



**Universidade de Aveiro** Departamento de Química  
2018

**João Pedro Ferreira  
Gomes**

**Validação de um método de extração do 2,4,6-  
tricloroanisol (TCA) de discos e granulados de  
cortiça**





Universidade de Aveiro Departamento de Química  
2018

**João Pedro Ferreira  
Gomes**

**Validação de um método de extração do 2,4,6-  
tricloroanisol (TCA) de discos e granulados de  
cortiça**

Tese apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Biotecnologia, ramo de Industrial e Ambiental, realizada sob a orientação científica do Professor Dr. Armando Jorge Domingues Silvestre, Professor Catedrático do Departamento de Química da Universidade de Aveiro e da Eng. Ana Cristina Lopes Cardoso, Diretora do departamento de Investigação e desenvolvimento da Cork Supply, SA.



## **Júri**

Presidente

Professora Doutora Luísa Alexandra Seuanes Serafim Martins Leal  
Professora auxiliar da Universidade de Aveiro

Arguente

Professor Doutor Mário Manuel Quialheiro Simões  
Professor auxiliar da Universidade de Aveiro

Orientadora

Engenheira Ana Cristiana Lopes Cardoso  
Diretora de I&D, Cork Supply, SA



## **Agradecimentos**

Gostava de agradecer em primeiro lugar à empresa do setor corticeiro que me recebeu e permitiu a realização deste trabalho.

Um agradecimento ao Professor Armando Jorge Domingues Silvestre pela disponibilidade e ajuda ao longo deste ano letivo.

Agradeço ainda aos colaboradores da empresa do setor corticeiro que me acolheu pela ajuda e bons momentos que me proporcionaram.





**palavras-chave**

Cortiça; 2,4,6-tricloroanisol (TCA); Granulados; Discos.

**resumo**

A cortiça é um material natural e uma matéria prima renovável e sustentável, com grande destaque na economia portuguesa. A principal aplicação dada à cortiça é na produção de rolhas para vedação de bebidas alcoólicas. Paralelamente, o mercado de rolhas compostas por aglomerados de cortiça tem aumentado devido a estas serem uma boa solução, principalmente para vinhos de entrada de gama. Contudo, alguns compostos como o TCA, que podem estar presentes na cortiça, ao migrarem para o vinho, podem comprometer a sua qualidade. Neste sentido é de extrema importância o desenvolvimento de métodos de extração do TCA da cortiça que permitam ao setor corticeiro uma maior segurança no produto. O presente trabalho teve o objetivo de avaliar a eficiência de um método de extração de TCA de granulados e discos de cortiça, inicialmente com ensaios à escala laboratorial e, numa fase posterior, a validação dos resultados à escala piloto. Nos ensaios com granulados à escala laboratorial foram obtidos bons resultados de extração de TCA, principalmente quando foram utilizadas temperaturas de 120 °C. Contudo, quando se passou para os ensaios à escala piloto, não se obtiveram os mesmo resultados e o método revelou-se ineficaz. Relativamente aos discos de cortiça, devido à sua heterogeneidade, a eficiência do método foi inconclusiva.



**keywords**

Cork; 2,4,6-trichloroanisole (TCA); Agglomerates; Disk..

**abstract**

Cork is a natural, renewable and sustainable raw material, with great prominence in the Portuguese economy. The main application given to cork is in the production of cork stoppers for alcoholic drinks sealing. Also, the agglomerates cork stoppers market has increased because they are a good solution, especially for cheaper wines. However, some compounds that may be present in cork, such as 2,4,6-trichloroanisole (TCA), can migrate to the wine, damaging its quality. Therefore, it is extremely important to develop TCA extraction methods that allow the cork industry to produce a safer trustworthy product. The present work was meant to evaluate the efficiency of a TCA extraction method from cork granules and disks, initially with tests on a laboratory scale and later on a pilot-scale, in order to validate the results. In the TCA extraction laboratory scale tests, with cork granules, there good results were obtained, mainly at the temperature of 120 °C. However, when the pilot-scale tests were carried out, they revealed this method to be ineffective. In the cork disks tests, due to their heterogeneity, the method proved to be inefficient.



# ÍNDICE

Índice .....	xiii
Índice de figuras .....	xvii
Índice de gráficos.....	xix
Índice de tabelas .....	xxi
Lista de Abreviaturas.....	xxiii
<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>1</b>
1 - Contextualização.....	3
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>5</b>
2.1 - Cortiça.....	7
2.2 - Produção de rolhas .....	9
2.2.1 Processo de produção de rolhas naturais .....	10
2.2.2 Processo de produção de rolhas técnicas .....	12
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>15</b>
3.1 - Cortiça como responsável pela contaminação dos vinhos .....	17
3.2 - Origem e formação do TCA .....	18
3.3 - Prevenção e mitigação/remoção do TCA da cortiça.....	20
3.4 - Interação entre o TCA e a cortiça .....	23
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	<b>25</b>
4.1- Objetivos .....	27
<b>CAPÍTULO 5</b> .....	<b>29</b>
5.1 – Materiais: Discos e granulados de cortiça.....	31
5.2 – Ensaio à escala laboratorial .....	31
5.2.1 – Material utilizado .....	31
5.2.2 – Desenho experimental do processo à escala laboratorial .....	33
5.2.3 - Procedimento experimental dos ensaios à escala laboratorial.....	34
5.3 - Metodologia de análise do TCA .....	35

5.3.1 - Análise estatística da eficiência do método de extração do TCA.....	36
5.4 - Ensaios à escala piloto .....	37
5.4.1 - Amostras de cortiça utilizadas .....	37
5.4.2 - Equipamento utilizado.....	37
5.4.3 - Procedimento .....	38
<b>CAPÍTULO 6</b> .....	39
6.1 - Resultados do TCA libertado referente aos granulados de cortiça .....	41
6.1.1 – Ensaio à escala laboratorial para extração de TCA do granulado de cortiça com calibre 0,5-1 milímetros .....	42
6.1.2 - Ensaio à escala laboratorial para extração de TCA do granulado de cortiça com calibre 1-2 milímetros .....	44
6.1.3 - Ensaio à escala laboratorial para extração de TCA do granulado de cortiça com calibre 3-7 milímetros .....	46
6.1.4 - Otimização do processo de extração do TCA .....	48
6.1.5 - Validação das condições ótimas de extração do TCA.....	50
6.2 - Resultados de extração de TCA do granulado com calibre 3-7milímetros à escala piloto.....	53
6.3 - Ensaio à escala laboratorial para extração de TCA de discos de cortiça .....	55
<b>CAPÍTULO 7</b> .....	57
7 – Conclusão .....	59
<b>Bibliografia</b> .....	61
Bibliografia.....	62
Anexo I – Tabela de ensaios à Escala laboratorial com granulados 0,5-1 milímetros...	65
Anexo II – Tabela de ensaios à escala laboratorial .....	66
com granulados 1-2milímetros .....	66
Anexo III – Tabela de ensaios à escala laboratorial com granulados 3-7milímetros .....	67
Anexo IV – Tabela de ensaios à escala laboratorial discos de cortiça .....	68

Anexo V – Evolução do ponto de ebulição do TCA, em estado puro, com o aumento da pressão. <sup>32</sup> ..... 69





## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Distribuição mundial do Sobreiro. Fonte APCOR .....	7
Figura 2 – Descortiçamento de cortiça amadia, Fonte APCOR .....	8
Figura 3 - Cortiça amadia em corte transversal, Fonte APCOR .....	8
Figura 4 - Estrutura da cortiça observada a microscopia eletrónica de varrimento. <sup>5</sup> .....	9
Figura 5 – Esquematização das várias etapas para a produção de rolhas naturais e rolhas técnicas. ....	10
Figura 6 - Esquema do processo de transformação de cortiça em rolhas naturais, Fonte APCOR.....	11
Figura 7 - Aparas de cortiça, resultado da produção de rolhas naturais <sup>12</sup> .....	12
Figura 8 - Corpo da rolha técnica, Fonte APCOR.....	13
Figura 9 - Representação estrutural do 2,4,6-tricloroanisol (TCA).....	17
Figura 10 - Exemplos de alguns dos possíveis mecanismos de formação do TCA. <sup>19</sup> ....	19
Figura 11 - Via principal da biossíntese de 2,4,6-tricloroanisol (2,4,6-TCA) a partir 2,4,6-triclorofenol (2,4,6-TCP), reação catalisada pelo clorofenol O-metiltransferase (CPOMTs) <sup>23</sup> .....	20
Figura 12 - Esquema da dessorção entre TCA e cortiça.....	24
Figura 13 - Esquema das etapas a realizar com os granulados e discos de cortiça, com objetivo de promover a dessorção de TCA. ....	28
Figura 14 – Discos de cortiça utilizados para os ensaios à escala laboratorial. ....	31
Figura 15 - Granulados 0,5-1; 1-2; 3-7mm (esquerda para a direita), utilizado para os ensaios à escala laboratorial. ....	31
Figura 16 - A - Reator utilizado nos ensaios à escala laboratorial; B – Sistema de aquecimento do reator .....	32
Figura 17 - Esquematização do equipamento utilizado para os ensaios de extração de TCA à escala piloto .....	37
Figura 18 - Gráficos de otimização dos resultados de extração do TCA para os granulados 0,5-1mm. ....	48

Figura 19 - Gráficos de otimização dos resultados de extração do TCA para os granulados 1-2mm. ....	48
Figura 20 - Gráficos de otimização dos resultados de extração do TCA para os granulados 3-7 mm. ....	49

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Resultados de extração do TCA obtidos da cortiça tratada nos ensaios à escala laboratorial com granulados 0,5-1mm. ....	42
Gráfico 2 - Resultados de extração do TCA obtidos da cortiça tratada nos ensaios à escala laboratorial com granulados 1-2mm .....	44
Gráfico 3 - Resultados obtidos da cortiça tratada nos ensaios de extração do TCA à escala laboratorial com granulados 3-7mm. ....	46
Gráfico 4 A - Valores de R-TCA dos granulados após processo de extração do TCA nas condições determinadas como ótimas com granulado de contaminação inicial de 1,2ng/L.....	50
Gráfico 5 B - Valores de R.TCA dos granulados após processo de extração do TCA nas condições determinadas como ótimas, com granulado de contaminação inicial de 15,6 ng/L (V-3-7mm). ....	51
Gráfico 6 - Resultados de extração do TCA obtidos após realização dos ensaios à escala piloto.....	53
Gráfico 7 - Gráfico de barras relativo aos resultados de extração de TCA obtidos após ensaio à escala laboratorial com discos de cortiça. ....	55



## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Limites mínimo e máximo de temperatura, tempo e pressão utilizados para o DoE.....	33
Tabela 2 -Desenho experimental com as condições de tratamento das amostras, obtido com o software estatístico Minitab 18.....	34
Tabela 3 - Valor de R-TCA inicial dos granulados utilizados nos ensaios .....	41
Tabela 4 - Resultados do teste One-way ANOVA aplicado a cada uma das variáveis em função do R-TCA Final .....	43
Tabela 5 - Resultados do teste One-way ANOVA aplicado a cada uma das variáveis em função do R-TCA Final.....	45
Tabela 6 - Resultados do teste One-way ANOVA aplicado a cada uma das variáveis em função do R-TCA Final.....	47
Tabela 7 - Valores determinados para a otimização do processo de extração de TCA das várias gamas de granulado.....	49
Tabela 8 - Percentagens de extração do TCA obtidas nos ensaios utilizando as condições consideradas ótimas.....	51
Tabela 9 - Percentagens de extração do TCA obtidos após ensaios realizados à escala piloto.....	53
Tabela 10 - Valores de R-TCA inicial dos discos de cortiça.....	55
Tabela 11 - Resultados do teste One-way ANOVA aplicado a cada uma das variáveis em função do TCA Final .....	56



## LISTA DE ABREVIATURAS

TCA	2,4,6 tricloroanisol
TCP	2,4,6 triclorofenol
CIPR	Código internacional de Práticas Rolheiras
CPOMT	Clorofenol O-metiltransferase
CTCOR	Centro Tecnológico da Cortiça
DIAM	DIAMANT technological process
DoE	Desenho Experimental
HS-SPME	Microextração em fase sólida por espaço de cabeça
GC-MS	Cromatografia acoplada à espectrometria de massa
ECD	Detetor de captura eletrónica
TCA-D <sup>5</sup>	2,4,6 tricloroanisol deuterado
PDMS	Polidimetilsiloxano





# **CAPÍTULO 1**

## **CONTEXTUALIZAÇÃO**



## 1 - CONTEXTUALIZAÇÃO

Portugal é líder mundial na produção e exportação de cortiça, muito favorecido pela sua localização geográfica, mas também pelo esforço contínuo para o seu desenvolvimento deste setor.<sup>1</sup> Por outro lado, Portugal é ainda o quarto maior importador mundial de cortiça, com o objetivo de a transformar e voltar a exportar sob a forma de produtos finais. Os principais produtos de cortiça exportados (70,1%) são as rolhas de cortiça, seguidas de produtos para aplicação no setor da construção civil.<sup>2</sup> Este setor emprega cerca de nove mil trabalhadores, distribuídos por quase 650 empresas, a maioria no norte do país, e produz, diariamente, cerca de 40 milhões de rolhas.<sup>2</sup>

Em 2016, o setor corticeiro atingiu um novo máximo histórico no que respeita a exportações, com um valor de 937,5 milhões de euros, correspondentes a 7,5% dos bens exportados em Portugal. O crescimento deste setor nas exportações em 2017 não abrandou, registando-se até agosto de 2017 um aumento de 4% face a 2016.<sup>2</sup>

Com o elevado impacto económico do setor da cortiça na economia nacional, é importante apostar na melhoria contínua dos produtos comercializados. Desta forma, é fundamental elevar o valor e qualidade da cortiça, tornando assim este material natural, reciclável e renovável, um produto cada vez mais competitivo.

Este trabalho vai-se focar na principal finalidade que se dá à cortiça, a produção de rolhas. Dentro da vasta gama de rolhas existentes, as rolhas naturais surgem como o produto de excelência da indústria da cortiça; contudo, a produção de rolhas a partir de granulados de cortiça tem ganhado cada vez mais importância, bem como o estudo dos múltiplos parâmetros que influenciam a sua qualidade e performance. Estas são uma solução funcional e económica, e a sua utilização tem ganhado cada vez mais clientes. A sua produção, a partir dos desperdícios de cortiça, coloca a indústria corticeira na liderança do desenvolvimento com uma economia circular, fundamental para o futuro das empresas.

O principal objetivo das rolhas é conter e preservar o estado de bebidas em garrafa, tipicamente o vinho; portanto, as rolhas não devem possuir contaminantes com capacidade de migrarem e degradarem a qualidade do produto. Dentro destes contaminantes surge com especial destaque o 2,4,6-tricloroanisol (TCA), muito devido à sua perceção nas bebidas em concentrações extremamente baixas.

O presente trabalho tem como objetivo implementar e validar uma técnica de extração de TCA de discos e granulados de cortiça por dessorção térmica a baixa pressão. Desta forma, ir-se-á tentar perceber a interação entre o TCA e a cortiça nos parâmetros avaliados, nomeadamente temperatura, tempo de processo e pressão. Este estudo pretende assim contribuir para uma melhor compreensão deste possível processo de extração do TCA.

# **CAPÍTULO 2**

## **A CORTIÇA E AS SUAS PROPRIEDADES**



## 2.1 - CORTIÇA

A cortiça é extraída do tronco da espécie *Quercus suber L.* normalmente designada por sobreiro. Esta árvore cresce em regiões mediterrâneas tais como Portugal, Espanha, Itália, França, Marrocos e Argélia. Em Portugal existem cerca de 716 mil hectares de plantio desta espécie, designada por montado de sobreiro que, além do valor económico, constitui uma importante barreira à desertificação (Figura 1). Por outro lado, os montados, predominantemente encontrados perto das zonas secas do mediterrâneo, são ecossistemas muito ricos onde sobrevivem diversas espécies animais, demonstrando assim que é possível assegurar a exploração de um recurso natural, sem pôr em causa a sustentabilidade e preservação dos ecossistemas.<sup>3</sup>

O sobreiro é uma das poucas árvores que possui a capacidade de regeneração da sua casca. Vivendo, em média, 150 a 200 anos, este sofre vários descortiçamentos ao longo da sua vida, (aproximadamente quinze descortiçamentos intercalados por períodos mínimos de nove anos).<sup>2</sup>



Figura 1 - Distribuição do Sobreiro (*Quercus suber L.*). Fonte APCOR

No primeiro descortiçamento, geralmente ao fim de 25 anos, obtém-se uma cortiça de estrutura muito irregular e com uma dureza que se torna difícil de processar. É a chamada **cortiça virgem** que será utilizada em outras aplicações que não as rolhas (como pavimentos, isolamentos, etc.), uma vez que esta está longe de apresentar a qualidade necessária para a produção de rolhas de cortiça. No segundo descortiçamento, obtém-se um material com uma estrutura regular, menos dura, mas ainda assim imprópria para o fabrico de rolhas e que se designa por **cortiça secundária**. O destino desta cortiça geralmente é o mesmo da cortiça virgem. Só a partir do terceiro descortiçamento se obtém

a cortiça com as propriedades adequadas para a produção de rolhas de qualidade, uma vez que já apresenta uma estrutura regular e uniforme. É a chamada **cortiça amadia**.<sup>2</sup>



**Figura 2 – Descortiçamento de cortiça amadia, Fonte APCOR**

A cortiça é um material com propriedades únicas, tais como baixa densidade, impermeabilidade a líquidos e a gases, elasticidade e compressibilidade, sendo também um excelente isolante térmico e acústico.



**Figura 3 - Cortiça amadia em corte transversal, Fonte APCOR**

A cortiça é constituída maioritariamente por células mortas ordenadas em parênquima suberificado, originadas pelo meristema súbero-felodérmico, também designado como felogénio.<sup>4</sup>

A divisão celular deste tecido origina células de cortiça para o exterior (súber), e células semelhantes às da madeira para o interior (feloderme) estas últimas em quantidades inferiores. As células da cortiça estão dispostas de forma paralela (forma alveolar) umas às outras como é possível observar na Figura 4.<sup>5</sup>



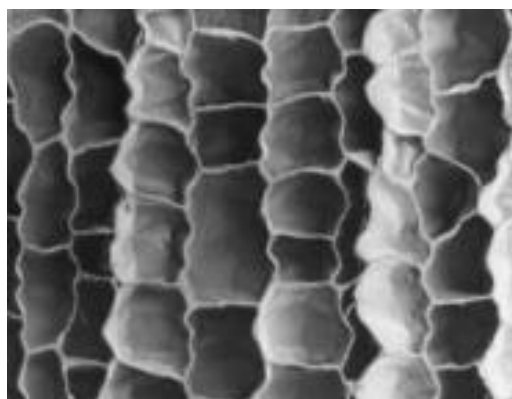


Figura 4 - Estrutura da cortiça observada por microscopia eletrônica de varrimento.<sup>5</sup>

A cortiça apresenta, na sua composição, dois tipos de componentes: os componentes estruturais e os não-estruturais. Os primeiros são macromoléculas que conferem às células a sua forma e grande parte das suas propriedades físicas e químicas. São estes compostos; a suberina (40% - 50%)<sup>6,7</sup>, lenhina (22% - 25%)<sup>7,8</sup> e os polissacarídeos (celulose e hemiceluloses) que representam, estes últimos, em média 18% a 20%.<sup>9</sup> Os componentes não estruturais classificam-se em extratáveis (14% - 18%) e componentes inorgânicos (1% - 2%). Os extratáveis são compostos de massa molecular baixa e, na cortiça, são habitualmente dois grupos, as ceras e os taninos.<sup>8</sup> Os compostos inorgânicos são englobados no que se designa por cinzas, onde o cálcio é geralmente o mineral com uma percentagem mais elevada.<sup>6,8</sup>

## 2.2 - PRODUÇÃO DE ROLHAS

O processo de formação de rolhas de cortiça rege-se por normas muito restritas definidas pelo **Código Internacional das Práticas Rolheiras (CIPR)**<sup>10</sup>, um conjunto de normas práticas para a fabricação de rolhas de cortiça, desenvolvido no início dos anos 90 pela Confederação Europeia da Cortiça em conjunto com sete países no âmbito do Projeto Quercus, que pretendia estudar os desvios sensoriais relacionados com o aroma/gosto a mofo no vinho. As empresas possuem como referencial de produção o acordo descrito no CIPR, para controlar e uniformizar todo o processo desde a preparação

da matéria-prima até aos acabamentos, podendo desta forma obter a certificação internacional *Systecode* que atesta que a empresa cumpre aquele referencial normativo<sup>11</sup>.

Seguidamente serão apresentados todos os passos necessários para se completar o processo de produção de rolhas tanto naturais como técnicas. Estes estão interligados havendo assim um maior aproveitamento de toda a matéria-prima, como é possível observar de forma resumida na Figura 5.

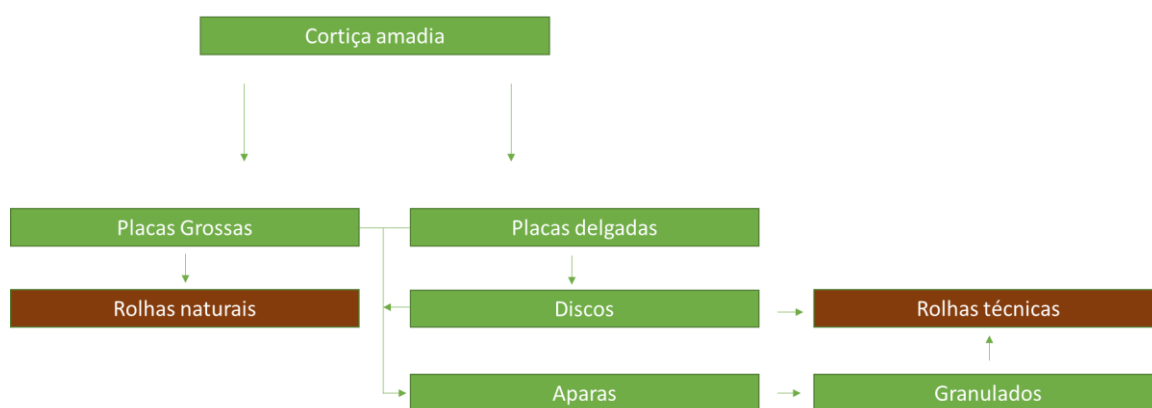


Figura 5 – Esquemática das várias etapas para a produção de rolhas naturais e rolhas técnicas.

### 2.2.1 PROCESSO DE PRODUÇÃO DE ROLHAS NATURAIS

Após o descortiçamento do sobreiro, as pranchas de cortiça são empilhadas no montado ou em estaleiro, na fábrica preparadora, num processo designado por estabilização que tem como objetivo permitir a secagem da seiva, a redução de humidade e a oxidação de compostos fenólicos. De acordo com o CIPR, o tempo de estabilização nunca deverá ser inferior a seis meses.<sup>10</sup>

Depois da estabilização procede-se à cozedura das pranchas em água limpa (a 100 °C), com o objetivo de limpar a cortiça, extrair substâncias hidrossolúveis, aumentar a espessura da cortiça, reduzir a sua densidade e torná-la mais macia e elástica.<sup>11</sup> O aumento da humidade e expansão celular que ocorre durante a cozedura vai ser fundamental para o manuseamento da cortiça nas etapas posteriores.

A estabilização pós cozedura é o passo onde a cortiça perde toda a água absorvida durante a cozedura e obtém a consistência necessária. Seguidamente, completam-se as etapas apresentadas na Figura 6 para a produção de rolhas naturais.

Neste processo de produção de rolhas naturais, importa referir que no setor corticeiro se faz a distinção entre a cortiça mais próxima do tronco – barriga, e a face mais rugosa e exterior da árvore - costas. Esta distinção na cortiça irá ser de extrema relevância quando se proceder à brocagem da cortiça (**etapa 2**); as rolhas devem ser obtidas o mais próximo possível da barriga da prancha de cortiça uma vez que esta geralmente é de melhor qualidade (menos contaminantes e densidade mais uniforme).

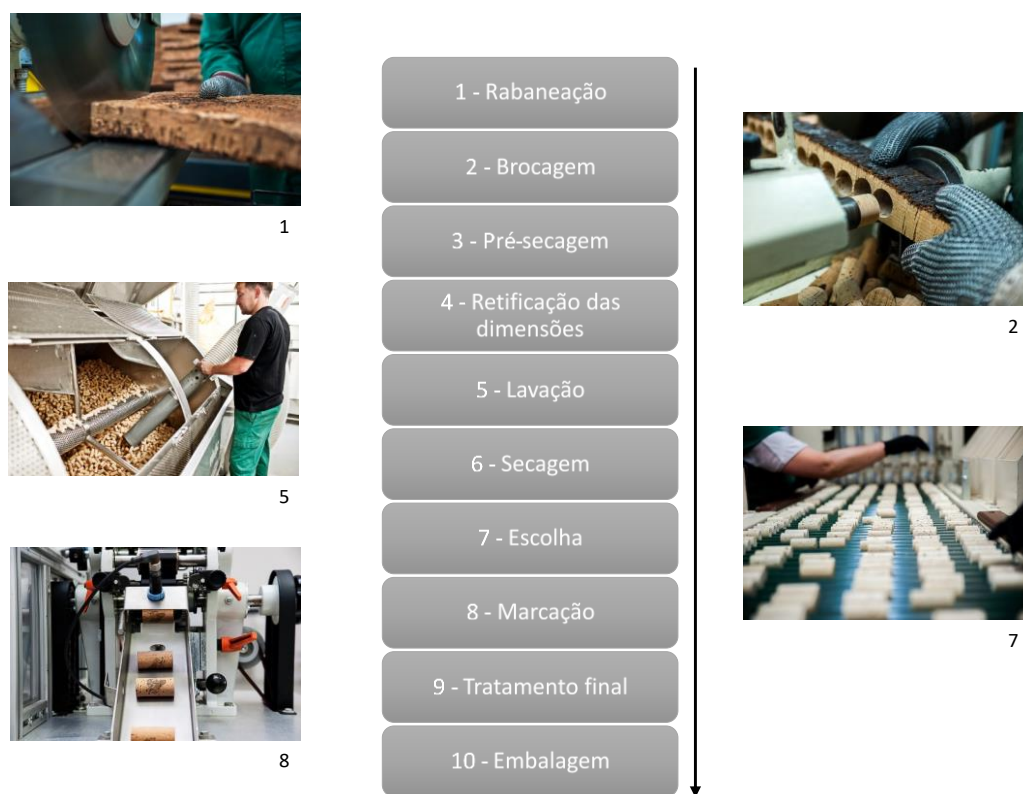


Figura 6 - Esquema do processo de transformação de cortiça em rolhas naturais, Fonte APCOR.

No caso de as rolhas naturais apresentarem demasiados poros na sua superfície (lenticelas), a seguir à etapa de escolha dá-se a colmatagem. Este processo consiste na introdução de pó de cortiça, obtido durante a **etapa 4**, nos poros das rolhas naturais. Para

a fixação do pó nos poros é utilizada uma cola à base de resina natural em conjunto com uma cola à base de água. Desta forma obtém-se um produto com melhor qualidade visual e uma melhor performance.<sup>2</sup>

## 2.2.2 PROCESSO DE PRODUÇÃO DE ROLHAS TÉCNICAS

A matéria-prima para produção de granulados de cortiça para a produção de rolhas técnicas denomina-se de aparas (Figura 7), o desperdício resultante da fabricação de rolhas de cortiça natural, contribuindo assim para a valorização sustentável da cortiça.



Figura 7 - Aparas de cortiça, resultado da produção de rolhas naturais <sup>12</sup>.

As rolhas técnicas são constituídas por um corpo de cortiça aglomerada muito denso. Estas podem ou não conter discos de cortiça natural colados no seu topo, ou em ambos os topos, classificando-se em:

- Rolhas técnicas 1+1 – com um disco em cada topo;
- Rolhas técnicas 2+0 – com dois discos em apenas um dos topos;
- Rolhas técnicas – Sem discos de cortiça.

O processo de produção das rolhas técnicas é dividido em três fases distintas:

- Produção dos discos de cortiça natural;

- Fabricação do corpo de cortiça aglomerada;
- Montagem da rolha;

Para a produção de discos para os topos, são usadas pranchas de cortiça selecionadas e cozidas segundo processos idênticos aos usados para o fabrico de rolhas naturais. Posteriormente, as duas faces das pranchas são cortadas de modo a obter lâminas de cortiça macias e uniformes.

Estas lâminas são perfuradas mecanicamente para a obtenção de discos do tamanho dos topos das rolhas que se pretende elaborar. Os discos passam por uma seleção ótica de modo a dividi-los segundo as categorias estabelecidas. Depois da lavagem, os discos são secos e armazenados em silos até à sua utilização.<sup>2</sup>

O corpo da rolha técnica é formado por grânulos produzidos a partir da aparca de cortiça. A aparca é triturada em máquinas onde se obtêm grânulos com granulometrias diversas. Posteriormente, estes grânulos são aglomerados com uma cola (p.e. poliuretano) e o corpo é individualmente moldado ou obtido por extrusão, dando origem a bastões que são cortados à medida das rolhas.



Figura 8 - Corpo da rolha técnica, Fonte APCOR

Os discos e os corpos aglomerados são introduzidos em máquinas de montagem através de silos. Os discos passam por câmaras que selecionam o lado do disco que vai estar em contacto com o vinho e estes são colados no topo do cilindro de cortiça aglomerada com uma cola de poliuretano aprovada pela FDA (*Food and Drug Administration*) para estar em contacto com os alimentos.<sup>2</sup>

A rolha já montada é sujeita à secagem, seguindo para a fase de polimento ou retificação. Posteriormente, os processo de lavagem, seleção, acabamento (marcação) e embalagem é semelhante ao das rolhas naturais.<sup>13</sup>

# **CAPÍTULO 3**

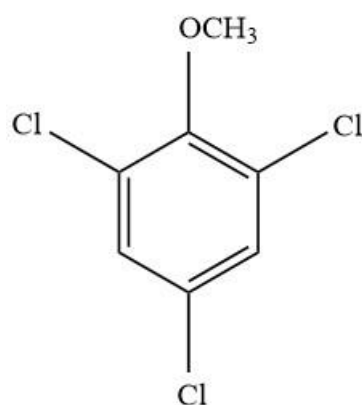
**TCA – CONTAMINAÇÃO, FORMAÇÃO E  
MITIGAÇÃO/REMOÇÃO DO TCA DA CORTIÇA**





### 3.1 - CORTIÇA COMO RESPONSÁVEL PELA CONTAMINAÇÃO DOS VINHOS

A rolha de cortiça é um produto natural de excelência que, devido às suas propriedades únicas tem sido muito usada para vedar garrafas de vinho, incluindo vinhos de elevada qualidade que são armazenados durante longos períodos de tempo. No entanto, a contaminação do vinho com compostos com aromas de origem fúngica indesejáveis, o denominado “gosto a rolha”, é um dos problemas que a indústria corticeira tem vindo a combater desde longa data uma vez que os defeitos sensoriais do vinho são responsáveis por perdas económicas consideráveis para ambas as indústrias. Estima-se que cerca de 80% dos vinhos contaminados têm como responsável o TCA (Figura 9).<sup>14</sup>



2,4,6-Tricloroanisol (TCA)

Figura 9 - Representação estrutural do TCA

A contaminação com TCA tornou-se de tal forma séria que começaram a surgir outras alternativas às rolhas de cortiça, tais como rolhas sintéticas, de forma a tentar eliminar as possibilidades de contaminação dos vinhos pelo TCA.

Um vinho com TCA, denominado “gosto a rolha”, é um vinho com uma alteração de aroma, o qual pode ser descrito como “cheiro a bolor” ou de “uma cave húmida não arejada” e, por vezes, pode conferir a um vinho engarrafado um sabor muito desagradável.<sup>15</sup>

Apesar de as rolhas de cortiça serem, por muitos, consideradas como as principais fontes de contaminação do vinho por TCA, tem sido demonstrado que, durante a produção ou conservação do vinho, o contacto direto com produtos ou atmosferas contaminadas também são possíveis fontes de contaminação<sup>16,17</sup>. Relativamente a contaminação da cortiça com TCA esta pode dar-se em qualquer altura, desde a cortiça no sobreiro até ao seu armazenamento em caves ou adegas<sup>18</sup>.

### 3.2 - ORIGEM E FORMAÇÃO DO TCA

Os haloanisóis como o TCA, são compostos que provêm da transformação química dos seus precursores, os halofenóis. Nesta família de compostos destacam-se os clorofenóis de origem sintética. A elevada toxicidade destes compostos levou a que fossem muito utilizados como pesticidas, fungicidas e agentes preservantes da madeira.<sup>19</sup>

Algumas possíveis origens dos clorofenóis estão representadas na Figura 10,<sup>19</sup> sendo possível observar que uma das origens pode estar relacionada com a utilização de produtos de desinfecção de água ou produtos preservantes de madeira, devido à presença de compostos clorados. Assim os compostos clorados são capazes de entrar nos cursos de água e sistemas de drenagem e reagir com os compostos fenólicos do material vegetal como os produtos de degradação da lenhina e de açúcares, produzindo clorofenóis<sup>19</sup>. No caso da degradação dos açúcares e posterior formação de fenóis, estes são originados intracelularmente na via metabólica do ácido chiquímico, por fungos como *Penicillium spp.*<sup>20</sup>. Estes também podem ser formados na cortiça durante a cozedura das pranchas devido a possíveis contaminações cruzadas e/ou durante a lavação ou branqueamento das rolhas com solução de hipoclorito de sódio. Contudo, este último processo já foi abandonado pela indústria corticeira<sup>21</sup> e atualmente a lavação, branqueamento e desinfecção das rolhas de cortiça é feita com recurso a peróxido de hidrogénio.<sup>2</sup>

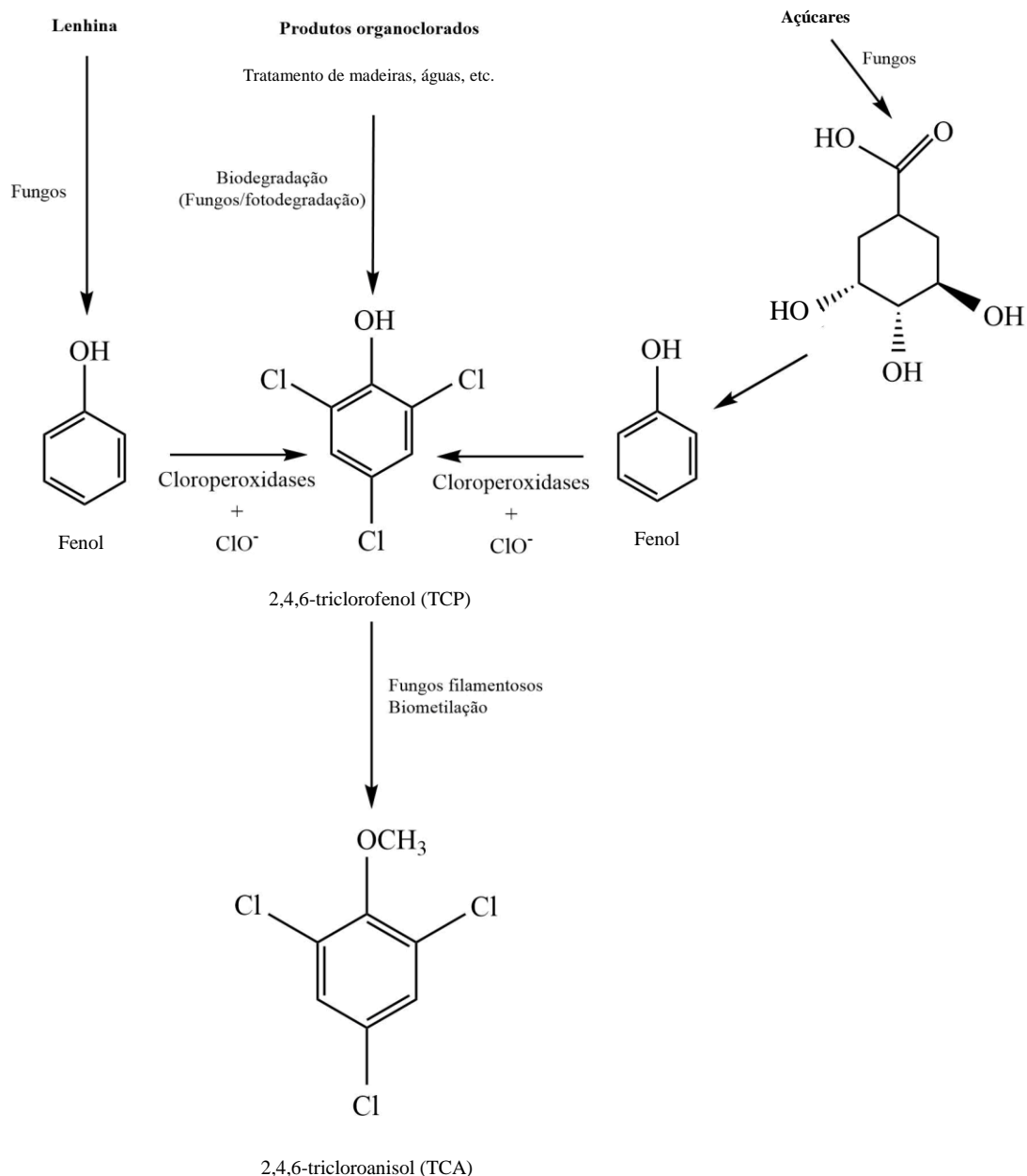


Figura 10 - Exemplos de alguns dos possíveis mecanismos de formação do TCA<sup>19</sup>

A biometilação do TCP é mediada por diferentes famílias de fungos filamentosos (como, por exemplo, *Trichoderma sp.*, *Penicillium sp.*, *Aspergillus sp.*, etc)<sup>22</sup> que crescem na cortiça. Esta reação (Figura 11) é catalisada por uma enzima denominada clorofenol O-metiltransferase (CPOMT),<sup>23</sup> a qual é utilizada como mecanismo de defesa dos microrganismos para reduzir a toxicidade dos halofenóis. Os organismos convertem os halofenóis tóxicos e capazes de afetar a sua fisiologia, em haloanisóis, que lhes são mais inofensivos, como o TCA.<sup>24,25</sup>

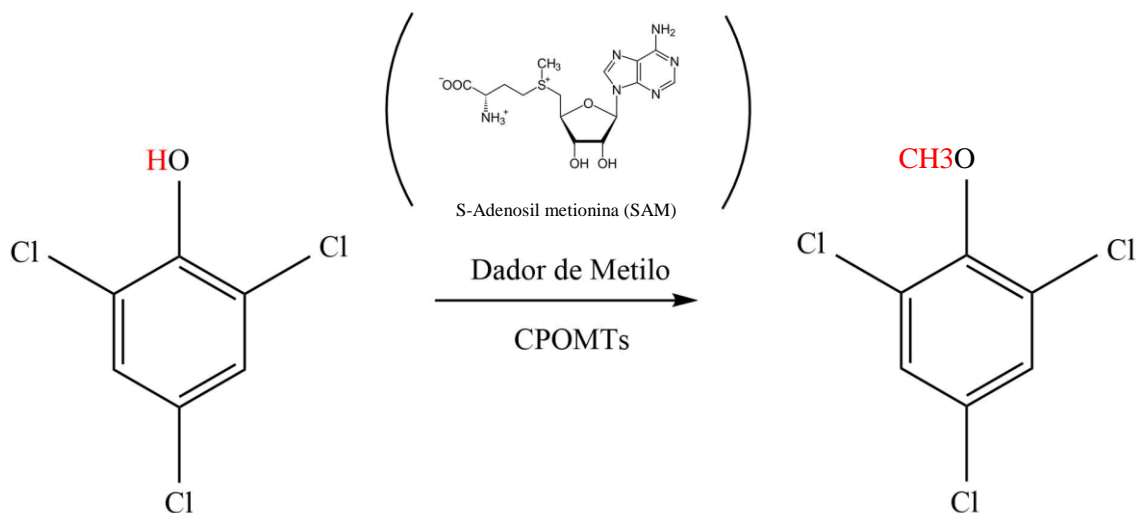


Figura 11 - Via principal da biossíntese de 2,4,6-tricloroanisol (2,4,6-TCA) a partir 2,4,6-triclorofenol (2,4,6-TCP), reação catalisada pela clorofenol O-metiltransferase (CPOMTs) <sup>23</sup>

### 3.3 - PREVENÇÃO E MITIGAÇÃO/REMOÇÃO DO TCA DA CORTIÇA

O TCA é um composto ligeiramente volátil (p.e.=240 °C, 760 mmHg) e com baixa solubilidade em água (10 mg/L). A cortiça, por sua vez, é impermeável a gases e líquidos, e a sua exposição a temperaturas elevadas para promover a remoção dos contaminantes da cortiça geralmente leva à alteração das suas propriedades.<sup>26</sup>

A indústria corticeira dispõe já de alguns métodos para fazer face ao problema das contaminações, permitindo a obtenção de um produto final de elevada qualidade. Alguns métodos têm como função eliminar as causas de contaminação, por irradiação dos microrganismos ou pela eliminação de agentes clorados, enquanto outros tentam remover diretamente o TCA, como vai ser explicado mais abaixo.

O tempo que a cortiça permanece em estabilização, após descortiçamento, pode levar à criação das condições de temperatura e humidade perfeitas para o desenvolvimento microbiano e, por consequência, para o aparecimento de TCA.

Assim, a prevenção começa com a chegada da cortiça ao estaleiro. As pranchas devem ser empilhadas, idealmente sem estar em contacto com o solo e este deverá respeitar as normas do CIPR. Segundo o CIPR as pilhas deverão ser feitas de modo a facilitar a circulação de ar e o escoamento de água. A cortiça deve ser corretamente limpa

de manchas, musgo e líquenes, evitando o contacto de "cortiças boas" com outras com elevado potencial contaminante.

Outro dos cuidados a ter em conta é com a água de cozedura durante o processo de cozedura da cortiça. Para uma boa qualidade final do produto é recomendado que a água de cozedura seja trocada pelo menos uma vez por dia prevenindo assim a contaminação cruzada da cortiça<sup>10</sup>. Algumas técnicas já estudadas podem ser colocadas em prática ajudando na prevenção do aparecimento do TCA. Uma das que aparece descrita com melhores resultados é o Symbios. Esta é uma técnica de preparação da cortiça desenvolvido pela CTCOR em 2004, que tem como base a intervenção direta no processo de cozedura, mediante uma aditivação química da água de cozedura com produtos tóxicos para os fungos. Trata-se de um processo biológico preventivo que aborda o problema durante todas as etapas da transformação da cortiça. Numa primeira fase, na cozedura das pranchas, são extraídos os materiais solúveis existentes na cortiça através da água de cozedura, como por exemplo os polifénóis. Numa segunda fase é inibido o desenvolvimento de microrganismos indesejados, devido a fixação destes produtos tóxicos na estrutura morfológica da cortiça, impedindo assim a biossíntese de cloroanisóis.<sup>27</sup> O CTCOR reportou que, com a utilização deste processo, foi obtida uma redução de rolhas contaminadas de 1,2% para 0,08% .<sup>27</sup> Este processo, apesar de não ter qualquer impacto na redução de TCA já existente na cortiça, consegue impedir o aparecimento de microrganismos, como fungos precursores de haloanisóis de uma forma descontrolada na fase posterior à cozedura.<sup>28</sup>

A etapa seguinte à cozedura, em que se dá a estabilização da cortiça, pode ser considerada umas das mais críticas no que diz respeito à formação de TCA. Nesta etapa a cortiça apresenta um elevado grau de humidade e é necessário que esta perca a grande maioria da água absorvida, sendo recomendada uma humidade final de 8 a 16%. Este processo de estabilização pode durar 1 a 4 semanas (caso seja feita pelo método tradicional, contudo existem métodos que podem demorar menos de 1 semana), sendo necessário mais uma vez respeitar todas as regras de empilhamento e condicionamento da cortiça já referidas, de forma a tentar minimizar o aparecimento de fungos precursores do TCA favorecido pelo elevado teor de humidade.<sup>10</sup>

Tem-se vindo também a estudar a aplicação de radiação  $\gamma$  e micro-ondas<sup>26</sup> como tentativa de esterilizar a cortiça; no entanto, estes tratamentos ainda não atingiram um

grau de eficácia e eficiência que justifique a aplicação a nível industrial. No caso da radiação gama, com doses de 15 kGy, o nível de esterilização segundo os autores era altamente eficiente. Contudo, não foram realizados estudos no que diz respeito à qualidade da cortiça após tratamento nem a quantidade de TCA da mesma. No caso das micro-ondas, segundo o estudo de Godden,<sup>29</sup> a técnica é totalmente posta em causa, uma vez que neste estudo foi provado a eficiência da técnica para reduzir os microrganismos, contudo esta demonstrou ser ineficiente na redução do TCA.<sup>29</sup>

Como tentativa de remover os cloroanísóis da cortiça, e assim garantir um produto que não afetará negativamente a qualidade do vinho, têm-se desenvolvido várias técnicas de extração de TCA, em particular da cortiça. Contudo, o grande problema da maioria das técnicas de extração de contaminantes em cortiça já estudadas prende-se sobretudo com o facto de estas conseguirem apenas uma extração superficial; ainda assim algumas técnicas apresentam resultados satisfatórios.

No caso das rolhas de cortiça desenvolveram-se métodos baseados em solventes de polaridade ajustada à extração do TCA.<sup>30</sup> A lavagem de rolhas de cortiça com soluções aquosas de ácido cítrico (3% v/v) e ácido acético já foram testadas, contudo o mesmo problema de apenas se conseguir extração superficial do TCA persiste. A extração do TCA com recurso a pentano apresenta resultados positivos, contudo a utilização de solventes orgânicos na indústria levanta problemas económicos e de segurança.<sup>31</sup>

Um dos métodos mais utilizados pela indústria corticeira recorre a misturas água/etanol. Neste processo, o vapor de água e etanol é posto em contacto com as rolhas, segue-se uma diminuição da percentagem de etanol ao mesmo tempo que uma corrente de ar comprimido arrasta os compostos contaminantes e vai secando as rolhas.<sup>32</sup> Este processo de extração de TCA de rolhas de cortiça permite, segundo a empresa *Cork Supply*, níveis de extração de TCA entre os 60 e os 85%.<sup>33</sup>

No caso de granulados e discos de cortiça para a produção de rolhas técnicas, a utilização de vapor de água na extração do TCA aparece descrito na patente do método ROSA<sup>34</sup> como sendo eficaz. O método utiliza um reator rotativo onde são colocados os granulados ou discos, a temperaturas na ordem dos 100 °C a pressão reduzida (0,2 a 0,8 bar). Durante este processo existe um fluxo de vapor de água, através do reator, que vai arrastar os contaminantes.<sup>35</sup> Segundo a patente este método é capaz de eliminar cerca de

80% dos cloroanisóis presentes nos granulados de cortiça, contudo não se revela eficaz na sua remoção de rolhas naturais.

Com o objetivo de remover o TCA de rolhas naturais, o processo ROSA foi alterado e deu origem a um novo processo chamado Rosa Evolution, este com condições operatórias ajustadas a rolhas de cortiça natural não alterando assim as suas propriedades físico-mecânicas. Este novo sistema permitiu uma eficácia de redução do TCA de 77% para rolhas naturais.<sup>28</sup>

Outro método patenteado para a extração de TCA da cortiça envolve a utilização de CO<sub>2</sub> supercrítico.<sup>34</sup> Contudo, esta patente diz apenas respeito à extração a partir de rolhas e, apesar dos bons resultados (90% de extração de TCA em rolhas contaminadas), este método apresenta limitações, tais como o recurso a elevadas pressões, que pode provocar deformações irreversíveis e alterações na composição e estrutura da cortiça<sup>32</sup>. No que diz respeito à extração de TCA de granulados de cortiça, segundo o método DIAM, a utilização de CO<sub>2</sub> supercrítico parece ser o método mais indicado.<sup>36</sup> A fraca adesão a este método por parte da indústria deve-se sobretudo aos elevados custos associados.

Um novo método patenteado e apresentado com bons resultados é a patente de Salvador Palacios,<sup>32</sup> que refere que é possível a extração de TCA, em estado gasoso, de granulados de cortiça por dessorção térmica com recurso a vácuo. Nesta patente as temperaturas recomendadas são entre 100 °C e 135 °C e foram utilizadas pressões máximas de 0,1 mbar. A eficiência deste processo, segundo a patente, é de 100%. Esta eficiência depende da pressão utilizada, temperatura, tempo de processo e do teor de TCA inicial da cortiça.

### 3.4 - INTERAÇÃO ENTRE O TCA E A CORTIÇA

As ligações entre o TCA e a cortiça são, na sua grande maioria, ligações intermoleculares de van der Waals e ligações de hidrogénio<sup>37</sup>. Desta forma, num processo de extração de TCA da cortiça, pretendemos assim que as forças de dessorção consigam ser superiores às forças de adsorção e assim promover a extração do composto como demonstrado na Figura 12.<sup>32</sup>

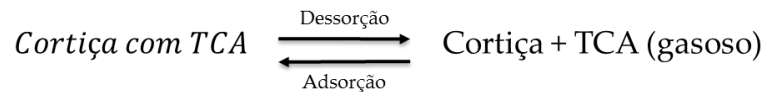


Figura 12 - Esquema da dessorção entre TCA e cortiça.

Costa M. <sup>37</sup> estudou no seu trabalho a dessorção do TCA dos diferentes componentes da cortiça. Deste trabalho é nuclear referir que a adsorção entre o TCA e a celulose é fraca, contudo esta interação é muito mais intensa na lenhina e nas células de cortiça. Foram determinadas temperaturas de dessorção para estes dois últimos substratos (lenhina e células de cortiça) em que se obteve temperaturas de 144 °C e 162 °C, respetivamente (resultados obtidos com a utilização de vácuo).

Com este trabalho é possível afirmar que, a temperatura elevada, é possível promover a dessorção do TCA da cortiça. A realização deste processo a baixa pressão permite uma volatilização do TCA a temperaturas mais baixas, comparativamente com o ponto de ebulição do TCA (240 °C), com vantagens óbvias na preservação da cortiça. Importa também referir que, na patente de Salvador Palacios, <sup>32</sup> é referido que a cortiça mantém a sua estabilidade até temperaturas de 135 °C, sendo que temperaturas superiores apenas podem ser usadas durante curtos períodos.



# **CAPÍTULO 4**

## **OBJETIVOS DO TRABALHO**



## 4.1- OBJETIVOS

O presente trabalho terá como objetivo implementar e validar uma técnica de extração de TCA de discos e granulados de cortiça por dessorção térmica a baixa pressão. Importa também referir que, apesar dos bons resultados apresentados pelas técnicas já descritas, nenhuma se revela 100% eficaz na remoção do TCA ou isenta de problemas. Desta forma este trabalho pretende contribuir para uma melhor compreensão do processo de extração de TCA da cortiça.

A utilização de pressões reduzidas, neste trabalho, irá ter o objetivo de promover a volatilização do TCA a uma temperatura mais baixa para que não promova danos na cortiça. Esta contínua utilização de vácuo irá ajudar na dessorção e difusão de compostos que estejam no estado gasoso <sup>32</sup>. A temperatura, por sua vez, terá o papel de tentar promover os fenómenos de dessorção e difusão do TCA da cortiça, uma vez que estes são processos termicamente ativados.

A sequência de trabalho que irá ser realizada está representada na Figura 13. Inicialmente será realizado um teste de extração do TCA á escala laboratorial. Para colocar em prática este ensaio será necessário previamente realizar um desenho experimental aplicável às condições do processo (temperatura, tempo e pressão). O desenvolvimento do desenho experimental teve como base os trabalhos anteriormente descritos na patente de Salvador Palacios <sup>32</sup>, em que os princípios de extração foram os utilizados neste processo. Após os ensaios à escala laboratorial vai proceder-se à validação das condições ótimas de extração do TCA da cortiça. Esta validação das condições ótimas terá suporte do software minitab 18, onde serão realizados gráficos de otimização de resposta com o objetivo de determinar as condições ideais de extração do TCA, para posteriormente se avançar para ensaios à escala piloto. Importa referir que estas condições ótimas de extração serão testadas com cortiça com contaminação de TCA superior à inicialmente utilizada de forma a validar de uma forma mais robusta os resultados. Todas as análises à quantidade de TCA presente na cortiça serão realizadas recorrendo a HS-SPME-GC/MS.

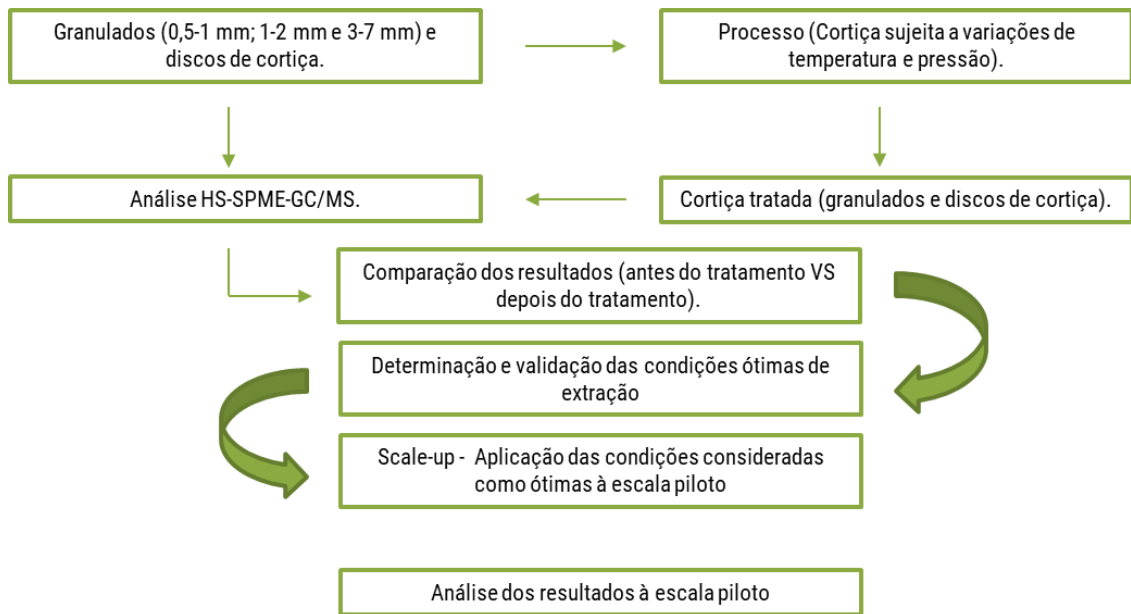


Figura 13 - Esquema das etapas a realizar com os granulados e discos de cortiça, com objetivo de promover a dessorção de TCA.

# **CAPÍTULO 5**

## **MATERIAIS E MÉTODOS**



## 5.1 – MATERIAIS: DISCOS E GRANULADOS DE CORTIÇA

Os materiais utilizados para o presente trabalho foram discos e granulados de cortiça. Os discos usados (Figura 14), possuem um diâmetro de 34 mm e uma altura de 6 mm, os granulados de cortiça (Figura 15) foram usados em 3 categorias de tamanhos, nomeadamente 0,5-1, 1-2 e 3-7 mm de diâmetro.



Figura 14 – Discos de cortiça utilizados para os ensaios à escala laboratorial.



Figura 15 - Granulados 0,5-1; 1-2; 3-7 mm (esquerda para a direita), utilizado para os ensaios à escala laboratorial.

## 5.2 – ENSAIOS À ESCALA LABORATORIAL

### 5.2.1 – MATERIAL UTILIZADO

Para a execução do trabalho utilizou-se o reator representado na Figura 16A com capacidade para 100 ml. Este reator possuía uma tampa isoladora com duas válvulas que permitem fazer um isolamento do sistema e controlar a pressão do mesmo.

Cada amostra colocada no reator continha 40 ml de sólidos de granulados de cortiça. As temperaturas pretendidas foram atingidas com recurso a uma placa de

aquecimento *RSLAB 11C* com agitador magnético, com um banho de óleo lubrificante *Renolin B10*.

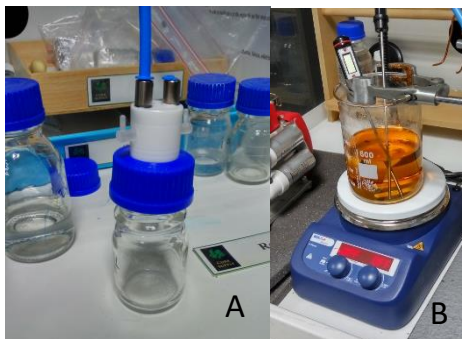


Figura 16 - A - Reator utilizado nos ensaios à escala laboratorial; B – Sistema de aquecimento do reator

Nos ensaios a baixa pressão foi acoplada uma bomba de vácuo *PFEIFFER VACUUM – MVP 015-2 PKTO5 100*, com uma capacidade de extração  $0,7 \text{ m}^3/\text{h}$  permitindo atingir pressões de 10 mbar.

A temperatura do reator foi controlada com recurso a um termómetro digital *HerterVentix* com erro associado  $\pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ . O tempo de cada ensaio foi cronometrado, sendo apenas dado início ao ensaio quando se atingiam as condições experimentais pretendidas.

Desta forma, cada condição do desenho experimental foi realizada recorrendo aos equipamentos referidos e todo o TCA libertado foi analisado recorrendo à técnica de HS-SPME-GC/MS.



## 5.2.2 – DESENHO EXPERIMENTAL DO PROCESSO À ESCALA LABORATORIAL

Para a realização do desenho experimental (DoE), em que se pretendia avaliar o efeito do tempo, pressão e temperatura na remoção de TCA, foram definidos limites máximos e mínimos (tempo, temperatura e pressão) passíveis de serem atingidos (Tabela 1). Desta forma foi escolhida uma temperatura de 120 °C que combinada com a pressão reduzida (10 mbar – limite da bomba de vácuo) é capaz de volatilizar o TCA (a 10 mbar o ponto de ebulição do TCA é de 98 °C (Anexo 5)). Relativamente à variável tempo quanto mais tempo durar o processo, maior será a eliminação dos compostos.<sup>32</sup> Posto isto, foi decidido realizar ensaios entre 10 minutos e 420 minutos.

Tabela 1 - Limites mínimo e máximo de temperatura, tempo e pressão utilizados para o DoE

	Temperatura (°C)	Tempo (minutos)	Pressão (mbar)
<b>Máximo</b>	120	420	1000
<b>Mínimo</b>	50	10	10

O método de desenho experimental utilizado no trabalho foi o de superfície de resposta com o valor de  $\alpha = 1$ , com o objetivo de não se ultrapassar os limites pré-estabelecidos de temperatura e tempo.

Na Tabela 2 está representado o DoE obtido em conformidade com os limites previamente estabelecidos e a metodologia utilizada. Cada condição foi realizada em duplicado.

Tabela 2 - Desenho experimental com as condições de tratamento das amostras, obtido com o software estatístico Minitab 18.

<b>Amostra</b>	<b>Tempo (minutos)</b>	<b>Pressão (mbar)</b>	<b>Temperatura (°C)</b>
<b>A1</b>	10	1000	50
<b>A2</b>	10	1000	85
<b>A3</b>	10	1000	120
<b>Amostra</b>	<b>Tempo</b>	<b>Pressão</b>	<b>Temperatura</b>
<b>A4</b>	215	1000	50
<b>A5</b>	215	1000	85
<b>A6</b>	215	1000	120
<b>Amostra</b>	<b>Tempo</b>	<b>Pressão</b>	<b>Temperatura</b>
<b>A7</b>	420	1000	50
<b>A8</b>	420	1000	85
<b>A9</b>	420	1000	120
<b>Amostra</b>	<b>Tempo</b>	<b>Pressão</b>	<b>Temperatura</b>
<b>B1</b>	10	10	50
<b>B2</b>	10	10	85
<b>B3</b>	10	10	120
<b>Amostra</b>	<b>Tempo</b>	<b>Pressão</b>	<b>Temperatura</b>
<b>B4</b>	215	10	50
<b>B5</b>	215	10	85
<b>B6</b>	215	10	120
<b>Amostra</b>	<b>Tempo</b>	<b>Pressão</b>	<b>Temperatura</b>
<b>B7</b>	420	10	50
<b>B8</b>	420	10	85
<b>B9</b>	420	10	120

### 5.2.3 - PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL DOS ENSAIOS À ESCALA LABORATORIAL

Após a realização dos desenhos experimentais e de se obter as condições ótimas de tratamento para as amostras (Tabela 2), o procedimento experimental consistiu nos seguintes pontos.

#### 1 - Medição da quantidade de granulados e discos de cortiça

No caso de granulados de cortiça (independentemente do calibre), para cada amostra foram utilizados 40 ml de granulado com recurso a uma proveta. Este granulado já se encontrava contaminado com TCA e a sua contaminação foi previamente quantificada.

No caso de discos de cortiça foram utilizados cinco discos de cortiça para cada amostra. Estes discos, à semelhança dos granulados, encontravam-se contaminados, e os valores de TCA foram determinados previamente.

## **2 – Ajuste das condições de ensaio**

Antes de se dar início a cada ensaio, foram ajustadas todas as condições (temperatura e pressão). O ensaio apenas era iniciado quando as condições eram atingidas no reator.

## **3 – Pós ensaio**

No final de cada ensaio as amostras foram retiradas do reator, procedendo então à análise através do equipamento HS-SPME-GC/MS.

## **5.3 - METODOLOGIA DE ANÁLISE DO TCA**

A análise de TCA foi levada a cabo por micro-extração em fase sólida (SPME) e cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massa (GC/MS) e/ou captura eletrónica (GC/ECD) de acordo com a norma ISO 20752-2007. Importa perceber que os valores de TCA (R-TCA) são referidos como TCA potencialmente emigrável. Este termo define a quantidade de TCA que potencialmente poderá migrar para uma solução como, por exemplo, o vinho. Hervé et al., definiram o conceito de R-TCA como o indicador de TCA num sistema de controlo de qualidade de rolhas naturais. Este estudo serviu também para determinar que eram necessárias cerca de 24 horas para atingir o equilíbrio de TCA entre a solução (vinho) e a cortiça <sup>39</sup>.

No departamento de I&D da empresa do setor corticeiro, para se determinar o R-TCA da cortiça optou-se por se utilizar uma solução hidroalcoólica; esta é preparada com o objetivo de simular as concentrações de etanol dos vinhos de acordo com a ISO 20752:2014. Este processo de maceração da cortiça ocorre à temperatura ambiente durante  $24 \pm 4$  horas.

Após a maceração das amostras de cortiça (rolhas, discos ou granulados) numa solução hidroalcoólica a 12% (massa/volume), pipeta-se 10 mL da solução hidroalcoólica em que a cortiça estava submersa, para um vial de 20 mL e adicionam-se 30 µL de padrão interno, TCA-D<sub>5</sub> (98 % D, Sigma Aldrich).

A extração do TCA da solução é feita por SPME por exposição em *head space* com recurso a uma fibra de poli(dimetilsiloxano) (PDMS) de 100 µm. O tempo de extração da amostra era de 15 minutos a uma temperatura de 45 °C. Posteriormente o tempo de dessorção da fibra no injetor foi de 2:30 minutos.

Importa referir que os resultados de R-TCA abaixo de 0,45 ng/L serão considerados como 0,3 ng/L R-TCA, ou seja, TCA não detetado pelo equipamento. Valores entre 0,45 ng/L e 0,95 ng/L serão considerados por definição 0,7 ng/L. Estes valores foram pré-definidos devido aos limites de deteção, limites de quantificação e incertezas dos equipamentos HS-SPME-GC/MS utilizados pela empresa do setor da cortiça onde foi realizado o trabalho.

### 5.3.1 - ANÁLISE ESTATÍSTICA DA EFICIÊNCIA DO MÉTODO DE EXTRAÇÃO DO TCA

De forma a testar o efeito das condições na concentração do TCA final, foi empregue uma análise de variância unifatorial (one-way ANOVA) para cada variável, com vista a verificar qual a variável com mais impacto.

Todos os tratamentos estatísticos e gráficos foram realizados com o software Minitab 18 (2017). Em todos os testes estatísticos utilizou-se um nível de significância de  $p \leq 0.05$ .

Os resultados de R-TCA à escala laboratorial foram avaliados para determinar as condições ótimas e posteriormente realizou-se uma validação das condições ótimas com granulado com uma contaminação superior, com o objetivo de validar o processo de extração de TCA. Estas condições ótimas foram obtidas com ajuda de gráficos de superfície de resposta.

## 5.4 - ENSAIOS À ESCALA PILOTO

### 5.4.1 - AMOSTRAS DE CORTIÇA UTILIZADAS

Para os ensaios à escala piloto foi utilizada do granulado de cortiça de 3-7 mm de calibre.

### 5.4.2 - EQUIPAMENTO UTILIZADO

Os ensaios à escala piloto, onde foram aplicadas as condições determinadas como ótimas nos ensaios à escala laboratorial, o equipamento utilizado encontra-se esquematizado na Figura 17.

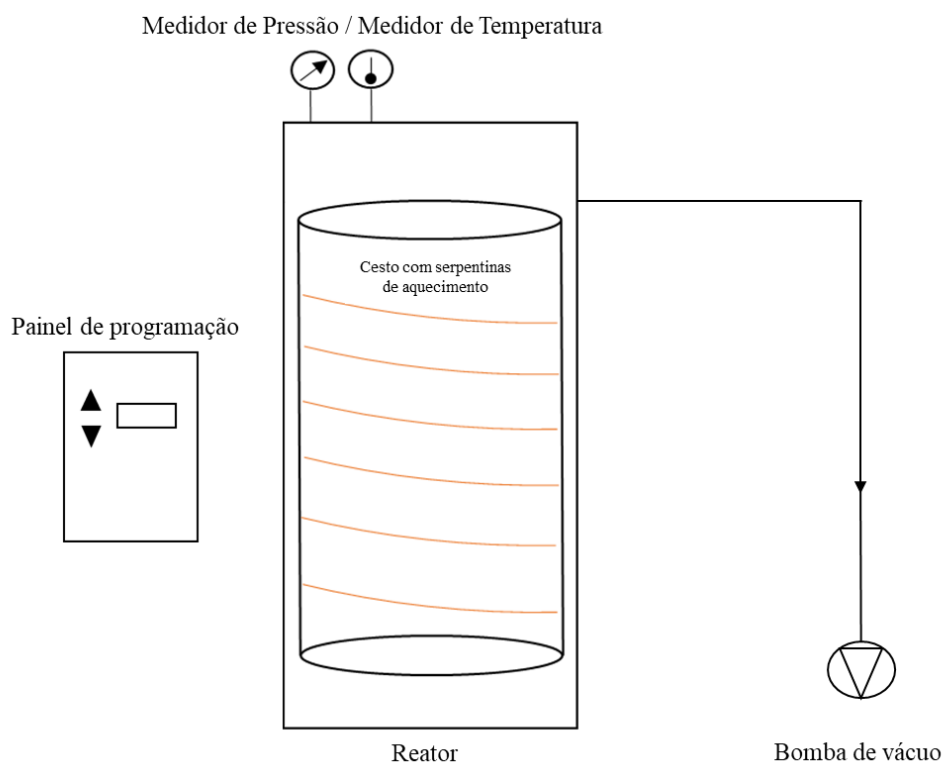


Figura 17 - Esquematização do equipamento utilizado para os ensaios de extração de TCA à escala piloto

**Reator** – O reator possui um cesto de metal com capacidade para 250 litros e é revestido por uma serpentina de aquecimento.

**Bomba de vácuo** – A bomba utilizada foi uma Vacuum pump V-30/55, com capacidade para atingir uma pressão de 40 mbar.

### 5.4.3 - PROCEDIMENTO

As condições ótimas (temperatura, pressão e tempo) a utilizar nos ensaios à escala piloto foram definidas com base nas condições ótimas de extração à escala laboratorial. Contudo, devido à capacidade da bomba de vácuo, foram medidas pressões entre os 40 e os 50 mbar.

Para cada ensaio foram usados 2 Kg de granulado, divididos por 4 sacos de serapilheira e colocados no reator.

# **CAPÍTULO 6**

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**





## 6.1 - RESULTADOS DO TCA LIBERTADO REFERENTE AOS GRANULADOS DE CORTIÇA

O valor de R-TCA inicial dos granulados, ou seja, antes de ser sujeito ao tratamento de extração de TCA está apresentado na Tabela 3.

Tabela 3 - Valor de R-TCA inicial dos granulados utilizados nos ensaios

	R-TCA. Inicial (ng/L)	Desvio Padrão
<b>0,5-1 mm</b>	1,4	0,092
<b>1-2 mm</b>	1,5	0,4
<b>3-7 mm</b>	1,2	0,051
<b>V-3-7mm</b>	15,3	0,7
<b>P-3-7mm</b>	19,3	3,7

Da Tabela 3 importa destacar que os valores dos três primeiros granulados que para além de diferentes calibres, apresentam também valores de R-TCA significativamente diferentes. A realçar o baixo valor obtido com os granulados de 3-7 mm que foi de 1,2 ng/L de TCA, isto porque este valor está muito próximo dos limites de deteção dos equipamentos utilizados na empresa do setor da cortiça onde foi realizado o trabalho. A salientar também os valores de desvio padrão, essencialmente nos granulados 1-2 mm, onde foi obtido um desvio padrão alto com um valor de 0,4. Este valor de 0,4 no desvio padrão dos granulados de calibre 1-2 mm revela uma maior heterogeneidade dos granulados.

Numa primeira fase foram avaliadas as condições determinadas no desenho experimental para os três tipos de granulados apresentados na Tabela 3; já numa fase posterior, para se verificar a validade das condições ótimas de extração de TCA e para os ensaios à escala piloto, foi utilizado um diferente granulado de calibre 3-7 mm. Para a validação das condições ótimas de extração foi utilizado o granulado V-3-7 mm, em que se obteve R-TCA inicial 15,3 ng/L. A utilização deste granulado com contaminação superior teve como objetivo verificar a eficácia da técnica mesmo em condições de contaminações superiores. Para os ensaios à escala piloto foi utilizados o granulado P-3-7 mm, com um R-TCA de 19,3 ng/L. Os granulados (V-3-7 mm e P-3-7 mm) pertenciam

ao mesmo lote; contudo, devido à heterogeneidade do lote os valores obtidos foram significativamente diferentes.

### 6.1.1 – ENSAIO À ESCALA LABORATORIAL PARA EXTRAÇÃO DE TCA DO GRANULADO DE CORTIÇA COM CALIBRE 0,5-1 MILIMETROS

Os resultados de extração de TCA obtidos da cortiça tratada nos ensaios à escala laboratorial com granulado de 0,5 – 1 mm (Anexo 1) estão representados no Gráfico 1.

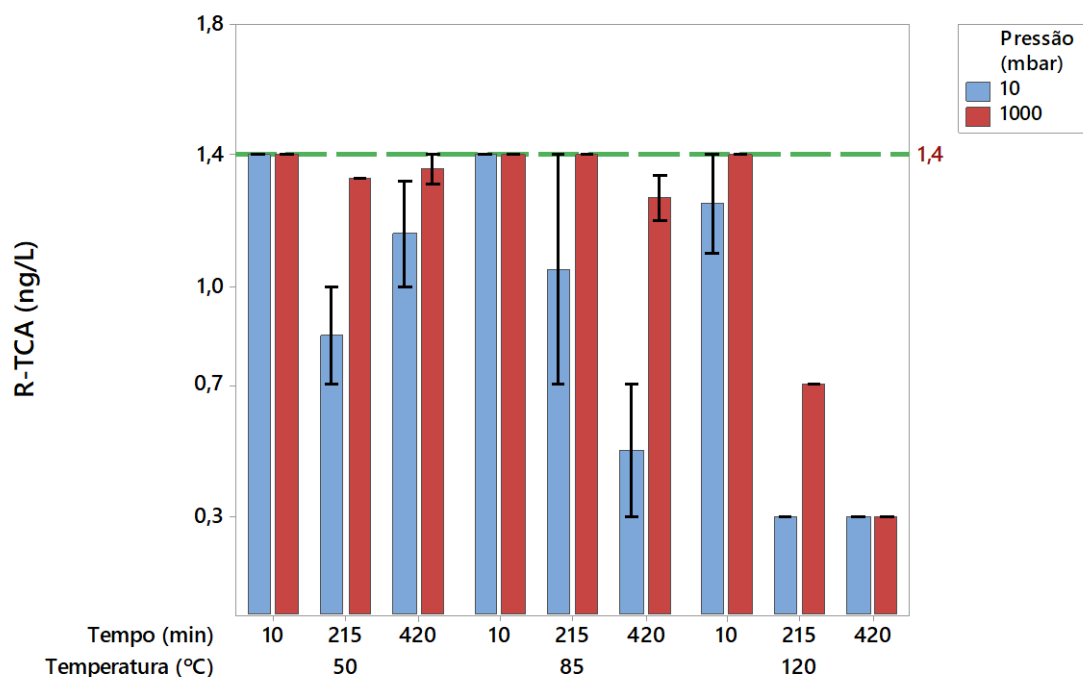


Gráfico 1 - Resultados de extração do TCA obtidos da cortiça tratada nos ensaios à escala laboratorial com granulados 0,5-1mm.

Analisando o gráfico de barras obtido (Gráfico 1), é possível afirmar que a maior eficiência de extração do TCA se situa nos 120 °C. A esta temperatura importa salientar que o tempo de 420 minutos foi o que obteve melhores resultados. Na presença de pressão reduzida e a uma temperatura de 120° C os mesmos resultados de extração (0,3 ng/L) foram alcançados sendo apenas necessário 215 minutos. De forma resumida, podemos

dizer que 120 °C foi a temperatura ideal de extração de TCA para este calibre de granulados e que a pressão reduzida ajudou a diminuir o tempo de extração do TCA da cortiça.

Aos resultados de extração de TCA obtidos (anexo 1) foi aplicado o teste One-way ANOVA (Tabela 4) com um nível de significância de 5% ( $\alpha = 0,05$ ). A temperatura e o tempo demonstraram ser os principais fatores de influência no R-TCA final com valores de  $p = 0,027$ . Já relativamente à pressão com um valor de  $p = 0,707$ , este parâmetro não demonstrou ser estatisticamente significativo no R-TCA final, o que contraria a análise realizada ao Gráfico 1.

**Tabela 4 - Resultados do teste One-way ANOVA aplicado a cada uma das variáveis em função do R-TCA Final**

<b>Teste One-way ANOVA</b>	<b>G.L.</b>	<b>Valor de <math>f</math></b>	<b>Valor de <math>p</math></b>
<b>Temperatura vs R-TCA</b>	2	4,62	0,027
<b>Tempo vs R-TCA</b>	2	4,62	0,027
<b>Pressão VS R-TCA</b>	1	0,15	0,707

## 6.1.2 - ENSAIO À ESCALA LABORATORIAL PARA EXTRAÇÃO DE TCA DO GRANULADO DE CORTIÇA COM CALIBRE 1-2 MILIMETROS

Os resultados de extração de TCA obtidos da cortiça tratada nos ensaios à escala laboratorial com granulado de 1-2 mm (Anexo 2) estão representados no Gráfico 2.

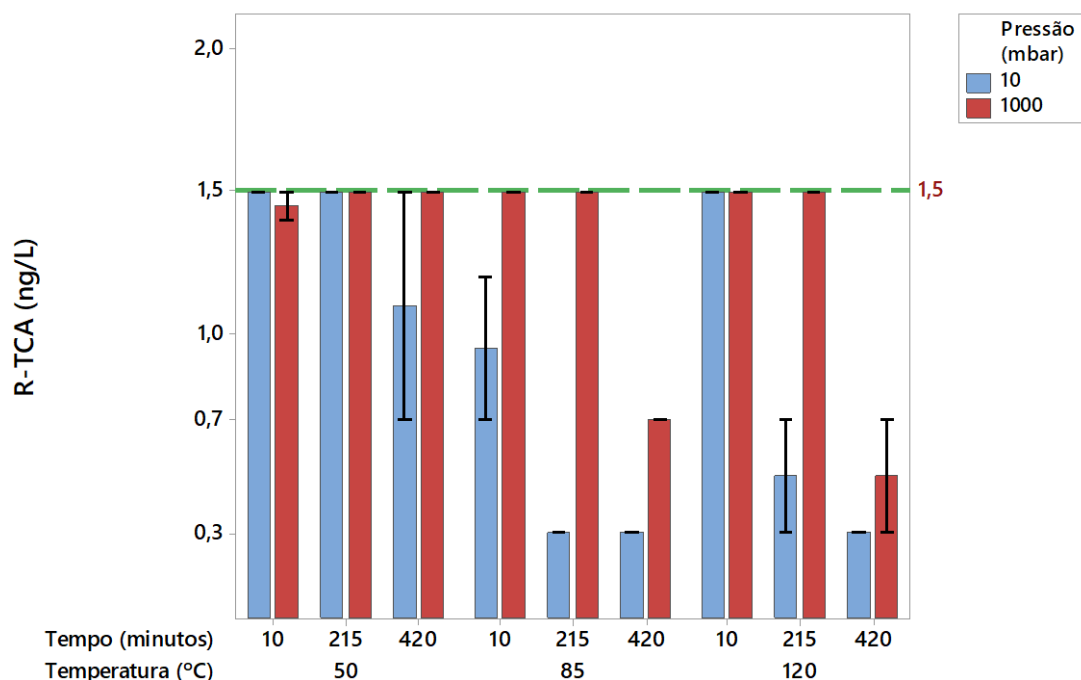


Gráfico 2 - Resultados de extração do TCA obtidos da cortiça tratada nos ensaios à escala laboratorial com granulados 1-2 mm

Analisando o gráfico de barras obtido (Gráfico 2), a partir do anexo 2, é possível afirmar que a maior eficiência de extração do TCA se situa nos 85 e 120 °C. A esta temperatura de 85 °C atingiu-se resultados de 0,3 ng/L de R-TCA ao fim de 215 e 420 minutos nos ensaios a baixa pressão. Relativamente aos ensaios a 120 °C apenas se atingiu resultados de 0,3 ng/L nos ensaios de 420 minutos a pressão reduzida. Contudo, é preciso ter em conta o elevado desvio padrão (0,4), referente ao teor de TCA deste granulado quando se determinou o R-TCA inicial. Também é importante ter em atenção que as condições de 120 °C, nos processos de 215 minutos a pressão reduzida e 420 minutos à pressão atmosférica, apesar de não se ter obtido um R-TCA final de 0,3 ng/L, os valores obtidos não podem ser considerados significativamente diferentes. Neste teste, ao

contrário do ensaio de extração de TCA com granulado de calibre 0,5-1 mm a presença de pressão reduzida surge com muito maior influência na extração do TCA.

Aos resultados obtidos (Anexo 2) foi aplicado o teste One-way ANOVA (Tabela 5) com um nível de significância de 5% ( $\alpha = 0,05$ ). O tempo demonstrou ser o principal fator de influência no TCA Final com um valor de  $p = 0,004$ . As variáveis temperatura e pressão também não podem ser descartadas uma vez que estas apresentaram um valor de  $p < 0,05$ .

**Tabela 5 - Resultados do teste One-way ANOVA aplicado a cada uma das variáveis em função do R-TCA Final.**

<b>Teste One-way ANOVA</b>	<b>G.L.</b>	<b>Valor de <i>f</i></b>	<b>Valor de <i>P</i></b>
<b>Temperatura vs R-TCA-Final</b>	2	4,72	0,016
<b>Tempo vs R-TCA Final</b>	2	6,68	0,004
<b>Pressão vs R-TCA final</b>	1	6,58	0,015

### 6.1.3 - ENSAIO À ESCALA LABORATORIAL PARA EXTRAÇÃO DE TCA DO GRANULADO DE CORTIÇA COM CALIBRE 3-7 MILIMETROS

Os resultados de extração de TCA obtidos da cortiça tratada nos ensaios à escala laboratorial com granulado de 3-7 mm (Anexo 3) estão representados no Gráfico 3.

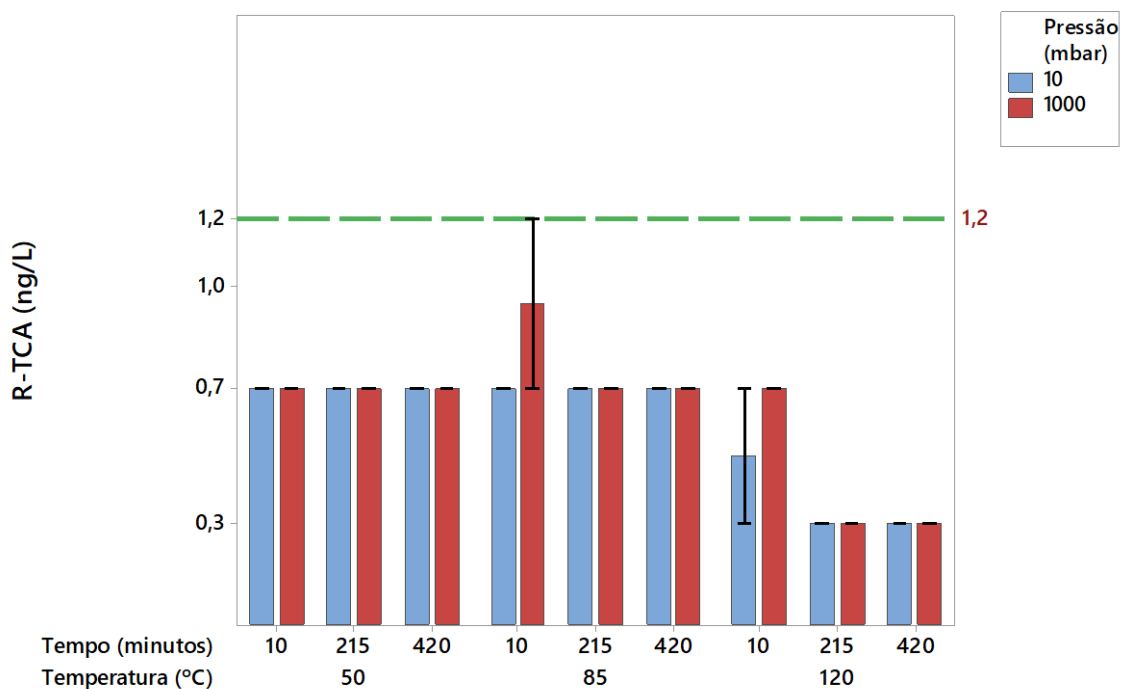


Gráfico 3 - Resultados obtidos da cortiça tratada nos ensaios de extração do TCA à escala laboratorial com granulados 3-7mm.

Fazendo uma análise detalhada aos resultados apresentados no Gráfico 3, podemos ver que 120 °C foi a temperatura preferencial, nesta gama de temperatura os ensaios com duração de 215 minutos e 420 minutos foram os que obtiveram uma concentração de R-TCA final de 0,3 ng/L. Neste ensaio de extração do TCA o efeito da pressão nas amostras não teve nenhuma melhoria significativa no R-TCA final comparativamente com os ensaios de extração do TCA à pressão atmosférica. No cômputo geral dos ensaios de 85 e 50 °C obtiveram-se resultados de 0,7 ng/L de TCA; isto pode estar relacionado com o baixo R-TCA inicial dos granulados de cortiça utilizados para este ensaio (1,2 ng/L).

Com o objetivo de determinar qual a condição que teve mais impacto na extração do TCA dos granulados de cortiça com 3-7 mm, procedeu-se à realização de um teste One-way ANOVA (Tabela 6).

**Tabela 6 - Resultados do teste One-way ANOVA aplicado a cada uma das variáveis em função do R-TCA Final.**

Teste One-way ANOVA	G.L.	Valor de <i>f</i>	Valor de <i>p</i>
Temperatura vs R-TCA-Final	2	33,4	0,000
Tempo vs R-TCA Final	2	1,09	0,347
Pressão vs R-TCA final	1	1,09	0,304

O teste One-way ANOVA foi realizado com um nível de significância de 5% ( $\alpha = 0,05$ ). A temperatura demonstrou ser o principal fator de influência no TCA Final, com valor de  $p = 0,000$ . Já relativamente à pressão e ao tempo, com um valor de  $p = 0,347$  e  $p = 0,304$ , respetivamente, não demonstraram ser estatisticamente significantes para remoção do TCA no granulado 3-7 mm.

Fazendo uma avaliação global aos resultados de extração do TCA dos três tipos de granulado (0,5-1; 1-2 e 3-7mm) podemos concluir que a temperatura e o tempo de extração foram as variáveis com maior efeito na quantidade final de R-TCA, destacando-se a temperatura de 120 °C e tempos de extração de 215 e 420 minutos. Comparando os resultados das extrações de TCA realizadas a pressão reduzida com os resultados de extração do TCA à pressão atmosférica, apenas no caso dos granulados 1-2 mm é que a baixa pressão demonstrou ter influência.

Os testes realizados com temperaturas de 50 °C e tempos de extração de 10 minutos mostraram-se completamente ineficientes e sem grande relevância na extração do TCA em todos os tipos de granulados.

## 6.1.4 - OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DO TCA

Utilizando uma ferramenta do Minitab 18 - otimização de resposta – e aplicando-a aos valores de R-TCA obtidos no processo de extração do TCA obtivemos os seguintes gráficos apresentados da Figura 18 a Figura 20. Estes vão ter a finalidade de ajudar a compreender as condições que mais influência tiveram na extração do TCA, e serviram de base para se determinar as condições ótimas de extração de TCA dos granulados de cortiça.

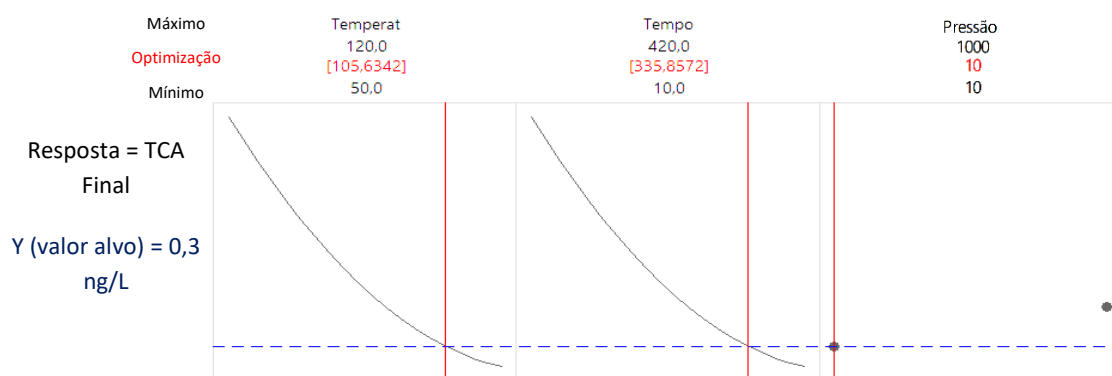


Figura 18 - Gráficos de otimização dos resultados de extração do TCA para os granulados 0,5-1 mm.

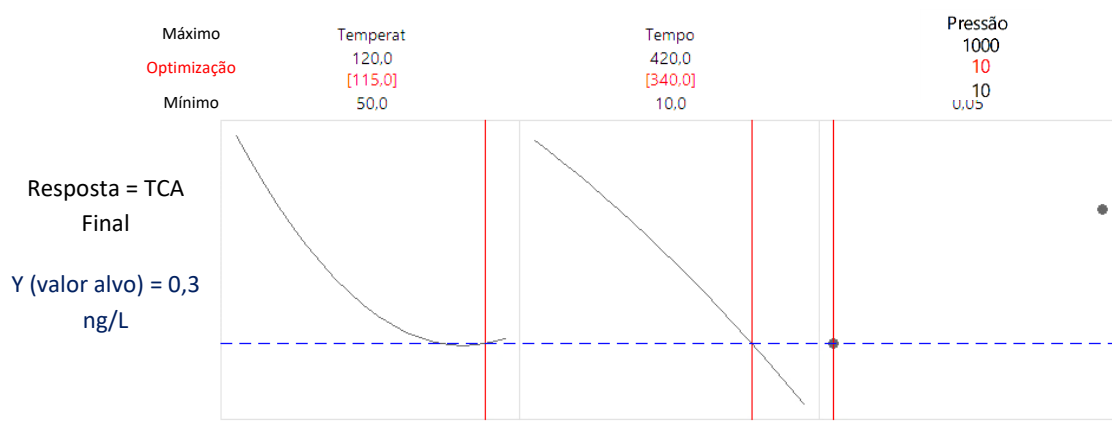


Figura 19 - Gráficos de otimização dos resultados de extração do TCA para os granulados 1-2 mm.



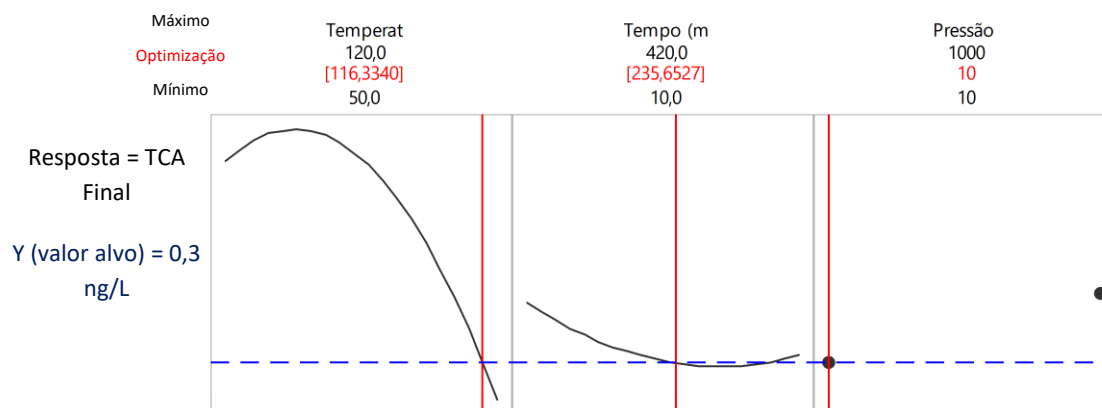


Figura 20 - Gráficos de otimização dos resultados de extração do TCA para os granulados 3-7 mm.

Os gráficos apresentados (Figura 18 a Figura 20), permitem concluir, uma vez mais, que a temperatura é o principal fator na diminuição da concentração de R-TCA final dos granulados; isto pode ser afirmado devido ao elevado declive da curva de temperatura em função do R-TCA final. Importa também salientar o papel importante da variável tempo no processo de extração do TCA nos granulados 0,5-1 e 1-2 mm. Relativamente à variável pressão, a pressão reduzida aparece como ideal. Na Tabela 7 podemos ver, de forma resumida, as melhores condições de extração do TCA para cada um dos granulados.

Tabela 7 - Valores determinados para a otimização do processo de extração de TCA das várias gamas de granulado.

Amostra	Temperatura (°C)	Tempo (minutos)	Pressão (mbar)
0,5-1mm	106	336	10
1-2mm	115	340	10
3-7mm	116	236	10

Desta forma, e com recurso à Tabela 7, foram determinadas as condições ótimas de extração. Relativamente à temperatura, 116° C foi considerada a temperatura mínima necessária para se conseguir uma extração do TCA; quanto à variável tempo de extração do TCA decidiu-se proceder a ensaios de 240 minutos e 420 minutos. A pressão reduzida foi considerada ideal para todos os ensaios.

### 6.1.5 - VALIDAÇÃO DAS CONDIÇÕES ÓTIMAS DE EXTRAÇÃO DO TCA

Com o objetivo de validar as condições ótimas de extração do TCA de granulados de cortiça, foi utilizado granulado 3-7 mm. A validação foi realizada não só com granulado de contaminação 1,2 ng/L (3-7 mm), mas também com um outro granulado com uma concentração de R-TCA de 15,6 ng/L (V-3-7 mm). Posteriormente foram calculadas as percentagens de extração de TCA para cada um dos granulados.

No Gráfico 4 apresentam-se os valores de R-TCA obtidos em granulados com contaminação inicial de 1,2 ng/L após processo de extração de TCA nas condições consideradas ótimas, enquanto o Gráfico 5 apresenta os valores de R-TCA obtidos em granulados com contaminação inicial de 15,6 ng/L após processo de extração de TCA nas condições consideradas ótimas. Cada condição foi realizada em triplicado.

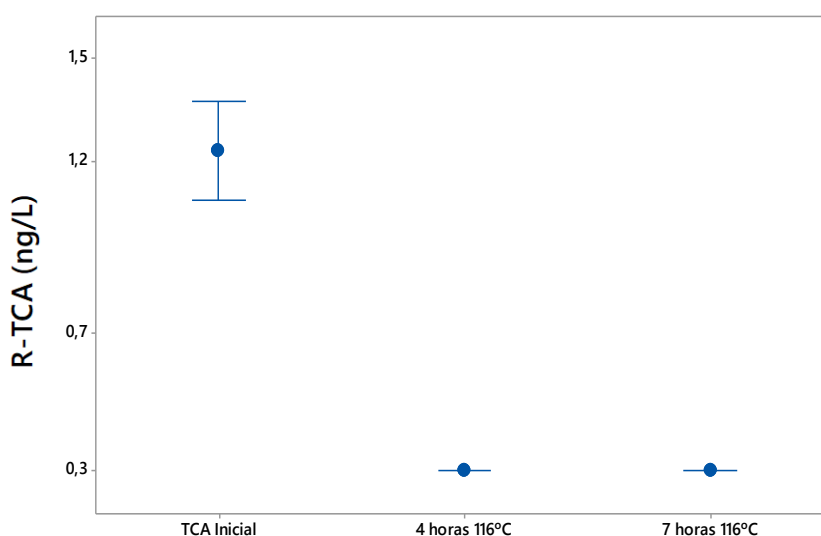
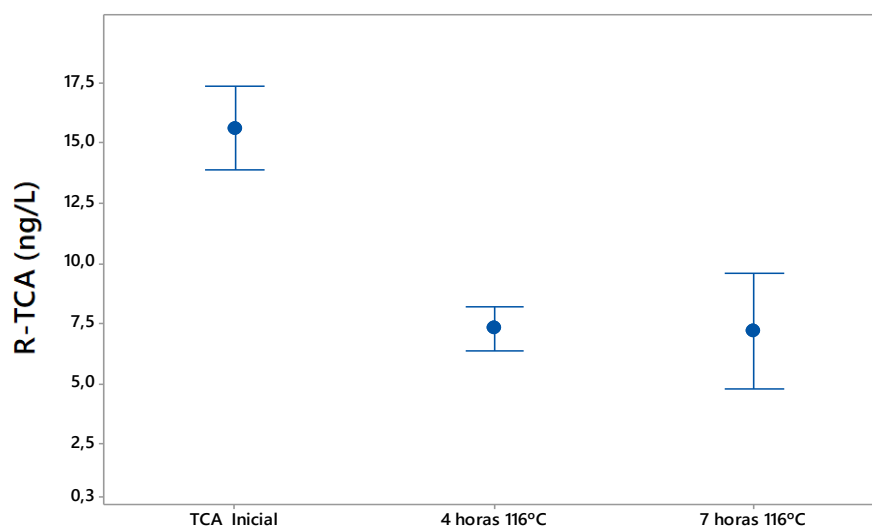


Gráfico 4 - Valores de R-TCA dos granulados após processo de extração do TCA nas condições determinadas como ótimas com granulado de contaminação inicial de 1,2 ng/L



**Gráfico 5 - Valores de R-TCA dos granulados após processo de extração do TCA nas condições determinadas como ótimas, com granulado de contaminação inicial de 15,6 ng/L (V-3-7 mm).**

Partindo do pressuposto que o resultado de 0,3 ng/L de R-TCA corresponde a 100% de extração, na Tabela 8 temos as percentagens de extração alcançadas no processo de extração de TCA nas condições consideradas ótimas.

**Tabela 8 - Percentagens de extração do TCA obtidas nos ensaios utilizando as condições consideradas ótimas**

Amostra	% extração
<b>Concentração inicial = 1,2 ng/L</b>	
4 horas 116°C	100%
7 horas 116°C	100%
<b>Concentração inicial = 15,6 ng/L</b>	
4 horas 116°C	52,3%
7 horas 116°C	52,9%

É possível verificar que as percentagens de extração nas condições consideradas ótimas foram relativamente mais baixas para granulados de contaminação superior. Ambos os granulados eram provenientes de cortiça contaminada naturalmente, pertencendo a lotes de granulado contaminado diferentes. Com granulados de contaminação inferior estas condições demonstram eficácia no processo, mas é preciso sempre ter em conta que 1,2 ng/L é uma concentração extremamente baixa de TCA e muito perto dos limites de deteção e quantificação dos equipamentos HS-SPME-GM/MS utilizados para se determinar o R-TCA.

Um dos fatores que importa salientar é que o tempo de processo não demonstra ter relevância significativa no tratamento, ou seja, o aumento do tempo de processo para os granulados com maior contaminação não trouxe nenhuma melhoria significativa. Desta forma a ineficiência da extração do TCA dos granulados de cortiça com contaminação superior poder-se-á explicar devido à temperatura e pressão não serem as ideais para se obter os resultados pretendidos.

A validação das condições a uma escala piloto será então o próximo passo, com o objetivo de verificar se é possível proceder a um *scale-up* (ensaios à escala piloto) e manter as percentagens de extração obtidas no Gráfico 5.

## 6.2 - RESULTADOS DE EXTRAÇÃO DE TCA DO GRANULADO COM CALIBRE 3-7MILIMETROS À ESCALA PILOTO

Os resultados de R-TCA obtidos da cortiça tratada nos ensaios à escala piloto estão representados no Gráfico 6.

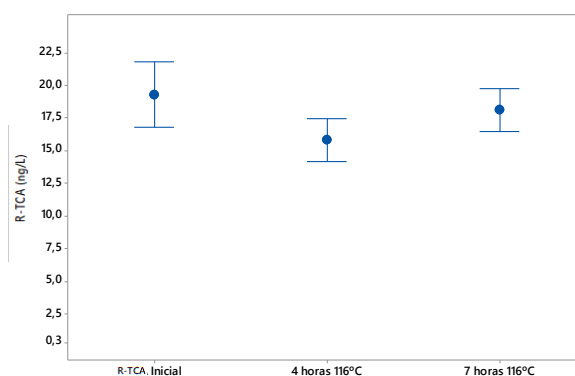


Gráfico 6 - Resultados de extração do TCA obtidos após realização dos ensaios à escala piloto.

O granulado utilizado para este ensaio pertencia ao mesmo lote do granulado utilizado para a validação das condições ótimas; contudo devido à heterogeneidade do lote foi obtido um valor de R-TCA inicial de 19,3 ng/L (P-3-7mm). Os resultados de extração do R-TCA à escala piloto não apresentaram uma diferença significativa dos resultados do R-TCA inicial dos granulados. Relativamente às percentagens de extração (Tabela 9) estas foram muito mais baixas do que as percentagens de extração do TCA obtidas à escala laboratorial.

Tabela 9 - Percentagens de extração do TCA obtidos após ensaios realizados à escala piloto.

Concentração inicial = 19,3 ng/L	
Amostra	Extração em %
4 horas 116°C	16,7
7 horas 116°C	4,7

Os resultados de extração do TCA obtidos à escala piloto demonstraram não estar em concordância com os resultados de extração do TCA obtidos à escala laboratorial. No ensaio de 420 minutos a variação de 4,7% de R-TCA, que se observou, é relativamente idêntica ao desvio padrão do R-TCA inicial do granulado utilizado para o processo. Convém assim salientar que devido a heterogeneidade dos granulados, as percentagens de extração conseguidas à escala piloto podem não ser devido a eficiência do processo, mas podem apenas ser derivadas da heterogeneidade dos granulados de cortiça.

Uma explicação plausível para esta diferença entre os resultados de extração de TCA obtidos nos ensaios à escala laboratorial e escala piloto, pode prender-se com a pressão atingida no reator. Nos ensaios à escala piloto apenas se atingiram pressões entre 40 e 50 mbar e, nesta gama de pressão, para conseguir volatilizar o TCA são necessárias temperaturas na ordem dos 130/140 °C (Anexo 5), tendo sido utilizadas temperaturas de 116° C.

A utilização de temperaturas superiores não foi possível devido à limitação do protótipo utilizado nos ensaios de extração do TCA à escala piloto.

### 6.3 - ENSAIO À ESCALA LABORATORIAL PARA EXTRAÇÃO DE TCA DE DISCOS DE CORTIÇA

O R-TCA Inicial foi previamente determinado e os valores estão representados na Tabela 10. Importa salientar o enorme desvio padrão obtido no R-TCA inicial dos discos de cortiça, que será necessário ter em conta numa futura análise ao processo de extração de TCA.

Tabela 10 - Valores de R-TCA inicial dos discos de cortiça.

	R-TCA Inicial (ng/L)	Desvio padrão
Discos	21.3	20.1

Procedeu-se aos ensaios de extração de TCA com discos de cortiça (5 discos por amostra) à escala laboratorial. Os resultados da extração do TCA obtidos estão descritos no Anexo 4 e encontram-se representados no Gráfico.7.

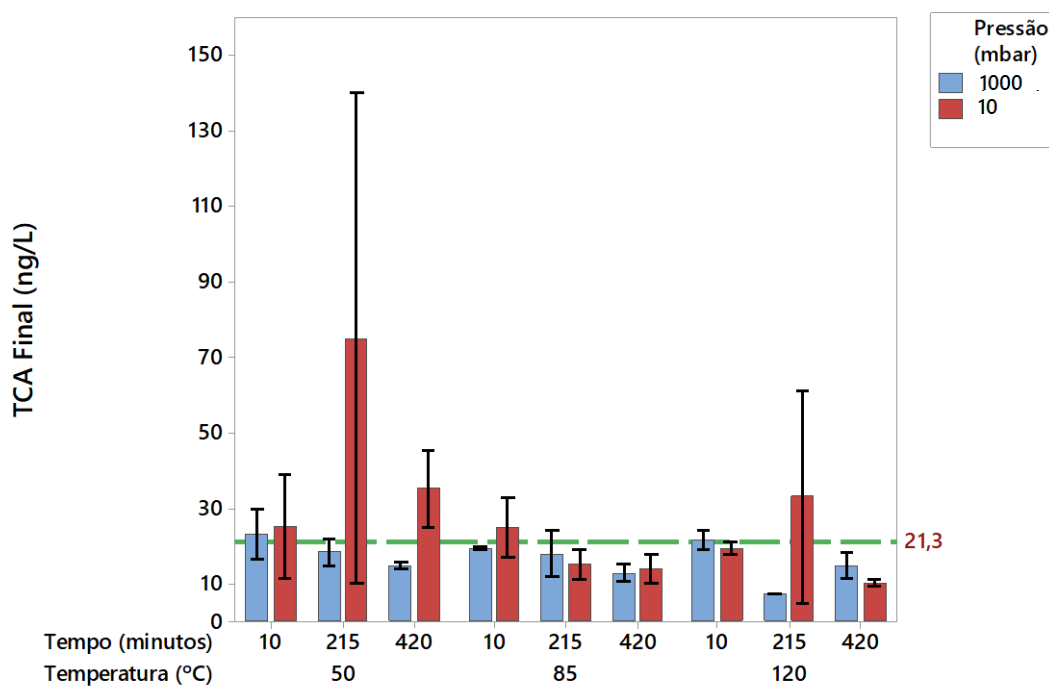


Gráfico 7 - Gráfico de barras relativo aos resultados de extração de TCA obtidos após ensaio à escala laboratorial com discos de cortiça.

Analisando o Gráfico 7, devido aos elevados valores de desvio padrão é não foi possível realizar uma análise dos valores obtidos de forma a perceber qual a condição que obteve maior eficiência de extração de TCA, assim não possível tirar qualquer conclusão a partir do Gráfico 7.

Com o objetivo de determinar qual a condição que teve mais impacto na extração do TCA dos discos de cortiça, procedeu-se à realização de um teste One-way ANOVA (Tabela 11).

Tabela 11 - Resultados do teste One-way ANOVA aplicado a cada uma das variáveis em função do TCA Final

Teste One-way ANOVA	G.L.	Valor de <i>f</i>	Valor de <i>p</i>
Temperatura vs TCA-Final	2	1,62	0,213
Tempo vs TCA Final	2	0,66	0,524
Pressão vs TCA final	1	2,23	0,1455

O teste One-way ANOVA foi realizado com um nível de significância de 5% ( $\alpha = 0,05$ ). Nenhum dos fatores demonstrou ter influência na quantidade de TCA Final. Isto pode ser comprovado com valores de *p* para temperatura, tempo e pressão de 0.213, 0,524 e 0,1455, respetivamente. Mais uma vez nada se pode concluir.



# **CAPÍTULO 7**

## **CONCLUSÃO**



## 7 – CONCLUSÃO

Os ensaios de extração do TCA de granulados de cortiça à escala laboratorial, permitiram concluir que a temperatura (ensaios a 120 °C) foi a principal variável na diminuição do R-TCA dos granulados de cortiça. A esta variável junta-se o tempo de processo, em que foi claramente visível que os tempos de processo mais altos (215 e 420 minutos) beneficiaram claramente a extração do TCA. A variável pressão, que inicialmente aparecia como fundamental neste processo, acabou por ganhar uma importância menor uma vez que os resultados de extração de TCA à escala laboratorial não demonstraram a dependência desta variável, com a exceção dos granulados 1-2 mm.

Com os ensaios à escala piloto que, teoricamente, deveriam reproduzir os mesmos resultados obtidos à escala laboratorial, isto acabou por não acontecer. Assim, podemos concluir que o processo à escala piloto não é eficaz para a extração de TCA. Contudo, é de salientar que a uma maior escala é mais complicado controlar todas as condições utilizadas, desta forma as condições atingidas à escala laboratorial não foram possíveis de replicar à escala piloto, isto devido a limitações dos equipamentos utilizados.

Relativamente aos discos, procedeu-se à extração de TCA com o mesmo processo e desenho experimental utilizado para os granulados. Contudo devido à enorme heterogeneidade do R-TCA dos discos utilizados, não foi possível retirar qualquer conclusão dos dados. Desta forma, a utilização de discos com uma menor heterogeneidade de R-TCA ou a elaboração de mais réplicas nos ensaios de extração de TCA de discos de cortiça em ensaios futuros poderão ser fundamentais para a obtenção de conclusões mais sólidas.

O presente estudo permitiu concluir que o processo de extração de TCA com recurso a temperatura é eficaz na extração de TCA à escala laboratorial, preferencialmente com temperaturas na ordem dos 120 °C com uma duração do processo de 420 minutos. A pressão neste processo não demonstrou ser um fator chave; contudo, em alguns casos a sua presença melhorou a eficiência do processo. Contudo, ficou claro que, dependendo do calibre dos granulados e do seu R-TCA inicial, as condições ideais de extração variam. Relativamente aos discos de cortiça e respetivos ensaios à escala piloto, os resultados não foram conclusivos e, conseqüentemente, não foi provada a eficiência do processo.



# **BIBLIOGRAFIA**

## BIBLIOGRAFIA

- (1) APCOR. Anuário de Cortiça. *APCOR* **2015**.
- (2) APCOR. [www.apcor.pt](http://www.apcor.pt) (acedido em 2 de Novembro de 2017).
- (3) Pereira, J. S.; Bugalho, M. N.; Caldeira, M. D. C. From the Cork Oak to Cork, a sustainable system. *APCOR - Port. Cork Assoc.* **2008**.
- (4) Cordeiro, N. M. A. Fraccionamento Da Cortiça e Caracterização Dos Seus Componentes: Estudo de Possibilidades de Valorização Suberina. Tese de Doutoramento, Departamento de Química, Universidade de Aveiro, **1998**.
- (5) Pereira, H. The Rationale behind Cork Properties: A Review of Structure and Chemistry. *BioResources* **2015**, *10*, 3, 1–23.
- (6) Maria, S.; Veloso, F. Identificação Da Micoflora Associada à Cortiça Crua Com o Defeito Da “ Mancha Amarela ” Engenharia Florestal e Dos Recursos Naturais. Tese de Mestrado, Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, **2014**, 92.
- (7) Boussetoua, H.; Maalouf, C.; Lachi, M.; Belhamri, A.; Moussa, T. Mechanical and Hygrothermal Characterisation of Cork Concrete Composite: Experimental and Modelling Study. *Eur. J. Environ. Civ. Eng.* **2017**, 1:1–16.
- (8) Fortes, J. Caracterização de Regiões Genómicas Codificantes Da Fenilalanina Amónia Liase e Proteínas Dirigentes Em Quercus Suber. Tese de Mestrado, Instituto Superior Técnico, Universidade Técnica de Lisboa, **2007**.
- (9) Silva, S. P.; Sabino, M. A.; Fernandes, E. M.; Correlo, V. M.; Boesel, L. F.; Reis, R. L. Cork: Properties, Capabilities and Applications. *Int. Mater. Rev.* **2005**, *50* (6), 345–365.
- (10) Liège, C. E. Código Internacional Das Práticas Rolheiras. APCOR - Associação Portuguesa de Cortiça, **2014**, 1–87.
- (11) Freitas, A. P. A. Desenvolvimento de Um Sistema de Quantificação de TCA Em Solução Aquosa Por Voltametria. Tese de Mestrado, Instituto Superior de Engenharia de Coimbra, Instituto Politécnico de Coimbra, 2013.
- (12) Adamscountywinery. [www.adamscountywinery.com](http://www.adamscountywinery.com) (acedido em 15 de Janeiro de 2018).
- (13) Mesquita, A. C. O Processo INNOCROK: Resultados e Validação Estatística, 2008. Disponível em [www.infowine.com](http://www.infowine.com), data de consulta 15-12-2017.
- (14) Butzke, C.; Evans, T.; Ebeler, S. Detection of Cork Taint in Wine Using Automated Solid-Phase MicroExtraction in Combination with GC/MS-SIM. ACS Symposium Series, vol. 174 chapter 15,

pp. 208-216, **1998**.

- (15) Vlachos, P.; Stathatos, E.; Lyberatos, G.; Lianos, P. Gas-Phase Photocatalytic Degradation of 2,4,6-Trichloroanisole in the Presence of a Nanocrystalline Titania Film. Applications to the Treatment of Cork Stoppers. *Catalysis Communications* **2008**, 9. 10: 1987–1990.
- (16) Barker, D. A.; Capone, D. L.; Pollnitz, A. P.; Mclean, H. J.; Francis, I. L.; Oakey, H.; Sefton, M. A. Absorption of 2, 4, 6-trichloroanisole by Wine Corks via the Vapour Phase in an Enclosed Environment. *Aust. J. Grape and Wine Res.* **2001**, 7. 1: 40–46.
- (17) Chatonnet, P., Bonnet, S., Boutou, S., Labadie, M. D. Identification and Responsibility of 2, 4, 6-Tribromoanisole in Musty, Corked Odors in Wine. *J. of Agric. Food Chem.* **2004**, 52. 5: 1255–1262.
- (18) Mazzoleni, V.; Maggi, L. E V Effect of Wine Style on the Perception of 2, 4, 6-Trichloroanisole, a Compound Related to Cork Taint in Wine. *Food res. int.* **2007**, 40(6), 694-699.
- (19) Marques, J. I. F. Desenvolvimento de Um Método Para Determinação de Cloroanisóis e Clorofenóis Em Amostras de Solo. Tese de Mestrado, Departamento de Engenharia Química, Universidade do Porto, **2009**.
- (20) Reynolds, A. G. *Managing Wine Quality: Viticulture and Wine Quality*. Elsevier, vol 1, 375–399, **2010**.
- (21) Buser, H. R.; Zanier, C.; Tanner, H. Identification of 2,4,6-Trichloroanisole as a Potent Compound Causing Cork Taint in Wine. *J. Agric. Food Chem.* **1982**, 30. 2, 359–362.
- (22) Özhan, D.; Anli, R. E.; Vural, N.; Bayram, M. Determination of Chloroanisoles and Chlorophenols in Cork and Wine by Using HS-SPME and GC-ECD Detection. *J. Inst. Brew.* **2009**, 115. 1, 71–77.
- (23) Zhang, K.; Luo, Z.; Zhang, T.; Mao, M.; Fu, J. Study on Formation of 2,4,6-Trichloroanisole by Microbial O-Methylation of 2,4,6-Trichlorophenol in Lake Water. *Environ. Pollut.* **2016**, 219, 228–234.
- (24) Maria F. 2,4,6 – Tricloroanisol: validação do método de análise e estudos de adsorção e dessorção em rolhas de cortiça. Tese de Mestrado, Escola de Ciências da Vida e do Ambiente, Universidade de Trás-Os-Montes e Alto Douro. **2013**.
- (25) Álvarez-Rodríguez, M. L., López-Ocaña, L., López-Coronado, J. M., Rodríguez, E., Martínez, M. J., Larriba, G., Coque, J. J. R. Cork taint of wines: role of the filamentous fungi isolated from cork in the formation of 2, 4, 6-trichloroanisole by O methylation of 2, 4, 6-trichlorophenol. *Appl. env. micro.* **2002**, 68. 12, 5860–5869.
- (26) Pereira, C.; Gil, L. O Problema Do Odor a Mofa Nas Rolhas de Cortiça e Processos Para a Sua Redução/Eliminação. *Silva Lusit.* **2006**, 14. 1, 101–111.

- (27) García, A. P. Valorização Enológica Da Rolha de Cortiça : Redução de Organoclorados e Contribuição de Compostos Positivos Ao Vinho Valorização Enológica Da Rolha de Cortiça : Redução de Organoclorados e Contribuição de Compostos Positivos Ao Vinho. VITEC, 1ª Ed. pp. 1-57, 2015.
- (28) Raquel, A.; Dias, N. Novos Desenvolvimentos Na Detecção Individual de 2 , 4 , 6- Tricloroanisol Em Rolhas de Cortiça. Tese de Mestrado, Departamento de Engenharia Química, Universidade do Porto **2014**.
- (29) Godden, P. Results of Sensory and Chemical Evaluation of a Batch of Wine Corks, to Assess the Ability of a New Processing Technique to Reduce the Incidence of TCA-Taint in Wine, Highlight the Extreme Care Wineries Should Take in Checking the Quality of Their Closure. Aust. Wine Res. Inst. 2000 (125) : 43-46.
- (30) APCOR - Manual Técnico Das Rolhas. <http://www.apcor.pt/portfolio-posts/manual-tecnico-rolhas-de-cortica/> (acedido em 14 de março de 2018).
- (31) Cruz, J. P. Process for Elimination/Reducing Compounds with a Musty Taste/Odour in Materials That Are to Come into Contact with Foodstuffs and in Foods or Drinks. Patente WO2005014249A2, 2005.
- (32) Salvador Palacios F. Process for the Elimination of the Haloanisoles and Halophenols Present in Cork and Installation to Carry out Said Elimination. Patente EP 2 639 025 A1, 2013.
- (33) Cork supply. [www.corksapply.pt](http://www.corksapply.pt) (acedido em 10 de abril de 2018)
- (34) Da Ponte, M. L.; Lopes, J. A.; Vesna, N.-V.; Manic, M.; Mesquita, A. C.; Da Silva, R. P.; Allegro, I. M. Method for Direct Treatment of Cork Stoppers, Using Supercritical Fluids. Patente EP2396153A1, 2010.
- (35) Miguel Cabral. Cork Product Treatment System and Apparatuses by Extraction of Compounds Draggd in Water Vapour. Patente WO2004014436A1, 2003.
- (36) Lumia, G., Perre, C., Aracil, J. M. Method for Treating Cork and Extrating Organic Compounds with a Dense Fluid under Pressure. Patente EP1216123, 2002.
- (37) Costa, M. Decontamination and deodorization of 2,4,6-trichloroanisole on cork. Tese de Mestrado, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, 2017.
- (38) Herv, E.; Price, S.; Burns, G.; Weber, P. Chemical Analysis of TCA As a Quality Control Tool For Natural Corks. ETS Laboratories report, 2000, 1-16.



ANEXO I – TABELA DE ENSAIOS À ESCALA LABORATORIAL  
COM GRANULADOS 0,5-1 MILIMETROS

Amostra	Tempo (minutos)	Pressão (mbar)	Temperatura (°C)	R-TCA Inicial (ng/L)	R-TCA Final (ng/L)
A1	10	1000	50	1,4	1,4
A1.1	10	1000	50	1,4	1,4
A2	10	1000	85	1,4	1,4
A2.2	10	1000	85	1,4	1,4
A3	10	1000	120	1,4	1,4
A3.3	10	1000	120	1,4	1,4
A4	215	1000	50	1,4	1,3
A4.4	215	1000	50	1,4	1,3
A5	215	1000	85	1,4	1,4
A5.5	215	1000	85	1,4	1,4
A6	215	1000	120	1,4	0,7
A6.6	215	1000	120	1,4	0,7
A7	420	1000	50	1,4	1,4
A7.7	420	1000	50	1,4	1,3
A8	420	1000	85	1,4	1,2
A8.8	420	1000	85	1,4	1,3
A9	420	1000	120	1,4	0,3
A9.9	420	1000	120	1,4	0,3

Amostra	Tempo (minutos)	Pressão (mbar)	Temperatura (°C)	R-TCA Inicial (ng/L)	R-TCA Final (ng/L)
B1	10	10	50	1,4	1,4
B1.1	10	10	50	1,4	1,4
B2	10	10	85	1,4	1,4
B2.2	10	10	85	1,4	1,4
B3	10	10	120	1,4	1,2
B3.3	10	10	120	1,4	1,4
B4	215	10	50	1,4	1
B4.4	215	10	50	1,4	0,7
B5	215	10	85	1,4	0,7
B5.5	215	10	85	1,4	1,4
B6	215	10	120	1,4	0,3
B6.6	215	10	120	1,4	0,3
B7	420	10	50	1,4	1
B7.7	420	10	50	1,4	1,3
B8	420	10	85	1,4	0,7
B8.8	420	10	85	1,4	0,3
B9	420	10	120	1,4	0,3
B9.9	420	10	120	1,4	0,3

ANEXO II – TABELA DE ENSAIOS À ESCALA LABORATORIAL  
COM GRANULADOS 1-2 MILIMETROS

Amostra	Tempo (minutos)	Pressão (mbar)	Temperatura (°C)	R-TCA Inicial (ng/L)	R-TCA Final (ng/L)
A1	10	1000	50	1,4	1,4
A1.1	10	1000	50	1,4	1,4
A2	10	1000	85	1,4	1,4
A2.2	10	1000	85	1,4	1,2
A3	10	1000	120	1,4	1
A3.3	10	1000	120	1,4	1,4
A4	215	1000	50	1,4	1,4
A4.4	215	1000	50	1,4	1,4
A5	215	1000	85	1,4	0,7
A5.5	215	1000	85	1,4	1,1
A6	215	1000	120	1,4	0,7
A6.6	215	1000	120	1,4	0,3
A7	420	1000	50	1,4	1,4
A7.7	420	1000	50	1,4	1,4
A8	420	1000	85	1,4	1,2
A8.8	420	1000	85	1,4	1,4
A9	420	1000	120	1,4	0,3
A9.9	420	1000	120	1,4	0,7

Amostra	Tempo (minutos)	Pressão (mbar)	Temperatura (°C)	R-TCA Inicial (ng/L)	R-TCA Final (ng/L)
B1	10	10	50	1,4	1,4
B1.1	10	10	50	1,4	1,4
B2	10	10	85	1,4	1,3
B2.2	10	10	85	1,4	1,4
B3	10	10	120	1,4	1,1
B3.3	10	10	120	1,4	0,7
B4	215	10	50	1,4	1,2
B4.4	215	10	50	1,4	0,7
B5	215	10	85	1,4	0,3
B5.5	215	10	85	1,4	1,4
B6	215	10	120	1,4	0,3
B6.6	215	10	120	1,4	0,3
B7	420	10	50	1,4	0,7
B7.7	420	10	50	1,4	1,1
B8	420	10	85	1,4	0,7
B8.8	420	10	85	1,4	0,3
B9	420	10	120	1,4	0,3
B9.9	420	10	120	1,4	0,3

ANEXO III – TABELA DE ENSAIOS À ESCALA  
LABORATORIAL COM GRANULADOS 3-7 MILIMETROS

Amostra	Tempo (minutos)	Pressão (mbar)	Temperatura (°C)	R-TCA Inicial (ng/L)	R-TCA Final (ng/L)
A1	10	1000	50	1,4	0,7
A1.1	10	1000	50	1,4	0,7
A2	10	1000	85	1,4	0,7
A2.2	10	1000	85	1,4	1,2
A3	10	1000	120	1,4	0,7
A3.3	10	1000	120	1,4	0,7
A4	215	1000	50	1,4	0,7
A4.4	215	1000	50	1,4	0,7
A5	215	1000	85	1,4	0,7
A5.5	215	1000	85	1,4	0,7
A6	215	1000	120	1,4	0,3
A6.6	215	1000	120	1,4	0,3
A7	420	1000	50	1,4	0,7
A7.7	420	1000	50	1,4	0,7
A8	420	1000	85	1,4	0,7
A8.8	420	1000	85	1,4	0,7
A9	420	1000	120	1,4	0,3
A9.9	420	1000	120	1,4	0,3

Amostra	Tempo (minutos)	Pressão (mbar)	Temperatura (°C)	R-TCA Inicial (ng/L)	R-TCA Final (ng/L)
B1	10	10	50	1,4	0,7
B1.1	10	10	50	1,4	0,7
B2	10	10	85	1,4	0,7
B2.2	10	10	85	1,4	0,7
B3	10	10	120	1,4	0,3
B3.3	10	10	120	1,4	0,7
B4	215	10	50	1,4	0,7
B4.4	215	10	50	1,4	0,7
B5	215	10	85	1,4	0,7
B5.5	215	10	85	1,4	0,7
B6	215	10	120	1,4	0,3
B6.6	215	10	120	1,4	0,3
B7	420	10	50	1,4	0,7
B7.7	420	10	50	1,4	0,7
B8	420	10	85	1,4	0,7
B8.8	420	10	85	1,4	0,7
B9	420	10	120	1,4	0,3
B9.9	420	10	120	1,4	0,3

ANEXO IV – TABELA DE ENSAIOS À ESCALA  
LABORATORIAL DISCOS DE CORTIÇA

Amostra	Tempo (minutos)	Pressão (mbar)	Temperatura (°C)	R-TCA Inicial (ng/L)	R-TCA Final (ng/L)
A1	10	1000	50	1,4	16,7
A1.1	10	1000	50	1,4	29,8
A2	10	1000	85	1,4	19
A2.2	10	1000	85	1,4	19,7
A3	10	1000	120	1,4	23,9
A3.3	10	1000	120	1,4	19
A4	215	1000	50	1,4	15
A4.4	215	1000	50	1,4	22
A5	215	1000	85	1,4	11,8
A5.5	215	1000	85	1,4	24,1
A6	215	1000	120	1,4	7,5
A6.6	215	1000	120	1,4	7,5
A7	420	1000	50	1,4	13,8
A7.7	420	1000	50	1,4	15,8
A8	420	1000	85	1,4	15,1
A8.8	420	1000	85	1,4	10,5
A9	420	1000	120	1,4	18
A9.9	420	1000	120	1,4	11,6

Amostra	Tempo (minutos)	Pressão (mbar)	Temperatura (°C)	R-TCA Inicial (ng/L)	R-TCA Final (ng/L)
B1	10	10	50	1,4	39
B1.1	10	10	50	1,4	11,4
B2	10	10	85	1,4	32,6
B2.2	10	10	85	1,4	16,8
B3	10	10	120	1,4	21,2
B3.3	10	10	120	1,4	17,8
B4	215	10	50	1,4	140
B4.4	215	10	50	1,4	10,2
B5	215	10	85	1,4	10,9
B5.5	215	10	85	1,4	19,2
B6	215	10	120	1,4	5,01
B6.6	215	10	120	1,4	61,38
B7	420	10	50	1,4	45,5
B7.7	420	10	50	1,4	24,7
B8	420	10	85	1,4	10,3
B8.8	420	10	85	1,4	17,6
B9	420	10	120	1,4	9,6
B9.9	420	10	120	1,4	10,9

ANEXO V – EVOLUÇÃO DO PONTO DE EBULIÇÃO DO TCA,  
EM ESTADO PURO, COM O AUMENTO DA PRESSÃO. <sup>32</sup>

<b>Pressão (mbar)</b>	<b>Ponto de ebulição (°C)</b>
0.05	10
0.1	19.5
0.5	44.5
1	56
10	98
34	130
50	140
100	157
500	215
1000	239