	1,78E+06	4	0,38	1,78E+06	8	0,38	1,68E+06	2	0,14	1,65E+06	4	0,10
815 , 0,512	cis- α -Bisaboleno	2035-99-6	C ₁₅ H ₂₄	1536/ 1511	1,64E+06	1	1,59E+06	4	0,97	1,55E+06	9	0,82	1,53E+06	4	0,74	1,51E+06	6	0,63
815 , 0,680	Sesquiterpeno (m/z 91/41/79)			1537	5,79E+06	3	5,67E+06	2	0,95	5,64E+06	3	0,91	5,57E+06	4	0,74	5,57E+06	3	0,74
835 , 0,672	Nerolidol (isômero)	142-50-7	C ₁₅ H ₂₆ O	1558/ 1564	4,02E+07	6	3,38E+07	5	0,29	3,42E+07	2	0,37	3,00E+07	3	0,04	3,05E+07	1	0,05
920 , 0,720	a-Bisabolol	515-69-5	C ₁₅ H ₂₆ O	1693/ 1693	3,56E+06	5	3,28E+06	7	0,70	3,37E+06	7	0,70	3,07E+06	7	0,29	3,08E+06	7	0,30
950 , 0,520	Farnesol	4602-84-0	C ₁₅ H ₂₆ O	1739/ 1722	1,55E+06	6	1,36E+06	6	0,24	1,35E+06	8	0,22	1,31E+06	6	0,13	1,28E+06	2	0,10

Ao analisar as tabelas 16 a 21 verifica-se que, na sua maioria, os compostos identificados nos vinhos sujeitos a estabilização tartárica sofrem uma ligeira diminuição no valor da área, quando comparadas com as áreas obtidas relativamente à análise do vinho testemunha. Analisando a variação das áreas dos ésteres identificados nos diferentes vinhos, é possível ver que apesar de se verificar, geralmente, uma diminuição das áreas com o aumento do volume de vinho permutado, apenas se verificaram diferenças significativas no acetato de 3-heneno e um éster não identificado no vinho rosé e no metilpropanoato de 3-metilbutilo no ensaio com 25% de vinho permutado para o vinho tinto. Quanto aos terpenos verifica-se, no geral a diminuição, sendo que a variação é significativa apenas nos casos do β -ciclocitral no ensaio de estabilização feito para o vinho rosé e no linalol, 4-terpineol e nerolidol para o ensaio com 25% de volume de vinho permutado para o vinho espumante branco. No caso dos terpenos é também importante indicar que se verificaram diminuição mais acentuada nas áreas destes compostos para o vinho branco, onde o aroma tem um papel fundamental na qualidade dos vinhos. Do vinho espumante também é possível verificar que a utilização da carboximetilcelulose não provoca variações significativas na matriz volátil dos vinhos.

Os desvios padrão relativos (RSD%) obtidos encontram-se entre 1 e 18%, sendo que apenas nos resultados obtidos na análise da composição volátil do vinho rosé se encontram desvios padrão relativos superiores a 10%, correspondendo a quase metade dos desvios padrão relativos obtidos (43 em 90). Ainda relativamente ao desvio padrão relativo, nenhum dos grupos de compostos apresenta desvios tipicamente superiores, sendo, no geral obtidos valores próximos para as diferentes classes de compostos.

Tendo em conta os valores analíticos obtidos é de esperar que a utilização das resinas de troca iónica leve a uma diminuição na concentração dos compostos responsáveis pela presença de aroma nos vinhos, destacando-se os terpenos que, por serem os compostos de aromas varietais, acabam por ser mais valorizados, dado que estes permitem garantir um aroma característico aos vinhos.

Tendo em conta os resultados obtidos e o tratamento estatístico aplicado, acaba por se poder concluir que não existem alterações significativas na matriz volátil dos vinhos sujeitos a estabilização tartárica com resinas de troca iónica. No entanto, além da informação retirada destas análises, a realização de provas aos diferentes vinhos pode acrescentar informação útil na caracterização dos diferentes vinhos em estudo.

5.3. Efeito da estabilização com resinas de troca iónica no decurso da fermentação malolática em vinhos tintos

Como se verificou nos subcapítulos anteriores, a utilização das resinas de troca catiónica para a estabilização tartárica provoca alterações significativas em determinados parâmetros dos vinhos. Assim, foram realizados ensaios de estabilização, num vinho tinto de 2013 (VTFM) cuja fermentação malolática ainda não tinha iniciado, por forma a estudar o efeito do uso das resinas na atividade das bactérias lácticas.

A evolução da fermentação malolática foi acompanhada através da determinação da concentração dos ácidos málico e láctico, avaliando a sua variação ao longo do período de fermentação. A determinação destes ácidos foi feita através do FTIR. Apesar de se ter assumido que se encontra descalibrado, o equipamento de FTIR fornece dados que permitem retirar informações qualitativas relativamente à evolução da fermentação malolática. A figura 15 apresenta, para os diferentes vinhos, a evolução das concentrações de ácido málico e láctico ao longo da fermentação malolática.

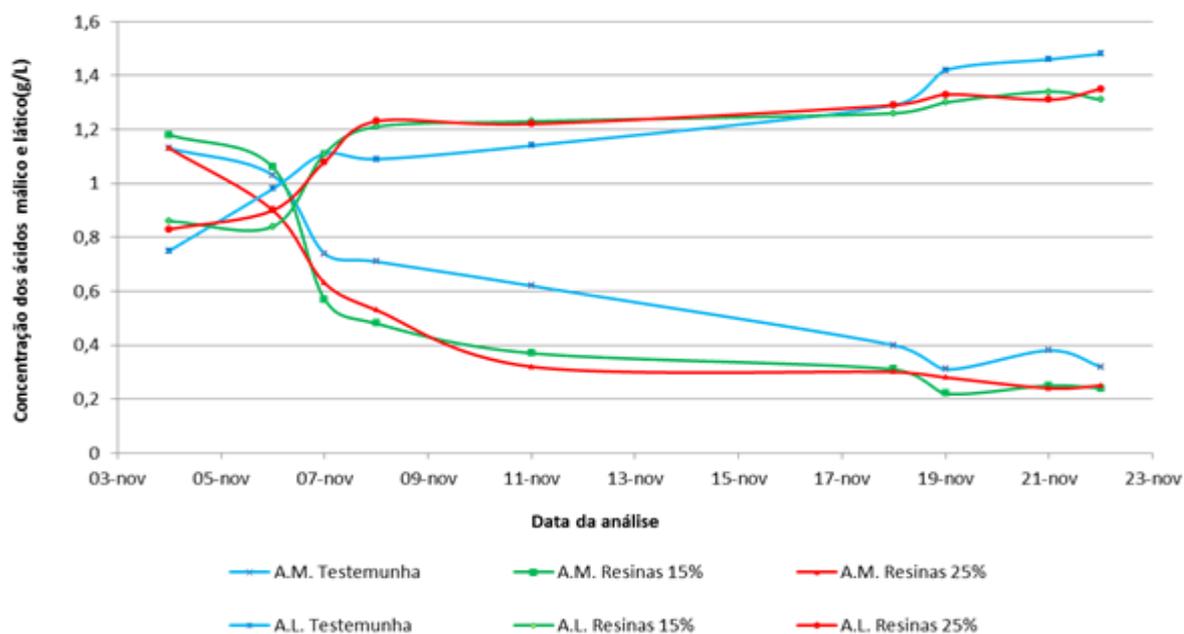


Figura 15- Evolução dos ácidos málico (A.M.) e láctico (A.L.) ao longo da fermentação malolática para os vinhos, testemunha e com diferentes percentagens de vinho permutado.

Na figura 15 é possível verificar que ao longo do período de monitorização da fermentação malolática a variação dos ácidos, málico e láctico é semelhante. Assim pode-se concluir que o uso das resinas de troca iónica nos vinhos não afeta a actividade das bactérias lácticas.

6. Conclusão

No final deste trabalho é possível retirar informação importante, em primeiro lugar relativamente à eficiência das resinas na estabilização tartárica de vinhos e em segundo lugar relativamente aos parâmetros, alvo de estudo na caracterização dos vinhos, que foram mais afetados pelo uso das resinas de troca catiónica para estabilização tartárica.

Relativamente ao grau de instabilidade, apenas três vinhos se apresentavam estáveis. Como o volume máximo de vinho que pode ser permutado para a estabilização com resinas de troca catiónica não pode ser superior a 30% (volumes superiores provocam variações elevadas nas características dos vinhos), é necessário, antes de um ensaio de estabilização, verificar o seu grau de instabilidade. Assim, é possível determinar a percentagem aproximada de vinho necessária para garantir a sua estabilidade e se esta pode ser obtida com volume inferior ao máximo permitido.

As resinas regeneradas em solução ácida usadas na estabilização tartárica dos vinhos cedem catiões de hidrogénio ao vinho resultando, como consequências primárias, na diminuição do pH e da concentração de catiões no vinho. O aumento da concentração dos catiões de hidrogénio livres em solução leva a uma alteração secundária, o aumento da concentração da fração de ácido tartárico. Quanto ao teor alcoólico, a variação não é acentuada, existindo tendência para uma diminuição pouco significativa nos vinhos resultantes da estabilização tartárica com as resinas de troca catiónica. Verifica-se, também, que existem variações significativas em algumas características da cor dos vinhos quando sujeitos a estabilização tartárica e que, relativamente à matriz volátil dos vinhos, existe, existe, no geral, tendência para uma diminuição, apesar de estatisticamente significativa num número reduzido de compostos. Estas variações na cor e na matriz volátil vão de encontro com a literatura, pois era de esperar que a diminuição do pH para a cor e a hidrofobicidade da matriz das resinas para ambos parâmetros poderiam provocar alterações analiticamente detetáveis. Tendo em conta que o vinho é um produto para consumo humano, a sua caracterização através de provas seria uma ferramenta com potencial interesse para fornecer informação relevante na distinção entre os vinhos testemunha e os respetivos ensaios de estabilização.

As resinas de troca iónica apresentam-se como uma alternativa na estabilização tartárica com potencial pois, em certos vinhos, pode permitir a sua estabilização através de um procedimento rápido e pouco dispendioso.

Bibliografia

- (1) IDEALDRINKS <http://www.idealdrinks.com/pt/idealdrinks/>.
- (2) Regulamento da Denominação de Origem Controlada da Bairrada. Decreto-Lei n.º 70/91, 1991.
- (3) GARCIA, A. S. C. *Controlo de Qualidade dos Vinhos: Química Enológica e Métodos Analíticos*; Instituto da Vinha e do Vinho: Lisboa, Portugal, 1988.
- (4) Ribéreau-Gayon, P.; Dubourdieu, D.; Dòneche, B.; Lonvaud, A. *Handbook of Enology Volume 2 The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments*; 2nd ed.; John Wiley & Sons, Ltd.: Chichester, U.K., 2006.
- (5) Rodrigues, S. M.; Otero, M.; Alves, A. A.; Coimbra, J.; Coimbra, M. a.; Pereira, E.; Duarte, A. C. Elemental analysis for categorization of wines and authentication of their certified brand of origin. *J. Food Compos. Anal.* **2011**, *24*, 548–562.
- (6) Oliveira, S. M.; Lopes, T. I. M. S.; Tóth, I. V.; Rangel, A. O. S. S. Simultaneous determination of tartaric acid and potassium in wines using a multicommuted flow system with dialysis. *Talanta* **2010**, *81*, 1735–1741.
- (7) Jordão, A. M.; Gonçalves, F. J.; Correia, A. C.; Cantão, J.; Rivero-Pérez, M. D.; González Sanjosé, M. L. Proanthocyanidin content, antioxidant capacity and scavenger activity of Portuguese sparkling wines (Bairrada Appellation of Origin). *J. Sci. Food Agric.* **2010**, *90*, 2144–2152.
- (8) Pinho, L. N. S. Controlo de Qualidade em vinhos- Análises Físico-Químicas. Dissertação de Mestrado, Instituto Politécnico de Castelo Branco, Castelo Branco, 2001.
- (9) Andrade, A.; Almeida, C.; Carvalheira, J.; Dias, J. P. *Aspectos agronómicos de algumas castas tintas do actual encepamento da Bairrada*; Estação vitivinícola da Bairrada; Anadia, 2003
- (10) Rogério, de Castro; Casimiro, Gomes; Carlos, Rodrigues; Joana de Castro; Sandra, Alberto; Fernando, Ribeiro; Ana, Rodrigues; Manuel, A. Baptista; Manuel, Botelho; Amândio, C. In *7º Simpósio de Vitivinicultura do Alentejo*; 2005; Vol. 1, pp. 285–297.
- (11) Lopes, C. M. A. Influência dos Sistemas de Condução no Microclima do Coberto, Vigor e Produtividade da videira (*vitis vinifera* L.). Dissertação de Doutoramento, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 1994.
- (12) Andrade, A.; Cruz, A.; Batista, M. A.; Dias-Cardoso, A.; Castro, R. de. *Características agronómicas e enológicas da casta бага, em diferentes sistemas de condução*; Estação vitivinícola da Bairrada; Anadia, 2007.
- (13) Cardoso, A. D. Tecnologia dos Vinhos de Base para os Espumantes da Bairrada - As Castas Regionais. *G.A.P.A.R.- Divisão de Documentação e Informação*, 1990, 9.
- (14) Coelho, E.; Rocha, S. M.; Barros, A. S.; Delgadillo, I.; Coimbra, M. a. Screening of variety- and pre-fermentation-related volatile compounds during ripening of white grapes to define their evolution profile. *Anal. Chim. Acta* **2007**, *597*, 257–264.

- (15) Sarmento, M. R.; Oliveira, J. C.; Slatner, M.; Boulton, R. B. Influence of intrinsic factors on conventional wine protein stability tests. *Food Control* **2000**, *11*.
- (16) Alves, A. de A. Estudo e validação de um método de quantificação de elementos em vinho. Dissertação de Mestrado, Universidade de Aveiro, Aveiro, 2009.
- (17) Nunes, M. D. A. A electrodiálise na estabilidade tartárica dos vinhos - comparação com o método clássico. Dissertação de Mestrado, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2009.
- (18) Andrade, M. C. Estabilização tartárica de vinhos tintos por combinação de nanofiltração e permuta catiónica. Dissertação de Mestrado, Universidade Católica Portuguesa, Lisboa, 2012.
- (19) Rodrigues, A.; Ricardo-Da-Silva, J. M.; Lucas, C.; Laureano, O. Effect of commercial mannoproteins on wine colour and tannins stability. *Food Chem.* **2012**, *131*, 907–914.
- (20) Almeida, A. F. D. de. Contributo para o estudo do comportamento vitícola e enológico da casta Camarate sob diferentes técnicas de manutenção do solo. Dissertação de Licenciatura Universidade dos Açores, Açores 2002.
- (21) Herbert, P.; Cabrita, M. J.; Ratola, N.; Laureano, O.; Alves, A. Free amino acids and biogenic amines in wines and musts from the Alentejo region. Evolution of amines during alcoholic fermentation and relationship with variety, sub-region and vintage. *J. Food Eng.* **2005**, *66*, 315–322.
- (22) Coimbra, M. A.; Cardoso, A. D.; Carvalheira, J.; Rocha, S. . *Tecnologia dos Vinhos Tintos*; D.R.A. Beira Litoral, Ed.; 1ª Ed.; Coimbra, Portugal, 2005.
- (23) Cruz, A.; Botelho, M.; Prior, P.; Castro, R. de. *Soil management and basal leaf removal effects on microclimate, yield, fruit composition on the portuguese vine variety "Fernão Pires" in Bairrada region* in XV International Symposium GESCO; Porec, Croatia 2005; Vol. 2.
- (24) Santos, P. C. Dos; Gonçalves, F.; De Pinho, M. . Optimisation of the method for determination of the temperature of saturation in wines. *Anal. Chim. Acta* **2002**, *458*, 257–261.
- (25) Alves, M. C. Caracterização Química de quatro castas produtoras de vinho do porto durante a maturação- estudo dos açúcares, ácidos orgânicos e aminoácidos livres. Dissertação de Doutoramento, Universidade do Porto, Porto 1992.
- (26) Chardonnet, B. D. et C. Evolution et localisation des principaux cations au cours du développement du raisin. *Vitis* **1992**, *31*, 175–181.
- (27) Ribéreau-Gayon, P.; Dubourdieu, D.; Dòneche, B.; Lonvaud, A. *Handbook of Enology Volume 1 The Microbiology of Wine and Vinifications*; 2nd ed.; John Wiley & Sons, Ltd: Chichester, 2006; Vol. 1.
- (28) Lapa, R. A. S.; Lima, L. F. C.; Santos, J. L. M. Determination of calcium , magnesium , sodium and potassium in wines by FIA using an automatic zone sampling system. *Elsevier* **1996**, *55*.
- (29) Zoecklein, B. A Review of Potassium Bitartrate Stabilization of Wines, 1988.
- (30) Low, L. L. Evaluation of tartrate stabilisation technologies for wine industry. Dissertação de Doutoramento, University of Adelaide, Adelaide 2007.

- (31) Atkins, P.; Jones, L. *Princípios de Química- Questionando a vida moderna e o meio ambiente*; 3ª ed.; Bookman: Porto Alegre, Brasil 2007.
- (32) Gómez Benítez, J.; Palacios Macías, V. M.; Veas López, R.; Valcarcel Muñoz, M.; Pérez Rodríguez, L. Characterization, control and improvement of the cold treatment of Sherry wines *Food Control* **2004**, *15*, 111–116.
- (33) A., Maujean; L., Sausy; D., Vallee. Détermination de la sursaturation en bitartrate de potassium d'un vin. Quantification des effets colloïdes-protecteurs. *Revue Franç. d'oenol. (cahier scientifique)* **1985**, *100*, 39-45.
- (34) Boulton, R. B.; Singleton, V. L.; Bisson, L. F.; Kunkee, R. E. *Principles and Practices of Winemaking*; Springer, Berlin, Germany 1998.
- (35) Abguéguen, O.; Boulton, R. B. The Crystallization Kinetics of Calcium Tartrate From Model Solutions and Wines *Am. J. Enol. Vitic.* **1993**, *44*, 65–75.
- (36) Flanzy, C. et al. *Oenologie : fondements scientifiques et technologiques*; Tec & Doc Lavoisier, 1988.
- (37) Jackson, R. S. *Wine Science, Third Edition: Principles and Applications (Food Science and Technology)*; Academic Press, Waltham, U.S.A. 2008; p. 776.
- (38) Zoecklein, B.; Fugelsang, K. C.; Gump, B. H.; Nury, F. S. *Wine Analysis & Production*; Springer, Berlin, Germany 1995.
- (39) Dharmadhikari, B. M. *Methods for Tartrate Stabilization of Wine. Vineyard and Vintage View*, 1994.
- (40) Lasanta, C.; Gómez, J. Tartrate stabilization of wines *Trends Food Sci. Technol.* **2012**, *28*, 52–59.
- (41) Guise, R.; Filipe-Ribeiro, L.; Nascimento, D.; Bessa, O.; Nunes, F. M.; Cosme, F. Comparison between different types of carboxymethylcellulose and other oenological additives used for white wine tartaric stabilization. *Food Chem.* **2014**, *156*, 250–257.
- (42) Rodriguez-Clemente, R.; Correa-Gorospe, I. Structural, Morphological, and Kinetic Aspects of Potassium Hydrogen Tartrate Precipitation from Wines and Ethanolic Solutions *Am. J. Enol. Vitic.* **1988**, *39*, 169–179.
- (43) CRACHEREAU, J. C.; GABAS, N.; BLOUIN, J.; HEBRARD, B.; MAUJEAN, A. In *Bulletin de l'OIV*; Office international de la vigne et du vin, 2001; Vol. 74, pp. 151–159.
- (44) Gonçalves, F.; Fernandes, C.; Cameira dos Santos, P.; de Pinho, M. N. Wine tartaric stabilization by electrodialysis and its assessment by the saturation temperature *J. Food Eng.* **2003**, *59*, 229–235.
- (45) Lasanta, C.; Caro, I.; Pérez, L. The influence of cation exchange treatment on the final characteristics of red wines *Food Chem.* **2013**, *138*, 1072–1078.
- (46) Bruijn, J. De; Valdebenito, A.; Loyola, C.; Serra, I.; Salazar, F.; López, F. Continuous stabilization of chardonnay with ion-exchange resin : influence on protein and phenolic profiles of wine *Chilean J. of Agric. Research* **2009**, *69*, 54–59.

- (47) Lasanta, C.; Caro, I.; Pérez, L. Theoretical model for ion exchange of iron (III) in chelating resins: Application to metal ion removal from wine *Chem. Eng. Sci.* **2005**, *60*, 3477–3486.
- (48) Benítez, P.; Castro, R.; Barroso, C. G. Removal of iron, copper and manganese from white wines through ion exchange techniques: effects on their organoleptic characteristics and susceptibility to browning *Anal. Chim. Acta* **2002**, *458*, 197–202.
- (49) Helena Mira, Patricia Leite, Jorge Silva, A. S. C.-G. *Resinas permutadoras de iões para estabilização tartárica de vinhos* in 6º Simpósio de Vitivinicultura do Alentejo, Alentejo 2004. pp15
- (50) J. Mourgues. Utilisation des résines échangeuses d'ions. *Revue des Oenologues* **1993**, *69*, 51–54.
- (51) *International œnological codex*; International organization of vine and wine: Paris, 2013.
- (52) Flanzy, C. et al. *Oenologie : fondements scientifiques et technologiques*; Tec & Doc Lavoisier, 1988.
- (53) International Organisation of Vine and Wine. *Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis, Volume 1*; Paris, 2014; p. 497.
- (54) Curvelo-Garcia, A. S. *Controlo de qualidade dos vinhos: química enológica - métodos analíticos*; Instituto da Vinha e do Vinho, Lisboa 1988.
- (55) Aceto, M.; Abollino, O.; Bruzzoniti, M. C.; Mentasti, E.; Sarzanini, C.; Malandrino, M. Determination of metals in wine with atomic spectroscopy (flame-AAS, GF-AAS and ICP-AES); a review. *Food Addit. Contam.* **2002**, *19*, 126–133.
- (56) García-Marino, M.; Escudero-Gilete, M. L.; Heredia, F. J.; Escribano-Bailón, M. T.; Rivas-Gonzalo, J. C. Color-copigmentation study by tristimulus colorimetry (CIELAB) in red wines obtained from Tempranillo and Graciano varieties *Food Res. Int.* **2013**, *51*, 123–131.
- (57) Cavalcanti, R. N.; Santos, D. T.; Meireles, M. A. A. Non-thermal stabilization mechanisms of anthocyanins in model and food systems—An overview *Food Res. Int.* **2011**, *44*, 499–509.
- (58) Santos, M. C.; Nunes, C.; Rocha, M. A. M.; Rodrigues, A.; Rocha, S. M.; Saraiva, J. a.; Coimbra, M. a. Impact of high pressure treatments on the physicochemical properties of a sulphur dioxide-free white wine during bottle storage: Evidence for Maillard reaction acceleration *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* **2013**, *20*, 51–58.
- (59) Rapp, A. Volatile flavour of wine: correlation between instrumental analysis and sensory perception. *Nahrung* **1998**, *42*, 351–363.
- (60) Rocha, S. M.; Coelho, E.; Zrostlíková, J.; Delgadillo, I.; Coimbra, M. a. Comprehensive two-dimensional gas chromatography with time-of-flight mass spectrometry of monoterpenoids as a powerful tool for grape origin traceability. *J. Chromatogr. A* **2007**, *1161*, 292–299.
- (61) Perestrelo, R.; Barros, A. S.; Câmara, J. S.; Rocha, S. M. In-depth search focused on furans, lactones, volatile phenols, and acetals as potential age markers of Madeira wines by comprehensive two-dimensional gas chromatography with time-of-flight mass spectrometry combined with solid phase microextraction. *J. Agric. Food Chem.* **2011**, *59*, 3186–3204.

- (62) Coelho, E.; Coimbra, M. a; Nogueira, J. M. F.; Rocha, S. M. Quantification approach for assessment of sparkling wine volatiles from different soils, ripening stages, and varieties by stir bar sorptive extraction with liquid desorption. *Anal. Chim. Acta* **2009**, *635*, 214–221.
- (63) Górecki, T.; Panić, O.; Oldridge, N. Recent Advances in Comprehensive Two Dimensional Gas Chromatography (GC×GC) *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* **2006**, *29*, 1077–1104.
- (64) Zrostlíková, J.; Hajšlová, J.; Čajka, T. Evaluation of two-dimensional gas chromatography–time-of-flight mass spectrometry for the determination of multiple pesticide residues in fruit. *J. Chromatogr. A* **2003**, *1019*, 173–186.
- (65) Moreira, J. L.; Santos, L. Spectroscopic interferences in Fourier transform infrared wine analysis *Anal. Chim. Acta* **2004**, *513*, 263–268.
- (66) Versari, A.; Laurie, V. F.; Ricci, A.; Laghi, L.; Parpinello, G. P. Progress in authentication, typification and traceability of grapes and wines by chemometric approaches *Food Res. Int.* **2014**, *60*, 2–18.
- (67) Bauer, R.; Nieuwoudt, H.; Bauer, F. F.; Kossmann, J.; Koch, K. R.; Esbensen, K. H. FTIR Spectroscopy for Grape and Wine Analysis *Anal. Chem.* **2008**, *80*, 1371–1379.
- (68) Helena Mira, Patrícia Leite, A. S.; Curvelo-Garcia, J. M. R. da S. Use of ion exchange resins for tartrate wine stabilization. *J. Int. Sci. Vigne Vin.* **2006**, *40*, 223–246.
- (69) Somers, T. C. The polymeric nature of wine pigments. *Phytochemistry* **1971**, *10*, 2175–2186.
- (70) Bakker, J.; Bridle, P.; Honda, T.; Kuwano, H.; Saito, N.; Terahara, N.; Timberlake, C. F. Identification of an anthocyanin occurring in some red wines. *Phytochemistry* **1997**, *44*, 1375–1382.
- (71) Håkansson, A. E.; Pardon, K.; Hayasaka, Y.; de Sa, M.; Herderich, M. Structures and colour properties of new red wine pigments. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 4887–4891.
- (72) Fulcrand, H.; dos Santos, P.-J. C.; Sarni-Manchado, P.; Cheynier, V.; Favre-Bonvin, J. J. Structure of new anthocyanin-derived wine pigments. *Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1996**, 735.
- (73) Mateus, N.; Silva, A. M. S.; Vercauteren, J.; de Freitas, V. Occurrence of Anthocyanin-Derived Pigments in Red Wines. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 4836–4840.
- (74) Remy, S.; Moutounet, M. First confirmation in red wine of products resulting from direct anthocyanin – tannin reactions. *J. Sci. Food Agric.* **2000**, *751*, 745–751.
- (75) Salas, E.; Fulcrand, H.; Meudec, E.; Cheynier, V. Reactions of anthocyanins and tannins in model solutions. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 7951–7961.
- (76) Eiro, M. J.; Heinonen, M. Anthocyanin Color Behavior and Stability during Storage: Effect of Intermolecular Copigmentation *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 7461–7466.
- (77) Boulton, R. The Copigmentation of Anthocyanins and Its Role in the Color of Red Wine: A Critical Review. *Am. J. Enol. Vitic.* **2001**, *52*, 67–87.

- (78) Heredia, F. .; Francia-Aricha, E. .; Rivas-Gonzalo, J. .; Vicario, I. .; Santos-Buelga, C. Chromatic characterization of anthocyanins from red grapes—I. pH effect. *Food Chem.* **1998**, *63*, 491–498.
- (79) Reynolds, A. G.; Heuvel, J. E. Vanden. Influence of Grapevine Training Systems on Vine Growth and Fruit Composition: A Review. *Am. J. Enol. Vitic.* **2009**, *60*, 251–268.
- (80) Morais, N. C. G. C. Evolução de precursores de aroma, proteínas e compostos fenólicos ao longo da maturação de uvas de castas portuguesas no Alentejo. Dissertação de Mestrado, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa 2010.
- (81) Dias, C. A. F. Avaliação de taninos condensados , antocianinas e precursores de aroma ao longo da maturação em castas tintas : Efeito da altitude da vinha. Dissertação de Mestrado, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa 2011.
- (82) M. Carmen Polo, M. A. Victori; *Wine Chemistry and Biochemistry*; Springer, Berlin, Germany New York, 2009
- (83) De Freitas, V. A.; Ramalho, P. S.; Azevedo, Z.; Macedo, A. Identification of some volatile descriptors of the rock-rose-like aroma of fortified red wines from douro demarcated region. *J. Agric. Food Chem.* **1999**, *47*, 4327–4331.
- (84) Pérez-Prieto, L. J.; López-Roca, J. M.; Gómez-Plaza, E. Differences in major volatile compounds of red wines according to storage length and storage conditions. *J. Food Compos. Anal.* **2003**, *16*, 697–705.
- (85) Field, A. *Discovering statistics using SPSS*, 3rd edition; SAGE Publications Ltd: London, 2009.
- (86) Rembold, H.; Wallner, P.; Nitz, S.; Kollmannsberger, H.; Drawert, F. Volatile components of chickpea (*Cicer arietinum* L.) seed. *J. Agric. Food Chem.* **1989**, *37*, 659–662.
- (87) Fan, W.; Qian, M. C. Characterization of aroma compounds of chinese “Wuliangye” and “Jiannanchun” liquors by aroma extract dilution analysis. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 2695–2704.
- (88) Raffo, A.; Kelderer, M.; Paoletti, F.; Zanella, A. Impact of innovative controlled atmosphere storage technologies and postharvest treatments on volatile compound production in cv. Pinova apples. *J. Agric. Food Chem.* **2009**, *57*, 915–923.
- (89) Pino, J. A.; Mesa, J.; Muñoz, Y.; Martí, M. P.; Marbot, R. Volatile components from mango (*Mangifera indica* L.) cultivars. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 2213–2223.
- (90) Xu, Y.; Fan, W.; Qian, M. C. Characterization of aroma compounds in apple cider using solvent-assisted flavor evaporation and headspace solid-phase microextraction. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 3051–3057.
- (91) Ledauphin, J.; Guichard, H.; Saint-Clair, J.-F.; Picoche, B.; Barillier, D. Chemical and sensorial aroma characterization of freshly distilled Calvados. 2. Identification of volatile compounds and key odorants. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 433–442.
- (92) Balbontín, C.; Gaete-Eastman, C.; Vergara, M.; Herrera, R.; Moya-León, M. A. Treatment with 1-MCP and the role of ethylene in aroma development of mountain papaya fruit. *Postharvest Biol. Technol.* **2007**, *43*, 67–77.

- (93) Fan, W.; Qian, M. C. Identification of aroma compounds in Chinese “Yanghe Daqu” liquor by normal phase chromatography fractionation followed by gas chromatography[sol]olfactometry. *Flavour Fragr. J.* **2006**, *21*, 333–342.
- (94) Setkova, L.; Risticovic, S.; Pawliszyn, J. Rapid headspace solid-phase microextraction-gas chromatographic-time-of-flight mass spectrometric method for qualitative profiling of ice wine volatile fraction. I. Method development and optimization. *J. Chromatogr. A* **2007**, *1147*, 213–223.
- (95) Courtois, E. A.; Paine, C. E. T.; Blandinieres, P.-A.; Stien, D.; Bessiere, J.-M.; Houel, E.; Baraloto, C.; Chave, J. Diversity of the volatile organic compounds emitted by 55 species of tropical trees: a survey in French Guiana. *J. Chem. Ecol.* **2009**, *35*, 1349–1362.
- (96) Jalali, H. T.; Petronilho, S.; Villaverde, J. J.; Coimbra, M. A.; Domingues, M. R. M.; Ebrahimian, Z. J.; Silvestre, A. J. D.; Rocha, S. M. Assessment of the sesquiterpenic profile of *Ferula gummosa* oleo-gum-resin (galbanum) from Iran. Contributes to its valuation as a potential source of sesquiterpenic compounds. *Ind. Crops Prod.* **2013**, *44*, 185–191.
- (97) Figuéredo, G.; Cabassu, P.; Chalchat, J.-C.; Pasquier, B. Studies of Mediterranean oregano populations. VIII—Chemical composition of essential oils of oreganos of various origins. *Flavour Fragr. J.* **2006**, *21*, 134–139.
- (98) Petronilho, S.; Rocha, S. M.; Ramírez-Chávez, E.; Molina-Torres, J.; Rios-Chavez, P. Assessment of the terpenic profile of *Callistemon citrinus* (Curtis) Skeels from Mexico. *Ind. Crops Prod.* **2013**, *46*, 369–379.
- (99) Silva, I.; Rocha, S. M.; Coimbra, M. A.; Marriott, P. J. Headspace solid-phase microextraction combined with comprehensive two-dimensional gas chromatography time-of-flight mass spectrometry for the determination of volatile compounds from marine salt. *J. Chromatogr. A* **2010**, *1217*, 5511–5521.
- (100) Kebede, B. T.; Grauwet, T.; Tabilo-Munizaga, G.; Palmers, S.; Vervoort, L.; Hendrickx, M.; Van Loey, A. Headspace components that discriminate between thermal and high pressure high temperature treated green vegetables: identification and linkage to possible process-induced chemical changes. *Food Chem.* **2013**, *141*, 1603–1613.
- (101) Priestap, H. A.; van Baren, C. M.; Di Leo Lira, P.; Coussio, J. ; Bandoni, A. L. Volatile constituents of *Aristolochia argentina*. *Phytochemistry* **2003**, *63*, 221–225.
- (102) Djarri, L.; Medjroubi, K.; Akkal, S.; Elomri, A.; Seguin, E.; Groult, M.-L.; Vérité, P. Variability of two essential oils of *Kundmannia sicula* (L.) DC., a traditional Algerian medicinal plant. *Molecules* **2008**, *13*, 812–817.
- (103) Sahari, I. S.; Assim, Z. B. I. N.; Ahmad, F. B.; Jusoh, I. B. I. N. Essential Oils from Fresh Fruits , Fruit Stalks and Stem Barks of Four Piper nigrum Varieties from Sarawak. *Borneo J.Resource Sci. Technol.* **2013**, *3*, 43–51.
- (104) Sarikurkcu, C.; Tepe, B.; Daferera, D.; Polissiou, M.; Harmandar, M. Studies on the antioxidant activity of the essential oil and methanol extract of *Marrubium globosum* subsp. *globosum* (lamiaceae) by three different chemical assays. *Bioresour. Technol.* **2008**, *99*, 4239–4246.

- (105) Zhao, C.; Zeng, Y.; Wan, M.; Li, R.; Liang, Y.; Li, C.; Zeng, Z.; Chau, F.-T. Comparative analysis of essential oils from eight herbal medicines with pungent flavor and cool nature by GC-MS and chemometric resolution methods. *J. Sep. Sci.* **2009**, *32*, 660–670.
- (106) Boussaada, O.; Ammar, S.; Saidana, D.; Chriaa, J.; Chraif, I.; Daami, M.; Helal, A. N.; Mighri, Z. Chemical composition and antimicrobial activity of volatile components from capitula and aerial parts of *Rhaponticum acaule* DC growing wild in Tunisia. *Microbiol. Res.* **2008**, *163*, 87–95.
- (107) Da Porto, C.; Decorti, D.; Kikic, I. Flavour compounds of *Lavandula angustifolia* L. to use in food manufacturing: Comparison of three different extraction methods. *Food Chem.* **2009**, *112*, 1072–1078.
- (108) Choi, H.-S. Character impact odorants of Citrus Hallabong [(*C. unshiu* Marcov x *C. sinensis* Osbeck) x *C. reticulata* Blanco] cold-pressed peel oil. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 2687–2692.
- (109) Adams, R. Identification of essential oil components by gas chromatography quadrupole mass spectroscopy, 4th Edition; Allured Publishing Corporation: Illinois, U.S.A. 2004.
- (110) Povolò, M.; Pelizzola, V.; Ravera, D.; Contarini, G. Significance of the nonvolatile minor compounds of the neutral lipid fraction as markers of the origin of dairy products. *J. Agric. Food Chem.* **2009**, *57*, 7387–7394.
- (111) Scrivanti, L. R.; Anton, A. M.; Zygadlo, J. A. Essential oil composition of *Bothriochloa* Kuntze (Poaceae) from South America and their chemotaxonomy. *Biochem. Syst. Ecol.* **2009**, *37*, 206–213.
- (112) Farhat, A.; Ginies, C.; Romdhane, M.; Chemat, F. Eco-friendly and cleaner process for isolation of essential oil using microwave energy: experimental and theoretical study. *J. Chromatogr. A* **2009**, *1216*, 5077–5085.
- (113) Spaziani Store <http://www.spazianistore.it/catalogo/2/31/Vetreteria-Soffiata/Apparecchiature-in-vetro>.
- (114) L*a*b* Color <http://a-cordosdias.blogspot.pt/2010/12/lab-color.html>.
- (115) Introduction to Solid Phase Micro-Extraction (SPME) http://www.chem.agilent.com/en-US/Newsletters_old/einspirations/2010/june/Pages/techtip.aspx.
- (116) TDI – Tecnología Difusión Ibérica- Productos <http://t-d-i.es/2014/productos/>.

Anexos

Anexo 1- Determinação da saturação em ácido tartárico, potássio e cálcio de alguns vinhos provenientes da região da Bairrada

Tabela 22- Massas molares de potássio, cálcio, hidrogenotartarato, tartarato, hidrogenotartarato de potássio e tartarato neutro de cálcio e solubilidades em g/L e em mmol/L de hidrogenotartarato de potássio e tartarato neutro de cálcio. ^a solubilidade em solução hidroalcoólica a 12% de etanol a 10°C; ^b solubilidade em solução hidroalcoólica a 12% de etanol; ^c.

	K	Ca	HT ⁻	T ²⁻	KHT	CaT
M (g/mol)	39,10	40,08	149,08	148,07	188,18	188,15
Solubilidade (g/L)	-	-	-	-	1,81 ^a	0,27 ^b
Solubilidade (mmol/L)	-	-	-	-	9,62 ^a	1,44 ^b

Para comprovar que a precipitação tartárica é um fenómeno espontâneo nos vinhos, procedeu-se à escolha de dados cujas condições são as menos favoráveis para a ocorrência dessa precipitação (pH baixo e baixas concentrações de potássio e ácido tartárico). Assim foram escolhidos dados de dois estudos, que apresentem valores relativos aos parâmetros acima indicados que correspondem às condições pretendidas. O primeiro estudo (Cruz A. et al²³) refere-se a vinhos produzidos na região da Bairrada a partir da casta Fernão Pires cujos valores de acidez total estão entre os mais baixos, como se pode ver na Tabela 1.

1º estudo (Cruz A. et al²³) - Casta- Fernão Pires

Neste trabalho os autores determinaram valores de pH para vinhos desta casta situados entre 3,11 e 3,27, assim o pH menos favorável à precipitação é pH 3,11. Assim, a pH 3,00 a percentagem de HT⁻ é de 54,00% e a de T²⁻ é de 2,28% (ver Tabela3). Os mesmos autores²³ determinaram as concentrações totais, mínima e máxima de ácido tartárico como sendo 2,80 g/L e 4,07 g/L. Multiplicando essa concentração pelas percentagens de HT⁻ e T²⁻ obtêm-se as concentrações dessas espécies em solução apresentadas na Tabela 23. Nessa mesma tabela são apresentados os valores das concentrações dos iões de potássio e cálcio.

Tabela 23- Concentração, em g/L e mmol/L de potássio, cálcio, hidrogeno tartarato, tartarato, hidrogenotartarato de potássio e tartarato neutro de cálcio. ^a valores calculados para pH 3,20 e concentração de H₂T 2,80g/L; ^b valores calculados a pH 3,20 e concentração de H₂T 4,07g/L.

		Concentração (g/L)	concentração (mmol/L)
K		0,420	10,74
HT		1,512 ^a	10,14 ^a
Ca	Min.	0,055	1,37
	Máx.	0,151	3,77
T	Min.	0,064 ^a	0,43 ^a
	Máx.	0,094 ^b	0,63 ^b

Assumindo que a concentração, em mmol/L, de KHT ou de CaT pode ser considerada como igual à do ião (do sal) que se encontra por defeito, podemos concluir que este vinho se encontra sobressaturado em relação ao KHT mas não em relação ao CaT.

Apresentam-se, a seguir, os mesmos cálculos efectuados com base nos dados retirados de outro estudo, referente a vinhos produzidos na região da Bairrada a partir das castas Aragonês, touriga Nacional e Syrah.

2º estudo (Andrade A. et al⁹) - Castas Aragonês, Touriga Nacional e Syrah

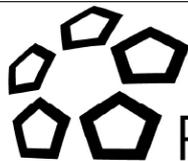
- A pH 3,20 a percentagem de HT^- é de 54,00% e a de T^{2-} é de 2,28% (pH para as castas Touriga nacional e Sirah) e a pH 3,40 a percentagem de HT^- é de 63,40% e a de T^{2-} é de 4,24% (pH para a casta Aragonês);

- As concentrações totais, mínimas e máxima de H_2T para a casta Aragonês são 4,60 e 5,30 g/L, enquanto para a casta Touriga Nacional são 5,20 e 5,80 g/L e para a casta Syrah são 6,00 e 6,60 g/L respectivamente.

Tabela 24- Concentração e número de moles por litro de potássio, cálcio, hidrogeno tartarato, tartarato. ^a pH 3,40 e concentração de H_2T 4,60g/L; ^b pH 3,40 e concentração de H_2T 5,30g/L; ^c pH 3,20 e concentração de H_2T 5,20g/L; ^d pH 3,20 e concentração de H_2T 5,80g/L; ^e pH 3,20 e concentração de H_2T 6,00g/L; ^f pH 3,20 e concentração de H_2T 6,60g/L.

		Concentração (g/L)	Concentração (mmol/L)	
Aragonês	K	0,800	20,46	
	HT	2,916 ^a	19,56 ^a	
	Ca	Min.	0,050	1,25
		Máx.	0,181	4,52
	T	Min.	0,195 ^a	1,31 ^a
		Máx.	0,225 ^b	1,52 ^b
Touriga Nacional	K	0,800	20,46	
	HT	2,808 ^c	18,84 ^c	
	Ca	Min.	0,050	1,25
		Máx.	0,181	4,52
	T	Min.	0,118 ^c	0,80 ^c
		Máx.	0,132 ^d	0,89 ^d
Syrah	K	0,800	20,46	
	HT	3,240 ^e	21,63 ^e	
	Ca	Min.	0,050	1,25
		Máx.	0,181	4,52
	T	Min.	0,136 ^e	0,92 ^e
		Máx.	0,150 ^f	1,02 ^f

Tal como no 1º estudo, verifica-se que todos os vinhos estão sobressaturados em relação ao KHT, mas não em relação ao CaT.

Anexo 2- Ficha técnica das resinas de troca iónica da marca pentacque, modelo vinostab.
Pentacque srl

**Impianti
industriali
per il trattamento
delle acque**

- Consulenza
- Assistenza
- Prodotti chimici
- Analisi

 via Maestri, 11
 25125 Brescia
 tel. +39 030 3539154
 fax +39 030 3542719
 info@pentacquesrl.it
 www.pentacquesrl.it
 part.iva 02405860988

RESIN CATIONIC STAB 1

The resin is a gel type strongly acid cation exchange.

This resin shows a very good resistance to oxidation and excellent resistance to osmotic shocks, important factors when treating solutions of high concentration and viscosity.

Its composition complies with the existing food processing rules and regulations.

TYPICAL CHARACTERISTICS :

Matrix	gel copolymer styrene-dvb
Functional group	sulphonic
Colour and physical form	Yellowish brown transparent beads
Particle size range	0,5 / 1.5 mm
Effective size	0,4 min mm
Uniformity Coefficient	1,6 max
Ionic form at the delivery	Na+ H+
Volume change	+ 9 max % na+ > H+ form
Total exchange capacity	2,4 min eq/l
Water retention	42 / 48
pH stability range	0 / 14
Operating pH range	0/ 14
Operating temperature	100 c° max
Shipping density	850 g/l approx
Standard packaging	25 lt bags

RECOMMENDED OPERATING CONDITIONS

MINIMUM BED DEPTH	900 MM			
Linear operating flowrate	5 – 50 m/h			
backwash expansion	40 – 80 %			
regenerants	HCL	H2SO4	NaCL	
Regenerants level range	40 – 150	60 – 200	80-240	gl/lt
Concentration range	5 – 10	1 – 6	5-12	%
slow rinse volume	1 – 4 bv			
Fast rinse volume	4 – 10 bv			